

# Berührungsloses Fühlen

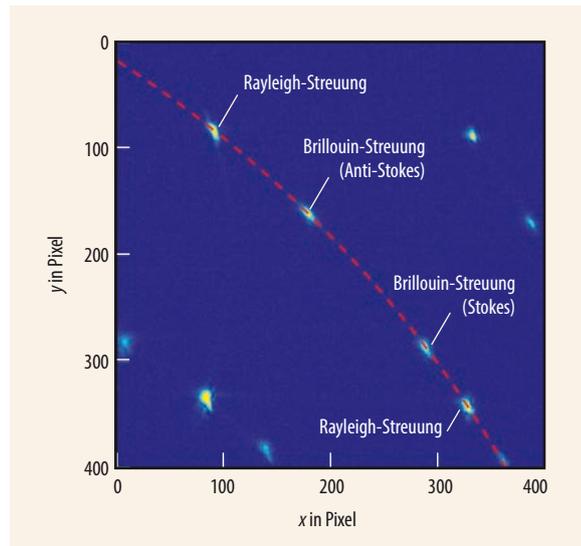
Licht ermöglicht eine nichtinvasive *in vivo*-Elastographie von Zellverbänden.

Jürgen Czarske, Jochen Guck, Raimund Schlüßler und Stephanie Möllmert

Licht erlaubt es, die mechanischen Eigenschaften von Zellen und Geweben berührungslos und mit hoher Auflösung zu messen. Fortschritte in der Optik und Photonik haben zu einer neuartigen Bildgebung der elastischen Eigenschaften von Zellverbänden geführt. Diese Elastographie nutzt die Brillouin-Streuung, die auf einer Wechselwirkung von akustischen Phononen und Photonen basiert. Der Paradigmenwechsel von taktilen zu optischen Methoden führt zu vielen Alleinstellungsmerkmalen und ist für die Erforschung von Krankheiten von großer Bedeutung.

Die mechanischen Eigenschaften von biologischen Geweben sind eng mit ihren funktionalen Fähigkeiten verwandt und spielen in vielen Bereichen der Biologie und Medizin eine bedeutende Rolle. Hippokrates von Kos (\* um 460 v. Chr.; † um 370 v. Chr.), der als Begründer der Medizin als Wissenschaft gilt, nutzte bereits diesen Zusammenhang. Beim Abtasten von Gewebe werden die mechanischen Eigenschaften erfühlt, woraus sich Erkenntnisse für viele Krankheiten folgern lassen. Heute wissen wir, dass verschiedene Krankheiten mit der Viskoelastizität von Gewebe korreliert sind. Koronare Arterien, die durch Arteriosklerose eine verringerte Elastizität aufweisen, können zu Herz-Kreislaufproblemen führen. Mechanisch geschwächte Knochen stellen bei einer Osteoporose ein ernsthaftes orthopädisches Problem dar. Die altersbedingte Versteifung der kristallinen Linse ist die primäre Ursache der Presbyopie (Alterssichtigkeit) und auch am Ausbruch von Katarakten beteiligt – die häufigste Ursache für Blindheit in unserer Welt. In der Onkologie ermöglichen es die elastischen Eigenschaften, zwischen gesundem Gewebe und bösartiger Gewebeneubildung (maligne Neoplasie) zu unterscheiden. Bei der Vorsorgeuntersuchung zu Brustkrebs wird abgetastet, um gehärtete Knoten zu erfühlen. Zudem beeinflusst die Steifigkeit der extrazellulären Matrix die Motilität von Zellen. Aus diesen Gründen ist es wichtig, die viskoelastischen Eigenschaften von Gewebe und Zellen zu erfassen. Doch welche physikalischen Methoden stehen dafür zur Verfügung?

In den Materialwissenschaften ist der Elastizitätsmodul  $E$  (Youngscher Modul) als Quotient der mechanischen Spannung und der Dehnung definiert. Der Elastizitätsmodul weist einen umso größeren Betrag auf, je mehr Widerstand das Material der Verformung



Entlang der roten Linie des 2D-Brillouin-Spektrums liegen die vier Signale, die zur elastischen Lichtstreuung (Rayleigh) bzw. zur unelastischen Brillouin-Streuung (Anti-Stokes- und Stokes-Linie) gehören.

entgegenbringt, also je steifer es ist. Konventionelle mechanische Prüfungen, z. B. die dynamisch-mechanische Analyse und die Rheologie, erfordern mechanische Kräfte und damit einen Kontakt zu den Proben. *Ex vivo* sind an Gewebeproben durch eine Schwingungsanregung Untersuchungen zur Elastizität möglich. Dabei ist die mechanische Spannung durch die Anregung bekannt, und die Dehnung lässt sich durch Oberflächenmesstechniken wie die Holographie erfassen. Die notwendige Entnahme von Gewebeproben führt aber zu Läsionen und kann die Messgrößen beeinflussen. Daher sind *in vivo*-Messmethoden nötig. In der Medizin sind zur Messung und Kartierung der

## KOMPAKT

- Brillouin-Streuung, also die unelastische Streuung von Photonen an akustischen Phononen, liefert Informationen über die Viskoelastizität von biologischen Proben.
- Fortschritte in Optik und Photonik ermöglichen hochaufgelöste Brillouin-Mikroskope, die wiederum eine berührungslose *in vivo*-Elastographie erlauben.
- Elastogramme liefern wichtige Informationen für die Grundlagenforschung zu Krankheiten.
- Mechanosensitivität ist ein neuer Ansatz, um Heilungsprozesse bei Rückenmarksverletzungen zu verstehen.

