

**Frequency-Domain Spektroskopie
und dynamische Streulicht-Spektroskopie
an biologischen Geweben**

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

**Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

vorgelegt von

Dipl.-Phys. Jens Osterholz

aus Bad Bentheim

Düsseldorf

2002

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. P. Hering

Korreferenten: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. K. Schierbaum
Univ.-Prof. Dr. rer. nat. D. Schmid

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Juli 2002

Inhalt

1. Einleitung	1
2. Grundlagen	4
2.1 Wechselwirkung von Licht mit Materie	4
2.1.1 Brechungsindex	4
2.1.2 Brechung und Reflexion	5
2.1.3 Absorption und Streuung	6
2.2 Bestimmung von optischen Eigenschaften in trüben Medien	10
2.2.1 Ulbrichtkugel-Spektroskopie	10
2.2.2 Zeitaufgelöste Streulichtspektroskopie	11
2.3 Eigenschaften von humanem Blut	14
2.4 Anatomie und Optik menschlicher Haut	17
2.5 Sauerstoffmonitoring	21
2.5.1 Pulsoxymetrie	22
2.5.2 NIR-Spektroskopie	22
2.5.3 Frequency-Domain Oxymetrie	23
2.5.4 Zwei-Linien Absorptionsspektroskopie	23
2.6 Dynamische Streulicht-Spektroskopie: Einführung	25
2.7 Digitale Korrelatoren	28
3. Theorie	30
3.1 Lichtausbreitung in trüben Medien	30
3.1.1 Mie-Theorie	30
3.1.2 Strahlungstransporttheorie	34
3.1.3 Diffusionsapproximation	35
3.1.4 Mikroskopisches Beer-Lambert Gesetz (MBL)	38
3.1.5 Monte Carlo Simulationen	41
3.2 Dynamische Streulicht-Spektroskopie: Theorie	45
3.2.1 Autokorrelationsfunktionen elektromagnetischer Felder	46
3.2.2 Zusammenhang zwischen Intensitäts- und Feld-Korrelationsfunktion	48
3.2.3 Korrelations-Transport-Theorie	51
3.2.4 Näherungslösungen für die Korrelationstransportgleichung	53
3.2.5 Einfluss der Bewegungsform der Streuer auf die Korrelationsfunktionen	54
3.2.6 Randbedingungen	56
3.2.7 Infinites Medium	57
3.2.8 Semiinfinites Medium	58
3.2.9 Medien mit optischen und dynamischen Inhomogenitäten	60
3.3 Zusammenfassung: Theorie	64
4. Methoden und Materialien	66
4.1 Ulbrichtkugel-Spektrometer	66
4.2 Kombination von Frequency-Domain- und dynamischer Streulicht-Spektroskopie (FD-DS Spektroskopie)	69
4.2.1 Frequency-Domain Oxymetrie	71

4.2.2	Dynamische Streulicht-Spektroskopie	71
4.2.3	Applikator zur Messung von Gewebeparametern	72
4.2.4	Messsequenz zur Bestimmung von Gewebeparametern	75
4.3	Phantome	78
4.3.1	Modellsystem für kapilläre Gefäße	79
4.3.2	Modellsystem für Arterie oder Vene	81
4.4	Zusammenfassung: Methoden und Materialien	87
5.	Ergebnisse	89
5.1	Monte Carlo Simulationen	89
5.2	Dynamische Streulicht-Spektroskopie an Phantomen.....	94
5.2.1	Dynamische Streulicht-Spektroskopie an diffundierenden Partikeln.....	95
5.2.2	Dynamische Streulicht-Spektroskopie an laminarer Strömung.....	100
5.3	In vivo Messungen	106
5.3.1	Berechnung von Gewebeparametern.....	106
5.3.2	Messung der Gewebeparameter bei Ischämie	114
5.3.3	Messungenauigkeit der FD-DS Spektroskopie	117
5.3.4	Vergleich mit anderen Messverfahren.....	117
5.4	Zusammenfassung: Ergebnisse	121
6.	Diskussion	122
6.1	Motivation	122
6.2	Verwendete Laser	123
6.3	Modelle zur Datenauswertung.....	124
6.4	Monte Carlo Simulationen	125
6.5	Phantome	126
6.6	Messung der Gewebeparameter bei Ischämie	128
6.7	Vergleich mit anderen Messverfahren.....	129
6.8	Grenzen der Methodik	129
6.9	Ausblick.....	131
7.	Zusammenfassung	132
Literatur	135
Anhang	146
Eigene Publikationen	146
Danksagung	147

Liste häufig verwendeter Symbole

Symbol	Beschreibung	Einheit
μ_a	Absorptionskoeffizient	mm^{-1}
μ_s	Streukoeffizient	mm^{-1}
$p(\vartheta, \varphi)$	Phasenfunktion	sr^{-1}
$g = \langle \cos\vartheta \rangle$	Anisotropiefaktor, mittlerer Kosinus des Streuwinkels	dimensionslos
$\mu_s' = (1-g) \mu_s$	reduzierter Streukoeffizient	mm^{-1}
$\mu_{\text{tr}} = \mu_s' + \mu_a$	Transportkoeffizient	mm^{-1}
$l_{\text{tr}} = 1/\mu_{\text{tr}}$	Transportweglänge	mm
U	Fluenz	W m^{-2}
$D_\gamma = c_n l_{\text{tr}}/3$	optischer Diffusionskoeffizient	$\mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$
D_B	Brown'scher Diffusionskoeffizient	$\mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$
$d\Omega = \sin\vartheta d\vartheta d\varphi$	Raumwinkelement	sr
n	Brechungsindex	dimensionslos
NA	Numerische Apertur	dimensionslos
c_0	Vakuumlichtgeschwindigkeit	mm ps^{-1}
$c_n = c_0/n$	Phasengeschwindigkeit im Medium mit dem Brechungsindex n	mm ps^{-1}
k_n	Wellenzahl im Medium mit Brechungsindex n	cm^{-1}
f	Modulationsfrequenz	MHz
$\omega = 2\pi f$	Kreisfrequenz	s^{-1}
T	transmittierte Leistung	dB
Φ	Phase der Photonendichtewelle	$^\circ, \text{rad}$
$\langle t \rangle$	mittlere Flugzeit der Photonen von der Quell- zur Detektorfaser	ps
I_{DC}	zeitintegriert Intensität	W m^{-2}
G_1	Feld-Korrelationsfunktion	$\text{V}^2 \text{m}^{-2}$
g_1	normierte Feld-Korrelationsfunktion	dimensionslos
G_2	Intensitäts-Korrelationsfunktion	$\text{W}^2 \text{m}^{-2}$
g_2	normierte Intensitäts-Korrelationsfunktion	dimensionslos
τ	Korrelationszeit	ms

Symbol	Beschreibung	Einheit
S[O ₂]	Sauerstoffsättigung	%
THC	engl.: <i>Total Hemoglobin Content</i> , Gesamt-hämoglobingehalt im Gewebe	μmol l ⁻¹
[HbO ₂]	Konzentration von Oxyhämoglobin im Gewebe	μmol/l
[Hb]	Konzentration von Hämoglobin im Gewebe	μmol/l
F	Flux	mm s ⁻¹ μl ⁻¹
Q	Flussrate	ml s ⁻¹
<v>	mittlere Geschwindigkeit	mm s ⁻¹
v _{rms} = <v ² > ^{1/2}	Wurzel aus der mittleren quadratischen Geschwindigkeit (engl.: <i>Root Mean Square</i>)	mm s ⁻¹
HKT	Hämatokrit: Volumenanteil zellulärer Bestandteile im Blut	vol%
HGB	Hämoglobinkonzentration im Blut	g/dl
RBC	Konzentration der Erythrozyten im Blut	μl ⁻¹
c _{Ery}	Konzentration der Erythrozyten im Gewebe	μl ⁻¹
S	Beitrag der Erythrozyten zur Streuung im Gewebe	dimensionslos
M _{HGB}	Molmasse von Hämoglobin: M _{HGB} = 64500 g/mol	g/mol
f _{Blut}	Volumenanteil des Blutes im Gewebe	vol%
f _{sca}	Volumenanteil der streuenden Partikel	vol%
f _{Mel}	Volumenanteil der Melanosomen in der Epidermis	vol%
R	Fresnel-Koeffizient oder Regressionskoeffizient	dimensionslos
σ(x,z)	2-dimensionale Wechselwirkungsmatrix der detektierten Photonen	b. E.
d	Eindringtiefe der detektierten Photonen	mm
δ _{Epi}	Relativer Anteil der Weglänge der detektierten Photonen in der Epidermis	%
ξ	Zufallszahl ξ ∈]0,1]	dimensionslos
ρ, r _{DQ}	Abstand zwischen Quell- und Detektorfaser	mm

Liste häufig verwendeter Abkürzungen

Abkürzung	Bedeutung
APD	Avalanche-Photodiode
b. E.	beliebige Einheiten
DK	digitaler Korrelator
DWS	Diffusing Wave Spectroscopy
FD	engl.: <i>Frequency Domain</i> , Frequenz-Domäne
FD-DS Spektroskopie	Kombination von Frequency-Domain Spektroskopie und dynamischer Streulicht-Spektroskopie
Hb	Hämoglobin
HbO ₂	Oxyhämoglobin
<i>in vivo</i>	im lebenden Organismus
LD	Laserdiode
LDF	Laser Doppler Fluxmetrie
LITT	laserinduzierte interstitielle Thermotherapie
MBL	mikroskopisches Beer-Lambert Gesetz
NIR	engl.: <i>near infrared</i> , naher infraroter Spektralbereich
PC	Personal Computer
PMT	Photomultiplier
QELS	Quasi-Elastic Light Scattering
RD	diffuse Reflexion
<i>sub partu</i>	während der Geburt
TC	kollimierte Transmission
TD	diffuse Transmission
TT	totale Transmission

1. Einleitung

Mit der Entwicklung des ersten Lasers im Jahre 1960 stand eine Lichtquelle zur Verfügung, für die ein großes Anwendungspotenzial in zahlreichen Bereichen der Naturwissenschaft und Technik existiert. In den folgenden Jahren wurde das Spektrum der Einsatzgebiete durch die Konstruktion zahlreicher neuer Lasertypen ständig erweitert. Auch in der Medizin wurden durch die Verwendung von Lasern in therapeutischen und diagnostischen Verfahren erhebliche Fortschritte erzielt [5,79,96]. Dabei hat sich das Verständnis der komplizierten Prozesse bei der Wechselwirkung der Laserstrahlung mit biologischen Geweben als Grundlage für eine erfolgreiche Anwendung herausgestellt.

Einen wichtigen Aspekt stellt in diesem Zusammenhang die Untersuchung der Ausbreitung der Laserstrahlung im Gewebe dar. Es zeigt sich, dass die Lichtausbreitung im sichtbaren und nahen infraroten Spektralbereich für die meisten biologischen Gewebe durch Streuung und Absorption dominiert wird [22]. Für solche Objekte hat sich in der Literatur der Begriff trübe Medien etabliert. Daher können die theoretischen Modelle zur Berechnung der Lichtausbreitung trüber Medien auch auf den biomedizinischen Bereich übertragen werden. Insbesondere wurden durch den Einsatz von Messverfahren zur Bestimmung der optischen Eigenschaften trüber Medien neue diagnostische Methoden zur Untersuchung physiologischer und metabolischer Prozesse im Organismus ermöglicht [19,37]. Ein Beispiel dafür ist die Frequency-Domain Spektroskopie [34,84,122]. In der biomedizinischen Optik kann die Frequency-Domain Spektroskopie zur *in vivo* Messung der Sauerstoffsättigung verwendet werden [35,42,54,134]. Dieses Verfahren basiert darauf, dass sich die Absorptionskoeffizienten von Hämoglobin und Oxyhämoglobin im sichtbaren und nahen infraroten Spektralbereich voneinander unterscheiden [71,72,88].

Ein weiterer Aspekt bei der Ausbreitung von Licht in trüben Medien wird bei der Berücksichtigung von Kohärenzeffekten deutlich. So zeigt es sich, dass bei der Streuung von kohärenter Laserstrahlung an beweglichen Partikeln Fluktuationen der Intensität des Streulichtes auftreten. Diese Fluktuationen beinhalten Informationen über die Bewegung der Streuer im Medium. Auf dieser Grundlage sind verschiedene Verfahren zur Untersuchung der dynamischen Prozesse in trüben Medien eingeführt worden, die unter dem Begriff dynamische Streulicht-Spektroskopie zusammengefasst werden [7,8,9,18]. Eine Anwendung der dynamischen Streulicht-Spektroskopie im medizinischen Bereich zur Untersuchung von Geweben ist unter dem Namen Laser Doppler Fluxmetrie bekannt [16,60,111,115]. Dabei wird das kohärente Licht eines Lasers an den beweglichen Erythrozyten im Gewebe gestreut und die Fluktuationen des Streulichtes mit einem geeigneten Gerät gemessen. Auf diese Weise kann die Durchblutung des Gewebes untersucht werden. Als Maß für die Durchblutung wird dabei der Flux bestimmt, der als das Produkt der mittleren Geschwindigkeit und der Konzentration der Erythrozyten im Gewebe definiert ist.

Eine nicht-invasive *in vivo* Untersuchung des Zustandes biologischer Gewebe ist in der Medizin von großer Bedeutung. Nahezu alle biologischen Gewebe sind von einem dichten Netz von Blutgefäßen durchzogen. Dadurch wird eine Versorgung des Gewebes mit lebensnotwendigen Substanzen wie z.B. Sauerstoff gewährleistet. In der Medizin werden physiologische Gewebeparameter eingeführt, um den Zustand eines Gewebes bezüglich der Durchblutung zu charakterisieren. Dazu gehören die Sauerstoffsättigung, der Gesamt-

hämoglobingehalt, der Flux und die mittlere Geschwindigkeit der Erythrozyten. Eine Messung von Gewebeparametern ist aus medizinischer Sicht aus verschiedenen Gründen von Interesse. So gehen einige Krankheiten mit einer pathologischen Veränderung der Gewebeparameter einher. Beispielsweise kommt es bei der Zuckerkrankheit (Diabetes mellitus) zu einer Beeinträchtigung der Mikrozirkulation der Haut, die schwere Folgen bis hin zum Gewebstod haben kann [3,75,116]. Eine Messung der Gewebeparameter liefert wichtige Informationen über das Ausmaß der Gewebeerstörung. Auch eine unzureichende Sauerstoffversorgung des Feten während der Geburt (*sub partu*) kann zu einer Gefährdung des Feten führen [134,136]. Daher spielt das fetale Sauerstoffmonitoring *sub partu* eine wichtige Rolle bei der Geburtsüberwachung. Eine Messung von Gewebeparametern ist auch während der laserinduzierten interstitiellen Thermotherapie (LITT) sinnvoll [118,120]. Bei diesem Verfahren werden Tumoren durch Bestrahlung mit dem Licht eines Lasers koaguliert und zerstört. Durch eine Messung von Gewebeparametern während der Behandlung kann eine on-line Kontrolle des Therapieverlaufes durchgeführt werden [120]. Andere Anwendungen der Messung von Gewebeparametern finden sich in der Dermatologie, der plastischen Chirurgie, der Anästhesiologie und der Intensivmedizin [29].

Die Verfahren, die derzeit in der klinischen Praxis zur Messung von Gewebeparametern eingesetzt werden, weisen verschiedene Nachteile auf. So ist mit den gängigen Verfahren wie Pulsoxymetrie (arterielle Sauerstoffsättigung) [71,72,74,109], NIR-Spektroskopie (Near-Infrared Spectroscopy, Sauerstoffsättigung und Gesamthämoglobingehalt) [20,24,132] oder Laser Doppler Fluxmetrie (Flux) [16,111,115] keine absolute Messung der Gewebeparameter möglich. Vielmehr müssen die Geräte zunächst kalibriert werden, was eine Quelle von systematischen Messfehlern ist. Dies stellt stets eine Unsicherheit bei der Interpretation der Messwerte dar. Dadurch wird auch ein Vergleich der Messdaten, die an verschiedenen Körperregionen oder an verschiedenen Probanden gewonnen werden, erschwert. Ein Nachteil bei der Pulsoxymetrie stellen die dafür benötigten vergleichsweise voluminösen Applikatoren dar. Daher ist dieses Verfahren für eine Messung der Gewebeparameter bei kompakter Messgeometrie, wie sie beispielsweise für einen endoskopischen Einsatz erforderlich ist, nur beschränkt einsetzbar. Ein Nachteil der Laser Doppler Fluxmetrie besteht in der Tatsache, dass damit keine separate Bestimmung der Geschwindigkeit und der Konzentration der Erythrozyten im Gewebe möglich ist. Daher beinhaltet der mittels Laser Doppler Fluxmetrie gemessene Flux immer mehrdeutige Informationen. Aus diesem Grunde ist von verschiedenen Autoren eine Kombination der Laser Doppler Fluxmetrie mit anderen Messverfahren vorgeschlagen worden [29,76]. Die dazu entwickelten Geräte erlauben jedoch nur eine qualitative Messung der Geschwindigkeit der Erythrozyten im Gewebe.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass derzeit kein Messverfahren existiert, welches eine absolute *in vivo* Bestimmung der Sauerstoffsättigung, des Gesamthämoglobingehaltes, des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten bei kompakter Messgeometrie ermöglicht. Ein solches Messverfahren wurde erstmals im Rahmen dieser Arbeit entwickelt. Dazu wurde eine Kombination der Frequency-Domain Spektroskopie mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie, im folgenden auch FD-DS Spektroskopie genannt, vorgenommen. Eine wesentliche Voraussetzung für die Entwicklung des neuen Messverfahrens war die Anwendung neuer theoretischer Modelle zur Auswertung

der Messdaten. Dazu werden das modifizierte mikroskopische Beer-Lambert Gesetz [120,135,136] und die Korrelations-Transport-Theorie [30] eingesetzt. Zunächst werden in dieser Arbeit die Grundlagen bei der Wechselwirkung von Licht mit Materie beschrieben. Darin wird auch eine Einführung in die optischen Eigenschaften von Blut und humaner Haut gegeben. Das Kapitel schließt mit einer Beschreibung verschiedener Methoden zur Messung von Gewebeparametern. Das anschließende Theoriekapitel ist in zwei Teile gegliedert. Im ersten Teil werden verschiedene Modelle zur Ausbreitung von Licht in trüben Medien beschrieben. Dazu gehören die Strahlungstransportgleichung, die Diffusionsapproximation, das modifizierte mikroskopische Beer-Lambert Gesetz sowie Monte Carlo Simulationen. Der zweite Teil untersucht Kohärenzeffekte bei der Streuung von Licht in trüben Medien. Darin findet eine detaillierte Beschreibung der Korrelations-Transport-Theorie und eine Diskussion deren Anwendung zur Messung von Gewebeparametern statt. Im Kapitel Methoden und Materialien erfolgt eine Beschreibung der in dieser Arbeit verwendeten Geräte. Insbesondere wird der Aufbau des FD-DS Spektrometers behandelt. Des Weiteren wird die Herstellung von Phantomen beschrieben deren optische und dynamische Eigenschaften denen von biologischen Geweben ähnlich sind. Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Arbeit zusammengefasst. Dazu werden zunächst Monte Carlo Simulationen zur Lichtausbreitung in humaner Haut durchgeführt. Es folgen Messungen an den Gewebephantomen, auf deren Grundlage die Anwendung der dynamischen Streulicht-Spektroskopie zur Untersuchung der Durchblutung biologischer Gewebe diskutiert wird. Anschließend werden erste *in vivo* Messungen der Gewebeparameter präsentiert. Dazu wurden in einem ersten Versuch die Gewebeparameter bei einem freiwilligen, gesunden Probanden während einer provozierten Störung der Durchblutung bestimmt. In einer zweiten Messreihe wurden die mit dem FD-DS Spektrometer und einem kommerziellen Gerät gemessenen Gewebeparameter miteinander verglichen. Die Arbeit schließt mit einer Diskussion der erzielten Ergebnisse.

2. Grundlagen

2.1 Wechselwirkung von Licht mit Materie

Trifft Licht auf Materie, so übt die Materie einen Einfluss auf die Ausbreitung des Lichtes aus. Die Wechselwirkung zwischen Licht und Materie ist an komplizierte Prozesse gekoppelt, die in den meisten Fällen nicht im Detail beschrieben werden können. So wird Licht beim Auftreffen auf ein biologisches Gewebe an zahlreichen mikroskopischen Strukturen, wie z.B. Zellen, Zellkernen und Mitochondrien, gestreut, deren genaue Form und Lage nicht bekannt ist. Dennoch ist es möglich, die Ausbreitung von Licht in Materie zu beschreiben. Die physikalischen Größen, die zu diesem Zweck eingeführt werden, sind die optischen Eigenschaften der Materie. Diese sind:

- der Brechungsindex n
- der Absorptionskoeffizient μ_a [1/mm]
- der Streukoeffizient μ_s [1/mm]
- die Streuphasenfunktion $p(\vec{s}, \vec{s}')$
- sowie der daraus abgeleitete Anisotropiefaktor g

Die optischen Eigenschaften eines Mediums hängen im Allgemeinen von der Wellenlänge des Lichtes ab. In den folgenden Kapiteln werden die optischen Eigenschaften definiert und deren Bedeutung für die Ausbreitung von Licht in einem Medium diskutiert.

2.1.1 Brechungsindex

Der Brechungsindex n eines Mediums ist definiert als das Verhältnis der Phasengeschwindigkeit c_0 des Lichtes im Vakuum zur Phasengeschwindigkeit c_n des Lichtes im Medium:

$$n = \frac{c_0}{c_n} \quad (2.1)$$

In der klassischen Dispersionstheorie werden die Elektronen und die Atomrümpfe in einem Medium als Oszillatoren betrachtet, die beim Durchgang einer elektromagnetischen Welle erzwungene Schwingungen ausführen [77]. Für das Medium können N Eigenfrequenzen $f_k = \omega_k/(2\pi)$ mit $1 < k \leq N$ entsprechend einer Wellenlänge $\lambda_k = c_n/f_k$ berücksichtigt werden. In der Dispersionstheorie wird gezeigt, dass für den Brechungsindex bei einer Wellenlänge λ in genügend großem Abstand von den Eigenfrequenzen gilt:

$$n^2(\lambda) = 1 + \sum_{k=1}^N \frac{A_k \lambda^2}{\lambda^2 - \lambda_k^2} \quad (2.2)$$

Gleichung (2.2) wird als Sellmeier-Formel bezeichnet, die Größen A_k und λ_k werden Sellmeier-Koeffizienten genannt. In der Literatur sind Sellmeier-Koeffizienten für verschiedene Substanzen veröffentlicht worden. Abbildung 2.1 zeigt den mit den angegebenen Sellmeier-Koeffizienten berechneten Verlauf des Brechungsindex von Wasser

[100], Polystyren [100] und Epoxyharz [119] im Wellenlängenbereich zwischen 400 und 900 nm.

