Optische Abbildung von Gehirnfunktionen mit vielfach gestreutem Licht

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)
vorgelegt von

Gregor Dietsche

Lehrstuhl Prof. Dr. G. Maret
Fachbereich Physik
Mathematisch-Naturwissenschaftliche Sektion
Universität Konstanz

Referenten:

Prof. Dr. Georg Maret
Prof. Dr. Jaroslav Rička

Tag der mündlichen Prüfung:

24. Juli 2007

Konstanzer Online-Publikations-System (KOPS)
URL: http://www.ub.uni-konstanz.de/kops/volltexte/2007/3803/
URN: http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:bsz:352-opus-38034

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung **1**

2 Theorie der dynamischen Vielfachstreuung von Licht **3**
2.1 Einleitung . . . 3
2.2 Statische Streuung . . . 3
2.3 Die Entstehung von Speckle-Mustern . . . 6
2.4 Dynamische Einfachstreuung . . . 8
2.5 Dynamische Vielfachstreuung . . . 10
2.5.1 Einleitung . . . 10
2.5.2 Herleitung der Korrelationsfunktion g_1 . . . 11

3 DWS an einem mehrschichtigen Phantom-Modell **17**
3.1 Experimenteller Aufbau . . . 18
3.2 Autokorrelationsfunktion eines mehrschichtigen trüben Mediums . 19
3.3 Resultate . . . 22
3.3.1 Optische Parameter der Phantom-Schichten . . . 22
3.3.2 Halb-unendliches Phantom . . . 25
3.3.3 Modell aus zwei Schichten . . . 26
3.3.4 Modell aus drei Schichten . . . 29
3.4 Zusammenfassung . . . 34

4 Zeitaufgelöste DWS mit kontinuierlichem Korrelator **37**
4.1 Methode und experimenteller Aufbau . . . 39
4.2 Ergebnisse . . . 41
4.2.1 Kolloidale Suspension . . . 41
4.2.2 Pulsschlag-getaktete DWS am menschlichen Unterarm . . 43
4.2.3 Pulsschlag-getaktete DWS am menschlichen Handgelenk . 45
4.3 Diskussion . . . 46
4.4 Folgerungen . . . 47

5 Zeitaufgelöste Mehrspeckle-Detektion **49**
5.1 Einleitung . . . 49
5.2 Experimenteller Aufbau . . . 50

5.2.1 Charakterisierung des Aufbaus 53
5.3 Einsatzmöglichkeiten 54
5.4 Diskussion 58
5.5 Folgerungen 60

6 Experimente an Probanden 63
6.1 Einleitung 63
6.1.1 Optische Eigenschaften von Gewebe 66
6.1.2 Messanordnung 67
6.2 Stimulation des motorischen Kortex durch Fingerübungen 68
6.2.1 Kontinuierliche Messungen 68
6.2.2 Zeitaufgelöste Messungen 82
6.3 Änderungen im präfrontalen Kortex durch Hyperventilation . . . 86
6.3.1 Einleitung 86
6.3.2 Datenanalyse und Messaufbau 87
6.3.3 Diskussion 89
6.3.4 Zusammenfassung 92
6.4 Visuelle Stimulation des primären visuellen Kortex 94
6.4.1 Einleitung 94
6.4.2 Ergebnisse und Diskussion 95
6.4.3 Zusammenfassung und Ausblick 98
6.5 Änderungen im präfrontalen Kortex durch Gedächtnisübungen . . 100
6.5.1 Einleitung 100
6.5.2 Ergebnisse 101
6.5.3 Diskussion 102

7 Zusammenfassung und Ausblick 105

Kapitel 1

Einleitung

Im Rahmen dieser Dissertation werden menschliche Hirnfunktionen mithilfe von dynamischer Vielfachstreuung von Licht (Diffusing Wave Spectroscopy, DWS) nicht-invasiv untersucht. Nicht-invasive Messungen der Struktur und Funktion des Gehirns erfolgen heutzutage in erster Linie durch Methoden wie der magnetischen Resonanztomographie (MRT), der Computertomographie (CT), der Magneto- und Elektroenzephalographie (MEG und EEG)) sowie der Positronen-Emissions-Tomographie (PET). Diese sind aber oft teuer, aufgrund ihrer Größe nur eingeschränkt portabel, verwenden ionisierende Strahlung oder radioaktive Markersubstanzen und sind deshalb mit ihrem Einsatz auf größere Forschungseinrichtungen und klinische Zentren beschränkt. Eine deutlich billigere und gleichzeitig portablere Alternative bei der Diagnostik von biologischem Gewebe sind optische Methoden. Insbesondere bei nah-infrarotem Licht mit einer Wellenlänge zwischen ungefähr 750 nm und 950 nm (das sog. therapeutische Fenster) zeigt biologisches Gewebe eine relativ hohe Transparenz, so dass eine detektierbare Menge an Licht auch dickere Schichten durchdringen kann.

Die Spektroskopie mit nah-infrarotem Licht (NIRS) kann zwar physiologische Änderungen der optischen Konstanten, wie die Streu- und Absorptionsquerschnitte, des untersuchten Gewebes auch in tiefen Schichten (z.B. in der Hirnrinde) detektieren, ist aber nicht in der Lage, eine Veränderung in der Dynamik der Streuer, z.B. Änderungen der Blutflussgeschwindigkeit, zu messen.

Trifft kohärentes Licht auf ein streuendes Medium, entsteht durch Interferenz ein Speckle-Muster. Bewegen sich die Streuer in der Probe, z.B. durch Brown'sche Bewegung oder Blutfluss, führt das zu Intensitätsfluktuationen der einzelne Speckles. Diese Fluktuationen können mit der quasi-elastischen Lichtstreuung (QELS) quantifiziert werden. Die von uns verwendete dynamische Vielfachstreuung erweitert die QELS auf trübe mehrfach streuende Medien. Durch die hohe Anzahl an Streuereignissen in biologischem Gewebe genügen dabei schon Verrückungen der einzelnen Streuer um wenige Nanometer, um eine messbare Phasenverschiebung entlang eines Photonenpfades $\Delta\phi_P(t)$ zu bewirken. DWS erlaubt es somit, mikroskopische Bewegungen der Streuer in tiefem Gewebe zu detektieren, wo herkömmliche Methoden zur Charakterisierung der Streuerdyna-

mik wie z.B. Laser-Doppler-Velozimetrie versagen.

Ausgehend von der Einfachstreuung gibt Kapitel 2 eine kurze Einführung in die theoretischen Grundlagen der dynamischen Vielfachstreuung. Die Lösungen der Korrelations-Diffusions-Gleichung für eine Geometrie mit mehreren Schichten werden in Kapitel 3 vorgestellt. An einem mehrschichtigen Phantommodell werden die theoretischen Voraussagen experimentell verifiziert und auf ihre Genauigkeit hin überprüft. Dadurch soll festgestellt werden, ob die Theorie zur quantitativen Analyse der an Probanden gemessenen Korrelationsfunktionen, z.B. zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten im Kortex, verwendet werden kann.

Eine Methode, ein sich periodisch veränderndes Signal zeitaufgelöst mit kommerziell erhältlichen Multi-Tau-Korrelatoren zu messen wird in Kapitel 4 vorgestellt. Bei dieser Methode wird der Photonenzähler nur für ein kleines Zeitfenster geöffnet. Durch das Verschieben dieses Fensters relativ zu einem äußeren Triggersignal kann so das periodische Signal nacheinander abgetastet werden.

Eine wesentliche Verbesserung zu der oben beschriebenen Messanordnung wird in Kapitel 5 vorgestellt. Ein neu entwickelter Aufbau erlaubt es biologisches Gewebe mit nicht-stationärer Dynamik, mit einer hohen zeitlichen Auflösung auch bei niedrigen Zählraten zu vermessen. Zur parallelen Autokorrelation der Intensitätsfluktuationen statistisch unabhängiger, aber äquivalenter Speckles dient ein neu entwickelter Multi-Tau-Korrelator. Die Photonen werden dabei über Bündel aus Monomode-Fasern in ein Array von Avalanche-Photodioden geführt. Dieser Aufbau erlaubt die kontinuierliche Messung der transienten Dynamik tiefer Gewebeschichten, z.B. während Stimulationsexperimenten am menschlichen Kopf. In dem Abschnitt werden die Eigenschaften des neuen Aufbaus ausführlich charakterisiert, und es werden zudem verschiedene Anwendungsmöglichkeiten demonstriert.

Die in den vorherigen Kapiteln beschriebenen Messanordnungen und Analysemethoden werden in Kapitel 6 zur Untersuchung von Hirnfunktionen an Probanden verwendet. Anhand verschiedener äußerer Stimuli wird das optische Signal (NIRS und DWS) von spezifisch aktivierten Bereichen der Hirnrinde untersucht und mit komplementären Methoden verglichen. Fingerübungen machen sich z.B. in einer verstärkten Dynamik im motorischen Kortex bemerkbar. Einen ähnlichen Anstieg der Dynamik beobachtet man während visueller Stimulation im primären visuellen Kortex, sowie für Gedächtnisübungen im linken präfrontalen Kortex. Im Gegensatz dazu manifestiert sich Hyperventilation in verringertem Blutvolumen und Streuerdynamik im präfrontalen Kortex.

Eine kurze Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse dieser Dissertation, sowie ein Ausblick auf mögliche zukünftige Messungen schließen die Arbeit mit Kapitel 7 ab.

Kapitel 2

Theorie der dynamischen Vielfachstreuung von Licht

2.1 Einleitung

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Detektion von dynamischen Änderungen in biologischem Gewebe und Flüssigkeiten, speziell werden funktionelle Änderungen im Gehirn als Reaktion auf äußere Reize untersucht. Biologische Gewebe sind optisch inhomogen und absorbierend [1]. Den größten Anteil an der Streuung in den unterschiedlichen Geweben haben zelluläre Organellen, wie Mitochondrien [2]. Wie bei der Mehrheit der biologischen Gewebe hat man es auch bei der von uns benutzten nicht-invasiven Messung verschiedener Areale am Kopf von Probanden mit heterogenen, stark streuenden Medien (Haut, Blut, Hirn etc.) zu tun. Einfallendes Licht wird deshalb schon bei kleinen Abständen zwischen Lichtquelle und Detektor mehrfach gestreut. In diesem Kapitel wird die bei dieser Arbeit verwendete Messmethode, die dynamische Vielfachstreuung von Licht, beschrieben. Zu Beginn des Kapitels steht eine kurze Einführung in die statische Einfachstreuung von Licht. Eine Erweiterung der dynamischen Einfachstreuung bilden die Ausführungen zur dynamischen Vielfachstreuung von Licht, wie die Herleitung der Autokorrelationsfunktion für vielfach gestreutes Licht.

2.2 Statische Streuung

In Abhängigkeit vom Verhältnis der Wellenlänge der elektromagnetischen Welle zur Größe des streuenden Teilchens unterscheidet man bei der Streuung von Licht die Rayleigh-Streuung, die Rayleigh-Gans-Debye-Streuung und die Mie-Streuung [3, 4, 5]. Von Rayleigh-Streuung spricht man, wenn die Streuer R sehr klein im Vergleich zur Wellenlänge λ des Lichtes ($R \ll \lambda$) sind. Somit kann das elektrische Feld der Welle $\vec{E}(t) = \vec{E}_0 e^{-i\omega t}$ für die gesamte Ausdehnung des Teilchens als homogen angesehen werden. Das streuende Teilchen wird dann von der einfallenden Lichtwelle zu induzierten Dipolschwingungen angeregt

$\vec{p}_{ind}(t) = \alpha\vec{E}(t) = \alpha\vec{E}_0 e^{-i\omega t} = \vec{p}_0 e^{-i\omega t}$, welche ihrerseits wieder Dipolstrahlung emittieren. Die parallel zu der durch Einfalls- und Streurichtung bestimmten Ebene polarisierten Streuanteile sind dabei proportional zu $\cos^2\vartheta$ (vgl. Abb. 2.1).

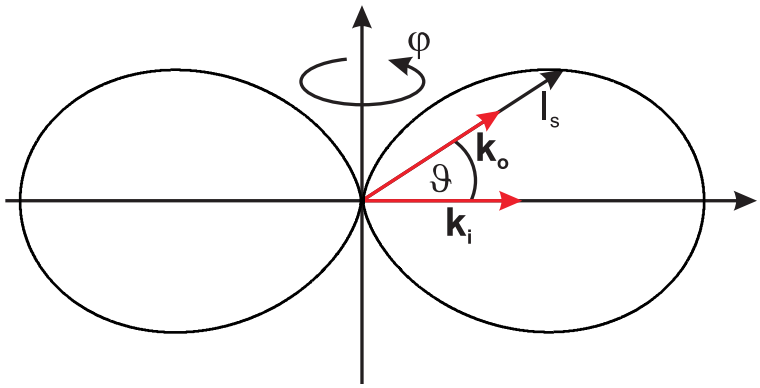

Abbildung 2.1: Rayleigh-Streuung: Polardiagramm für die relative Intensität I_s der parallel zur Streuebene polarisierten Streuanteile in Abhängigkeit des Streuwinkel ϑ.

Mit dem Energiefluss des auf das Teilchen einfallenden Lichts $\frac{cE_0^2}{8\pi}$ und der gestreuten Energie pro Zeiteinheit $\frac{1}{3}ck^4p_0^2$, sowie mit dem Wellenvektor $k = 2\pi/\lambda$ ergibt sich der totale Streuquerschnitt

$$\sigma = \frac{4(2\pi)^5}{3}\frac{\alpha^2}{\lambda^4}. \tag{2.1}$$

Für homogene Teilchen ist die Polarisierbarkeit α proportional zu R^3, die Intensität der gestreuten Strahlung I_s ist damit proportional zum Quadrat des Teilchenvolumens und umgekehrt proportional zur vierten Potenz der Wellenlänge $I_s \sim V^2/\lambda^4$. Aufgrund dieser Wellenlängenabhängigkeit kommt die Rayleigh-Streuung vor allem bei kurzwelliger Strahlung zum Tragen. Wegen der symmetrischen Verteilung der Streuintensität zwischen Vorwärts-und Rückwärts-Streuung bezeichnet man sie auch als quasi-isotrope Streuung.

Eine Näherungslösung für beliebig geformte Partikel, die bestimmten Bedingungen genügen müssen, liefert die Rayleigh-Gans-Debye-Theorie. Hier wird keine einheitliche Polarisierung über das Streuvolumen angenommen, sondern es werden infinitesimale Volumenelemente mit unterschiedlichen Dipolmomenten berücksichtigt. Das gesamte Streufeld wird dann als Superposition der einzelnen Beträge berechnet [Debye 1915, Gans 1925]. Dieser Ansatz gilt für den Fall, dass die Phasenverschiebung der Welle beim Durchqueren des Partikels hinreichend klein ist [4], also:

$$2kR|m-1| \ll 1 \tag{2.2}$$

mit dem relativen Brechungsindex $m \equiv n_i/n_a$ (n_i: Brechungsindex des Partikels und n_a: Brechungsindex des umgebenden Mediums). Bei der Summation

über alle Volumenelemente geht die Teilchenform über einen zusätzlichen, winkelabhängigen Formfaktor $f(\theta) = \frac{1}{V}\int e^{(i\vec{q}\cdot\vec{r})}dV$ mit ein, wobei für den Streuvektor $\vec{q} = \vec{k}_o - \vec{k}_i$ und $|\vec{q}| = 2k\sin(\theta/2)$ gilt. Da der Formfaktor der Felder quadratisch in die Intensität

$$I_s \sim V^2/\lambda^4|f(\theta)|^2 \tag{2.3}$$

eingeht, ist sie proportional zum Quadrat des winkelabhängigen Formfaktors (vgl. Abb. 2.2)

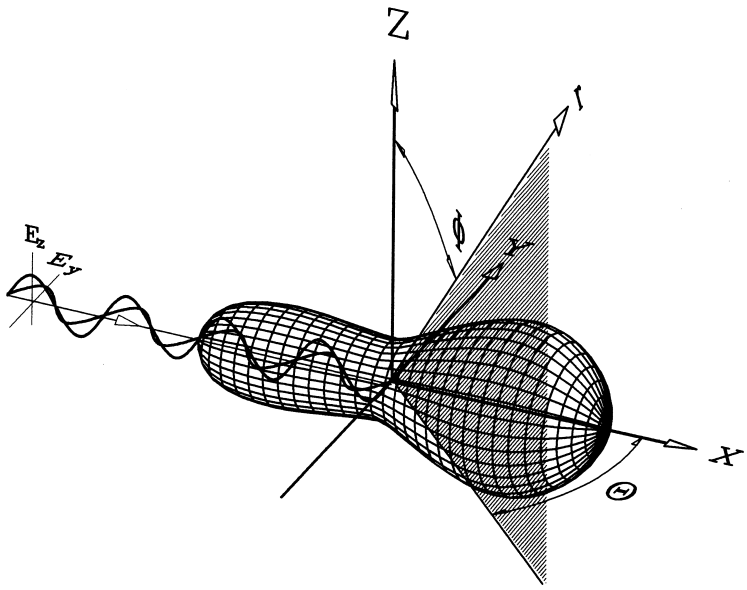

Abbildung 2.2: Verteilung der Rayleigh-Gans-Debye-Streuung für monochromatisches und unpolarisiertes Licht in Abhängigkeit des Azimutwinkels θ und des Polarwinkels ϕ. Die Überhöhung in Vorwärtsrichtung nimmt mit wachsender Teilchengröße zu [6].

und damit nicht mehr isotrop wie bei der Rayleigh-Streuung.

Bei der Erweiterung auf stärker streuende und beliebig grosse Teilchen liefert die Mie-Theorie für sphärische Kugeln eine exakte Lösung. Die von Gustav Mie 1908 erstmal in einem Aufsatz über die mathematische Beschreibung der Farbeffekte einer Suspension von kolloidalen Goldnanopartikeln beschriebene Methode löst, ausgehend von den Maxwell'schen Gleichungen, die Ausbreitung einer elektromagnetischen Welle in einem Medium, welches stark streuende Kugeln enthält [7]. Strukturen im Gewebe (Organellen) sind aufgrund ihrer Größe im sichtbaren bis nahen infraroten Bereich Mie-Streuer, da für sie im Allgemeinen $2kR|m-1| \geq 1$ gilt, z.B. rote Blutkörperchen: $R \sim 5\,\mu\text{m}; m \sim 1,0548$:

$$\frac{4\pi R}{\lambda}|m-1| \sim \frac{4\pi \cdot 5\,\mu\text{m}}{0,8\,\mu\text{m}}|0,0548| \sim 4,3 \geq 1\ . \tag{2.4}$$

Bei der Herleitung der Mie-Streuung, werden die elektrischen Felder der einfallenden, der gestreuten sowie der Welle innerhalb des streuenden Teilchens in

Potenzreihen entwickelt [3, 4]. Für ein homogenes sphärisches Teilchen gilt für die Koeffizienten der Streumatrix: $S_3 = S_4 = 0$ die Beziehung zwischen einfallendem und gestreutem Feld vereinfacht sich damit zu [8]:

$$\begin{pmatrix} E_{\parallel s} \\ E_{\perp s} \end{pmatrix} = \frac{e^{ik(r-z)}}{-ikr} \begin{pmatrix} S_1 & 0 \\ 0 & S_2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} E_{\parallel e} \\ E_{\perp e} \end{pmatrix}. \tag{2.5}$$

Für die Elemente S_1 und S_2 gelten die Summenformeln:

$$S_1 = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n(n+1)} (a_n \pi_n + b_n \tau_n)$$

und

$$S_2 = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n(n+1)} (a_n \tau_n + b_n \pi_n) \tag{2.6}$$

mit den Koeffizienten der Potenzreihen a_n und b_n, sowie den winkelabhängigen Funktionen π_n und τ_n, welche man aus den Legendre-Polynomen erhält:

$$\pi_n = \frac{(-dP_n/d\theta)}{\sin\theta}, \qquad \tau_n = \frac{d(-dP_n/d\theta)}{d\theta}. \tag{2.7}$$

Integriert man über alle Polarisationen, so erhält man aus der Matrix in Gleichung (2.5) unmittelbar für die gestreute Intensität $I_s \sim I_e[S_1(\theta)^2 + S_2(\theta)^2]$. Die Intensität der gestreuten Strahlung hat dabei eine Überhöhung in Vorwärtsrichtung, welche mit zunehmendem Teilchenradius ansteigt. Die Streuung an Teilchen, deren Brechungsindex nicht konstant über das Volumen ist, kann mithilfe der Mie-Theorie näherungsweise behandelt werden.

Die gesamte gestreute Intensität I_s ist für alle Arten der Streuung ebenfalls stark abhängig von der Teilchengröße. Abbildung 2.3 zeigt I_s aufgetragen über der Teilchengröße.

Streng genommen ist die Mie-Theorie nur für homogene, sphärische, isotrope und nicht-magnetische Partikel gültig. Bei biologischen Geweben ist ein analytischer Ansatz auf der Basis der Maxwell-Gleichungen zur Beschreibung der Lichtstreuung allerdings problematisch. Man bedient sich in diesem Fall phänomenologischer Ansätze, um die Lichtausbreitung in einem solchen Medium zu beschreiben.

2.3 Die Entstehung von Speckle-Mustern

Speckle-Muster (Speckle) sind eine Vielstrahl- Interferenzerscheinung, welche aus der Interferenz einer großen Zahl von Elementarwellen mit unterschiedlichen Phasen, welche bei der Reflexion von kohärentem Licht von einer rauen Oberfläche oder beim Durchgang durch ein streuendes Medium entstehen, wenn stark kohärentes Licht mehrfach gestreut wird [1, 10, 11]. Im Fernfeld (*Abstand* $\gg \lambda$)

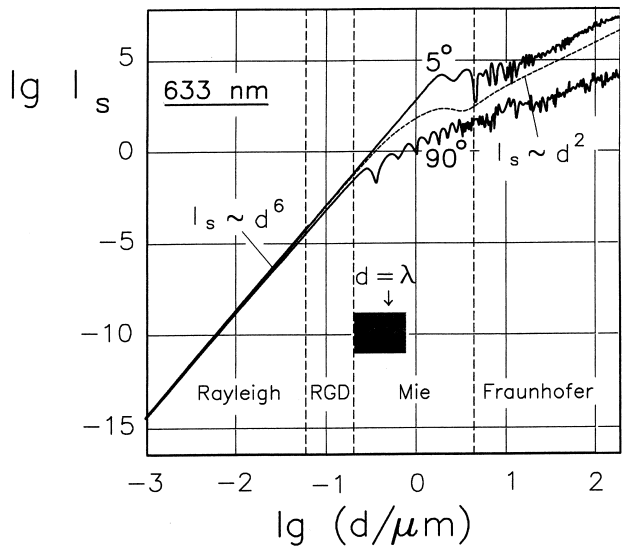

Abbildung 2.3: Normalisierte Streuintensität I_s bei 633 nm als Funktion der Teilchengröße d. Je nach Teilchengröße d unterliegt die Streuung dabei von der Rayleigh, Rayleigh-Gans-Debye, Mie und Fraunhofer unterschiedlichen theoretischen Betrachtungen [9].

führen diese Phasenverschiebungen zu einem Interferenzmuster, welches Information über die Struktur des streuenden Mediums. Bewegen sich die Streuer gegeneinander, so verändert sich das Speckle-Muster (vgl. Kap.2.4) .

Die streuenden Bestandteile in fast allen biologischen Objekten verändern ihre Position im Raum mit der Zeit, was bei der Bestrahlung mit kohärentem Licht zu fluktuierenden Speckles führt. Gebräuchliche Parameter zur Beschreibung von Speckle-Mustern sind die Wahrscheinlichkeitsverteilung der Intensität $P(I)$ und der Kontrast

$$V_I = \sigma_I / \langle I \rangle,$$

mit der mittleren Intensität $\langle I \rangle$ und der Varianz der Intensitäts-Fluktuationen $\sigma_I^2 = \langle I^2 \rangle - \langle I \rangle^2$. Für ideale Bedingungen, d.h. unter der Annahme unabhängiger Streuer und nicht-korrelierter Streupfade sind die Streufelder unabhängige Zufallsvariablen, und aus dem Zentralen Grenzwertsatz der Wahrscheinlichkeitstheorie folgt für sehr viele Streuereignisse, dass die komplexe Amplitude des gestreuten Lichtfeldes einer Gauß'schen Statistik genügt. In diesem Fall ist der Kontrast maximal, d.h. $V_I = 1$, und die Wahrscheinlichkeitsverteilung der Intensität ist eine negative Exponentialfunktion:

$$P(I) = \langle I \rangle^{-1} \exp(-I/\langle I \rangle).$$

Folglich ist der wahrscheinlichste Wert für die Intensität in einem Speckle-Muster $I = 0$, destruktive Interferenz tritt also mit der höchsten Wahrscheinlichkeit auf. Die Feinheit der auftretenden Struktur, angegeben durch die Ausdehnung der

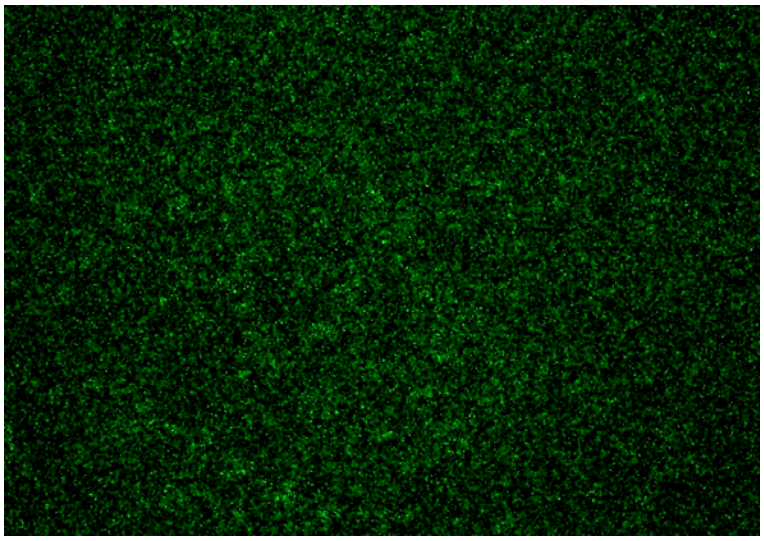

Abbildung 2.4: Speckle-Muster einer in Transmission beleuchteten Schaumstoffprobe bei 514 nm.

Speckle in einer Bildebene im Abstand d ist für Einfachstreuung gegeben durch die Relation $\triangle y \simeq \lambda/\Omega$ [12], mit der numerischen Apertur $\Omega = a/d$, wobei a der Durchmesser der beleuchteten Probenfläche ist, und der Wellenlänge λ.

2.4 Dynamische Einfachstreuung

Die dynamische Lichtstreuung (DLS), auch als quasi-elastische Lichtstreuung (QELS) oder Photonen-Korrelationsspektroskopie (PCS) bezeichnet, ist eine Methode, die zwischen der statischen und der inelastischen Lichtstreuung einzuordnen ist. Bei der DLS findet kein Energieübertrag zwischen einfallender Lichtwelle und Streuzentrum statt, so dass es nicht zu Anregungen oder Relaxationen im Streuzentrum kommt. Allerdings erfährt monochromatisch eingestrahltes Laserlicht eine Dopplerverbreiterung, die zurückzuführen ist auf die Bewegung der Teilchen, welche aber sehr klein und für die DLS nicht von Bedeutung ist. Wegen dieser Bewegung der streuenden Teilchen fluktuiert das gestreute elektrische Feld $E(t)$ und mit ihm auch die Intensität $I(t)$ der Speckle [13]. Durch die zeitliche Auflösung dieser Streulichtfluktuationen lassen sich die dynamischen Eigenschaften bestimmen. Die Fluktuationen bewirken, dass das elektrische Feld $E(t)$ zu verschiedenen Zeiten t und $t + \tau$ im Allgemeinen verschiedene Werte annimmt. Nichtsdestotrotz liegt, falls τ sehr klein im Vergleich zu den die Fluktuationen bestimmenden Zeiten ist, auch $E(t)$ sehr nah bei $E(t + \tau)$. D.h. $E(t + \tau)$ ist korreliert mit $E(t)$ für kleine Zeiten τ. Diese Korrelation zerfällt aber für große τ. Ihren mathematischen Ausdruck findet diese Korrelation in der Zeit-Auto-

Korrelationsfunktion

$$G_1(\tau) \equiv \langle E(t)E^*(t+\tau)\rangle = \lim_{T\to\infty} \frac{1}{T}\int_0^T E(t)E^*(t+\tau)dt \tag{2.8}$$

oder auch Korrelationsfunktion 1.Ordnung und in der Intensitäts-Korrelationsfunktion oder Korrelationsfunktion 2.Ordnung

$$G_2(\tau) \equiv \langle I(t)I(t+\tau)\rangle, \tag{2.9}$$

welche der Messung zugänglich ist. Diese beiden Korrelationsfunktionen werden im Falle von normalverteilten, d.h gaußverteilten Signalen, durch die Siegert-Beziehung miteinander verknüpft:

$$G_2(\tau) = |G_1(0)|^2 + |G_1(\tau)|^2, \tag{2.10}$$

welche für die normierten Korrelationsfunktionen

$$g_1(\tau) = G_1(\tau)/\langle E(t)\rangle^2 = G_1(\tau)/\langle I(t)\rangle \tag{2.11}$$

und

$$g_2(\tau) = G_2(\tau)/\langle I(t)\rangle^2 \tag{2.12}$$

folgende Gestalt annimmt:

$$g_2(\tau) = 1 + |g_1(\tau)^2|. \tag{2.13}$$

Die Siegert-Relation der normierten Autokorrelationsfunktionen wird bei einem realen System noch erweitert zu

$$g_2(\tau) = 1 + f|g_1(\tau)^2|, \tag{2.14}$$

wobei f einen Kohärenzfaktor darstellt, dessen Kehrwert gleich der Anzahl der gemessenen Moden ist. Das gesamte an einem Volumen von N Teilchen gestreute Feld $E(t)$ lässt sich als Summe der von den streuenden Teilchen ausgehenden Wellen beischreiben. Sind die einzelnen Streuer isotrop, so gilt für das resultierende Feld

$$E(t) = \sum_j^N A\exp(i\vec{q}\vec{r}_j(t)), \tag{2.15}$$

wobei es sich bei den $\vec{r}_j(t)$ um die sich zeitlich verändernden Positionen der einzelnen Streuer handelt. Für die normierte Korrelationsfunktion aus Gl. (2.11) gilt somit

$$g_1(\tau) = \frac{\langle\sum_{j,k}^N \exp(i\vec{q}[\vec{r}_j(0) - \vec{r}_k(\tau)])\rangle^2}{\langle\sum_{j,k}^N \exp(i\vec{q}[\vec{r}_j(0) - \vec{r}_k(0)])\rangle^2}. \tag{2.16}$$

Für unabhängige Positionen der Streuer $\vec{r}_j(t)$ verschwinden die Summanden mit $j \neq k$, und es folgt:

$$g_1(\tau) = N^{-1} \sum_j^N \langle \exp(i\vec{q} \cdot [\vec{r}_j(0) - \vec{r}_j(\tau)]) \rangle. \tag{2.17}$$

Da alle $\vec{r}_j$ äquivalent sind, kann man die Summation auch ausführen, und für die normierte Korrelationsfunktion ergibt sich:

$$g_1(\tau) = \langle \exp(i\vec{q} \cdot [\vec{r}(0) - \vec{r}(\tau)]) \rangle = \int P(\triangle\vec{r}(\tau)) \exp[-iq\triangle r(\tau)] d\triangle r(\tau), \tag{2.18}$$

wobei $\vec{r}(0) - \vec{r}(\tau) = \triangle\vec{r}$ die mittlere Verrückung der streuenden Teilchen in der Zeit τ und $P(\triangle\vec{r}(\tau))$ die Wahrscheinlichkeitsverteilung der Verrückungen darstellt. Im Fall von monodispersen Brown'schen Teilchen gilt für die Verteilung der Verrückungen der Streuer $\triangle\vec{r}$:

$$P(\triangle\vec{r}(\tau)) = [\frac{3}{2\pi\langle\triangle\ r^2(\tau)\rangle}]^{-3/2} \exp[-\frac{3\triangle r^2(\tau)}{2\langle\triangle r^2(\tau)\rangle}], \tag{2.19}$$

wobei $\langle\triangle\ r^2(\tau)\rangle$ die mittlere quadratische Verrückung der Streuer in der Zeit τ ist. Mit der Diffusionskonstante $D = \langle\triangle\ r^2(\tau)\rangle/6\tau$ für diffusive Teilchen erhält man folgenden exponentiellen Verlauf der Feld-Auto-Korrelationsfunktion:

$$g_1(\tau) = \exp[-\frac{q^2\langle\triangle\ r^2(\tau)\rangle}{6}] = \exp[-q^2 D\tau]. \tag{2.20}$$

Aus Gl. (2.20) ist zu ersehen, dass Verrückungen in der Größenordnung $\triangle\vec{r} \sim \lambda$ einen Zerfall der Korrelationsfunktion verursachen. Über D ist die Korrelationsfunktion direkt mit der Größe der Streuer verknüpft. Befinden sich die streuenden Teilchen in einer Flüssigkeit mit bekannter Temperatur T und Viskosität η, bietet die dynamische Lichtstreuung über die Stokes-Einstein-Relation $D = \frac{kT}{6\pi\eta R}$ eine einfache Möglichkeit zur Bestimmung der Teilchengröße.

2.5 Dynamische Vielfachstreuung

2.5.1 Einleitung

Die dynamische Vielfachstreuung von Licht (DWS) [14, 15] ist der im vorigen Abschnitt besprochenen dynamischen Lichtstreuung (DLS) sehr ähnlich. In beiden werden die zeitlichen Intensitätsfluktuationen $I(\vec{r}, t)$ eines Speckle gemessen. Diese Fluktuationen werden jeweils durch die dazugehörigen zeitlichen Autokorrelationsfunktionen beschrieben und treffen somit Aussagen über die dynamischen Eigenschaften des streuenden Mediums. Um bei der DLS aussagekräftige Ergebnisse aus den Zerfallszeiten der gemessenen Korrelationsfunktion zu erhalten, wird eine Längenskala benötigt, welche man aus dem Streuvektor bestimmt.

Dies führt zu einer strikten Limitierung der DLS auf Einfachstreuung: Würde das Licht ein zweites Mal gestreut, wäre der dazwischenliegende Streuvektor unbekannt. Man hätte dann keine Längenskala was wiederum aussagefähige Ergebnisse verhindert.

DWS nähert sich dem Problem der mehrfachen Streuung von einem gänzlich anderen Regime ausgehend, nämlich der sehr starken Vielfachstreuung, an. In diesem Limit wird der einfallende Lichtstrahl auf seinem Pfad so oft gestreut, dass die Richtung der Streuvektoren völlig zufällig verteilt ist, wodurch man das Problem der unbekannten Streuvektoren mit statistischen Näherungen behandeln kann. Der Zerfall der Autokorrelationsfunktion rührt von einer Änderung der Phase entlang der Pfadlänge um ungefähr $\approx \pi$ her. Die Berechnung dieser Phasenänderung bedingt zwei fundamentale Näherungen:

Die erste Näherung betrifft die Beschreibung der Lichtausbreitung in dem streuenden Medium. Die einfachste Beschreibung ist die einer ungeordneten Zufallsbewegung (*random walk*). Diese Diffusions-Näherung vernachlässigt alle Interferenzeffekte der Lichtwelle innerhalb des streuenden Mediums, und nimmt an, dass die Intensität des Lichts diffundiert.

Die zweite fundamentale Näherung betrifft die exakten Details der einzelnen Streuereignisse. In Anbetracht der großen Zahl an Streuereignissen kann man eine Näherung in Form eines gemittelten Streuereignisses einführen, d.h. die Pfadlänge bestimmt die Anzahl der zu diesem Pfad gehörenden gemittelten Streuereignisse.

2.5.2 Herleitung der Korrelationsfunktion g_1

Im Limit der Vielfachstreuung gibt es zwei charakteristische Größen, zum einen die mittlere freien Weglänge l zwischen zwei Streuereignissen und zum anderen die mittlere freie Transportweglänge l^*. Die mittlere freie Weglänge ist die durchschnittliche Distanz zwischen zwei Streuereignissen, in einer Suspension mit der Anzahldichte der Streuer ϱ und dem totalen Streuquerschnitt σ gilt [16]

$$l = \frac{1}{\varrho\sigma} \,. \tag{2.21}$$

Mit der mittleren freien Transportweglänge l^* bezeichnet man die Distanz, bei welcher keine Information über die ursprüngliche Richtung der einfallenden Welle $\vec{k}$ mehr vorhanden ist. Sie ist mit der mittleren freien Weglänge verknüpft über

$$l^* = \frac{l}{\langle 1 - \cos\theta \rangle} \tag{2.22}$$

mit dem Streuwinkel θ und der Ensemblemittelung $\langle \ldots \rangle$ über die Streuereignisse. An Gl. (2.22) erkennt man, dass nur für isotrope Streuung (Rayleigh) $l^* = l$ gilt; für gerichtete, nicht-korrelierte Streuer gilt immer $l^* > l$. Mit der Dicke der streuenden Suspension L kann man die Bedingung für ein stark streuendes Limit damit auch schreiben als $L \gg l^*$.

Um einen Ausdruck für die Korrelationsfunktion im Limit starker Vielfachstreuung zu erhalten, betrachten wir zuerst einen einzelnen Pfad eines Photons welches N mal in einer Probe gestreut wird, bevor es mit einem Detektor (welcher das $(N+1)$-te Streuereignis darstellt) gemessen wird (vgl. Abb. 2.5).

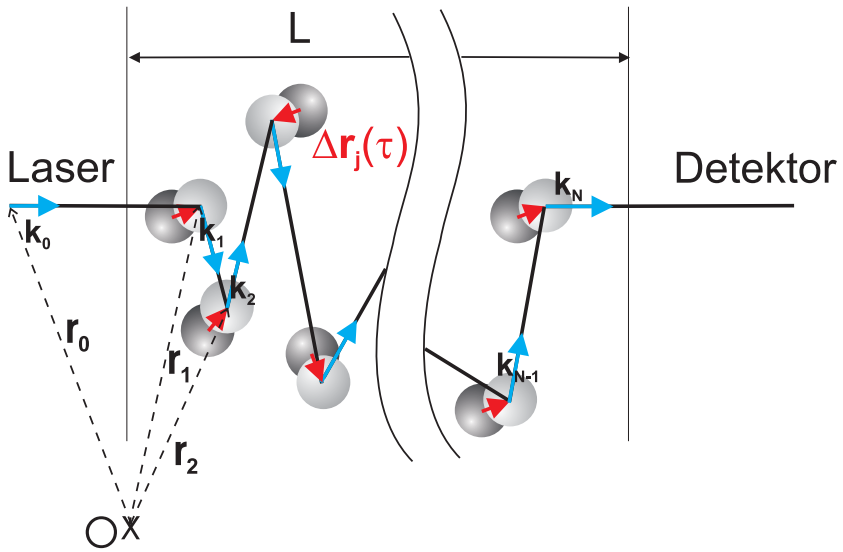

Abbildung 2.5: Ein einzelner Pfad durch eine mehrfach streuende Probe. Die Wellenvektoren $\mathbf{k}_j$ haben alle den gleichen Betrag k_0 und die Positionsvektoren $\mathbf{r}_j$ geben die momentane Position der streuenden Partikel an. Die roten Pfeile stehen für die jeweilige Verschiebung der Partikel $\Delta\mathbf{r}_j(\tau)$ in der Zeit τ.

Die Pfadlänge entspricht dann

$$s = \sum_{i=0}^{N} |\vec{r}_{i+1} - \vec{r}_i| = \sum_{i=0}^{N} \left(\frac{\vec{k}_i}{|\vec{k}_i|} \cdot (\vec{r}_{i+1} - \vec{r}_i) \right) \tag{2.23}$$

mit dem Wellenvektor $\vec{k}_i$ des Lichts nach dem i-ten Streuereignis und der Position des i-ten streuenden Teilchens $\vec{r}_i$. Da wir es in diesem Fall mit quasi-elastischer Streuung zu tun haben, besitzen alle Wellenvektoren denselben Betrag $|\vec{k}_i| = k_0$. Somit ist die totale zeitabhängige Phasenverschiebung $\phi(t)$, welche das Licht auf einem Pfad P durch die Probe erfährt:

$$\phi_P(t) = k_0 s(t) = \sum_{i=0}^{N} \vec{k}_i(t) \cdot [\vec{r}_{i+1}(t) - \vec{r}_i(t)]. \tag{2.24}$$

Das gesamte elektrische Feld am Detektor ergibt sich aus der Superposition aller Pfade P

$$E(t) = \sum_{P} E_P \exp(i\phi_P(t)), \tag{2.25}$$

wobei E_P die Amplitude des elektrischen Feldes vom Pfad P am Detektor beschreibt. Im Unterschied zur Einfachstreuung in Gl. (2.15) handelt es sich hier um zwei Summen, eine über die Lichtpfade und eine über die Streuer in dem jeweiligen Pfad. Das hat unter anderem zur Folge, dass die Amplitude E_P nicht einzig von der Leistung des einfallenden Laserlichts, sondern auch von der Wahrscheinlichkeit eines gegebenen Pfades abhängt. Mit Gl. (2.25) erhält man für die normierte zeitliche Autokorrelationsfunktion:

$$g_1(\tau) \equiv \left(\frac{\langle E(0)E^*(\tau)\rangle}{\langle E\rangle^2}\right) = \frac{1}{\langle I\rangle}\left\langle\left(\sum_P E_P e^{i\phi_P(0)}\right)\left(\sum_{P'} E_{P'} e^{-i\phi_{P'}(\tau)}\right)\right\rangle. \tag{2.26}$$

Für unabhängige Streuer kann man die Felder der verschiedenen Pfade in guter Näherung als unkorreliert annehmen. Somit tragen Pfade mit $P \neq P'$ nicht zur Funktion bei, und man erhält

$$\begin{aligned} g_1(\tau) &= \frac{1}{\langle I\rangle}\left\langle\sum_P |E_P|^2 e^{i[\phi_P(0)-\phi_P(\tau)]}\right\rangle \\ &= \sum_P \frac{\langle I_P\rangle}{\langle I\rangle}\langle e^{i[\phi_P(0)-\phi_P(\tau)]}\rangle \\ &= \sum_P \frac{\langle I_P\rangle}{\langle I\rangle}\langle e^{-i\Delta\phi_P(\tau)}\rangle \end{aligned} \tag{2.27}$$

mit der gesamten dynamischen Phasenänderung des elektrischen Feldes für einen Pfad $\Delta\phi_P(\tau) = \phi_P(\tau) - \phi_P(0)$. Aus Gl. (2.24) sowie anhand der Definitionen der Streuvektoren $\vec{q}_i \equiv \vec{k}_i(0) - \vec{k}_{i-1}(0)$, der Verschiebungsvektoren $\Delta\vec{r}_i(\tau) \equiv \vec{r}_i(\tau) - \vec{r}_i(0)$ und $\Delta\vec{k}_i(\tau) \equiv \vec{k}_i(\tau) - \vec{k}_i(0)$ erhält man

$$\Delta\phi_P(\tau) = \sum_{i=1}^{N} \vec{q}_i \cdot \Delta\vec{r}_i(\tau) + \sum_{i=0}^{N} \Delta\vec{k}_i(\tau) \cdot [\vec{r}_{i+1}(\tau) - \vec{r}_i(\tau)], \tag{2.28}$$

wobei man noch berücksichtigt, dass sich sowohl Laser als auch Detektor nicht bewegen. Für elastische Streuung und kleine Verrückungen der Streuer gilt in maßgebender Ordnung $\Delta\vec{k}_i(\tau) \perp \vec{k}_i(\tau)$, damit kann man den zweiten Summanden in Gl. (2.28) vernachlässigen, und man erhält:

$$\Delta\phi_P(\tau) = \sum_{i=1}^{N} \vec{q}_i \cdot \Delta\vec{r}_i(\tau). \tag{2.29}$$

Aus dem zentralen Grenzwertsatz folgt für eine grosse Anzahl Streuer N, dass $\Delta\phi_P(\tau)$ normalverteilt ist. Damit erhält man bei der Mittelung über die Phasenfaktoren in Gl. (2.27):

$$\langle e^{-i\Delta\phi_P(\tau)}\rangle = e^{-\langle\Delta\phi_P^2(\tau)\rangle/2} \tag{2.30}$$

Mit der Annahme der statistischen Unabhängigkeit aufeinander folgender Phasenfaktoren $\vec{q}_i \cdot \Delta\vec{r}_i(\tau)$ und mit Gl. (2.29) ergibt sich

$$\begin{aligned} \langle \Delta\phi_P^2(\tau)\rangle &= \sum_{i=1}^{N}\sum_{j=1}^{N}\langle[\vec{q}_i \cdot \Delta\vec{r}_i(\tau)][\vec{q}_j \cdot \Delta\vec{r}_j(\tau)]\rangle \\ &= \sum_{i=1}^{N}\langle[\vec{q}_i \cdot \Delta\vec{r}_i(\tau)]^2\rangle\,. \end{aligned} \tag{2.31}$$

Nimmt man weiter an, das die Verschiebungsvektoren $\Delta\vec{r}_i(\tau)$ und die Streuvektoren $\vec{q}_i$ voneinander unabhängig sind, gilt für die Mittelung $\langle \Delta\phi_P^2(\tau)\rangle = N\langle q^2\rangle\Delta r(\tau)^2\rangle/3$. Den Mittelwert $\langle q^2\rangle$ kann man auch durch die mittlere freie Transportweglänge l^* ausdrücken:

$$\langle q^2\rangle = \langle 2k_0\sin(\theta/2)\rangle = 2k_0^2\langle 1-\cos\theta\rangle = 2k_0^2\frac{l}{l^*}. \tag{2.32}$$

Ersetzt man noch die Anzahl der Streuereignisse N durch die Pfadlänge $s = Nl$ für $N \gg 1$, erhält man für den Mittelwert vom Quadrat der dynamischen Phasenverschiebung

$$\langle \Delta\phi_P^2(\tau)\rangle = \frac{2}{3}k_0^2\langle\Delta r(\tau)^2\rangle\frac{s}{l^*}. \tag{2.33}$$

An den beiden oberen Gleichungen erkennt man, das für $N \gg 1$ $\langle \Delta\phi_P^2(\tau)\rangle$ nur von der Pfadlänge s abhängt. Damit kann man die Summe über die Pfade in Gl. (2.27) durch eine gewichtete Summation über die Pfadlängen s ersetzen:

$$g_1(\tau) = \sum_s P(s)\exp\left(-\frac{1}{3}k_0^2\langle\Delta r(\tau)^2\rangle\frac{s}{l^*}\right) \tag{2.34}$$

mit der Wahrscheinlichkeit $P(s)$ für einen Pfad mit der Länge s. An Gl. (2.34) erkennt man direkt eine grundlegende Eigenschaft der dynamischen Vielfachstreuung: Für lange Photonenpfade $s \gg l^*$ genügen im Gegensatz zur Einfachstreuung schon sehr kleine Verschiebungen der Streuer $|\Delta\vec{r}(\tau)|$ (weit unterhalb der Wellenlänge des eingestrahlten Lichts), um eine merkliche Änderung der Korrelationsfunktion $g_1(\tau)$ zu erhalten, oder im Umkehrschluss: Bei gegebener Geschwindigkeit bewirken sehr kurze Zeiten τ einen Abfall der Korrelation. Diese Abhängigkeit zwischen Pfadlänge s und Korrelationszeit τ hat auch zur Folge, dass der erste Abfall der Korrelation bei kurzen Zeiten τ von langen Pfaden herrührt, während die kurzen Photonenpfade stärkeren Einfluss auf die Korrelationsfunktion bei langen Zeiten τ haben. Bei inhomogenen (z.B. mehrschichtigen) Proben lässt sich so über die Form der Korrelationsfunktion auch eine teilweise räumliche Trennung der gemessenen Werte erreichen; dies wird im nächsten Kapitel ausführlich besprochen. Berücksichtigt man zusätzlich noch Absorption in der Probe, so muss man in Gl. (2.34) noch die Pfadlängenverteilung $P(s)$

durch $P_0(s)e^{-\frac{s}{l_a}}$ mit der Absorptionslänge l_a ersetzen [17], wobei sich $P_0(s)$ auf die Pfadlängenverteilung der jeweiligen Geometrie ohne Absorption bezieht:

$$g_1(\tau) = \sum_s P_0(s) \exp\left(-\frac{s}{l_a} - \frac{1}{3}k_0^2\langle\Delta r(\tau)^2\rangle\frac{s}{l^*}\right). \tag{2.35}$$

Durch die Absorption werden lange Pfade abgeschnitten, was zu einem langsameren Zerfall der Korrelationsfunktion g_1 führt.