Prof. Dr. Jürgen Czarske, Prof. Dr. Jochen Guck, Dr. Raimund Schlüßler und Dr. Stephanie Möllmert, TU Dresden, Tatzberg 47-49, 01307 Dresden und TU Dresden, Helmholtzstr. 18, 01069 Dresden

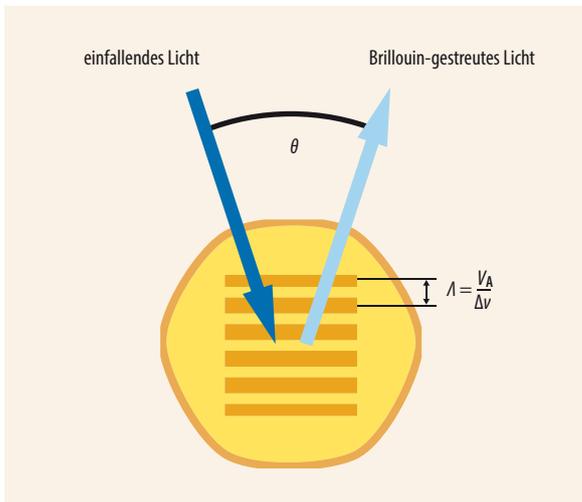


Abb. 1 Bei der Brillouin-Streuung wird eine monochromatische Lichtwelle in einem Medium an Schallwellen gestreut, die mit der Geschwindigkeit  $V_A$  propagieren. Es ergibt sich eine Doppler- bzw. Brillouin-Frequenzverschiebung von  $\Delta\nu = V_A/\lambda$ , mit  $\lambda = \lambda / [2n \cos(\theta/2)]$  als Interferenzstreifenabstand.

elastischen Eigenschaften von Leberfibrose oder Brustkrebs die Magnetresonanztomographie und die Sonographie (Ultraschallmesstechnik) bekannt. Diese liefern nicht-invasive Elastogramme mit Millimeterauflösung. Beide Verfahren sind aber in der Auflösung physikalisch grundlegend begrenzt. Bei der Sonographie begrenzen Beugungseffekte bei der Ausbreitung von Ultraschallwellen die räumliche Auflösung. Eine höhere Frequenz (und damit kleinere Wellenlänge) ermöglicht zwar eine bessere Auflösung, allerdings erhöhen sich auch die Verluste durch Absorption von Ultraschallwellen in Gewebe. Dadurch verringern sich die Eindringtiefe und das Signal-zu-Rausch-Verhältnis drastisch.

Wünschenswert ist es, einzelne Zellen oder sogar kleinere Strukturen auflösen zu können. Diese Anforderungen

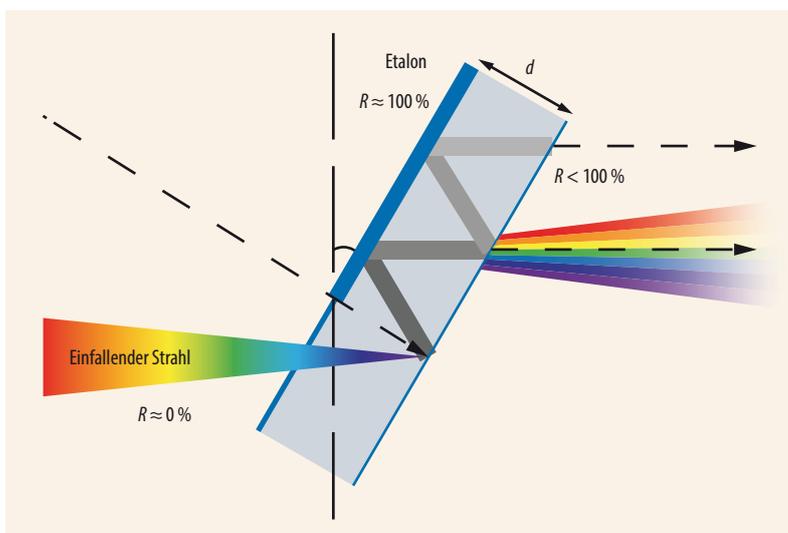


Abb. 2 Diese Prinzipzeichnung des Virtually Imaged Phased Array zeigt die Interferenz von mehreren optischen Wellen, die im Fabry-Pérot-Interferometer einen Gangunterschied erfahren (verschobene virtuelle Bilder). Aufgrund der Divergenz der Eingangswelle wird das Licht spektral aufgespalten, sodass sich das räumlich vorliegende Spektrum mit einer Kamera aufnehmen lässt.

erfüllt die Rasterkraft-Mikroskopie, aber nur für Oberflächenmessungen. Die Messung ist kontaktbasiert, sehr zeitintensiv und erfordert bei biologischen Gewebeproben eine aufwändige und invasive Probenpräparation. Licht ermöglicht dagegen einen berührungslosen Messvorgang. In diesem Beitrag beschreiben wir, wie sich die Viskoelastizität von Gewebe und Zellen mit Licht *in vivo*, labelfrei, dreidimensional und mit subzellulärer Auflösung erfassen lässt. Ziel dabei ist es, die Technologielücke zwischen der Sonographie und der Rasterkraft-Mikroskopie zu schließen.