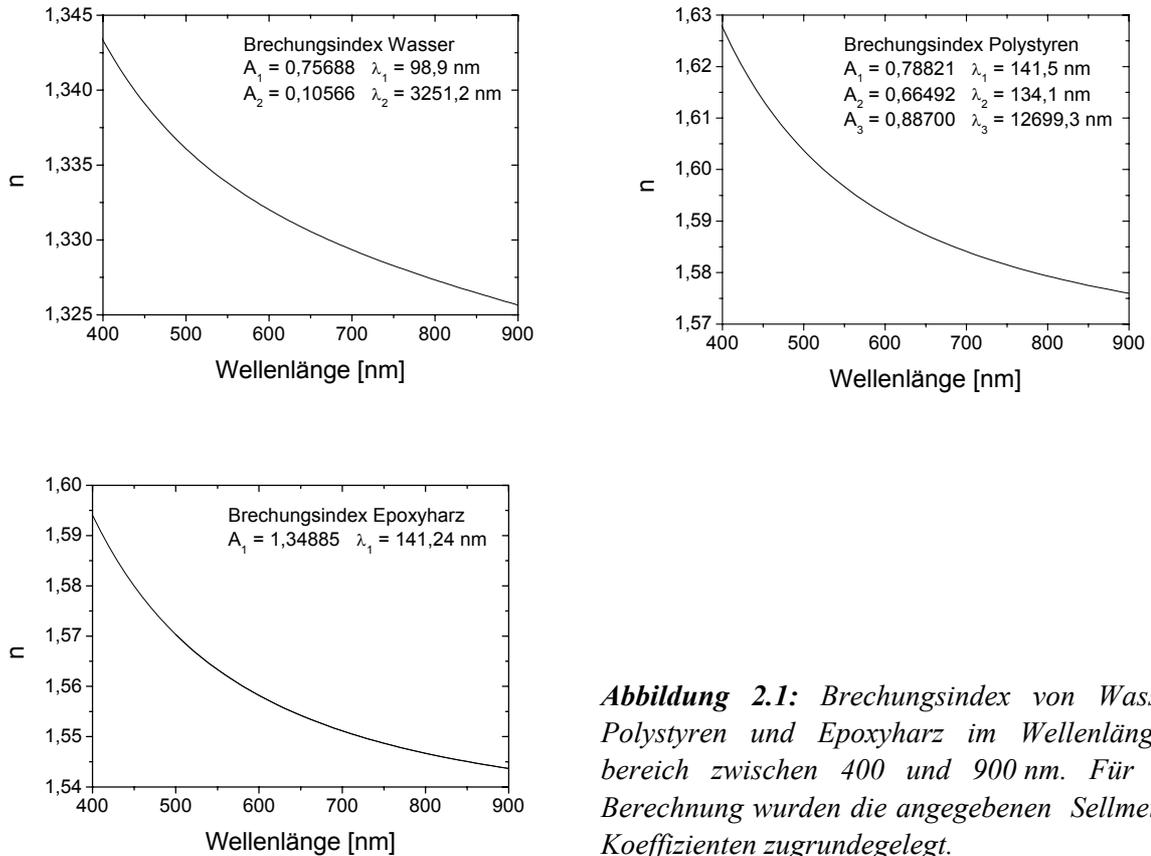


Abbildung 2.1: Brechungsindex von Wasser, Polystyren und Epoxyharz im Wellenlängenbereich zwischen 400 und 900 nm. Für die Berechnung wurden die angegebenen Sellmeier-Koeffizienten zugrundegelegt.

Darüber hinaus sind auch die Brechungsindizes biologischer Gewebe in der Literatur beschrieben worden [100]. Für den Brechungsindex von nativer Mäusehaut wurde von GOTTSCHALK im Wellenlängenbereich zwischen 456 nm und 1064 nm ein konstanter Wert von $n_{\text{Haut}} = 1,40$ gefunden [99].

2.1.2 Brechung und Reflexion

Trifft eine elektromagnetische Welle, die sich in einem Medium mit Brechungsindex n_1 ausbreitet, auf eine Grenzfläche zu einem Medium mit dem Brechungsindex n_2 , so wird ein Teil der Welle an der Grenzfläche reflektiert (Abbildung 2.2).

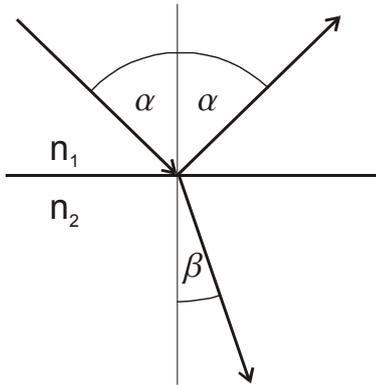


Abbildung 2.2: Reflexion und Brechung von Licht an einer Grenzfläche

Das Verhältnis von einfallender zu reflektierter Lichtintensität $R=I_R/I_0$ hängt vom Einfallswinkel α , vom Verhältnis der Brechungsindizes $n=n_2/n_1$ und von der Polarisation der Welle ab [78]. Die Reflektivität einer parallel (R_{\parallel}) bzw. senkrecht (R_{\perp}) zur Einfallsebene polarisierten Welle beträgt:

$$R_{\parallel} = \left(\frac{n^2 \cos(\alpha) - \sqrt{n^2 - \sin^2(\alpha)}}{n^2 \cos(\alpha) + \sqrt{n^2 - \sin^2(\alpha)}} \right)^2 \quad (2.3)$$

$$R_{\perp} = \left(\frac{(\sqrt{n^2 - \sin^2(\alpha)} - \cos(\alpha))^2}{n^2 - 1} \right)^2$$

Für die Reflektivität von unpolarisiertem Licht gilt:

$$R = \frac{R_{\parallel} + R_{\perp}}{2} \quad (2.4)$$

Der Teil der Welle, der in das zweite Medium eindringt, wird gemäß des Snellius'schen Gesetzes an der Grenzfläche gebrochen:

$$\frac{\sin(\alpha)}{\sin(\beta)} = \frac{n_2}{n_1} \quad (2.5)$$

Darin ist β der Winkel, den die Ausbreitungsrichtung der transmittierten Welle mit der Normalen der Grenzfläche bildet. Für den Transmissionskoeffizienten T , der definiert ist als das Verhältnis der Intensitäten der einfallenden und der transmittierten Welle, gilt:

$$T = 1 - R \quad (2.6)$$

2.1.3 Absorption und Streuung

Unter Absorption versteht man den Prozess, bei dem ein Photon beim Durchgang durch ein Medium seine gesamte Energie an die Umgebung abgibt. Die Wahrscheinlichkeit $P_a(l)$, dass

ein Photon eine Strecke l im Medium zurücklegt, ohne absorbiert zu werden, sinkt exponentiell mit dem zurückgelegten Weg:

$$P_a(l) = \exp(-\mu_a \cdot l) \quad (2.7)$$

Die Größe μ_a wird als Absorptionskoeffizient bezeichnet. Eine andere Form der Wechselwirkung ist die elastische Streuung von Photonen. Bei diesem Prozess ändert ein Photon seine Bewegungsrichtung, ohne Energie an die Umgebung abzugeben. Für die Wahrscheinlichkeit $P_s(l)$, dass das Photon eine Strecke l zurücklegt, ohne gestreut zu werden, gilt entsprechend:

$$P_s(l) = \exp(-\mu_s \cdot l) \quad (2.8)$$

Darin ist μ_s der Streukoeffizient des Mediums. Die Richtung, in der dabei das Photon gestreut wird, ist gegeben durch den Steuwinkel ϑ (Abbildung 2.3) und den Polarwinkel φ .

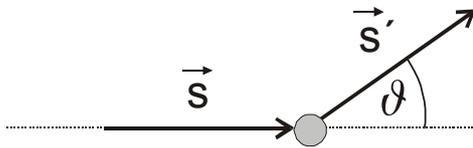


Abbildung 2.3: Zur Definition des Streuwinkels ϑ

In der Streutheorie wird die Richtungscharakteristik der Streuung durch die normierte Streuphasenfunktion $p(\vec{s}, \vec{s}')$ angegeben. Darunter versteht man die Wahrscheinlichkeitsdichteverteilung dafür, dass ein Photon bei einer Wechselwirkung aus der Richtung \vec{s} in die Richtung \vec{s}' gestreut wird. Die Normierung erfolgt so, dass das Integral der Phasenfunktion über den gesamten Raumwinkel 1 ergibt:

$$\int_{4\pi} p(\vec{s}, \vec{s}') d\Omega = 1 \quad (2.9)$$

Eine wichtige, aus der Phasenfunktion abgeleitete Größe ist der Anisotropiefaktor g . Dieser ist definiert als Erwartungswert des Kosinus des Streuwinkels:

$$g = \langle \cos(\vartheta) \rangle = \int_{4\pi} (\vec{s} \cdot \vec{s}') p(\vec{s}, \vec{s}') d\Omega \quad (2.10)$$

Gemäß dieser Definition kann der Anisotropiefaktor Werte aus $[-1, 1]$ annehmen. Im Falle von $g > 0$ ist die Streuung vorwärts gerichtet, während $g < 0$ eine Rückwärtscharakteristik der Streuung bedeutet. Für isotrope Streuung oder Rayleigh Streuung dagegen gilt $g = 0$ (Abbildung 2.4).

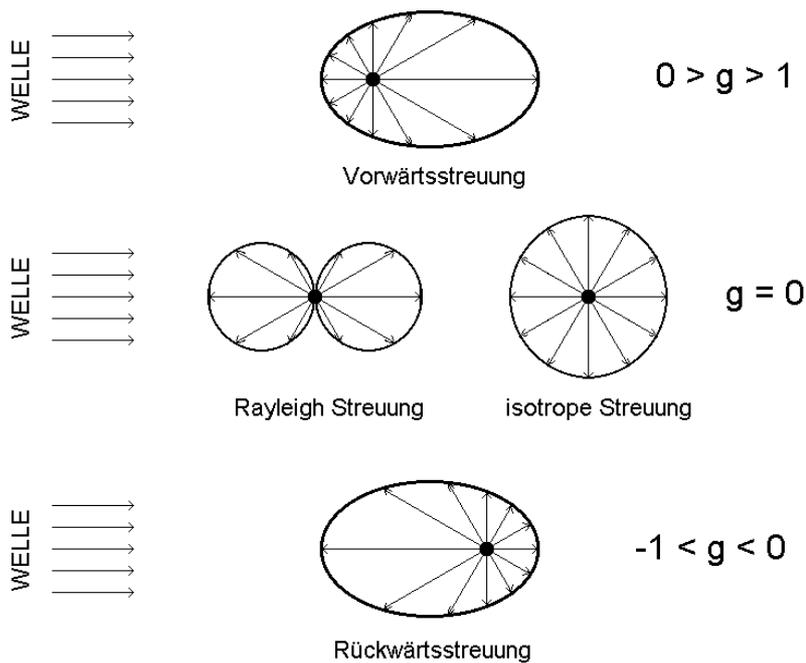


Abbildung 2.4: Richtungscharakteristik der Streuung für verschiedene Werte des Anisotropiefaktors g nach [136]

In der Vergangenheit sind die Phasenfunktionen verschiedener Streuer experimentell untersucht worden. Dabei hat es sich gezeigt, dass in vielen Fällen in guter Näherung die Henyey-Greenstein Phasenfunktion p_{HG} [52] angenommen werden kann:

$$p_{HG}(\vartheta) = \frac{1}{4\pi} \frac{1 - g^2}{(1 + g^2 - 2g \cos(\vartheta))^{3/2}} \quad (2.11)$$

Die Henyey-Greenstein Phasenfunktionen hängt nur vom Streuwinkel ϑ , nicht jedoch vom Polarwinkel φ ab. Dieses Verhalten ist stets für isotrope Medien, in denen die Streuer eine statistische Orientierung im Raum aufweisen, zu erwarten. Die Henyey-Greenstein Phasenfunktion hat sich auch bei der Beschreibung von Streuprozessen in biologischen Geweben bewährt. Abbildung 2.5 zeigt deren Verlauf für verschiedene Werte des Anisotropiefaktors.

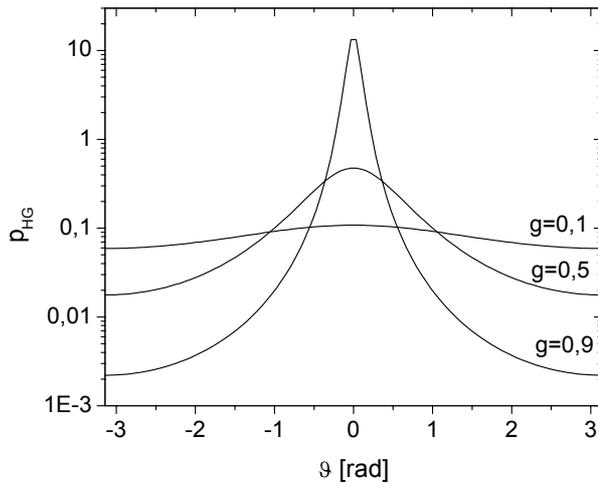


Abbildung 2.5: Henyey-Greenstein Phasenfunktion für verschiedene Werte des Anisotropiefaktors g

Für Objekte, in denen die Ausbreitung von Licht durch Streuung und Absorption dominiert wird, hat sich in der Literatur der Begriff „trübe Medien“ etabliert. In einem trüben Medium bewegen sich Photonen zwischen zwei Wechselwirkungen geradlinig und ändern bei einem Streueignis ihre Richtung, so dass sich als Trajektorie ein Zickzack-Pfad ergibt (Abbildung 2.6). Die Photonen werden entweder im Medium absorbiert oder treten aus der Oberfläche des Objektes aus. Treten die Photonen auf der der Lichtquelle zugewandten Seite aus, so spricht man von diffuser Reflexion, während zur diffusen Transmission die Photonen beitragen, die das Medium auf der der Lichtquelle abgewandten Seite verlassen. Unter der kollimierten Transmission versteht man den Anteil des Lichtes, der das Medium ohne Wechselwirkung passiert.

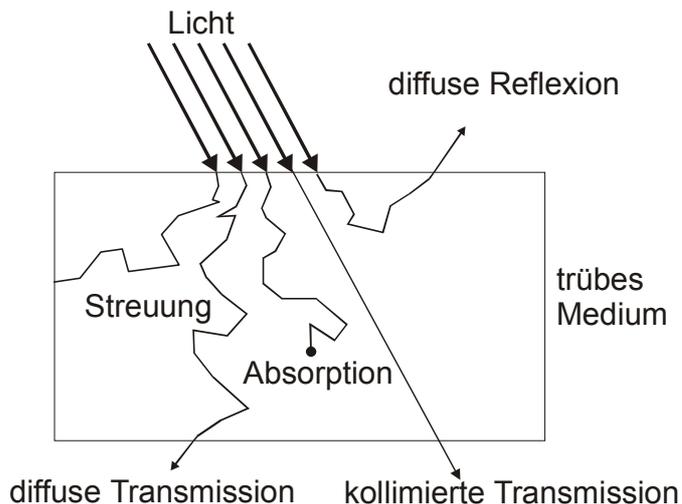


Abbildung 2.6: Ausbreitung von Licht in einem trüben Medium. Die Trajektorien der Photonen werden durch die optischen Eigenschaften des Mediums bestimmt.

Neben den hier beschriebenen optischen Eigenschaften gibt es eine Reihe weiterer, daraus abgeleiteter Größen, die hier erwähnt werden sollen. Unter dem totalen Schwächungskoeffizienten μ_t versteht man die Summe aus Absorptions- und Streukoeffizient:

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s \quad (2.12)$$

Der reziproke Wert der totalen Schwächungskoeffizienten ist die mittlere freie Weglänge der Photonen:

$$l_f = \frac{1}{\mu_t} = \frac{1}{\mu_a + \mu_s} \quad (2.13)$$

Die Albedo a ist das Verhältnis vom Streukoeffizienten zum totalen Schwächungskoeffizienten:

$$a = \frac{\mu_s}{\mu_t} = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} \quad (2.14)$$

Der reduzierte Streukoeffizient μ_s' ist definiert als:

$$\mu_s' = \mu_s(1 - g) \quad (2.15)$$

Unter dem Transportkoeffizienten μ_{tr} versteht man die Größe:

$$\mu_{tr} = \mu_s' + \mu_a \quad (2.16)$$

Der reziproke Wert des Transportkoeffizienten schließlich wird als Transportweglänge l_{tr} bezeichnet:

$$l_{tr} = \frac{1}{\mu_{tr}} = \frac{1}{\mu_a + \mu_s(1 - g)} \quad (2.17)$$

Die Bestimmung der optischen Eigenschaften trüber Medien ist in zahlreichen Gebieten von Naturwissenschaft, Technik und Medizin von großem Interesse. In den folgenden beiden Kapiteln werden verschiedene Verfahren beschrieben, die dazu eingesetzt werden.

2.2 Bestimmung von optischen Eigenschaften in trüben Medien

2.2.1 Ulbrichtkugel-Spektroskopie

Ein gängiges Verfahren zur Bestimmung von optischen Eigenschaften trüber Medien ist die Ulbrichtkugel-Spektroskopie [85,98]. Mit Ulbrichtkugeln kann die Intensität von diffusem Licht über einen großen Raumwinkelbereich gemessen werden [125]. Sie bestehen aus einem kugelförmigen Hohlraum, der mit einer hochreflektierenden, nicht-absorbierenden Schicht aus Bariumsulfat oder Spektralon überzogen ist. Dringt Licht durch eine Öffnung in den Hohlraum ein, so bildet sich im Inneren der Kugel durch vielfache Reflexion an der Oberfläche ein diffuses Strahlungsfeld aus, dessen Intensität mit einer Photodiode gemessen wird. Der Beitrag, den ein Photon zum diffusen Strahlungsfeld in der Kugel liefert, ist unabhängig von der Richtung, aus der das Photon durch die Öffnung in die Kugel gelangt ist. Der schematische Aufbau eines Ulbrichtkugel-Spektrometers ist in Abbildung 2.7 gezeigt:

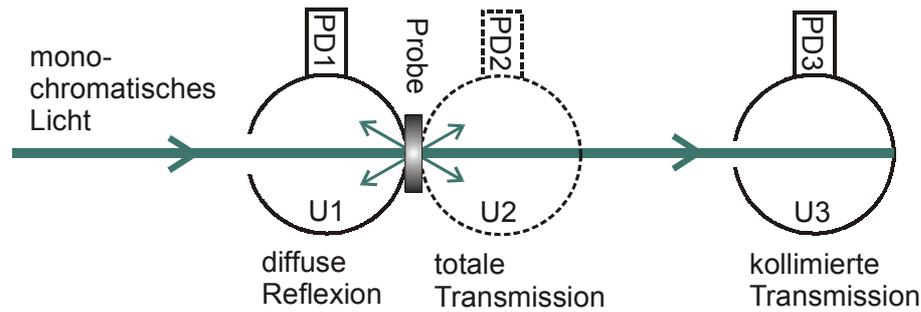


Abbildung 2.7: Schematischer Aufbau eines Ulbrichtkugel-Spektrometers. Mit den Ulbrichtkugeln U1-U3 wird die Intensität des von der Probe gestreuten bzw. transmittierten Lichtes gemessen.

Zur Bestimmung der optischen Eigenschaften mit einem Ulbrichtkugel-Spektrometer wird eine dünne Schicht einer Probe mit monochromatischem Licht beleuchtet. Mit Hilfe von Ulbrichtkugeln U1-U3 und der Photodioden PD1-PD3 werden die diffuse Reflexion RD, die kollimierte Transmission TC sowie die diffuse Transmission TD oder die totale Transmission TT des von der Probe gestreuten Lichtes gemessen. Daraus können die optischen Konstanten μ_a , μ_s und g z.B. mit Hilfe einer inversen Monte Carlo Simulation (vgl. Kapitel 3.1.5) berechnet werden. Prinzipiell besteht bei Ulbrichtkugelspektrometern die Möglichkeit, die diffuse Reflexion und Transmission gleichzeitig zu messen (Doppelkugel-Konfiguration). Dazu muss aber berücksichtigt werden, dass es Wechselwirkungen zwischen den Strahlungsfeldern der beiden Ulbrichtkugeln gibt. Um dies zu vermeiden ist es sinnvoll, die Messungen nacheinander durchzuführen (Einzelkugel-Konfiguration).

Mit Ulbrichtkugelspektrometern kann mit verhältnismäßig geringem Aufwand eine Bestimmung von optischen Eigenschaften über einen breiten Spektralbereich durchgeführt werden. Nachteile dieser Methode sind die für die inverse Monte Carlo Rechnung benötigten hohen Rechenzeiten sowie die Tatsache, dass diese Methode aufgrund der vorgegebenen Geometrie für eine *in vivo* Messung von optischen Eigenschaften nicht geeignet ist.

2.2.2 Zeitaufgelöste Streulichtspektroskopie

Unter zeitaufgelöster Streulichtspektroskopie versteht man Verfahren, mit denen neben der Intensität des von einem Objekt gestreuten Lichtes auch die Flugzeit der Photonen im Objekt untersucht wird. Bei diesem Verfahren bietet es sich an, die Beleuchtung der Probe und die Detektion des Streulichtes mit Lichtwellenleitern durchzuführen. Dadurch ist es bei der zeitaufgelösten Streulichtspektroskopie möglich, die Messgeometrie an die jeweilige Anwendung anzupassen. In Abbildung 2.8 ist als Beispiel eine Anordnung der Lichtwellenleiter in Reflexionsgeometrie gezeigt.

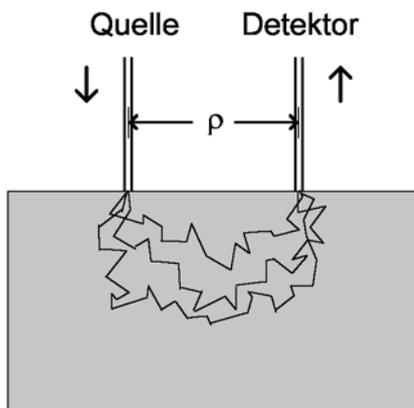


Abbildung 2.8: Anordnung der Lichtwellenleiter zur Bestimmung des von einem trüben Medium gestreuten Lichtes in Reflexionsgeometrie nach [136]. Einige Photonen werden durch das Medium in die Detektorfaser gestreut und können am proximalen Ende der Faser gemessen werden.