Nimmt man diffusive Bewegung der Streuer an und geht über zum Grenzfall des Kontinuums, so kann man Gl. (2.34) auch schreiben als

$$g_1(\tau) = \int_0^\infty P(s) \exp\left(-\frac{2\tau}{\tau_0}\frac{s}{l^*}\right) ds, \tag{2.36}$$

mit der Zeit $\tau_0 \equiv (k_0^2 D)^{-1}$, vergleichbar der Zeitkonstanten für die dynamische Einfachstreuung [15].

Die zur Herleitung einer exakten Korrelationsfunktion aus der allgemeinen Form in Gl. (2.36) benötigte Pfadlängenverteilung $P(s)$ ist abhängig von Größe und Form der Probe, sowie der Platzierung von Detektor und Quelle. Für den einfachen Fall der Transmission durch eine Schicht der Dicke L mit gegenüberliegender Quelle und Detektor, wie in Abb. (2.5), kann man Näherungsweise annehmen, dass alle Photonen ungefähr die gleiche Pfadlänge $s = L^2/l^*$ besitzen. Die Pfadlängenverteilung kann man deshalb mit $P(s) = \delta(L^2/l^* - s)$ annähern. Diese Verteilung führt, eingesetzt in Gl. (2.36), zu einem ähnlichen exponentiellen Abfall der Korrelationsfunktion $g_1(\tau) = \exp(-2k_0 D(L/l^*)^2 t)$ wie bei einfach gestreutem Licht. Infolge der charakteristischen Zerfallszeit $\tau_c \equiv (2k_0 D(L/l^*)^2)^{-1}$ liegt hier aber ein deutlich schnellerer Abfall als bei der dynamischen Einfachstreuung vor.

Aufgrund der starken Absorption in biologischem Gewebe kann dort in der Regel nicht in Transmission, sondern nur in einer Rückstreugeometrie gemessen werden. Die Herleitung für eine komplexe Rückstreugeometrie mit mehreren Schichten erfolgt im nächsten Kapitel.

Kapitel 3

DWS an einem mehrschichtigen Phantom-Modell

Alle in späteren Kapiteln erwähnte Messungen am Kopf von Probanden erfolgen nicht-invasiv und aufgrund der starken Absorption mit einem begrenzten Abstand zwischen Detektor und Quelle in einer Transmissionsgeometrie. Die detektierten Photonen durchqueren auf ihrem Pfad deshalb unterschiedliche Bereiche des Kopfes. Dadurch beinhalten unsere Messwerte sowohl die optischen Eigenschaften des Hirngewebes als auch Informationen aus anderen Bereichen des Kopfes, z.B. die Absorption des Hämoglobin in der Kopfhaut oder die Streueigenschaften des Schädelknochens. Um diese unterschiedlichen Ursprünge des Signals in der gemessenen Korrelationsfunktion $g_1(\tau, \mathbf{r}) = \langle E^*(\tau, \mathbf{r}) \cdot E(0, \mathbf{r})\rangle / \langle |E(0, \mathbf{r})|^2\rangle$ voneinander zu unterscheiden, näherten wir die realen Gegebenheiten in einem menschlichen Kopf durch ein System aus mehreren ebenen Schichten an (vgl. Abb. 3.1). Die erste Lage repräsentiert dabei die Kopfhaut, die zweite Schicht

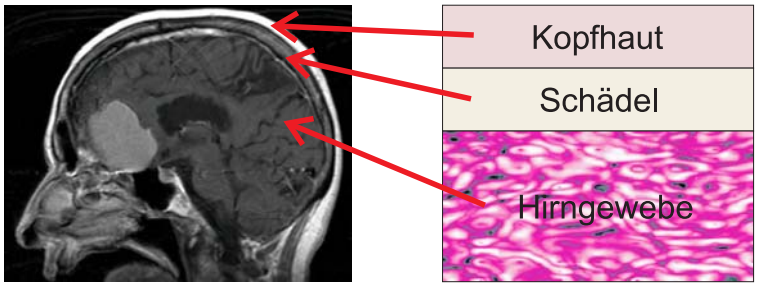

Abbildung 3.1: Anatomische Röntgenaufnahme eines Teils einer menschlichen Schädelstruktur (links), schematisch nachgebildet mit einer Schichtgeometrie (rechts).

steht für den Schädelknochen und die dritte Zone, die wir als halb-unendlich annehmen, simuliert das gesamte Hirngewebe. Um experimentell zu ermitteln wie genau die zur Auswertung unserer Probandendaten verwendete Theorie, welche auf der Lösung der Korrelations-Diffusions-Gleichung basiert, ist, führten

wir Messungen an einem mehrschichtigen Phantommodell durch. Die gemessenen Werte für $g_1(\tau, \mathbf{r})$ für verschiedene Abstände zwischen Detektor und Quelle, sowie für unterschiedliche Geometrien, wurden mit den Ergebnissen welche die Lösungen der Korrelations-Diffusions-Gleichung lieferten verglichen. Die zur Berechnung der Korrelationsfunktionen $g_1(\tau, \mathbf{r})$ verwendeten Parameter der einzelnen Schichten wurden zuvor in unabhängigen Experimenten ermittelt.

3.1 Experimenteller Aufbau

Abbildung 3.2 a) zeigt schematisch den Aufbau des von uns benutzten Modells. Für die Versuche an einem System aus zwei Schichten besteht es aus einem zylindrischen Gefäss aus Edelstahl (Durchmesser 15 cm). Das Gefäss wurde verwendet, um Modelle mit 1 bis 3 Schichten zu untersuchen. Beim einfachen halb-

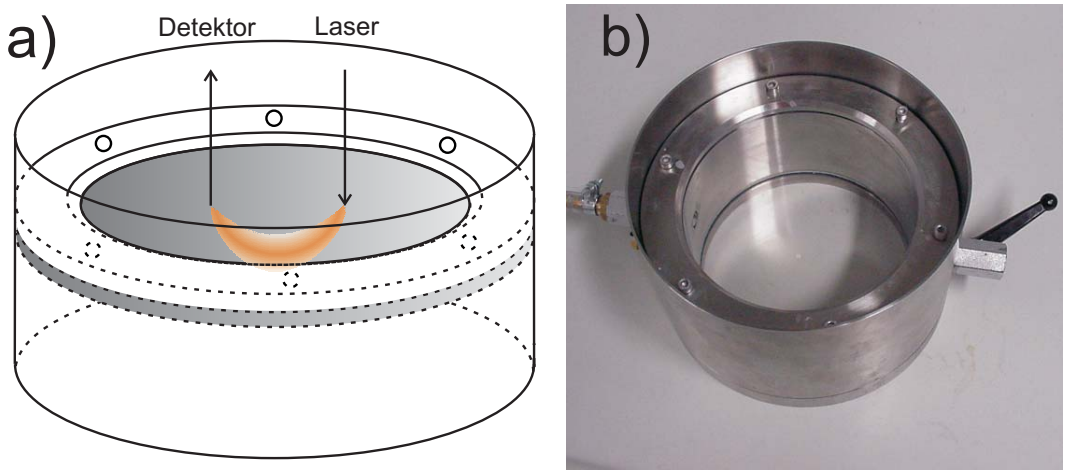

Abbildung 3.2: a) Schematische 3-dim Darstellung des in diesem Versuch verwendeten Phantommodells. Zur Trennung der beiden flüssigen Schichten wurde im zweischichtigen Modell eine Glasscheibe und im dreischichtigen Modell eine trübe Platte aus Polyesterharz verwendet. b) Originalfoto des verwendeten Phantommodells.

unendlichen Phantom bestand die einzige Schicht aus einer wässrigen Suspension von Kugeln aus Polystyrol mit einem Durchmesser von 332 nm und einem Diffusionskoeffizienten von $D = 1.26 \times 10^{-8}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$. Für das Phantom aus 2 Schichten wurden die beiden flüssigen Komponenten durch ein 0.5 mm dickes Glasfenster getrennt. Die flüssigen Schichten bestehen ebenfalls aus einer wässrigen Suspension von Kugeln aus Polystyrol. Die Diffusionskoeffizienten der Partikel wurden mit dynamischer Einfachstreuung an verdünnten Suspensionen gemessen. Sie betragen hier $D_1 = 9.2 \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ für die erste Schicht (stellvertretend für Kopfhaut und Schädel) und $D_2 = 1.26 \times 10^{-8}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ für die zweite Schicht (stellvertretend für das Hirngewebe). Die Dicken der Schichten 1 und 2 waren Δ_1=0.88 cm und

Δ_2=7 cm. Schicht 2 ist ausreichend dick, um für die bei unseren Versuche verwendeten Quelle-Detektor-Abstände als halb-unendlich angenommen werden zu können. Für das dreischichtige Modell wird das Glasfenster durch eine 4.3 mm dicke Scheibe aus glasklarem Polyesterharz (R&G UP-Gießharz) ersetzt. Zur Einstellung der gewünschten optischen Eigenschaften wurden dem Harz Titandioxid Partikel (Dupont R902) mit einem mittleren Radius von 279 nm und einer Polydispersität von 38% beigemengt (siehe Abb. 3.3).

Zur Vermeidung von Artefakten durch Oberflächenbewegungen und durch Reflexionen an der flüssigen Oberfläche bedeckten wir die oberste Schicht mit einem schwarzen absorbierenden PVC-Deckel (siehe Abb. 3.2). Als Quelle diente Licht von einem Diodenlaser mit der Wellenlänge λ_0=802 nm (Toptica, TA-100), welches in eine Multimode-Faser eingekoppelt wurde. Durch Löcher in der Abdeckung konnte das andere Ende der Faser direkt ungefähr 1-2 mm in die Flüssigkeit eingetaucht werden, um eine stabile optische Kopplung zu erreichen. Das vielfach gestreute Licht wurde bei den Abständen $0.5\,\mathrm{cm} \leq \varrho \leq 4\,\mathrm{cm}$, ebenfalls durch Löcher in der Abdeckung mit einer Monomode-Faser (cut-off Wellenlänge $\lambda_\mathrm{c} = 1260\,\mathrm{nm}$) innerhalb der ersten Schicht detektiert (siehe Abb. 3.10). Die bei der hier verwendeten Wellenlänge λ_0=802 nm von der Faser transportierten sechs Moden wurden von einer Avalanche-Photodiode (Perkin-Elmer SPCM-AQR-15-FC) detektiert. Ein Korrelator (ALV-5000E) berechnete die normierte Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\boldsymbol{r}, \tau)$ aus der gemessenen Photonen-Zählrate.

3.2 Autokorrelationsfunktion eines mehrschichtigen trüben Mediums

Die folgende Herleitung folgt der Arbeit von S. Skipetrov über Korrelationsfunktionen in einem N-lagigem trüben Medium [18]. Wir betrachten ein trübes Medium bestehend aus N Schichten gleicher Brechungsindizes mit parallelen Grenzschichten in den Tiefen $z = L_n$ $(n = 1, \ldots, N)$. Die Vorderseite des Mediums befindet sich bei $z = L_0 = 0$. Jede Schicht mit der Dicke $\Delta_n = L_n - L_{n-1}$ wird durch ihre mittlere freie Weglänge l_n^* und ihre Absorptionslänge $l_n^{(\mathrm{a})}$ $(n = 1, \ldots, N)$ charakterisiert. Wir nehmen an, dass die Dicke jeder Lage Δ_n viel größer als ihre jeweilige mittlere freie Weglänge l_n^* ist. Bewegungen der Streuer in jeder Schicht werden durch einen Diffusionskoeffizienten D_n beschrieben. Im Unterschied zu einer vorherigen Betrachtung von DWS in einem System aus mehreren Schichten [19] nehmen wir hier an, dass es sich um eine monochromatische Punktquelle handelt, die sich bei $\boldsymbol{r}' = \{\varrho' = 0, z'\}$ innerhalb der ersten Schicht befindet.

In der Diffusionsnäherung erhält man die normierte Zeit-Autokorrelationsfunktion des gestreuten Feldes, $g^{(1)}(\boldsymbol{r}, \tau)$ aus der Korrelation-Diffusions-Gleichung [20, 21]

$$\left[\nabla^2 - \alpha^2(\tau)\right] G(\boldsymbol{r}, \tau) = -s_0 \delta(\boldsymbol{r} - \boldsymbol{r}') \tag{3.1}$$

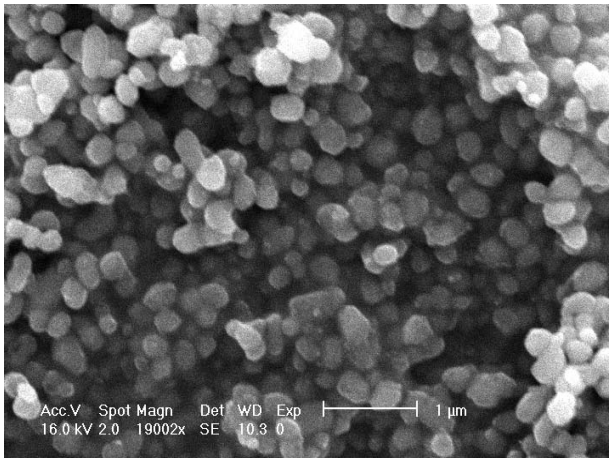

Abbildung 3.3: Titandioxid-Partikel (Dupont R902) mit einem mittleren Radius von 279 nm und einer Polydispersität von 38% [Aufnahme M. Störzer].

für die nicht normierte Zeit-Autokorrelationsfunktion $G(\boldsymbol{r},\tau) = \langle E^*(\boldsymbol{r},0)E(\boldsymbol{r},\tau)\rangle$. In jeder Schicht ist der durch Bewegungen der Streuer verursachte Verlust an Korrelation gegeben durch

$$\alpha_n^2(\tau) = \frac{3}{l_n^* l_n^{(\mathrm{a})}} + \frac{6\tau}{\tau_n^{(0)} l_n^{*\,2}} \tag{3.2}$$

wobei $\tau_n^{(0)} = (k_n^2 D_n)^{-1}$ die die Korrelationszeit für einfache Streuung und k_n die Wellenzahl des Lichts in der n-ten Lage ist.

Gl. (3.1) wird gelöst, indem man die Fourier-Transformierte von $G(\boldsymbol{r},\tau)$ bezüglich der transversalen Koordinate ϱ

$$\hat{G}(\boldsymbol{q},z,\tau) = \int \mathrm{d}^2\varrho\; G(\boldsymbol{r},\tau) e^{i\boldsymbol{q}\cdot\varrho} \tag{3.3}$$

bildet, was

$$\left[\frac{\partial^2}{\partial z^2} - \beta^2(\boldsymbol{q},\tau)\right] \hat{G}(\boldsymbol{q},z,\tau) = -s_0\delta(z-z') \tag{3.4}$$

für $\hat{G}(\boldsymbol{q},z,\tau)$ liefert, wobei man $\beta_n^2(\boldsymbol{q},\tau) = \alpha_n^2(\tau) + \boldsymbol{q}^2$ definiert.

Wir unterteilen die erste Schicht in zwei 'Unterschichten': Schicht '0' ($0 < z < z'$), im Folgenden mit $n = 0$, und Schicht '1' ($z' < z < L_1$), im Folgenden mit $n = 1$ bezeichnet. Die Lösung von Gl. (3.4) innerhalb der n-ten Schicht ($n = 0, 1, 2, \ldots, N$) kann geschrieben werden als

$$\hat{G}_n(\boldsymbol{q},z,\tau) = A_n e^{\beta_n z} + B_n e^{-\beta_n z} \tag{3.5}$$

wobei A_n und B_n z-unabhängige Faktoren sind, welche man aus den Randbedingungen

$$\hat{G}_0(\boldsymbol{q}, z, \tau) - z_0 \frac{\partial}{\partial z} \hat{G}_0(\boldsymbol{q}, z, \tau) = 0, \qquad z = 0 \tag{3.6}$$

$$\hat{G}_0(\boldsymbol{q}, z, \tau) = \hat{G}_1(\boldsymbol{q}, z, \tau), \qquad z = z' \tag{3.7}$$

$$\frac{\partial}{\partial z} \hat{G}_0(\boldsymbol{q}, z, \tau) = \frac{\partial}{\partial z} \hat{G}_1(\boldsymbol{q}, z, \tau) + s_0, \qquad z = z' \tag{3.8}$$

$$\hat{G}_n(\boldsymbol{q}, z, \tau) = \hat{G}_{n+1}(\boldsymbol{q}, z, \tau), \qquad z = L_n, \quad n = 1, \ldots, N-1 \tag{3.9}$$

$$\mathcal{D}_n \frac{\partial}{\partial z} \hat{G}_n(\boldsymbol{q}, z, \tau) = \mathcal{D}_{n+1} \frac{\partial}{\partial z} \hat{G}_{n+1}(\boldsymbol{q}, z, \tau), \qquad z = L_n, \quad n = 1, \ldots, N-1 \tag{3.10}$$

$$\hat{G}_N(\boldsymbol{q}, z, \tau) + z_L \frac{\partial}{\partial z} \hat{G}_N(\boldsymbol{q}, z, \tau) = 0, \qquad z = L_N \tag{3.11}$$

erhält, wobei $z_0 \sim l_1^*$ und $z_L \sim l_N^*$ die Extrapolationslängen sind, welche interne Reflexionen an den äußeren Grenzen der Schicht bei $z = 0$ und $z = L_N$ berücksichtigen. $\mathcal{D}_n = c l_n^*/3$ steht für den Photon-Diffusionskoeffizient in der Schicht n, und c ist die Lichtgeschwindigkeit.

Wenn Gl. (3.5) in die Gln. (3.6)–(3.11) eingesetzt wird, erhalten wir ein System von $2(N+1)$ linearen algebraischen Gleichungen für die Koeffizienten A_n, B_n $(n = 0, 1, \ldots, N)$. Die Fourier-Transformierte $\hat{G}_0(\boldsymbol{q}, z = 0, \tau)$ der Autokorrelationsfunktion von diffus reflektiertem Licht $G_0(\boldsymbol{r}, \tau)$ gemessen an der Stirnfläche der Schicht erhält man durch einsetzen von A_0, B_0 in Gl. (3.5). In allen Fällen kann man $\hat{G}_0(\boldsymbol{q}, z = 0, \tau)$ ausdrücken als

$$\hat{G}_0(\boldsymbol{q}, z = 0, \tau) = \frac{\text{Zähler}}{\text{Nenner}} \tag{3.12}$$

Die detaillierten Ausdrücke für den Zähler und den Nenner in Gl. (3.12) für ein halb-unendliches Medium aus einer Schicht und unserem aus 3 Schichten aufgebauten Modell für den menschlichen Kopf (Kopfhaut, Schädel und Hirnrinde) werden im folgenden beschrieben. Als eine begründete Näherung betrachten wir in unseren Berechnungen die dritte Schicht (Hirnrinde) als ein halb-unendliches Medium.

Für den Fall eines halb-unendlichen Mediums aus einer Schicht ergeben die Gln. (3.5)–(3.11)

$$\text{Zähler} = s_0 z_0 e^{-\beta z'} \tag{3.13}$$

$$\text{Nenner} = 1 + \beta z_0 \tag{3.14}$$

Bei zwei Schichten mit einer unendlich dicken zweiten Schicht haben die Lösungen die Gestalt

$$\text{Zähler} = s_0 z_0 \left(\beta_1 \mathcal{D}_1 \cosh(\beta_1 (\Delta_1 - z')) + \beta_2 \mathcal{D}_2 \sinh(\beta_1 (\Delta_1 - z'))\right) \tag{3.15}$$

$$\begin{aligned} \text{Nenner} &= \beta_1 \left(\mathcal{D}_1 + \beta_2 \mathcal{D}_2 z_0\right) \cosh(\beta_1 \Delta_1) \\ &+ \left(\beta_2 \mathcal{D}_2 + \beta_1^2 \mathcal{D}_1 z_0\right) \sinh(\beta_1 \Delta_1) \end{aligned} \tag{3.16}$$

Die analogen Lösungen für den Fall des aus 3 Schichten aufgebauten Mediums mit einer unendlich dicken dritten Schicht $\Delta_3 \to \infty$ ergeben

$$\begin{aligned}
\text{Zähler} &= s_0 z_0 \left(\beta_1 \mathcal{D}_1 \cosh(\beta_1 (\Delta_1 - z')) \left(\beta_2 \mathcal{D}_2 \cosh(\beta_2 \Delta_2)\right.\right. \\
&+ \left.\beta_3 \mathcal{D}_3 \sinh(\beta_2 \Delta_2)\right) + \beta_2 \mathcal{D}_2 \left(\beta_3 \mathcal{D}_3 \cosh(\beta_2 \Delta_2)\right. \\
&+ \left.\left.\beta_2 \mathcal{D}_2 \sinh(\beta_2 \Delta_2)\right) \sinh(\beta_1 (\Delta_1 - z'))\right) \qquad (3.17) \\
\text{Nenner} &= \beta_2 \mathcal{D}_2 \cosh(\beta_2 \Delta_2) \left(\beta_1 (\mathcal{D}_1 + \beta_3 \mathcal{D}_3 z_0) \cosh(\beta_1 \Delta_1)\right. \\
&+ \left.\left(\beta_3 \mathcal{D}_3 + \beta_1^2 \mathcal{D}_1 z_0\right) \sinh(\beta_1 \Delta_1)\right) \\
&+ \left(\beta_1 \left(\beta_3 \mathcal{D}_1 \mathcal{D}_3 + \beta_2^2 {\mathcal{D}_2}^2 z_0\right) \cosh(\beta_1 \Delta_1)\right. \\
&+ \left.\left(\beta_2^2 {\mathcal{D}_2}^2 + \beta_1^2 \beta_3 \mathcal{D}_1 \mathcal{D}_3 z_0\right) \sinh(\beta_1 \Delta_1)\right) \\
&\times \sinh(\beta_2 \Delta_2) \qquad (3.18)
\end{aligned}$$

Die Zeit-Autokorrelationsfunktion $G_0(\boldsymbol{r}, \tau)$ gemessen an der Stelle $\boldsymbol{r} = \{\varrho, z = 0\}$ an der Oberfläche des Mediums erhält man aus der inversen Fourier-Transformation

$$G_0(\boldsymbol{r}, \tau) = \frac{1}{(2\pi)^2} \int \mathrm{d}^2\boldsymbol{q}\, \hat{G}_0(\boldsymbol{q}, z = 0, \tau) e^{-i\boldsymbol{q}\cdot\varrho} \qquad (3.19)$$

bezüglich $\boldsymbol{q}$. Angesichts der komplizierten Form der Ausdrücke (3.17)–(3.18) wird diese Transformation für das System aus 3 Schichten numerisch ausgeführt. Zu erwähnen ist, das für $\tau = 0$ der hier vorgestellte Formalismus einen analytischen Ausdruck für die diffus transmittierte Intensität $G_0(\boldsymbol{r}, \tau = 0) = \langle |E(\boldsymbol{r}, t)^2| \rangle$ eines mehrschichtigen Systems ergibt.

3.3 Resultate

3.3.1 Optische Parameter der Phantom-Schichten

Um Aussagen zur Gültigkeit und Genauigkeit der von uns verwendeten Lösungen der Diffusionsgleichung für mehrere Schichten zu machen, ist es von essenzieller Bedeutung, die optischen Parameter der einzelnen Schichten exakt zu kennen. Zu diesem Zweck führten wir verschiedene Experimente durch. Zur Ermittelung der mittleren freien Transportweglänge l^* der von uns benutzen Latex Suspensionen führten wir Transmissionsmessungen an als unendlich angenommenen Proben durch. Um Abweichungen vom infiniten Modell möglichst gering zu halten wurden die nackten optischen Fasern der Quelle wie auch des Detektors in dünnen Glaspipetten befestigt und 3.8 cm tief in die jeweilige Suspension getaucht (siehe Abb. 3.4). Über Verschiebetische, an welchen die Pipetten befestigt waren, wurden die verschiedenen Abstände ϱ zwischen Detektor und Lichtquelle eingestellt. Die gewonnenen Messwerte wurden mit der Formel

$$I = \frac{K}{\varrho} \exp\left(-\sqrt{3\mu_a \mu_s'}\,\varrho\right) \qquad (3.20)$$

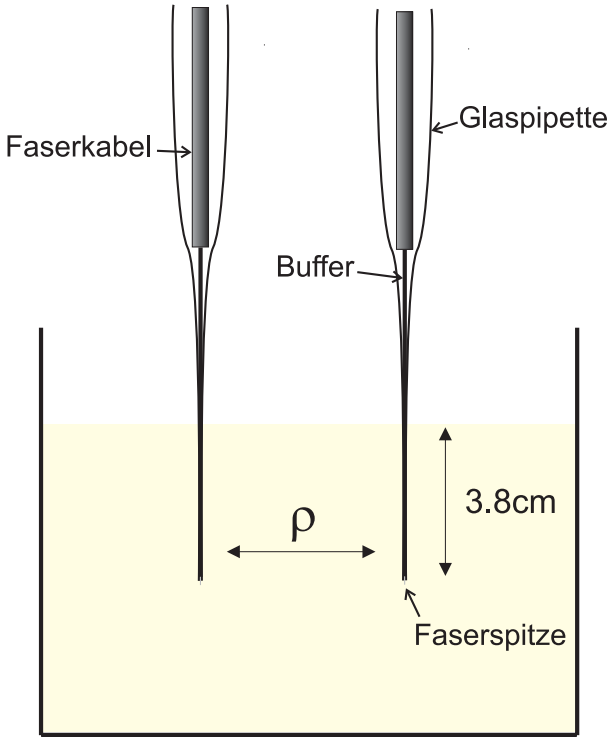

Abbildung 3.4: Schematische Darstellung des Aufbaus für die Bestimmung der mittleren freien Transportweglängen l^* aus den Intensitäten bei verschiedenen Abständen ϱ.

für den Fall einer unendlich ausgedehnten Probe angefittet (siehe Abb. 3.5). Für die Absorption der flüssigen Schichten wurde in allen Suspensionen in guter Näherung, der Wert für Wasser $\mu_a = 0.0223\,\mathrm{cm}^{-1}$ verwendet [22].

Für die Latex-Suspensionen ergeben sich daraus die mittleren freien Transportweglängen $l_1^* = (1.21 \pm 0.035)\,\mathrm{mm}$ und $l_2^* = (0.619 \pm 0.004)\,\mathrm{mm}$. Der größere Fehler in der ersten Suspension rührt von den insgesamt kleineren Abständen ϱ her, was die Messung empfindlicher gegenüber unvermeidlichen Variationen im Abstand und Inhomogenitäten der Suspension macht.

Zur Bestimmung der Diffusionskoeffizienten der verwendeten Suspensionen wurde in einem Goniometer für unterschiedliche Winkel θ zur Einfallsrichtung die Korrelationsfunktion $g_1(\tau) = \exp[-q^2 D\tau]$ gemessen [13], und jeweils $\Gamma = q^2 D$ bestimmt. Aus dem Fit an die Funktion $\Gamma(\theta) = q^2 D = \frac{16\pi^2 n^2}{\lambda^2}\sin^2(\theta/2)D$ (Abb. 3.6) wurden schließlich die Diffusionskoeffizienten $D_1 = (9.2 \pm 0.4) \cdot 10^{-9}\mathrm{cm}^2\mathrm{s}^{-1}$ und $D_2 = (1.30 \pm 0.09) \cdot 10^{-8}\mathrm{cm}^2\mathrm{s}^{-1}$ bestimmt. Die aus den Diffusionskonstanten mithilfe der Einstein-Stokes-Gleichung $D = k_B T/(6\pi\eta R)$ ermittelten Werte für die Radien der Polystyrolkügelchen von $(166 \pm 11)\,\mathrm{nm}$ und $(235 \pm 10)\,\mathrm{nm}$ sind in guter Übereinstimmung mit Raster-Elektronenmikroskop-Aufnahmen (REM) der Kügelchen (siehe Abb.3.7).

In ähnlicher Weise wie bei den flüssigen Schichten wurde die mittlere freie Transportweglänge l^* bei der festen Scheibe aus Polyester mit Titandioxid be-

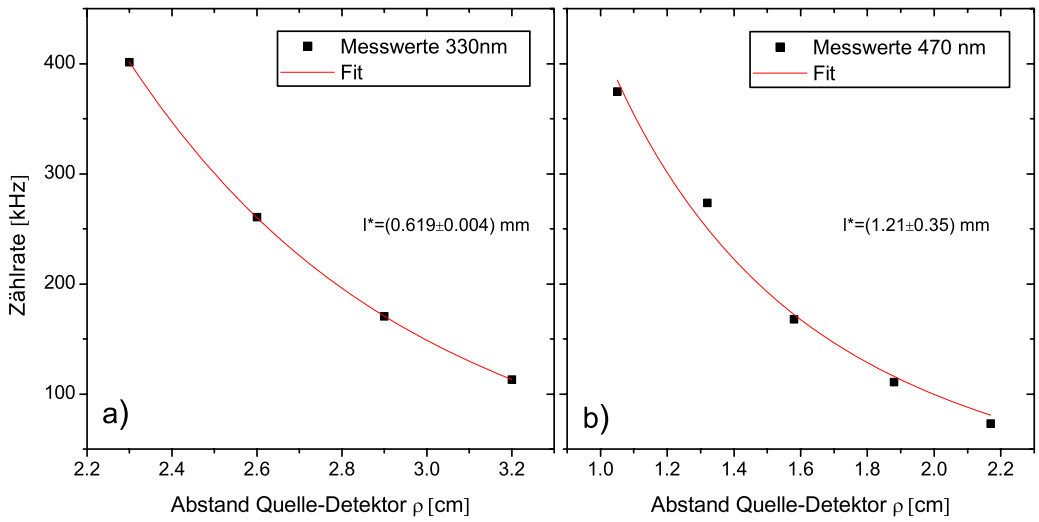

Abbildung 3.5: Diffus transmittierte Intensität in Abhängigkeit des Abstandes zwischen Quelle und Detektor ϱ für die Latex-Suspension mit 330 nm Polystyrol-Kugeln (a) und 470 nm Polystyrol-Kugeln (b).

stimmt. Im Unterschied zu den flüssigen Proben wurde hier in einer halbunendlichen Geometrie an einer Probe gemessen. Um l^* auf diese Weise zu bestimmen, war die von uns verwendete Scheibe aus Harz mit 4.3 mm zu dünn, deshalb wurden die Messungen an einer aus dem gleiche Material gegossenen 25 mm dicken ausgehärteten Probe durchgeführt. Um nicht einen einzelnen Speckle Spot, sondern die über das Ensemble gemittelte Intensität zu messen, wurde die Probe, unterhalb der fixierten Detektor- und Empfängerfasern, während der Messung ständig bewegt. Der Absorptionskoeffizient des reinen ausgehärteten Polyesterharzes bei 802 nm $\mu_a = (0.0186 \pm 0.0097)\,\mathrm{cm}^{-1}$ wurde mithilfe eines UV-VIS-Spektrophotometers (Ultrospec 2100 pro) ermittelt. Ein Fit der Formel

$$I(\varrho) \sim \left(\frac{\exp(-k_D\sqrt{\varrho^2 + z_0^2})}{\sqrt{\varrho^2 + z_0^2}} - \frac{\exp(-k_D\sqrt{\varrho^2 + (z_0 + 2z_b)^2})}{\sqrt{\varrho^2 + (z_0 + 2z_b)^2}} \right) \tag{3.21}$$

für die Intensität in Abhängigkeit vom Abstand ϱ zwischen Detektor und Quelle [23] an die Messdaten für die Intensität (siehe Abb. 3.8) ergab bei 802 nm eine mittlere freie Transportweglänge l^* von (2.1 ± 0.2) mm. Wobei $k_D^2 = 3\mu_s^{'}\mu_a$ ist, z_0 die effektive Tiefe der Quelle ist und z_b für den Abstand zur Oberfläche steht bei welcher die Fluenzrate zu Null extrapoliert. Der Wert von z_b hängt dabei von den Brechungsindizes der Luft und des untersuchten Mediums ab [24].

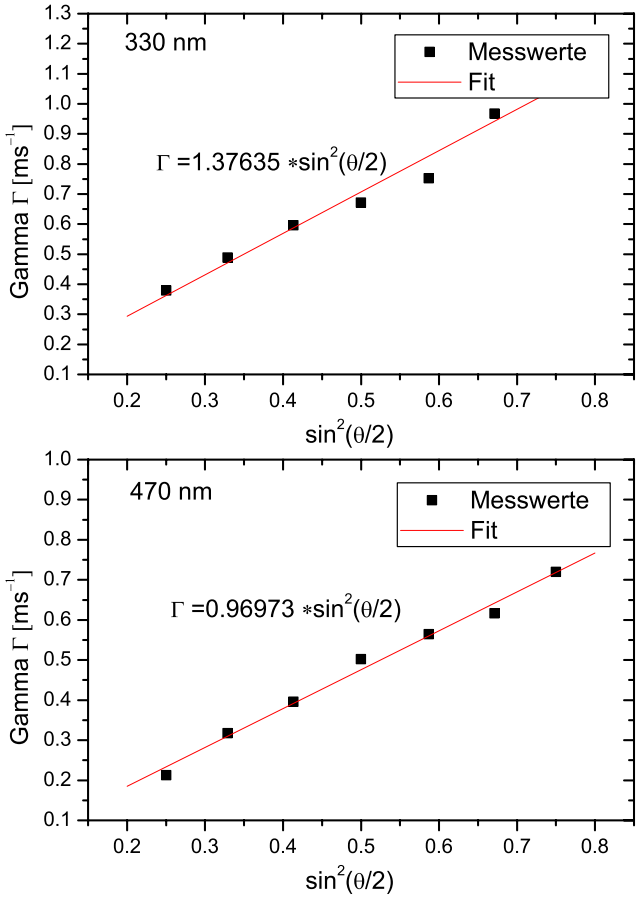

Abbildung 3.6: Goniometer Messungen mit dynamischer Lichtstreuung (DLS) an stark verdünnten Suspensionen aus Wasser und Polystyrolkugeln. Der obere Graph zeigt die Messung für 330 nm Partikel; der untere steht für die Suspension mit 470 nm Kugeln. $\Gamma = q^2 D$ ist als Funktion von $\sin^2(\theta/2)$ aufgetragen.

3.3.2 Halb-unendliches Phantom

Simulationen zeigen, dass man im Fall eines halb-unendlichen Mediums aus einer Schicht für die numerische Lösungen der Korrelation-Diffusions Gleichung (3.13) und (3.14), nahezu identische Werte wie für die analytische Lösung

$$G_1(\varrho,\tau) = \frac{3\mu_s^{'}}{4\pi}\left(\frac{\exp(-k_D\sqrt{\varrho^2+z_0^2})}{\sqrt{\varrho^2+z_0^2}} - \frac{\exp(-k_D\sqrt{\varrho^2+(z_0+2z_b)^2})}{\sqrt{\varrho^2+(z_0+2z_b)^2}}\right) \quad (3.22)$$

erhält (Boas 1996) [23],

wobei hier $k_D^2 = 3\mu_s^{'}\mu_a + 6\mu_s^{'2}k_0^2 D_B\tau$ ist, und D_B für den Diffusionskoeffizienten des Mediums steht. Die experimentellen Daten an unserem Phantom zeigten

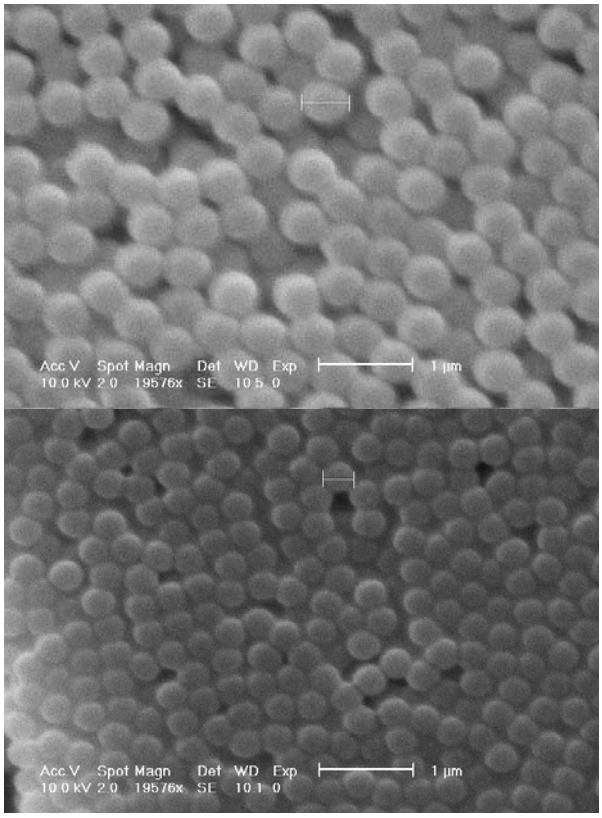

Abbildung 3.7: REM-Aufnahmen der verwendeten Polystyrol-Kügelchen mit Radien von 470 nm (oberes Bild) und 330 nm (unteres Bild) [Aufnahme J. Widoniak].

hier eine sehr gute Übereinstimmung mit den anhand von Gln. (3.13) und (3.14) numerisch berechneten Werten (siehe Abb. 3.9). Die Determinationskoeffizienten R^2 zwischen den berechneten un den gemessenen Werten liegen für die verschiedenen Abstände alle zwischen 0.97748 und 0.99673 (siehe Tab. 3.1).

Die für die Kalkulation benötigten Parameter l^* und μ_a wurden, wie im vorigen Kapitel beschrieben, unabhängig bestimmt. Nur bei sehr kurzen Abständen zwischen Detektor und Quelle ($\varrho \leq 1\,\mathrm{cm}$) zeigen sich bei langen Korrelationszeiten τ kleine Abweichungen der experimentellen Werte von dem theoretischen Modell. Die Diskrepanz zwischen Theorie und Experiment bei kürzeren Quelle-Detektor-Abständen und langen Zeiten lässt sich durch das Versagen der Diffusionsnäherung bei kurzen Photonenpfaden erklären.

3.3.3 Modell aus zwei Schichten

Für den zweischichtigen Aufbau wurden die beiden flüssigen Schichten durch eine dünne Glasscheibe (Dicke 0.5 mm) getrennt (siehe Abb.3.10). Wie in den vorherigen Versuchen wurde auch hier die oberste Schicht mit einer lichtundurchlässigen Platte abgedeckt, um Reflexionen an der Oberfläche zu verhindern.

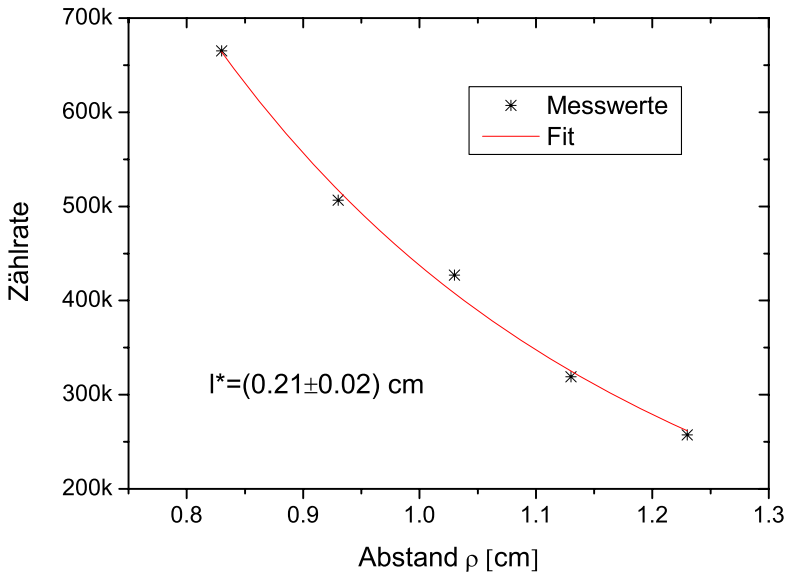

Abbildung 3.8: Diffus transmittierte Intensität in Abhängigkeit des Abstandes Quelle-Detektor ϱ für die ausgehärtete Mischung aus Polyesterharz mit 279 nm-Titandioxid-Partikeln.

Die Messungen zeigten eine sehr gute Übereinstimmung mit den Voraussagen der Korrelation-Diffusions Theorie mit Randbedingungen Gln. (3.6)–(3.8) für ein (2+1)-Schicht-Modell, welches um eine nicht-absorbierende und nicht-streuende Schicht erweitert wurde [25] (Abb. 3.11). Mit zunehmendem Abstand zwischen Detektor und Quelle ϱ ändert sich der Abfall der Korrelationsfunktion monoton in Richtung kürzerer Zeiten, wie man es auch infolge des zunehmenden Anteils langer Photonenpfade zur Korrelationsfunktion $g_1(\tau)$ erwartet.

Es stellte sich heraus, das die Anwesenheit der lichtundurchlässigen Abdeckung und das Eintauchen der Fasern in die oberste Schicht essenziell ist, um die bei zunehmenden Abständen zwischen Detektor und Quelle schneller abfallen-

Abstand [cm]	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5
R^2	0.99822	0.99673	0.99227	0.98863	0.99602	0.97748

Tabelle 3.1: Determinationskoeffizienten R^2 zwischen berechneter und gemessener Korrelationsfunktion für verschiedene Detektor-Empfänger-Abstände ϱ in einer halbunendlichen Geometrie.

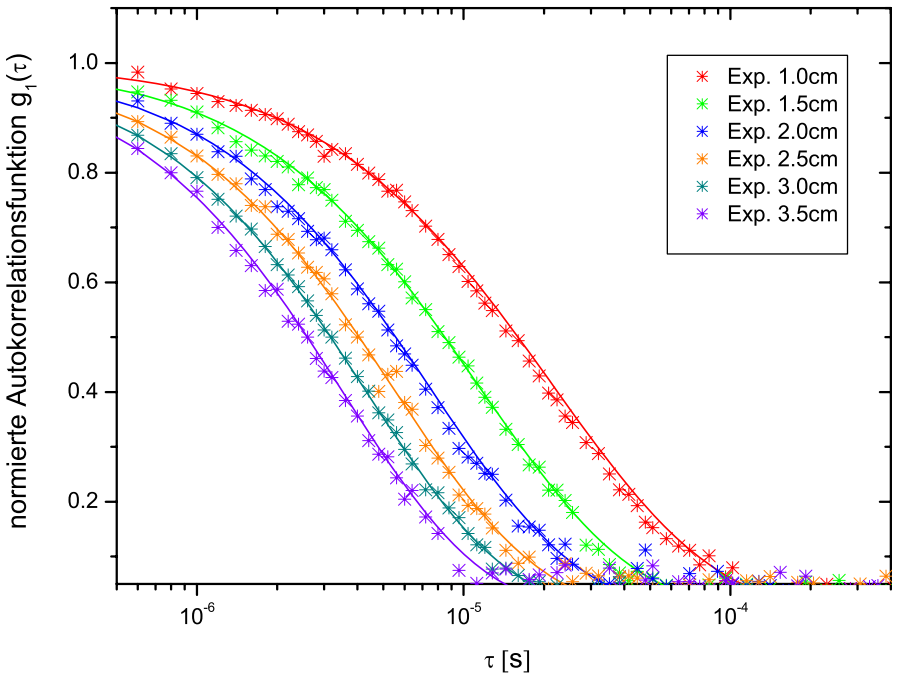

Abbildung 3.9: Feld-Autokorrelationsfunktion $g_1(\tau)$ in Transmission gemessen (siehe Abb. 3.2) an einem als halb-unendlich angenommenen Phantom mit einer diffusiven Dynamik in dieser Schicht (Sterne) und die Voraussagen aus der Formel für eine halb-unendliche Schicht Gln. (3.13) und (3.14) (Linien), für Quelle-Detektor-Abstände zwischen ϱ=1.0 cm (rot) und ϱ=3.5 cm (violett). Die optischen Parameter sind l^*=0.619 mm und $\mu_a = 0.0223\,\mathrm{cm}^{-1}$, und der Diffusionskoeffizient der Teilchen ist $D = 1.3 \times 10^{-8}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ für Schicht. Die Schichtdicke der als halb-unendlich angenommenen Schicht ist $\Delta = 7\,\mathrm{cm}$

den Autokorrelationsfunktionen ohne Artefakte zu beobachten, was wahrscheinlich auf Reflexionen an den Oberflächenwellen der Flüssigkeit zurückzuführen ist. Speziell die Übereinstimmung zwischen der Theorie und den Messdaten bei langen Quelle-Detektor Abständen $\varrho \geq 1.5\,\mathrm{cm}$ ist bemerkenswert, wenn man bedenkt, dass die Theorie keine einstellbaren Parameter hat. Die Diskrepanz zwischen Theorie und Experiment bei kürzeren Quelle-Detektor-Abständen $\varrho \leq 1\,\mathrm{cm}$ und langen Zeiten wird auch hier durch das Versagen der Diffusionsnäherung bei kurzen Photonenpfaden verursacht, was sich auch in einem leicht erniedrigten Determinationskoeffizienten $R^2 = 0.99885$ zwischen den berechneten un den gemessenen Werten, im Vergleich zu den Werten von 0.99942 und 0.9993 für ein ϱ von 1.5 bzw. 2.0 cm. Eine erweiterte Übereinstimmung zwischen Theorie und Experiment auch für kurze Photonenpfade könnte entweder durch eine Simulati-

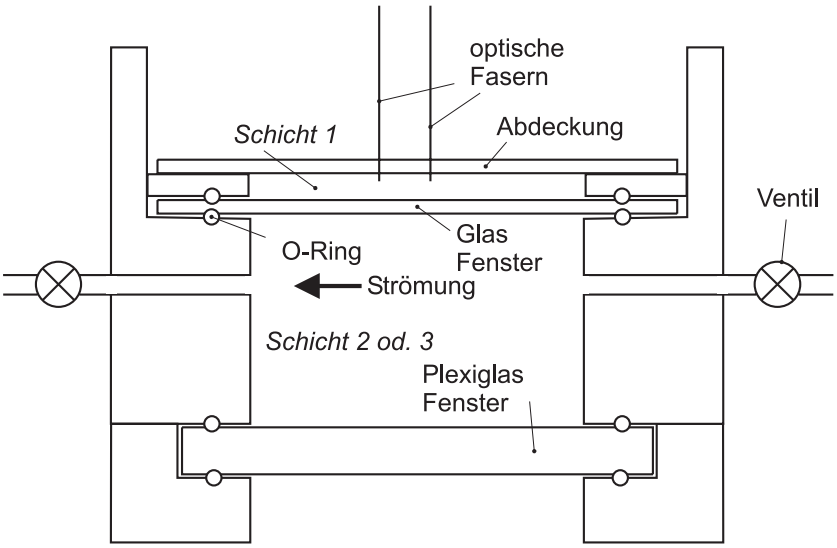

Abbildung 3.10: Schnitt durch das Phantommodell für den mehrschichtigen Aufbau. Die beiden flüssigen Schichten bestehen aus einer Polystyrol-Suspension. Für die Messungen an einem halb-unendlichen Phantom wurde die Glasplatte entfernt, beim Aufbau aus drei Schichten wird sie durch eine trübe Polyesterharzplatte ersetzt. Bei den Messungen mit Strömung in der dritten Schicht, erfolgte der Zu- und Abfluss über die Ventile.

on des Lichttransports mit realistischen Werten für den Anisotropiefaktor, oder durch Lösen der so genannten *radiative transfer equation* [26] erreicht werden.