### Unelastisch gestreut

Die Streuung von Sonnenlicht an Luftmolekülen führt zum blauen Himmel. Diese Rayleigh-Streuung ist elastisch und verändert die Energie der gestreuten Photonen somit nicht. Demgegenüber führt die unelastische Streuung von Photonen an Phononen, den Quasiteilchen der Gitterschwingungen in einem Festkörper, zu einer Änderung der Photonenenergie. Bei der Raman-Streuung ändert sich die Energie der Photonen durch inkohärente optische Phononen, die auf Rotations-, Rotations-Schwingungs- oder Schwingungsübergänge zurückgehen. Da chemische Bindungen ein charakteristisches Raman-Spektrum aufweisen, handelt es sich um einen Fingerabdruck, aus dem die chemische Zusammensetzung einer Probe qualitativ und quantitativ zu ermitteln ist.

Zufällige Schwankungen der lokalen Dichte führen ebenfalls zur unelastischen Streuung von Licht, wie es Marian Smoluchowski und Albert Einstein 1908 bzw. 1910 beschrieben haben. Léon Brillouin untersuchte 1922 grundlegend die Streuung von Photonen an kohärenten akustischen Phononen [1]. Diese nach ihm benannte Brillouin-Streuung führt durch die Vernichtung und Erzeugung einer phasenangepassten Schallwelle (akustische Phononen) zu einer optischen Doppler-Frequenzverschiebung gegenüber der eingestrahlten Lichtwelle. Quantenmechanisch lässt sich dieser Zusammenhang mit dem Energieerhaltungssatz für eine Photon-Phonon-Wechselwirkung beschreiben. Ein einfallendes Photon der Frequenz  $\nu_L$  wird durch Vernichtung oder Erzeugung eines Phonons mit der Frequenz  $\nu_S$  in ein Photon mit der Frequenz  $\nu_B = \nu_L \pm \nu_S$  gestreut (Anti-Stokes- bzw. Stokes-Streuung). Für ein isotropes Material und eine monochromatische Laserwelle folgt die Brillouin-Frequenzverschiebung  $\Delta\nu = \nu_B - \nu_L = \pm 2n V_A \cos(\theta/2) / \lambda$ , mit dem Brechungsindex  $n$ , der Schallgeschwindigkeit  $V_A$ , dem Streuwinkel  $\theta$  zwischen der Laserwelle und der Brillouin-Lichtwelle und der Laserwellenlänge  $\lambda$  (Abb. 1).

Für eine Rückstreuungordnung liegt als Mittelwert ein Streuwinkel  $\theta = 0^\circ$  vor. Unter der Annahme einer longitudinalen Schallwelle mit der Geschwindigkeit  $V_A = \sqrt{E/\rho}$  folgt mit dem Elastizitätsmodul  $E$  und der Dichte  $\rho$ :

$$\Delta\nu = \pm \frac{2n}{\lambda} \sqrt{\frac{E}{\rho}}$$

Die Laserwellenlänge ist dabei bekannt. Die sog. Lorentz–Lorenz-Gleichung erlaubt es zudem, einen Zusammenhang zwischen dem Brechungsindex  $n$  und der Dichte  $\rho$  der Probe herzustellen. Die Gleichung drückt den Brechungsindex  $n$  abhängig von der Polarisierbarkeit  $\alpha$  und der Anzahl  $N$  der Moleküle pro Einheitsvolumen aus:  $n^2 \approx 1 + 4\pi N\alpha$ . Hierbei ist  $N$  proportional zur Dichte, womit sich die Abhängigkeiten  $n/\sqrt{\rho}$  teilweise kompensieren. Die Brillouin-Frequenzverschiebung hängt somit nur von den mechanischen Eigenschaften der Probe – der Dichte und der Elastizität – ab. Um Mehrdeutigkeiten zu vermeiden und die Elastizität quantitativ bestimmen zu können, sind multimodale Verfahren, z. B. Fluoreszenzmessungen und optische Tomographiemethoden, zur simultanen Messung des Brechungsindex nötig.

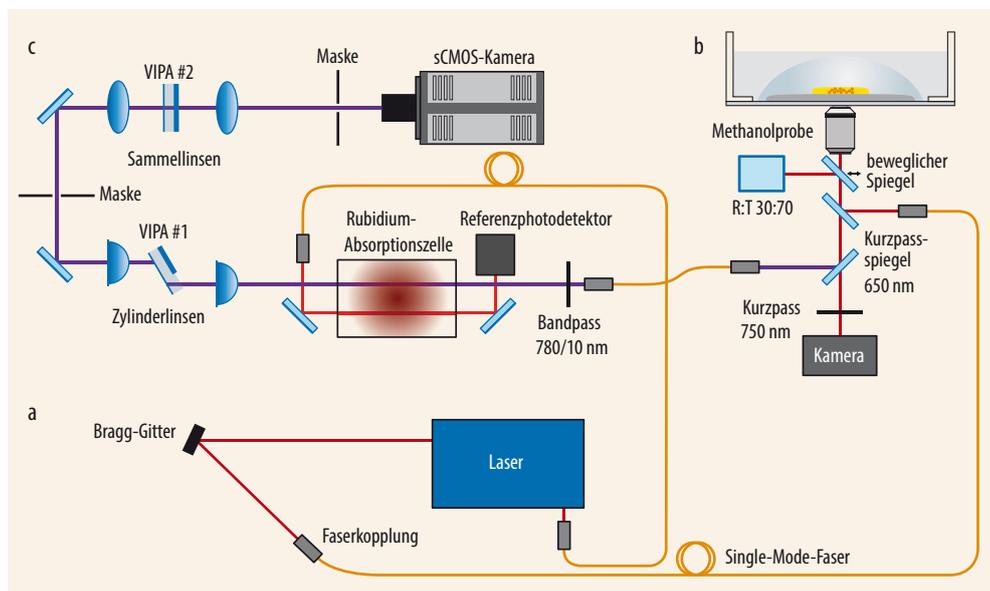
Weiterhin enthält das Brillouin-Spektrum neben der Elastizität auch Informationen über die Viskosität. Aus der Linienbreite ergibt sich die Lebensdauer der Phononen, woraus sich die akustische Dämpfung und damit die Viskosität ableiten. Somit ist eine kontaktlose Messung der Viskoelastizität mit der Auswertung des Brillouin-Spektrums möglich. Es bestehen aber mehrere physikalische Herausforderungen, denen wir im Folgenden nachgehen wollen.