Zur Bestimmung der Flugzeit der Photonen in der Probe werden verschiedene Verfahren eingesetzt. Man unterscheidet zwischen Spektroskopie in der Zeitdomäne (Time-Domain Spectroscopy) [58,67,83] und Spektroskopie in der Frequenzdomäne (Frequency-Domain Spectroscopy) [34,38,84,122]. Bei der Streulichtspektroskopie in der Zeitdomäne wird die Probe mit einem gepulsten Laser beleuchtet (Abbildung 2.9). Der zeitliche Verlauf der Intensität des Laserpulses sei $I_S(t)$. Die Intensität $I_D(t)$ des von der Probe diffus reflektierten Lichtes wird mit einer hohen Zeitauflösung gemessen. Da die detektierten Photonen in der Probe unterschiedliche Weglängen zurücklegen, wird der ursprünglich kurze Lichtpuls beim Durchlaufen des Mediums aufgeweitet. Der zeitliche Verlauf der Intensität des Streulichtes hängt im Wesentlichen von den optischen Eigenschaften und der Geometrie der Probe sowie von der Anordnung der Lichtwellenleiter ab.

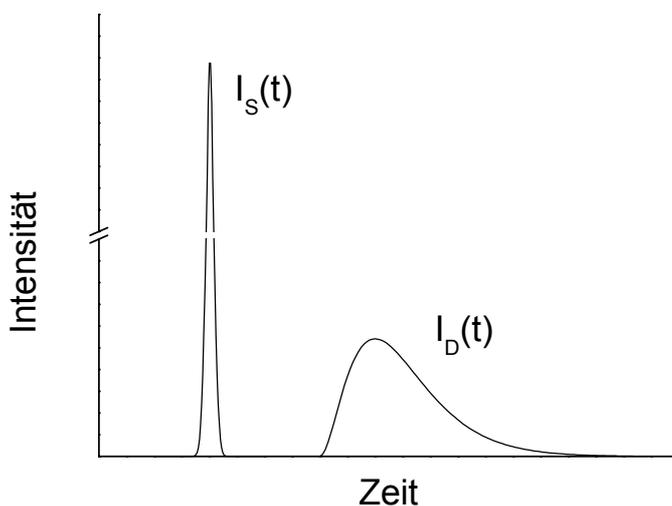


Abbildung 2.9: Schematische Darstellung des zeitlichen Verlaufs eines Laserpulses am Ort der Quelle und des Detektors in der Time-Domain Spektroskopie. Der kurze Puls eines Lasers wird beim Durchgang durch ein trübes Medium geschwächt und aufgeweitet.

Ein verwandter Ansatz ist die Streulichtspektroskopie in der Frequenzdomäne. Bei diesem Verfahren wird die Probe mit amplitudenmoduliertem Licht der Kreisfrequenz $\omega=2\pi f$ beleuchtet. Das amplitudenmodulierte Licht breitet sich in der Probe als Photonendichtewelle aus. Beim Durchgang des Lichtes durch das Medium findet eine Schwächung der Intensität der Photonendichtewelle um einen Betrag $A(\omega)$ und eine Phasenverschiebung um einen Winkel $\Phi(\omega)$ statt. Der zeitliche Verlauf der Intensität der Photonendichtewelle ist in Abbildung 2.10 gezeigt.

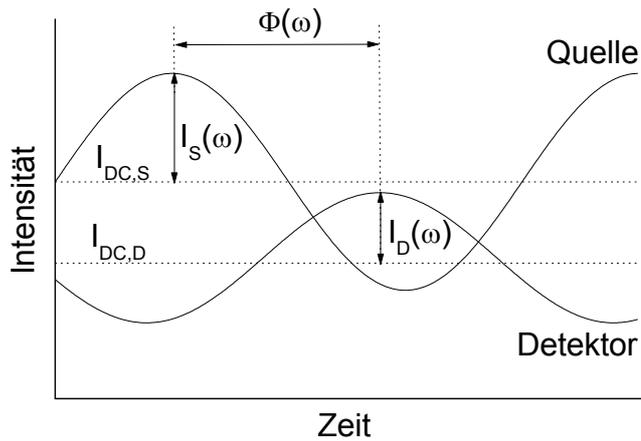


Abbildung 2.10: Schematische Darstellung des zeitlichen Verlaufs einer Photonendichtewelle am Ort der Quelle und des Detektors in der Frequency-Domain Spektroskopie. Das amplitudenmodulierte Licht erfährt beim Durchgang durch ein trübes Medium eine Schwächung und eine Phasenverschiebung.

Darin ist $I_S(\omega)$ die Amplitude der Photonendichtewelle am Ort der Quellfaser und $I_D(\omega)$ die Amplitude am Ort der Detektorfaser. Die relative Schwächung $A(\omega)$ der Photonendichtewelle ist definiert als Verhältnis aus eingestrahelter und detektierter Intensität:

$$A(\omega) = \frac{I_D(\omega)}{I_S(\omega)} \quad (2.18)$$

Eine mathematische Analyse zeigt, dass die beiden hier beschriebenen Verfahren äquivalent sind. Im Falle der Streulichtspektroskopie in der Zeitdomäne wird der Verlauf der Intensität der detektierten Photonen durch die Impulsantwortfunktion $h(t)$ bestimmt. Die am Detektor gemessene Intensität $I_D(t)$ folgt aus der Faltung des zeitlichen Verlaufes des Laserpulses $I_S(t)$ mit der Antwortfunktion:

$$I_D(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} h(t') I_S(t-t') dt' \quad (2.19)$$

Wird die Probe mit einem infinitesimal kurzen Puls beleuchtet ($I_S(t) = I_0 \cdot \delta(t)$), so ist die gemessene Intensität I_D proportional zur Antwortfunktion h .

In der Frequenzdomäne wird der Einfluss der Probe auf die Ausbreitung der Photonendichtewelle durch die Übertragungsfunktion $H(\omega)$ beschrieben. Der Betrag und das Argument der Übertragungsfunktion sind gegeben durch die Dämpfung $A(\omega)$ bzw. die Phasenverschiebung $\Phi(\omega)$ der Photonendichtewelle:

$$H(\omega) = A(\omega) \exp(-i\Phi(\omega)) \quad (2.20)$$

Es kann gezeigt werden, dass die Impulsantwortfunktion und die Übertragungsfunktion ein Fourier-Paar sind:

$$\begin{aligned}
 H(\omega) &= \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} h(t) \exp(-i\omega t) dt \\
 h(t) &= \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} H(\omega) \exp(i\omega t) d\omega
 \end{aligned}
 \tag{2.21}$$

Daher liefern Messungen in der Zeit- oder Frequenzdomäne prinzipiell die gleichen physikalischen Informationen.

In der Vergangenheit sind verschiedene Verfahren zur Bestimmung der optischen Eigenschaften einer Probe aus der im Experiment gemessenen Impulsantwort- oder Übertragungsfunktion beschrieben worden. Eine ausführliche Beschreibung der mathematischen Grundlagen dieser Verfahren folgt im Theorieteil dieser Arbeit. In diesem Zusammenhang seien vor allem die Diffusionsapproximation der Strahlungstransportgleichung (Kapitel 3.1.3) sowie inverse Monte Carlo Simulationen (Kapitel 3.1.5) genannt. Ein neues Verfahren, welches eine on-line Berechnung der optischen Eigenschaften auch bei kleinen Abständen zwischen Quell- und Detektorfaser ermöglicht, ist das mikroskopische Beer-Lambert Gesetz (Kapitel 3.1.4).

2.3 Eigenschaften von humanem Blut

Für die in dieser Arbeit beschriebenen Verfahren zur Messung von Gewebeparametern ist das Verständnis der Wechselwirkung von Licht mit dem Blut im Organismus von grundlegender Bedeutung. Daher erfolgt an dieser Stelle nach einer kurzen Einführung in die Physiologie des menschlichen Kreislaufs eine Beschreibung der Zusammensetzung und der Optik von humanem Blut. Darüber hinaus werden einige für diese Arbeit relevante Aspekte der Hämodynamik behandelt.

Das Herz-Gefäßsystem (kardiovaskuläres System) stellt das größte Transportsystem im menschlichen Organismus dar [137] (Abbildung 2.11).

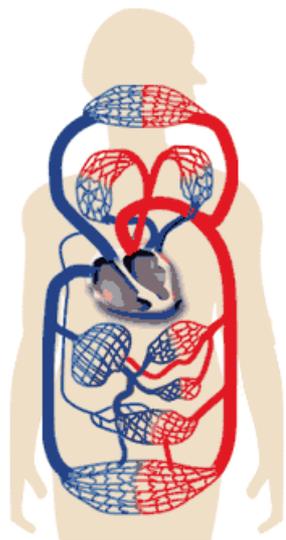


Abbildung 2.11: Schematisch Darstellung des Herz-Gefäßsystems im menschlichen Organismus.

Eine wichtige Aufgabe des kardiovaskulären Systems ist die Versorgung des Organismus mit Sauerstoff. Dabei übernimmt das Herz die Aufgabe einer Pumpe, mit der das Blut durch die

Gefäße befördert wird. Die Gefäße bilden ein geschlossenes System, durch das das Blut in Form eines Kreislaufs zirkuliert. Man unterteilt das Gefäßsystem in den Körperkreislauf und den Lungenkreislauf. Im Körperkreislauf fließt das Blut vom linken Ventrikel (linke Herzkammer) über die Aorta durch verschiedene Arterien in die Organe. Im weiteren Verlauf entstehen durch fortgesetzte Teilung in zunehmender Anzahl die kleinen Arterien, Arteriolen und Kapillaren. Die Kapillaren bilden ein enges Netz kleinster Gefäße mit einem Durchmesser von wenigen Mikrometern, in denen der Austausch von Sauerstoff mit dem Gewebe stattfindet. Die Kapillaren gehen ihrerseits in die Venolen über, die in abnehmender Anzahl über die kleinen Venen, die Venen und die Vena cava superior bzw. Vena cava inferior (obere und untere Hohlvene) in den rechten Vorhof münden. Im Lungenkreislauf fließt das Blut vom rechten Ventrikel (rechte Herzkammer) und die Arteria pulmonalis in das Lungengefäßsystem, das eine ähnliche Aufteilung wie das Körpergefäßsystem aufweist. In der Lunge wird das Blut mit Sauerstoff angereichert und gelangt über die Vena pulmonalis und den linken Vorhof in das linke Ventrikel, so dass der Blutkreislauf geschlossen wird. Die mittleren Strömungsgeschwindigkeiten von Blut in verschiedenen Gefäßsystemen ist von zahlreichen Autoren untersucht worden. In Tabelle 2.1 sind die von WITZLEB [137] angegebenen Werte zusammengefasst. Bei der Strömung von Blut durch Gefäße können Effekte wie z.B. eine Ausrichtung der Blutkörper [97] und eine erhöhte Konzentration von Blutkörpern in Regionen mit hoher Strömungsgeschwindigkeit festgestellt werden [137]. Aus diesem Grunde handelt es sich bei Blut um eine nicht-Newtonsche Flüssigkeit, d.h. die Viskosität von Blut hängt von dessen Strömungsgeschwindigkeit ab.

	Durchmesser [mm]	mittlere Geschwindigkeit [cm/s]
Aorta	20-25	20
kleine Arterien		10-5
sehr kleine Arterien		2
Arteriolen		0.2-0.3
Kapillaren	0.006	0.05-0.03
sehr kleine Venen		0.5-1
kleine Venen		1-5
große Venen	5-10	5-15
Vena cava	20-30	10-16

Tabelle 2.1: Mittlere Strömungsgeschwindigkeit von Erythrozyten in verschiedenen Gefäßsystemen nach [137]

Blut besteht aus dem flüssigen Blutplasma sowie den darin suspendierten zellulären Bestandteilen. Zu den zellulären Bestandteilen gehören die Erythrozyten (rote Blutzellen), die Leucozyten (weiße Blutzellen) sowie die Thrombozyten (Blutplättchen). Der Anteil der Blutzellen am Blutvolumen wird Hämatokrit (HKT) genannt. Die Normwerte des Hämatokrit sind 41 – 43 % für Frauen und 44 – 46 % für Männer [131]. Den größten Anteil der zellulären Blutbestandteile stellen die Erythrozyten dar. Die Durchschnittswerte für die Erythrozytenkonzentration im Blut (RBC) liegen bei $4,6 \cdot 10^6 \mu\text{l}^{-1}$ bei der Frau und $5,1 \cdot 10^6 \mu\text{l}^{-1}$ beim Mann [131]. Unter physiologischen Bedingungen weisen humane Erythrozyten eine

bikonkave Scheibenform auf und haben einen mittleren Durchmesser von $7,5\ \mu\text{m}$. Der Transport von Sauerstoff im Blut erfolgt in erster Linie in den Erythrozyten, in denen sich der rote Blutfarbstoff Hämoglobin befindet. Hämoglobin ist ein Protein mit einer Molmasse von $M_{\text{HGB}} = 64500\ \text{g/mol}$ [121], das in der Lage ist, bis zu vier Sauerstoffmoleküle (O_2) zu binden. In seiner oxygenierten Form spricht man von Oxyhämoglobin (HbO_2), während die sauerstofffreie Form als Desoxyhämoglobin (Hb) bezeichnet wird. Die Durchschnittswerte für die Hämoglobinkonzentration im Blut (HGB) betragen $14,0\ \text{g/dl}$ bei der Frau und $15,5\ \text{g/dl}$ beim Mann [121]. Dem entspricht ein mittlerer Hämoglobingehalt von $30\ \text{pg}$ pro Erythrozyt. Eine wichtige physiologische Größe ist die Sauerstoffsättigung $S[\text{O}_2]$ des Blutes. Darunter versteht man den prozentualen Anteil des oxygenierten Hämoglobins am Hämoglobingehalt HGB des Blutes. Typische Werte für die Sauerstoffsättigung eines gesunden Jugendlichen betragen $97\ \%$ für arterielles Blut und $73\ \%$ für venöses Blut [121].

Die optischen Eigenschaften von humanem Blut sind in der Literatur von verschiedenen Autoren beschrieben worden [88,97,140]. Die Absorption von Licht im sichtbaren und nahen infraroten Spektralbereich findet in erster Linie am Hämoglobin und an Oxyhämoglobin statt. In Abbildung 2.12 ist der Verlauf der molaren Extinktionskoeffizienten für beide Substanzen im Wellenlängenbereich zwischen 300 und $1000\ \text{nm}$ aufgetragen.

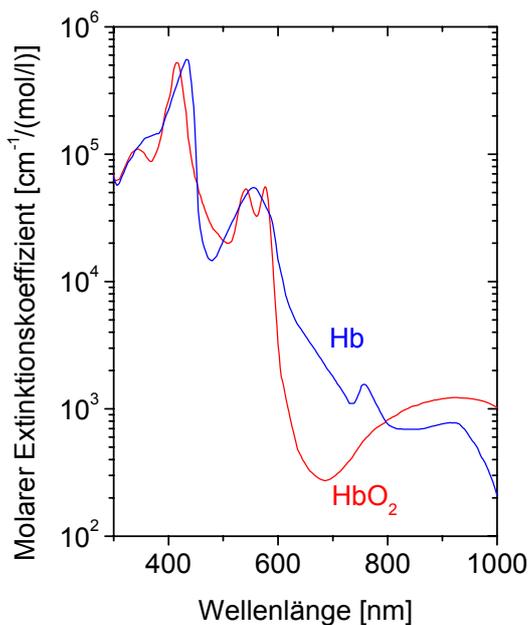


Abbildung 2.12: Molare Extinktionskoeffizienten von Hämoglobin (Hb) und Oxyhämoglobin (HbO_2) im Spektralbereich zwischen 300 und $1000\ \text{nm}$ nach [88].

Darin ist deutlich der Unterschied zwischen den Absorptionsspektren zu erkennen. Das Absorptionsspektrum von Oxyhämoglobin weist zwei Absorptionsbanden bei $577\ \text{nm}$ und $541\ \text{nm}$ auf, während Desoxyhämoglobin eine Absorptionsbande bei einer Wellenlänge von $555\ \text{nm}$ hat. Darüber hinaus absorbiert Oxyhämoglobin das Licht im Spektralbereich zwischen $600\ \text{nm}$ und $800\ \text{nm}$ schwächer, so dass sauerstoffreiches Blut eine hellrote Farbe hat, während sauerstoffarmes Blut einen dunkleren, bläulichen Farbton aufweist. Der Unterschied der Absorptionsspektren kann zur optischen Bestimmung der Sauerstoffsättigung genutzt werden (siehe Kapitel 2.5).

Aus den Extinktionskoeffizienten von Hämoglobin ϵ_{Hb} und Oxyhämoglobin ϵ_{HbO_2} kann der Absorptionskoeffizient $\mu_{\text{a,Blut}}$ von Blut mit einem Hämoglobingehalt HGB und einer Sauerstoffsättigung $S[\text{O}_2]$ nach JACQUES [56] wie folgt berechnet werden:

$$\mu_{a,Blut}(\lambda) = \ln(10) \frac{HGB}{M_{HGB}} \{S[O_2] \cdot \varepsilon_{HbO_2}(\lambda) + (100\% - S[O_2]) \cdot \varepsilon_{Hb}(\lambda)\} \quad (2.22)$$

Darin ist M_{HGB} die Molmasse von Hämoglobin. Eine detaillierte Untersuchung der optischen Eigenschaften von humanem Blut wurde von MÜLLER et al. durchgeführt [97]. Danach ist der Absorptionskoeffizient des Blutes proportional zum Hämatokrit. Dieses Verhalten ist auch nach Gleichung (2.22) zu erwarten, wenn man von einem konstanten Hämoglobingehalt pro Erythrozyt ausgeht. Dagegen wurden für den Streukoeffizienten und den reduzierten Streukoeffizienten nichtlineare Abhängigkeiten vom Hämatokrit beobachtet. So steigt der reduzierte Streukoeffizient bis zu einem Hämatokrit von 45 % zunächst linear an, geht dann jedoch in eine Sättigung. Dieses Verhalten wird durch eine Klusterbildung der Erythrozyten bei hohen Konzentrationen erklärt. Darüber hinaus wurde in [97] ein Einfluss der Osmolarität der Umgebung (Konzentration der osmotisch aktiven Moleküle in mol/l) auf den Absorptionskoeffizienten, den Streukoeffizienten und den Anisotropiefaktor des Blutes festgestellt. Eine Änderung der Osmolarität des Blutplasmas hat stets einen Wasseraustausch der Erythrozyten mit der Umgebung zur Folge. Dadurch ändern sich das Volumen sowie der Brechungsindex und die optische Weglänge des Lichtes im Inneren der Erythrozyten. Des Weiteren wurde eine Abhängigkeit der optischen Eigenschaften der Blutes von der Flussgeschwindigkeit beobachtet. In der Strömung wird in den Erythrozyten eine Scherspannung induziert, die Effekte wie eine Verformung der Membran, Sedimentation, reversible Agglomeration (Klusterbildung) oder eine Orientierung der Erythrozyten zur Folge hat.

2.4 Anatomie und Optik menschlicher Haut

Eine häufige Aufgabe in der medizinischen Praxis besteht in der Messung von Gewebeparametern in der Haut. Bei einer Anwendung optischer Messverfahren zur *in vivo* Bestimmung von Gewebeparametern müssen neben dem Einfluss des Blutes auch der Einfluss der umliegenden Gewebematrix auf die Lichtausbreitung in Betracht gezogen werden. Daher widmet sich dieses Kapitel der Beschreibung der Anatomie und der Optik menschlicher Haut.

Der Aufbau von humaner Haut ist schematisch in Abbildung 2.13 gezeigt [107]. Darin besteht die Haut aus drei Schichten. Die oberste Schicht ist die Oberhaut (Epidermis), die wiederum in fünf Schichten unterteilt wird. Sie besteht aus verhornten Plattenepithelzellen und hat je nach Körperregion eine Dicke zwischen 40 μm und 150 μm [82,136]. An den Innenseiten der Handflächen und an den Fußsohlen kann die Dicke der Epidermis auch größere Werte von etwa 0,4 mm bis 0,6 mm annehmen [82]. In der Oberhaut befinden sich die Melanozyten, die für die Bildung des Hautpigmentes Melanin verantwortlich sind [114]. Melanin absorbiert Licht über einen großen Spektralbereich und ist für die Tönung der Haut verantwortlich. Für den Organismus erfüllt Melanin eine wichtige Schutzfunktion, weil es eine Abschwächung des für den Organismus schädlichen ultravioletten Lichtes der Sonnenstrahlung bewirkt. Unter der Epidermis liegt die Lederhaut (Dermis), die vorwiegend aus Bindegewebe besteht und eine Dicke zwischen 1 mm und 4 mm aufweist [82]. In der Dermis befindet sich ein dichtes Netz aus kapillären, venösen und arteriellen Blutgefäßen [102,114]. Neben einer

Versorgung des Gewebes mit Blut erfüllen das Gefäßsystem in der Haut wichtige Funktionen bei der Temperaturregulation des Organismus [137]. Darüber hinaus spielen die venösen Gefäße der Dermis (subpapillärer Venenplexus) mit einer Kapazität von etwa 1500 ml eine wichtige Rolle als Blutdepot [137]. Unter der Dermis liegt die Subcutis (Unterhautfettgewebe), deren Dicke je nach betrachteter Körperregion variiert und Werte bis zu einigen Zentimetern annehmen kann [82]. Die Subcutis besteht in erster Linie aus Fettzellen und Bindegewebe und enthält ebenso wie die Dermis Blutgefäße.

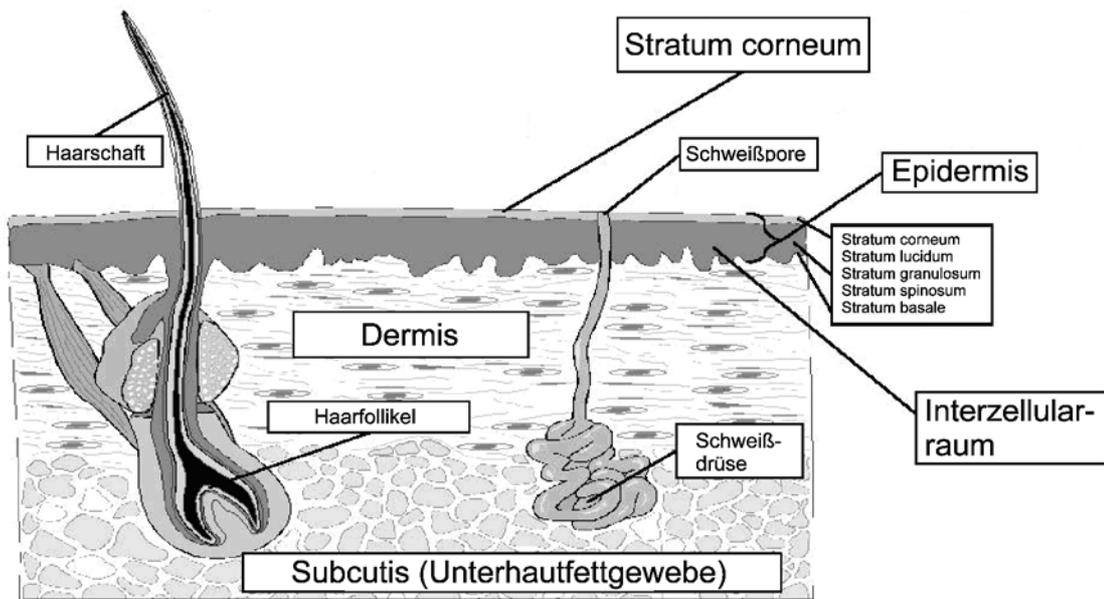


Abbildung 2.13: Anatomie humaner Haut nach [107]. Die Darstellung ist nicht maßstabsgetreu.