3.3.4 Modell aus drei Schichten

Zur eigentlichen Simulation der Verhältnisse im menschlichen Kopf benutzen wir ein Modell aus drei Schichten. Die erste und dritte Schicht besteht darin wieder aus den zuvor erwähnten Polystyrol-Suspensionen. Die erste Schicht repräsentiert die durchblutete Kopfhaut während die dritte das Hirngewebe simulieren soll. Die zweite Schicht dient als Ersatz für den Schädelknochen und besteht aus einer Mischung aus Polyesterharz und Partikel aus Titandioxid. Auch hier wurde wieder die oberste Schicht mit einem lichtundurchlässigen Platte abgedeckt, um Reflexionen an der Oberfläche zu verhindern. Die mit den zuvor ermittelten optischen Parametern berechneten Werte zeigen auch hier eine sehr gute Übereinstimmung mit den gemessenen Korrelationsfunktionen (Abb. 3.12), was sich auch an den Determinationskoeffizienten R^2 zwischen berechneten und experimentellen Werten, welche für alle Abstände ϱ im Bereich von 0.99549 bis 0.99748 liegen zeigt (siehe Tab. 3.2).

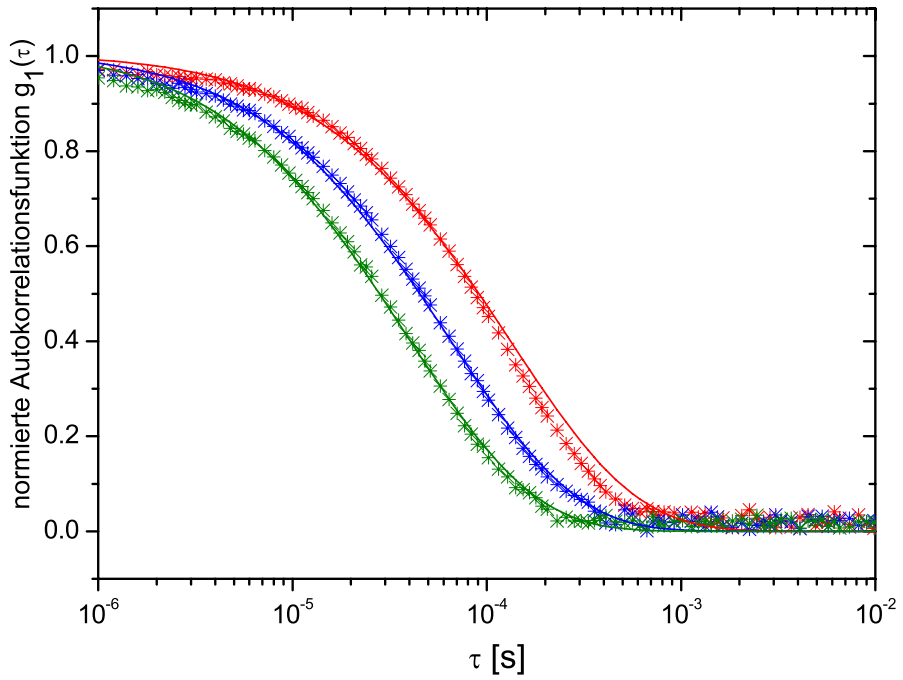

Abbildung 3.11: Normierte Autokorrelationsfunktion des Feldes $g_1(\tau)$ gemessen an einem (2+1)-Schicht-Phantom mit einer diffusiven Dynamik in den Schichten 1 und 2. Die experimentellen Daten (Sterne) sowie die Voraussagen aus der Formel für zwei Schichten (Linien), für Quelle-Detektor-Abstände ϱ=1.0 cm (rot), ϱ=1.5 cm (blau), ϱ=2.0 cm (grün) sind in dem Graph dargestellt. Die optischen Parameter sind l_1^*=1.21 mm und l_2^*=0.619 mm, μ_a=0.0223 cm^{-1}, und die Diffusionskoeffizienten der Teilchen sind $D_1 = 9.2 \times 10^{-9}$cm^2/s für Schicht 1 und $D_2 = 1.30 \times 10^{-8}$cm^2/s für Schicht 2. Die Schichtdicken sind Δ_1=0.88 cm und Δ_2=15 cm für Schicht 1 bzw. Schicht 2, die Dicke der transparenten Schicht beträgt 0.05 cm

3.3.4.1 Eindringtiefe in Abhängigkeit des Abstandes

Bei Messungen am Kopf der Probanden ist essenziell, dass ein ausreichender Bruchteil der detektierten Photonen auf ihrem Pfad die entsprechenden Regionen des Gehirns durchquert haben. Die Eindringtiefe der wahrscheinlichsten Photonenpfade ist dabei direkt abhängig von dem Abstand ϱ zwischen Detektor und Lichtquelle. Wie schon erwähnt, soll unser Phantommodell die optischen Parameter des menschlichen Kopfes simulieren. Der Abstand von der Oberfläche der ersten bis zur dritten Schicht beträgt hier 13.1 mm. Um den idealen Abstand ϱ zu ermitteln, führten wir bei verschiedenen Abständen Messungen mit und ohne Strömung in der dritten Schicht durch. Für die Strömungsmessungen

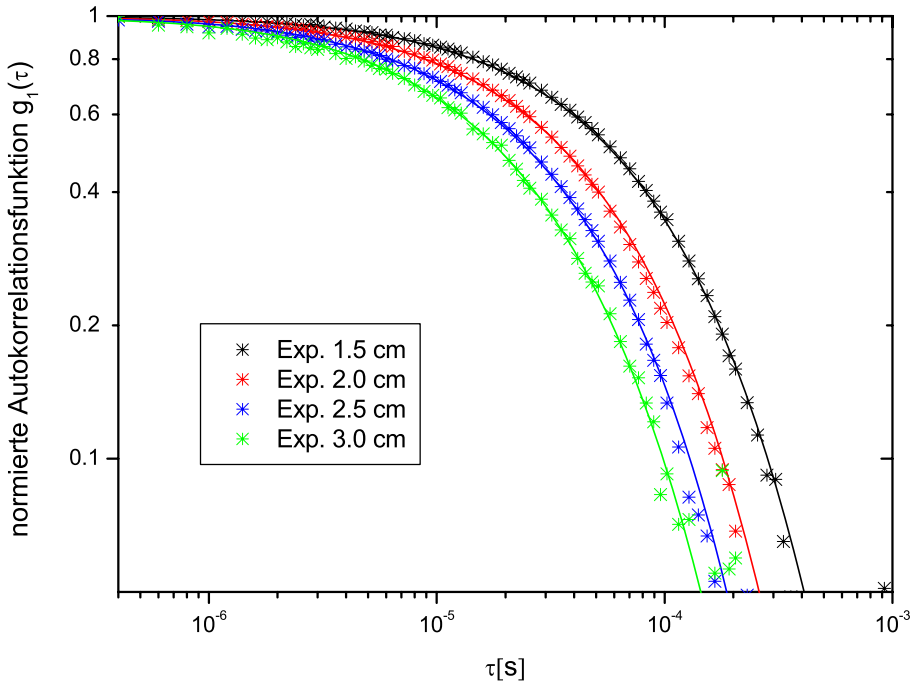

Abbildung 3.12: Normierte Autokorrelationsfunktion des Feldes $g_1(\tau)$ gemessen an einem 3-Schicht-Phantom mit einer diffusiven Dynamik in den Schichten 1 und 3. Der Graph zeigt die experimentellen Werte (Sterne) und die berechneten Werte aus der Formel für drei Schichten (Linien), für Quelle-Detektor Abstände von ϱ=1.5 cm (schwarz), ϱ=2.0 cm (rot), ϱ=2.5 cm (blau) und ϱ=3.0 cm (grün). Die optischen Parameter der beiden flüssigen Schichten 1 und 3 sind l_1^*=1.5 mm und l_3^*=0.619 mm, sowie jeweils $\mu_a^{\text{fluessig}} = 0.0223\,cm^{-1}$. Die Diffusionskoeffizienten der Suspensionen sind $D_1 = 9.2 \times 10^{-9}\text{cm}^2/\text{s}$ für Schicht 1 und $D_3 = 1.30 \times 10^{-8}\text{cm}^2/\text{s}$ für Schicht 3 bei Schichtdicken von Δ_1=0.88 cm und Δ_2=7 cm. Die Dicke der festen Schicht 2 beträgt 0.43 cm und hat einen Absorptionskoeffizient von $\mu_a^{\text{fest}} = 0.0186\,\text{cm}^{-1}$.

wurde ein Reservoir mit derselben Suspension gefüllt wie in der dritten Schicht. Die Strömungsgeschwindigkeit konnte über die Höhendifferenz zwischen Reservoir und Phantom eingestellt werden. Das Volumen des Reservoirs wurde dabei mit 60 l so groß gewählt, dass sich die Höhe des Flüssigkeitsspiegels während der Messung nur um einige mm änderte. Die dadurch verursachte Veränderung der Strömungsgeschwindigkeit hatte deshalb keinen Einfluss auf die gemessene Korrelationsfunktion. Das Volumen der durchströmten dritten Schicht betrug in diesem Versuch 1237 ml und die Strömungsgeschwindigkeit lag konstant bei $q = 54.8\,\text{ml/s}$. Für Abstände zwischen $1.5 < \varrho < 3.5\,\text{cm}$ wurden die Korrelati-

Abstand ϱ [cm]	1.5	2.0	2.5	3.0
R^2	0.99748	0.99701	0.99671	0.99549

Tabelle 3.2: Determinationskoeffizienten R^2 zwischen berechneter und gemessener Korrelationsfunktion für verschiedene Detektor-Empfänger-Abstände ϱ in einer 3-Schicht-Geometrie

onsfunktionen mit und ohne Strömung in der dritten Schicht gemessen. Abbildung 3.13 zeigt die Differenz der Feld-Autokorrelationsfunktionen mit und ohne Strömung in der dritten Schicht, aufgetragen gegen die Korrelationszeit τ. Die Experimente haben gezeigt, dass für Abstände $\varrho \leq 1.5\,cm$ der Einfluss der dritten Schicht selbst bei dem verwendeten starken Durchfluss keine wesentliche Rolle spielt. Für größere Abstände steigt der Einfluss der dritten Schicht stark an und verschiebt sich generell zu kürzeren Zeiten (längere Pfade). Vergleicht man die Messungen mit den theoretischen Voraussagen im Limit der schwachen Absorption $\kappa\varrho = (3\mu_a\mu_s^{'})^{1/2}\varrho \ll 1$, so gilt hier für die maximale Eindringtiefe des wahrscheinlichsten Lichtpfads bei $x = \varrho/2$ [27],

$$z_0^{max} \approx \frac{\sqrt{2}\varrho}{4} \tag{3.23}$$

d.h. die Eindringtiefe ist unabhängig von κ. Bei den von uns benutzten optischen Parametern sind wir relativ nah an diesem Limit, so das wir die exakten Werte von κ vernachlässigen können und erhalten somit Eindringtiefen des wahrscheinlichsten Pfades von 5.3 mm ($\varrho = 1.5$ cm) bis 12.4 mm ($\varrho = 3.5$ cm). D.h. für einen Abstand $\varrho = 1.5$ cm verläuft der wahrscheinlichste Weg weit oberhalb der dritten Schicht, erst für einen Abstand von 3.5 cm erreicht er annähernd die dritte Schicht. Überträgt man diese Ergebnisse auf Messungen am Kopf mit typischen Dicken Δ_1 =4.5 mm für die Kopfhaut und Δ_2 =5 mm für den Schädel, so lässt sich der Einfluss von funktionellen Veränderungen der Dynamik im Gehirn auf die Korrelationsfunktion für Abstände $\varrho < 2.0$ cm ausschließen. Für diese Abstände zwischen Detektor und Quelle spielen demnach nur Veränderungen in der Kopfhaut eine wesentliche Rolle.

3.3.4.2 Empfindlichkeit gegenüber der Strömungsgeschwindigkeit

Für eine grobe experimentelle Abschätzung über die Auswirkungen von Veränderungen der Dynamik in der dritten Schicht (stellvertretend für das Hirngewebe) auf die Korrelationsfunktionen führten wir Messungen mit verschiedenen Strömungsgeschwindigkeiten in der dritten Schicht durch. Die Messungen wurden mit derselben Anordnung wie im vorigen Abschnitt durchgeführt. Zur Einstellung der unterschiedlichen Geschwindigkeiten, wurde die Höhendifferenz zwischen

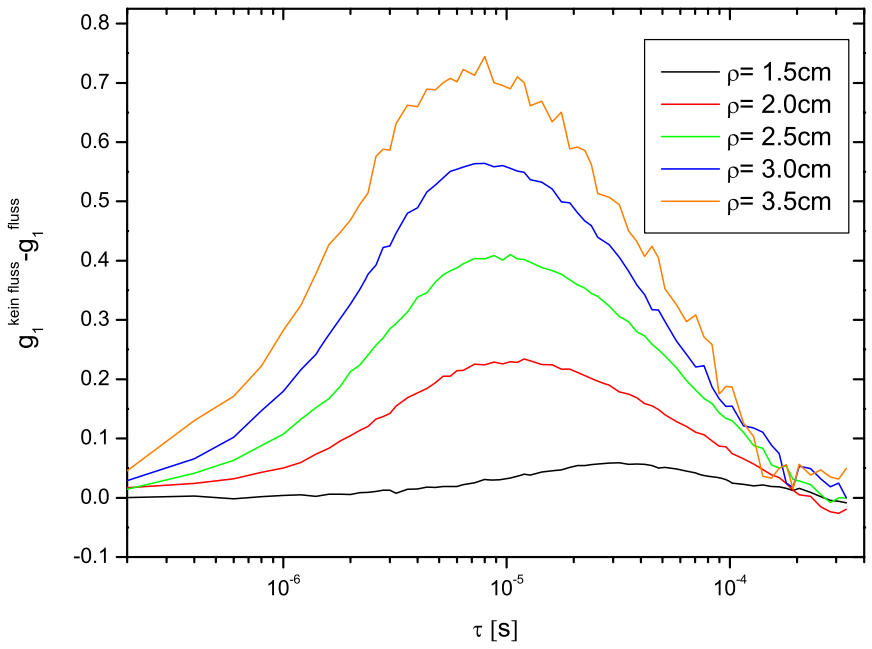

Abbildung 3.13: Differenz der Autokorrelationsfunktionen des Feldes $g_1^{KeinFluss}(\tau) - g_1^{Fluss}(\tau)$ gemessen an einem 3-Schicht-Phantom mit und ohne Strömung in der dritten Schicht, aufgetragen gegen die Korrelationszeit τ, für verschiedene Abstände zwischen Quelle und Detektor: ϱ=1.5 cm (schwarz), ϱ=2.0 cm (rot), ϱ=2.5 cm (grün), ϱ=3.0 cm (blau) und ϱ=3.5 cm (orange). Die Schichtdicken sind Δ_1=0.88 cm und Δ_2=0.43 cm für Schicht 1 bzw. Schicht 2. Das Volumen der dritten Schicht beträgt 1237 ml.

Phantom und Reservoir variiert. Es zeigte sich, das bei dem von uns gewählten Abstand zwischen Detektor und Quelle ϱ=3.0 cm, welcher auch dem mittleren Abstand bei unseren Experimenten an Probanden entspricht, der Einfluss der Dynamik in der dritten Schicht auf die Autokorrelationsfunktion erheblich ist. Der Graph in Abb. 3.14 zeigt die starke Abhängigkeit der normierten Autokorrelationsfunktion $g_1(\tau)$ von der Strömungsgeschwindigkeit in der dritten Schicht. Betrachtet man eine Korrelationszeit von $\tau = 10^{-5}$ s bei der kleinsten Strömung von 4.33 ml/s so ist die Mittlere Quadratische Verschiebung $\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$ welche von dem Konvektionsstrom verursacht wird $v^2\tau^2$ ungefähr gleich der der Diffusion $6D\tau$ in dieser Schicht, für diesem Fall lässt sich der Einfluss der Dynamik in der dritten Schicht deutlich erkennen. Geht man von einer laminaren Strömung durch die dritte Schicht aus, so entspricht diese Strömung näherungsweise einer Geschwindigkeit der Suspension von 0.82 mm/s in der Mitte der dritten Schicht, was vergleichbar mit der Geschwindigkeit von Blutzellen, gemittelt über Arterio-

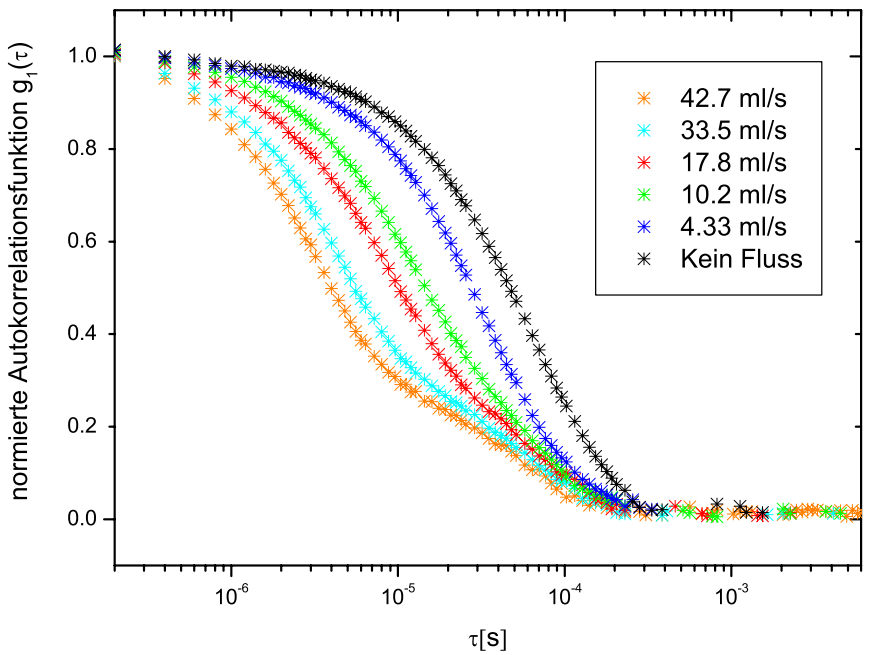

Abbildung 3.14: Normierte Autokorrelationsfunktion $g_1(\tau)$ gemessen an einem 3-schichtigen Phantom für verschieden starke Fließgeschwindigkeiten q von 0 ml/s (schwarz) bis 42.7 ml/s (orange) durch die dritte Schicht bei einem festen Quelle-Detektor-Abstand von ϱ=3.0 cm. Die Schichtdicken sind Δ_1=0.88 cm und Δ_2=0.43 cm für Schicht 1 bzw. Schicht 2. Das Volumen der dritten Schicht beträgt 1237 ml.

len, Kapillaren und Venolen im Gehirn einer Ratte ist [28, 29, 30]. Auch relativ geringe Unterschiede zwischen sehr hohen Fließgeschwindigkeiten, z.B. zwischen 33.5 ml/s (grüne Kurve) und 42.7 ml/s (rote Kurve), können noch gut detektiert werden.

3.4 Zusammenfassung

Für die Auswertung unserer Probandendaten ist es wichtig, gezielt die Dynamik eines speziellen Bereichs (Schicht) im Kopf aus den von uns gemessenen Korrelationsfunktionen berechnen zu können. Dafür verwenden wir eine Theorie, welche auf der Lösung der Korrelations-Diffusions-Gleichung für ein System aus homogenen Schichten basiert. Um zu verifizieren wie genau diese Theorie mit experimentellen Daten übereinstimmt, führten wir deshalb Messungen an den verschieden Geometrien eines mehrschichtigen Phantom-Modells durch. Sowohl für verschie-

dene Abstände ϱ zwischen Detektor und Empfänger, wie auch für die verschiedenen 1,2 und 3-schichtigen Geometrien zeigten die Messwerte dabei eine sehr gute Übereinstimmung mit den aus den Parametern der einzelnen Schichten berechneten Korrelationsfunktionen. In einem weiteren Versuch variierten wir sowohl die Dynamik in der dritten Schicht, wie auch den Quelle-Empfänger-Abstand ϱ. Eine quantitative Auswertung war hier aufgrund der fehlenden Kenntnis des exakten Verlaufs des Flussprofils in der dritten Schicht nicht möglich. Für einen Quelle-Detektor-Abstand ϱ=3.0 cm zeigte sich aber, bei einer Fließgeschwindigkeit, welche in etwa der effektiven Geschwindigkeit von Blutzellen in zerebralem Gewebe entspricht, ein starker Einfluss der zusätzlichen Dynamik auf die Korrelationsfunktion bei den von uns verwendeten Schichtdicken (Δ_1=8.8 mm und Δ_2=4.3 mm). Weiters wurde der Einfluss der zusätzlichen Dynamik in der dritten Schicht bei verschiedenen Abständen ϱ gemessen. Überträgt man diese Ergebnisse auf Messungen am Kopf mit typischen Dicken Δ_1=4.5 mm für die Kopfhaut und Δ_2=5 mm für den Schädelknochen, so lässt sich der Einfluss von funktionellen Veränderungen der Dynamik im Gehirn auf die Korrelationsfunktion für Abstände $\varrho < 2.0$ cm ausschließen.

Kapitel 4

Zeitaufgelöste DWS mit kontinuierlichem Korrelator

Da der Zerfall von $g^{(1)}(\boldsymbol{r}, \tau)$ von der zeitlichen Entwicklung der mittleren quadratischen Verrückung bestimmt wird, können unterschiedliche Arten der Bewegung im trüben Medium, sowie Laminar- oder Scherströmung anhand der Form der Autokorrelationsfunktion unterschieden werden [31, 21, 32]. Dies ermöglicht es, mittels DWS dynamische Heterogenitäten tief innerhalb eines trüben Mediums zu detektieren, selbst wenn keine Streu- oder Absorptionskontraste vorhanden sind [33, 34, 20]. In jüngerer Zeit wurde der dynamische Kontrast von DWS benutzt, um dynamische Heterogenitäten in biologischem Gewebe zu detektieren, z.B. Hautverbrennungen [35], die Durchblutung in Tumoren [36, 37, 38], die Dynamik im Muskelgewebe in Abhängigkeit einer Übung [39] und die funktionelle Aktivierung der Hirnrinde bei Nagetieren [30, 40, 41, 42] und Menschen [43, 44].

In vielen trüben Materialien, insbesondere biologischem Gewebe, ändern sich die dynamischen Eigenschaften innerhalb der Integrationszeit, die benötigt wird um eine zeitlich gemittelte Autokorrelationsfunktion aufzunehmen. Lösungen dieses Problems stellen die Multispeckle-Detektion mit CCD Arrays [45, 46] oder Echo-Techniken [47] dar, welche es erlauben, die Ensemblemittelung von $g^{(2)}(\mathbf{r}, \tau)$ mit Integrationszeiten zu messen, welche nicht wesentlich größer als die Zerfallszeit von $g^{(2)}(\mathbf{r}, \tau)$ sind. In gleicher Weise ist zu erwarten, dass biomedizinische Anwendungen der DWS wahrscheinlich von einer kurzlebigen und nicht stationären Dynamik beeinflusst werden, welche z.B. von Pulsschlag, langsamer (0.1 Hz) Vasomotion oder aufgrund einer funktional erhöhten Durchblutung nach einem Stimulus in der Großhirnrinde herrühren. Diese Dynamik in der Großhirnrinde benötigt eine zeitlich aufgelöste Messung der Autokorrelationsfunktionen. Für DWS Experimente welche die Bewegungen in einer tiefen Gewebsschicht untersuchen, ist die zeitliche Auflösung von standardmäßigen CCD Kameras allerdings zu gering, um die Korrelationsfunktionen $g^{(1)}(\mathbf{r}, \tau)$ mit Zerfallszeiten zwischen 1 und 100 μs [44] zu messen. Die erste uns bekannte Anwendung von zeitlich aufgelöster QELS in biologischem Gewebe ist die mit dem Pulsschlag synchronisierte Messung des Blutflusses in der Oberschenkelvene eines Kaninchens durch

Tanaka und Benedek [48].

Laser-Doppler-Messungen von Blut in Modell-Kapillaren zeigten eine lineare Abhängigkeit der Linienbreite von der Durchflussmenge, was mit dem linearen Geschwindigkeitsprofil über das Streuvolumen übereinstimmt. Im Gegensatz dazu zeigten mit dem Puls synchronisierte Messungen der Doppler-Linienbreite *in vivo* keine Veränderung in der Vene des Kaninchens während eines Pulsschlags. Laser-Doppler Experimente mit Integrationszeiten von 8 ms an der Herzkranzarterie eines Hundes durch Nishihara et al. [49] mit einem Spektrum-Analysator zeigten andererseits Verschiebungen der Dopplerfrequenzen, die klar dem Pulsschlag folgten. Die limitierte Eindringtiefe von QELS begrenzt allerdings die Möglichkeit, die Dynamik in tiefem Gewebe nicht-invasiv zu messen.

Während der von Tanaka und Benedek benutzte lineare 18-Kanal-Korrelator und der von Nishihara et al. verwendete Spektrum-Analysator eine hohe zeitliche Auflösung erlauben, zeigen nicht-invasiv gemessene DWS-Autokorrelationsfunktionen normalerweise einen Zerfall über mehrere Zeitdekaden. Durduran verwendete DWS zur Überwachung der Dynamik im Muskel während einer Übung [50] bei einer Abtastfrequenz von 3 Hz, allerdings mit einem beträchtlichen Rauschen in den gemessenen Autokorrelationsfunktionen $g^{(2)}(\tau)$, zumal die Daten in einem einzigen Zyklus einer Übung aufgenommen wurden. Allerdings besitzen viele der zur Zeit verwendeten Multi-Tau-Korrelatoren mit einem quasi-logarithmischen Abstand der Zeitkanäle, welche zur Abtastung der Dynamik in tiefem Gewebe benutzt werden, keine direkte Steuerungsfunktion.

In diesem Kapitel stellen wir eine alternative Methode vor, um Autokorrelationsfunktionen von Proben mit einer kurzlebigen und nicht stationären Dynamik mit zwei steuerbaren Einzelphotonenzählern und einem handelsüblichen, nicht steuerbaren Multi-Tau Korrelator zu messen. Der von uns benutzte Multi-Tau-Korrelator (ALV5000) kann nicht extern durch ein Triggersignal gesteuert werden. Aus diesem Grund bleibt als einzige Möglichkeit, zeitlich aufgelöste Korrelationsfunktionen zu erhalten, die Kontrolle der Photodioden. Die verwendeten Avalanche-Photodioden (APD) arbeiten im Geigermodus (PerkinElmer SPCM-AQR-15-FC), bei ihnen besteht die Möglichkeit, über eine externe Spannung die Dioden zu öffnen und zu schließen. Durch ein periodisches oder quasi-periodische Steuern des Detektors resultiert eine Störung der Intensitäts-Autokorrelationsfunktionen. Diese können aber exakt mit der Autokorrelationsfunktion eines stabilen Referenzsignals normiert werden, welches von einem zweiten Detektor gemessen wird. Der zweite Detektor wird dabei synchron zum ersten Detektor, welcher die Probe misst, gesteuert. Neben Experimenten an Latex-Suspensionen wenden wir die Technik in diesem Kapitel zur Messung von mit dem Pulsschlag synchronisierten Intensität-Autokorrelationsfunktionen am menschlichen Unterarm und am Handgelenk oberhalb der Arteria Radialis (Speichenschlagader) an.

4.1 Methode und experimenteller Aufbau

Als Lichtquelle verwendeten wir einen Diodenlaser mit externer Kavität mit eine Wellenlänge von $\lambda = 802\,\text{nm}$ (Toptica TA100) (siehe Abb. 4.1). Der Laser-

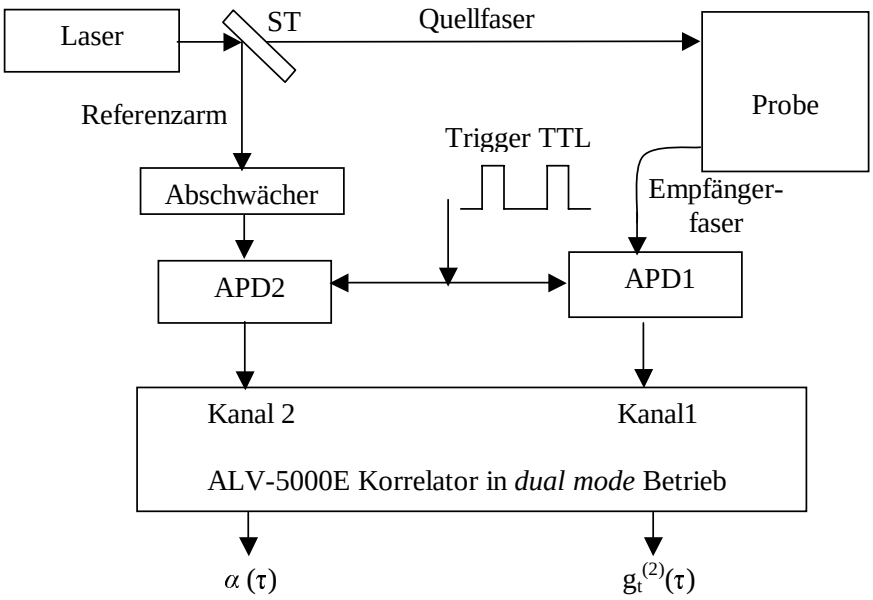

Abbildung 4.1: Experimenteller Aufbau für zeitaufgelöste DWS. ST: Strahlteiler, APD:Avalanche Photodioden.

strahl wird von einem Strahlteiler in zwei Anteile aufgespalten: Der Referenzstrahl wird abgeschwächt und von einer Avalanche-Photo-Diode (APD2) im Geigermode (PerkinElmer SPCM-AQR-15-FC) detektiert, mit dem anderen Strahl wurde die Probe (Suspension aus Polystyrol oder biologisches Gewebe) beleuchtet. Das vielfach gestreute Licht wurde ungefähr 20 mm von der Quelle entfernt mit einer optischen Faser, welche bei unserer Wellenlänge $\lambda = 802\,\text{nm}$ sechs Moden transportiert, gesammelt [51] und mit einer zweiten Avalanche-Photo-Diode (APD1, gleicher Typ wie APD2) detektiert.

Wir bezeichnen die an den Detektoren eintreffenden Intensitäten mit $I_l(t)$ ($l = 1, 2$). Über ein externes TTL-Signal $M(t)$ werden beide Avalanche-Photo-Dioden gleichzeitig gesteuert. Falls die Diode ein Messsignal liefert (geöffnet ist) gilt $M(t) = 1$, im anderen Fall ist $M(t) = 0$. Die Detektoren mit einem Verstärkungsfaktor von K_l produzieren $n_l(t) = M(t)K_lI_l(t)$ TTL-Signale. Diese Signale $n_1(t)$ und $n_2(t)$ der Dioden APD1 und APD2 werden an zwei separate Kanäle eines digitalen Korrelators (ALV5000E), welcher im Dual Mode arbeitet, gegeben. Da es nicht möglich ist, den Korrelator mit $M(t)$ zu synchronisieren, berechnet er auch eine Korrelationsfunktion, wenn die Dioden kein Signal liefern.

Die Autokorrelationsfunktion $g_t^{(2)}(\tau)$ der Photonensignale $n_1(t)$, gemessen von

einem zeitlich mittelnden, nicht-getakteten Korrelator, ist

$$g_t^{(2)}(\tau) = \frac{\frac{1}{T-\tau}\int_0^{T-\tau} I_1(t)M(t)I_1(t+\tau)M(t+\tau)\mathrm{d}t}{\left[\frac{1}{T}\int_0^T I_1(t)M(t)\mathrm{d}t\right]^2}. \tag{4.1}$$

Unter der Annahme, dass die Detektoren ein lineares Verhalten zeigen (d.h. konstante Proportionalitätsfaktoren K_l), dass sich außerdem die zeitliche Autokorrelationsfunktion während der Integrationszeit (während $M(t) = 1$) nicht ändert und vor allem unter der Voraussetzung, dass $M(t)$ und $I_l(t)$ statistisch unabhängige Ereignisse sind, lässt sich das Integral in Gl. (4.1) faktorisieren, und man erhält

$$g_t^{(2)}(\tau) = \alpha(\tau)g^{(2)}(\tau), \tag{4.2}$$

wobei $g^{(2)}(\tau)$ die Intensität-Autokorrelationsfunktion für $M(t) = konst. = 1$ ist, d.h. für den Fall eines gesteuerten Korrelators. Der Umrechnungsfaktor $\alpha(\tau)$, der die gemessene Autokorrelationsfunktion $g_t^{(2)}(\tau)$ auf $g^{(2)}(\tau)$ bezieht, ist

$$\alpha(\tau) = \frac{\frac{1}{T-\tau}\int_0^{T-\tau} M(t)M(t+\tau)\mathrm{d}t}{\left[\frac{1}{T}\int_0^T M(t)\mathrm{d}t\right]^2}. \tag{4.3}$$

Betrachten wir zuerst den Fall eines periodischen Signals $M(t)$ mit insgesamt N Zyklen innerhalb der Dauer des Experimentes T. Jeder Zyklus wird beschrieben durch die Zeitdauer T_1, in der die Diode geöffnet, und T_2, in welcher sie geschlossen ist.

Die Zeitabhängigkeit von $\alpha(\tau)$ führt zu einer maximalen Verzerrung der Autokorrelationsfunktion mit einem Faktor $1 + T_2/T_1 \geq 1$ für $\tau = 0$, und zu einer periodischen Modulation von $g_t^{(2)}(\tau)$ für Zeiten, die viel größer als die Zerfallszeit von $g^{(2)}(\tau)$ sind. Falls $g^{(2)}(\tau)$ innerhalb der Öffnungszeit T_1 komplett zerfällt, reduziert sich der Umrechnungsfaktor $\alpha(\tau)$ für $0 \leq \tau \leq T_1$ zu

$$\alpha(\tau) = \frac{(T_1-\tau)(T_1+T_2)}{T_1^2}. \tag{4.4}$$

Um Bewegungen im Gewebe in verschiedenen Phasen eines Pulsschlags zu detektieren, benötigt man eine quasiperiodische Steuerung, da auch der Pulsschlag keinem streng periodischen Muster folgt. Die Modulationsfunktion $M(t)$, welche z.B. aus einem Pulsoxymeter-Signal abgeleitet wird, kann dann durch eine konstante Öffnungszeit T_1 und eine variable Zeit T_2 zwischen zwei Öffnungszeiten beschrieben werden. Bezeichnet man die Anzahl der Intervalle, in denen der Detektor geöffnet ist, mit N_{open} (T ist die gesamte Integrationszeit), erhalten wir für den Umrechnungsfaktor

$$\alpha(\tau) = \frac{(T_1-\tau)T^2}{(T-\tau)T_1^2 N_{\mathrm{open}}} \approx \frac{T}{N_{\mathrm{open}}T_1} - \frac{T\tau}{N_{\mathrm{open}}T_1^2}. \tag{4.5}$$

Sind T_1 und T_2 im streng periodischen Fall oder T_1, T und N_{open} im quasi-periodischen Fall bekannt, so können wir Gl. (4.4) oder (4.5) benutzen, um den Umrechnungsfaktor $\alpha(\tau)$ zu berechnen und erhalten damit die Intensität-Autokorrelationsfunktion eines gesteuerten Korrelators $g^{(2)}(\tau)$ für die gewählte Zeitspanne.

Die Abschätzung von $\alpha(\tau)$ aus der zeitlichen Verteilung der Intensität, welche viele Korrelatoren aufzeichnen, ist aber leider unzuverlässig, solange die Protokollierung der Intensität, welche über ein paar $10 - 100\,\text{ms}$ gemittelt wird, nicht in der Lage ist, die Öffnungszeiten des Detektors mit ausreichender Genauigkeit aufzunehmen, insbesondere für eine kleine Anzahl von Zyklen ($N_{\text{open}} < 100$). Direkter und genauer kann der Umrechnungsfaktor $\alpha(\tau)$ mit einem zweiten Detektor (APD2) gemessen werden, welcher eine konstante Intensität $I_2(t)$ misst und synchron zur APD1 mit dem selben Modulationssignal $M(t)$ gesteuert wird. Die normalisierte Autokorrelationsfunktion des Photonensignals $M(t)K_2I_2(t)$ für eine konstante Intensität $I_2(t)$ ist dann nach den Gln. (4.2) und (4.3) gerade der Umrechnungsfaktor $\alpha(\tau)$.

Um Verzerrungen aufgrund von Nichtlinearitäten des Detektors [52] und Nachpulsen [53] zu minimieren, wurden die Experimente mit einer gemittelten Zählrate (gemessen bei kontinuierlicher Detektion) zwischen 200 kHz und 400 kHz durchgeführt. Dabei wurden die Zählraten sowohl der Probe als auch des Referenzsignals auf ähnliche Werte (mit einer Genauigkeit von 10%) justiert, was zu einer einheitlichen Bestimmung der normierten Zeit-Autokorrelationsfunktion $g^{(1)}(\tau)$ für die periodische als auch die quasi-periodisch getaktete Detektion führt.

4.2 Ergebnisse

Um die grundlegenden Funktionen der vorgestellten Technik zu demonstrieren, wurden drei verschiedene Experimente durchgeführt: (i) periodisches und quasi-periodisches Takten der Photodioden an einer kolloidalen Suspension, (ii) am menschlichen Unterarm, und (iii) am Handgelenk oberhalb der Arteria Radialis (Speichenschlagader). In den beiden Versuchen an menschlichen Probanden haben wir die Detektion mit dem Pulsschlag synchronisiert.

4.2.1 Kolloidale Suspension

Die Probe, welche wir bei diesen Messungen benutzten, war eine wässrige kolloidale Suspension aus Polystyrolkugeln mit einem Durchmesser von $0.4\,\mu\text{m}$ (Volumenanteil 0.55%) in einer Küvette mit den Maßen $5.5\,\text{cm} \times 6.7\,\text{cm} \times 15\,\text{cm}$. Quelle- und Empfängerfasern wurden auf der selben Seite der Küvette mit einem Abstand von 2.3 cm platziert. Für die Steuerung der Dioden benutzten wir ein periodisches TTL-Signal mit den Intervallen $T_1 = 200\,\text{ms}$ und $T_2 = 600\,\text{ms}$. Die dazugehörige zeitlich gemittelte Autokorrelationsfunktion $g_t^{(2)}(\tau)$ (Abb. 4.2a) zeigt nach einem

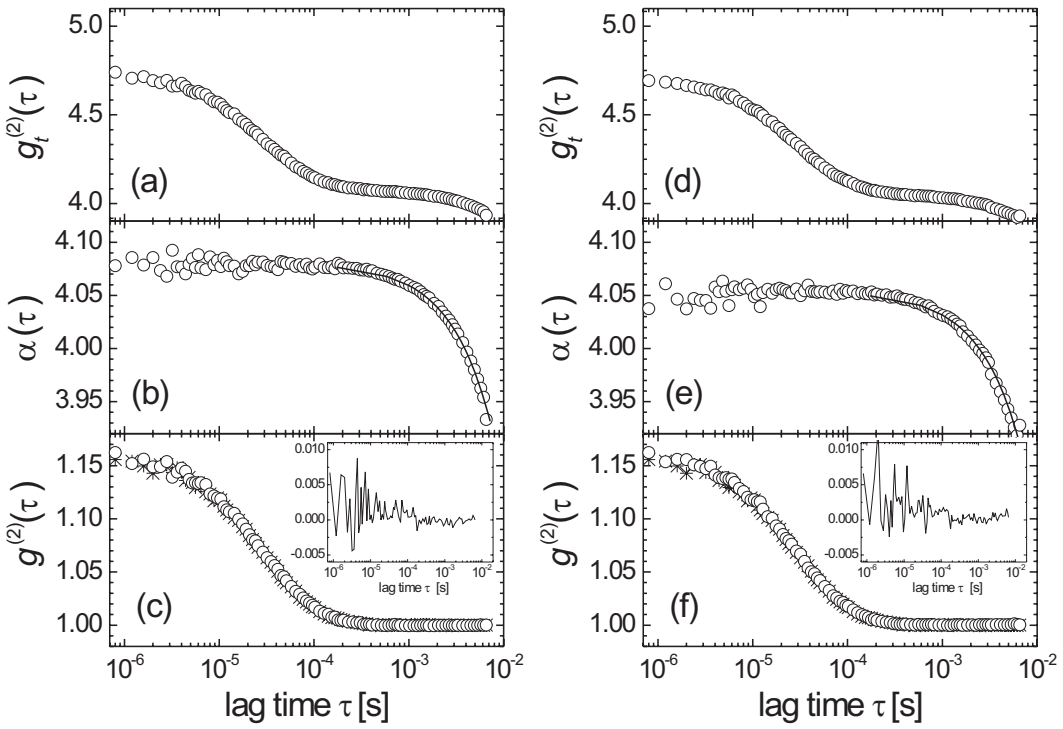

Abbildung 4.2: Kreise: Messwerte für über die gesamte Integrationszeit gemittelte Autokorrelationsfunktionen $g_t^{(2)}(\tau)$ (a), (d), Umrechnungsfaktoren $\alpha(\tau)$ (b), (e) und die wiedergewonnene nur über die Intervalle $M(t) = 1$ gemittelte Intensität-Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ (c), (f) einer kolloidalen Suspension. Die Daten aus der linken Spalte (a-c) stammen aus einer Messung mit periodischen Intervallen $T_1 = 200\,\text{ms}$ and $T_2 = 600\,\text{ms}$. Die rechte Spalte (d-f) zeigt die Messwerte aus einer quasiperiodischen Steuerung der Detektoren, wo T_2 von einem menschlichen Pulsschlag abgeleitet wurde und zwischen 630 und 700 ms variiert ($T_1 = 200\,\text{ms}$). Zum Vergleich, zeigt (c) und (f) auch das mit einem kontinuierlichem Detektor gemessene $g^{(2)}(\tau)$ (Sterne). Die durchgezogenen Linien in (b) und (e) sind Anpassungen von Gl. (4.5) an das gemessene $\alpha(\tau)$. Die Parameter der Anpassung sind $T/(N_{\text{open}}T_1) = 4.080$, $T/(N_{\text{open}}T_1^2) = (20.6\pm0.2)\,\text{s}^{-1}$ für (b) und $T/(N_{\text{open}}T_1) = 4.050$, $T/(N_{\text{open}}T_1^2) = (21.8\pm0.3)\,\text{s}^{-1}$ für (e). Die Einsätze zeigen die Unterschiede zwischen den Autokorrelationsfunktionen, welche man jeweils aus einem getakteten und einem kontinuierlichem Experiment erhält.

ersten Abfall bei ungefähr $100\,\mu\text{s}$ ein geneigtes Plateau, gefolgt von einem zweiten Abfall, der bei ungefähr 10 ms startet. Die Amplitude von $g_t^{(2)}(\tau)$ bei nichtkontinuierlicher Detektion ist hier viel größer als der Wert $g^{(2)}(\tau = 0) = 1.167$, den wir bei einer kontinuierlichen Detektion mit einer 6-Mode-Faser [51] erhalten. Dies wird dadurch erklärt, dass bei der getakteten Detektion die gemessene Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $g_t^{(2)}(\tau)$ um den Umrechnungsfaktor $\alpha(\tau) \geq 1$ (siehe Gl. (4.2)) von der Funktion $g^{(2)}(\tau)$ abweicht.