### Messtechnische Methoden

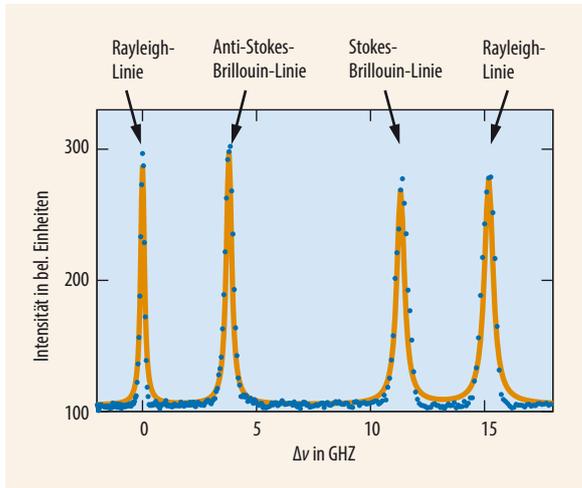
Die Brillouin-Frequenzverschiebung ist im Vergleich zur Lichtfrequenz sehr klein. Für biologische Medien beträgt sie typischerweise 5 GHz bei einer Wellenlänge von 780 nm bzw. einer Lichtfrequenz von 380 THz. Diese Größe gilt es, mit Messunsicherheiten von kleiner als 50 MHz zu erfassen. Es ergibt sich eine relative Auflösung von etwa sieben Größenordnungen, die übliche optische Spektrometer unter Nutzung von Beugungsgittern nicht erreichen. Daher liegt es nahe, die

(1) Brillouin-Lichtwelle und die Laserwelle zu überlagern. Mittels Zweifachinterferenz in einem Photodetektor entsteht ein elektrisches Schwebungssignal, dessen Frequenz gleich der Differenzfrequenz der optischen Wellen, d. h. der Brillouin-Frequenzverschiebung  $\Delta\nu$ , ist [2]. Für Medien mit geringen optischen Verlusten wie Glasfasern erlaubt es diese Methode, ein Brillouin-Spektrum hochaufgelöst zu erfassen. Dies wurde für Temperaturmessungen entlang von Glasfasern demonstriert [3]. Derartige Brillouin-Fasersensoren kommen zum Einsatz, um Dämme und Gebäude zu überwachen. In trüben Medien wie biologischem Gewebe ruft eine große elastische Lichtstreuung ein starkes Hintergrundsignal hervor. Für biologisches Gewebe erlaubt die Nutzung von Vielfachinterferenz im Brillouin-Spektrometer hochaufgelöste Messungen [4].

Eine Herausforderung ist hierbei, eine hohe Selektivität zwischen der elastischen und unelastischen Lichtstreuung zu erreichen und Einzelaufnahmen des gesamten Brillouin-Spektrums (Single-Shot-Messungen) vorzunehmen. Im Gewebe treten Rayleigh- und Mie-Streuung auf. Zusammen mit Fresnel-Reflexen an optischen Grenzflächen liegt für die elastische Streuung bzw. Reflexion eine um viele Größenordnungen höhere Leistung als für die Brillouin-Streuung vor. Der geringe Frequenzunterschied zwischen Rayleigh- und Brillouin-Streuung erschwert die Auswertung erheblich. Für Raman-Streuung beträgt der Frequenzunterschied dagegen mehrere THz, wodurch sich die Raman-Signale ohne Probleme spektral vom anregenden Laserlicht trennen lassen. Diese Aufgabe bei der Brillouin-Streuung ist vergleichbar mit der optischen Erfassung eines kleinen Gebäudes aus der Ferne, das in Nachbarschaft des Burj Khalifa steht! Eine hohe spektrale Trennschärfe ist somit erforderlich. Die Vielfachinterferenz in einem Fabry-Pérot-Resonator erlaubt eine scharfe Selektion der Brillouin-Linie. Allerdings ist meist ein zeitintensives Scanning der Frequenz nötig, sodass pro Pixel die Messung Minuten dauert.