Die optischen Eigenschaften der Haut sind in der Vergangenheit von verschiedenen Gruppen untersucht worden [22,127]. Darin zeigt sich, dass die Hauptabsorber im sichtbaren und im nahen infraroten Spektralbereich Hämoglobin, Oxyhämoglobin und Melanin sind [56,57,70]. Darüber hinaus existieren in der Haut weitere Absorber wie DNA, Urocansäure, Aminosäuren, Elastin, Kollagen, Keratin, NADH und Wasser, die eine Untergrundabsorption verursachen. Um den Beitrag dieser Substanzen zur Absorption zu untersuchen, wurde von JACQUES [56] der Absorptionskoeffizient von unpigmentierter, blutfreier Haut gemessen. Als Näherung für die Untergrundabsorption $\mu_{a,baseline}$ humaner Haut wird darin folgende Formel angegeben:

$$\mu_{a,baseline}(\lambda) = \left(0,0244 + 8,53 \cdot \exp\left\{ -\frac{\{\lambda\} - 154}{66,2} \right\} \right) mm^{-1} \quad (2.23)$$

Darin ist für $\{\lambda\}$ wie auch in allen folgenden Näherungsformeln die Wellenlänge des Lichtes in [nm] einzusetzen.

Der Hauptabsorber in der Epidermis ist das Melanin. Dieses wird in den Melanosomen gebildet, einer Struktur mit einem Durchmesser von 1-2 μm . Für den Absorptionskoeffizienten der Melanosomen kann folgende Approximation verwendet werden [56]:

$$\mu_{a,mel} = (6,6 \cdot 10^{10} \cdot \{\lambda\}^{-3,33}) \text{mm}^{-1} \quad (2.24)$$

Der Volumenanteil f_{Mel} der Melanosomen hängt vom Hauttyp ab. Von JACQUES [56] werden für verschiedene Hauttypen folgende Werte angegeben:

Hauttyp	f_{Mel}
hellhäutig	1,3 – 6,3 %
mäßig pigmentiert	11 – 16 %
stark pigmentiert	18 – 43 %

Tabelle 2.2: Volumenanteil f_{mel} der Melanosomen in der Epidermis für verschiedene Hauttypen

Der Absorptionskoeffizient $\mu_{a,epi}$ der Epidermis kann dann anteilig aus der Hintergrundabsorption und der Melaninabsorption berechnet werden [56]:

$$\mu_{a,epi} = f_{Mel} \cdot \mu_{a,mel} + (1 - f_{Mel}) \mu_{a,baseline} \quad (2.25)$$

Abbildung 2.14 zeigt den so bestimmten Absorptionskoeffizienten der Epidermis für einen Melaningehalt von 5 %.

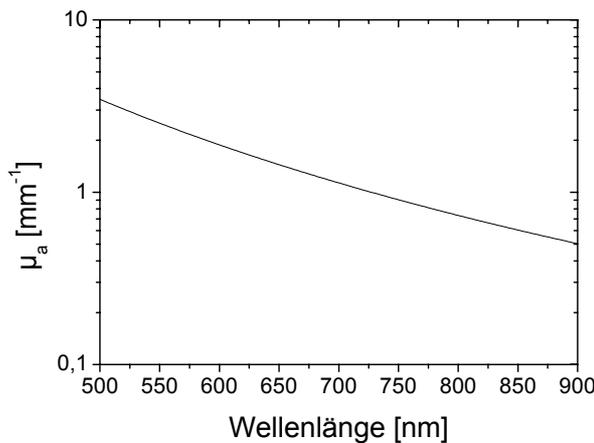


Abbildung 2.14: Absorptionskoeffizient der Epidermis bei einem Volumenanteil der Melanosomen von $f_{Mel}=5\%$

In der Dermis wird die Absorption von Licht in erster Linie durch das Hämoglobin und Oxyhämoglobin im Blut verursacht. Der mittlere Volumenanteil f_{Blut} von Blut in der Dermis unterliegt lokalen Schwankungen und ist von äußeren Einflüssen wie der Temperatur [137] und dem Druck [23] abhängig. Typische Werte für f_{Blut} liegen im Bereich von 5 % bis 10 %, es können jedoch je nach äußeren Bedingungen auch Abweichungen von diesem Wert beobachtet werden [137]. Der Absorptionskoeffizient der Dermis ergibt sich anteilig aus der Absorption des Blutes und der Untergrundabsorption zu [56]:

$$\mu_{a,Dermis}(\lambda) = f_{Blut} \mu_{a,Blut}(\lambda) + (1 - f_{Blut}) \mu_{a,baseline}(\lambda) \quad (2.26)$$

In Abbildung 2.15 ist der so berechnete Absorptionskoeffizient der Dermis für einen Blutgehalt von 5 % und eine Sauerstoffsättigung von 90 % aufgetragen. Darin wurde der Absorptionskoeffizient des Blutes nach Gleichung (2.22) bestimmt. Die Absorptionsbanden

bei einer Wellenlänge von etwa 550 nm in Abbildung 2.15 werden durch die Absorption von Hämoglobin und Oxyhämoglobin verursacht.

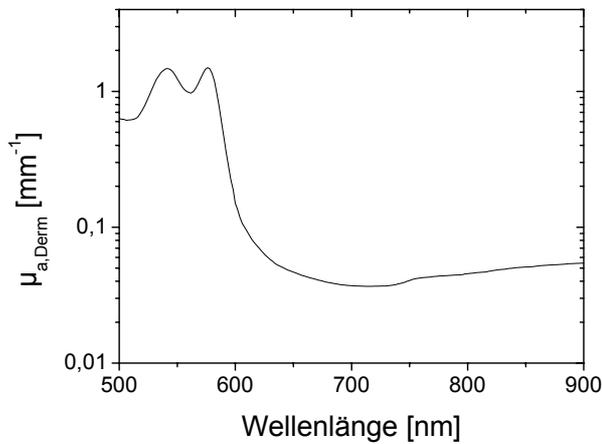


Abbildung 2.15: Absorptionskoeffizient der Dermis bei einem Blutgehalt von 5 % und einer Sauerstoffsättigung von 90 %

Die Streuung von Licht in der Dermis findet im sichtbaren und nahen infraroten Spektralbereich in erster Linie an den Kollagenfasern des Bindegewebes und an subzellulären Strukturen statt [56,103]. Bei den Kollagenfasern handelt es sich um zylinderförmige Strukturen mit einem Durchmesser von etwa 2,8 μm , an denen Mie-Streuung stattfindet. Die Wellenlängenabhängigkeit des reduzierten Streukoeffizienten $\mu'_{s,Mie}$ des Mie-Anteils der Streuung kann approximiert werden durch [56]:

$$\mu'_{s,Mie}(\lambda) = (2 \cdot 10^4 \cdot \{\lambda\}^{-1,5}) \text{mm}^{-1} \quad (2.27)$$

Darüber hinaus findet an den Substrukturen der Kollagenfasern und an den subzellulären Strukturen der Dermis Rayleigh-Streuung statt, deren Beitrag $\mu'_{s,Rayleigh}$ geschrieben werden kann als [56]:

$$\mu'_{s,Rayleigh}(\lambda) = (2 \cdot 10^{11} \cdot \{\lambda\}^{-4}) \text{mm}^{-1} \quad (2.28)$$

Der reduzierte Streukoeffizient $\mu'_{s,Dermis}$ der Dermis ergibt sich aus der Summe der Anteile für Mie- und Rayleigh-Streuung [56]:

$$\mu'_{s,Dermis} = \mu'_{s,Mie} + \mu'_{s,Rayleigh} \quad (2.29)$$

In Abbildung 2.16 ist der Verlauf des so berechneten reduzierten Streukoeffizienten der Dermis im Spektralbereich zwischen 500 und 900 nm gezeigt. Der reduzierte Streukoeffizient der Epidermis stimmt näherungsweise mit dem reduzierten Streukoeffizienten der Dermis überein [56]. Für den Anisotropiefaktor menschlicher Haut werden in der Literatur Werte zwischen 0,7 und 0,95 angegeben [104]. Die optischen Eigenschaften des subcutanen Fettgewebes wurden von COPE et al. untersucht [108].

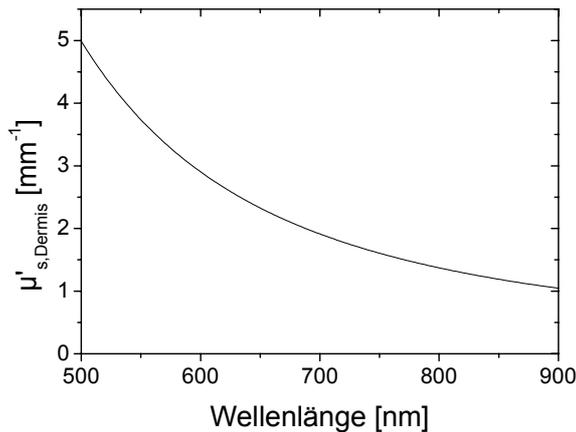


Abbildung 2.16: Reduzierter Streukoeffizient der Epidermis. Die Streuung findet an den Kollagenfasern des Bindegewebes und an subzellulären Strukturen statt.

Die in dieser Arbeit durchgeführten spektroskopischen Untersuchungen an humaner Haut wurden bei Wellenlängen von 633 nm, 678 nm und 808 nm durchgeführt. Zur Übersicht sind die mit den oben genannten Formeln berechneten optischen Eigenschaften der drei Hautschichten bei diesen Wellenlängen in Tabelle 2.3 zusammengefasst.

	Epidermis			Dermis			Subcutis		
Anisotropiefaktor	0,9			0,9			0,9		
Brechungsindex	1,4			1,4			1,4		
Wellenlänge [nm]	633	678	808	633	678	808	633	678	808
μ_a [1/mm]	1,59	1,26	0,710	0,056	0,040	0,046	0,013	0,010	0,0084
μ_s [1/mm]	25,1	20,8	13,4	25,1	20,8	13,4	12,6	12,2	11,3

Tabelle 2.3: Optische Eigenschaften der drei Hautschichten bei den Wellenlängen 633 nm, 678 nm und 808 nm. Für die Epidermis wurde ein Melanidgehalt von 5 % angenommen. Für die Dermis wurde ein Blutgehalt von 5 % bei einer Sauerstoffsättigung von 90 % zugrundegelegt.

Zur Bestimmung des Absorptionskoeffizienten der Epidermis nach Gleichung (2.25) wurde in Tabelle 2.3 ein Melanidgehalt von 5 % angenommen. Für die Berechnung des Absorptionskoeffizienten der Dermis nach Gleichung (2.26) wurde ein Blutgehalt von 5 % bei einer Sauerstoffsättigung von 90 % zugrundegelegt. Für den Anisotropiefaktor wurde ein einheitlicher Wert von $g = 0,9$ angenommen [104]. Aufgrund der dünnen Schichtdicken bereitet eine Bestimmung der Brechungsindizes der einzelnen Hautschichten Schwierigkeiten und ist bisher nur für wenige Wellenlängen vorgenommen worden [70]. Daher wurde in Tabelle 2.3 für den betrachteten Wellenlängenbereich ein mittlerer Brechungsindex von $n = 1,4$ angenommen [99].

2.5 Sauerstoffmonitoring

Eine wichtige Aufgabe in der medizinischen Praxis und Forschung ist die kontinuierliche Messung des Sauerstoffgehaltes des Blutes. Eine ungenügende Sauerstoffversorgung (Hypoxie) kann schwere Folgen für den Organismus haben, die von Ohnmacht über

irreversible Gehirnschäden bis zum Tod reichen [46]. Für ein kontinuierliches Sauerstoffmonitoring werden optische Messverfahren verwendet. Diese basieren auf der Tatsache, dass sich die Absorptionsspektren von Hämoglobin und Oxyhämoglobin voneinander unterscheiden (Abbildung 2.12). Im Folgenden werden verschiedene Methoden zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung beschrieben.

2.5.1 Pulsoxymetrie

Zum routinemäßigen Sauerstoffmonitoring in der klinischen Praxis hat sich die Pulsoxymetrie bewährt [71,72,74,145]. Bei diesem Verfahren wird ein Finger oder Ohrfläppchen des Patienten mit Licht bei zwei verschiedenen Wellenlängen durchleuchtet. Bei der Kontraktion des Herzmuskels breitet sich in den Gefäßen eine Druckwelle aus, so dass während des Pulsmaximums die arteriellen Gefäße geweitet werden und mit einer größeren Menge an Blut gefüllt sind. Infolge des höheren Gehaltes an arteriellem Blut im Gewebe sinkt während des Pulses die Transmission des Lichtes auf ein Minimum. Geht man davon aus, dass sich während des Pulses die Menge an venösem Blut nicht ändert, und vernachlässigt man Streueffekte, so kann aus den gemessenen Minima und Maxima der Transmission bei zwei verschiedenen Wellenlängen der Sauerstoffgehalt des arteriellen Blutes $Sa[O_2]$ nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz bestimmt werden. In der Praxis zeigt sich jedoch, dass diese Annahmen nur annähernd erfüllt sind. Daher müssen Pulsoxymeter zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung zunächst *in vivo* oder *in vitro* kalibriert werden. Durch die Kalibrierung können jedoch lokale Unterschiede in der Struktur des Gewebes nicht berücksichtigt werden, so dass mit Artefakten bei der Messung zu rechnen ist [109,113]. Darüber hinaus ist die Pulsoxymetrie aufgrund der dafür benötigten voluminösen Applikatoren für Anwendungen, bei denen eine kompakte Messgeometrie erforderlich ist, wie z.B. beim fetalen Sauerstoffmonitoring *sub partu* [134,136], nur eingeschränkt einsetzbar.

2.5.2 NIR-Spektroskopie

Eine andere Methode zur *in vivo* Untersuchung biologischer Gewebe ist die NIR-Spektroskopie (Near-Infrared Spectroscopy) [20]. Mit der NIR-Spektroskopie kann beispielsweise die Sauerstoffsättigung in der Haut [50,76] oder im Gehirn [24,65,132] ermittelt werden. Dazu wird das Gewebe entweder mit einer breitbandigen Lichtquelle oder mit monochromatischem Licht bei verschiedenen Wellenlängen im nahen infraroten Spektralbereich beleuchtet. Mit einem geeigneten Detektor wird die Schwächung des Lichtes beim Durchgang durch das Gewebe in Reflexionsgeometrie (Reflexionsspektrometer) oder in Transmissionsgeometrie bestimmt. Die Schwächung des Lichtes hängt von den optischen Eigenschaften des Gewebes ab. Daher können anhand der Messdaten die Sauerstoffsättigung und der Gesamthämoglobingehalt des Gewebes ermittelt werden. Ein Vorteil der NIR-Spektroskopie gegenüber der Pulsoximetrie besteht darin, dass zur Beleuchtung und Detektion Lichtwellenleiter eingesetzt werden können, so dass eine Messung der Sauerstoffsättigung auch bei kompakter Messgeometrie möglich ist.

Im Gegensatz zur zeitaufgelösten Streulichtspektroskopie ist mit einfachen NIR-Spektrometern jedoch keine absolute Bestimmung der optischen Eigenschaften des Gewebes

möglich, weil damit die Weglänge der Photonen im Gewebe nicht gemessen werden kann. Zur Kalibrierung von NIR-Spektrometern müssen daher zusätzliche Messungen der Weglänge der Photonen vorgenommen werden [28,126]. Alternativ können NIR-Spektrometer auch durch *in vivo* oder *in vitro* Vergleichsmessungen mit anderen Messverfahren kalibriert werden [50]. Dadurch bedingt bestehen auch für die NIR-Spektroskopie Unsicherheiten bei der Interpretation und beim Vergleich von Messungen an verschiedenen Probanden oder Körperregionen [36,64, 69,138].

2.5.3 Frequency-Domain Oxymetrie

Sowohl mit der Pulsoxymetrie als auch mit der NIR-Spektroskopie kann eine Messung der Sauerstoffsättigung nur nach einer Kalibrierung der Messgeräte erfolgen. Um die Notwendigkeit einer Kalibrierung zu vermeiden, sind in der Vergangenheit Verfahren zum Sauerstoffmonitoring vorgeschlagen worden, die eine absolute Messung des Absorptionskoeffizienten eines Gewebes erlauben. So kann beispielsweise die Frequency-Domain Spektroskopie zur *in vivo* Messung der Sauerstoffsättigung eingesetzt werden. In den meisten Frequency-Domain Oxymetern erfolgt die Datenauswertung auf der Basis der Diffusionsapproximation der Strahlungstransportgleichung (siehe Kapitel 3.1.3) [35]. Dies erfordert jedoch vergleichsweise große Abstände zwischen Quell- und Detektorfaser in der Größenordnung von einigen Zentimetern, so dass eine Messung von Gewebeparametern nur mit vergleichsweise voluminösen Applikatoren möglich ist [144]. Diese Einschränkung kann durch Verwendung des mikroskopischen Beer-Lambert Gesetzes (siehe Kapitel 3.1.4) zur Datenauswertung umgangen werden. Das mikroskopische Beer-Lambert Gesetz erlaubt eine absolute Bestimmung des Absorptionskoeffizienten trüber Medien auch bei kompakter Messgeometrie [120,135,136]. Eine Anwendung dieses Verfahrens zur *in vivo* Messung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes wurde erstmals von WILLMANN et al. aus unserem Institut für Lasermedizin demonstriert [134,136]. Zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes aus den gemessenen Absorptionskoeffizienten wird die Zwei-Linien Absorptionsspektroskopie eingesetzt, die in folgenden Kapitel beschrieben wird.

2.5.4 Zwei-Linien Absorptionsspektroskopie

Zur Berechnung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes eines Gewebes müssen die Absorptionskoeffizienten bei mindestens zwei verschiedenen Wellenlängen gemessen werden. Geht man zunächst davon aus, dass für die betrachteten Wellenlängen Hämoglobin und Oxyhämoglobin die einzigen Absorber im Gewebe sind, so gilt für den Absorptionskoeffizienten μ_a des Gewebes bei der Wellenlänge λ :

$$\mu_a(\lambda) = \ln(10) \cdot ([HbO_2] \cdot \varepsilon_{HbO_2}(\lambda) + [Hb] \cdot \varepsilon_{Hb}(\lambda)) \quad (2.30)$$

Darin sind ε_{HbO_2} und ε_{Hb} die molaren Extinktionskoeffizienten und $[HbO_2]$ und $[Hb]$ die Konzentrationen von Oxyhämoglobin bzw. Hämoglobin. Wird der Absorptionskoeffizient bei zwei verschiedenen Wellenlängen λ_1 und λ_2 bestimmt, so können $[HbO_2]$ und $[Hb]$ berechnet werden:

$$\begin{aligned}
[HbO_2] &= \frac{\varepsilon_{Hb}(\lambda_2)\mu_a(\lambda_1) - \varepsilon_{Hb}(\lambda_1)\mu_a(\lambda_2)}{Det} \\
[Hb] &= \frac{\varepsilon_{HbO_2}(\lambda_1)\mu_a(\lambda_2) - \varepsilon_{HbO_2}(\lambda_2)\mu_a(\lambda_1)}{Det}
\end{aligned} \tag{2.31}$$

Darin ist Det die Determinante des Gleichungssystems:

$$Det = \ln(10) \cdot \{ \varepsilon_{HbO_2}(\lambda_1)\varepsilon_{Hb}(\lambda_2) - \varepsilon_{HbO_2}(\lambda_2)\varepsilon_{Hb}(\lambda_1) \} \tag{2.32}$$

Der Gesamthämoglobingehalt (THC) (engl.: Total Hemoglobin Content) und die Sauerstoffsättigung $S[O_2]$ betragen dann:

$$\begin{aligned}
THC &= [Hb] + [HbO_2] \\
S[O_2] &= \frac{[HbO_2]}{THC}
\end{aligned} \tag{2.33}$$

In der hier beschriebenen Form der Zwei-Linien Absorptionsspektroskopie wurde zunächst die vereinfachende Annahme gemacht, dass Hämoglobin und Oxyhämoglobin die einzigen Absorber im Gewebe sind. Die Anwesenheit von anderen Absorbieren und optischen Inhomogenitäten im Gewebe kann durch eine Modifikation in der Rechnung berücksichtigt werden. Bei einer Messung der Gewebeparameter in humaner Haut muss z.B. in Betracht gezogen werden, dass ein Teil der Wegstrecke der detektierten Photonen durch die Epidermis verläuft, in der eine Absorption des Lichtes durch das Melanin stattfindet. Bezeichnet man das Verhältnis aus der mittleren Wegstrecke der Photonen in der Epidermis zur gesamten mittleren Wegstrecke mit δ_{Epi} , so gilt für den gemessenen Absorptionskoeffizienten μ_a statt Gleichung (2.30):

$$\mu_a(\lambda) = \delta_{Epi} \cdot \mu_{a,Epi}(\lambda) + (1 - \delta_{Epi}) \cdot \mu_{a,Dermis} \tag{2.34}$$

Darin sind $\mu_{a,Epi}$ und $\mu_{a,Dermis}$ die Absorptionskoeffizienten der Epidermis und der Dermis, die wie in Kapitel 2.4 beschrieben vom Melaningehalt f_{Mel} der Epidermis und von den Konzentrationen $[Hb]$ und $[HbO_2]$ abhängen. Auf diese Weise werden die Absorption durch Melanin in der Epidermis und die Untergrundabsorption $\mu_{a,baseline}$ in der Haut durch andere Absorber berücksichtigt. Mit der Abkürzung

$$\psi_i = \frac{\mu_a(\lambda_i) - \delta_{Epi} \cdot \mu_{a,Epi}(\lambda_i)}{1 - \delta_{Epi}} - \mu_{a,baseline}(\lambda_i) \tag{2.35}$$

folgt für die Konzentrationen von Hämoglobin und Oxyhämoglobin in der Dermis:

$$\begin{aligned}
[HbO_2] &= \frac{\varepsilon_{Hb}(\lambda_2) \cdot \psi_1 - \varepsilon_{Hb}(\lambda_1) \cdot \psi_2}{Det} \\
[Hb] &= \frac{\varepsilon_{HbO_2}(\lambda_1) \cdot \psi_2 - \varepsilon_{HbO_2}(\lambda_2) \cdot \psi_1}{Det}
\end{aligned}
\tag{2.36}$$

Eine Berechnung des Anteils der mittleren Weglänge in der Epidermis δ_{Epi} kann wie in Kapitel 5.1 beschrieben mit Monte Carlo Simulationen durchgeführt werden.