Der zweite Abfall in $g_t^{(2)}(\tau)$ folgt aus der Modulation der Photonen-Zählrate, was man anhand der direkten Messung des Umrechnungsfaktor $\alpha(\tau)$ über das Referenzsignal erkennt (siehe Abb. 4.2b). Die Amplitude des Umrechnungsfaktor $\alpha(\tau)$, welche wir aus einem Fit der Daten an Gl. (4.5) erhalten, ist mit $T/(N_{\text{open}}T_1) = 4.080$ sehr nah am theoretischen Wert $\alpha(\tau = 0) = 1+T_2/T_1 = 4$. Aus der Abklingrate $T/(N_{\text{open}}T_1^2) = (20.6 \pm 0.2)\,\text{s}^{-1}$ und der Amplitude von $\alpha(\tau)$ erhält man einen Wert für die Zeit, in welcher der Detektor geöffnet ist von $T_1 = 198\,\mu$s, was in sehr guter Übereinstimmung mit dem theoretischen Wert $T_1 = 200\,\mu$s ist. Der Unterschied zwischen theoretischem und experimentellem Wert ergibt sich aufgrund der leicht unterschiedlichen Anzahl von offenen und geschlossenen Intervallen während der Messung. Die mit Gl. (4.2) berechnete Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ hat nur einen Abfall, der aus der Bewegung der Streuer resultiert und sehr gut mit der Korrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ übereinstimmt, die man direkt aus einer Messung mit einem nicht-getakteten Detektor erhält (siehe Abb. 4.2c).

Das Steuersignal $M(t)$ für den quasi-periodischen Fall erzeugten wir, indem wir den analogen Ausgang eines optischen Puls-Oxymeter (Nellcor N595), welches den Pulsschlag eines Probanden mass, in ein TTL-Signal mit $T_1 = 200\,\text{ms}$ und variierendem T_2 zwischen 630 und 700 ms umformten. Die über die gesamte Messdauer gemittelte Autokorrelationsfunktion $g_t^{(2)}(\tau)$ zeigt wiederum zwei weit voneinander getrennte Zerfälle, die mit der Bewegung der Streuer und der nicht konstanten Photonen-Zählrate verknüpft sind (siehe Abb. 4.2d). Aus einer Anpassung von Gl. (4.5) an das gemessene $\alpha(\tau)$ (Abb. 4.2e) erhalten wir die Amplitude $T/(N_{\text{open}}T_1) = 4.050$ und die Zerfallsrate $T/(N_{\text{open}}T_1^2) = (-21.8 \pm 0.3)\,\text{s}^{-1}$. Dies entspricht einer Öffnungszeit $T_1 = 186\,\text{ms}$, welche leicht unterhalb dem theoretischen Wert $T_1 = 200\,\text{ms}$ liegt. Korrigiert man die über die gesamte Messdauer gemittelte Autokorrelationsfunktion $g_t^{(2)}(\tau)$ mit dem gemessenen Umrechnungsfaktor $\alpha(\tau)$ mithilfe von Gl. (4.2), so erhält man eine über das Ensemble gemittelte Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$, welche von dem kontinuierlich gemessenen $g^{(2)}(\tau)$ praktisch nicht zu unterscheiden ist (Abb. 4.2f).

4.2.2 Pulsschlag-getaktete DWS am menschlichen Unterarm

In diesem Experiment maßen wir die Dynamik im Gewebe in verschiedenen Phasen des Pulsschlags. Ein Sensor zusammengesetzt aus einer Quell-Faser und einer Detektor-Faser im Abstand von 2.3 cm wurde am linken Unterarm eines Probanden angebracht (siehe Abb. 4.3). Der Puls wurde mit dem Puls-Oxymeter aufgezeichnet, dessen Sensor an der Fingerspitze des Ringfingers angebracht war. Sein analoger Ausgang wurde benutzt, um das Steuersignal der Diode $M(t)$ mithilfe eines elektronischen Schaltkreises zu erstellen. Um die Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ bei verschiedenen Phasen des Pulsschlags aufzuzeichnen, platzierten wir das Messfenster mit der Dauer $T_1 = 200\,\text{ms}$ mit

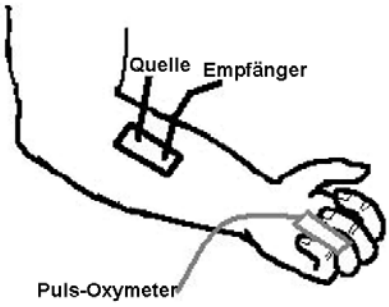

Abbildung 4.3: Experimentelle Anordnung für das Experiment am Unterarm. Der aus Quell- und Detektorfaser zusammengesetzte Sensor ist entlang dem Unterarmknochen platziert. Der Pulsschlag wird von einem Puls-Oxymeter, dessen Sensor sich an der Spitze des Ringfingers befindet, aufgezeichnet.

einer zunehmenden zeitlichen Verzögerung zum Beginn des Pulsschlags. Die Zeitspanne zwischen dem ersten und letzten Messpunkt beinhaltet ungefähr zwei Pulsschläge (bei einem Puls von 75/min.), und die Zeit zwischen folgenden Verzögerungen war 200 ms. Abbildung 4.4 zeigt die Wellenform des Pulsschlags und die relative Zerfallsrate der Autokorrelationsfunktion, welche man aus der Zerfallszeit $\tau_\mathrm{d} = \int_{\tau_1}^{\tau_2} (g^{(2)}(\tau) - 1)\,\mathrm{d}\tau$, normalisiert mit der in einem kontinuierlichen Experiment gemessenen mittleren Zerfallszeit $\tau_\mathrm{d}^{(kont.)}$, erhält. Wir wählten die Integrationsgrenzen $\tau_1 = 0.8 \times 10^{-6}$s und $\tau_2 = 1.024 \times 10^{-3}$s, welche den ganzen Zerfall von $g^{(2)}(\tau)$ abdecken, ohne die Grundlinie zu stark zu gewichten.

Wir analysierten die gemessenen Korrelationsfunktionen auch anhand der Lösungen der Korrelations-Diffusions-Gleichung für eine homogenen Halbraum [30]. Für die Dynamik der Streuer im Gewebe wurde Brown'sche Bewegung mit einem effektiven Diffusionskoeffizienten angenommen. Mit den verwendeten Werten für den Absorptionskoeffizienten des Gewebes $\mu_\mathrm{a} = 0.23\,\mathrm{cm}^{-1}$, den reduzierten Streukoeffizienten $\mu'_\mathrm{s} = 1/l^* = 6.8\,\mathrm{cm}^{-1}$ und dem Brechungsindex $n_\mathrm{m} = 1.4$ [54], erhielten wir den Wert $\bar{D} = (2.95 \pm 0.16) \times 10^{-9}\,\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ für den effektiven Diffusionskoeffizienten aus einer kontinuierlichen über mehrere Pulsschläge gemittelten Messung. Wenn wir die effektiven Diffusionskoeffizienten, welchen wir aus den zeitaufgelösten Messungen erhalten, mithilfe des halb-unendlichen Modells aus Kapitel 3 mit dem gemittelten Wert $\bar{D}$ normieren, erhalten wir ein Muster, welches sehr ähnlich dem der relativen Zerfallsraten ist (Daten nicht gezeigt). Die Beobachtung, dass am Unterarm das DWS-Signal keine Anzeichen eines Pulsschlags zeigt, stimmt mit den Pulsschlag-getakteten Laser-Doppler-Messungen in der Oberschenkelvene eines Kaninchens überein [48] und reflektiert das Fehlen von Geschwindigkeit- und Druckwellen in venöser Vaskulatur.

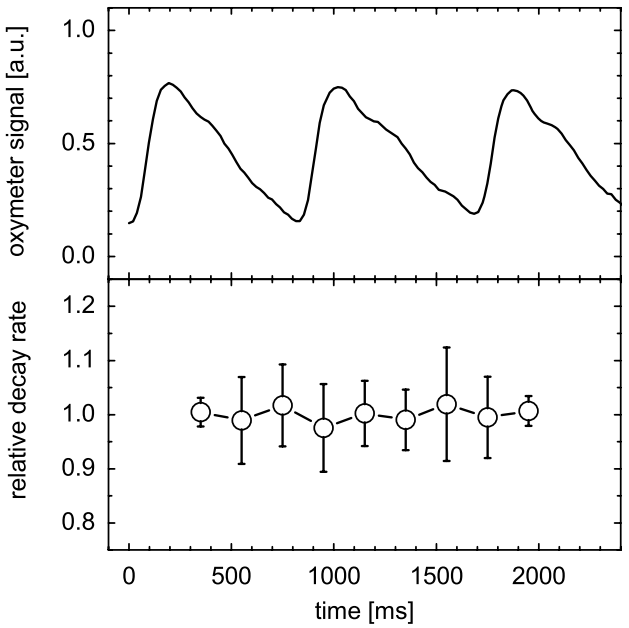

Abbildung 4.4: Oxymeter Signal von der Spitze des Ringfingers (oben) und relative Zerfallsrate der Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ gemessen am Unterarm für verschiedene Phasen des Pulsschlags (unten). Die relative Zerfallsrate ist das Verhältnis zwischen den Zerfallsraten τ_{d}^{-1} gemessen mit und ohne Steuerung der Dioden. Während des Experiments, war der Puls des Probanden ungefähr bei 75/min., dadurch liegt die maximale Verzögerung bei ungefähr 2 Pulsschlägen. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung von je 5 wiederholten Messungen für jede Verzögerung an. Der Abstand zwischen Detektor und Quelle war in diesem Versuch 2.3 cm.

4.2.3 Pulsschlag-getaktete DWS am menschlichen Handgelenk

In diesem Experiment haben wir den Sensor am linken Handgelenk des selben Probanden oberhalb der Arteria Radialis (Speichenschlagader) platziert. Der Abstand zwischen Detektor und Quelle betrug 2.3 cm (siehe Abb. 4.5). Mit Ausnahme der Lage des Sensors war das Protokoll des Experiments dasselbe wie in Kap. 4.2.2. Die gemessen Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ zeigt einen signifikant schnelleren Zerfall während der systolischen Phase (siehe Abb. 4.6), was dafür spricht, dass die vom diffusen Licht erfassten streuenden Partikel sich im Gewebe während der systolischen Phase schneller als in der diastolischen Phase bewegen. In der Tat stellten wir fest, dass sich die Autokorrelationsfunktionen am meisten bei relativ langen Zeiten $20\,\mu\mathrm{s} \leq \tau \leq 200\,\mu\mathrm{s}$ unterscheiden, was Photonenpfaden entspricht, welche vorzugsweise die oberflächlichen Regionen des Gewebes abtas-

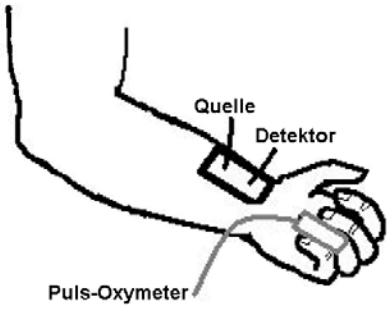

Abbildung 4.5: Experimentelle Anordnung für das Experiment Handgelenk. Der aus Quell- und Detektorfaser zusammengesetzte Sensor ist in Höhe des Handgelenks angebracht. Der Pulsschlag wird von einem Puls-Oxymeter, dessen Sensor sich an der Spitze des Ringfingers befindet, aufgezeichnet.

ten, in welchen sich die Arterie befindet. Im Unterschied zur Situation am Unterarm beobachteten wir, das die Intensitäts-Autokorrelationsfunktionen, welche wir über dem Handgelenk gemessen haben, nicht durch eine halb-unendliche Geometrie mit diffusiven Partikel beschrieben werden können. Die relative Zerfallsrate (siehe Abb. 4.7) steigt während der diastolischen Phase steil auf einen Wert an, der $60-90\%$ größer ist als während der systolischen Phase des Pulsschlags. Diese vom Pulsschlag verursachte Veränderung der Zerfallsrate ist bedeutend größer als die Änderung der Intensität, welche unterhalb 5% liegt.

4.3 Diskussion

Am Vergleich von getakteten mit kontinuierlichen Messungen an kolloidalen Suspensionen konnte gezeigt werden, dass man aus der separaten Messung der zeitlich gemittelten Autokorrelationsfunktion $g_t^{(2)}(\tau)$ und des Umrechnungsfaktors $\alpha(\tau)$ die über das Ensemble gemittelte Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ erhält, welche die nicht-getakteten Messungen im Rahmen der Messgenauigkeit reproduziert.

Die Messungen am Unterarm zeigten, dass die Dynamik des untersuchten Gewebes nicht signifikant zwischen den verschiedenen Phasen des Pulsschlags variiert (siehe Abb. 4.4). Diese Beobachtung könnte damit zusammenhängen, dass das von der Photonen-Wolke abgetastete Gewebe (ungefähr bis zu 1 cm unterhalb der Haut) keine Arterien enthält, in den rote Blutkörperchen sich mit einer periodisch modulierten Geschwindigkeit bewegen. Die gute Übereinstimmung der gemessenen $g^{(2)}(\tau)$ mit den Vorhersagen für diffusive Dynamik ähnelt der scheinbar Brown'schen Dynamik in Hirngewebe [43, 44] und hat wahrscheinlich seinen Ursprung in dynamischen Heterogenitäten auf einer Längenskala unterhalb der mittleren freien Transportweglänge $l^* \approx 1.5\,\mathrm{mm}$.

Im Gegensatz dazu variieren die Zerfallsraten der Autokorrelationsfunktionen,

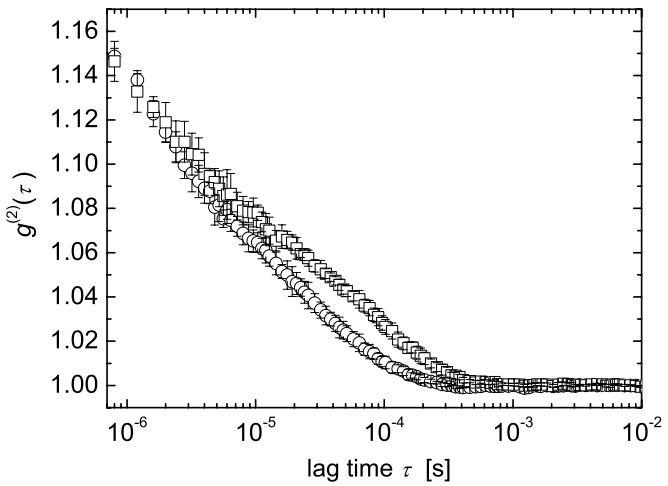

Abbildung 4.6: Intensitäts-Autokorrelationsfunktionen $g^{(2)}(\tau)$ aufgenommen am Handgelenk für die systolische Phase (Zeit = $[850, 1050]$ ms, Kreise) und die diastolische Phase (Zeit = $[1250, 1450]$ ms, Quadrate). Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung von je 5 Messungen an. Der Abstand zwischen Quelle und Detektor ist 2.3 cm.

welche über der Arteria Radialis (Speichenschlagader) gemessen wurden, synchron mit dem an der Spitze des Ringfingers gemessenen Pulsschlag (siehe Abb. 4.7). Die gemessene Intensität variiert dabei weniger als 5%, passend zu den kleinen Veränderungen des partiellen Blutvolumens während eines Pulsschlags. Folglich entsteht der grosse systolische Anstieg der Zerfallsrate von ungefähr $60-90\%$ wahrscheinlich durch die erhöhte Fließgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen während der systolischen Phase, was mit invasiven Laser-Doppler-Messungen in der Koronararterie eines Hundes [49], übereinstimmt. Ferner wird die Interpretation, dass der systolische Anstieg von τ_{d}^{-1} von einem Anstieg der arteriellen Blutflussgeschwindigkeit herrührt, von dem Umstand bekräftigt, dass in der Arteria Radialis (Speichenschlagader) die Geschwindigkeit des Blutflusses, der Druck und der lokale Durchmesser sich während eines Pulsschlags in Phase ändern [55, 56].

4.4 Folgerungen

Zusammenfassend haben wir eine Methode präsentiert, welche es erlaubt, eine zeitlich nicht stationäre Dynamik in tiefem Gewebe nicht-invasiv, mit einer zeitlichen Auflösung von unterhalb einer Sekunde zu messen, indem wir dynamische Vielfachstreuung (DWS) mit zeitlich getakteten Detektoren verwendeten. Diese Technik ist mit standardmäßigen Multi-Tau-Korrelatoren ohne extern kontrollierbare Steuerungsfunktion kompatibel. Während zeitlich aufgelöste Messungen am Unterarm keine signifikanten Unterschiede für die verschiedenen Phasen ei-

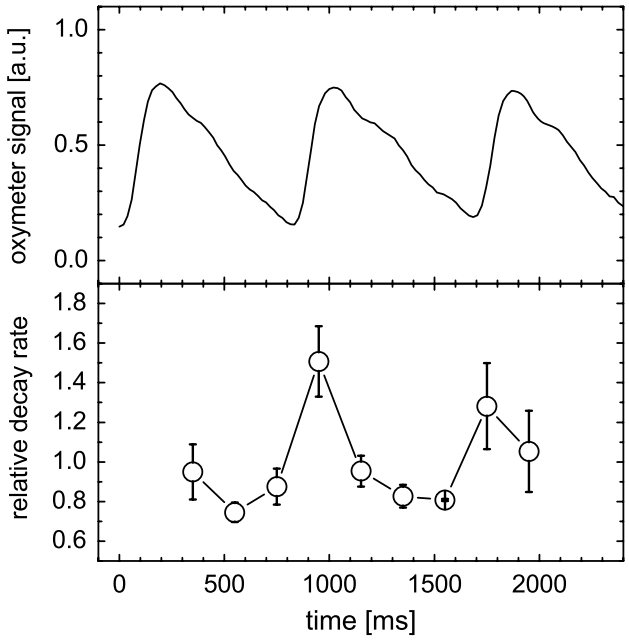

Abbildung 4.7: Oxymeter-Signal von der Spitze des Ringfingers (oben) und relative Zerfallsrate der Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ gemessen am Handgelenk für verschiedene Phasen des Pulsschlags (unten). Während des Experiments war der Puls des Probanden ungefähr bei 75/min., dadurch liegt die maximale Verzögerung bei ungefähr 2 Pulsschlägen. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung von je 5 wiederholten Messungen für jede Verzögerung an. Der Abstand zwischen Detektor und Quelle war in diesem Versuch 2.3 cm.

nes Pulsschlags zeigten, zeigten Messungen über der Arteria Radialis (Speichenschlagader), übereinstimmend mit dem physiologischen Muster, einen schnelleren Zerfall der Autokorrelationsfunktionen in der systolischen als in der diastolischen Phase. Die grosse Änderung des DWS-Signals von bis zu 90% während eines Pulsschlags stimmt mit den invasiven Messungen der Fließgeschwindigkeit von Blutkörperchen in Arterien überein. Aufgrund dieser Änderung wäre es möglich, mit Pulsschlag getriggertem DWS als einem empfindlichen, nicht-invasiven Diagnose-Instrument, die Perfusion in tiefem Gewebe abzuschätzen, z.B. nach einer Operation oder auf Intensivstationen.

Kapitel 5

Zeitaufgelöste Mehrspeckle-Detektion

5.1 Einleitung

Die zeitlich aufgelöste Messung der Autokorrelationsfunktionen mit einem kontinuierlich arbeitenden Korrelator und einem gesteuerten Photonenzähler, wie in Kapitel 4 vorgestellt, hat zwei grundsätzliche Nachteile. Zum Einen muss die Messung für jeden untersuchten zeitlichen Abstand vom Trigger-Signal wiederholt werden, was ein periodisches Signal erfordert. Dies ist, speziell in biologischem Gewebe, im Allgemeinen nicht der Fall. Zum Anderen gehen durch den überwiegend geschlossenen Photonenzähler die meisten Photonen für die Messung verloren. Wie in den vorherigen Kapiteln mehrfach erwähnt ist aber eine hinreichend hohe Zählrate der detektierten Photonen der entscheidende Faktor für das Signal-Rausch-Verhältnis (SRV). Bei dem von uns betriebenen Korrelator erfolgt die Ensemblemittelung $\langle ... \rangle$ der Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $g_2(\tau, \mathbf{r}) = \langle I(\tau, \mathbf{r}) \cdot I(0, \mathbf{r}) \rangle / \langle I(0, \mathbf{r})^2 \rangle$ über die Zeitmittelung $\frac{1}{T} \int_0^T ...dt$. Diese benötigt für ein hinreichendes SRV eine Integrationszeit T, welche von der Korrelationszeit τ und der Photonenzählrate abhängt. Durch den zeitweise geschlossenen Detektor verringert man aber nicht nur die Integrationszeit T, sondern auch die effektive Photonenzählrate, umso stärker, je kleiner man die Öffnungszeit und damit die zeitliche Auflösung, wählt was die effektive Zählrate bei dieser Messanordnung deshalb stark einschränkt.

Eine Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses kann über eine Erhöhung der eingestrahlten Laserleistung geschehen, wobei dies aber im Falle biologischen Gewebes anders als bei leblosen weichen Materialien strikten Grenzwerten ($4\,\mathrm{mW/mm^2}$) [57] unterliegt. Eine andere Möglichkeit besteht in der Detektion mehrerer Speckleflecken. Dies könnte prinzipiell mithilfe von CCD Sensoren geschehen [45, 46]. Bei Messungen von Bewegungen in tieferen Schichten des Gewebes liegen die Zerfallszeiten der Korrelationsfunktionen, aufgrund der hohen Zahl der Streuereignisse, in einem Bereich unterhalb einer Millisekunde. Die zeit-

liche Auflösungen von üblichen CCD Kameras ist deshalb für die Messung zu klein.

Eine andere Möglichkeit wird in diesem Kapitel durch die parallele Messung der Intensitätsfluktuationen mehrerer statistisch unabhängiger, aber äquivalenter Speckleflecken verfolgt (siehe Abb. 5.1). Außerdem wird hier nicht der Detektor

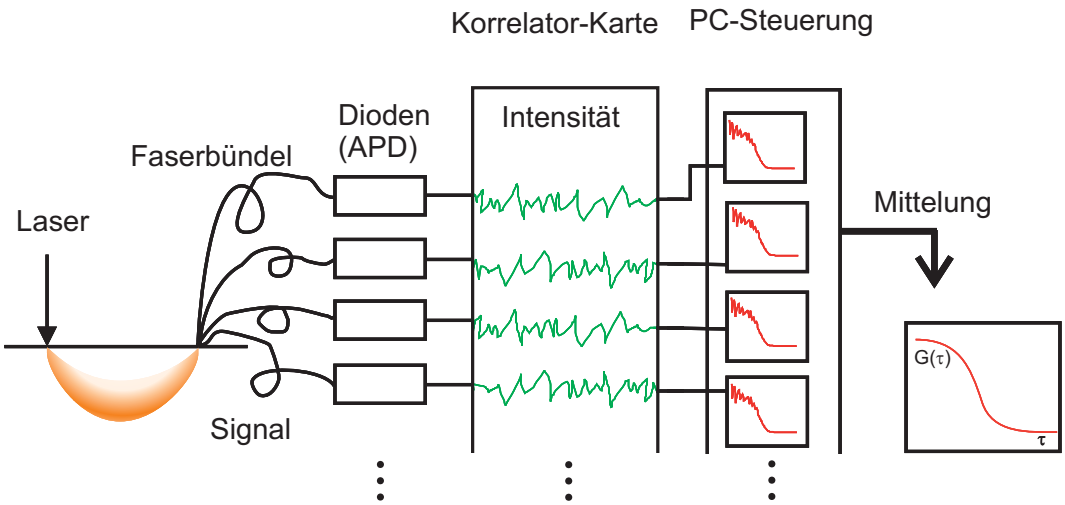

Abbildung 5.1: Schematische Darstellung des Aufbaus für die Mehrspeckle-Detektion.

sondern der Korrelator kontrolliert, weshalb sämtliche Photonen für die Messungen zur Verfügung stehen.

5.2 Experimenteller Aufbau

Wir benutzen einen Dioden-Laser mit einer einer externen Kavität und einer Wellenlänge von $\lambda = 802\,\mathrm{nm}$ (Toptica TA100) mit einer Kohärenzlänge von ungefähr 100 m als Lichtquelle. Die Wellenlänge des Lasers liegt nahe dem isosbestischen Punkt von Hämoglobin/Desoxyhämoglobin, welche die stärksten Absorber in den von uns untersuchten Gewebearten sind. Infolgedessen spiegeln Änderungen der mittleren Photonen-Zählrate Veränderungen des Blutvolumens in dem untersuchten Gebiet wieder. Der Laserstrahl wird in eine Multimode-Faser mit einem Stufenprofil eingekoppelt. Um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern, wurde der Durchmesser des beleuchteten Gebietes, durch Aufweiten des Lichtstrahls auf ungefähr 3-5 mm erweitert. Sowohl die Quell-Faser wie auch das Empfänger-Faser-Bündel werden starr auf eine Schiene montiert, welche die kontinuierliche Veränderung des Abstandes zwischen Detektor und Quelle erlaubt (siehe Abb. 5.2). Um Artefakte aufgrund von Bewegungen zwischen dem Quelle-Detektor-Aufbau und der Haut des Probanden zu minimieren, wird der Aufbau vorsichtig auf die Haut gepresst. Wir quantifizieren die Dynamik der Streuer im

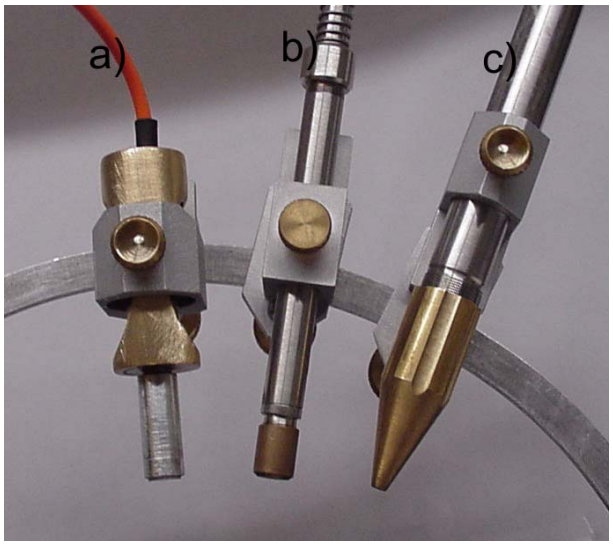

Abbildung 5.2: (a) Quelle (b) 5-Faser Empfänger und (c) 32-Faser Empfänger montiert auf einer schwenkbaren Schiene.

Gewebe, indem wir die Zerfallsrate k_d berechnen.[1]

Unsere Empfänger bestehen aus Bündeln mit 8, 16 und 32 Monomode-Fasern (SMF-28, Schäfter+Kirchhoff) mit einer Grenzwellenlänge von ungefähr 1260 nm, einer numerischen Apertur von 0.12, einem Modenfeld-Durchmesser von ungefähr 10 μm und einer Manteldicke von 125 μm. Jede Faser ist ungefähr 4 m lang und optisch mit einem schwarzen PVC-Kabel isoliert. Am Ende der Fasern ist die Ummantelung über eine Länge von 1 cm entfernt. Die freiliegenden Enden der Fasern werden mit Epoxidharz zusammengeklebt und in eine zylindrischen Führung aus Polyoxymethylen (Delrin) mit einem Innendurchmesser von 1 mm eingefügt (siehe Abb. 5.3). Nach dem Aushärten wurde die Vorderseite des Empfängers mit einer Diamantpaste mit einer Körnung von 0.25 μm poliert. Zum Schutz der polierten Fasern und um den optischen Kontakt durch die Haare zu erleichtern, benutzten wir eine trichterförmige Spitze mit einer integrierten Konvexlinse (siehe Abb. 5.3). Auf der gegenüberliegenden Seite ist jede Faser mit einem FC-APC Stecker mit einem Schrägschliff von 8° ausgestattet, um die Anfälligkeit der Transmission gegenüber Biegung und Temperaturschwankungen zu reduzieren. Aufgrund von Variationen im Kerndurchmesser der Fasern schwankt die Anzahl der transportierten Moden in beiden Polarisationen von sechs bis zehn innerhalb des Faserbündels für die benutzte Wellenlänge von $\lambda = 802$ nm. Die Durchbiegung der Faser, z.B. durch langsame Bewegung der Probanden, verursachen sprunghafte Sprünge der Zählrate und eine fehlerhafte Normierung von $g^{(2)}(\boldsymbol{r}, \tau)$, da der Transport von Moden höherer Ordnung nicht stabil ist. Moden höherer Ord-

[1] Die mittlere Zerfallsrate ist definiert als $k_\mathrm{d} = 1/\int_{\tau_1}^{\tau_2} \mathrm{d}\tau' \, \langle |g^{(1)}(\tau')|^2 \rangle_N$. Die Integrationsgrenzen $\tau_1 = 0.8\,\mu s$ und $\tau_2 = 2.4\,ms$ wurden so gewählt, dass der vollständige Zerfall von $g^{(2)}(\tau)$ erfasst wird, ohne die Nulllinie zu stark zu gewichten.

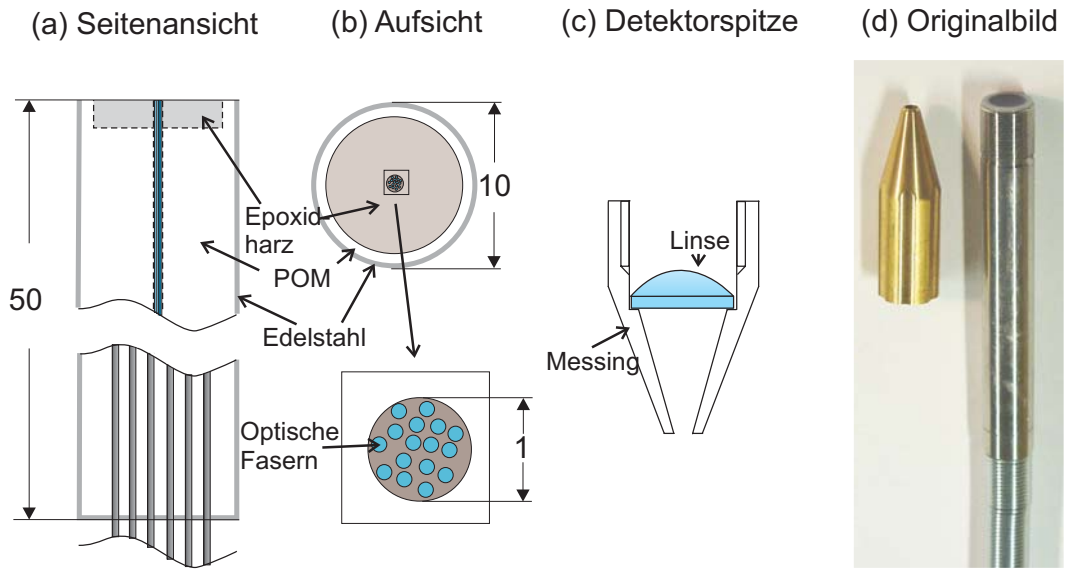

Abbildung 5.3: (a) Seitenansicht und (b) Aufsicht des Multi-Faser-Empfängers. Die Monomode-Fasern in einer zylindrischen Führung aus Polyoxymethylen (Delrin) mit Epoxidharz zusammengeklebt. Eine trichterförmige Spitze (c) mit einer integrierten Linse wird benutzt, um das Speckle-Muster von einem kleinen Gebiet auf der Haut auf die Stirnfläche der Fasern abzubilden. (d) Originalabbildung von Spitze und Multi-Faser-Empfänger.

nung können effizient in nicht geführte Leckmoden transformiert werden, wenn man die Fasern um einen Zylinder mit 20 mm Durchmesser wickelt, was dazu führt das bei einer Wellenlänge von $\lambda = 802$ nm sechs gegenüber Biegung unempfindliche Moden transportiert werden. Der Betrieb der Fasern mit sechs Moden reduziert den Kohärenzfaktor β auf $1/6 \approx 0.17$ (verglichen mit $\beta = 1$ für einen idealen Monomode-Empfänger). Obwohl die erhöhte mittlere Zählrate der 6-Moden-Faser das Signal-Rausch-Verhältnis (SRV) von $g^{(2)}(\tau)$ nicht signifikant über das der Monomode-Faser verbessert, führt sie jedoch zu einem verbesserten SRV für die Messung der mittleren Zählrate [51].

Die Photonen werden mit 4-Kanal Avalanche-Photodioden-Modulen (SPCM-AQ4C, Perkin-Elmer) detektiert (siehe Abb. 5.5). Jeder Kanal ist von den anderen optisch isoliert. Die APD-Module benötigen eine sehr stabile Spannungsversorgung von 2, 5 und 30 V (weniger als 2 % Schwankung für die 2 V Versorgung), was mit zwei Stromversorgungen (PSAIG 5 V 40 A, Mean Well) realisiert wurde. Um Beschädigungen an den Dioden zu verhindern, müssen die verschiedenen Spannungen in einer bestimmten Reihenfolge (siehe Abb. 5.4) eingeschaltet werden. Das Ausgangssignal jeder APD ist ein TTL-Puls mit einer Länge von 25 ns, welcher an einen 32-Kanal-Multi-Tau-Korrelator (correlator.com) (siehe Abb. 5.5) gesendet wird, der für die parallele Berechnung von 32 Intensität-Autokorrelationsfunktionen entwickelt wurde. Die 128 Zeit-

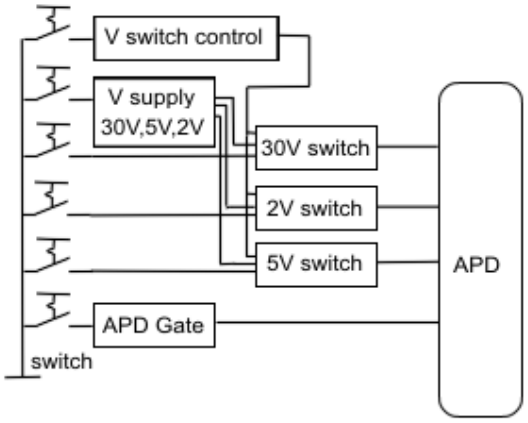

Abbildung 5.4: Stromversorgung eines APD-Moduls. Die verschiedenen Spannungen müssen in der Reihenfolge 30 V, 2 V, 5 V eingeschaltet werden.

kanäle des Korrelators haben einen quasi-logarithmischen Verlauf. Nach einem ersten Block von 16 Kanälen mit einer Abtastzeit von 200 ns verdoppelt sich die Abtastzeit alle acht Zeitkanäle. Der Puffer des Korrelators speichert ungefähr 1000 normierte Intensität-Autokorrelationsfunktionen $g_i^{(2)}(\tau)$ von jedem der 32 Kanäle, bevor man sie über den USB-Anschluss mit einem PC (Pentium 3.2 GHz) auslesen muss. Die über das Bündel gemittelte reduzierte Autokorrelationsfunktion $\langle |g^{(1)}(\tau)|^2 \rangle_N = \sum_{i=1}^{N} (g_i^{(2)}(\tau) - 1)/\beta_i$ wird auf dem PC berechnet. Die Kohärenzfaktoren β_i der einzelnen Fasern werden zuvor über die Analyse von Messdaten einer Referenzprobe bei identischen Bedingungen (z.B. Geometrie oder Zählrate) mit einem Kumulantenfit 1.-3. Ordnung bestimmt. Durch die Verwendung von gemessenen Kohärenzfaktoren zur Mittelung der Intensität-Autokorrelationsfunktionen können Abweichungen der Detektoren vom idealen Zustand, welche normalerweise unter 3 % liegen, kompensiert werden. Ein LabView-Programm wird benutzt, um den Korrelator zu steuern und die Korrelationsfunktionen zu mitteln.

5.2.1 Charakterisierung des Aufbaus

Um die Leistungsfähigkeit des Multi-Speckle-Aufbaus bei niedrigen Zählraten $\langle n \rangle$ zu testen, maßen wir 20 Intensität-Autokorrelationsfunktionen an einer wässrigen Suspension von Polystyrol-Kugeln. Wir stellten die Zählrate der Photonen auf 20 kHz pro Faser (3.3 kHz pro Fasermode) ein. Dieser Wert ist typisch für Experimente am menschlichen Kopf mit einem Quelle-Empfänger-Abstand von ungefähr 30 mm. Der Vergleich der Messdaten zwischen einer einzelnen Faser und einem Bündel von 15 Fasern zeigt für das 15-Faser-Bündel ein deutlich verringer-

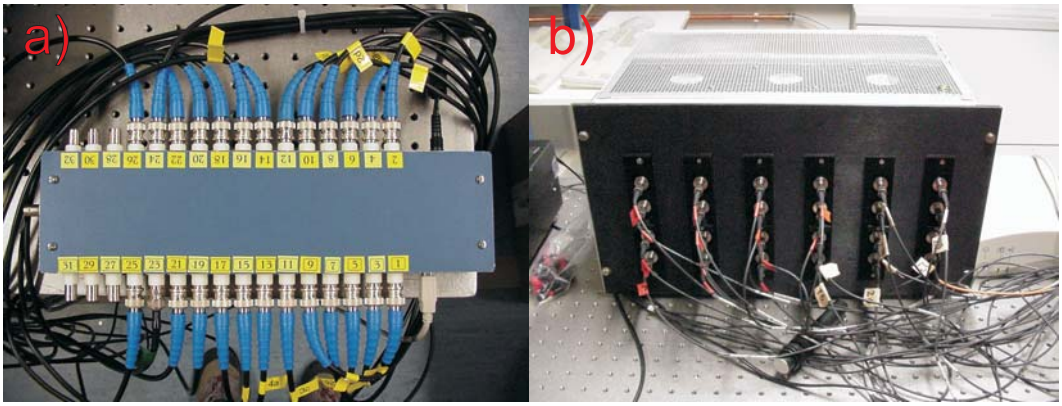

Abbildung 5.5: a) 32-Kanal Multi-Tau-Korrelator (correlator.com), b) Gehäuse mit Spannungsversorgung von 6 vertikal angeordneten 4-Kanal-APD-Modulen (SPCM-AQ4C, Perkin-Elmer).

tes Rauschen (siehe Abb. 5.6). Die Standardabweichungen $\sigma_N(\tau)$ der reduzierten Autokorrelationsfunktion $\langle |g^{(1)}(\tau)|^2 \rangle_N$ gemessen mit $N = 1$ und mit $N = 15$ Fasern zeigt Abb. 5.7. Die experimentellen Daten stimmen gut mit den Vorhersagen des Rausch-Modells von Koppel [59] überein.

Um das Rauschen in $g^{(2)}(\tau)$ in Abhängigkeit von der Anzahl der benutzten Fasern zu untersuchen, errechneten wir die integrierten Standardabweichungen $s_N = \int_{\tau=1\,\mu\mathrm{s}}^{\tau=51.2\,\mathrm{ms}} \sigma_N(\tau')\,\mathrm{d}\tau'$ als Funktion der Anzahl der Fasern N (siehe Abb. 5.8). Wir fanden $s_N \propto N^{-1/2}$, was beweist, das die verschiedenen Fasern statistisch unabhängige Speckles untersuchen. Dementsprechend kann ein Überspringen zwischen benachbarten Fasern vernachlässigt werden, was auch die extrem niedrigen Amplituden der Kreuz-Korrelationsfunktion ($< 10^{-5}$) zwischen den Zählraten $n(t)$ der benachbarten Fasern beweisen.

5.3 Einsatzmöglichkeiten

Wir verdeutlichen die Leistungsfähigkeit des Multi-Speckle-Aufbaus für die Messung von nicht-stationärer Dynamik durch Messungen von $g^{(2)}(\tau)$ an der Spitze des Zeigefingers, am Oberarm und an der Stirn von gesunden Probanden.

Fingerspitze

Die Fingerspitze wird üblicherweise für optische Puls-Oxymetrie mit NIR benutzt. Hierbei können die pulsierenden Volumenänderungen der arteriellen Mikrovaskulatur leicht durch Messung der transmittierten Lichtintensität bestimmt werden. Die Fasern der Quelle und des Empfängers wurden mit einem Abstand ϱ von 14 mm parallel zu der Längsachse des Zeigefingers platziert. Das DWS-Signal

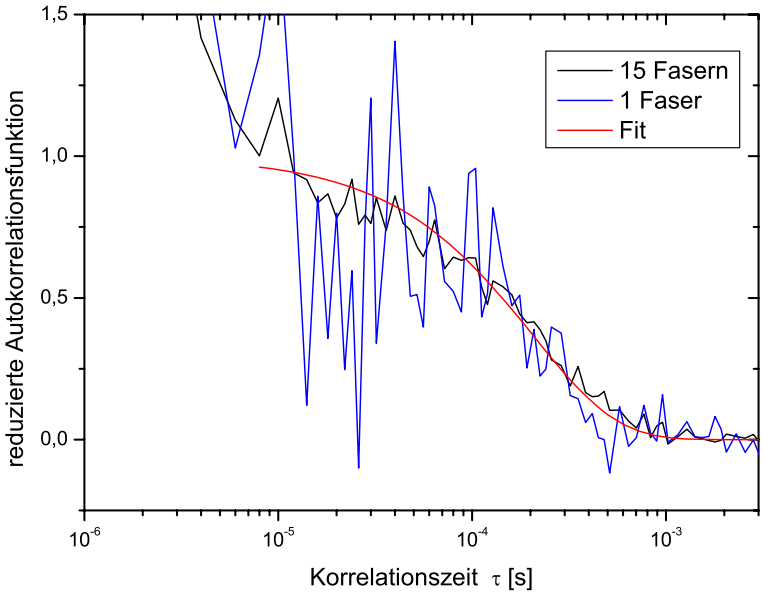

Abbildung 5.6: Gewichtete Mittelung über die Fasern der reduzierten Autokorrelationsfunktion $\langle |g^{(1)}(\tau)| \rangle_N = \sum_{i=1}^{N} (g_i^{(2)}(\tau) - 1)/\beta_i$ als eine Funktion der Korrelationszeit τ an einer Suspension von Polystyrolkugeln in Wasser in einer Transmissionsgeometrie. Schwarze Linie: $N = 15$ Fasern, blaue Linie: einzelne Faser ($N = 1$). Integrationszeit: 940 ms; gemittelte Zählrate der Photonen: 20 kHz pro Faser. Rote Linie: Kumulantenfit 3.Ordnung an die Messdaten. Das Überschießen bei sehr kleinem τ wird von einem Nachpulsen des Detektors verursacht.

sondiert deshalb die Dynamik im Gewebe hauptsächlich in einer Tiefe von ungefähr 4 mm [2] [27]. Abbildung 5.9 zeigt die Zerfallsrate k_d und die gemittelte transmittierte Intensität, gemessen mit einer Integrationszeit von 26 ms pro Korrelationsfunktion, unter Verwendung von $N = 23$ Korrelator-Kanälen. Sowohl k_d wie auch $\langle n \rangle$ zeigen deutliche Variationen mit dem Puls; während die Variationen von $\langle n \rangle$ innerhalb eines Pulsschlags ungefähr bei 4% liegt, beträgt die von k_d zwischen 150% und 220%. Sowohl die gemittelte Zählrate wie auch die Zerfallsrate zeigen Fluktuationen auf einer Zeitskala von 10 s aufgrund einer oszillierenden Änderung der Gefäßdurchmesser der kleinen Arterien und der Arteriolen (Va-

[2] Im Limit der starken Absorption $\kappa\varrho = (3\mu_a\mu_s^{'})^{1/2}\varrho \gg 1$, (Literaturwerte $\mu_a = 0.04\,\mathrm{mm}^{-1}$ und $\mu_s^{'} = 2\,\mathrm{mm}^{-1}$) gilt für die theoretischen Voraussagen der maximalen Eindringtiefe des wahrscheinlichsten Lichtpfads bei $x = \varrho/2$

$$z_0^{max} \approx \sqrt{\varrho/2\kappa} \tag{5.1}$$

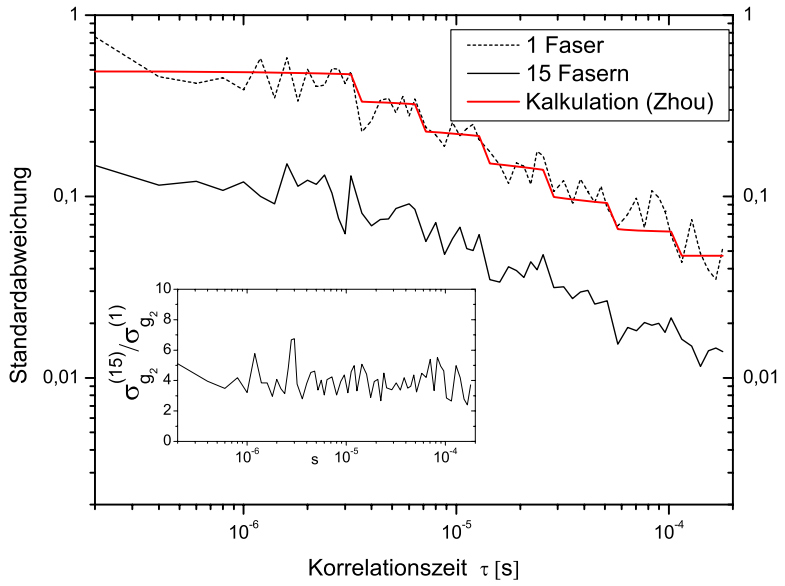

Abbildung 5.7: Standardabweichung der über die Fasern gemittelten reduzierten Autokorrelationsfunktion $\langle |g^{(1)}(\tau)|^2 \rangle_N$ für $N = 15$ und $N = 1$ Fasern (ganze bzw. gestrichelte Linie). Integrationszeit: 940 ms; gemittelte Zählrate der Photonen: 20 kHz. Die Verringerung der Standardabweichung wird von der Integrationszeit des jeweiligen Korrelator-Kanals verursacht, welche mit der Korrelationszeit τ ansteigt [42, 58].

somotion) [60] durch eine Kontraktion der glatten Gefäßmuskelzellen, welche zu einer oszillierenden Änderung des Blutflusses führt.

Venöser Fluss

Die DWS-Messeinheit wurde mit einem Quelle-Detektor-Abstand von 16 mm oberhalb der mittleren Vene der Ellenbeuge (Vena mediana cubiti) entlang der Richtung der Vene platziert, was in diesem Fall ($\mu_a = 0.023\,\mathrm{mm}^{-1}$ und $\mu_s' = 0.68\,\mathrm{mm}^{-1}$) [54] einer Eindringtiefe des wahrscheinlichsten Pfades von ungefähr 6.1 mm entspricht. Der Arm wurde auf einen Tisch in der Höhe des Herzens gelegt. Die gemittelte Zerfallsrate zeigt pulsierende Schwankungen von ungefähr 200 %, wenn man die Messeinheit direkt über der Vene platziert (siehe Abb. 5.10). Eine Verrückung der Messeinheit um 1 mm von der Vene weg reduziert die pulsierenden Schwankungen von k_d sehr stark. Im Gegensatz dazu zeigt die gemittelte Zählrate innerhalb des experimentellen Fehlers keine pulsierenden Schwankungen. Auch eine Fourieranalyse der Messdaten ergibt für die Intensität kein Signal in der Nähe der Pulsfrequenz.