**Abb. 3** Zum Brillouin-Mikroskop gehören ein Diodenlaser mit einem Bragg-Gitter zur spektralen Reinigung des Laserspektrums und der Einkopplungseinheit für eine Single-Mode-Faser (a), ein konfokales Mikroskop (b) und Brillouin-Spektrometer (c). Das in der Probe gestreute Licht wird in Rückstreureichtung konfokal gesammelt und in ein zweistufiges VIPA-basiertes Spektrometer gekoppelt. Eine Rubidium-Absorptionszelle dämpft das elastisch gestreute Licht zusätzlich. Das Brillouin-Spektrum wird mit einer sCMOS-Kamera erfasst und mittels MATLAB ausgewertet.



**Abb. 4** Im Brillouin-Spektrum von Methanol (Methylalkohol, CH<sub>3</sub>OH) dominieren die vier spektralen Linien der elastischen Rayleigh-Streuung, der Anti-Stokes-Brillouin-Streuung und der Stokes-Brillouin-Streuung. Das Signal der Rayleigh-Streuung wiederholt sich nach dem freien Spektralbereich (FSR) des VIPA-basierten Fabry-Pérot Interferometers.

Im Gegensatz dazu ermöglicht es die räumliche Darstellung des Brillouin-Spektrums mittels eines Virtually Imaged Phased Array (VIPA, **Abb. 2**), ein Spektrum mit einer Einzelmessung in weniger als einer Sekunde zu erfassen. Ein VIPA ist eine Modifikation des Fabry-Pérot-Interferometers und führt zu einer räumlichen Aufspaltung des Brillouin-Spektrums [4]. Denn die Divergenz von fokussiertem Laserlicht ergibt einen winkelabhängigen Gangunterschied der interferierenden Wellen. Ein VIPA weist drei unterschiedliche Facetten auf: eine Anti-Reflex-Schicht ( $\approx 0\%$  Reflexionsgrad) für die Einkopplung der Laserstrahlung, eine rückseitige Spiegelschicht ( $\approx 100\%$  Reflexionsgrad) und eine vorderseitige teilverspiegelte Schicht ( $\sim 95\%$  Reflexionsgrad) für die Auskopplung der Laserstrahlung. Dies ermöglicht zusammen eine hohe Lichteffizienz.

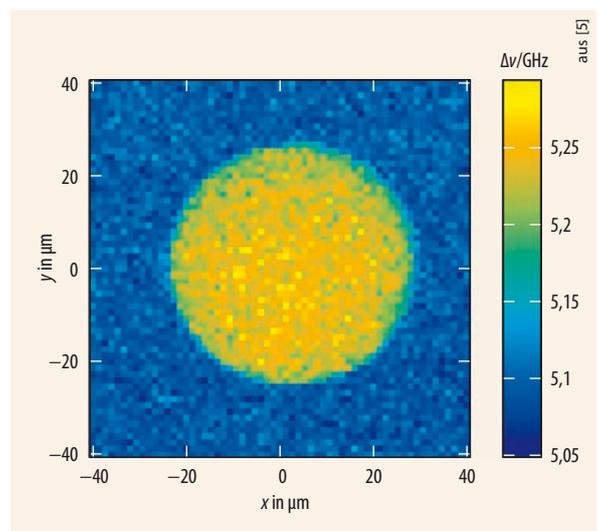
### Brillouin-Mikroskopie

Das von uns realisierte Brillouin-Mikroskop nutzt ein zweistufiges, VIPA-basiertes Spektrometer und ein konfokales Mikroskop (**Abb. 3**). Ein frequenzmodulierter Diodenlaser (Toptica) bei einer Wellenlänge von 780,24 nm wird auf den D2-Übergang von <sup>85</sup>Rb stabilisiert. Die Rubidium-Absorptionszelle dämpft das elastisch gestreute oder reflektierte Licht. Laserlicht von etwa 15 mW Leistung gelangt zu einem Mikroskop (Zeiss Axiovert 200M), das als Erweiterung eine spezielle konfokale Einheit besitzt. Das rückwärtige Streulicht von den biologischen Proben wird zum Brillouin-Spektrometer geführt und durch zwei VIPA-Interferometer transmittiert, um eine spektrale Aufspaltung und eine Trennung der elastisch gestreuten Anteile zu erreichen. Eine rauscharme sCMOS-Kamera (Andor Zyla 4.2 PLUS) erfasst das gesamte Brillouin-Spektrum durch eine Einzelaufnahme.

Das Brillouin-Spektrum von Methanol eignet sich mit seinen ausgeprägten Linien als Referenz für die Kalibrierung der Messungen (**Abb. 4**). Im Brillouin-Mikroskop befindet sich daher eine Probenkammer mit Methanol. Erste anwendungsorientierte Messungen erfolgten an einem Hydrogel-Kügelchen (**Abb. 5**). Dieses besitzt einen hohen Wassergehalt, ohne aber selbst wasserlöslich zu sein. Die im Hydrogel eingebauten hydrophilen Polymerkomponenten weisen ein dreidimensionales Netzwerk auf, das im Kontakt mit einem Lösungsmittel beträchtlich an Volumen zunimmt und dabei seine Form bewahrt. Hydrogele finden Anwendung als Superabsorber, Implantate, weiche Kontaktlinsen und für Wundauflagen [5]. Die Messungen unterstreichen das hohe Potenzial der Brillouin-Mikroskopie.