Darüber hinaus können aus den mittels Zwei-Linien Absorptionsspektroskopie bestimmten Größen weitere Gewebeparameter berechnet werden. So gilt für den Anteil f_{Blut} des Blutes im Gewebe:

$$f_{Blut} = \frac{THC}{HGB} \cdot M_{HGB} \tag{2.37}$$

Darin ist HGB die Hämoglobinkonzentration im Blut (siehe Kapitel 2.3). Die Konzentration c_{Ery} der Erythrozyten im Gewebe kann nach

$$c_{Ery} = f_{Blut} \cdot RBC \tag{2.38}$$

berechnet werden, wobei RBC die Konzentration der Erythrozyten im Blut (Anzahl der Erythrozyten pro Blutvolumen) ist. Für HGB und RBC können entweder die Normwerte (siehe Kapitel 2.3) zu Grunde gelegt oder ein Blutbild angefertigt werden.

2.6 Dynamische Streulicht-Spektroskopie: Einführung

In den bisherigen Ausführungen wurden Kohärenzeffekte bei der Ausbreitung von Licht in trüben Medien nicht berücksichtigt. Unter Kohärenzeffekten werden in diesem Zusammenhang Erscheinungen verstanden, die durch Interferenz des Streulichtes in einem trüben Medium verursacht werden. Beispielsweise zeigen sich bei Beleuchtung eines trüben Mediums mit dem kohärenten Licht eines Lasers Interferenzmuster aus zahlreichen kleinen Punkten, die als Speckles bezeichnet werden. Es zeigt sich, dass bei einer Bewegung der Streuer im Medium Fluktuationen der Intensität der Speckles beobachtet werden können. Auf dieser Grundlage wurden in der Vergangenheit verschiedene Messverfahren entwickelt, bei denen zur Untersuchung der dynamischen Prozesse in einem trüben Medium die Fluktuationen der Intensität des Streulichtes gemessen werden [7,8,9,18]. Für diese Verfahren hat sich in der Literatur der Begriff dynamische Streulicht-Spektroskopie etabliert. Eine schematische Darstellung eines Versuchsaufbaus zur dynamischen Streulicht-Spektroskopie ist in Abbildung 2.17 gezeigt. In Abbildung 2.17 wird ein trübes Medium über eine Multimode-Faser kontinuierlich mit dem Licht eines cw-Lasers (engl.: continuous wave) beleuchtet. Für die dynamische Streulicht-Spektroskopie muss das Licht eine hinreichende Kohärenzlänge aufweisen [4]. Aus diesem Grunde werden oft Gaslaser, wie z.B. Helium-Neon Laser, eingesetzt.

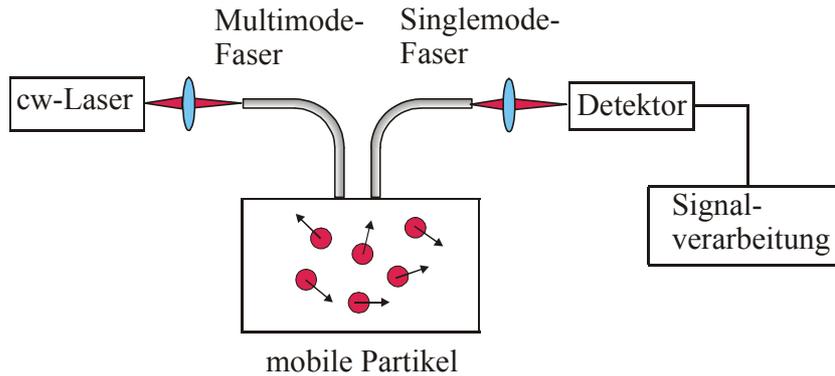


Abbildung 2.17: Schematischer Versuchsaufbau zur dynamischen Streulicht-Spektroskopie

Aufgrund der Streuung des Lichtes an den mobilen Partikeln im Medium treten Fluktuationen des Streulichtes auf. Dabei sind die Fluktuationen der einzelnen Moden des Streulichtes statistisch unabhängig. Wird in diesem Beispiel die Intensität des Streulichtes mit einer Multimode-Faser gemessen, so können keine Fluktuationen beobachtet werden, weil sich die Fluktuationen einer Vielzahl von Moden im Mittel kompensieren. Daher wird zur Messung der Fluktuationen des Streulichtes eine Singlemode-Faser in Kombination mit einem geeigneten Detektor verwendet. Zur weiteren Signalverarbeitung haben sich in der dynamischen Streulicht-Spektroskopie zwei Verfahren etabliert [9]. Eine Möglichkeit besteht in der Bestimmung des Leistungsspektrums $S(\omega)$ der vom Detektor gemessenen Intensität $I(t)$:

$$S(\omega) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{2T} \left| \int_{-T}^T I(t) \exp(-i\omega t) dt \right|^2 \quad (2.39)$$

Bei der anderen Methode wird die zeitliche Autokorrelationsfunktion $G_2(\tau)$ der Intensität des Streulichtes bestimmt:

$$G_2(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{2T} \int_{-T}^T I(t) I(t + \tau) dt \quad (2.40)$$

Aus physikalischer Sicht liefern beide Verfahren die gleiche Information, denn nach dem Wiener-Khinchin Theorem sind das Leistungsspektrum und die Autokorrelationsfunktion eines Signals ein Fourier-Paar [9,16]:

$$S(\omega) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} (G_2(\tau) - \langle I \rangle^2) \cos(\omega \tau) d\tau \quad (2.41)$$

Darin ist $\langle I \rangle$ der zeitliche Mittelwert der Intensität des Streulichtes. Aus Gleichung (2.41) geht hervor, dass für ein Signal, welches ein breites Frequenzspektrum aufweist, ein schneller Abfall der Intensitäts-Korrelationsfunktion zu beobachten ist.

Für eine technische Realisierung der dynamischen Streulicht-Spektroskopie sind in der Vergangenheit verschiedene Methoden entwickelt worden. Zur Bestimmung des Leistungsspektrums werden analoge Photomultiplier in Kombination mit Spektrumanalysatoren verwendet. Zur Bestimmung der Autokorrelationsfunktion der Intensität des

Streulichtes haben sich Photon-Counting Photomultiplier und digitale Korrelatoren bewährt. Eine detaillierte Beschreibung der theoretischen Grundlagen bei der Bestimmung der Geschwindigkeitsverteilung der Streuer aus der Autokorrelationsfunktion findet sich in Kapitel 3.2. Als Beispiel zeigt Abbildung 2.18 die zeitlichen Verlauf der Zählrate, die mit einem Photon-Counting Photomultiplier bei der Streuung des kohärenten Lichtes eines Helium-Neon Lasers an einer Suspension von Polystyrenkugeln gemessen wurde. Aufgrund der Diffusion der Polystyrenkugeln werden Fluktuationen der Intensität des Streulichtes beobachtet. Daneben ist die Intensitäts-Korrelationsfunktion des Signals aufgetragen.

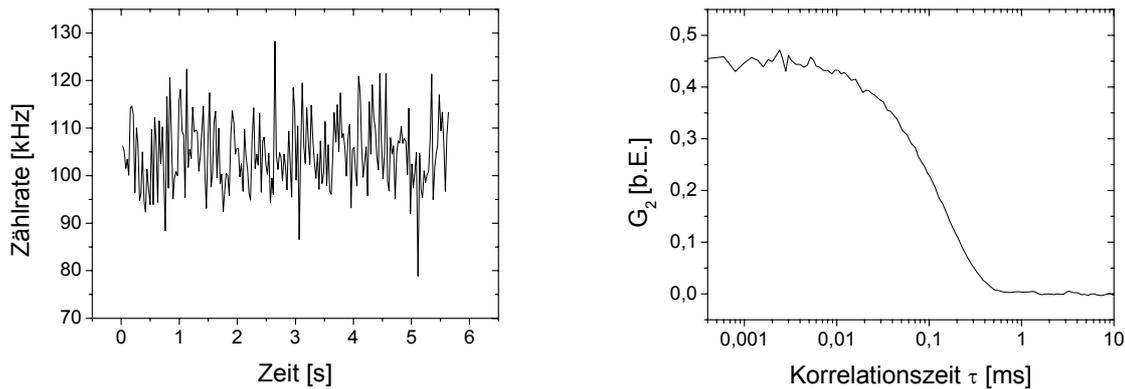


Abbildung 2.18: Mit einem Photon-Counting Photomultiplier gemessene Fluktuationen des an einer Suspension von Polystyrenkugeln gestreuten Lichtes eines Helium-Neon Lasers. Daneben ist die mit einem digitalen Korrelator berechnete Intensitäts-Korrelationsfunktion gezeigt.

Eine Anwendung der dynamischen Streulicht-Spektroskopie in der Medizin, die unter dem Namen Laser Doppler Fluxmetrie bekannt ist, ist die *in vivo* Untersuchung der Durchblutung biologischer Gewebe. Als Maß für die Durchblutung wird der Flux F als das Produkt aus der mittleren Geschwindigkeit $\langle v \rangle$ und der Konzentration c_{Ery} der Erythrozyten im Gewebe definiert:

$$F = \langle v \rangle \cdot c_{\text{Ery}} \quad (2.42)$$

In der Laser Doppler Fluxmetrie wird das kohärente Licht eines Lasers an den mobilen Erythrozyten im kapillären Gefäßsystem gestreut und die Fluktuationen des Streulichtes gemessen. Zur quantitativen Bestimmung der Durchblutung sind verschiedene Algorithmen beschrieben worden [60]. In den meisten Fällen wird das erste Moment α_1 des Leistungsspektrums bestimmt. Darunter versteht man den mit $S(\omega)$ gewichteten Erwartungswert der Kreisfrequenz ω [17]:

$$\alpha_1 = \int_{\omega=0}^{\omega=2\pi} \omega \cdot S(\omega) d\omega \quad (2.43)$$

Unter der Voraussetzung, dass die detektierten Photonen an höchstens einem Erythrozyten gestreut wurden, kann gezeigt werden, dass das erste Moment zum Flux proportional ist [16]:

$$\alpha_1 \propto F \quad (2.44)$$

Basierend auf Gleichung (2.44) können Laser Doppler Fluxmeter für eine quantitative Bestimmung der Durchblutung kalibriert werden. In der Praxis sind jedoch Abweichungen von diesem linearen Verhalten beobachtet worden [31,33]. Beispielsweise ist eine Beeinflussung des Messergebnis durch die Konzentrationen der Erythrozyten [81] und die optischen Eigenschaften des Gewebes [62] beobachtet worden. Darüber hinaus müssen in der Praxis ein Rauschen des Leistungsspektrums und photoplethysmographische Effekte (Weitung der Gefäße während des Druckpulses) berücksichtigt werden. Daher kann bei der Berechnung des ersten Momentes die Integration nicht von null bis unendlich durchgeführt werden [60]. Vielmehr müssen willkürlich Integrationsgrenzen $\omega_1 = 2\pi f_1$ und $\omega_2 = 2\pi f_2$ angenommen werden. Typische Werte sind $f_1 = 30$ Hz und $f_2 = 30$ kHz [60]. Auch die Wahl der Integrationsgrenzen beeinflusst das Messergebnis [111].

Ein neuer Ansatz zur *in vivo* Untersuchung der Durchblutung biologischer Gewebe wurde von BOAS diskutiert [9,10]. Darin wird nicht das Leistungsspektrum, sondern die Autokorrelationsfunktion des Streulichtes bestimmt. Damit konnte eine qualitative Untersuchung der Durchblutung durchgeführt werden. In Rahmen dieser Arbeit (siehe Kapitel 4.2) wird der Ansatz von BOAS aufgegriffen und weiterentwickelt. Dabei zeigt sich, dass durch eine kombinierte Messung der Korrelationsfunktion und des Absorptionskoeffizienten des Gewebes eine absolute Bestimmung des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten möglich ist. Dies stellt eine erhebliche Verbesserung der bisher in der Medizin eingesetzten Messverfahren dar.

2.7 Digitale Korrelatoren

Zur Bestimmung der Autokorrelationsfunktion der Intensität des Streulichtes in der dynamischen Streulicht-Spektroskopie hat sich die Kombination von einem Photon-Counting Photomultiplier als Detektor mit einem digitalen Korrelator zur Signalverarbeitung bewährt. In diesem Kapitel wird das Funktionsprinzip digitaler Korrelatoren beschrieben. Dazu ist in Abbildung 2.19 eine schematische Darstellung der Komponenten eines digitalen Korrelators nach JAKEMAN [59] gezeigt. Das Signal des Photomultipliers wird zunächst mit einer Auflösung von M Bit digitalisiert und in einem Eingangsregister gespeichert. Das Eingangsregister ist an ein Schieberegister mit N Kanälen angeschlossen. Nach einer Shift-Zeit τ_s werden die Inhalte der Kanäle des Schieberegisters in den nächsthöheren Kanal verschoben. Dabei wird der Inhalt des Eingangsregisters in den ersten Kanal des Schieberegisters übertragen. Der digitale Korrelator verfügt über N Multiplikatoren, mit denen der Wert des Eingangsregisters mit dem Wert jedes Kanals des Schieberegisters Multipliziert wird. Für jeden Kanal steht ein Speicherregister zur Verfügung, zu dessen Inhalt das Ergebnis der Multiplikation addiert wird. Gegebenenfalls kann eine Normierung der Summe durchgeführt werden [105].

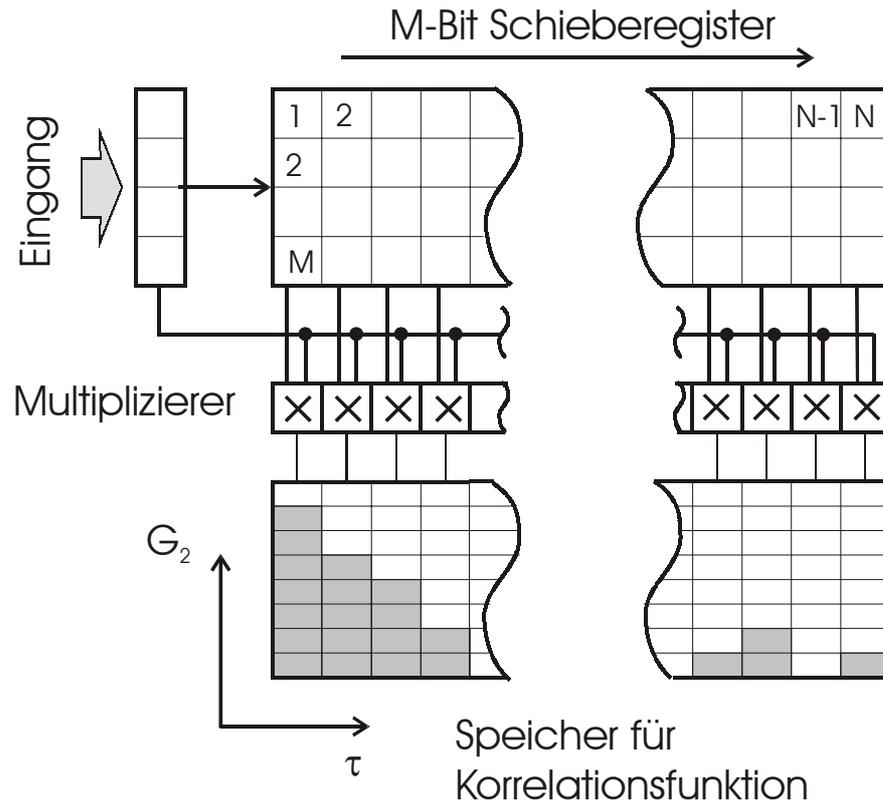


Abbildung 2.19: Schematische Darstellung der Komponenten eines digitalen Korrelators.

Durch zyklisches wiederholen des Prozesses wird in dem Speicher die Autokorrelationsfunktion des Eingangssignals bestimmt. Denn nach der L -ten Iteration beträgt der Wert im Speicher des j -ten Kanals:

$$G_{2,j} = \sum_{i=1}^L I(t)I(t + j \cdot \tau_s) \quad (2.45)$$

Darin ist $I(t)$ die zum Zeitpunkt t gemessene Zählrate des Photon-Counting Photomultipliers. Die Zeitauflösung, mit der nach dieser Methode die Autokorrelationsfunktion bestimmt werden kann, ist gegeben durch τ_s . Eine untere Grenze für τ_s ergibt sich dadurch, dass während dieser Zeit die oben beschriebenen Rechenoperationen durchgeführt werden müssen. In der Praxis werden für τ_s Werte in der Größenordnung von 10 ns erzielt. Bei einer Anzahl von N Kanälen beträgt die maximale Korrelationszeit τ_{Max} , für die die Korrelationsfunktion mit dem oben beschriebenen Verfahren berechnet werden kann, $\tau_{\text{Max}} = N \cdot \tau_s$. Bei einer gegebenen Anzahl von Kanälen kann also eine Erhöhung von τ_{Max} nur auf Kosten der Zeitauflösung erfolgen.

Um eine Berechnung der Korrelationsfunktion bei einer hohen Zeitauflösung auch für große Korrelationszeiten durchführen zu können, wird in vielen Geräten das Multiple Tau Verfahren verwendet [1,105,106]. Dabei werden die Kanäle zu J Blöcken, bestehend aus $K = N/J$ Registern, zusammengefasst. Für den ersten Block, bestehend aus den Kanälen 1 bis K , beträgt die Shift-Zeit τ_s , für die folgenden Blöcke wird die Shift-Zeit jeweils um einen Faktor 2 erhöht. Auf diese Weise wird eine Bestimmung der Korrelationsfunktion mit einer Zeitauflösung τ_s bei einer maximalen Korrelationszeit von $\tau_{\text{Max}} = 2^J \cdot \tau_s$ ermöglicht.

3. Theorie

3.1 Lichtausbreitung in trüben Medien

In diesem Kapitel werden verschiedene Ansätze zur Berechnung der Lichtausbreitung in trüben Medien beschrieben. In Kapitel 3.1.1 wird die Mie-Theorie behandelt, in der aus den Maxwell'schen Gleichungen ein analytischer Ausdruck für das Streufeld einer elektromagnetischen Welle an einem kugelförmigen Objekt hergeleitet wird. Im folgenden Kapitel wird die Strahlungstransportgleichung eingeführt. Darin wird die Ausbreitung von Licht in einem trüben Medium als Transportvorgang beschrieben. Als Näherungslösung der Strahlungstransportgleichung für die Lichtausbreitung in großen Abständen von Quellen wird in Kapitel 3.1.3 die Diffusionsapproximation behandelt. Eine Berechnung der Intensität des von einem trüben Medium remittierten Lichtes bei beliebiger Messgeometrie kann mit dem in Kapitel 3.1.4 eingeführten mikroskopischen Beer-Lambert Gesetz durchgeführt werden. Schließlich werden verschiedene Monte Carlo Techniken beschrieben, in denen stochastische Verfahren zur Lösung der Strahlungstransportgleichung verwendet werden.

3.1.1 Mie-Theorie

Anfang des zwanzigsten Jahrhunderts gelang dem deutschen Physiker GUSTAV MIE die analytische Lösung der Maxwell'schen Gleichungen für eine ebene Welle, die an einem homogenen, kugelförmigen, metallischen oder dielektrischen Partikel gestreut wird [73]. In den folgenden Jahren wurde die nach ihm benannte Mie-Theorie auf die Streuung an elliptischen und zylinderförmigen Partikeln ausgedehnt [12]. Die Berechnung der Streuung und Absorption durch ein dielektrisches Partikel wird im Folgenden skizziert. Dazu betrachte man ein Objekt mit komplexem Brechungsindex n_1 , das in ein absorptionsfreies Medium mit Brechungsindex n_2 eingebettet ist (Abbildung 3.1). Der relative Brechungsindex beträgt dann $n = n_1/n_2$. Die Wellenzahl des Lichtes im Medium sei $k_2=2\pi/\lambda_2$ und im Objekt $k_1=2\pi/\lambda_1$. Das einfallende Licht sei linear polarisiert und breite sich als ebene Welle in z -Richtung aus.

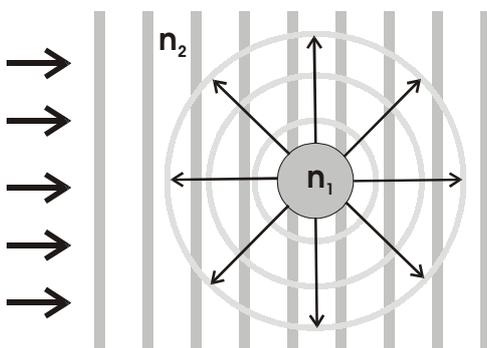


Abbildung 3.1: Streuung einer ebenen elektromagnetischen Welle an einem dielektrischen, kugelförmigen Objekt. Der Brechungsindex beträgt n_1 im Objekt und n_2 in der Umgebung.