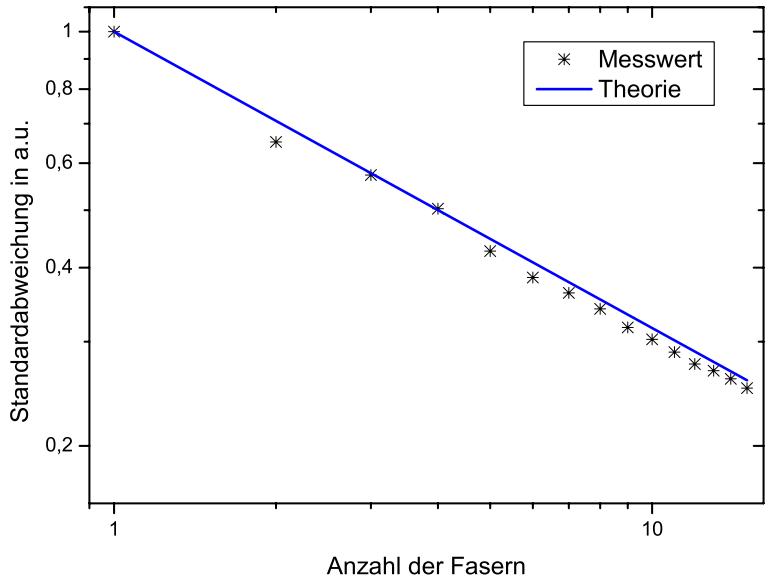

Abbildung 5.8: Normierte integrierte Standardabweichung s_N/s_1 von $\langle|g^{(1)}(\tau)|^2\rangle_N$ als eine Funktion der Anzahl der Fasern N (Symbole) und die Vorhersage $s_N/s_1 = N^{-1/2}$ für statistisch unabhängige Fasern (blaue Linie). Alle Autokorrelationsfunktionen wurde mit einer gemittelten Zählrate von 20 kHz pro Faser und 940 ms Integrationszeit gemessen.

Stirn

Um die Tauglichkeit dieses Aufbaus für die Messung nicht-stationärer Dynamik bei niederen Zählraten zu demonstrieren, maßen wir an der Stirn eines männlichen Probanden mit einem Quelle-Detektor-Abstand von 29 mm. Der Proband saß bewegungslos auf einem Stuhl. Der wahrscheinlichste Pfad der Photonen passiert dabei den Kopf in einer maximalen Tiefe von ungefähr 7 mm, d.h. es dringen noch ausreichend Pfade in den frontalen Kortex vor. Abbildung 5.11 zeigt die Zerfallsrate k_d und die gemittelte transmittierte Intensität, gemessen an der linken Seite der Stirn mit einer Integrationszeit von 26 ms pro Korrelationsfunktion. Wie an der Fingerspitze zeigen sowohl k_d wie auch $\langle n\rangle$ deutlich eine mit dem Pulsschlag synchrone Schwankung. Die Schwankung von $\langle n\rangle$ über ein Pulszyklus ist mit weniger als 4% klein verglichen mit derjenigen von k_d von ungefähr 200%.

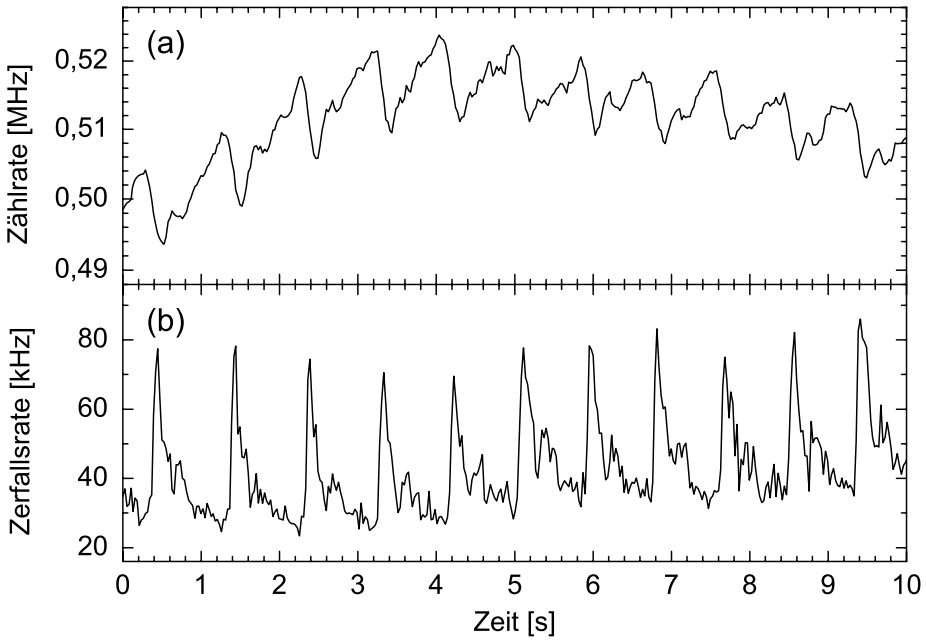

Abbildung 5.9: Gemittelte Zählrate der Photonen $\langle n \rangle$ (a) und Zerfallsrate von $g^{(2)}(\tau)$ (b), gemessen an der Spitze des Zeigefinger. Quelle-Empfänger-Abstand: 14 mm; Integrationszeit: 26 ms. Die Daten in (a) wurden anhand des gleitenden Durchschnitts von 7 Punkten geglättet

5.4 Diskussion

Für jede der hier untersuchten vaskulären Regionen zeigen die gemittelte Zählrate der Photonen $\langle n \rangle$ und die Zerfallsrate des DWS-Signals k_d eine stark abweichende Wellenform. Das lokale Blutvolumen $\delta V_\mathrm{b} \propto -\delta\langle n \rangle / \langle n \rangle$ variiert im Bereich von wenigen Prozent innerhalb eines Pulsschlags, in Übereinstimmung mit NIRS-Experimenten, und zeigt auf einer größeren Zeitskala stärkere niederfrequente Schwankungen, welche man auf Vasomotion zurückführen kann[3]. An der Zeigefingerspitze und über der Stirn sind die Variationen in der Zählrate asymmetrisch, mit einem schnellen systolischen Anstieg und einem relativ langsamen diastolischen Abfall. Über der mittleren Vene der Ellenbeuge kann keine mit dem Pulsschlag synchrone Modulation von V_b detektiert werden, was andeutet, dass die Beiträge der Arterien zum DWS-Signal gering sind.

[3]Stirn des sitzenden Probanden: ungefähr 2% Schwankung innerhalb eines Pulsschlags, 4% niederfrequente Modulation. Zeigefingerspitze: ungefähr 3% systolisch-diastolische Variation, 4% niederfrequente Modulation.

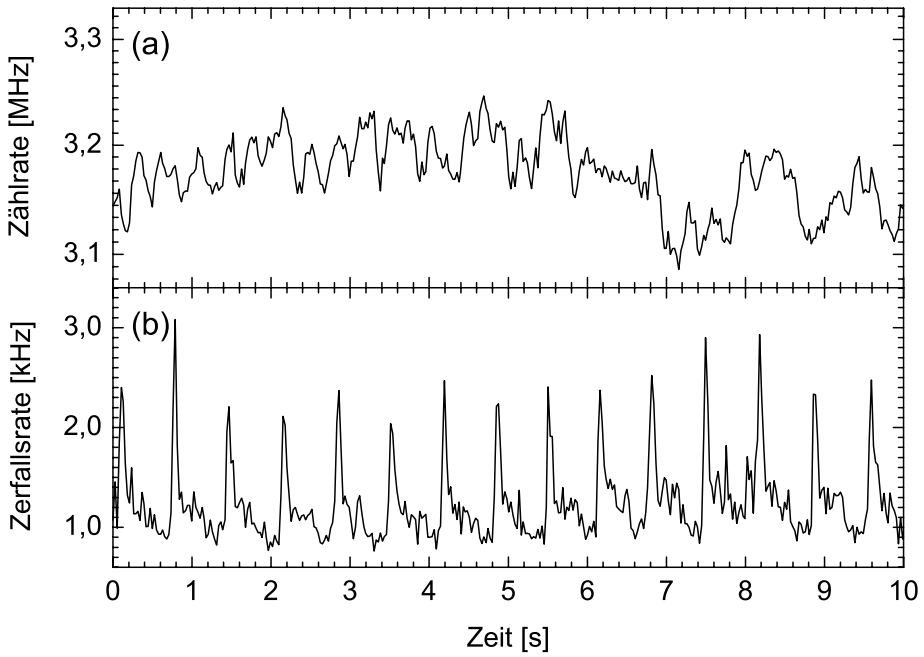

Abbildung 5.10: Gemittelte Zählrate der Photonen $\langle n \rangle$ (a) und Zerfallsrate von $g^{(2)}(\tau)$ (b), gemessen oberhalb der mittleren Vene der Ellenbeuge (Vena mediana cubiti). Quelle-Empfänger-Abstand: 16 mm; Integrationszeit: 26 ms. Die Daten in (a) wurden anhand des gleitenden Durchschnitts von 5 Punkten geglättet.

Die Wellenform der DWS-Zerfallsrate weicht systematisch von der Zählrate ab: k_d zeigt einen sehr steilen systolischen Anstieg innerhalb von ungefähr 50 ms bis zu einem Spitzenwert, der normalerweise um das 2.5- bis 3.5-fache über dem diastolischen Minimum liegt. Der Spitzenwert von k_d hat normalerweise einen zeitlichen Vorlauf von ungefähr 80 ms gegenüber dem von V_b. Nach diesem größten Scheitelpunkt sinkt k_d symmetrisch, über eine kleine Schulter wieder schnell in Richtung Grundniveau. Danach kommt es zu einem kleineren diastolischen Scheitelpunkt, dessen Höhe ungefähr 30 % (bei der Vene) des Niveaus des ersten Scheitelpunkts entspricht. Die pulsierende Schwankung von k_d erinnert sehr stark an das Geschwindigkeitsprofil des arteriellen Flusses, welches mit einem elektromagnetischem Strömungsmesser-Katheter in entspannter Lage gemessen wurde [61]: ein symmetrischer Scheitelpunkt mit einer kleinen Schulter, gefolgt von einem kleinen negativen Scheitelpunkt der Geschwindigkeit während der Diastole.

Die vom Pulsschlag verursachten Schwankungen von k_d sind zu einem zeitlich fast konstanten Untergrund (ungefähr 25% vom maximalen k_d über der Stirn

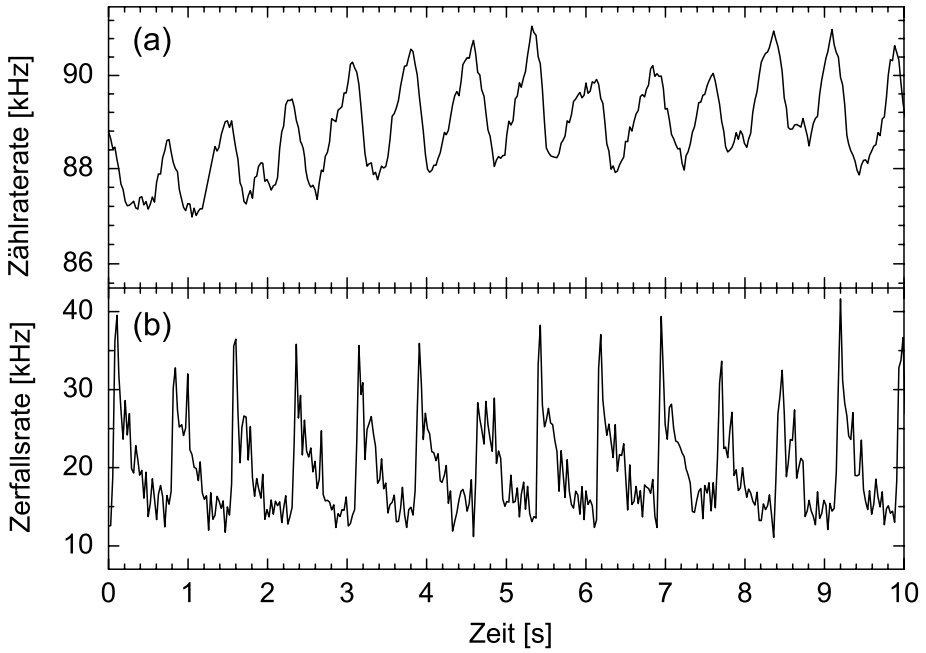

Abbildung 5.11: Gemittelte Zählrate der Photonen $\langle n \rangle$ (a) und Zerfallsrate von $g^{(2)}(\tau)$ (b), gemessen auf der linken Seite der Stirn. Quelle-Empfänger-Abstand: 29 mm; Integrationszeit: 26 ms. Die Daten in (a) wurden anhand des gleitenden Durchschnitts von 6 Punkten geglättet.

und ungefähr 40% über der mittleren Vene der Ellenbeuge) hinzugefügt. Dieser Untergrund könnte von der Brown'schen Bewegung der roten Blutkörperchen und subzellulären Organellen, wie Mitochondrien, herrühren. Die Überlagerung von Brown'scher und ballistischer Bewegung aufgrund von Strömung sollte zu einer komplexen Korrelationsfunktion führen, welche weder allein durch Brown'sche Bewegung noch allein durch Strömung beschrieben werden kann.

5.5 Folgerungen

Die parallele Autokorrelation der Intensitätsfluktuationen mehrerer Speckles erlaubt es, die mikroskopische Dynamik in Proben mit dynamischer Vielfachstreuung in hoher zeitlicher Auflösung zu detektieren. Mit der auf Monomode-Fasern basierten Detektion von statistisch unabhängigen, aber äquivalenten Speckles besitzen die Korrelationsfunktionen schon bei geringen Intensitäten und der minimalen Integrationszeit von 13 ms ein brauchbares Signal-Rausch-Verhältnis. Dies

ist besonders für Untersuchungenen in menschlichem Gewebe wichtig, wo die Intensität des eingestrahlten Laserlichts und dadurch die Zählrate der Photonen aufgrund von Sicherheitsbestimmungen stark limitiert ist. Die kurze Integrationszeit verleiht dieser Methode außerdem eine geringe Anfälligkeit gegenüber Bewegungsartefakten aufgrund eines sich verändernden optischen Kontakts zur Gewebeoberfläche. Messungen, bei denen wir absichtlich die Messsonde leicht bewegten, zeigten den erwarteten Drift in der mittleren Zählrate der Photonen $\langle n \rangle$, aber einen vernachlässigbaren Drift von k_d. Obwohl wir uns auf Anwendungen dieser Technik zur Messung der Hämodynamik in Gewebe beschränkt haben, könnte die Methode nützlich sein, um auch die Dynamik in anderen nicht-stationären Systemen zu untersuchen. Möglichkeiten wären hier zum Beispiel sich anlagernde Kolloide oder turbulente Strömungen.

Kapitel 6

Experimente an Probanden

6.1 Einleitung

In der nicht-invasiven Diagnostik von biologischem Gewebe spielen optische Methoden eine zunehmende Rolle. Sie haben gegenüber etablierten Methoden wie Positronen-Emissions-Tomographie und Magnetresonanztomographie Vorteile bezüglich Portabilität, Preis und der geringen Interaktion mit Gewebe [1, 62]. Insbesondere nah-infrarotes Licht mit einer Wellenlänge λ zwischen ca. 750 nm und 950 nm bietet bedeutende Vorteile gegenüber sichtbarem oder infrarotem Licht, da hier die Absorption von Wasser oder der im Gewebe meist reichlich vorhandenen Chromophoren wie Melanin und Hämoglobin relativ schwach ist. Gleichzeitig ist der Streuquerschnitt klein genug, dass das Licht einige Zentimeter in das Gewebe eindringen kann. Dennoch ist die starke Streuung gewöhnlich ein Hindernis bei der Abbildung von Strukturen tief im Körper. Diese hat ihren Ursprung in Schwankungen der Dielektrizitätskonstante auf der Längenskala der Wellenlänge des Lichts aufgrund von strukturellen Elementen wie Kollagen-Fasern, Zell-Membranen und subzellulären Organellen. Tief im Gewebe breitet sich Licht diffus, mit einem Photonen-Diffusionskoeffizienten $\mathcal{D} = cl^*/3$, welcher von der Lichtgeschwindigkeit im Medium c und der mittleren freien Transportweglänge l^* abhängt, aus [63]. Diese mittlere freie Transportweglänge l^* ist die Länge, auf der die Lichtausbreitung unabhängig von der Richtung der einfallenden Welle wird. Die diffuse Ausbreitung von Licht im Gewebe verschlechtert die räumliche Auflösung von optischen bildgebenden Verfahren, dies gilt besonders für Strukturen tief innerhalb des Körpers.

Mehrere Methoden werden derzeit benutzt um aus der an der Oberfläche gemessenen Verteilung der Intensität Informationen über Strukturen in tiefem Gewebe, wie den Streu- oder Absorptionskontrast zu erhalten: (i) Flugzeit-Experimente nutzen die ballistischen Photonen und erlauben in einfachen Fällen die Rekonstruktion der Verteilung der optischen Dichte [64]; (ii) Kohärenz-Tomographie funktioniert in Reflexion und ermöglicht die Untersuchung von Strukturen nahe der Oberfläche mit einer longitudinalen Auflösung von eini-

gen μm [65]; (iii) Diffuse Transmission (*photon migration imaging*) (PMI) benutzt eine im MHz-Bereich modulierte Lichtquelle und misst die Abschwächung und Verzögerung der diffus transmittierten Intensität des Lichts, welche mit etwas Abstand zur Quelle gemessen wird [66]. Die Berechnung der Verteilung der optischen Dichten und der Absorptionskoeffizienten erfordert ausgefeilte numerische Inversionsalgorithmen [67].

PMI wurde benutzt, um nicht-invasiv die Hirnaktivität nach der Stimulation spezifischer Regionen im Gehirn, wie z.B. der visuellen und motorischen Hirnrinde, funktionell abzubilden. Mithilfe einer Rückprojektionsmethode erhielt man niedrig aufgelöste Abbildungen der kortikalen Sauerstoffkonzentration des Blutes nach einer motorischen Stimulation mit einer zeitlichen Auflösung von 160 ms [68, 69, 70]. Diese Experimente zeigen, dass die totale Hämoglobinkonzentration innerhalb von ungefähr 4 s nach der Stimulation um bis zu 0.3 μM oberhalb ihres durchschnittlichen Pegels von ungefähr $70 - 80\,\mu$M ansteigt. Bei viel kürzeren Zeiten nach der Stimulation (im Bereich von Hundertstelsekunden) haben PMI-Experimente kleine Stimulus-abhängige Änderungen des Signals gezeigt, welche als ein Anstieg des Streuquerschnitts der Hirnrinde gedeutet wurden [71, 72, 73]. Diese schnellen optischen Signale wurden vorher in Reflexionsmessungen am offenen Hirn von Kleinsäugern beobachtet [74, 75]. Da die Zeitskala des schnellen optischen Signals zu kurz für signifikante optische Änderungen aufgrund eines erhöhten Blutflusses ist wird angenommen, dass es die vermehrte Streuung an Nervenzellen nach einer elektrischen Aktivierung widerspiegelt, wie es direkt an isolierten Neuronen beobachtet wurde [76]. Eine erhöhte aktivierungsbedingte Streuung ist wiederum die Folge von Mechanismen wie dem Anschwellen der Zelle, einer erhöhten Konzentration von präsynaptischen Vesikeln und einer Änderung des Brechungsindexes der Membrane [77].

Zusätzlich zu der mit PMI gemessenen Abschwächung und Verzögerung der diffus transmittierten Intensität des Lichts enthält das Speckle-Muster des vielfach gestreuten Lichts, welches sich ausbildet, wenn eine Lichtquelle mit einer großen Kohärenzlänge benutzt wird, eine Fülle an Informationen. Dieses Speckle-Muster ist ein kompliziertes Interferogramm, welches durch die kohärente Superposition mehrfach gestreuter Photonen am Detektor entsteht. Es enthält Informationen über die Positionen aller Streuer wie rote Blutkörperchen, Mitochondrien und Zellmembranen, welche auf den Photonenpfaden liegen.

Vergleichbar mit der Situation in einem einfachen Interferometer verursachen Bewegungen der Streuer (aufgrund z.B. Scherströmung oder Brown'scher Bewegung) Veränderungen in der Phase des gestreuten elektrischen Feldes $E(\boldsymbol{r}, t)$ bei Position $\boldsymbol{r}$ und Zeit t, was zu zeitlichen Fluktuationen der gemessenen Intensität führt. Die Intensität $I(\boldsymbol{r}, t) = |E(\boldsymbol{r}, t)|^2$ des Speckle-Musters fluktuiert daher rasch an Stellen, deren sondierte Dynamik schnell ist, während in Regionen mit einer langsamen Dynamik die resultierenden Speckle-Muster langsam fluktuieren. Anhand von räumlich aufgelösten Messungen des Speckle-Kontrastes mit einer CCD-Kamera an der Oberfläche kann man zeitlich aufgelöste Abbildungen des oberflächlichen Blutflusses erzielen [78]. Diese Technik wurde zum Studium der

Hämodynamik in freigelegten Gehirnen von Ratten während einer lokal verminderten neuronalen Aktivität (*cortical spreading depression) (CSD)* [79, 80] und einer somato-sensorischen Aktivierung [41] benutzt.

Andererseits geben Messungen der Autokorrelationsfunktion der fluktuierenden Amplitude des elektrischen Feldes des Speckle-Musters, $g^{(1)}(\boldsymbol{r},\tau) = \langle E^*(\boldsymbol{r},t)E(\boldsymbol{r},t+\tau)\rangle/\langle|E(\boldsymbol{r},t)|^2\rangle$, (siehe Kapitel 2) detaillierte Informationen über die mittlere quadratische Abweichung $\langle\Delta r^2(\tau)\rangle$ der Streuer in der Zeit τ über die Relation

$$g^{(1)}(\boldsymbol{r},\tau) = \int_{l^*}^{\infty} P(\boldsymbol{r},s)\exp\left[-\frac{1}{3}k_0^2\langle\Delta r^2(\tau)\rangle\frac{s}{l^*}\right]\,\mathrm{d}s. \tag{6.1}$$

Mit der Wellenzahl im Medium $k_0 = 2\pi/\lambda$, und der normierten Pfadlängenverteilung $P(\boldsymbol{r},s)$ an der Stelle $\boldsymbol{r}$ für eine Quelle am Ursprung [15, 63]. Die letztere Größe kann mit einem Flugzeit-Experiment bestimmt werden. In der dynamischen Vielfachstreuung von Licht (Diffusing-Wave Spectroscopy, DWS) kann ein Photon, welches s/l^* Streuereignisse durchlaufen hat, zu einem Zerfall von $g^{(1)}(\boldsymbol{r},\tau)$ für die Verrückung eines einzelnen Streuers $\Delta r \sim \lambda/(2\pi)(l^*/s)^{1/2}$ führen, welche aufgrund der langen Pfadlänge $s \gg l^*$ viel kleiner als die Wellenlänge des Lichts λ sein kann. Für $l^* = 1\,\mathrm{mm}$ und einen Quelle-Detektor-Abstand $L = 20\,\mathrm{mm}$ liegt die mittlere Anzahl der Streuereignisse bei ungefähr $(L/l^*)^2 = 400$, was zu einer auflösbaren Verrückung zwischen 2 nm und 20 nm bei $\lambda = 800\,\mathrm{nm}$ führt. Der Umstand, dass die langen Photonenpfade zu einem Zerfall von $g^{(1)}(\boldsymbol{r},\tau)$ bei kurzen Zeiten führen (und umgekehrt die kurzen Photonenpfade für den Zerfall bei langen Zeiten) verleiht DWS eine Art grobe räumliche Auflösung. Außerdem ist die Form der Autokorrelationsfunktion empfindlich auf die Art der mikroskopischen Bewegung, welche zu den Fluktuationen der Speckle-Muster führt, was etwa erlaubt Laminar- oder Scherströmung von isotroper Brown'scher Bewegung zu unterscheiden [31, 21, 32]. Wie z.B. in Kapitel 3 gezeigt, kann man diese unterschiedlichen Arten der Dynamik der streuenden Teilchen mithilfe der gemessenen Autokorrelationsfunktion dazu benutzen, um Heterogenitäten in der Dynamik eines trüben Mediums auch gänzlich ohne einen Streu- oder Absorptionskontrast zu detektieren [33, 34, 20].

Experimente welche DWS zur Abbildung des Gehirns benutzen sind immer noch ziemlich selten: mit der Absicht, die Geschwindigkeiten des Blutflusses in kortikalen Adern nachzubilden, haben Lohwasser et al. versucht, den Effekt der vielfachen Streuung von Licht im Laser-Doppler-Spektrum eines Hirn-Phantoms nachzuweisen [81]. DWS-Experimente von Cheung et al. am halb-freigelegten Gehirn einer Ratte zeigten einen schnelleren Zerfall der Autokorrelationsfunktionen nach einem erhöhten arteriellen CO_2-Druck (Hyperkapnie) [30]. Die Deutung im Sinne einer erhöhten Fließgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen in den kortikalen Adern wurde durch parallele NIRS- und DWS-Experimente am Gehirn einer Ratte während einer lokalen Ischämie unterstützt [40]. Mithilfe einer Stimulation der motorischen Hirnrinde durch eine Finger-Übung waren Durduran et al. [43] in der Lage, den gleichen beschleunigten Abfall von $g^{(1)}(\boldsymbol{r},\tau)$ vollständig nicht-invasiv über dem motorischen Kortex zu messen. Eine Analyse der DWS-

Daten mit einem halb-unendlichen 1-Schicht-Modell, unter Einbeziehung eines Korrektur-Faktors, welcher die Unterschätzung des kortikalen Diffusionskoeffizienten durch das 1-Schicht-Modell berücksichtigt, ergab funktionelle Steigerungen der kortikalen Dynamik von ungefähr 40 %, welche als eine funktionelle Erhöhung der kortikalen Strömungsgeschwindigkeit des Blutes gedeutet wurden.

Sowohl die Form der von Cheung et al. [30] gemessenen Autokorrelationsfunktionen, welche von den Voraussagen für einfache Diffusion oder stochastischen Fluss abweichen, wie auch der von Durduran [43] benutzte Korrekturfaktor weisen darauf hin, dass die Verwendung der DWS zur quantitativen und völlig nicht-invasiven Messung von kortikalen Blutflussgeschwindigkeiten durch die heterogenen optischen und dynamischen Eigenschaften des Kopfes erschwert wird. Modell-Rechnungen der Autokorrelationsfunktionen von optisch und dynamisch heterogenen mehrschichtigen Medien basierend auf der Lösung der Korrelations-Diffusions-Gleichung zeigen in der Tat einen komplizierten Abfall von $g^{(1)}(\boldsymbol{r}, \tau)$, welcher nicht in die Beiträge der einzelnen Schichten faktorisiert [19].

6.1.1 Optische Eigenschaften von Gewebe

Betrachtet man die optischen Eigenschaften, so kann man biologische Gewebe und Flüssigkeiten (Blut, Gewebeflüssigkeit, Speichel, Magensaft, Kammerwasser usw.) in zwei Klassen einteilen. Die erste Klasse beinhaltet stark streuende (opake) Gewebe und Flüssigkeiten, wie Haut, Hirn, Gefässwände, Blut und Gewebeflüssigkeit. Die optischen Eigenschaften dieser Bestandteile können im Rahmen der Vielfachstreuung von Wellen beschrieben werden. Bei der anderen Klasse handelt es sich um schwach streuende (transparente) Gewebe und Flüssigkeiten wie Hornhaut, Linse und Kammerwasser. Aufgrund ihrer großen mittleren freien Weglänge l^* gilt normalerweise für die Abstände zwischen Detektor und Quelle $L < l^*$. Die optischen Eigenschaften dieser Gewebe und Flüssigkeiten kann man daher mit dem Gerüst der Einfachstreuung beschreiben.

Bei unseren nicht-invasiven Untersuchungen am Kopf von Probanden haben wir es mit einem heterogenen Gemisch aus stark streuenden Bestandteilen (Haut, Hirn, Gefässwände, Blut, Gewebeflüssigkeit) zu tun. Die Absorption in unserem System erfolgt hauptsächlich durch Wasser und Chromophoren wie Hämoglobin und Melanin. Durch den sehr hohen Wasseranteil in biologischem Gewebe (bis zu 80%) spielt der Absorptionskoeffizient von Wasser eine wichtige Rolle für die Laser-Gewebe-Wechselwirkung. Im mittleren und fernen infraroten Spektralbereich dominiert das Wassers die Absorption (siehe Abb. 6.1). Im ultravioletten und teilweise im sichtbaren Spektralbereich überwiegt dagegen die Absorption von Chromophoren, d. h. von den Nukleinsäuren (Absorptionsbande bei ca. 260 nm) und den aromatischen Aminosäuren Tryptophan, Tyrosin und Phenylalanin (Absorptionsbanden bei ca. 280 nm). Ein weiterer wichtiger Chromophor ist das Hämoglobin, das je nach Oxygenierungsgrad zwei bzw. drei charakteristische Absorptionsbanden bei 410 nm und 580 nm (deoxygeniert, Hb) bzw. bei 415 nm, 560 nm und 590 nm (oxygeniert, HbO_2) aufweist (siehe Abb. 6.1).

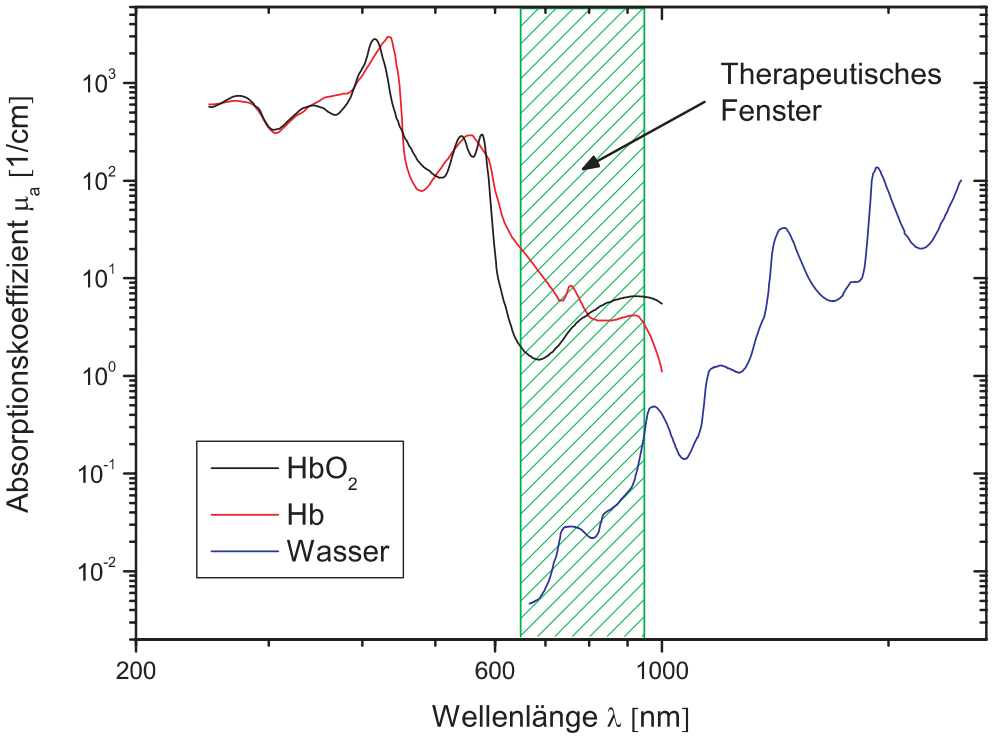

Abbildung 6.1: Absorptionskoeffizienten μ_a aufgetragen über der Wellenlänge λ für Hämoglobin (HbO_2) und Deoxyhämoglobin (Hb) jeweils für eine im Blut übliche Konzentration von 150 g Hb/Liter und für Wasser [22, 82].

Der Bereich in dem die Eindringtiefe für Photonen in Gewebe besonders groß ist (ca. von 650 nm bis 950 nm) wird in der Lasermedizin deshalb als therapeutisches Fenster bezeichnet.

6.1.2 Messanordnung

Die Messungen an Probanden wurden mit zwei unterschiedlichen Messanordnungen aufgenommen:

Für die kontinuierlich aufgenommenen Korrelationsfunktionen wurde wie in Kapitel 4 ein Diodenlaser mit der Wellenlänge $\lambda_0 = 802\,\text{nm}$ (Toptica TA100) in eine optische Multi-Mode-Faser, welche als Beleuchtungsquelle diente (Kerndurchmesser $50\,\mu$m; numerische Apertur 0.22) eingekoppelt. Das vielfach gestreute Licht wurde mit einer Mono-Mode-Faser [1] bei Distanzen zwischen $20 - 35\,\text{mm}$ von der Quelle gesammelt und mit einer Avalanche-Photodiode (Perkin-Elmer SPCM-AQR-15-FC) im Geiger Modus detektiert (siehe Abb. 6.2).Die Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\boldsymbol{r},\tau) = \langle I(\boldsymbol{r},t)I(\boldsymbol{r},t+\tau)\rangle/\langle I(\boldsymbol{r},t)\rangle^2$ wurde dann aus dem verstärkten Ausgangssignal der Diode mit einem digitalen Multi-Tau-Korrelator (ALV5000E) bei Zeitdifferenzen zwischen 200 ns und 3.1 s errechnet.

[1] Die verwendete Faser hat eine Nominal-Wellenlänge von 1310 nm und transportiert bei 802 nm 6 transversale Moden [51]

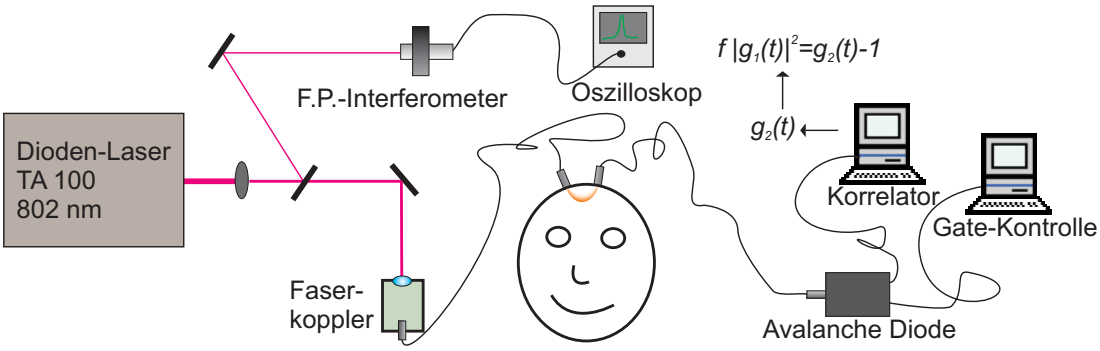

Abbildung 6.2: Schematische Darstellung des Messaufbaus für die kontinuierliche Messung am Kopf von Probanden.

Die Fasern der Quelle wie auch des Empfängers wurden an einer starren Vorrichtung befestigt, welche die Probanden wie einen Helm tragen konnten (siehe Abb. 6.3). Die Intensität der Beleuchtung wurde auf einen Wert unterhalb des erlaubten Maximums von $4\,\mathrm{mW/mm^2}$ eingestellt [57].

Die zeitlich aufgelösten Messungen wurden mit der im Kapitel 5 ausführlich beschriebenen Messanordnung aufgenommen.

6.2 Stimulation des motorischen Kortex durch Fingerübungen

6.2.1 Kontinuierliche Messungen

6.2.1.1 Einleitung

Elf gesunde erwachsene Freiwillige (vier männliche Personen, durchschnittliches Alter 30.5 Jahre bei einer Spanne von 22-53 Jahre) wurden aus Studenten und dem Fachbereich der Universität Konstanz ausgewählt. Alle Personen waren rechtshändig, was mit einer modifizierten Version des *Edinburgh Handedness Questionnaire* überprüft wurde [83]. Die durchschnittlich erreichte Punktzahl war 80-100; eine zwölfte Versuchsperson wurde wegen ihrer Linkshändigkeit nicht berücksichtigt.

Während der Tätigkeit und der Messung saß die Versuchsperson in einer entspannten Position in einem Sessel und wurde gebeten, eine Fingerübung mit der rechten Hand (dominant) auszuführen. Die Dauer der Übung war 100 s, jeweils gefolgt von einer Ruhepause von 100 s, während derer die Daten für die Referenzlinie aufgenommen wurden. Danach wurde die Übung für die linke Hand wiederholt, wiederum gefolgt von einer Ruhepause von 100 s. Die Versuchspersonen wurden angewiesen, die Fingerübung so schnell und konzentriert wie möglich auszuführen, um eine Gewöhnung an die Übung auszuschließen. Sie wurden ferner instruiert sich vorzustellen, ein Klavier oder eine Geige zu spielen, um die

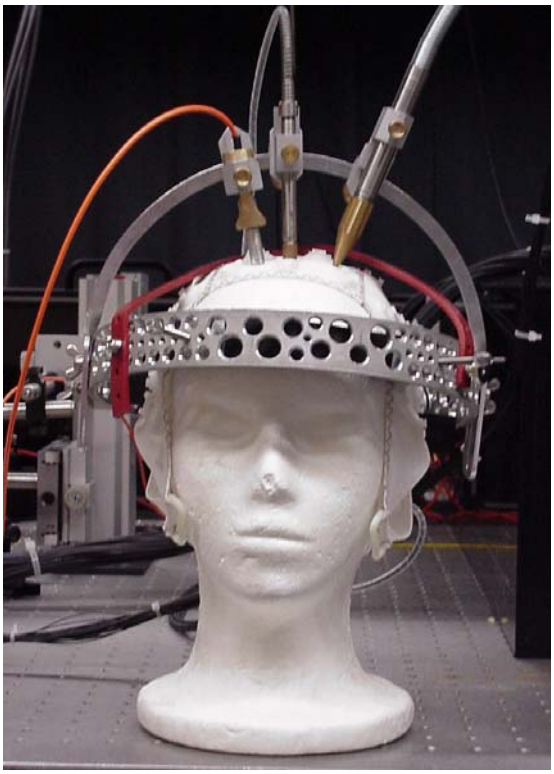

Abbildung 6.3: Befestigung für die Experimente am menschlichen Kopf.

Ähnlichkeit mit einer realen motorischen Bewegung zu erhöhen.

Der Sensor, bestehend aus der Lichtquelle und dem Detektor, wurde dann über dem motorischen Areal auf der linken Gehirnhälfte (Areal C3 im internationalen 10-20 System für Elektroenzephalographie (EEG) [84]) befestigt, dabei benutzten wir den Scheitel und die Ohren als externe Orientierungspunkte (siehe Abb. 6.4). Die Richtung von der Quelle zum Empfänger wurde rechtwinklig zur Ausrichtung des Sulcus Centralis (Zentralfurche) angebracht, was den Photonenpfaden ermöglicht, das von der motorischen Tätigkeit am meisten aktivierte Gebiet zu durchqueren. Um einen guten optischen Kontakt zur Kopfhaut herzustellen, wurden die Haare vor der Befestigung von Quelle und Detektor zur Seite gekämmt. Sowohl während der Ruhephase wie auch während der Übung nahmen wir 10 normalisierte Intensitäts-Autokorrelationsfunktionen, jeweils über eine Zeit von 10 s auf. Um sicherzustellen, dass die Amplitude der gemessenen Intensitäts-Autokorrelationsfunktion nur von den optischen Eigenschaften der Empfänger-Faser herrührt (und nicht infolge von Beiträgen der statischen Streuung zum Signal [52]), maßen wir $g^{(2)}(\boldsymbol{r}, \tau)$ mit demselben Aufbau an einer trüben Suspension von Polystyrol-Teilchen, unmittelbar vor und nach unseren Messungen an den Probanden.

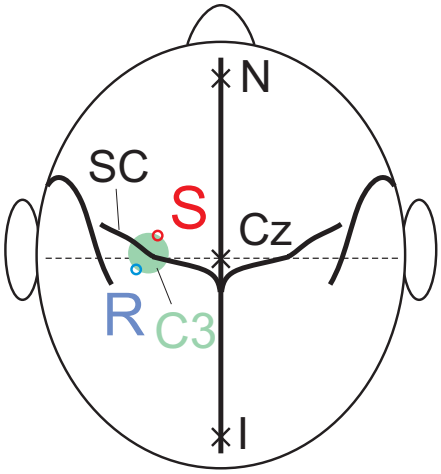

Abbildung 6.4: Experimentelle Geometrie für die DWS Experimente. N: Nasenwurzelpunkt, I: Inion (Hinterhauptsbein), Cz: Scheitel, SC: Sulcus Centralis (Zentralfurche). Quell- und Empfängerfasern (mit S bzw. R gekennzeichnet) befinden sich über dem Areal C3 der somato-sensorischen Hirnrinde, annähernd senkrecht zur Zentralfurche. Für die untersuchten rechtshändigen Personen korrespondiert eine Fingerübung mit der linken Hand mit einer ipsilateralen Stimulation und eine Fingerübung mit der rechten Hand mit einer kontralateralen Stimulation im Areal C3.

6.2.1.2 Datenanalyse

Wir näherten den Kopf mit einer vereinfachten 3-Schicht-Geometrie, zusammengesetzt aus Kopfhaut (Schicht 1), Schädel (Schicht 2) und Hirnrinde (Schicht 3), jeweils charakterisiert durch ihre Dicke Δ_n, mittlere freie Transportweglänge l_n^*, Absorptionslänge $l_n^{(\mathrm{a})}$ und ihren Diffusionskoeffizienten D_n $(n = 1, 2, 3)$ an. Die Hirnrinde wurde als unendlich dick angenommen.

Um die Diffusionskoeffizienten D_1 und D_3 der Kopfhaut bzw. des Gehirns zu ermitteln, benutzten wir eine Levenberg-Marquardt-Optimierungsroutine. Der analytischen Ausdruck für die Autokorrelationsfunktion des Feldes $g^{(1)}(\boldsymbol{r}, \tau)$ für dieses 3-Schicht-Modell (siehe Kapitel 3) wurde an die gemessene Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\boldsymbol{r}, \tau)$ unter Verwendung der Siegert-Relation [13] $g^{(2)}(\boldsymbol{r}, \tau) = 1 + \beta_{\mathrm{coh}} \left|g^{(1)}(\boldsymbol{r}, \tau)\right|^2$ angepasst. Die anderen Parameter, wie die Absorptionslängen $l_{1,2,3}^{(\mathrm{a})}$, und die Dicken Δ_1 und Δ_2 der Kopfhaut und des Schädels, optimierten wir aus den Messdaten während der Ruhephase innerhalb eines begrenzten Bereiches, unter Verwendung der Literaturwerte [85, 54, 86, 87] $l_3^{(\mathrm{a})} = 2.78\,\mathrm{cm}$, $l_3^* = 0.4\,\mathrm{mm}$, $l_{1,2}^{(\mathrm{a})} = 2.50\,\mathrm{cm}$, $l_{1,2}^* = 0.5\,\mathrm{mm}$, $\Delta_1 = 2\,\mathrm{mm}$ und $\Delta_2 = 5\,\mathrm{mm}$ als anfängliche Schätzungen. Für die Analyse der Daten während der Phase der Stimulation wurden die Werte für $l_{1,2,3}^{(\mathrm{a})}$, $l_{1,2,3}^*$, Δ_1 und Δ_2 auf ihre Werte während der Ruhephase fixierten. Der Schädel wurde als statisches Medium (d.h. $D_2 = 0$) modelliert. Das ermöglichte es uns, die Fit-Parameter für die Messdaten während der Stimulation auf die Diffusionskoeffizienten D_1 und D_3 einzuschränken.

Die Stabilität und Genauigkeit der Fit-Prozedur wurde an einer simulierten

Feld-Autokorrelationsfunktion, welche man aus einer Monte-Carlo Simulation unseres 3-Schicht-Modells erhielt, getestet. Die Diffusionskoeffizienten des Schädels und der Kopfhaut, welche wir aus einer Anpassung der analytischen 3-Schicht Theorie an die simulierten Daten erhielten, stimmten innerhalb 5% für D_1 und 2% für D_3 mit den realen Werten, welche wir für die Erzeugung der simulierten Daten benutzen, überein.

Die Auswirkungen der Aktivierung wurden durch einen Vergleich der gemessenen Diffusionskoeffizienten während der Stimulation bzw. während der Ruhephase für kontralaterale (rechte Hand) sowie ipsilaterale (linke Hand) Stimulation anhand von Student's t-Test ausgewertet.

6.2.1.3 Resultate

Abbildung 6.5 zeigt die reduzierte Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $(g^{(2)}(\boldsymbol{r},\tau)-1)/\beta_{\text{coh}}$ einer ausgewählten Testperson gemessen über der linken Gehirnhälfte (C3) für die Ruhephase bzw. die Phase der Aktivierung. Die Daten sind über zwei Blöcke von jeweils zehn Messungen gemittelt.

Die während der kontralateralen Stimulation gemessene Autokorrelationsfunktion zeigt einen wesentlich schnelleren Abfall als jene während der Ruhephase. Berechnet man die Autokorrelationsfunktion aus den Lösungen der Korrelations-Diffusions-Gleichung für eine halb-unendliche 1-Schicht-Geometrie unter der Annahme freier Diffusion für die Bewegung der Teilchen, ergibt dies eine schlechte Übereinstimmung mit den Messdaten. Benutzt man für die Dynamik eine zufällige Strömung $\langle \Delta r^2(\tau)\rangle = \langle v^2\rangle \tau^2$ mit einer mittleren quadratischen Strömungsgeschwindigkeit $\langle v^2\rangle$, ergibt dies aufgrund der erhöhten Krümmung von $g^{(1)}(\boldsymbol{r},\tau)$, sogar eine geringere Übereinstimmung als das Modell der freien Diffusion. Diese Abweichungen verschwinden, wenn wir die Lösung der Korrelations-Diffusions-Gleichung (3.17) und (3.18) für ein Medium aus 3 Schichten verwenden, wobei die Kopfhaut und der Schädelknochen für Schichten endlicher Dicke und der Kortex für die innerste halb-unendliche Schicht steht. Mit diesem dynamischen 3-Schicht-Modell erhält man aus der Anpassung, für den Probanden aus Abbildung 6.5 und 6.6, einen kortikalen Diffusionskoeffizienten $D_3 = 4.9\times 10^{-9}\text{cm}^2/\text{s}$ während der Ruhephase und $D_3 = 1.3\times 10^{-8}\text{cm}^2/\text{s}$ für die Zeit der Stimulation. Die Werte für die Dicke des Schädelknochens $\Delta_2 = 4.7\,\text{mm}$, welche wir aus den DWS-Daten erhielten, waren im Rahmen der Messgenauigkeit für die Messdaten der Ruhephase und der Stimulation identisch.[2] Obgleich der Schädelknochen als komplett statische Schicht behandelt wurde, erwies sich seine Einfügung als erforderlich, um den Zerfall der Autokorrelationsfunktion bei den mittleren Zeiten $20\,\mu\text{s} \le \tau \le 50\,\mu\text{s}$ zu begründen. Der Zerfall der Autokorrelationsfunktion bei langen Zeiten wird durch den Diffusionskoeffizienten der Kopfhaut D_1 dominiert, welcher während der Stimulation ebenfalls erhöht ist (siehe Abb. 6.6).