### Viskoelastizität im Rückenmark

Mechanosensitivität bezeichnet das Vermögen von Zellen, mechanische Signale wahrzunehmen. Diese sind in lebenden Organismen auf die mechanischen Materialeigenschaften umliegender Gewebe zurückzuführen und finden zunehmend als Teil von Signalkaskaden in der Entwicklungsbiologie und bei pathologischen Prozessen Beachtung. Als Reaktion auf einen mechanischen Stimulus verändern viele Zelltypen, einschließlich Neurone und Gliazellen, ihre Eigenschaften und ihr Verhalten. Dazu gehören Veränderungen der Morphologie sowie im Migrationsverhalten, bei der Proliferation und bei der Differenzierung. Da diese zellulären Vorgänge auch bei Erkrankungen und Verletzungen des zentralen Nervensystems involviert sind, liegt es nahe, dass sich die mechanischen Eigenschaften des Nervengewebes im Krankheitsverlauf ändern und dadurch bestimmte, eventuell veränderte, mechanische Stimuli bereitstellen.



**Abb. 5** Die Brillouin-Frequenzverschiebung eines Polyacrylamid-Hydrogel-Kügelchens in einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung ist deutlich höher als die des umgebenden Lösungsmittels. In lateraler Richtung beträgt die Auflösung etwa 0,5  $\mu\text{m}$ , in axialer Richtung weniger als 3  $\mu\text{m}$ .

Ein Beispiel sind Rückenmarksverletzungen, die bei Säugetieren komplexe biochemische Signalkaskaden nach sich ziehen. Sie führen zur Entstehung von Narbengewebe, was neuronale Regeneration verhindert und letztlich zu irreversiblen Funktionsverlust des Rückenmarks führt. Zebrafischlarven hingegen stellen nach einer solchen Verletzung geschädigtes Nervengewebe wieder her und erlangen motorische Funktionen zurück. Diese funktionelle Regeneration wird vom Nachwachsen durchtrennter Axone und der Erzeugung neuer Nerven- und Gliazellen begleitet. Des Weiteren induziert die Verletzung zelluläre Prozesse wie Proliferation, Migration, Differenzierung und morphologische Veränderungen. Wie bereits erwähnt, hängen diese Prozesse bei mechanosensitiven Zelltypen von den mechanischen Eigenschaften des umgebenden Gewebes ab und weisen somit auf eine Beteiligung mechanischer Faktoren hin. Die mechanische Charakterisierung von regenerierendem Rückenmarksgewebe von Zebrafischlarven ergänzt bisherige biochemische Untersuchungen fundamental und könnte noch unbekannte Mechanismen aufdecken, die zur erfolgreichen Rückenmarksregeneration im Zebrafisch beitragen oder deren Versagen bei Säugetieren erklären.

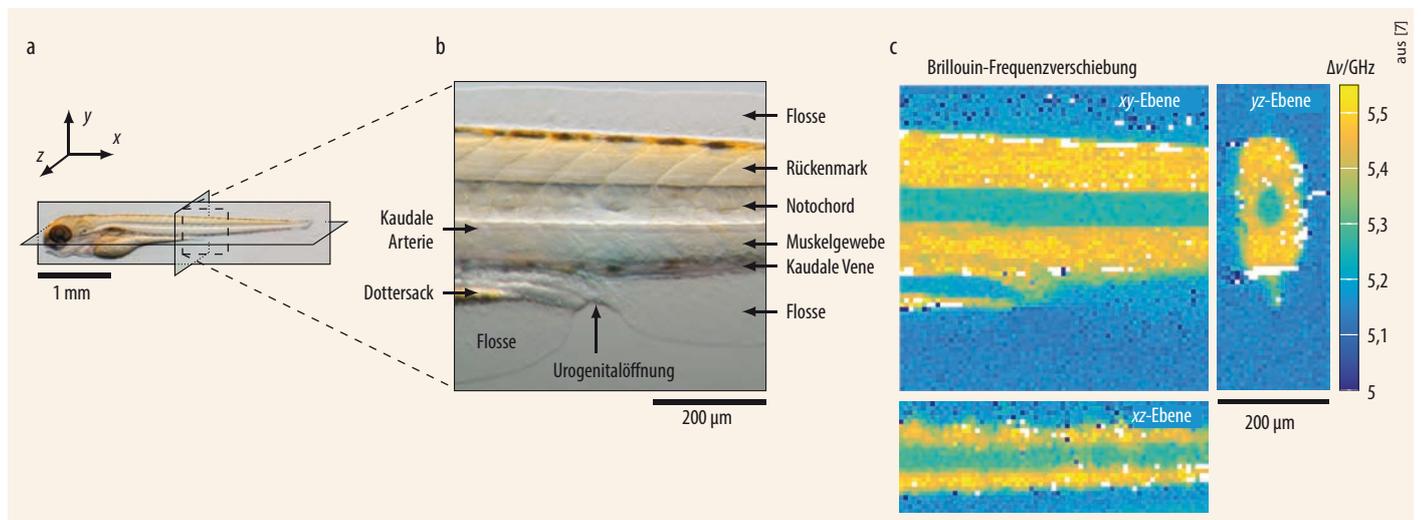
Aus diesem Grund wollen wir das faszinierende Zusammenspiel von zellulärer Mechanosensitivität und den mechanischen Eigenschaften umliegender Gewebe verstehen. Um die mechanischen Eigenschaften von biologischen Proben zu quantifizieren, gab es bisher sog. Indentationsmessungen mit dem Rasterkraftmikroskop [6]. Diese Kraftmikroskopie benötigt den direkten physikalischen Kontakt zur Probe und kann nur an der Oberfläche messen. Aussagen über mechanische Materialeigenschaften innerhalb eines Volumens bzw. innerhalb nicht freiliegender Organe in lebenden Organismen sind nicht möglich. Die erforderliche Gewebepreparation für diese Messungen beinhaltet zudem oft die Organentnahme und das