Der ortsabhängige Teil der Feldstärke \vec{E}_i der einfallenden Welle kann in komplexer Schreibweise dargestellt werden als [14]:

$$\vec{E}_i(z) = \vec{e}_x E_0 \exp(-ik_2 z) \quad (3.1)$$

Darin ist $i = \sqrt{-1}$ die imaginäre Einheit. Die elektrische Feldstärke außerhalb des Partikels wird als Summe der Feldstärken der einfallenden Welle \vec{E}_i und der gestreuten Welle \vec{E}_s angesetzt:

$$\vec{E}_2(\vec{r}) = \vec{E}_i(\vec{r}) + \vec{E}_s(\vec{r}) \quad (3.2)$$

Die Feldstärke im Inneren des Partikels sei mit $\vec{E}_1(\vec{r})$ bezeichnet. Die Maxwell'schen Gleichungen fordern an der Oberfläche O des Partikels die Stetigkeit der Tangentialkomponente der elektrischen Feldstärke \vec{E} sowie der Normalkomponente der elektrischen Induktion \vec{D} :

$$\left. \begin{aligned} E_2^\perp(\vec{r}) &= E_1^\perp(\vec{r}) \\ D_2^\parallel(\vec{r}) &= D_1^\parallel(\vec{r}) \end{aligned} \right\} \text{für } \vec{r} \in O \quad (3.3)$$

Zur Berechnung der im Objekt absorbierten Leistung W_a wird der Poyntingvektor des elektromagnetischen Feldes über eine geschlossene Kugelfläche außerhalb des Objektes integriert [14]:

$$W_a = - \int \vec{S}_2 \cdot \vec{e}_r dA \quad (3.4)$$

mit

$$\vec{S}_2 = \vec{E}_2 \times \vec{H}_2 = \frac{1}{2} \text{Re}(\vec{E}_2 \times \vec{H}_2^*)$$

Darin ist \vec{e}_r der Einheitsvektor in radialer Richtung, $\text{Re}(x)$ der Realteil von x und x^* der komplex konjugierte Wert von x . Entsprechend gilt für die Intensität W_s der Streuwelle:

$$W_s = \int \vec{S}_s \cdot \vec{e}_r dA \quad (3.5)$$

mit

$$\vec{S}_s = \frac{1}{2} \text{Re}(\vec{E}_s \times \vec{H}_s^*)$$

Die Wirkungsquerschnitte für Absorption C_{abs} bzw. Streuung C_{sca} sind definiert als Verhältnis der absorbierten bzw. gestreuten Leistung zur Intensität I_0 der eingestrahnten Welle [14]:

$$\begin{aligned} C_{\text{abs}} &= \frac{W_a}{I_0} \\ C_{\text{sca}} &= \frac{W_s}{I_0} \end{aligned} \quad (3.6)$$

Für den Wirkungsquerschnitt der Extinktion C_{ext} gilt:

$$C_{ext} = C_{abs} + C_{sca} \quad (3.7)$$

Um die Wirkungsquerschnitte für eine bestimmte Geometrie des Objektes zu berechnen, müssen also zunächst die Felder E_s und E_1 so bestimmt werden, dass sie die Wellengleichung und die Randbedingungen (3.3) erfüllen. Dies gelang Mie für den Fall einer Kugel. Dabei erweist es sich als nützlich, die dimensionslosen Mie-Parameter α und β einzuführen, wobei der Radius der Kugel mit a bezeichnet wurde:

$$\alpha = k_2 a = \frac{2\pi a}{\lambda_2}$$

$$\beta = k_1 a = \frac{2\pi a}{\lambda_1} \quad (3.8)$$

Für die Effizienzfaktoren, die definiert sind als der Quotient aus Wirkungsquerschnitt und geometrischer Schattenfläche des Objektes, erhält man [13]:

$$Q_{sca} = \frac{C_{sca}}{\pi \cdot a^2} = \frac{2}{\alpha^2} \sum_{k=0}^{\infty} (2k+1) (|a_k|^2 + |b_k|^2)$$

$$Q_{ext} = \frac{C_{ext}}{\pi \cdot a^2} = \frac{2}{\alpha^2} \sum_{k=0}^{\infty} (2k+1) \operatorname{Re}(a_k + b_k) \quad (3.9)$$

mit den Koeffizienten:

$$a_k = \frac{\psi_k(\alpha) \psi_k'(\beta) - n \psi_k(\beta) \psi_k'(\alpha)}{\zeta_k(\alpha) \psi_k'(\beta) - n \psi_k(\beta) \zeta_k'(\alpha)}$$

$$b_k = \frac{n \psi_k(\alpha) \psi_k'(\beta) - \psi_k(\beta) \psi_k'(\alpha)}{n \zeta_k(\alpha) \psi_k'(\beta) - \psi_k(\beta) \zeta_k'(\alpha)} \quad (3.10)$$

Darin sind ψ_k und ζ_k die Riccati-Bessel-Funktionen k -ter Ordnung:

$$\psi_k(x) = \sqrt{\frac{\pi \cdot x}{2}} J_{k+1/2}(x)$$

$$\zeta_k(x) = \sqrt{\frac{\pi \cdot x}{2}} H_{k+1/2}^{(2)}(x) \quad (3.11)$$

mit der Besselfunktion $J_{k+1/2}$ erster Gattung und der Hankelfunktion $H_{k+1/2}^{(2)}$ zweiter Gattung. Die Effizienzfaktoren für Mie-Streuung an sphärischen Partikeln können also aus dem Verhältnis vom Kugelradius zur Wellenlänge des eingestrahnten Lichtes berechnet werden. Für den Anisotropiefaktor liefert die Rechnung [13]:

$$g = \frac{4}{\alpha^2 Q_{sca}} \sum_{k=1}^{\infty} \left[\frac{k(k+2)}{k+1} \operatorname{Re}(a_k^* a_{k+1} + b_k^* b_{k+1}) + \frac{2k+1}{k(k+1)} \operatorname{Re}(a_k^* b_k) \right] \quad (3.12)$$

Für eine Berechnung der Effizienzfaktoren für Streuung und Absorption sowie des Anisotropiefaktors sind in der Literatur verschiedene numerische Verfahren veröffentlicht worden [13,39]. Für die Rechnungen in dieser Arbeit wurde ein Programm in Visual C++ 5.0 (Microsoft) entwickelt, das sich an einem von BOHREN et al. beschriebenen Algorithmus orientiert [13]. Als Beispiel sind in Abbildung 3.2 der Effizienzfaktor der Streuung Q_{sca} sowie der Anisotropiefaktor g in Abhängigkeit vom Mie-Parameter α für eine absorptionsfreie dielektrische Kugel mit einem relativen Brechungsindex von 1,33 gezeigt:

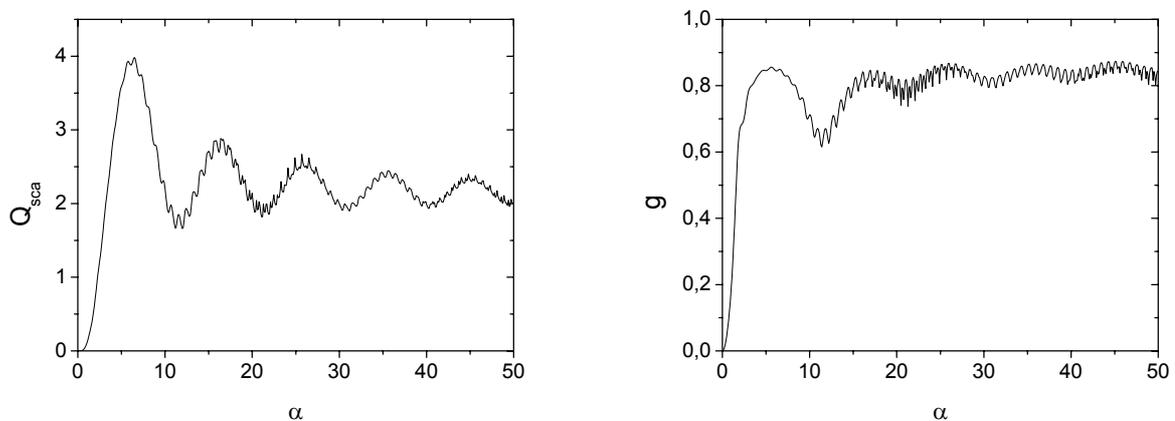


Abbildung 3.2: Effizienzfaktor der Streuung Q_{sca} und Anisotropiefaktor g bei der Mie-Streuung an einer absorptionsfreien Kugel mit einem relativen Brechungsindex von 1,33 in Abhängigkeit vom Mie-Parameter α

Im Grenzfall sehr kleiner Teilchenradien ($\alpha \ll 1$) findet Rayleigh-Streuung statt. In diesem Bereich kann der Verlauf des Effizienzfaktors der Streuung mit $Q_{sca} \propto (1/\lambda)^4$ approximiert werden [15]. Für den Anisotropiefaktor liefert die Rechnung einen Wert von $g \approx 0$ (vergleiche Abbildung 2.4). Für größere Werte des Mie-Parameters α werden die für die Mie-Streuung charakteristischen Oszillationen des Effizienzfaktors der Streuung um einen Wert von $Q_{sca} = 2$ sichtbar. Für die Streuung ist in diesem Bereich eine Vorwärtscharakteristik ($g > 0$) zu beobachten. Darüber hinaus weisen die Kurven für Q_{sca} und g eine „gekräuselte“ Struktur (engl.: Ripples) auf [13]. Die Ursache für die Ripples sind Resonanzen bei der Streuung des Lichtes an den Kugeln.

In einem Medium, das große Anzahl von Mie-Streuer enthält, findet Mehrfachstreuung des Lichtes statt. Für den Fall, dass der mittlere Abstand der Streuer deutlich größer als die Wellenlänge des Lichtes im Medium ist, können die Streueignisse als unabhängig betrachtet werden. Die Streu- und Absorptionskoeffizienten des Mediums können dann aus der Teilchenzahldichte ρ und den Wirkungsquerschnitten berechnet werden:

$$\begin{aligned}\mu_s &= C_{sca} \rho \\ \mu_a &= C_{abs} \rho\end{aligned}\quad (3.13)$$

Im Falle kugelförmiger Streuer mit Radius a können der Streu- und Absorptionskoeffizient auch aus deren Volumengehalt f_{sca} im Medium berechnet werden:

$$\begin{aligned}\mu_s &= \frac{3}{4a} f_{sca} Q_{sca} \\ \mu_a &= \frac{3}{4a} f_{sca} Q_{abs}\end{aligned}\quad (3.14)$$

3.1.2 Strahlungstransporttheorie

Eine exakte Berechnung der Verteilung der Lichtintensität in einem trüben Medium anhand der Maxwell'schen Gleichungen kann nur für wenige Spezialfälle durchgeführt werden. Aus diesem Grunde bedient man sich bei der Beschreibung der Ausbreitung von Licht eines phänomenologischen Ansatzes, der Strahlungstransporttheorie. Sie wurde ursprünglich von dem indischen Physiker CHANDRASEKHAR [21] zur Beschreibung der Ausbreitung von Licht im interstellaren Raum aufgestellt, fand danach aber breite Anwendung auf allen Gebieten der Optik trüber Medien wie z.B. in der Ozeanologie, in der Atmosphärenforschung oder in der biomedizinischen Optik. In der Strahlungstransporttheorie werden Kohärenzeffekte bei der Streuung von Photonen in einem trüben Medium vernachlässigt. Darüber hinaus werden in der hier beschriebenen Form keine Polarisierungseffekte berücksichtigt. Voraussetzung für die Anwendbarkeit der Strahlungstransporttheorie sind eine einheitliche, mittlere Richtungsabhängigkeit der Streueignisse, eine statistische Unabhängigkeit der Streueignisse untereinander sowie die Isotropie des Mediums.

Die Strahlungstransportgleichung beschreibt die zeitliche und räumliche Änderung der Strahldichte $L(\vec{r}, \vec{s}, t)$ aufgrund der Absorption und Streuung von Photonen:

$$\left(\frac{1}{c_n} \frac{\partial}{\partial t} + \vec{s} \cdot \vec{\nabla} \right) L(\vec{r}, \vec{s}, t) = -(\mu_a + \mu_s) L(\vec{r}, \vec{s}, t) + \mu_s \int_{4\pi} p(\vec{s}, \vec{s}') L(\vec{r}, \vec{s}', t) d\Omega' + Q(\vec{r}, \vec{s}, t) \quad (3.15)$$

Darin sind:

$L(\vec{r}, \vec{s}, t)$:	Strahldichte [$\text{Wmm}^{-2}\text{sr}^{-1}$]
μ_s :	Absorptionskoeffizient [mm^{-1}]
μ_s :	Streukoeffizient [mm^{-1}]
$c_n = \frac{c_0}{n}$:	Lichtgeschwindigkeit im Medium [mm/s]
n :	Brechungsindex
\vec{s}, \vec{s}' :	Einheitsvektor in Ausbreitungs- bzw. Streurichtung
$p(\vec{s}, \vec{s}')$:	Phasenfunktion [sr^{-1}]

$$d\Omega' = \sin(\vartheta') d\vartheta' d\varphi' : \quad \text{Raumwinkelelement [sr]}$$

$$Q(\vec{r}, \vec{s}, t) : \quad \text{Quellterm [Wmm}^{-3}\text{sr}^{-1}\text{]}$$

Der erste Term auf der rechten Seite von Gleichung (3.15) $-(\mu_a + \mu_s)L(\vec{r}, \vec{s}, t)$ beinhaltet eine Abnahme der Strahldichte in der Richtung von \vec{s} aufgrund der Absorption und Streuung von Photonen in eine andere Richtung. Der zweite Term $\mu_s \int_{4\pi} p(\vec{s}, \vec{s}') L(\vec{r}, \vec{s}', t) d\Omega'$ beschreibt die

Zunahme der Strahldichte durch Streuung von Photonen in Richtung \vec{s} , während der dritte Term $Q(\vec{r}, \vec{s}, t)$ die Zunahme der Strahldichte durch die Lichtquelle angibt.

Um den Verlauf der Strahldichte in einem trüben Medium zu berechnen, ist die Strahlungstransportgleichung für die gegebene Geometrie zu lösen. Für den Spezialfall eines homogenen, nichtstreuenden Mediums ($\mu_s=0$) mit einer in z-Richtung ($\vec{s} = (0,0,1)$) ausstrahlenden Lichtquelle bei $z=0$ ergibt sich als stationäre Lösung ($\frac{\partial}{\partial t} = 0$) von Gleichung (3.15) das Lambert-Beer'sche Gesetz:

$$\frac{d}{dz} L(z) = -\mu_a L(z) \quad (3.16)$$

mit der Lösung

$$L(z) = L(0) \exp(-\mu_a z) \quad \text{für } z > 0 \quad (3.17)$$

In den meisten Fällen ist eine analytische Lösung der Strahlungstransportgleichung ohne weiter Vereinfachung jedoch nicht möglich. Eine für trübe Medien oft verwendete Näherung ist die Diffusionsapproximation, die im nächsten Kapitel behandelt wird.

3.1.3 Diffusionsapproximation

Die Herleitung der Diffusionsapproximation als Näherungslösung der Strahlungstransportgleichung ist in der Literatur von verschiedenen Autoren beschrieben worden [44,55]. Im Folgenden ist die Rechnung skizziert. Dazu schreibt man zunächst die Strahldichte L im Medium als Summe der kollimierten (L_{coll}) und der diffusen (L_{diff}) Strahldichte:

$$L(\vec{r}, \vec{s}, t) = L_{\text{coll}}(\vec{r}, \vec{s}, t) + L_{\text{diff}}(\vec{r}, \vec{s}, t) \quad (3.18)$$

Darin ist die L_{coll} der Anteil der von der Lichtquelle emittierten Strahldichte, der nicht gestreut worden ist, während zu L_{diff} nur die Photonen beitragen, die mindestens einmal gestreut worden sind. Für die kollimierte Strahldichte ergibt sich aus:

$$\vec{s} \cdot \vec{\nabla} L_{\text{coll}}(\vec{r}, \vec{s}, t) = -(\mu_a + \mu_s) L_{\text{coll}}(\vec{r}, \vec{s}, t) \quad (3.19)$$

ein exponentielles Schwächungsgesetz. Die Quelle Q der diffusen Strahldichte ist der Anteil der kollimierten Strahldichte, der in Richtung von \vec{s} gestreut wird:

$$Q(\vec{r}, \vec{s}, t) = \mu_s \int_{4\pi} p(\vec{s}, \vec{s}') L_{coll}(\vec{r}, \vec{s}', t) d\Omega' \quad (3.20)$$

Die diffuse Strahldichte im Medium und der Quellterm Q können bis zum Term N-ter Ordnung nach Kugelfunktionen Y_l^m entwickelt werden:

$$\begin{aligned} L_{diff}(\vec{r}, \vec{s}, t) &= \sum_{l=0}^N \sum_{m=-l}^l L_{l,m}(\vec{r}, t) Y_l^m(\vec{s}) \\ Q(\vec{r}, \vec{s}, t) &= \sum_{l=0}^N \sum_{m=-l}^l Q_{l,m}(\vec{r}, t) Y_l^m(\vec{s}) \end{aligned} \quad (3.21)$$

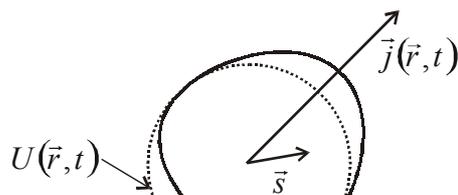
Die Lösungen für die Strahldichte, die sich durch Einsetzen dieser Entwicklung in die Strahlungstransportgleichung ergeben, werden als P_N -Approximation bezeichnet. Für $N=1$ ergibt sich die P_1 -Approximation oder Diffusionsapproximation. In dieser Ordnung lautet die Entwicklung der diffusen Strahldichte:

$$L_{diff}(\vec{r}, \vec{s}, t) = \frac{1}{4\pi} U(\vec{r}, t) + \frac{3}{4\pi} \vec{s} \cdot \vec{j}(\vec{r}, t) \quad (3.22)$$

Darin sind U die Fluenz und \vec{j} die Flussdichte der diffusen Strahlung:

$$\begin{aligned} U(\vec{r}, t) &= \int_{4\pi} L_{diff}(\vec{r}, \vec{s}, t) d\Omega \\ \vec{j}(\vec{r}, t) &= \int_{4\pi} \vec{s} \cdot L_{diff}(\vec{r}, \vec{s}, t) d\Omega \end{aligned} \quad (3.23)$$

Schematisch ist die Berechnung der diffusen Strahldichte in der P_1 -Approximation in Abbildung 3.3 dargestellt.



$$L_{diff}(\vec{r}, \vec{s}, t) = \frac{1}{4\pi} \Phi(\vec{r}, t) + \frac{3}{4\pi} \vec{s} \cdot \vec{j}(\vec{r}, t) \quad \text{Abbildung 3.3: Berechnung der diffusen Strahldichte in der Diffusionsapproximation}$$

Entsprechend gilt für den Quellterm in der P_1 -Approximation:

$$Q(\vec{r}, \vec{s}, t) = \frac{1}{4\pi} S_0(\vec{r}, t) + \frac{3}{4\pi} \vec{s} \cdot \vec{S}_1(\vec{r}, t) \quad (3.24)$$

Einsetzen von Gleichung (3.22) in die Strahlungstransportgleichung ergibt nach einigen Umformungen und Vereinfachungen die Diffusionsgleichung für die Fluenz U:

$$\left(D_\gamma \bar{\nabla}^2 - \frac{\partial}{\partial t} - c_n \mu_a \right) U(\vec{r}, t) = -c_n S_0(\vec{r}, t) \quad (3.25)$$

Darin sind:

$$D_\gamma = \frac{c_n}{3(\mu_a + \mu'_s)} : \quad \text{Photonendiffusionskoeffizient im Medium}$$

$$S_0(\vec{r}, t) = \int_{4\pi} Q(\vec{r}, \vec{s}, t) d\Omega : \quad \text{richtungsunabhängiger Quellterm}$$

Somit wird die Berechnung der Intensitätsverteilung von Licht in einem trüben Medium auf die Lösung der Diffusionsgleichung (3.25) reduziert. Als Beispiel sei hier die stationäre Lösung für eine ebene Welle, die sich in einem infiniten Medium in z-Richtung ausbreitet, abseits von Quellen ($S_0(z)=0$) diskutiert. Aus Symmetriegründen vereinfacht sich die Diffusionsgleichung zu:

$$\left(\frac{\partial^2}{\partial z^2} - \kappa^2 \right) U(z) = 0 \quad (3.26)$$

mit

$$\kappa = \sqrt{3\mu_a \mu'_s}$$

Als Lösung von Gleichung (3.26) ergibt sich ein in z-Richtung exponentiell abfallender Verlauf der Fluenz:

$$U(z) = U_0 \exp(-\kappa \cdot z) \quad (3.27)$$

Der Faktor κ wird effektiver Schwächungskoeffizient genannt [22]. Damit kann die Diffusionsgleichung (3.25) für den zeitunabhängigen Fall auch in der Form

$$\left(\bar{\nabla}^2 - \kappa^2 \right) U(\vec{r}) = \frac{-c_n S(\vec{r})}{D_\gamma} \quad (3.28)$$

geschrieben werden.

Neben der infiniten Geometrie sind die Lösungen der Diffusionsgleichung (3.25) für zahlreiche andere Geometrien berechnet worden [2]. Dazu müssen für die Fluenz an den Grenzflächen zwischen dem Medium und der Umgebung Randbedingungen erfüllt werden. Ein detaillierte Beschreibung dieser Randbedingungen findet sich bei HASKELL et al. [51].

Die Diffusionsapproximation ist ein wichtiges Werkzeug bei der Berechnung des Strahlungstransportes in trüben Medien. Bei der Herleitung von Gleichung (3.25) wurden für die Strahldichte jedoch nur Terme bis zur ersten Ordnung berücksichtigt. Diese Vereinfachung trifft nur dann in guter Näherung zu, wenn die Strahldichte nur eine schwache Richtungsabhängigkeit aufweist. Diese Annahme ist in der Nähe von Lichtquellen jedoch nicht erfüllt. Daher erlaubt die Diffusionsapproximation nur in einem genügend großen Abstand (einige Transportweglängen) von Lichtquellen eine hinreichend genaue Berechnung

der Lichtintensität im Medium [144]. Diese Voraussetzung ist z.B. erfüllt, wenn Streulicht-Spektroskopie im nahen Infrarot an biologischen Geweben bei einem Abstand von einigen Zentimetern zwischen Quell- und Detektorfaser durchgeführt wird. Für kompakte Messgeometrien, bei denen der Abstand zwischen Quell- und Detektorfaser kleiner als 1 cm ist, müssen jedoch andere Verfahren angewandt werden, die in den beiden folgenden Kapiteln beschrieben werden.

3.1.4 Mikroskopisches Beer-Lambert Gesetz (MBL)

Ein analytischer Ansatz, der die Ausbreitung von Licht in einem trüben Medium beschreibt, ist das Mikroskopische Beer-Lambert Gesetz (MBL) [123,124,146,147]. Dazu betrachtet man den Pfad eines Photons in einem trüben Medium mit Streukoeffizient μ_s und Absorptionskoeffizient μ_a . Infolge der Wechselwirkung mit dem Medium bewegt sich das Photon wie in Abbildung 3.4 gezeigt auf einem Zickzack-Pfad.