[2] Dieser Wert steht in guter Übereinstimmung mit der durch Kernspinresonanztomographie bestimmten Dicke des Schädelknochens von $(4.7 \pm 1.0)\,\text{mm}$.

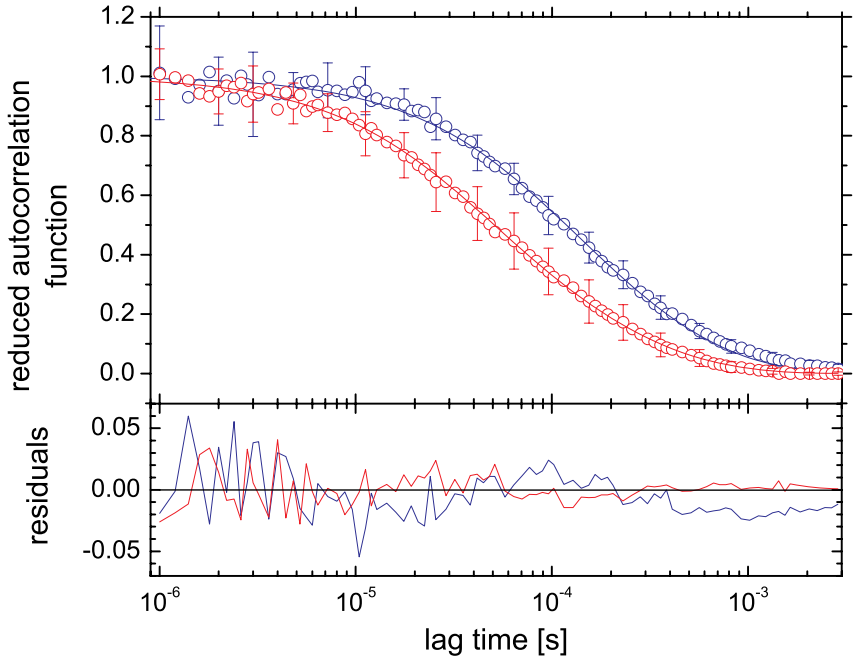

Abbildung 6.5: Reduzierte Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $(g^{(2)}(\boldsymbol{r},\tau)-1)/\beta_{\mathrm{coh}}$ gemessen über dem Areal C3 des motorischen Kortex einer rechtshändigen Testperson für einen Quelle-Empfänger-Abstand von 20 mm. Die blauen Kreise zeigen die Daten für die Ruhephase; die roten Kreise die Daten für die kontralaterale Stimulation. Die Fehlerbalken sind die Standardabweichungen über zwei Blöcke von jeweils zehn Messungen. Die Linien entsprechen Anpassungen der analytischen Lösung der 3-Schicht Korrelations-Diffusions-Gleichung (3.17 und 3.18) an die Messdaten. Die Ergebnisse der Anpassungen für die Diffusionskoeffizienten D_1 und D_3 von Kopfhaut und Hirnrinde sind $D_1 = 1.0 \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ und $D_3 = 4.9 \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ für die Ruhephase und $D_1 = 1.5 \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ und $D_3 = 1.3 \times 10^{-8}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ für die Stimulationsphase.

Misst man die Autokorrelationsfunktion nach der motorischen Fingerübung erhält man identische Korrelationsfunktionen wie vor der Stimulation. Analysiert man für diesen Proband die einzelnen Autokorrelationsfunktionen aus zwei Blöcken, erhält man Informationen über die Verteilung der Fit-Parameter D_1 und D_3. Aufgrund der begrenzten Statistik der Photonen und der Zerfallszeiten im Bereich von 0.1 ms sind die einzelnen über 10 s aufgenommenen Autokorrelationsfunktionen stärker verrauscht als die gemittelten Korrelationsfunktionen. Dennoch zeigen, wenn man eine konstante Dicke für den Schädelknochen $\Delta_2 = 4.7\,\mathrm{mm}$ benutzt, die gemittelten Fit-Parameter $D_1 = (1.1 \pm 0.3) \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ und $D_3 = (4.7 \pm 1.2) \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ für die Ruhephase, und $D_1 = (1.9 \pm 0.5) \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ und $D_3 = (1.4 \pm 0.5) \times 10^{-8}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ während der Stimulation eine gute Übereinstimmung mit den Diffusionskoeffizienten welche man aus einer Anpassung an

die gemittelten Messdaten erhält. Ferner bestätigt diese Analyse der einzelnen Messungen, dass die Unterschiede in D_3 und D_1, die wir bei motorischer Stimulation in den gemittelten Autokorrelationsfunktionen gesehen haben, in der Tat signifikant sind.

Wenn man die Stimulation mit der linken Hand (ipsilateral zu C3) ausführt, zerfallen die über dem Areal C3 aufgenommenen Korrelationsfunktionen wesentlich langsamer als bei der kontralateralen Stimulation (siehe Abb. 6.6). Dieser

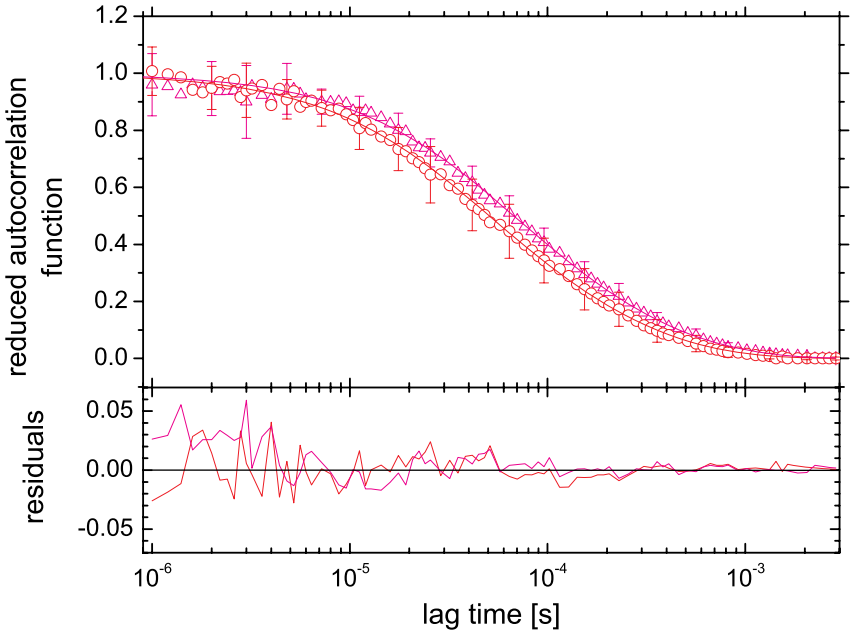

Abbildung 6.6: Reduzierte Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $(g^{(2)}(\boldsymbol{r},\tau)-1)/\beta_{\mathrm{coh}}$ gemessen über dem Areal C3 des motorischen Kortex einer rechtshändigen Testperson für einen Quelle-Empfänger-Abstand von 20 mm. Die violetten Dreiecke zeigen die Daten ipsilateraler Stimulation (linke Hand); die roten Kreise die Daten für die kontralaterale Stimulation. Die Fehlerbalken sind die Standardabweichungen von zwei Blöcken von jeweils zehn Messungen. Die Linien entsprechen den Anpassungen der analytischen Lösung der 3-Schicht Korrelations-Diffusions-Gleichung (3.17 und 3.18) an die Messdaten. Die Ergebnisse der Anpassung für die Diffusionskoeffizienten D_1 und D_3 von Kopfhaut und Hirnrinde sind $D_1 = 1.2\times10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ und $D_3 = 9.8\times10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ für die ipsilaterale Stimulation und $D_1 = 1.5\times10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ und $D_3 = 1.3\times10^{-8}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ für die kontralaterale Stimulation.

langsamere Zerfall beruht hauptsächlich darauf, dass der kortikale Diffusionskoeffizient für kontralaterale Stimulation $D_3 = 1.3\times10^{-8}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ größer als jener für ipsilaterale Stimulation $D_3 = 9.8\times10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ ist. Im Gegensatz dazu unterscheiden sich die Diffusionskoeffizienten der Kopfhaut nicht wesentlich zwischen

ipsilateraler und kontralateraler Stimulation, wobei beide gegenüber dem Wert in der Ruhephase leicht ansteigen.

Die Autokorrelationsfunktionen, die wir aus Messungen an den elf Probanden sowohl für die Ruhephase als auch während der Stimulation erhielten, zeigten eine gleichmäßig gute Übereinstimmung mit den Voraussagen der Korrelations-Diffusions-Theorie. Die absoluten Werte für die kortikalen Diffusionskoeffizienten variieren innerhalb der Gruppe der elf Probanden um mehr als eine Dekade, sowohl für die Ruhephase wie auch für die Stimulation. Wenn wir jedoch für jeden Probanden den Wert des kortikalen Diffusionskoeffizienten während der Stimulation mit jenem der Ruhephase normieren, zeigt sich über die Gruppe der Probanden ein signifikanter Anstieg des kortikalen Diffusionskoeffizienten D_3, gemessen über C3 während kontralateraler Stimulation von 38.6% (siehe Abb. 6.7a). Ipsilaterale Stimulation (linke Hand) führt zu einem weniger signifikanten Anstieg von D_3 um ungefähr 20.4%. Ein direkter Vergleich der kortikalen Diffusionskoeffizienten für kontra- und ipsilaterale Stimulation zeigt eine deutliche Asymmetrie in der Reaktion beider Gehirnhälften (t-Test: $t(10) = 2.69$, $p = 0.023 < 0.050$).

Interessanterweise führt die Fingerübung auch zu einem Anstieg des Diffusionskoeffizienten der Kopfhaut D_1, wenn auch nicht so stark wie im Kortex (siehe Abb. 6.7b). Kontralaterale Stimulation führt hier zu einem signifikanten Anstieg von 20.9% in D_1 gegenüber dem Wert in der Ruhephase und einem Anstieg von ungefähr 16.7% bei ipsilateraler Stimulation. Der direkte Vergleich zeigt allerdings, dass der Unterschied in D_1 zwischen kontra- und ipsilateraler Reaktion nicht signifikant ist (t-Test: $t(10) = 0.731$, $p = 0.480 > 0.050$).

6.2.1.4 Diskussion

Die beobachtete große Variabilität in den Werten für D_3 zwischen den Probanden könnte an der unterschiedlichen Genauigkeit in der Bestimmung von C3 liegen, für die nur externe Orientierungspunkte zur Verfügung standen. Eine Kombination von DWS und unabhängigen Messungen der optischen Parameter durch NIRS (wie in [43]) oder Flugzeit-Messungen könnten helfen, dieses Problem zu beheben.

In unseren Experimenten mit den elf Probanden war bei zwei Probanden die Reaktion des kortikalen Diffusionskoeffizienten bei ipsilateraler Anregung größer als jene bei kontralateraler Anregung. Diese Anomalie könnte aus einer Abweichung in der Position der kontralateralen somato-motorischen Vertretung für die Hand resultieren, die möglicherweise bei diesen Probanden nicht nahe dem Areal C3 ist, oder aus einer Abweichung in der motorischen Organisation resultieren, welche bekannterweise bei ca. 5 % der Probanden auftritt [88].

Die theoretischen Ausdrücke (Gln.(3.17)–(3.18)) für das 3-schichtige Modell, mit welchen wir die Diffusionskoeffizienten der Kopfhaut sowie der Hirnrinde bestimmten, enthalten zehn Parameter wenn der Schädel als statische Schicht behandelt wird (Schichtdicken $\Delta_{1,2}$, Absorptionslängen $l^{(a)}_{1,2,3}$, mittlere freie Transportweglängen $l^{*}_{1,2,3}$ und Diffusionskoeffizienten $D_{1,3}$). Deshalb ist die Kenntnis wie empfindlich die ermittelten Werte für D_3, D_1 und Δ_2 auf Unsicherheiten

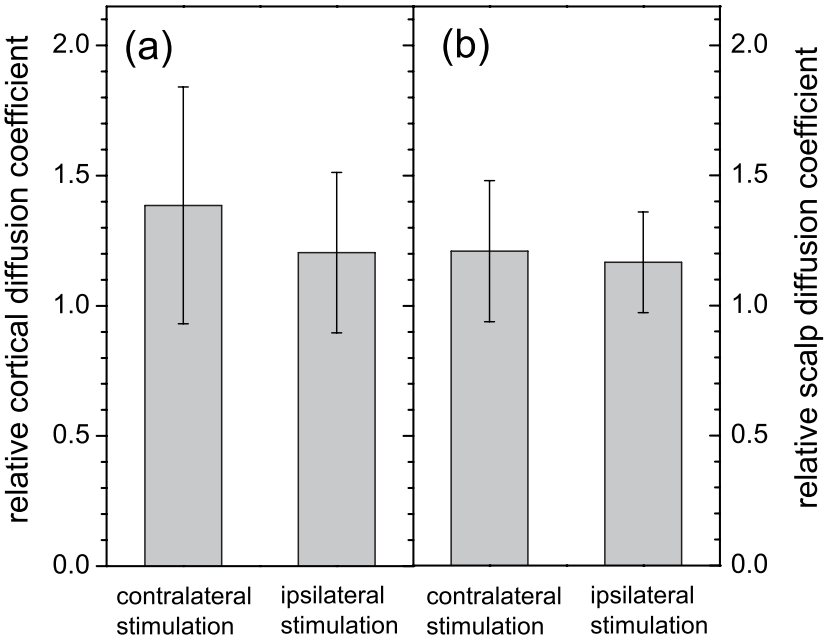

Abbildung 6.7: Diffusionskoeffizienten der Hirnrinde (a) und der Kopfhaut (b), gemessen über C3 an 11 rechtshändigen Probanden während kontra- and ipsilateraler Stimulation, normiert mit den jeweiligen Werten für die Ruhephase. Kontralaterale Stimulation bewirkt einen signifikanten Anstieg des kortikalen Diffusionskoeffizienten D_3 um 38.6 % (t-Test: $t(10) = 2.81$, $p = 0.018 < 0.05$), während die Reaktion von D_3 auf ipsilaterale Stimulation geringer (20.4 %) und weniger signifikant ist (t-Test: $t(10) = 2.20$, $p = 0.052 > 0.050$). Motorische Stimulation führt zu einer verstärkten oberflächlichen Durchblutung, was sich in einem erhöhten Diffusionskoeffizienten der Kopfhaut D_1 sowohl für kontra- wie auch ipsilaterale Stimulation niederschlägt: um 20.9 % für kontralaterale Stimulation (t-Test: $t(10) = 2.55$, $p = 0.029 < 0.050$) , und um 16.7 % für ipsilaterale Stimulation (t-Test: $t(10) = 2.86$, $p = 0.017 < 0.050$).

in den optischen Parametern $l_n^{(a)}$ und l_n^* der Kopfhaut, des Schädels und der Hirnrinde sind wichtig. Insbesondere könnte eine Zunahme der mittleren freien Transportweglänge in der Hirnrinde als ein Rückgang des kortikalen Diffusionskoeffizienten fehlgedeutet werden. Andererseits könnte eine Abnahme des kortikalen Absorptionskoeffizienten als eine Zunahme des Diffusionskoeffizienten gedeutet werden. Schwächere Einflüsse auf die Ermittlung des kortikalen Diffusionskoeffizienten werden von Schwankungen in den optischen Eigenschaften der Kopfhaut und des Schädels erwartet, da diese den Zerfall der Autokorrelationsfunktion hauptsächlich bei den langen Zeiten beeinflussen.

Wir haben deshalb Autokorrelationsfunktionen mit stark unterschiedlichen Werten der optischen und dynamischen Parameter mit der analytischen Lösung

der Korrelations-Diffusions-Gleichung für ein 3-schichtiges Modell des menschlichen Kopfes berechnet und diese Vorhersagen mit gemessenen Daten verglichen. Abbildung 6.8(a) zeigt die Abweichung[3] $\chi(D_3, l_3^{(a)})$ zwischen der gemessenen und errechneten Intensitäts-Autokorrelationsfunktion als eine Funktion von D_3 und $l_3^{(a)}$. Wenn man den kortikalen Diffusionskoeffizienten von $D_3 = 2.5 \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ auf $D_3 = 1.0 \times 10^{-8}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ und die kortikale Absorptionslänge von $l_3^{(a)} = 1.5\,\mathrm{cm}$ auf $l_3^{(a)} = 6.0\,\mathrm{cm}$ erhöht, zeigt χ ein gut definiertes Minimum bei den Fitparametern $D_3 = 4.9 \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ und $l_3^{(a)} = 3.0\,\mathrm{cm}$ für den kortikalen Diffusionskoeffizienten bzw. die kortikale Absorptionslänge. Jedoch konnten Anpassungen mit nur wenig höherem χ erreicht werden, wenn man D_3 auf unter $2.5 \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ reduziert und $l_3^{(a)}$ auf ungefähr 5.0 cm anhebt. Diese Wechselbeziehung zwischen $l_3^{(a)}$ und D_3 spiegelt die Tatsache wider, dass eine höhere Absorption lange Photonpfade abschneidet, was wiederum als verlangsamte Dynamik (d.h. kleineres D_3) gedeutet werden könnte. Eine Überschätzung von $l_3^{(a)}$ und eine gleichzeitig Unterschätzung von D_3 kann auftreten, wenn die Qualität der Daten nicht ausreicht, um die Krümmung von $g^{(1)}(\boldsymbol{r}, \tau)$ bei den kurzen Zeiten τ zu erfassen, bei welchen die Absorption zu sehen ist [89]. Der sehr große Wert der kortikalen Absorptionslänge von 5.0 cm am zweiten Minimum in $\chi(D_3, l_3^{(a)})$ spiegelt wahrscheinlich eher das Rauschen in den Daten bei kurzen Zeiten τ als einen physikalisch sinnvollen Wert wider.

Die Grenzen für die mit der Aktivierung in Verbindung stehenden Änderungen in $l_3^{(a)}$ erhält man aus unabhängigen Experimenten wie Flugzeit-Messungen oder PMI. Neuere Experimente zeigen, dass sich die Konzentration von Deoxyhämoglobin im motorischen Kortex nach Aktivierung bis zu ungefähr $0.2\,\mu$M verringert, während der erhöhte Sauerstoffverbrauch zu einer Zunahme der Oxyhämoglobin-Konzentration von ungefähr $0.6\,\mu$M bei einer durchschnittlichen Gesamthämoglobinkonzentration von ungefähr $74\,\mu$M führt [70]. Bei der in unserem Experiment benutzten Wellenlänge von $\lambda_0 = 802\,\mathrm{nm}$, welche nah an dem isosbestischen Punkt von Oxy-/Deoxyhämoglobin liegt, werden relative Änderungen im kortikalen Absorptionskoeffizienten $1/l_3^{(a)}$ folglich durch Änderungen in der Gesamthämoglobinkonzentration verursacht, welche ungefähr 1 % um das Niveau ohne Aktivierung schwanken. Anhand unserer Diagramme (Abb. 6.8) würden solche Unterschiede jedoch zu Änderungen im kortikalen Diffusionskoeffizienten von maximal einigen Prozenten führen. Andererseits beobachteten wir, dass sich der kortikale Diffusionskoeffizient bei kontralateraler Anregung über C3 durchschnittlich um 38.6% erhöhte, was offensichtlich nicht durch eine Zunahme der Konzentration der Erythrozyten oder des Blutvolumens erklärt werden kann.

---

[3] Die Abweichung χ ist definiert als $\chi(P_1, P_2) = \sqrt{\sum_{i=2}^{60} \left(g^{(2)}_{Exp.}(\tau(i)) - g^{(2)}_{Theo.}(\tau(i), P_1, P_2) \right)^2}$. Die Summe wurde so gewählt, um den vollständigen Zerfall von $g^{(2)}(\tau)$ zu erfassen ohne die Nulllinie zu stark zu gewichten. χ gibt in unserem Fall die Abweichung der gemessenen Autokorrelationskurve $g^{(2)}_{Exp.}(\tau(i))$ von den Vorhersagen der Theorie $g^{(2)}_{Theo.}(\tau(i), P_1, P_2)$ in Abhängigkeit verschiedener Parameter $P_i : D_1, D_3, l_3^*$ und $l_3^{(a)}$ an.

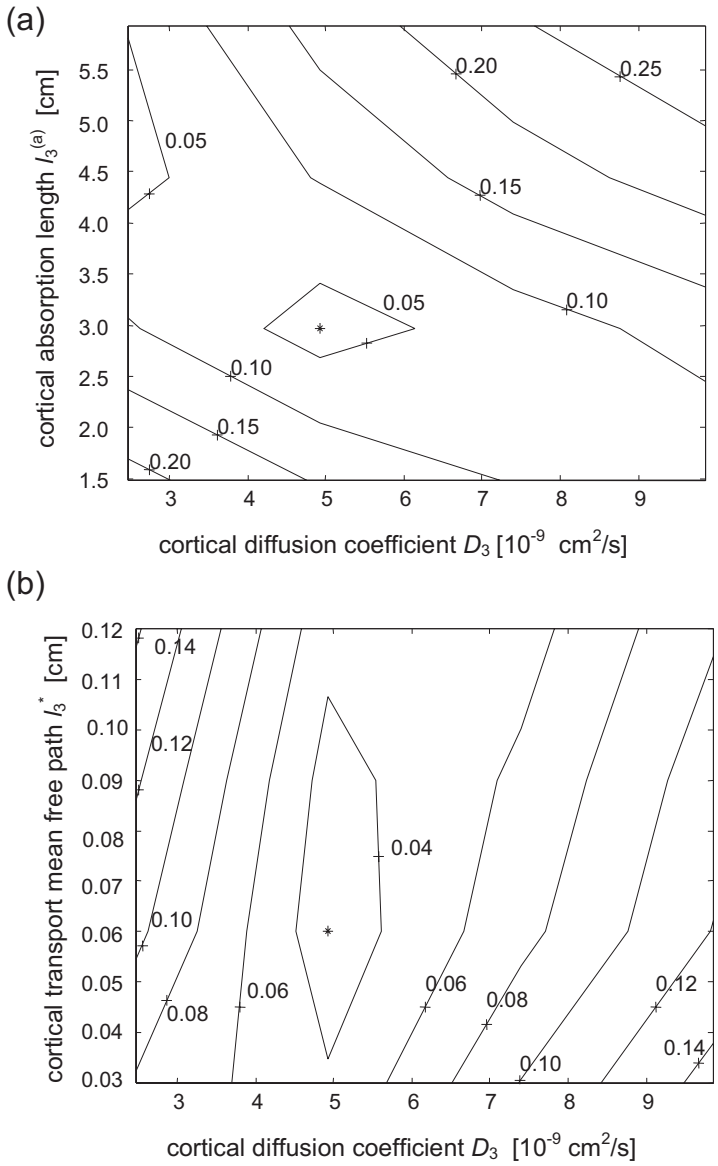

Abbildung 6.8: Diagramm der Abweichung χ, zwischen den experimentellen Daten und der Vorhersage der Korrelations-Diffusions-Gleichung (3.1) für eine 3-schichtiges Geometrie (a) als Funktion des kortikalen Diffusionskoeffizienten D_3 und der kortikalen Absorptionslänge $l_3^{(a)}$ und (b) als Funktion des kortikalen Diffusionskoeffizienten D_3 und der kortikalen mittleren freien Transportweglänge l_3^*. Die Parameter der Rechnung sind $l_1^{(a)} = 3.97\,\text{cm}$, $l_1^* = 0.0509\,\text{cm}$, $\Delta_1 = 0.10\,\text{cm}$ für die Kopfhaut, $l_2^{(a)} = 3.97\,\text{cm}$, $l_2^* = 0.0509\,\text{cm}$, $\Delta_2 = 0.47\,\text{cm}$ für den Schädelknochen und $l_3^{(a)} = 2.96\,\text{cm}$, $l_3^* = 0.060\,\text{cm}$, $\Delta_3 = \infty$ für die Gehirnrinde. Die Diffusionskoeffizienten sind $D_1 = 1.0 \times 10^{-9}\text{cm}^2/\text{s}$ für die Kopfhaut, $D_2 = 0$ für den Schädelknochen und $D_3 = 4.9 \times 10^{-9}\text{cm}^2/\text{s}$ für das Gehirn. Die Sterne markieren das Minimum von χ.

Demgegenüber zeigt ein Diagramm von χ als Funktion von D_3 und l_3^* (Abb. 6.8b), dass das Minimum von $\chi(D_3, l_3^*)$ um den Fitparameter $D_3 = 4.9 \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ ziemlich ausgeprägt ist. Eine Veränderung der kortikalen mittleren freien Transportweglänge l_3^* von $l_3^* = 0.03\,\mathrm{cm}$ auf $l_3^* = 0.12\,\mathrm{cm}$ hat keinen erheblichen Einfluss auf den Wert von χ für den kortikalen Diffusionskoeffizienten bei dem Fitparameter $D_3 = 4.9 \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$. Dies zeigt, dass die Ermittlung des kortikalen Diffusionskoeffizienten durch einen Fit der Messdaten an das 3-schichtige Modell sehr stabil gegenüber Unsicherheiten in der Abschätzung der kortikalen mittleren freien Transportweglänge l_3^* ist.

Diagramme von χ als Funktion des kortikalen Diffusionskoeffizienten D_3 und der optischen und dynamischen Parameter der Kopfhaut zeigen, dass das Verhalten von $g^{(1)}(\boldsymbol{r}, \tau)$ bei den kurzen Zeiten (bestimmt von D_3) ausreichend gut von seinem Verhalten bei langen Zeiten entkoppelt ist, sodass selbst beträchtliche Veränderungen in den Parametern der Kopfhaut Δ_1, $l_1^{(a)}$ und l_1^* den Wert von D_3 nicht erheblich beeinflussen. Umgekehrt erwies sich der Diffusionskoeffizient der Kopfhaut D_1 bei seiner Bestimmung weitgehend unempfindlich auf Schwankungen der kortikalen optischen Parameter.

Die Abhängigkeit von χ gegenüber D_1 und D_3 (Abb. 6.9) zeigt ein einzelnes Minimum für den großen Wertebereich der Diffusionskoeffizienten $0.5 \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s} \leq D_1 \leq 2.0 \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ und $2.5 \times 10^{-9}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s} \leq D_3 \leq 1.0 \times 10^{-8}\mathrm{cm}^2/\mathrm{s}$ welches in der Richtung von D_1 ziemlich flach ist. Dies heißt, dass die Abschätzung des kortikalen Diffusionskoeffizienten D_3 gegenüber Ungenauigkeiten bei der Bestimmung des Diffusionskoeffizienten D_1 ziemlich unempfindlich ist.

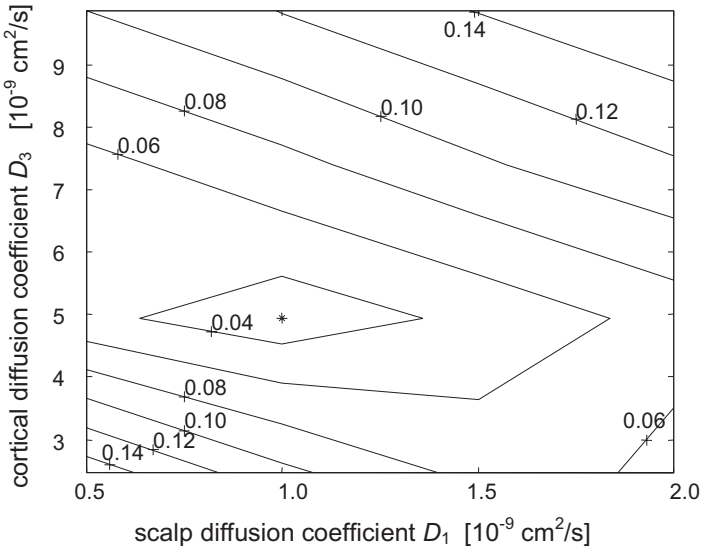

Abbildung 6.9: Abweichung χ zwischen den experimentellen Daten und der Vorhersage der Korrelations-Diffusions-Gleichung für eine 3-schichtiges Geometrie als eine Funktion der Diffusionskoeffizienten D_1 und D_3 von Kopfhaut bzw. Hirnrinde. Die konstanten Parameter sind dieselben wie in Abb. 6.8.

Erwähnenswert ist noch, dass sich das gleiche qualitative Verhalten zeigt, wenn man χ zwischen den theoretischen Daten und den Messdaten, die während der Stimulation aufgenommen wurden, errechnet.

Zusätzlich zu den Betrachtungen über die Robustheit des Fits in Bezug auf Unsicherheiten in den optischen Parametern hängt die Genauigkeit, mit der man den kortikalen Diffusionskoeffizienten ermitteln kann auch vom Rauschen in den gemessenen Daten ab, was auf die begrenzte Photonenzählrate zurückzuführen ist.

Im Allgemeinen sind Autokorrelationsfunktionen, die mit niedrigen durchschnittlichen Zählraten oder bei kurzen Zerfallszeiten gemessen werden, besonders fehlerbehaftet. Um die Abweichung von D_3 abzuschätzen, die aus dem Rauschen in den Daten entsteht, analysierten wir die Daten von Proband 3. Sie zeigen eine niedrige durchschnittliche Zählrate von 21 kHz und ein kurze durchschnittliche Zerfallszeit von $\overline{\tau} = 38\,\mu$s.[4] Eine individuelle Analyse der 20 Autokorrelationsfunktionen aus 2 Blöcken mit einem festen Kohärenzfaktor $\beta_{\text{coh}} = 0.075$ [5] und einer festen Dicke des Schädelknochens $\Delta_2 = 5.2\,$mm ergab einen kortikalen Diffusionskoeffizienten $D_3 = (6.7 \pm 2.2) \times 10^{-9}\text{cm}^2/\text{s}$ während der Ruhephase und $D_3 = (8.3 \pm 1.7) \times 10^{-9}\text{cm}^2/\text{s}$ für kontralaterale Anregung. Diese Werte zeigen eine gute Übereinstimmung mit jenen, welche wir aus den gemittelten Autokorrelationsfunktionen erhielten. Die Analyse dieser Daten zeigt, dass selbst bei erheblichem Rauschen in den gemessenen Daten eines einzelnen Probanden der Unterschied der kortikalen Diffusionskoeffizienten zwischen Ruhephase und Stimulation sehr signifikant ist, zumindest für kontralaterale Anregung, für die man die größte somato-sensorische Aktivierung in der Gehirnrinde erwartet.

Bei der Anpassung unserer Daten an eine 3-Schicht-Geometrie aus Kopfhaut, Schädelknochen und Gehirnrinde haben wir die Zerebrospinal-Flüssigkeit (CSF) zwischen Schädelknochen und Kortex, deren Absorptionslänge und mittlere freie Transportweglänge viel größer als die Schichtdicke sind, vernachlässigt. Simulationen haben gezeigt, dass das Vorhandensein der fast transparenten CSF die Verteilung der Weglängen der gestreuten Photonen beeinflussen kann [86]; für eine Dicke von mehr als ca. 1 mm kann in Anwesenheit der zerebrospinalen Schicht die Ausbreitung der Photonen nicht mehr korrekt durch die Diffusions-Näherung beschrieben werden [90].

Licht, das in der CSF geführt wird, kann für große Quelle-Empfänger-Abstände den Fluss der Photonen durch die Gehirnrinde verringern, was folglich den Beitrag der Hirnrinde zum DWS-Signal reduziert. Die Simulationen zeigen andererseits, dass für die Quelle-Empfänger-Abstände, welche wir in unseren Experimenten verwendeten, dieser Effekte klein sein sollte. Der merkliche Unterschied des Verhaltens von $g^{(1)}(\boldsymbol{r}, \tau)$ bei kurzen Zeiten zwischen der Ruhephase und

[4] Wir benutzen $\overline{\tau} = \int_{\tau=200\,\text{ns}}^{\tau=3.1\,\text{s}} \mathrm{d}\tau\, (g^{(2)}(\boldsymbol{r}, \tau) - 1)/\beta_{\text{coh}}$.

[5] Der Wert β_{coh} resultiert aus einer Kombination der Glasfaser des Empfängers, welche sechs transversale Moden transportiert, und der Anwesenheit von zwei longitudinalen Lasermoden mit ungleicher Amplitude, was zu einer effektiven Anzahl an Moden von $2 \times 6 = 12 \approx 1/\beta_{\text{coh}}$ führt.

während der Stimulation zeigt, dass beim benutzten Quelle-Empfänger-Abstand genügend detektierte Photonen den CSF durchquert haben, weshalb sich die mit der Aktivierung in Verbindung stehende Zunahme des kortikalen Diffusionskoeffizienten im Messsignal widerspiegelt. Überraschenderweise zeigen die Vorhersagen für $g^{(1)}(\boldsymbol{r}, \tau)$ anhand des 3-schichtigen Modells in der Diffusions-Näherung eine sehr gute Übereinstimmung mit den Messdaten selbst bei den sehr langen Zeiten, bei denen die zerebrospinale Schicht die größten Auswirkungen zeigen sollte. Monte-Carlo Simulationen der DWS-Autokorrelationsfunktion zeigen für die Systeme mit vier Schichten, einschließlich einer nicht-streuenden CSF Schicht eine Kurvenform, welche der für 3-schichtige Systeme sehr ähnlich ist. Eine Analyse von mit vier Schichten simulierten Daten mit einem 3-schichtigen Modell zeigt, dass der Wert des kortikalen Diffusionskoeffizienten dabei nur leicht unterschätzt wird.

Offensichtlich zeigt unsere Analyse der Empfindlichkeit der Fit-Prozedur auf Ungenauigkeiten in den optischen und dynamischen Parametern, dass innerhalb realistischer Grenzen für die optischen und dynamischen Parameter des Gewebes der schnellere Zerfall der Autokorrelationsfunktion während einer Fingerübung der Zunahme des kortikalen Diffusionskoeffizienten aufgrund einer kortikalen Aktivierung zugewiesen werden kann. Es ist jedoch nicht ganz klar, ob diese erhöhte Dynamik durch verstärkten Blutfluss, durch neuronale Dynamik oder durch eine Kombination von beiden Effekten zustande kommt. Obwohl die bloße Zunahme des Blutvolumens aufgrund der Aktivierung nicht die beobachtete Zunahme des kortikalen Diffusionskoeffizienten erklären kann, könnte die Erweiterung der Blutgefäße (Vasodilation) zu einem beträchtlichen Anstieg der Blutflussgeschwindigkeit, sogar bei kleiner Zunahme des Blutvolumens aufgrund der starken Abnahme des hydrodynamischen Widerstandes bei steigendem Durchmesser der Adern, führen. Interessanterweise ist die gemessene Zunahme des kortikalen Diffusionskoeffizienten von 38.6 % für kontralaterale Anregung vergleichbar mit Positronen-Emissions-Tomografie (PET)-Messungen [91, 92] der funktionellen Zunahme des Blutflusses in den motorischen kortikalen Bereichen des Gehirns die etwas kleiner als jene in unseren DWS Experimenten sind. Außerdem zeigt die in unseren Experimenten gemessene funktionelle Zunahme von D_3 eine gute Übereinstimmung mit der relativen Zunahme der Geschwindigkeit des Blutflusses, die von Durduran et al. [43] aus einer 1-Schicht-Analyse von nicht-invasiv gemessenen DWS-Autokorrelationsfunktionen bestimmt wurde.

Andererseits deutet der hohe Streukoeffizient des kortikalen Gewebes an, dass DWS nicht nur empfindlich gegenüber Bewegungen der Erythrozyten, sondern auch auf Bewegungen von und innerhalb der Neuronen ist. Bei einem Hämatokrit von 5 % hat Blut eine mittlere freie Transportweglänge von $l^* = 3.8\,\mathrm{mm}$ bei $\lambda = 800\,\mathrm{nm}$ [93]. Eine Hochrechnung auf einen physiologischen Hämatokrit von 50 % und ein zerebrales Blutvolumen von $4\,\mathrm{g}/100\,\mathrm{m}\ell$ ergibt $l^* = 9.6\,\mathrm{mm}$, was mehr als eine Größenordnung über den mittleren freien Transportweglängen in einem typischen kortikalen Gewebe $l_3^* \approx 0.4\,\mathrm{mm}$ [85], bei dem die Streuung an Membranen dominiert, liegt. Die Photonen, die in kortikalem Gewebe diffundie-

ren, sollten deshalb viel öfter an Neuronen als an Erythrozyten gestreut werden. Falls die Verrückungen sowohl der neuronalen Organellen wie auch der Erythrozyten hauptsächlich durch Brown'sche Bewegung erfolgen, ergibt sich der effektive Diffusionskoeffizient D_3, welcher durch DWS gemessen wird, als die gewichtete Summe der einzelnen Diffusionskoeffizienten der jeweiligen Komponenten [89]. Nimmt man Vesikel mit einem Durchmesser von 200 nm an, so wird erwartet, dass bei einem Volumenanteil der Vesikel von ungefähr 18 % ihr Beitrag zu D_3 über dem der Erythrozyten liegt.[6] Obgleich dies eine grobe Schätzung ist passt dieser Wert zu den Werten welche mit Hilfe von Elektronenmikroskopie in chromaffinen Zellen gemessen wurden [95]. Während der Beitrag der subzellulären Bewegung der Organellen zum kortikalen Diffusionskoeffizienten durch eine lokale Ischämie nach arteriellem Verschluss in Tierversuchen erforscht werden konnte (ähnlich den Experimenten in [40]), sind solche Experimente im menschlichen Gehirn nicht zulässig. Jedoch zeigen Laser-Doppler Messungen der biologischen Untergrundsignale (z.B. durch Verwendung einer Druckmanschette) in anderen Arten von Gewebe die von der Durchblutung unabhängige subzelluläre Bewegung der Organellen, die zu den Speckle-Fluktuationen in durchblutetem Gewebe beiträgt [96].

Die kortikalen Diffusionskoeffizienten die während der Aktivierung gemessen wurden könnten sich nicht nur aufgrund einer gesteigerten Geschwindigkeit des Blutflusses erhöht haben, sondern auch infolge einer erhöhten Mobilität der synaptischen Vesikel [97, 98, 99]. Während für das gegenwärtige motorische Protokoll und unsere Art der Datenerfassung die Dynamik, welche in Verbindung mit der Durchblutung steht, nicht von den primären neuronalen Signalen getrennt werden kann, so lässt sich doch, wenn man die zeitliche Intensität-Autokorrelationsfunktion mit einer kürzeren Integrationszeit misst, mithilfe von DWS, nach den primären neuronalen Signalen suchen. Wenn das DWS Signal von zerebralem Blutfluss hervorgerufen wird, sollte der maximale Unterschied von D_3 (verglichen mit der Messung während der Ruhephase) mit einer Verzögerung von einigen Sekunden in Bezug auf den Beginn der Stimulation auftreten. Sollte dagegen die Bewegung der synaptischen Vesikel auch einen bedeutenden Beitrag zum DWS-Signal bilden, würde man Änderungen in dem kortikalen Diffusionskoeffizienten schon nach einigen Hundertstel- bis zu Zehntel-Sekunden nach dem Beginn der neuronalen Aktivierung detektieren. Um diese Frage experimentell anzugehen, könnte visuelle Stimulation mit einer schnell fortlaufenden Darstellung von Bildern verwendet werden [100]. Die hohe zeitliche Auflösung von EEG und von Magnetoenzephalographie (MEG) machten deutlich, dass das Gehirn fähig ist, schnell zwischen den einzelnen Anregungen zu wechseln (innerhalb weniger als 100 ms) und dabei das emotionale Charakteristikum der wahrgenommenen Bilder erkennt. Der zerebrale Blutfluss solchen schnellen Änderungen nicht folgen,

[6] Wir nahmen für die Vesikel eine sphärische Form mit einer relativen Dielektrizitätskonstante $\epsilon_\mathrm{r} = 1.22$ an, aus der wir einen Streuquerschnitt $\sigma_\mathrm{v} = 4.7 \times 10^{-2}\,\mu\mathrm{m}^2$ in der Rayleigh-Näherung errechneten. Für die Erythrozyten benutzten wir einen Streuquerschnitt $\sigma_\mathrm{e} = 100\,\mu\mathrm{m}^2$ [94], einen Anisotropiefaktor $g_\mathrm{e} = 0.99$ und eine Teilchendichte $\varrho_\mathrm{e} = 5 \times 10^{-3}\,\mu\mathrm{m}^{-3}$ [93].

sodass ein anderer schneller dynamischer Prozess wie die synaptische Bewegung der Vesikel mit dieser Technik detektierbar werden sollte.

6.2.1.5 Zusammenfassung

Wir erhielten die Diffusionskoeffizienten im motorischen Kortex während einer Fingerübung an Probanden, durch eine Anpassung der analytischen Lösung der Korrelations-Diffusions-Gleichung für die 3-schichtige Geometrie an die mit nahem infraroten Licht aufgenommenen Autokorrelationsfunktionen. Die Analyse mit dem 3-schichtigen Modell ergab eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Daten für Korrelationszeiten, welche mehr als 3 Größenordnungen überspannen und erbrachte so eine quantitative Abschätzung für den kortikalen Diffusionskoeffizienten. Durch eine Analyse der Empfindlichkeit des Modells gegenüber Unsicherheiten in den optischen Parametern des Gewebes konnten wir feststellen, dass sich der kortikale Diffusionskoeffizient aus unseren Daten mit einer Unsicherheit von einigen Prozenten bestimmen lässt, wenn wir die optischen Parameter des Gewebes innerhalb realistischer Grenzen schwanken lassen. Experimente mit einer motorischen Stimulation an elf rechtshändigen Probanden ergaben in der Region C3 einen schnelleren Abfall der Autokorrelationsfunktionen während der Anregung. Diese erhöhte Dynamik konnte auf Änderungen in der kortikalen Dynamik zurückgeführt werden; unsere Resultate stützen folglich die Deutung früherer DWS-Resultate als funktionell erhöhte Blutfluss-Geschwindigkeit [43]. Die hemisphärische Asymmetrie zwischen den gemessenen kortikalen Diffusionskoeffizienten in der Region C3 für die Fingerübung mit der linken bzw. mit der rechten Hand passt zu der dominierenden Aktivierung der kontralateralen motorischen und sensorischen Areale im Kortex bei rechtshändigen Probanden durch eine einhändig ausgeführte Bewegung. Die großen hämodynamischen Veränderungen bestimmen für das verwendete Protokoll einer motorischen Stimulation den kortikalen Diffusionskoeffizienten. Die Messung von Speckle-Fluktuationen mit kürzeren Integrationszeiten könnte es erlauben, DWS zur Detektion primärer neuronaler Signale, welche mit funktionell erhöhten Bewegungen subzellulärer Organellen verbunden sind, zu verwenden.

6.2.2 Zeitaufgelöste Messungen

Bei der kontinuierlichen Messung der motorischen Finger-Übung aus Kapitel 6.2.1 führten wir insgesamt zehn Messungen mit einer Integrationszeit von jeweils 10 s innerhalb der Dauer des Experiments von 130 s durch. Aus diesem Grund war die zeitliche Auflösung der Messdaten auf 10 s beschränkt, außerdem gab es, aus technischen Gründen, nach jeder Messung eine Verzögerung von 3 s bis zum Beginn der nächsten Messung, während derer die Aufnahme der Messdaten unterbrochen war. Um den exakten zeitlichen Verlauf der Zerfallszeit kontinuierlich für die gesamte Messzeit von 130 s zu bestimmen, führten wir an einer Probandin für dieselbe motorische Stimulation eine Messung mit einer zeitlichen Auflösung von

104 ms durch. Als Aufbau diente hierbei die in Kapitel 5 ausführlich beschriebene Messanordnung mit einem 32-Kanal-Multi-Tau-Korrelator und einem aus 15 Fasern bestehenden Detektor. Die Messsonde wurde, wie bei der kontinuierlichen Messung, über dem Areal C3 (motorischer Kortex) mit einem Abstand von 2.6 cm zwischen Quelle und Empfänger befestigt. Insgesamt führten wir für die kontralaterale (rechte Hand) wie für die ipsilaterale (linke Hand) Stimulation jeweils 3 Messungen durch. Der Herzschlag der Probanden während der Übung wurde mit einem Puls-Oxymeter (N595, Nellcor) in 3 s-Abständen aufgezeichnet. Nach jeder Messung konnte sich die Probandin kurz ausruhen bis der Puls wieder auf seinen Ausgangswert gefallen war.