Schneiden des Gewebes, um eine plane Oberfläche zu erzeugen. Die Brillouin-Mikroskopie ermöglicht den Paradigmenwechsel zur berührungslosen, labelfreien *in vivo*-Elastographie [4, 6]. Da das Larvengewebe des Zebrafischlarvens eine hohe optische Transparenz aufweist und nach Rückenmarksdurchtrennung spontan regeneriert, ist es ein perfekter Modellorganismus.

Die Messungen an einer lebenden Zebrafischlarve zeigen im Vergleich zum Notochord eine höhere Brillouin-Frequenzverschiebung für den Dottersack, das Muskelgewebe und das Rückenmark (Abb. 6). Da die Brillouin-Frequenzverschiebung proportional zur Elastizität des Larvengewebes ist, erlaubt es die Brillouin-Elastographie, die mechanischen Eigenschaften in verschiedenen Entwicklungsstadien des Zebrafischlarvens zu bestimmen. Dies kann zur Aufklärung bestimmter Entwicklungsprozesse entscheidend beitragen.

Um zu verstehen, wie das Regenerationspotential mit den mechanischen Eigenschaften der beteiligten Gewebe und zellulärer Mechanosensitivität zusammenhängt, wurde das Rückenmark von Zebrafischlarven durchtrennt und anschließend der einsetzende Regenerationsprozess mittels Brillouin-Elastographie untersucht. Durch die spinale Verletzung nahm die Brillouin-Frequenzverschiebung vorübergehend ab (Abb. 7).

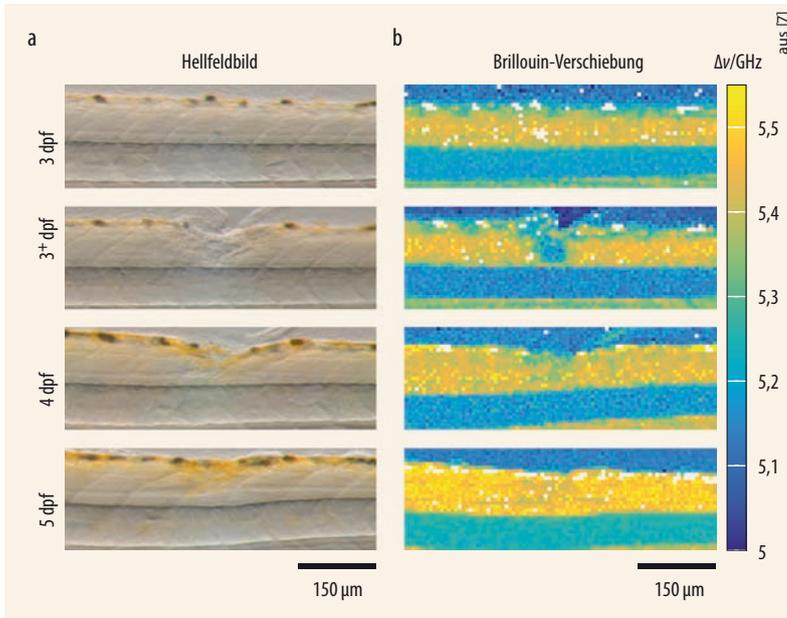
Mittels einer Zellkörperfärbung und Fluoreszenzmikroskopie fanden wir eine positive Korrelation zur Zellkörperdichte in den untersuchten Gewebeabschnitten. Rückenmarksverletzte Zebrafischlarven zeigten eine unorganisierte Anordnung und eine geringere Anzahl von Zellkernen an der Läsionsstelle. Wenige Tage nach der Läsion stieg die Brillouin-Frequenzverschiebung an, erreichte aber nicht den Wert der unverletzten Tiere. Die Regeneration des larvalen Rückenmarks im Zebrafisch geht demnach mit einer Zunahme der Brillouin-Frequenzverschiebung einher. Da diese proportional zur Elastizität ist, lässt sich ein veränderter mechanischer Stimulus vermuten, der wiederum



**Abb. 6** Hellfeldaufnahme einer vier Tage alten Zebrafischlarve, die betäubt und immobilisiert wurde (a). Der vergrößerte Ausschnitt zeigt Rückenmark, Notochord, Muskelgewebe,

Flossen, Dottersack, Urogenitalöffnung sowie kaudale Arterie und Vene (b). Die Gewebeeelastizität des Zebrafischlarvens lässt sich durch Brillouin-Mikroskopie kartieren (c), denn die

Brillouin-Frequenzverschiebung ist proportional zu den elastischen Eigenschaften des Gewebes.



**Abb. 7** Die Brillouin-Mikroskopie erlaubte es an einer repräsentativen Zebrafischlarve, den Verlauf der Regeneration nach einer Rückenmarksdurchtrennung zu verfolgen. Gezeigt ist jeweils die Brillouin-Frequenzverschie-

bung. Die Larven wurden an Tag 3 nach Befruchtung (3 dpf) verletzt und unmittelbar vor und eine Stunde nach (3+ dpf) dem Eingriff vermessen sowie an den beiden folgenden Tagen (4 dpf und 5 dpf).

mechanosensitive Neurone und Gliazellen beeinflusst und somit direkt zur Regenerationsfähigkeit beitragen könnte.