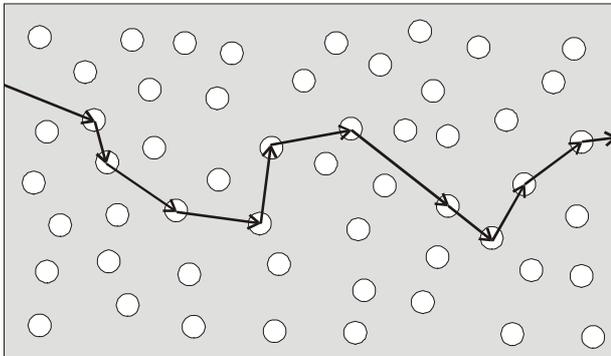


Abbildung 3.4: Bewegung eines Photons auf einem Zickzack-Pfad durch ein trübes Medium

Bezeichnet l die vom Photon im Medium zurückgelegte Wegstrecke, so gilt für die Flugzeit t des Photons im Medium [123]:

$$l = c_n t \quad (3.29)$$

Darin ist c_n die Lichtgeschwindigkeit im Medium. Die Überlebenswahrscheinlichkeit $P(l)$ eines Photons im Medium ist definiert als die Wahrscheinlichkeit, dass das Photon auf einer Trajektorie der Länge l nicht absorbiert wird. Durch Anwendung des Lambert-Beer'schen Gesetzes entlang der Trajektorie folgt [123]:

$$P(l) = \exp(-\mu_a l) = \exp(-\mu_a c_n t) \quad (3.30)$$

Basierend auf dieser Überlegung kann das MBL sowohl für die Zeitdomäne als auch für die Frequenzdomäne hergeleitet werden. Bezogen auf die Zeitdomäne bedeutet Gleichung (3.30), dass die Impuls-Antwortfunktion h für den Austritt des Photons aus dem Medium (siehe Kapitel 2.2.2) in zwei Faktoren separierbar ist [123]:

$$h(\mu_s, \mu_a, t) = s(\mu_s, t) \cdot P(l) = s(\mu_s, t) \cdot \exp(-\mu_a c_n t) \quad (3.31)$$

Darin ist $s(\mu_s, t)$ die Impuls-Antwortfunktion für das verlustfreie Medium ($\mu_a=0$). Wird ein trübes Medium mit einem infinitesimal kurzem Puls der Intensität I_0 bestrahlt, so gilt für die zeitintegrierte Intensität I_{DC} des vom Medium remittierten Lichtes:

$$\begin{aligned} I_{DC}(\mu_s, \mu_a) &= I_0 \int_0^{\infty} h(\mu_s, \mu_a, t) dt \\ &= I_0 \int_0^{\infty} s(\mu_s, t) \exp(-\mu_a c_n t) dt \\ &= I_0 \cdot \mathcal{L}[s(\mu_s, t)] \end{aligned} \quad (3.32)$$

Darin bedeutet $\mathcal{L}[s]$ die Laplacetransformierte von s . Für die logarithmische Ableitung der Intensität nach dem Absorptionskoeffizienten folgt somit:

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial \mu_a} \ln[I_{DC}(\mu_s, \mu_a)] &= -c_n \frac{\mathcal{L}[t \cdot s(\mu_s, t)]}{\mathcal{L}[s(\mu_s, t)]} \\ &= -c_n \langle t \rangle \end{aligned} \quad (3.33)$$

mit der mittleren Flugzeit $\langle t \rangle$ der Photonen im Medium. Die Integration von Gleichung (3.33) über μ_a liefert schließlich:

$$\ln[I_{DC}(\mu_s, \mu_a)] - \ln[I_{DC}(\mu_s, 0)] = - \int_0^{\mu_a} c_n \langle t \rangle d\mu_a \quad (3.34)$$

Darin ist $I_{DC}(\mu_s, 0)$ die vom verlustfreien Medium ($\mu_a=0$) remittierte Intensität. Unter Bedingungen, wie sie für eine Untersuchung von biologischen Geweben mit Lichtwellenleitern in Reflexionsgeometrie bei kleinen Faserabständen typisch sind, kann eine Vereinfachung von Gleichung (3.34) durchgeführt werden [135]. Dazu werden folgende Voraussetzungen an die Messgeometrie und an die optischen Eigenschaften der Probe gemacht:

- i. Für den Abstand ρ zwischen Quell- und Detektorfaser gilt: $\rho \leq 1,1 \text{ cm}$
- ii. Der reduzierte Streukoeffizient μ_s' des Gewebes liegt zwischen $0,2 \text{ mm}^{-1}$ und 2 mm^{-1} , der Absorptionskoeffizient μ_a liegt zwischen $5 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^{-1}$ und $1,4 \text{ mm}^{-1}$

Unter diesen Voraussetzungen ist gezeigt worden [135], dass nur eine schwache Abhängigkeit der mittleren Flugzeit vom Absorptionskoeffizienten zu erwarten ist. Damit kann in Gleichung (3.34) die Integration über μ_a durchgeführt werden:

$$\ln[I_{DC}(\mu_s, \mu_a)] - \ln[I_{DC}(\mu_s, 0)] = -c_n \langle t \rangle \mu_a \quad (3.35)$$

Wird die Intensität des vom Medium remittierten Lichtes bei mindestens zwei verschiedenen Faserabständen ρ_1 und ρ_2 gemessen, so gilt für die Differenzen der zeitintegrierten

Intensitäten $\Delta \ln[I_{DC}] = \ln[I_{DC}(\rho_2)] - \ln[I_{DC}(\rho_1)]$ und der mittleren Flugzeiten $\Delta \langle t \rangle = \langle t(\rho_2) \rangle - \langle t(\rho_1) \rangle$:

$$\Delta \ln[I_{DC}(\mu_s, \mu_a)] - \Delta \ln[I_{DC}(\mu_s, 0)] = -c_n \mu_a \Delta \langle t \rangle \quad (3.36)$$

Mit den hier gemachten Voraussetzungen i. und ii. kann gezeigt werden, dass die Differenz der Intensitäten des absorberfreien Mediums wesentlich kleiner ist als die Differenz der Intensitäten des absorbierenden Mediums:

$$\Delta \ln[I_{DC}(\mu_s, 0)] \ll \Delta \ln[I_{DC}(\mu_s, \mu_a)] \quad (3.37)$$

Daher kann der Term $\Delta \ln[I_{DC}(\mu_s, 0)]$ vernachlässigt und Gleichung (3.36) in der Form

$$\mu_a = -\frac{1}{c_n} \frac{\Delta \ln\{I_{DC}\}}{\Delta \langle t \rangle} \quad (3.38)$$

geschrieben werden [135]. Anschaulich bedeutet Gleichung (3.38), dass zur Berechnung der Lichtabsorption in trüben Medien das Lambert-Beer'sche Gesetz verwendet werden kann, wenn darin die mittlere Weglänge der Photonen im Medium eingesetzt wird. Das so hergeleitete modifizierte Beer-Lambert Gesetz (3.38) erlaubt eine experimentelle Bestimmung des absoluten Absorptionskoeffizienten biologischer Gewebe im nahen infraroten Spektralbereich bei kompakter Messgeometrie. Eine experimentelle Bestimmung der mittleren Flugzeit der Photonen kann in der Frequenzdomäne durch Messung der Phasenverschiebung ϕ bei verschiedenen Modulationsfrequenzen $f = \omega/(2\pi)$ durchgeführt werden. Für nicht zu große Modulationsfrequenzen gilt für die mittlere Flugzeit [2]:

$$\langle t \rangle = \frac{1}{2\pi} \frac{\partial \phi}{\partial \omega} \quad (3.39)$$

Für Medien mit optischen Eigenschaften, wie sie für biologische Gewebe in nahen infraroten Spektralbereich typisch sind, gilt Gleichung (3.39) bis zu einer Frequenz von etwa 200 MHz [135].

Für eine Anwendung des MBL in der Frequenzdomäne muss berücksichtigt werden, dass die Übertragungsfunktion $H(\omega)$ gegeben ist durch die Fouriertransformierte der Impulsantwortfunktion $h(t)$ (siehe Kapitel 2.2.2):

$$\begin{aligned} H(\omega) &= \int_0^{\infty} h(t) \exp(-i\omega t) \\ &= R(c_n \mu_a, \omega) + iX(c_n \mu_a, \omega) \\ &= A(c_n \mu_a, \omega) \exp[-i\Phi(c_n \mu_a, \omega)] \end{aligned} \quad (3.40)$$

mit $R = \text{Re}(H)$, $X = \text{Im}(H)$, $A = |H|$ und $\Phi = \text{Arg}(H)$. Durch Einsetzen von Gleichung (3.31) können für die Übertragungsfunktion H die Cauchy-Riemannschen Differentialgleichungen hergeleitet werden [124]:

$$\begin{aligned}\frac{\partial R(c_n \mu_a, \omega)}{\partial c_n \mu_a} &= \frac{\partial X(c_n \mu_a, \omega)}{\partial \omega} \\ \frac{\partial R(c_n \mu_a, \omega)}{\partial \omega} &= -\frac{\partial X(c_n \mu_a, \omega)}{\partial c_n \mu_a}\end{aligned}\quad (3.41)$$

Daraus folgt weiterhin [124]:

$$\begin{aligned}\frac{\partial \ln[A(c_n \mu_a, \omega)]}{\partial c_n \mu_a} &= -\frac{\partial \Phi(c_n \mu_a, \omega)}{\partial \omega} \\ \frac{\partial \ln[A(c_n \mu_a, \omega)]}{\partial \omega} &= \frac{\partial \Phi(c_n \mu_a, \omega)}{\partial c_n \mu_a}\end{aligned}\quad (3.42)$$

Integration von Gleichung (3.42) über μ_a liefert schließlich:

$$\ln[A(c_n \mu_a, \omega)] = \ln[A(0, \omega)] - c_n \int_0^{\mu_a} \frac{\partial \Phi(c_n \mu_a, \omega)}{\partial \omega} d\mu_a \quad (3.43)$$

Darin ist $A(0, \omega)$ der Betrag der Übertragungsfunktion des absorptionsfreien Mediums. Für die Intensität $I(\omega)$ der Photonendichtewelle bei der Modulationsfrequenz ω folgt:

$$\ln[I(\mu_a, \omega)] = \ln[I(0, \omega)] - \int_0^{\mu_a} c_n \langle t \rangle d\mu_a \quad (3.44)$$

Dabei wurde von Gleichung (3.39) Gebrauch gemacht. Der so hergeleitete Ausdruck (3.44) für die Frequenzdomäne ist identisch mit Gleichung (3.34) in der Zeitdomäne und kann analog vereinfacht werden. Daher kann das modifizierte MBL auch in der Frequenzdomäne angewendet werden.

3.1.5 Monte Carlo Simulationen

Neben den beschriebenen analytischen Verfahren haben sich auch Monte Carlo Simulationen zur Beschreibung der Lichtausbreitung in trüben Medien etabliert. Dabei handelt es sich um stochastische Verfahren zur Lösung der Strahlungstransportgleichung. Bei der Monte Carlo Methode werden die Trajektorien von Photonen in einem trüben Mediums entsprechend den optischen Eigenschaften des Mediums simuliert. Wird eine solche Rechnung für eine große Anzahl N von Photonen durchgeführt, so können die Verteilung sowohl der Lichtintensität im Medium als auch der Intensität des Streulichtes mit einer Genauigkeit bestimmt werden, die proportional zu $1/\sqrt{N}$ ist. In der Praxis ist die Genauigkeit, die mit diesem Verfahren erzielt werden kann, durch die benötigte Rechenzeit begrenzt.

In den vergangenen Jahren sind verschiedene Monte Carlo Verfahren zur Berechnung der Lichtausbreitung in optisch homogenen Medien entwickelt worden [142,143]. Für die in dieser Arbeit durchgeführten Simulationen wurden Programme in Visual C++ 5.0 (Microsoft) entwickelt, die sich an einem von WILLMANN et al. beschriebenen Algorithmus orientieren

[133]. Darin wird zunächst ein Photon gemäß der Abstrahlcharakteristik der Lichtquelle generiert. Anschließend wird die Trajektorie des Photons beim Durchlaufen des Mediums simuliert. Es wird davon ausgegangen, dass sich das Photon zwischen zwei aufeinanderfolgenden Wechselwirkungen geradlinig um eine Strecke Δs bewegt. Die Wahrscheinlichkeitsdichteverteilung $P(\Delta s)$ für eine geradlinige Bewegung des Photons ohne Wechselwirkungsprozesse ist gegeben durch die optischen Eigenschaften des Mediums:

$$P(\Delta s) \propto \exp\{-\Delta s(\mu_a + \mu_s)\} \quad (3.45)$$

Um eine solche Wahrscheinlichkeitsdichteverteilung der Schrittweiten der simulierten Photonenbahnen zu erzielen, wird zunächst eine Zufallszahl ξ mit $\xi \in]0,1]$ generiert. Die Schrittweite wird dann gemäß der Vorschrift

$$\Delta s = -\frac{\ln(\xi)}{\mu_a + \mu_s} \quad (3.46)$$

gebildet. Die Wahrscheinlichkeit, dass es sich bei einer Wechselwirkung um ein Streuereignis handelt, ist gegeben durch die Albedo a des Mediums. Daher wird anhand einer zweiten Zufallszahl ξ entschieden, ob das Photon absorbiert oder gestreut wird:

$$\xi \begin{cases} \leq a: & \text{Streuung} \\ > a: & \text{Absorption} \end{cases} \quad (3.47)$$

Im Falle der Absorption ist die Trajektorie des Photons beendet. Andernfalls wird der weitere Verlauf der Photonenbahn berechnet, indem gemäß der statistischen Wahrscheinlichkeit der Streuphasenfunktion des Mediums die neue Bewegungsrichtung des Photons bestimmt wird. Wird eine Henyey-Greenstein Phasenfunktion zugrundegelegt (siehe Kapitel 2.1.3), so kann der Streuwinkel ϑ gemäß

$$\cos(\vartheta) = \frac{1}{2g} \left\{ 1 + g^2 - \left(\frac{1-g^2}{1-g-2g\xi} \right)^2 \right\} \quad (3.48)$$

und der Polarwinkel φ aus

$$\varphi = 2\pi\xi \quad (3.49)$$

berechnet werden, wobei jeweils eine neue Zufallszahl ξ mit $\xi \in]0,1]$ zu generieren ist. Anschließend wird aus der Schrittweite Δs und der Flugrichtung die neue Position des Photons berechnet. Dieser Vorgang wird solange wiederholt, bis das Photon absorbiert ist oder die Probe verlassen hat.

Darüber hinaus ist eine Modellierung des Photonentransportes mit Monte Carlo Simulationen auch in optisch inhomogenen Medien möglich [53,130]. Ein Beispiel für ein optisch inhomogenes Medium ist humane Haut, die aus verschiedenen Schichten mit unterschiedlichen optischen Eigenschaften besteht. Um ein Medium, welches aus M Schichten besteht, zu charakterisieren, seien für die k -te Schicht der Brechungsindex mit n_k ,

der Absorptionskoeffizient mit μ_{ak} , der Streukoeffizient mit μ_{sk} und der Anisotropiefaktor mit g_k ($1 \leq k \leq M$) bezeichnet. Befindet sich ein Photon in der k -ten Schicht, so ist es möglich, dass die neu berechnete Position des Photons beim Fortschreiten um die Strecke Δs in eine andere Schicht $j \neq k$ fällt (Abbildung 3.5).

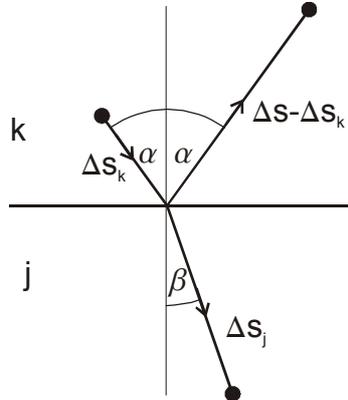


Abbildung 3.5: Berechnung der Position eines Photons in einer Mehrschicht Monte Carlo Simulation bei Reflexion und Brechung an einer Grenzfläche.

Die dabei vom Photon im Medium k bis zur Grenzfläche zurückgelegte Strecke sei mit Δs_k bezeichnet. In diesem Fall wird zunächst anhand einer Zufallszahl ξ entschieden, ob die Schichtgrenze passiert wird oder ob eine Fresnel-Reflexion stattfindet:

$$\xi \begin{cases} \leq R: & \text{Reflexion} \\ > R: & \text{Brechung} \end{cases} \quad (3.50)$$

Darin ist R der Reflexionskoeffizient, der nach Gleichung (2.4) aus den Brechungsindizes n_k und n_j der Schichten und dem Einfallswinkel α des Photons bestimmt wird. Im ersten Fall wird die neue Position des Photons nach dem Reflexionsgesetz bestimmt. Im zweiten Fall wird mit dem Snellius'schen Gesetz (2.5) der Winkel β zwischen der Photonenbahn und der Flächennormalen berechnet. Die Weglänge des Photons in der neuen Schicht beträgt [53]

$$\Delta s_j = (\Delta s - \Delta s_k) \frac{\mu_{ak} + \mu_{sk}}{\mu_{aj} + \mu_{sj}} \quad (3.51)$$

Mit Monte Carlo Simulationen können verschiedene physikalische Größen berechnet werden. Für die in dieser Arbeit durchgeführten Rechnungen sind in erster Linie die Trajektorien der Photonen von Interesse, die in einem semiinfiniten Medium mit Lichtwellenleitern in Reflexionsgeometrie detektiert werden. Dazu werden die Positionen von Detektorfasern auf der Oberfläche des Mediums festgelegt. Bei der diffusen Reflexion eines Photons wird geprüft, ob das Photon in eine Detektorfaser gestreut wird. Auf diese Weise können die Trajektorien der detektierten Photonen simultan für verschiedene Detektorfasern mit unterschiedlichen Abständen zur Quellfaser bestimmt werden. Daraus kann die Wechselwirkungsmatrix, die definiert ist als die Anzahl der Streueignisse der detektierten Photonen pro Volumenelement, bestimmt werden. Darüber hinaus können im Falle einer Mehrschicht Monte Carlo Simulation auch die Weglängen der Photonen in den Schichten des Mediums berechnet werden.

Als Beispiel zeigt Abbildung 3.6 die mit einer Mehrschicht Monte Carlo Simulation berechnete Wechselwirkungsmatrix der detektierten Photonen in humaner Haut. Für die

Rechnung wurden die drei obersten Schichten der Haut berücksichtigt. Die Dicken der Schichten sind $60\ \mu\text{m}$ für die Epidermis, $2\ \text{mm}$ für die Dermis und ∞ für das subcutane Fettgewebe. Für die optischen Eigenschaften wurden die in Tabelle 2.3 (siehe Kapitel 2.4) angegebenen Werte für eine Wellenlänge von $678\ \text{nm}$ zugrundegelegt.

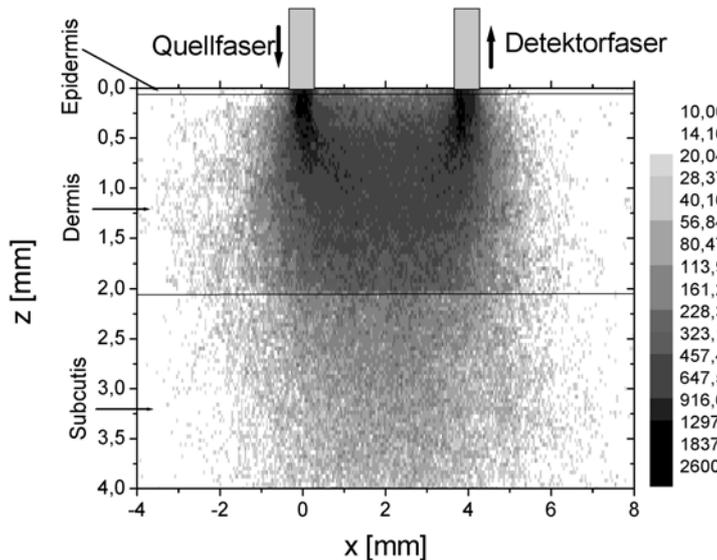


Abbildung 3.6: Berechnung der Wechselwirkungsmatrix der detektierten Photonen in humaner Haut mit einer Mehrschicht Monte Carlo Simulation. Es ist deutlich der bananenförmige Verlauf der Photonenbahnen zu erkennen.

Die Position der Quellfaser ist bei $x = 0\ \text{mm}$, die der Detektorfaser bei $x = 4\ \text{mm}$. Für beide Fasern wurde ein Durchmesser von $0,6\ \text{mm}$ und eine numerische Apertur von $0,2$ angenommen. Zusätzlich sind in Abbildung 3.6 die Grenzen zwischen den Hautschichten eingezeichnet. Die Details zum so berechneten Wechselwirkungsvolumen werden in einem späteren Kapitel 5.1 diskutiert.

Neben der Berechnung der Intensitätsverteilung von Licht in trüben Medien haben sich Monte Carlo Simulationen auch im Zusammenhang mit der Ulbrichtkugel-Spektroskopie zur Bestimmung der optischen Eigenschaften trüber Medien bewährt [142]. Dazu werden Monte Carlo Simulationen mit geeigneten inversen Verfahren zur Anpassung von Modellparametern an die Messwerte kombiniert. In einem solchen inversen Monte Carlo Algorithmus werden für die Probe zunächst willkürlich optische Eigenschaften angenommen. In einem ersten Schritt wird mit der Monte Carlo Simulation die daraus resultierende Intensitätsverteilung des Streulichtes berechnet und mit den gemessenen Werten verglichen. Die Werte der optischen Eigenschaften werden dann solange variiert, bis die mit der Simulation berechneten Werte der Intensität des Streulichtes mit den gemessenen Werten im Rahmen einer vorgegebenen Genauigkeit übereinstimmen. Ein solcher inverser Monte Carlo Algorithmus ist in dem Programm Magic Light von YAROSLAVSKY [142] realisiert, das zur Auswertung der Ulbrichtkugel-Messungen aus Kapitel 4.3.2 verwendet wurde.

Der Vorteil der Monte Carlo Methode gegenüber anderen Ansätzen besteht darin, dass sie auf praktisch beliebige Geometrien der Probe und beliebige Konfigurationen von Lichtquellen und Detektoren angewandt werden kann. So kann im Gegensatz zur Diffusionsapproximation der Strahlungstransportgleichung auch die Lichtintensität in der Nähe von diffusen Quellen berechnet werden. Ein Nachteil gegenüber analytischen Modellen ist jedoch die dafür benötigte vergleichsweise hohe Rechenzeit. Zwar wurden in der Vergangenheit verschiedene Verfahren zur Beschleunigung der Simulationen entwickelt. In diesem Zusammenhang sind

vor allem das Konzept des „Photonen-Roulettes“ [130] und der „Short-Cut Algorithmus“ [143,141] zu nennen. Für zeitkritische Anwendungen wie z.B. eine on-line Berechnung von optischen Eigenschaften sind Monte Carlo Simulationen jedoch nach wie vor nicht geeignet.

3.2 Dynamische Streulicht-Spektroskopie: Theorie

In den bisherigen Ausführungen wurde bei der Berechnung der Intensitätsverteilung des von einem trüben Medium gestreuten Lichtes Kohärenzeffekte und eine Eigenbewegung der Streuer nicht berücksichtigt. Eine solche Eigenbewegung tritt z.B. dann auf, wenn es sich bei dem trüben Medium um eine Suspension von kleinen Partikeln handelt, die eine Diffusionsbewegung ausführen oder sich in einer Strömung mit der Flüssigkeit bewegen. Bei Beleuchtung des Mediums mit kohärentem Licht kann ein Einfluss der Bewegung der Streuer auf das gestreute Licht beobachtet werden.

Bei der kohärenten Beleuchtung treten in dem vom Medium remittierten Licht Interferenzmuster auf, die aus zahlreichen kleinen, räumlich statistisch verteilten Punkten bestehen, die als Speckles bezeichnet werden. Im Falle statischer Streuung, d.h. wenn die streuenden Partikel immobil sind, entsteht ein statisches Interferenzmuster, in dem die Intensität der Speckles zeitlich konstant ist. Sind dagegen die streuenden Partikel mobil, so entsteht ein dynamisches Interferenzmuster, bei dem die Intensität der Speckles zeitlich variiert. Die Vorgänge bei der Streuung von Licht an mobilen Partikeln sind schematisch in Abbildung 3.7 gezeigt.