Abbildung 6.10 zeigt die Zerfallszeit[7], die Intensität und den Herzschlag, je-

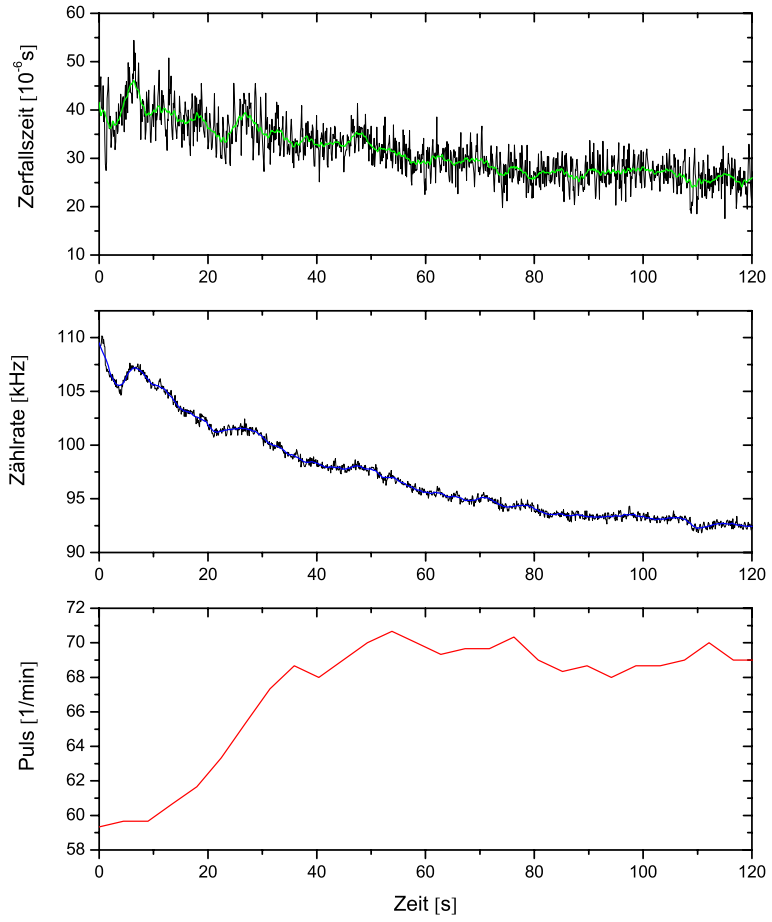

Abbildung 6.10: Die Graphen zeigen die Zerfallszeit (oben), die Intensität (mitte) und den Herzschlag (unten) für kontralaterale Stimulation, gemessen über dem Areal C3 (rechte Hand), jeweils gemittelt über 3 Messungen. Die grüne (Zerfallszeit) sowie die blaue (Intensität) Linie stehen für die über 20 Punkte geglätteten Messdaten.

weils über alle drei Messungen gemittelt, für die kontralaterale Fingerübung. Insbesondere die Kurve für die Zerfallszeit zeigt, trotz Mittelung über drei Messungen, eine sehr hohe pulsatile Variation. Um den starken Effekt des Herzschlages herauszumitteln, geben die grüne (Zerfallszeit) sowie die blaue (Intensität) Linie die über 20 Punkte geglätteten Messdaten an. Während den 120 s Fingerübung zeigen beide Kurven einen abfallenden Verlauf, der sich zum Ende hin abflacht. Die Zerfallszeit sinkt dabei um ungefähr 45 %, während die Intensität um ungefähr 14 % abnimmt.

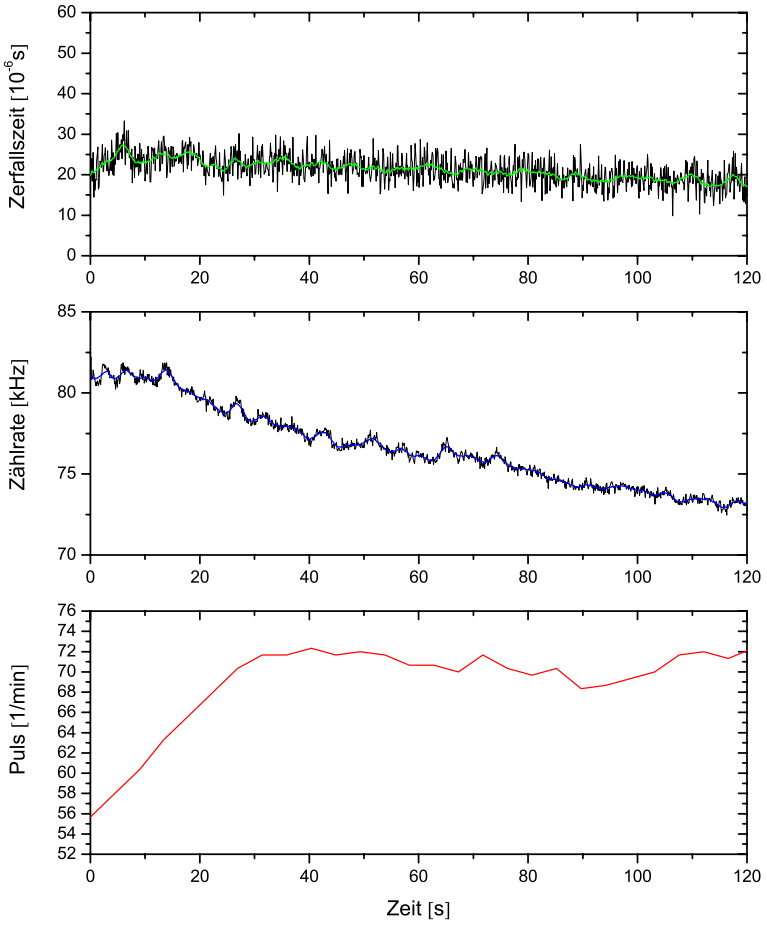

Abbildung 6.11: Die Graphen zeigen die Zerfallszeit (oben), die Intensität (mitte) und den Herzschlag (unten) für ipsilaterale Stimulation, gemessen über dem Areal C3 (linke Hand), jeweils gemittelt über 3 Messungen. Die grüne (Zerfallszeit) sowie die blaue (Intensität) Linie stehen für die über 20 Punkte geglätteten Messdaten.

Die Graphen in Abb. 6.11 zeigen die Ergebnisse der gleichen Messungen wie

[7] Wir benutzen $\overline{\tau} = \int_{\tau=600\,\mathrm{ns}}^{\tau=1.024\,\mathrm{ms}} \mathrm{d}\tau\,(g^{(2)}(\boldsymbol{r},\tau)-1)/\beta_{\mathrm{coh}}$.

in Abb. 6.10, aber für ipsilaterale Stimulation. Auch hier lässt sich wieder ein Abfall der Zerfallszeit sowie der Intensität beobachten, allerdings ist hier der totale Abfall der Zerfallszeit bis zum Ende der Fingerübung von ungefähr 24 % sowie die Abnahme der Intensität von ungefähr 6 % wie auch schon bei der kontinuierlichen Messung in Kapitel 6.2.1, weit weniger stark ausgeprägt als bei der kontralateralen Stimulation. Der Anstieg in der Frequenz des Herzschlags war dagegen für die ipsilaterale Stimulationen mit ungefähr 28 % sogar leicht stärker als bei kontralateraler Stimulation mit unter 20 %, sodass man den Herzschlag als Begründung für die Asymmetrie zwischen kontralateraler und ipsilateraler Stimulation ausschließen kann.

6.3 Änderungen im präfrontalen Kortex durch Hyperventilation

6.3.1 Einleitung

Im Gegensatz zur motorischen Stimulation im motorischen Kortex findet bei Hyperventilation eine umfassende Reduktion des Blutvolumens und der Geschwindigkeit des Blutflusses im präfrontalen Kortex statt, was mit NIRS [101], Positronen-Emissions-Tomographie (PET) [102], MRI, akustischem Doppler [103] und fMRI [104] gemessen werden kann. Sofern das DWS-Signal seinen Ursprung in der Bewegung der roten Blutkörperchen hat, sollten sich die mit DWS gemessenen Speckle-Fluktuationen innerhalb von 10 bis 20 s nach Beginn der Hyperventilation merklich verlangsamen.

Kürzlich wurde DWS kombiniert mit NIRS benutzt, um beim Menschen die kortikale Hämodynamik während der Hyperventilation nicht-invasiv zu messen [50]. Unter Verwendung eines halb-unendlichen Modells für den Fit an die gemessenen Daten wurde ein 46 %-Abfall im durchschnittlichen kortikalen Blutfluss gefunden. Allerdings wurden die Daten von vier der zehn Probanden, entweder aufgrund von Bewegungsartefakten oder Rauschen in den Daten, verworfen. Ferner wurde bei drei Probanden während der 30 s Hyperventilation ein anfänglicher Anstieg der Blutflussmenge beobachtet, welcher entweder durch einen beschleunigten Herzschlag oder durch eine verzögerte Reaktion der kortikalen Hämodynamik erklärt wurde [50].

In unserem Versuch untersuchten wir während einer 50 s dauernden Hyperventilation den präfrontalen Kortex von sechs Probanden nicht-invasiv mit DWS. Der relative Blutfluss und das relative Blutvolumen wurden über die berechnete mittlere Zerfallsrate und anhand der diffus transmittierten Intensität abgeschätzt. Um mögliche störende Einflüsse der obersten Schicht (Kopfhaut) zu kontrollieren, untersuchten wir zusätzlich einen ausgesuchten Probanden gleichzeitig mit zwei Detektoren. Für diese Messung verwendeten wir den Multi-Speckle-Aufbau aus Kapitel 5 mit Quelle-Empfänger-Abständen von 1.3 cm und 3.3 cm. Mit der Sonde mit dem kurzen Abstand ist es möglich, selektiv die Dynamik in den Schichten außerhalb des Kortex zu messen, was es erlaubt, den Einfluss der Dynamik in der Kopfhaut auf die Autokorrelationsfunktion bei langem Quelle-Empfänger-Abstand abzuschätzen.

Die sechs gesunden erwachsenen Probanden (fünf davon männlich) saßen während der Hyperventilation und den Messungen auf einem Stuhl. Der optische Sensor wurde auf der linken Stirnseite etwas unterhalb der Haarlinie befestigt. Ein Versuchsblock bestand aus einer Ruhephase von 50 s, gefolgt von 50 s langer Hyperventilation, in der die Probanden angewiesen wurden, tief und schnell zu atmen. Um den Herzschlag der Probanden aufzuzeichnen, wurde wie in Abschnitt 6.2 beschrieben, ein Puls-Oxymeter (N595, Nellcor) benutzt. Nach jedem Block konnten sich die Probanden mehrere Minuten ausruhen, bis der Herzschlag der

Probanden wieder auf seinen Ruhepuls zurückgegangen war, danach wurde eine neuer Block gestartet. Für die Messungen mit einer Sonde an den sechs Probanden, benutzten wir den in Kapitel 4 beschriebenen Aufbau mit einem digitalen Multi-Tau-Korrelator (ALV5000E).

Für die zusätzliche Messung mit zwei Sonden wählten wir einen Probanden aus, dessen CT-Daten verfügbar waren. Ein Block bestand aus jeweils 20 s Ruhephase gefolgt von 20 s Hyperventilation. In diesem Experiment wurden mit den zwei Sonden insgesamt zehn Blöcke aufgenommen.

6.3.2 Datenanalyse und Messaufbau

Wir benutzten die durchschnittliche Zerfallsrate, um den relativen Blutfluss innerhalb des untersuchten Gewebes zu quantifizieren. Da sich die Wellenlänge unseres Lasers (802 nm) nahe am isosbestischen Punkt des Hämoglobins und Deoxy-Hämoglobins befindet, ist die Intensität (Zählrate) nicht empfindlich auf Schwankungen im Verhältnis von Hämoglobin zu Deoxy-Hämoglobin, sondern nur auf Veränderungen der totalen Hämoglobin-Konzentration (oder des Blutvolumens) auf den Pfaden der detektierten Photonen. Mithilfe des Lambert-Beer-Gesetzes lassen sich damit Veränderungen des Blutvolumens aus den Änderungen der Zählrate der Photonen ableiten.

Für das Experiment mit den zwei Sonden analysierten wir die gemessenen Daten mit einem Mehrschicht-Model des Kopfes [44]. Die Werte für die Dicke der Kopfhaut und des Schädelknochens, erhielten wir aus den CT-Daten. Für die mit einem Quelle-Empfänger-Abstand von 1.3 cm gemessenen Daten benutzten wir ein 2-Schicht-Modell (Kopfhaut und Schädelknochen). Da die Eindringtiefe des wahrscheinlichsten Pfades für diese Geometrie weniger als 0.4 cm beträgt, was deutlich unter der kombinierten Dicke der Kopfhaut und des Schädelknochens (1.16 cm) liegt, wurde die zweite Schicht (Schädelknochen) als halb-unendlich angenommen. Die Messdaten für den großen Abstand zwischen Detektor und Quelle (3.3 cm) wurden mit einem 3-Schicht-Modell analysiert. Für die optischen Parameter der einzelnen Schichten wurden Werte aus der Literatur verwendet [105]. Die Dynamik in der Kopfhaut und im Kortex wurde mit Brown'scher Diffusion modelliert; der Schädel wurde als statisch betrachtet. Aus dem 2-Schicht-Modell extrahierten wir den Diffusionskoeffizienten der Kopfhaut, welcher dann als fester Wert im 3-Schicht-Modell zur Bestimmung des kortikalen Diffusionskoeffizienten verwendet wurde [44]. Die Werte für die Diffusionskoeffizienten von Kopfhaut und Kortex während der Hyperventilation wurden anschließend auf die Werte während der Ruhephase normiert.

Abbildung 6.12 zeigt den mit DWS aufgenommenen relativen Blutfluss für sechs Probanden als Funktion der Zeit nach Beginn der Hyperventilation. Während der 50 s-Hyperventilation variierte der Blutfluss unterschiedlich für die verschiedenen Probanden: Innerhalb der ersten 10 s fiel bei drei Probanden (1,2 und 4) der Blutfluss ab, während man bei den anderen drei Probanden (3, 5 und 6) einen anfänglichen Anstieg des Blutflusses beobachten konnte. Dieselbe ge-

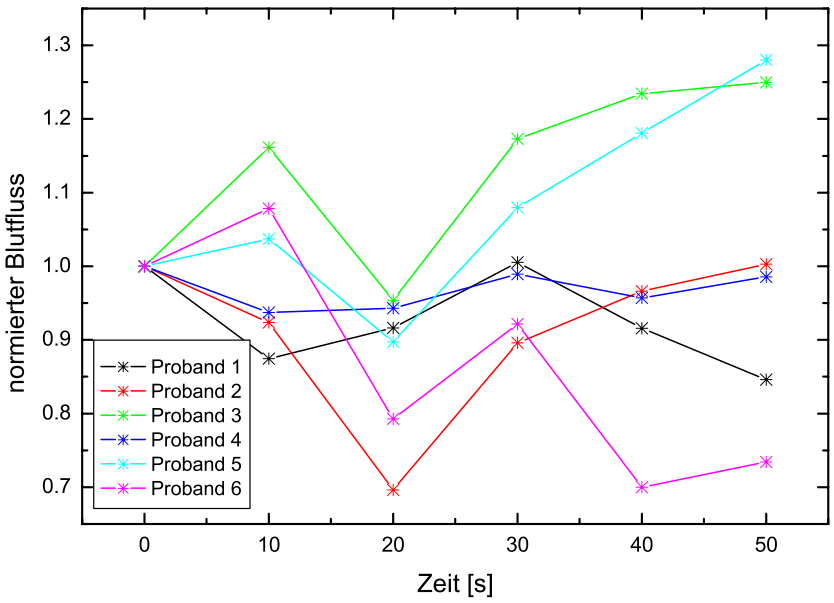

Abbildung 6.12: Zeitlicher Verlauf des Blutflusses nach dem Beginn der Hyperventilation (Beginn bei t=0). Die Blutflüsse sind normiert auf den Blutfluss in der Ruhephase. Der Quelle-Empfänger-Abstand ist ungefähr 3.0 cm für alle sechs Probanden.

gensätzliche Reaktion zu Beginn der Hyperventilation wurde auch von Durduran [50] beobachtet. Zwischen 10 s und 20 s verringert sich der relative Blutfluss auf einen Wert von 0.9±0.1, welcher für alle Probanden unterhalb dem der Ruhephase liegt. Während der Periode von 20 s bis 30 s steigt der Blutfluss für alle Probanden wieder an. Nach 30 s steigt bei drei Probanden der Blutfluss weiter (2, 3, und 5), und der Endwert übersteigt sogar den Wert der Ruhephase. Demgegenüber sinkt bei den anderen 3 Probanden (1, 4, und 6) der Blutfluss wieder, und fällt am Ende der Hyperventilation auf einen Wert unterhalb dem der Ruhephase.

Abbildung 6.13 zeigt die Entwicklung des Blutvolumens relativ zur Ruhephase während der Hyperventilation. Bei den meisten Probanden (außer Proband 4), ist die Entwicklung des Blutvolumens ähnlich dem des Blutflusses. Der Korrelationskoeffizient zwischen diesen beiden Variablen mit einem Wert von 0.72 bis 0.99, (Mittelwert=0.9, Standardabweichung=0.1) sehr groß. Bei Proband 4 beobachteten wir allerdings eine Entkopplung zwischen Blutvolumen und Blutfluss. Besonders in den letzen 30 s verändern sich das Blutvolumen und der Blutfluss unterschiedlich. Bei diesem Proband beträgt der Korrelationskoeffizient -0.73. Der Grund für dieses unerwartete Verhalten ist unklar.

Für das Experiment mit zwei Sonden an Proband 1 sind die Diffusionskoeffizienten für die Kopfhaut und den Kortex, welche anhand des Mehrschicht-Modells

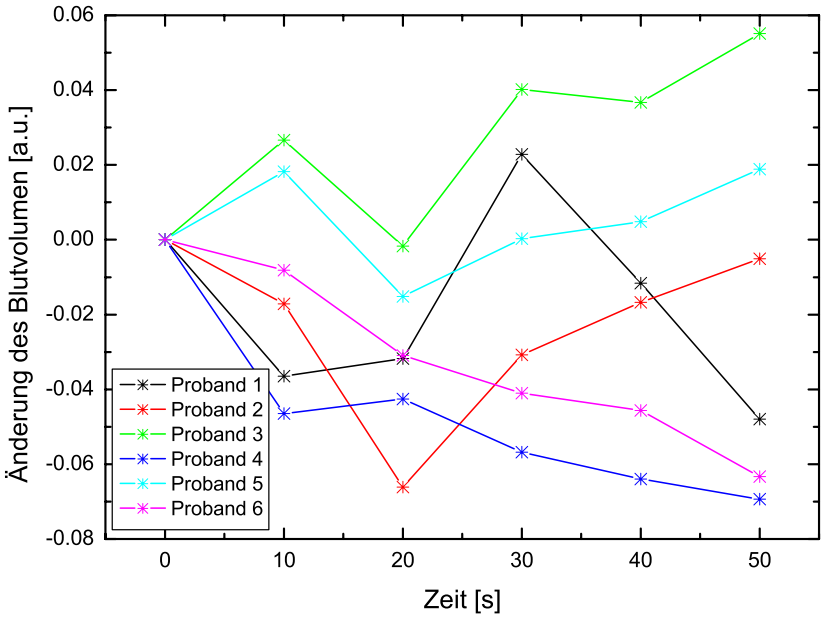

Abbildung 6.13: Änderung im Blutvolumen während der 50 s dauernden Hyperventilation. Der Quelle-Empfänger-Abstand ist der Gleiche wie in Abb. 6.12.

bestimmt wurden, in Abb. 6.14 dargestellt. Während der 20 s Hyperventilation verhält sich die Änderung des Blutflusses in der Kopfhaut anders als der Blutfluss in der Gehirnrinde: Während der mittlere Blutfluss in der Kopfhaut tendenziell eher ansteigt (ca. 5 %), verringert er sich im Kortex deutlich um 27 %. Der im Mittel leicht erhöhte Blutfluss in der Kopfhaut während der Hyperventilation könnte vom gemessenen Anstieg des Herzschlages herrühren. In der Tat beobachteten wir, dass sich der Herzschlag bei diesem Proband kontinuierlich von seinem Ruhewert 72 Schläge/min auf 78 Schläge/min am Ende der 20 s Hyperventilation erhöhte.

6.3.3 Diskussion

Üblicherweise werden die Messdaten der Nah-Infrarot-Spektroskopie am menschlichen Kopf mit einem halb-unendlichen Kopf-Modell analysiert. Dieses Modell basiert auf der Annahme, dass sich die optischen Parameter im Gewebe gleichmässig mit der Aktivierung ändern. Tatsächlich verursacht diese Näherung den so genannten Partial-Volumen-Effekt [86, 106]: Eine lokale Änderung in einer der Schichten wird einer Änderung des Gesamtsystems zugeordnet. In vielen Fällen, in denen sich der optische Kontrast nur in der kortikalen Schicht ändert, führt diese Näherung zu einer Unterschätzung der Änderung von z.B. Blutvolu-

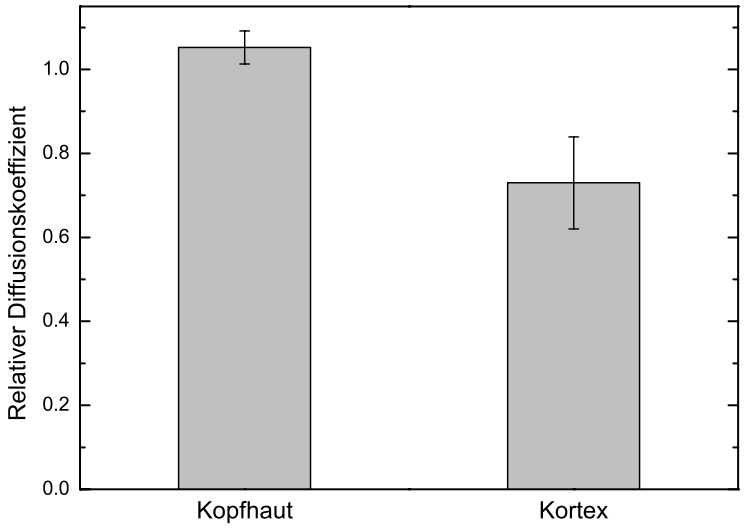

Abbildung 6.14: Relative Diffusionskoeffizienten von Kopfhaut und Kortex während der 20 s-Hyperventilation von Proband 1. Der Diffusionskoeffizient der Kopfhaut D_1 wird anhand des 2-Schicht-Modells des Kopfes mit den Messdaten für den Quelle-Empfänger-Abstand von 1.3 cm abgeschätzt. Der kortikale Diffusionskoeffizient D_3 wird durch die Analyse der Messdaten für den Quelle-Empfänger-Abstand von 3.3 cm mit dem Wert für D_1 als festem Parameter bestimmt. Die Fehlerbalken stellen die aus insgesamt zehn Blöcken berechneten Standardabweichungen dar.

men oder Sauerstoffsättigung. In Fällen, in denen sich jedoch, wie in diesem Experiment, die nicht-kortikalen optischen (und dynamischen) Parameter während der Stimulation ebenfalls ändern, dürfte dies für Größen wie dem kortikalen Blutfluss und dem kortikalen Blutvolumen zu einem komplizierteren Muster führen: Wie man in Abb. 6.12 und 6.13 gesehen hat, ändert sich die von der Hyperventilation verursachte Dynamik nicht monoton mit der Zeit. Diese Beobachtung erklärt sich daraus, dass der Blutfluss in der Kopfhaut während der Hyperventilation steigt (im Gegensatz zu der Änderung des kortikalen Blutflusses), was Abb. 6.14 verdeutlicht, und was zusätzlich von der Tatsache unterstützt wird, dass sich der Herzschlag während der Stimulation signifikant erhöht. Um zu erklären, wie der Herzschlag die gemessene Zerfallszeit von $g_2(\tau)$ beeinflusst, zeichneten wir den Puls von Proband 5 auf, welcher einen großen Anstieg des Blutflusses während der 50 s-Hyperventilation zeigte (siehe Abb. 6.15). Man sieht, dass der Herzschlag mit dem Einsetzen der Hyperventilation monoton ansteigt, mit einem sehr schnellen Anstieg zwischen 20 und 30 Sekunden. Insgesamt steigt der Puls vom Anfang bis zum Ende der Hyperventilation um ungefähr 43 %.

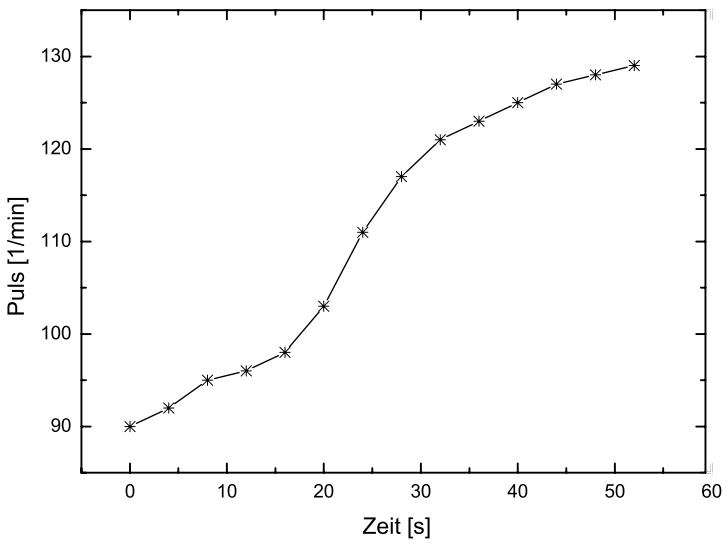

Abbildung 6.15: Herzschlag während der Hyperventilation, gemessen mit einem Puls-Oxymeter an Proband 5.

Nimmt man an, dass der Blutfluss in der Kopfhaut durch den Herzschlag bestimmt wird, steigt der mittlere Blutfluss in der Kopfhaut für die ersten 10 s der Hyperventilation um ungefähr 3 % an (siehe Abb. 6.9). Dies spiegelt sich in dem Anstieg der Zerfallsrate während dieser Phase wider (Abb. 6.12), wenn man annimmt, das es eine 10-20 s Verzögerung zwischen der Antwort der kortikalen Hämodynamik und dem Beginn der Hyperventilation gibt [103, 104]. Daher dominiert für die ersten 10 s die Änderung der Streuerdynamik in der Kopfhaut die Zerfallsrate der Autokorrelationsfunktion. Zwischen 10 s und 20 s steigt der Puls leicht an, folglich ist die Dynamik in der Kopfhaut nur etwas schneller als in den ersten 10 s. Auf der anderen Seite dürfte sich die kortikale Durchblutung gegenüber den ersten 10 s verringert haben und dann die Änderung in der Zerfallsrate dominieren. Daher sieht man im Mittel einen Abfall in der Zerfallsrate während dieser zeitlichen Periode. Nach 20 s steigt der Herzschlag stark an, weshalb folglich die Dynamik der Streuer in der Kopfhaut wieder die Zerfallsrate von $g_2(\tau)$ dominiert. Deshalb sehen wir einen kontinuierlichen Anstieg der Zerfallsrate für die Zeit von 20 s bis 50 s, bis hin zu einem Wert, der letztendlich ungefähr 30 % über dem der Ruhephase liegt.

Während der Hyperventilation ändert sich der Herzschlag individuell und variiert zwischen den einzelnen Probanden, je nach Stärke und Frequenz der Atmung. Diese Schwankungen verursachen ein kompliziertes Muster an Reaktion in der Hämodynamik der verschiedenen Probanden. Allerdings kann man bei allen Probanden eine Abnahme des kortikalen Blutflusses während der Zeit von 10 s bis

20 s nach Beginn der Hyperventilation sehen (siehe Abb. 6.12). Das heißt, dass in diesem Zeitfenster die Reaktion der kortikalen Dynamik stark genug ist, um den Zerfall der Autokorrelationsfunktion zu dominieren.

Um die Reaktion der kortikalen Dynamik während der Hyperventilation präziser zu ermitteln, hat man den Einfluss der Kopfhaut auf den Zerfall der Autokorrelationsfunktion zu eliminieren. Ein möglicher Weg ist, die Dynamik der Kopfhaut unabhängig zu messen, wie wir es bei Proband 1 mit zwei Sonden gemacht haben. Die Messdaten für den kurzen Quelle-Empfänger-Abstand enthalten vorwiegend Information (optische und dynamische) der oberen Schichten wie Kopfhaut oder Schädelknochen, während die Daten für den großen Quelle-Empfänger-Abstand zusätzlich auch Information über tiefere Schichten enthalten. Monte-Carlo-Simulationen, welche auf dem 3-Schicht-Kopfmodell basieren, zeigen, dass für einen Quelle-Empfänger-Abstand von 3.3 cm ungefähr 33 % der detektierten Photonen den Kortex durchquert haben.

Für den kürzeren hier benutzten Quelle-Empfänger-Abstand von 1.3 cm passierten die meisten der detektierten Photonen nur die Kopfhaut und Teile des Schädelknochens, da die Dicke der beiden Schichten zusammen mehr als 0.8 cm beträgt. Folglich kann man unter der Annahme eines statischen Schädelknochens und spezifischer Literaturwerte für die optischen Parameter (Kopfhaut: $\mu_s' = 1.9\,\mathrm{mm}^{-1}$, $\mu_a = 0.018\,\mathrm{mm}^{-1}$ und Schädelknochen: $\mu_s' = 1.6\,\mathrm{mm}^{-1}$, $\mu_a = 0.016\,\mathrm{mm}^{-1}$ [105]) den Diffusionskoeffizienten der Kopfhaut D_1 unabhängig mit dem 2-Schicht-Modell abschätzen. Anhand der Messdaten für den großen Quelle-Empfänger-Abstand von 3.3 cm unter Berücksichtigung des abgeschätzten Diffusionskoeffizienten der Kopfhaut D_1 lässt sich der Diffusionskoeffizient in der Hirnrinde D_3 dann anhand des 3-Schicht-Modells bestimmen. Dieser Ansatz ist in der Lage, Korrelationen zwischen den verschiedenen Parametern aufgrund der Datenanalyse zu unterdrücken und die Unsicherheit bei der Abschätzung der kortikalen Dynamik zu verringern.

Für die zwei unterschiedlichen Abstände zwischen Detektor und Quelle ergab sich damit ein mittlerer Abfall des kortikalen Blutflusses während der 20 s Hyperventilation um 27 % im Vergleich zur Ruhephase. MRI und akustische Doppler-Daten zeigen eine Verzögerung von ungefähr 10-20 s für den Aufbau der kortikalen Reaktion der Hämodynamik und am Ende eine Reduktion des kortikalen Blutflusses von ungefähr 50 % [104]. Folglich ist die mit DWS innerhalb der ersten 20 s gemessene Reduktion des kortikalen Blutflusses übereinstimmend mit den Messdaten von MRI und akustischem Doppler.

6.3.4 Zusammenfassung

DWS mit nah-infrarotem Licht wurde benutzt, um die Änderung der Hämodynamik bei Hyperventilation nicht-invasiv zu messen. Es wurde ein kompliziertes Muster von Reaktionen der Hämodynamik beobachtet, was darauf hindeutet, dass der aufgrund des erhöhten Herzschlag gesteigerte Blutfluss in der Kopfhaut wesentlich zum DWS-Signal beiträgt. Diese Hypothese wurde durch eine Mes-

sung mit zwei Sonden, mit großen und mit kleinem Quelle-Empfänger-Abstand, bestätigt, welche es ermöglichten die Dynamik in der Kopfhaut gleichzeitig und unabhängig zu messen. Unsere Daten deuten für den Zerfall der gemessenen Autokorrelationsfunktion eine Konkurrenz zwischen der unterschiedlichen Dynamik in der Kopfhaut und der im Kortex an. Zwischen 10 bis zu 20 s nach Beginn der Hyperventilation dominiert die Änderung in der kortikalen Dynamik den Zerfall des DWS Signals, was in einer verminderten Zerfallsrate für alle sechs Probanden resultiert. Diese Arbeit zeigt, dass das gegensätzliche Verhalten der Durchblutung in der Kopfhaut und im Kortex bei Hyperventilation durch das gleichzeitige Messen mit unterschiedlichen Quelle-Empfänger-Abständen voneinander unterschieden werden kann. Unsere Ergebnisse weisen außerdem darauf hin, dass es bei einer stimulationsbedingten Veränderungen des Blutflusses in der Kopfhaut erforderlich sein könnte, die Änderungen in den optischen und in den dynamischen Parametern der Kopfhaut gleichzeitig und unabhängig von denen in der Hirnrinde zu messen, um Veränderungen in der kortikalen Durchblutung mit DWS quantitativ zu bestimmen.

6.4 Visuelle Stimulation des primären visuellen Kortex

6.4.1 Einleitung

Das Flackern eines Bildschirms löst eine starke periodische Reaktion im primären visuellen Kortex aus, was ausgiebig mit Elektroenzephalographie (EEG) untersucht wurde [107, 108]. Experimente mit PET zeigen, dass das Flackern mit einer Frequenz von acht Hz einen Anstieg im zerebralen Blutfluss um 68 % und einen Anstieg im zerebralen Blutvolumen (CBV) um 21 % verursachen kann [109]. Der primäre visuelle Kortex befindet sich im *Sulcus Calcarinus*, welcher sich seinerseits an der medialen Seite des Okzipitallappens befindet. Messungen mit funktioneller Kernspinresonanztomographie (fMRI) deuten an, dass sich die räumliche Ausdehnung der aktivierten Areale im primären visuellen Kortex mit dem Kontrast des Stimulus vergrößert [110].

Um die Reaktion des Gehirns auf die visuelle Stimulation zu messen, befestigten wir unsere Rückstreugeometrie über dem Okzipitallappen (Lobus occipitalis), zwischen den Positionen O_1 und O_2 (Internationales 10-20 System für Elektroenzephalographie (EEG)[84]) (siehe Abb. 6.16). Als Messaufbau diente hierbei

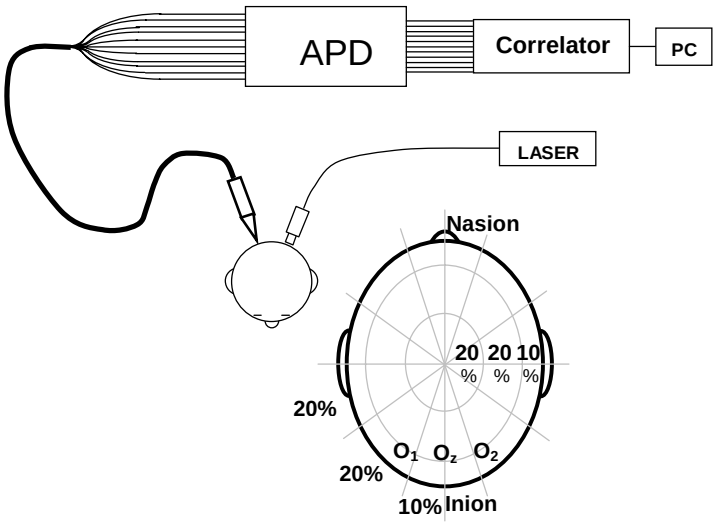

Abbildung 6.16: Schematischer Aufbau und Positionierung des Detektors über dem okzipitalen Kortex.

die in Kapitel 5 beschriebene Messanordnung mit einem 32-Kanal-Multi-Tau-Korrelator und einem aus 23 Fasern bestehenden Empfängerbündel. Der Abstand zwischen dem Empfängerbündel und der auf 3-4 mm Durchmesser aufgeweiteten Lichtquelle betrug 3 cm. Die Daten wurden dabei mit einer zeitlichen Auflösung von 26 ms aufgenommen. Der schematische Aufbau ist in Abbildung 6.16 dar-

gestellt. An dem Experiment nahmen neun rechtshändige Probanden, in einem Alter zwischen 20 und 25 Jahren teil. Zur visuellen Stimulation des primären visuellen Kortex betrachteten die Testpersonen 30 s lang einen mit einer Frequenz von 8 Hz flackernden Bildschirm. Der Abstand zwischen Auge und Bildschirm (Diagonale: 17 Zoll) betrug ungefähr 80 cm. Während der Ruhephase von ebenfalls 30 s war der Bildschirm schwarz, und die Probanden schlossen die Augen. Jeder Block, bestehend aus einer Messung während der Stimulation und einer Messung während der Ruhephase, wurde fünf Mal, in einem abgedunkelten Raum wiederholt.

Zur Charakterisierung der Veränderungen benutzten wir die Zerfallszeit[8] der Autokorrelationsfunktion.

6.4.2 Ergebnisse und Diskussion

Abbildung 6.17 zeigt die über die Fasern des Empfängerbündel gemittelte quadrierte Autokorrelationsfunktion[9] $\langle |g^{(1)}(\tau)|^2 \rangle$ für einen Probanden, gemittelt über fünf Blöcke, als Funktion der Korrelationszeit τ für die Stimulation, sowie für die Ruhephase. Man sieht dass der Zerfall von $\langle |g^{(1)}(\tau)|^2 \rangle$ während der visuellen Stimulation schneller ist. Die deutet darauf hin, dass das untersuchte Gebiet, der visuelle Kortex, einer dynamischen Veränderung ausgesetzt ist (Anstieg des Blutflusses). Dieser hat einen stärkeren Effekt auf die Zerfallszeit als der Anstieg der Absorption, andernfalls wäre der Zerfall der Autokorrelationsfunktion während der Stimulation langsamer.

Die Messungen erfolgten an zwei Positionen oberhalb des Inions (*Protuberantia occipitalis externa*): Position 1 wurde ca. 10 % und Position 2 ca. 15 % oberhalb der Distanz Inion-Nasion (Nasenwurzelpunkt) befestigt. Normiert man die Messwerte der Stimulation auf die Werte der Ruhephase, so haben die relativen Zerfallszeiten der Autokorrelationsfunktionen und die relativen Intensitäten Werte kleiner als 1 (siehe Abb. 6.18). Dies deutet auf einen Anstieg des Blutflusses und des Blutvolumens bei beiden Positionen hin. PET-Messungen am primären Kortex zeigten für das Flackern mit 8 Hz einen Anstieg im Blutvolumen um 21 % und im Blutfluss um 68 % [109]. In unserem Experiment sank die Zählrate während der Stimulation um ungefähr 2.49 % für Position 1, und um ungefähr 2.26 % für Position 2. Diese Änderungen stimmen gut mit Modell-Berechnungen für ein 3-Schicht-Kopfmodell [44] überein, welche für einen Anstieg des kortikalen Absorptionskoeffizienten um 21 % für einen Quelle-Empfänger-Abstand von 30 mm und einen Abfall des transmittierten Lichts um 2.26 % voraussagen. Benutzt man Brown'sche Bewegung als Dynamik in der Kopfhaut und im Kortex, so führt ein Anstieg des kortikalen Diffusionskoeffizienten um 68 %, sowie ein Anstieg der kortikalen Absorption um 21 % zu einem Abfall der Zerfallszeit von ungefähr 2.37 %,

[8] Wir benutzten $\overline{\tau} = \int_{\tau=600\,\mathrm{ns}}^{\tau=10\,\mathrm{ms}} \mathrm{d}\tau\, (g^{(2)}(\boldsymbol{r},\tau) - 1)/\beta_{\mathrm{coh}}$.

[9] Wir verwendeten $\langle |g^{(1)}(\tau)|^2 \rangle = \langle (g_i^{(2)}(\tau) - 1)/\beta_i \rangle_i$. Der Index i bezieht sich dabei auf die Fasern über die, gewichtet mit dem jeweiligen Kohärenzfaktor β_i, gemittelt wurde.

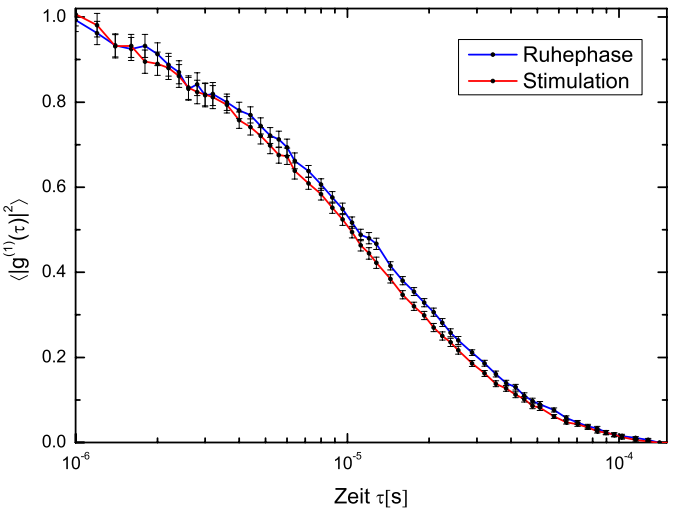

Abbildung 6.17: Gemittelte quadrierte Autokorrelationsfunktion[9] $\langle|g^{(1)}(\tau)|^2\rangle$, bei einem einzelnen Probanden, für die Ruhephase (blaue Linie) und die visuelle Stimulation (rote Linie).

was nur geringfügig niedriger als der experimentelle Abfall von 3.77 % für Position 1 bzw. 3.01 % für Position 2, ist. Führt man einen t-Test an den Messwerten der neun Probanden durch, so geben die entsprechenden p-Werte (siehe Abb. 6.18) die Signifikanz der Abweichungen dieser Quotienten im Vergleich zur Ruhephase an[10]. Für die Zerfallszeiten haben wir Werte von $p = 0.028 < 0.05$ und $p = 0.021 < 0.05$ für Position 1 bzw. 2. Was die p-Werte für die Intensität betrifft, ermittelten wir $p = 0.0546 \approx 0.05$ und $p = 0.064 \approx 0.05$ für die Position 1 bzw. 2. Daraus ergibt sich ein signifikanter Aktivierungseffekt für die Zerfallszeit und etwas weniger deutlich auch für die Intensität. Das weist darauf hin, dass in diesem Areal ein Anstieg der Durchblutungsgeschwindigkeit durch die visuelle Stimulation erfolgt.

Betrachtet man die Fourier-Transformierte der Zerfallszeit, so kann man den Herzschlag deutlich im Frequenz-Spektrum erkennen (siehe Abb. 6.19). Das Spektrum zeigt deutlich den Peak für den Herzschlag bei ungefähr 1.2 Hz und seine Oberschwingungen, während der Stimulation (rote Linie) und einen geringfügig niedrigen Peak in der Ruhephase (schwarze Linie). Wenn wir aber die p-Werte für den relativen Herzschlag zwischen Stimulation und Ruhephase $p = 0.351 \gg 0.05$ und $p = 0.419 \gg 0.05$ für Position 1 bzw. 2 bei allen neun Probanden betrachten, sind diese nicht ausreichend signifikant, um Stimulation und Ruhephase vonein-

[10] Die häufige Verwendung von 0.05 als Signifikanzniveau geht auf Fishers Verteilungstabellen zurück.

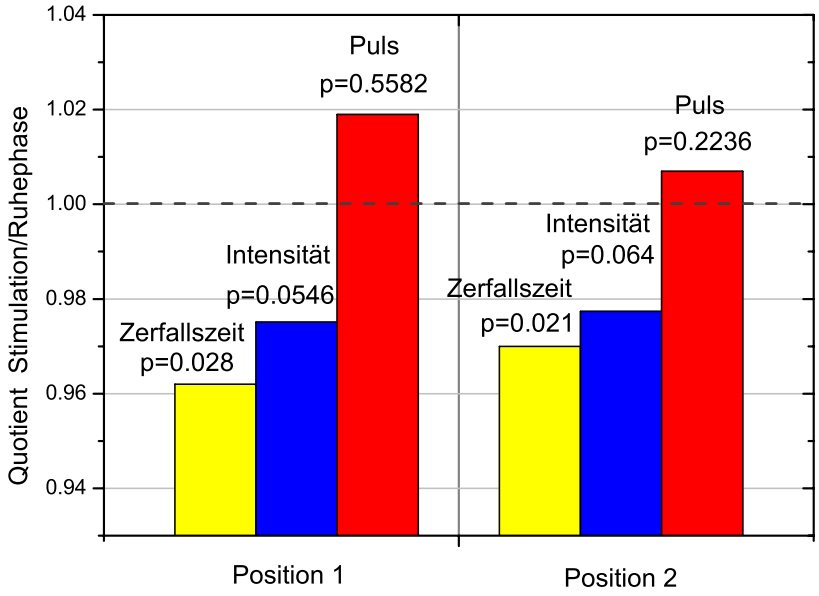

Abbildung 6.18: Gemittelter Quotient aus Stimulation und Ruhephase für Zerfallszeit, Intensität und Herzschlag (Puls) für Zwei Positionen oberhalb des Inion: Position 1: 10 % oberhalb der Distanz Inion-Nasion und Position 2: 15 % oberhalb der Distanz Inion-Nasion.

ander zu unterscheiden. Eine andere Methode, um die Rolle des Herzschlages abzuschätzen, in anderen Worten, um festzustellen, ob der Anstieg des Blutflusses sowie des Blutvolumens nicht lediglich aufgrund des erhöhten Herzschlages erfolgt, ist die Berechnung der Korrelationskoeffizienten zwischen dem relativen Herzschlag, der relativen Zerfallszeit und der relativen Intensität (siehe Tabelle 6.1).

Position	1	1	2	2
Korrelation mit Puls	Zerfallszeit	Intensität	Zerfallszeit	Intensität
Korrelationskoeffizient R	-0.6224	-0.1601	-0.3591	0.18452
P-Wert	0.0735	0.6808	0.3425	0.6346

Tabelle 6.1: Korrelationskoeffizienten zwischen Herzschlag (Puls) und Intensität und Zerfallszeit für zwei Positionen: Position 1: 10% des Abstandes Inion-Nasion oberhalb des Inion und Position 2: 15% diesen Abstandes ebenfalls oberhalb des Inion.

Wir haben die Korrelationskoeffizienten zwischen dem relativen Herzschlag (Stimulation / Ruhephase) und den relativen Zerfallszeiten oder Intensitäten für Position 1 und Position 2 errechnet. Die negativen Koeffizienten deuten an, dass

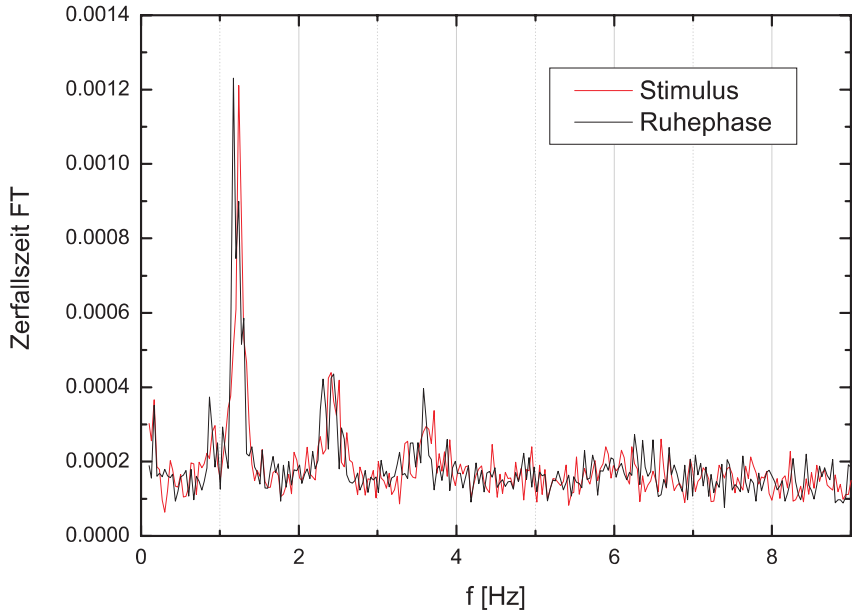

Abbildung 6.19: Die Fourier-Transformierten der Zerfallszeit für eine Probanden während der Stimulation (rote Linie) und in der Ruhephase (schwarze Linie).

der Anstieg in der Herzfrequenz einhergeht mit einem Abfall der relativen (Ruhephase / Stimulation) Zerfallszeit bzw. Intensität. Die p-Werte zeigen, dass die Korrelationen gering sind, da der minimale Wert, welchen man für den Korrelationskoeffizienten zwischen Herzschlag und Zerfallszeit bei Position 1 erhält, $p = 0.0735 > 0.05$ immer noch leicht oberhalb des Signifikanzniveaus liegt. Die anderen p-Werte zeigen nur eine sehr schwache Korrelationen zwischen dem relativen Herzschlag und der relativen (Ruhephase / Stimulation) transmittierten Intensität bzw. Zerfallszeit. Dies zeigt, dass der Anstieg des Herzschlages nicht der Grund für die Verringerung der Intensität und der Zerfallszeit während der visuellen Stimulation ist.