### Diskussion

Licht hat das Potenzial, die Ursprünge von Krankheiten zu erkennen, ihnen vorzubeugen oder sie frühzeitig und schonend zu heilen. In diesem Beitrag haben wir gezeigt, dass die Brillouin-Elastographie in der Lage ist, die mechanischen Eigenschaften unterschiedlicher anatomischer Strukturen zu erfassen, ohne die

natürliche Entwicklung des Tieres zu beeinträchtigen. Während die meisten Techniken zur mikroskopischen Elastographie invasive Probenpräparation erfordern, erlaubt es die Brillouin-Elastographie, in kontakt- und labelfreier Weise zu quantifizieren. Die mechanischen Eigenschaften des nativen Zebrafischgewebes wurden *in vivo* untersucht und der Selbstheilungsprozess nach Rückenmarksverletzungen beobachtet. Die stürmischen Entwicklungen auf dem Gebiet der Optogenetik, welches mit Licht eine Stimulation von Neuronen ermöglicht, lassen ebenfalls Fortschritte bei der Therapie von Rückenmarksverletzungen von Säugetieren erwarten [8].

Citius, altius, fortius ist das heutige Motto der Olympischen Spiele. Schneller, höher und stärker gilt auch für die Entwicklungsrichtung der Brillouin-Elastographie. Bisher ging es hier um die spontane Brillouin-Streuung. Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis lässt sich aber mit der stimulierten Brillouin-Streuung um viele Größenordnungen erhöhen, was entsprechend schnellere Messungen ermöglicht [9]. Diese und weitere Entwicklungen werden neue Impulse für die neugiergetriebene Wissenschaft und die Translation in die Biomedizin und Kliniken auslösen.

### Literatur

- [1] L. Brillouin, *Ann. Phys.* **17**, 88 (1922)
- [2] J. Czarke und H. Müller, *Opt. Lett.* **19**, 1589 (1994)
- [3] T. Horiguchi et al., *Journal of lightwave technology* **13**, 1296 (1995)
- [4] G. Scarcelli und S. H. Yun, *Nat. Photon.* **2**, 39 (2008)
- [5] R. Schlüßler, A. Taubenberger, J. Guck und J. W. Czarke, Brillouin microscopy for mechanical mapping of tissues and cells, 24th Congress of the International Commission for Optics (ICO-24) in Tokyo, Japan, 21.08. – 25.08.2017
- [6] B. F. Kennedy et al., *Nat. Photon.* **11**, 215 (2017)
- [7] R. Schlüßler, S. Möllmert, S. Abuhattum, C. Möckel, C. Zimmermann, J. Czarke und J. Guck, Mechanical mapping of spinal cord development and repair in living zebrafish larvae using Brillouin microscopy, doi: <https://doi.org/10.1101/181560>
- [8] K. L. Montgomery et al., *Sci. Transl. Med.* **8**, 337 (2016)
- [9] Z. Meng et al., *Adv. Opt. Photonics* **8**, 300 (2016)

### DIE AUTOREN

**Jürgen Czarke** (FV Quantenoptik/Photonik) hat in Hannover promoviert und habilitiert. Er war bei der Siemens AG sowie dem Laser Zentrum Hannover e.V. tätig und hat in Japan sowie den USA geforscht. Seit 2004 ist er Professor an der TU Dresden. Für seine wissenschaftlichen Erfolge, insbesondere in der laseroptischen Systemtechnik, wurde er mehrfach ausgezeichnet. Er ist u. a. Fellow der Optical Society, der European Optical Society sowie der International Society for Optics and Photonics und gewähltes Mitglied der Wissenschaftlichen Gesellschaft Lasertechnik. Er ist begeisterter E-Bike-Fahrer und liebt das Familienleben.



boldt-Professor und Professor für zelluläre Maschinen an der TU Dresden. In seiner Freizeit genießt er Familie und Freunde und die Vorzüge der Elektromobilität.

**Raimund Schlüßler** studierte Physik an der TU Dresden, wo er 2016 zum Thema optischer Strömungsmessungen promovierte. Seit 2016 ist er Postdoc an der Professur für zelluläre Maschinen und beschäftigt sich mit der nicht-invasiven Erfassung der viskoelastischen Eigenschaften lebender Zellen und Gewebe mittels Brillouin-Mikroskopie.



**Stephanie Möllmert** (FV Biologische Physik) studierte Physik an der TU Dresden und absolvierte ihre Promotion an der

Professur für zelluläre Maschinen, wo sie jetzt als Postdoc arbeitet. Sie beschäftigt sich mit der Bestimmung der mechanischen Eigenschaften von Rückenmarksgewebe adulter und larvaler Zebrafischlarven, insbesondere im Verlauf der Rückenmarksregeneration.



**Jochen Guck** (FV Biologische Physik und FV Quantenoptik/Photonik) studierte Physik in Würzburg und Austin (USA), wo er 2001 promovierte. Nach einer wissenschaftlichen Assistentenstelle in Leipzig war er am Cavendish Laboratory der University of Cambridge tätig. Seit 2012 ist er Alexander von Hum-