6.4.3 Zusammenfassung und Ausblick

Wir konnten zeigen, dass die gleichzeitige Detektion vieler Speckle, mithilfe eines Faserbündels, es ermöglicht den Anstieg des kortikalen Diffusionskoeffizienten, während einer visuellen Stimulation, nicht-invasiv mit dynamischer Vielfachstreuung (DWS) zu messen. Das Flackern mit 8 Hz führt zu einer signifikanten Reduktion der Zerfallszeit der Autokorrelationsfunktion von ungefähr 4 % in einer Gruppe aus neun Probanden. Dieser Effekt ist ungefähr 42 % größer als das Absinken der transmittierten Intensität, welche die Änderung im Blutvolumen widerspiegelt. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass dieser Effekt nicht mit dem Anstieg des Herzschlages korreliert ist.

Ein nächster Schritt könnte der Versuch sein, ein schnelles neuronales Si-

gnal mit dieser Messanordnung zu messen. Um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern, wäre daher die Verwendung eines Protokolls mit einer längeren Messdauer nützlich. Im vorliegenden Experiment waren wir nicht in der Lage, ein signifikantes Signal zu detektieren, welches mit dem flackernden Stimulus korreliert war. Es ist dabei nicht ganz geklärt, ob das Gehirn nur bei einem Wechsel von Dunkel nach Hell (8 Hz) oder generell bei einem Hell-Dunkel-Wechsel (16 Hz) ein messbares schnelles neuronales Signal liefert. Die Korrelation zwischen Signal und Stimulus sollte sich daher in einem Peak im Frequenzspektrum bei 8 Hz oder 16 Hz zeigen. Steinbrink et al. warfen allerdings die Frage auf, ob die Detektion des schnellen optischen Signals überhaupt durch den intakten menschlichen Schädel möglich ist [111]. Dabei stellt sich die Frage, was die Ursache für ein schnelles DWS-Signal sein könnte. Das Feuern der Neuronen während der Aktivierung bewirkt eine Schwellung der Axone, was zu einer Verschiebung der Zellmembrane führt. Diese Verschiebungen mit einer Amplitude von ungefähr 5 nm und einer Zeitdauer von ungefähr 10 ms [112] könnten aufgrund der hohen Empfindlichkeit der DWS messbar sein, selbst wenn die Änderung des Streukoeffizienten nur im Bereich von 0.1 % [113, 111] liegt.

6.5 Änderungen im präfrontalen Kortex durch Gedächtnisübungen

6.5.1 Einleitung

Der präfrontale Kortex ist ein Teil des Frontallappens (Lobus Frontalis) der Großhirnrinde und befindet sich an der Stirnseite des Gehirns, hier ist das Arbeits- und Kurzzeitgedächtnis lokalisiert. Man kann ihn in einen orbitofrontalen, medialen und lateralen Anteil gliedern. Das Protokoll in diesem Versuchsteil diente zur Anregung des präfrontalen Kortex. Es bestand aus einem Programm, welches zufällig generierte, ganze Zahlen zwischen 1 und 4, mit einem zeitlichen Abstand von 1.8 s auf einem Monitor darstellte. Die Aufgabe des Probanden bestand darin, die Zahlen entweder direkt über die Tastatur einzugeben (*0-back*-Stimulation) oder sich die Zahl zu merken und mit einer Verzögerung von zwei Ziffern über die Tastatur einzugeben (*2-back*-Stimulation). Versuche von Hoshi et al. mit NIRS am präfrontalen Kortex zeigten für diese Art der Gedächtnisübung (speziell *2-back*) einen Anstieg der totalen Hämoglobin-Konzentration im linken lateralen präfrontalen Kortex [114].

Die Quelle mit einer Leistung von 100 mW bei einer Wellenlänge von λ=802 nm wurde nacheinander auf der linken wie auf der rechten Seite der Stirn angebracht. Für jede Position wurden gleichzeitig zwei Detektoren aus jeweils 8 Fasern einmal in Richtung zur Stirnmitte (medial) (D_i) und einmal in Richtung der Außenseite der Stirn (lateral) (D_a), mit einem Abstand zwischen Detektor und Quelle von ungefähr 3.2 cm angebracht (siehe Abb. 6.20).

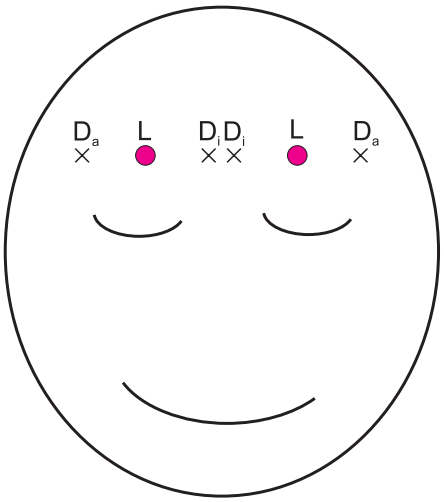

Abbildung 6.20: Die roten Kreise stehen für die Stelle des eingestrahlten Laserlichts (L) für die Messungen an der linken und an der rechten Stirnseite. Die Kreuze stehen jeweils für die zugehörigen Positionen der Detektoren, in Richtung Stirnmitte (medial) (D_i) sowie in Richtung der Außenseite der Stirn (lateral) (D_a).

Zur Messung wurde die in Kapitel 5 beschriebene Messanordnung mit einer

Integrationszeit von 104 ms verwendet. Insgesamt wurden 3 Blöcke, bestehend aus einer *0-back* und einer *2-back* Übung, mit jeweils 50 s Messzeit aufgenommen. Die zufällig generierten Zahlen wechselten dabei alle 1.8 s.

6.5.2 Ergebnisse

Die Quote der korrekt eingegebenen Zahlen lagen bei unserer Versuchsperson zwischen 90 und 100 %. Es zeigte sich besonders auf der linken Seite, für die in Richtung Stirnmitte befestigte Detektorposition (D_i) für alle drei Blöcke ein deutlich schnellerer Abfall der Autokorrelationsfunktion für das *2-back* Protokoll im Vergleich zur direkten Eingabe der Zahl (*0-back*). Die Graphen in Abb. 6.21 zeigen die jeweils über die 3 Blöcke gemittelten Autokorrelationsfunktionen für die unterschiedlichen Aufgaben.

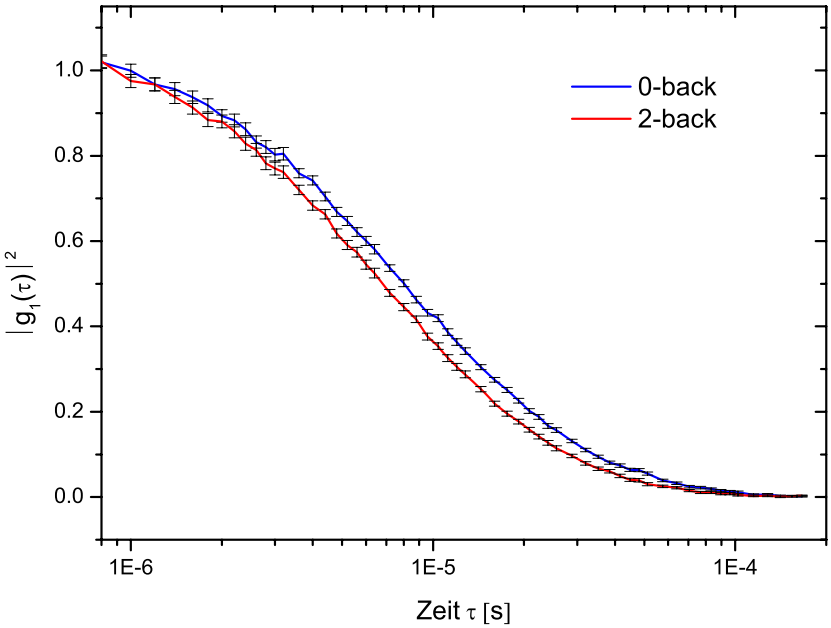

Abbildung 6.21: Die Graphen zeigen die über 3 Messungen gemittelte quadrierte Feld-Autokorrelationsfunktion $|g_1(\tau)|^2$ als Funktion der Zeit. Die Daten stammen aus einer Messung für die *2-back*-Übung (rote Linie) und *0-back*-Übung (blaue Linie), jeweils an der Position links medial. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung über die 3 Messungen an.

Das Balken-Diagramm in Abb. 6.22 gibt die relativen Intensitäten für die 4 unterschiedlichen Position von Quelle und Empfänger an (siehe Abb. 6.20). Übereinstimmend mit den NIRS-Daten von Hoshi [114] zeigt sich auch hier für

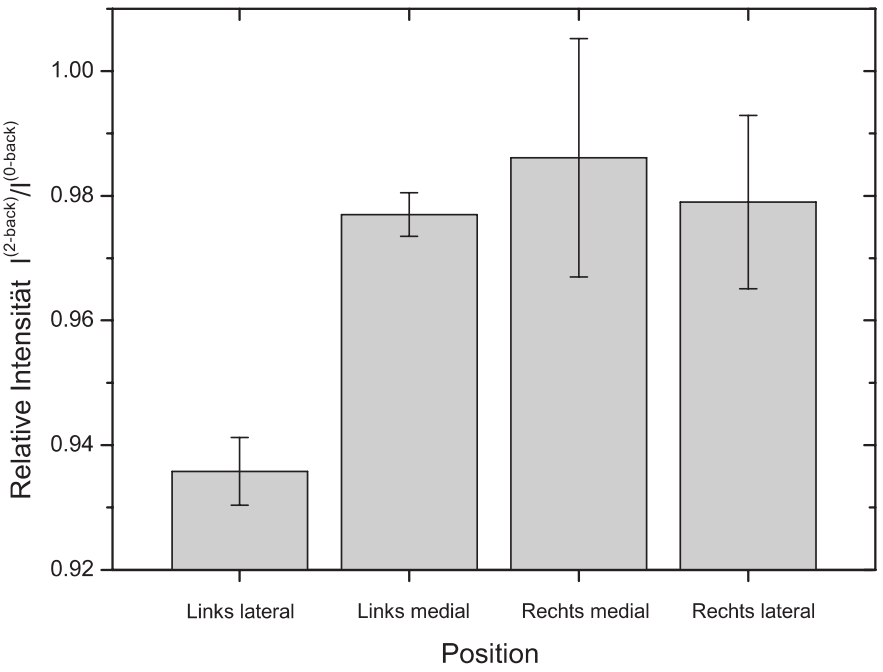

Abbildung 6.22: Balkendiagramm der relativen Intensitäten für die verschiedenen Positionen von Detektor und Quelle.

die linke laterale Seite des präfrontalen Kortex der größte Abfall der Intensität. Der generelle Abfall auch bei den anderen Positionen des präfrontalen Kortex von ungefähr 2 % kann möglicherweise durch den erhöhtem Herzschlag während der *2-back*-Übung im Vergleich zur *0-back*-Übung erklärt werden.

Das Balken-Diagramm in Abb. 6.23 zeigt ein leicht verändertes Bild für die relativen Zerfallszeiten bei den 4 unterschiedlichen Positionen. Wie erwartet zeigt sich zwar auch hier für die linke Seite des präfrontalen Kortex der stärkste Effekt der relativen Zerfallszeit $\tau_0^{(2-back)}/\tau_0^{(0-back)}$. Die Zerfallsraten $1/\tau_0^{(2-back)}$ für die linke laterale Position sowie die mediale rechte Position steigen während der Gedächtnisübung (*2-back*) dabei signifikant um 10 bzw. 8 % an. Anders als bei NIRS zeigt aber hier die linke mediale Position mit einem Anstieg von von über 16 % die stärkste Reaktion der Zerfallsrate auf die *2-back* Übung. Auf der rechten lateralen Position liegt der geringe Anstieg von ungefähr 2 % noch innerhalb des experimentellen Fehlers, was sich mit den Ergebnissen für die Intensität an dieser Position deckt.

6.5.3 Diskussion

Die transmittierte Intensität in unserem Versuch[11] ist empfindlich auf Veränderungen der totalen Hämoglobinkonzentration, während das DWS-Signal zusätz-

[11] Die in diesem Experiment verwendete Wellenlänge λ=802 nm befindet sich in der Nähe des isosbestischen Punktes.

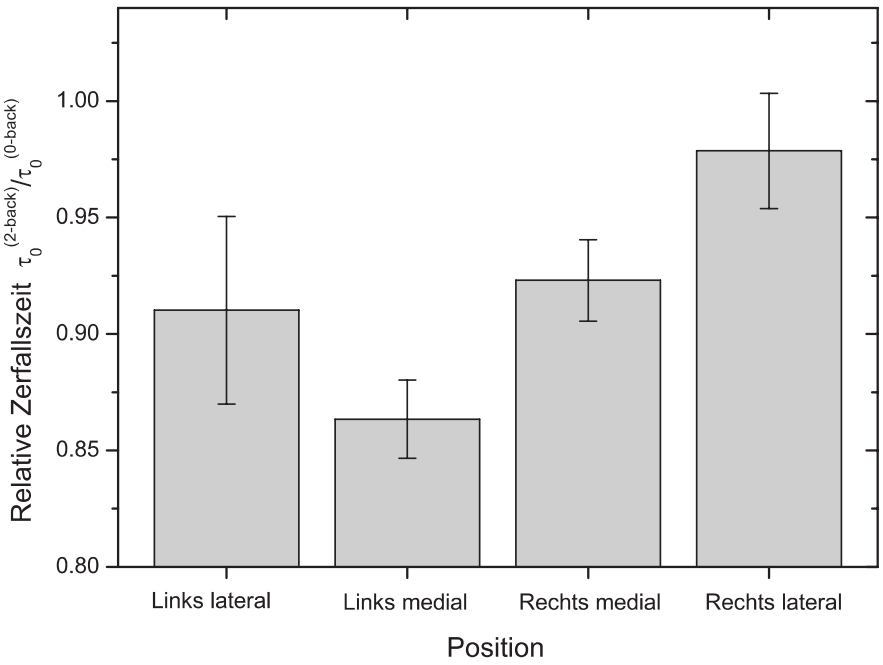

Abbildung 6.23: Balkendiagramm der relativen Zerfallszeiten $\tau_0^{(2-back)}/\tau_0^{(0-back)}$ für die verschiedenen Positionen von Detektor und Quelle.

lich empfindlich auf die Bewegungen der einzelnen Streuer ist. Dies könnte die Ursache für die an unterschiedlichen Stellen des linken präfrontalen Kortex gemessenen Minima von Intensität und Zerfallszeit sein. Der geringere Anstieg der relativen Zerfallszeit für den linken lateralen präfrontalen Kortex könnte seine Ursache in der Überlagerung zweier sich gegenseitig abschwächender Effekte haben: Der Anstieg des Blutvolumens und die damit einhergehende erhöhte Absorption verringert die Anzahl der langen Photonenpfade. Die dadurch stärker gewichteten kurzen Pfade sorgen aber für einen langsameren Zerfall der Autokorrelationsfunktion. Der schnellere Zerfall der Korrelationsfunktion, z.B. infolge eines erhöhten Blutflusses, kann daher durch den Anstieg des Blutvolumens teilweise ausgeglichen werden. Der schnellere Abfall des DWS-Signals ist daher nicht auf Änderungen der optischen Eigenschaften zurückzuführen, sondern beruht auf den beschleunigten Bewegungen der Streuer während der Stimulationsphase.

Kapitel 7

Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurden menschliche Hirnfunktionen nicht-invasiv mittels dynamischer Vielfachstreuung von Licht (Diffusing Wave Spectroscopy, DWS) nachgewiesen.

Es wurde ein Experiment entwickelt, das die kontinuierliche Messung von DWS-Signalen mit variablen Integrationszeiten ab 13 ms erlaubt. Der Multi-Speckle-Aufbau besteht aus einem Array von Avalanche-Photodioden zur Messung der Photonenzählrate und einem neu entwickelten 32-Kanal-Multi-Tau-Korrelator zur parallelen Autokorrelation der gemessenen Intensitätsfluktuationen. Als Empfänger dienen Bündel aus optischen Monomode-Fasern. Durch die simultane Messung mehrerer statistisch unabhängiger, aber äquivalenter Speckles lässt sich das DWS-Signal mit einem guten Signal-Rausch-Verhältnis selbst bei niedrigen Zählraten und sehr kurzen Integrationszeiten messen.

Durch die externe PC-Steuerung des Korrelators konnte der Aufbau für zeitaufgelöste Messungen der Streuerdynamik in spezifischen Arealen der Hirnrinde verwendet werden. In Abhängigkeit von Stimulationen mit visuellen und motorischen Reizen, sowie durch Hyperventilation und Gedächtnisübungen wurde die Reaktion der Hirnrinde untersucht. Dabei ist es das erste Mal gelungen die funktionellen Veränderungen des Blutflusses im menschlichen Gehirn vollständig nicht-invasiv mit einer optischen Methode nachzuweisen.

Eine Analyse der Daten von Motorstimulations-Experimenten mit einem Mehrschicht-Modell des menschlichen Kopfes zeigte einen signifikanten kontralateralen Anstieg des Diffusionskoeffizienten der Streuer im Areal C3 der motorischen Hirnrinde um ca. 40 %. Demgegenüber steht ein geringerer Anstieg des Diffusionskoeffizienten im gleichen Areal von ungefähr 20 % für ipsilaterale Stimulation. Diese hemisphärische Asymmetrie zeigt, dass das DWS-Signal für hinreichend lange Quelle-Empfänger-Abstände einen signifikanten Beitrag der Streuerdynamik in der Hirnrinde enthält.

Im visuellen Kortex liegt der aktivierte Bereich tiefer unter der Schädeldecke als im motorischen Kortex. Mit unserem Multi-Speckle-Aufbau können hier funktionelle Änderungen in der Zerfallszeit der Autokorrelationsfunktionen von ca. 4 % für die Dauer der Stimulation nachgewiesen werden. Dieser Effekt war um

ca. 42 % größer als die Verringerung des NIRS-Signals und belegt die hohe Empfindlichkeit von DWS gegenüber Änderungen in der Durchblutung tiefer Bereiche in der Hirnrinde.

Eine Beschleunigung des DWS-Signals kann auch bei Gedächtnisübungen über dem linken präfrontalen Kortex nachgewiesen werden. Die Zerfallszeit der Korrelationsfunktion sinkt hier um ca. 13 % und die transmittierte Intensität um ca. 6 %. Die Minima von Intensität und Zerfallszeit traten dabei an verschiedenen Positionen über dem linken präfrontalen Kortex auf, was durch die Überlagerung einer verstärkten Absorption (aufgrund vergrößerten Blutvolumens) mit einem erhöhten Blutfluss in der Hirnrinde entstanden sein könnte.

Ein kompliziertes Muster von Reaktionen zeigte sich im präfrontalen Kortex bei Hyperventilations-Übungen. Dies beruht auf einer unterschiedlichen Entwicklung der Dynamik der Streuer in der Kopfhaut und im Kortex während der Hyperventilation. Zwischen 10 und 20 Sekunden nach Beginn der Hyperventilation dominierte die erhöhte kortikale Dynamik den Zerfall des DWS-Signals bei allen Probanden. Bei längeren Zeiten (>20 s) kam es bei der Hälfte der Versuchspersonen zu einem deutlichen Anstieg in der Zerfallsrate, was sich mit einem erhöhten Blutfluss in der Kopfhaut erklären lässt.

Anhand von Messungen an einem Phantom-Modell erfolgte eine quantitative Überprüfung der theoretischen Voraussagen für das DWS-Signal von Mehrschicht-Geometrien auf der Basis der Korrelations-Diffusions-Gleichung. Es zeigte sich, dass sich Änderungen der Parameter einzelner Schichten, wie z.B. die Diffusionskonstante im Kortex, bei Kenntnis der übrigen konstanten Parameter mit hoher Genauigkeit bestimmen lassen.

Messungen mit dem Multi-Speckle-Aufbau an arteriellem und venösem Blutfluss zeigten einen deutlich schnelleren Zerfall der Autokorrelationsfunktionen in der systolischen gegenüber der diastolischen Phase. Dieser wahrscheinlich von der erhöhten Fließgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen verursachte systolische Anstieg der Zerfallsrate von ungefähr 200 % für arterielle und venöse Signale liegt deutlich oberhalb der Schwankungen der transmittierten Intensität von unter 4 %. Multispeckle-DWS könnte möglicherweise erlauben, den Zusammenhang der Autokorrelationsfunktionen mit der absoluten Blutflussgeschwindigkeit herzustellen. Dies würde das alte Problem der Kalibration von Laser-Doppler-Messungen lösen.

Aufgrund der hohen zeitlichen Auflösung unserer Multispeckle-Detektion von bis zu 13 ms könnte es möglich sein, schnelle transiente Signale nachzuweisen, die direkter mit der Hirnaktivität verknüpft sind als der Blutfluss, z.B. durch das Anschwellen der Axone während des Feuerns der Neuronen.

Literaturverzeichnis

[1] V. Tuchin. *Tissue Optics. Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis*, volume TT38 of *Tutorial Texts in Optical Engineering*. SPIE Press, Bellingham, 2000.

[2] S. L. Jacques. Origins of tissue optical properties in the uva, visible, and nir regions. In R. Alfano and J. G. Fujimoto, editors, *OSA TOPS on Advances in Optical Imaging and Photon Migration*, volume 2, pages 364–371. 1996.

[3] H.C. van de Hulst. *Multiple Light Scattering*. Academic Press, 1980.

[4] M. Kerker. *The Scattering of Light and Other Electromagnetic Radiation*, volume 16 of *Physical Chemistry*. Academic Press, 1969.

[5] M.I. Mishchenko. *Scattering , Absorption, and Emission of Light by Small Particles*. New York, 2002.

[6] W. Schmidt. *Opticle Spectroscopy in Chemistry and Life Science*. Wiley-VCH, 2005.

[7] G. Mie. Beiträge zur optik trüber medien, speziell kolloidaler metallösungen. *Ann. Phys.*, pages 25:377–445, 1908.

[8] C. F. Bohren and D. R. Huffman. *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. Wiley, 1983.

[9] H. Wiese. Light scattering and particle size. *GIT Fachz. Lab*, 1992.

[10] J.W. Goodman. *J. Opt. Soc. Am.*, 57:493, 1967.

[11] J.C. Dainty. *Laser Speckle and Related Phenomena*. Springer Verlag, New York, 1975.

[12] L.J. Goldfisher. *J. Opt. Soc. Am.*, 55:247, 1965.

[13] B. J. Berne and R. Pecora. *Dynamic Light Scattering*. Krieger, Malabar, 1990.

[14] D. A. Weitz and D. J. Pine. Diffusing-wave spectroscopy. In W. Brown, editor, *Dynamic Light Scattering. The method and some applications*, pages 652–720. Clarendon Press, Oxford, 1993.

[15] G. Maret and P. E. Wolf. Multiple light scattering from disordered media: The effect of brownian motion of scatterers. *Z. Phys. B*, 65:409–413, 1987.

[16] A. Ishimaru. *Wave propagation and scattering in random media.* Academic Press, New York, 1978.

[17] L. Vanel, P.-A. Lemieux, and D. J. Durian. Diffusing-wave spectroscopy for arbitrary geometries: Numerical analysis by a boundary element method. *Appl. Opt.*, 40:4179–4186, 2000.

[18] S. E. Skipetrov. Dws in a multilayer medium, 2003.

[19] S. E. Skipetrov and R. Maynard. Dynamic multiple scattering of light in multilayer turbid media. *Phys. Lett. A*, 217:181–185, 1996.

[20] D. A. Boas, L. E. Campbell, and A. G. Yodh. Scattering and imaging with diffusing temporal field correlations. *Phys. Rev. Lett.*, 75:1855–1858, 1995.

[21] D. Bicout and R. Maynard. Diffusing wave spectroscopy in inhomogeneous flows. *Physica A*, 199:387–411, 1993.

[22] L. Kou, D. Labrie, and P. Chylek. Refractive indices of water and ice in the 0.65- to 2.5-μm spectral range. *Appl. Opt.*, 32:3531–3540, 1993.

[23] D. A. Boas, I. V. Meglinsky, L. Zemany, L. E. Campbell, B. Chance, and A. G. Yodh. Diffusion of temporal field correlation with selected applications. *SPIE Proc.*, 2732:34–46, 1996. DWS data for flow in capillary.

[24] R. C. Haskell, L. O. Svaasand, T. T. Tsay, T. C. Feng, M. S. McAdams, and B. J. Tromberg. Boundary conditions for the diffusion equation in radiative transfer. *J. Opt. Soc. Am. A*, 11:2727–2741, 1994.

[25] F. Jailllon, S. E. Skipetrov, J. Li, G. Dietsche, G. Maret, and T. Gisler. Diffusing-wave spectroscopy from multilayer systems: influence of a non-scattering layer. *preprint*, 2006.

[26] R. Carminati, R. Elaloufi, and J.-J. Greffet. Beyond the diffusing-wave spectroscopy model for the temporal fluctuations of scattered light. *Phys. Rev. Lett.*, 92:213903–1–4, 2004.

[27] S. Feng, F. Zeng, and C. Britton. Photon migration in the presence of a single defect: a petrubation analysis. *Applied Optics*, 34:3826–3837, 1995.

[28] W. I. Rosenblum. Conservation of flow demonstrated using the two-slit velocimeter and cross correlator in epiilluminated surface microvessels of the mouse brain. *Microcirculation*, 3:187–190, 1996.

[29] J. Seki, Sasaki Y., Oyama T., and J. Yamamoto. Fiber-optic laser-doppler anemometer microscope applied to the cerebral microcirculation in rats. *Biorheology*, 33:463–70, 1996.

[30] C. Cheung, J. P. Culver, K. Takahashi, J. H. Greenberg, and A. G. Yodh. *In vivo* cerebrovascular measurement combining diffuse near-infrared absorption and correlation spectroscopies. *Phys. Med. Biol.*, 46:2053–2065, 2001.

[31] X.-L. Wu, D. J. Pine, P. M. Chaikin, J. P. Huang, and D. A. Weitz. Diffusing-wave spectroscopy in a shear flow. *J. Opt. Soc. Am. B*, 7:15–20, 1990.

[32] D. Bicout and G. Maret. Multiple light scattering in taylor-couette flow. *Physica A*, 210:87–112, 1994.

[33] M. Heckmeier and G. Maret. Visualization of flow in multiple-scattering liquids. *Europhys. Lett.*, 34(4):257–262, 1996.

[34] M. Heckmeier, S. E. Skipetrov, G. Maret, and R. Maynard. Imaging of dynamic heterogeneities in multiple scattering media. *J. Opt. Soc. Am. A*, 14:185–191, 1997.

[35] D. A. Boas and A. G. Yodh. Spatially varying dynamical properties of turbid media probed with diffusing temporal light correlation. *J. Opt. Soc. Am. A*, 14:192–215, 1997.

[36] C. Menon, G. M. Polin, I. Prabakaran, A. Hsi, C. Cheung, J. P. Culver, J. F. Pingpank, C. S. Sehgal, A. G. Yodh, D. G. Buerk, and D. L. Fraker. An integrated approach to measuring tumor oxygen status using human melanoma xenografts as a model. *Cancer Res.*, 63:7232–7240, 2003. tumor tissue close to surface.

[37] T. Durduran, R. Choe, G. Yu, C. Zhou, J. C. Tchou, B. J. Czerniecki, and A. G. Yodh. Diffuse optical measurements of blood flow in breast tumors. *Opt. Lett.*, 30:2915–2917, 2005.

[38] G. Yu, T. Durduran, C. Zhou, H.-W. Wang, M. E. Putt, H. M. Saunders, C. S. Sehgal, E. Glatstein, A. G. Yodh, and T. M. Busch. Noninvasive monitoring of murine tumor blood flow during and after photodynamic therapy provides early assessment of therapeutic efficacy. *Clin. Cancer Res.*, 11:3543–3552, 2005.

[39] G. Yu, T. Durduran, G. Lech, C. Zhou, B. Chance, E. R. Mohler III, and A. G. Yodh. Time-dependent blood flow and oxygenation in human skeletal muscles measured with noninvasive near-infrared diffuse optical spectroscopies. *J. Biomed. Opt.*, 10:024027–1–12, 2005.

[40] J. P. Culver, T. Durduran, D. Furuya, C. Cheung, J. H. Greenberg, and A. G. Yodh. Diffuse optical tomography of cerebral blood flow, oxygenation, and metabolism in rat during focal ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 23:911–923, 2003.

[41] T. Durduran, M. G. Burnett, G. Yu, C. Zhou, D. Furuya, A. G. Yodh, J. A. Detre, and J. H. Greenberg. Spatiotemporal quantification of cerebral blood flow during functional activation in rat somatosensory cortex using laser-speckle flowmetry. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 24:518–524, 2004.

[42] C. Zhou, G. Yu, D. Furuya, J. H. Greenberg, A. G. Yodh, and T. Durduran. Diffuse optical correlation tomography of cerebral blood flow during cortical spreading depression in rat brain. *Opt. Expr.*, 14:1125–1144, 2006.

[43] T. Durduran, G. Yu, M. G. Burnett, J. A. Detre, J. H. Greenberg, J. Wang, C. Zhou, and A. G. Yodh. Diffuse optical measurement of blood flow, blood oxygenation, and metabolism in a human brain during sensorimotor cortex activation. *Opt. Lett.*, 29:1766–1768, 2004. non-invasive meas. on humans.

[44] J. Li, G. Dietsche, D. Iftime, S. E. Skipetrov, G. Maret, T. Elbert, B. Rockstroh, and T. Gisler. Non-invasive detection of functional brain activity with near-infrared diffusing-wave spectroscopy. *J. Biomed. Opt.*, 10:044002–1–12, 2005.

[45] A. P. Y. Wong and P. Wiltzius. Dynamic light scattering with a ccd camera. *Rev. Sci. Instrum.*, 64:2547–2549, 1993.

[46] L. Cipelletti and D. A. Weitz. Ultralow-angle dynamic light scattering with a charge coupled device camera based multispeckle, multitau correlator. *Rev. Sci. Instrum.*, 70:3214–3221, 1999.

[47] K. N. Pham, S. U. Egelhaaf, A. Moussaïd, and P. Pusey. Ensemble-averaging in dynamic light scattering by an echo technique. *Rev. Sci. Instrum.*, 75:2419–2431, 2004.

[48] T. Tanaka and G. B. Benedek. Measurement of the velocity of blood flow (in vivo) using a fiber optic catheter and optical mixing spectroscopy. *Appl. Opt.*, 14:189–196, 1975.

[49] H. Nishihara, J. Koyama, N. Hoki, F. Kajiya, M. Hironaga, and M. Kano. Optical-fiber laser doppler velocimeter for high-resolution measurement of pulsatile blood flows. *Appl. Opt.*, 21:1785–1790, 1982.

[50] T. Durduran. *Non-invasive Measurements of Tissue Hemodynamics with Hybrid Diffuse Optical Methods*. PhD thesis, University of Pennsylvania, 2004.

[51] T. Gisler, H. Rüger, S. U. Egelhaaf, J. Tschumi, P. Schurtenberger, and J. Rička. Mode-selective dynamic light scattering: theory versus experimental realization. *Appl. Opt.*, 34(18):3546–3553, 1995.

[52] I. Flammer and J. Rička. Dynamic light scattering with single-mode receivers: partial heterodyning regime. *Appl. Opt.*, 36:7508–7517, 1997.

[53] H. C. Burstyn. Afterpulsing effects in photon correlation experiments. *Review of Scientific Instruments*, 51(10):1431–1433, 1980.

[54] S. J. Matcher, M. Cope, and D. T. Delpy. *In vivo* measurements of the wavelength dependence of tissue-scattering coefficients between 760 and 900 nm measured with time-resolved spectroscopy. *Appl. Opt.*, 36:386–396, 1997.

[55] Y. C. Fung. *Biodynamics. Circulation*. Springer, New York, 1984.

[56] L. Galea, M. Schembri, and M. Debono. Sympathetic vasomotor response of the radial artery in patients with end stage renal disease. *Internet J. Nephrol.*, 2, 2005.

[57] Deutsches Institut f. Normung e.V. *DIN EN 60825-1: Sicherheit von Laser-Einrichtungen - Teil 1: Klassifizierung von Anlagen, Anforderungen und Benutzer-Richtlinien*. Beuth, Berlin, 2003.

[58] K. Schätzel. Noise in photon correlation and photon structure functions. *Opt. Acta*, 30(2):155–166, 1983.

[59] D. E. Koppel. Statistical accuracy in fluorescence correlation spectroscopy. *Phys. Rev. A*, 10:1938–1945, 1974.

[60] M. Sell. *Der desynchronisierende Effekt des Endothels auf die Kinetik der intrazellulären Ca2+-Konzentration glatter Gefäßmuskelzellen in Mesenterialarterien der Ratte*. PhD thesis, Martin-Luther-Universität, 2003.

[61] C. J. Mills, I. T. Gabe, J. H. Gault, D. T. Mason, J. Ross Jr., E. Braunwald, and J. P. Shillingford. Pressure-flow relationships and vascular impedance in man. *Cardovasc. Res.*, 4:405–417, 1970.

[62] B. Chance. Near-infrared images using continuous, phase-modulated, and pulsed light with quantitation of blood and blood oxygenation. *Ann. Acad. Sci. NY*, 838:29–45, 1998.

[63] D. J. Pine, D. A. Weitz, P. M. Chaikin, and E. Herbolzheimer. Diffusing-wave spectroscopy. *Phys. Rev. Lett.*, 60(12):1134–1137, 1988.

[64] N. P. Barry, M. J. Cole, M. J. Dayel, K. Dowling, P. M. W. French, S. C. W. Hyde, R. Jones, D. Parsons-Karavassilis, M. Tziraki, M. J. Lever, K. M. Kwolek, D. D. Nolte, M. R. Melloch, M. A. A. Neil, R. Juskaitis, T. Wilson, A. K. L. Dymoke-Bradshaw, and J. D. Hares. Imaging biological tissue using photorefractive holography and fluorescence lifetime. In P. Sebbah, editor, *Waves and Imaging through Complex Media*, pages 213–234. Kluwer, Dordrecht, 2001.

[65] J. M. Schmitt, A. Knüttel, and R. F. Bonner. Measurement of optical properties of biological tissues by low-coherence reflectometry. *Appl. Opt.*, 32:6032–6042, 1993.

[66] D. A. Boas, M. A. O'Leary, B. Chance, and A. G. Yodh. Scattering and wavelength transduction of diffuse photon density waves. *Phys. Rev. E*, 47:R2999–R3002, 1993.

[67] S. R. Arridge and M. Schweiger. Image reconstruction in optical tomography. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 352:717–726, 1997. Recent values for optical coefficients in white, gray matter, bone, skin.

[68] M. A. Franceschini, V. Toronov, M. Filiaci, E. Gratton, and S. Fantini. On-line optical imaging of the human brain with 160-ms temporal resolution. *Opt. Expr.*, 6:49–57, 2000.

[69] M. A. Franceschini, S. Fantini, J. J. Thompson, J. P. Culver, and D. A. Boas. Hemodynamic evoked response of the sensorimotor cortex measured non-invasively with near-infrared optical imaging. *Psychophysiol.*, 40:548–560, 2003.

[70] M. Wolf, U. Wolf, V. Toronov, A. Michalos, L. A. Paunescu, J. H. Choi, and E. Gratton. Different time evolution of oxyhemoglobin and deoxyhemoglobin concentration changes in the visual and motor cortices during functional stimulation: A near-infrared spectroscopy study. *NeuroImage*, 16:704–712, 2002.

[71] G. Gratton, P. M. Corballis, E. Cho, M. Fabiani, and D. C. Hood. Shades of gray matter: Noninvasive optical images of human brain responses during visual stimulation. *Psychophysiol.*, 32:505–509, 1995.

[72] M. Wolf, U. Wolf, H. J. Choi, R. Gupta, L. P. Safanova, L. A. Paunescu, A. Michalos, and E. Gratton. Functional frequency-domain near-infrared spectroscopy detects fast neuronal signal in the motor cortex. *NeuroImage*, 17:1868–1875, 2002.

[73] M. A. Franceschini and D. A. Boas. Noninvasive measurement of neuronal activity with near-infrared optical imaging. *NeuroImage*, 21:372–386, 2004.

[74] A. Grinvald, E. Lieke, R. D. Frostig, C. D. Gilbert, and T. N. Wiesel. Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals. *Nature*, 324:361–364, 1986. reflectivity and fluorescence measurements.

[75] A. Grinvald, L. Anglister, J. A. Freeman, R. Hildesheim, and A. Manker. Real-time optical imaging of naturally evoked electrical activity in intact frog brain. *Nature*, 308:848–850, 1984.

[76] L. B. Cohen, R. D. Keynes, and B. Hille. Light scattering and birefringence changes during nerve activity. *Nature*, 218:438–441, 1968.

[77] R. A. Stepnoski, A. LaPorta, F. Raccuia-Behling, G. E. Blonder, R. E. Slusher, and D. Kleinfeld. Noninvasive detection of changes in membrane potential in cultured neurons by light scattering. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:9382–9386, 1991.

[78] A. K. Dunn, H. Bolay, M. A. Moskowitz, and D. A. Boas. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 21:195–201, 2001.

[79] H. Bolay, U. Reuter, A. K. Dunn, Z. Huang, D. Boas, and M. A. Moskowitz. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nature Medicine*, 8:136–142, 2002. exposed rat brain.

[80] A. K. Dunn, A. Devor, H. Bolay, M. L. Andermann, M. A. Moskowitz, A. M. Dale, and D. A. Boas. Simultaneous imaging of total cerebral hemoglobin concentration, oxygenation, and blood flow during functional activation. *Opt. Lett.*, 28:28–30, 2003.

[81] R. Lohwasser and G. Soelkner. Experimental and theoretical laser-doppler frequency spectra of a tissue-like model of a human head with capillaries. *Appl. Opt.*, 38:2128–2137, 1999.

[82] W. B. Gratzer. Technical report, Med. Res. Council Labs.

[83] R.C. Oldfield. The assessment and analysis of handedness: The edinburgh inventory. *Neuropsychol.*, 9:97–113, 1971.

[84] H. H. Jasper. The ten-twenty electrode system of the international federation. *Electroencephal. Clin. Neurophysiol.*, 10:370–375, 1958.

[85] P. van der Zee. *Measurement and Modelling of the Optical Properties of Human Tissue in the Near-Infrared*. PhD thesis, University College, 1992.

[86] E. Okada, M. Firbank, M. Schweiger, S. R. Arridge, M. Cope, and D. T. Delpy. Theoretical and experimental investigation of near-infrared light propagation in a model of the adult head. *Appl. Opt.*, 36:21–31, 1997. Reduced scattering and absorption coefficients for brain tissue (older values).

[87] D. A. Boas, J. P. Culver, J. J. Stott, and A. K. Dunn. Three dimensional monte carlo code for photon migration through complex heterogeneous media including the adult human head. *Opt. Expr.*, 10:159–170, 2002.

[88] B. Kolb and I. Q. Whishaw. *Fundamentals of Human Neuropsychology.* Freeman, San Francisco, 5 edition, 2002.

[89] D. J. Pine, D. A. Weitz, J. X. Zhu, and E. Herbolzheimer. Diffusing-wave spectroscopy: dynamic light scattering in the multiple scattering limit. *J. Phys. (France)*, 51(18):2101–2127, 1990. • Contains a discussion of the photon path length distribution used for the interpretation of DWS data, for different scattering geometries.

[90] H. Dehghani, D. T. Delpy, and S. R. Arridge. Photon migration in non-scattering tissue and the effects on image reconstruction. *Phys. Med. Biol.*, 44:2897–2906, 1999.

[91] P. E. Roland, B. Larsen, N. A. Lassen, and E. Skinhøj. Supplementary motor area and other cortical areas in organization of voluntary movements in man. *J. Neurophysiol.*, 43:118–136, 1980.

[92] R. J. Seitz and P. E. Roland. Learning of sequential finger movements in man: A combined kinematic and positron emission tomography (pet) study. *Eur. J. Neurosci.*, 4:154–165, 1992.

[93] A. Roggan, M. Friebel, K. Dörschel, A. Hahn, and G. Müller. Optical properties of circulating human blood in the wavelength range 400-2500 nm. *J. Biomed. Opt.*, 4:36–46, 1999.

[94] M. Hammer, D. Schweitzer, B. Michel, E. Thamm, and A. Kolb. Single scattering by red blood cells. *Appl. Opt.*, 37:7410–7418, 1998. wavelength-dependence of scattering cross section, hemoglobin concentration inside rbc.

[95] H. Plattner, A. R. Artalejo, and E. Neher. Ultrastructural organization of bovine chromaffin cell cortex – analysis by cryofixation and morphometry of aspects pertinent to exocytosis. *J. Cell Biol.*, 139:1709–1717, 1997.

[96] D. P. Kernick, J. E. Tooke, and A. C. Shore. The biological zero signal in laser doppler fluximetry -origins and practical implications. *Pflügers Arch. - Eur. J. Physiol.*, 437:624–631, 1999.

[97] D. B. Sattelle, D. J. Green, and K. H. Langley. Laser light scattering from a neurosecretory tissue. *Biol. Bull.*, 149:445, 1975. Observation of increase of dynamic part of scattered light upon neurosecretory release in lobster pericardial organ.

[98] D. B. Sattelle. Quasielastic laser light scattering and laser doppler electrophoresis as probes of synaptic and secretory terminal function. *J. Exp. Biol.*, 139:233–252, 1988.

[99] D. Englert and C. Edwards. Effect of increased potassium concentrations on particle motion within a neurosecretory structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74:5759–5763, 1977. QELS on neurosecretion in crab pericardial organ.

[100] M. Junghöfer, M. Bradley, T. Elbert, and P. Lang. Fleeting images: A new look at early emotion discrimination. *Psychophysiol.*, 38:175–178, 2001.

[101] F. F. Jöbsis. Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science*, 198:1264–1267, 1977.

[102] E.M. Bednarczyk. Hyperventilation-induced reduction in cerebral blood flow: assessment by positron emission tomography. *Ann. Pharmacother.*, 24:456–460, 1990.

[103] J. Valdueza. Changes in blood flow velocity and diameter for the middle cerebral artery during hyperventilation: assesment with mr and transcranial doppler sonography. *Am. J. Neurorad.*, 18:1929–1934, 1997.

[104] S. Posse, U. Olthoff, M. Weckesser, L. Jäncke, H.-W. Müller-Gärtner, and S. R. Dager. Regional dynamic signal changes during controlled hyperventilation assessed with blood oxygen level-dependent functional mr imaging. *Am. J. Neurorad.*, 18:1763–1770, 1997.

[105] E. Okada and D. T. Delpy. Near-infrared light propagation in an adult head model. ii. effect of superficial tissue thickness on the sensitivity of the near-infrared spectroscopy signal. *Appl. Opt.*, 42:2915–2922, 2003.

[106] D.A. Boas. The accuracy of near-infrared spectroscopy and imaging during focal changes in cerebral hemodynamics. *NeuroImage*, 13:76–90, 2001.

[107] M. A. Pastor, J. Artieda, J. Arbizu, M. Valencia, and J. C. Masdeu. Human cerebral activation during steady-state visual-evoked responses. *J. Neurosci.*, 23:11621–11627, 2003.

[108] C. S. Herrmann. Human eeg responses to 1-100 hz flicker: resonance phenomena in visual cortex and their potential correlation to cognitive phenomena. *Exp. Brain Res.*, 137:346–353, 2001.

[109] H. Ito, K. Takahashi, J. Hatazawa, S.-G. Kim, and I. Kanno. Changes in human regional cerebral blood flow and cerebral blood volume during visual stimulation measured by positron emission tomography. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 21:608–612, 2001. scaling relation between flow rate and blood volume.

[110] F. B. Mohamed, A. B. Pinus, S. H. Faro, D. Patel, and J. I. Tracy. Bold fmri of the visual cortex: Quantitative responses measured with a graded stimulus at 1.5 tesla. *J. Magn. Reson.*, 16:128–136, 2002.

[111] J. Steinbrink, F. C. D. Kempf, A. Villringer, and H. Obrig. The fast optical signal–robust or elusive when non-invasively measured in the human adult? *NeuroImage*, 26:996–1008, 2005.

[112] C. Fang-Yen, M. C. Chu, H. S. Seung, R. R. Dasari, and M. S. Feld. Non-contact measurement of nerve displacement during action potential with a dual-beam low-coherence interferometer. *Opt. Lett.*, 29:2028–2030, 2004.

[113] M. Wolf, U. Wolf, J.H. Choi, V. Toronov, L.A. Paunescu, A. Michalos, and E. Gratton. Fast cerebral functional signal in the 100-ms range detected in the visual cortex by frequency-domain nearinfrared spectrophotometry. *Psychophysiology*, 40:521–528, 2003.

[114] Y Hoshi. Functional near-infrared optical imaging: Utility and limitations in human brain mapping. *Psychophysiology*, 40:511–520, 2003.

Danksagung

Zum Abschluss möchte ich allen Danke sagen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Vor allem bedanke ich mich bei

- Prof. Dr. Georg Maret der mich als Doktorand eingestellt und mir die Möglichkeit gegeben hat, in diesem interessanten Gebiet zu forschen. Das angenehme Arbeitsklima am Lehrstuhl bildete ein ideales Umfeld.
- Prof. Dr. Jaro Rička für die spontane Bereitschaft meine Arbeit zu begutachten.
- meinem Betreuer PD Dr. Thomas Gisler für seinen unermüdlichen Einsatz bei diesem Projekt. Seine Vorschläge und Ideen brachten mich stets einen Schritt voran.
- Dr. Jun Li und Dr. Franck Jaillon für die sehr gute und kollegiale Zusammenarbeit, sowie unserem Techniker Christian Ortolf für die Entwicklung und den Bau der von uns benötigten elektronischen Geräte.
- Susanne Fiebig und Dr. Urs Gasser dafür, dass sie es solange mit mir in einem Büro ausgehalten haben.
- Corinna, Susanne, Regula, Alexander, Florian und Daniel für das sorgfältige Korrekturlesen meiner Arbeit.
- allen Kollegen am Lehrstuhl für ihre Hilfsbereitschaft bei kleinen Problemen, sowie allen auf P10 für die schöne gemeinsame Zeit.