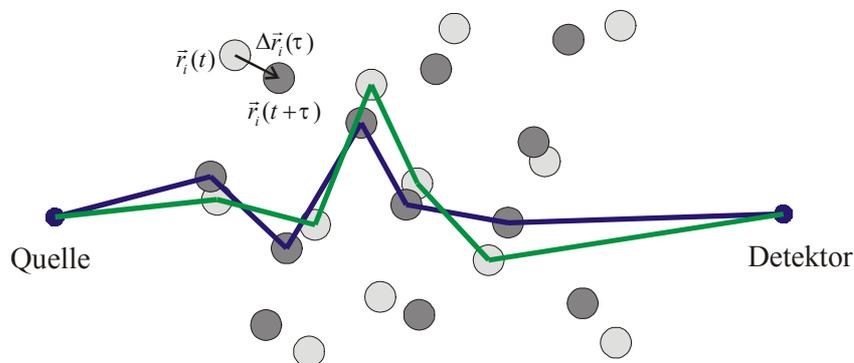


Abbildung 3.7: Streuung von Licht an mobilen Partikeln. Die Streuer bewegen sich im Zeitraum τ um die Strecke $\Delta \vec{r}_i(\tau)$. Dadurch ändern sich die Längen der Pfade der Photonen zwischen Quelle und Detektor.

Die Positionen $\vec{r}_i(t)$ der Streuer zum Zeitpunkt t sind in Abbildung 3.7 durch helle und zum Zeitpunkt $t+\tau$ durch dunkle Punkte markiert. In diesem Zeitraum bewegen sich die Streuer um $\Delta \vec{r}_i(\tau)$. Für die Photonen existieren zahlreiche mögliche Pfade zwischen Quelle und Detektor, die Beiträge mit unterschiedlichen Wahrscheinlichkeiten zum gemessenen Signal liefern. Ein möglicher Pfad ist in Abbildung 3.7 für beide Zeitpunkte t und $t+\tau$ eingezeichnet. Durch die Bewegung der Streuer ändert sich auch die Länge des Pfades und damit die Phase der elektromagnetischen Welle am Ort des Detektors. Dabei ergeben sich für verschiedene Pfade unterschiedliche zeitliche Änderungen der Phase. Da die Beiträge der verschiedenen Pfade zum elektromagnetischen Feld am Ort des Detektors interferieren, können dort Fluktuationen der Intensität des Streulichtes beobachtet werden.

Eine gängige Methode zur Charakterisierung der Fluktuationen der Speckles ist die experimentelle Bestimmung der zeitlichen Autokorrelationsfunktion der Intensität des Streulichtes, kurz Intensitäts-Korrelationsfunktion genannt. Eine Messung der Intensitäts-

Korrelationsfunktion kann im Experiment z.B. durch Detektion des gestreuten Lichtes mit einem Photon-Counting Photomultiplier erfolgen, dessen Ausgangssignal mit einem digitalen Korrelator weiterverarbeitet wird (siehe Kapitel 2.6). Die Intensitäts-Korrelationsfunktion hängt von dem Bewegungszustand der streuenden Partikel, von den optischen Eigenschaften und der Geometrie der Probe sowie von der Detektionsgeometrie ab.

Umgekehrt können bei bekannter Geometrie und bekannten optischen Eigenschaften der Probe aus der Intensitäts-Korrelationsfunktion die dynamischen Prozesse im Medium ermittelt werden. Eine solche nicht invasive Messung von Transportprozessen stellt eine wichtige Aufgabe in vielen Bereichen der Medizin und der Technik dar. Daher wurden für verschiedene Randbedingungen Verfahren zur Messung der Bewegung von Partikeln in trüben Medien entwickelt, die unter dem Namen dynamische Streulicht-Spektroskopie zusammengefasst werden. Mit der Quasi-Elastic Light Scattering (QELS) [7,18] kann die Diffusion oder die Strömungsgeschwindigkeit einer verdünnten Suspension von Streuern, in der die detektierten Photonen maximal einmal gestreut werden, aus der Intensitäts-Korrelationsfunktion ermittelt werden. Die Diffusing-Wave Spectroscopy (DWS) [18,68,80,86] erfüllt die gleiche Aufgabe für Medien, in denen Vielfachstreuung dominiert. Eine Anwendung der dynamischen Streulicht-Spektroskopie in der Medizin zur *in vivo* Untersuchung der Durchblutung biologischer Geweben ist die Laser Doppler Fluxmetrie (LDF) [16,60,111,115].

Ein neuer Ansatz, der bezüglich seiner Anwendbarkeit für verschiedene Randbedingungen wesentlich flexibler ist als die oben erwähnten Verfahren, ist die von DOUGERTHY et al. eingeführte Korrelations-Transport-Theorie [30]. Mit der Korrelations-Transport-Theorie kann auch der gesamte Bereich zwischen der Einfachstreuung und der Vielfachstreuung behandelt werden. Darüber hinaus erweist sich die Korrelations-Transport-Theorie bei der Behandlung von Medien mit optischen und dynamischen Inhomogenitäten als vorteilhaft. Daher wird in den folgenden Kapiteln die Herleitung der Korrelations-Transport-Theorie skizziert und deren Anwendung zur Bestimmung der dynamischen Eigenschaften trüber Medien diskutiert. Insbesondere wird eine Anwendung der Korrelations-Transport-Theorie zur Berechnung von Gewebeparametern in der biomedizinischen Optik untersucht. Dabei zeigt es sich, dass durch eine Kombination der dynamischen Streulicht-Spektroskopie mit der Frequency-Domain Spektroskopie, wie sie im Rahmen dieser Arbeit erstmals durchgeführt wurde, eine absolute Bestimmung des Flux und der mittleren Erythrozytengeschwindigkeit im Gewebe möglich ist.

3.2.1 Autokorrelationsfunktionen elektromagnetischer Felder

Wird ein trübes Medium kontinuierlich mit kohärentem Licht bestrahlt, so breitet sich das Licht als elektromagnetische Welle im Medium aus. Unter Vernachlässigung von Polarisierungseffekten kann die elektrische Feldstärke im Medium als komplexe, skalare Größe E geschrieben werden, wobei der Betrag E_0 die Amplitude und das Argument ϕ die Phase der Feldstärke zum Zeitpunkt t darstellen [6,30,86,87]:

$$E(t) = E_0(t) \exp\{-i\Phi(t)\} \quad (3.52)$$

Für den Fall, dass die Streuer und Absorber immobil in das Medium eingebettet sind, ist die elektrische Feldstärke zeitlich konstant. Erfolgt jedoch aufgrund dynamischer Prozesse im Inneren des Mediums eine Bewegung der Streuer und Absorber, so resultieren daraus die oben erwähnten Fluktuationen der elektrischen Feldstärke. Diese Fluktuationen beeinflussen den Verlauf der zeitlichen Autokorrelationsfunktion des elektrischen Feldes, kurz Feld-Korrelationsfunktion $G_1(\tau)$ genannt. Diese ist definiert als:

$$G_1(\tau) = \langle E(t)E^*(t+\tau) \rangle = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{2T} \int_{-T}^{+T} E(t)E^*(t+\tau) dt \quad (3.53)$$

Darin bedeutet E^* die zu E komplex konjugierte Größe und $\langle X \rangle$ den zeitlichen Mittelwert von X . Oft wird auch die normierte Feld-Korrelationsfunktion $g_1(\tau)$ verwendet:

$$g_1(\tau) = \frac{\langle E(t)E^*(t+\tau) \rangle}{\langle |E(t)|^2 \rangle} \quad (3.54)$$

Bei konstanter elektrischer Feldstärke ist auch die Feld-Korrelationsfunktion konstant. Treten jedoch statistische Fluktuationen des Feldes auf, so nimmt die Feld-Korrelationsfunktion nach einer charakteristischen Zeit asymptotisch auf null ab. Diese Zeit liegt in der Größenordnung der Lebensdauer eines Speckles.

Optische Detektoren messen die Intensität I des Lichtes, die zum Quadrat des Betrags der Feldstärke E proportional ist:

$$I(t) \propto |E(t)|^2 \quad (3.55)$$

Damit ist eine direkte Bestimmung der Phase und der Feld-Korrelationsfunktion der elektromagnetischen Welle jedoch nicht möglich. Daher wird in der dynamischen Streulicht-Spektroskopie zunächst die Intensitäts-Korrelationsfunktion $G_2(\tau)$ bestimmt:

$$G_2(\tau) = \langle I(t)I(t+\tau) \rangle = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{2T} \int_{-T}^{+T} I(t)I(t+\tau) dt \quad (3.56)$$

Die normierte Intensitäts-Korrelationsfunktion $g_2(\tau)$ ist definiert als:

$$g_2(\tau) = \frac{\langle I(t)I(t+\tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} \quad (3.57)$$

In der Intensitäts-Korrelationsfunktion ist ein Teil der Information über die dynamischen Eigenschaften des untersuchten trüben Mediums verlorengegangen, weil diese im Gegensatz zur Feld-Korrelationsfunktion keine Informationen über die Phase des detektierten Lichtes enthält. Dennoch ist es in nahezu allen in der Praxis relevanten Fällen möglich, die Feld-

Korrelationsfunktion aus der Intensitäts-Korrelationsfunktion zu berechnen. Diese Rechnung wird im nächsten Kapitel beschrieben.

3.2.2 Zusammenhang zwischen Intensitäts- und Feld-Korrelationsfunktion

Bei der Berechnung der Feld-Korrelationsfunktion G_1 aus der Intensitäts-Korrelationsfunktion G_2 muss unterschieden werden, ob in dem untersuchten Medium alle Streuprozesse an mobilen Partikeln stattfinden, oder ob in dem Medium immobile Partikel zur Streuung beitragen. In der dynamischen Streulicht-Spektroskopie spricht man im ersten Fall von ergodischen, im zweiten Fall von nicht-ergodischen Systemen. Ein Beispiel für ein ergodisches System ist eine Flüssigkeit, in der infolge der Diffusion alle darin enthaltenen Partikel mobil sind.

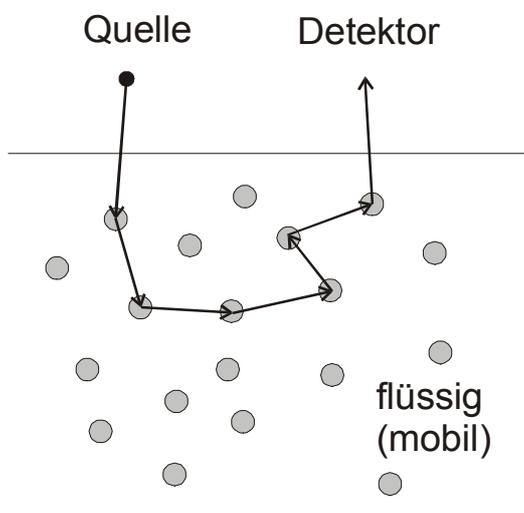


Abbildung 3.8: Eine Suspension von Streuern in einer Flüssigkeit, in der infolge der Diffusion alle Partikel mobil sind, ist ein Beispiel für ein ergodisches System. Alle Streuprozesse finden an mobilen Partikeln statt.

Für ergodische Systeme kann gezeigt werden, dass der Zusammenhang zwischen Feld- und Intensitäts-Korrelationsfunktion gegeben ist durch die Siegert-Relation [25]:

$$g_2(\tau) = 1 + \beta \cdot |g_1(\tau)|^2 \quad (3.58)$$

Darin ist β der Kohärenzfaktor, der von der Anzahl der detektierten Moden des elektromagnetischen Feldes und der Kohärenzlänge des verwendeten Lasers abhängt. Für die Versuche in dieser Arbeit wurde zur Beleuchtung des Mediums ein Helium Neon Laser mit hoher Kohärenzlänge und zur Detektion eine nicht-polarisierende Singlemodefaser verwendet. Für eine solche Konfiguration liefert die Rechnung einen Wert von $\beta = 0,5$. In ergodischen Systemen nimmt die normierte Feld-Korrelationsfunktion stets von einem Wert von 1 bei $\tau = 0$ asymptotisch auf einen Wert von 0 bei hohen Korrelationszeiten ab.

In einem nicht-ergodischen Systemen gestaltet sich die Berechnung der Feld- aus der Intensitäts-Korrelationsfunktion schwieriger, weil dafür die Siegert-Relation (3.58) nicht gilt [9,10]. Ein Beispiel für ein nicht-ergodisches Medium ist eine Anordnung aus einer festen Schicht mit immobilen Streuern und einer flüssigen Schicht mit mobilen Streuern (Abbildung 3.9).

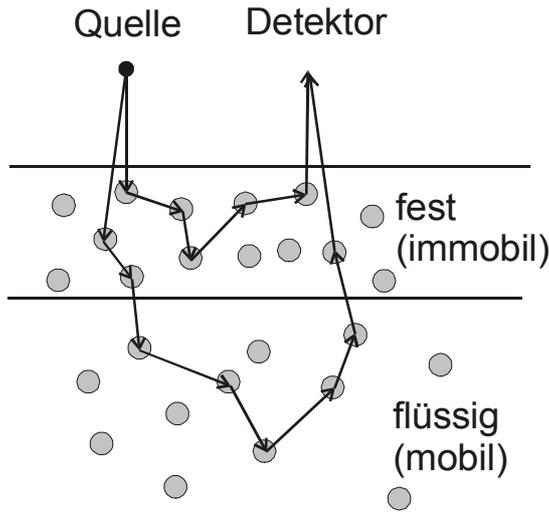


Abbildung 3.9: Ein Beispiel eines nicht-ergodischen Systems ist eine Anordnung aus einer festen und einer flüssigen Schicht. Für die Photonen existieren Pfade zwischen Quelle und Detektor, auf denen nur Streuereignisse an immobilen Partikeln stattfinden.

In einem solchen System existieren Pfade zwischen Quelle und Detektor, auf denen die Photonen nur an immobilen Partikeln stattfinden (im Folgenden statisch gestreute Photonen genannt). Diese Photonen liefern einen konstanten Beitrag $E_c(t)$ zur elektrischen Feldstärke E am Detektor. Zusätzlich liefern die Photonen, die an mindestens einem mobilen Partikel gestreut wurden (im Folgenden dynamisch gestreute Photonen genannt), einen fluktuierenden Beitrag $E_f(t)$. Die Feldstärke am Detektor ist die Summe aus beiden Beiträgen [9,10]:

$$E(t) = E_c(t) + E_f(t) \quad (3.59)$$

Die Feld-Korrelationsfunktionen der beiden Beiträge sind:

$$\begin{aligned} \langle g_{1,c}(\tau) \rangle &= \langle E_c(t) E_c^*(t+\tau) \rangle = I_c \\ \langle g_{1,f}(\tau) \rangle &= \langle E_f(t) E_f^*(t+\tau) \rangle \end{aligned} \quad (3.60)$$

Die Feld-Korrelationsfunktion $g_{1,c}$ der statisch gestreuten Photonen ist also zeitlich konstant und identisch mit deren Intensität I_c am Detektor. Dagegen nimmt die Feld-Korrelationsfunktion $g_{1,f}$ der dynamisch gestreuten Photonen von einem Wert von 1 bei $\tau = 0$ asymptotisch auf einen Wert von 0 bei hohen Korrelationszeiten ab. Der Erwartungswert der Intensität der dynamisch gestreuten Photonen beträgt:

$$\langle I_f \rangle = \langle E_f(t) E_f^*(t) \rangle \quad (3.61)$$

Es kann gezeigt werden [10], dass für die Feld-Korrelationsfunktion in dem nicht-ergodischen System gilt:

$$g_1(\tau) = \frac{I_c + \sqrt{\beta} \langle I_f \rangle g_{1,f}(\tau)}{I_c + \langle I_f \rangle} \quad (3.62)$$

Die normierte Feld-Korrelationsfunktion $g_1(\tau)$ fällt also von einem Wert $(I_c + \sqrt{\beta} \langle I_f \rangle) / (I_c + \langle I_f \rangle) < 1$ bei $\tau = 0$ auf einen Wert von $I_c / (I_c + \langle I_f \rangle) > 0$ für große

Korrelationszeiten ab. Für den Zusammenhang der Feld- mit der Intensitäts-Korrelationsfunktion liefert die Rechnung [9,10]:

$$g_2(\tau) = 1 + \frac{2\sqrt{\beta} I_c \langle I_f \rangle |g_{1,f}(\tau)| + \beta \langle I_f \rangle^2 |g_{1,f}(\tau)|^2}{(I_c + \langle I_f \rangle)^2} \quad (3.63)$$

Eine experimentelle Bestimmung der Feld-Korrelationsfunktion nach Gleichung (3.63) bereitet jedoch Schwierigkeiten, weil durch eine Messung der Intensitäts-Korrelationsfunktion eine unabhängige Bestimmung von I_c , $\langle I_f \rangle$ und β nicht vorgenommen werden kann. Eine zusätzliche Messung dieser Größen ist jedoch stets mit einer hohen Messunsicherheit verbunden, so dass in der Praxis andere Verfahren eingesetzt werden. Eine gängige Methode besteht darin, die Probe während des Messprozesses mit einem Schrittmotor zu bewegen. Durch die Bewegung wird erreicht, dass auch Streuprozesse an den immobilen Partikeln im Medium einen Beitrag zum Abfall der Korrelationsfunktion liefern. Die Geschwindigkeit am Schrittmotor wird so gewählt, dass der dadurch hervorgerufene Abfall der Korrelationsfunktion nach einer deutlich größeren Zeit stattfindet als der durch die Bewegung der mobilen Partikel verursachte. Der gleiche Effekt kann aber auch durch eine Beleuchtung der Probe mit einem Lichtwellenleiter erzielt werden. Durch die Eigenbewegung des Lichtwellenleiters werden Fluktuationen der Phase des Lichtes verursacht, die zu einem Abfall der Korrelationsfunktion führen. In beiden Fällen gilt für die Intensitäts-Korrelationsfunktion [9,10]:

$$g_2(\tau) = 1 + \beta \frac{(\langle I_c \rangle |g_{1,c}(\tau)| + \langle I_f \rangle |g_{1,f}(\tau)|)^2}{(\langle I_c \rangle + \langle I_f \rangle)^2} \quad (3.64)$$

Darin ist $\langle I_c \rangle$ der Erwartungswert der Intensität der an den immobilen Partikeln gestreuten Photonen. Im Gegensatz zu den bisherigen Betrachtungen ist I_c nun nicht mehr zeitlich konstant. Darüber hinaus nimmt auch die Feld-Korrelationsfunktion $g_{1,c}$ von einem Wert von 1 asymptotisch auf einen Wert von 0 bei hohen Korrelationszeiten ab. Ein Beispiel für eine experimentell bestimmte Intensitäts-Korrelationsfunktion bei Beleuchtung eines nicht-ergodischen Systems mit einem Lichtwellenleiter ist in Abbildung 3.10 gezeigt. Darin ist die Zeitkonstante, mit der $g_{1,c}$ abfällt, wesentlich größer als die Zeitkonstante $g_{1,f}$, so dass die Intensitäts-Korrelationsfunktion zunächst von einem Wert von $1+\beta$ auf ein Plateau bei einem Wert von $1+\beta[\langle I_c \rangle / (\langle I_c \rangle + \langle I_f \rangle)]^2$ abfällt, das in diesem Fall ungefähr bei einem Wert von 1,095 liegt. Erst danach führt der Abfall von $g_{1,c}$ zur Abnahme der Intensitäts-Korrelationsfunktion auf einen Wert von 1.

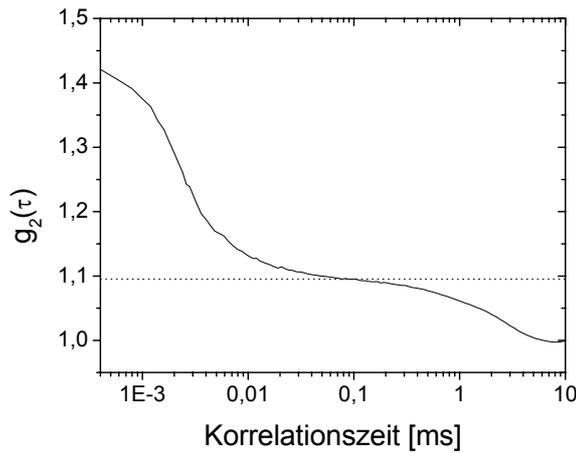


Abbildung 3.10: Experimentell ermittelte Intensitäts-Korrelationsfunktion bei Beleuchtung eines nicht-ergodischen Systems mit einem Lichtwellenleiter. Das für nicht-ergodische Systeme typische Plateau (unterbrochene Linie) liegt bei einem Wert von etwa 1,095.

Der Vorteil bei dem hier beschriebenen Verfahren liegt darin, dass damit eine Berechnung der Feld-Korrelationsfunktion mit der Siegert-Relation (3.58) möglich ist. Für nicht zu große Korrelationszeiten τ , in denen $|g_{1,c}| \approx 1$ gilt, folgt dann für die so bestimmte Feld-Korrelationsfunktion:

$$g_1(\tau) = \frac{\langle I_c \rangle + \langle I_f \rangle \cdot |g_{1,f}(\tau)|}{\langle I_c \rangle + \langle I_f \rangle} \quad (3.65)$$

In Abbildung 3.11 ist die so bestimmte normierte Feld-Korrelationsfunktion gezeigt. Die Lage des Plateaus bei einem Wert von etwa 0,48 wird durch das Verhältnis von dynamischer und statischer Streuung $\langle I_c \rangle / (\langle I_c \rangle + \langle I_f \rangle)$ im Medium bestimmt.

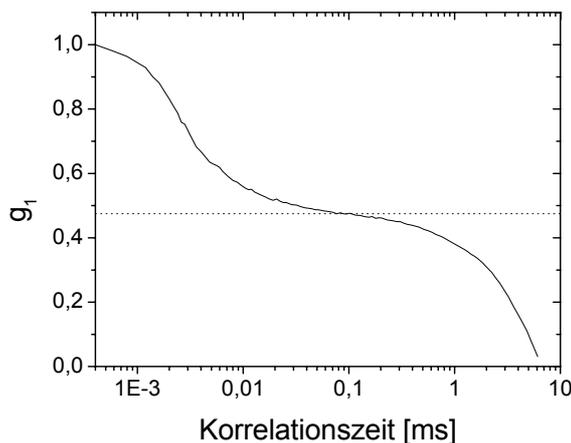


Abbildung 3.11: Nach der Siegert-Relation berechnete normierte Feld-Korrelationsfunktion zu den Daten aus Abbildung 3.10. Die Lage des Plateaus (unterbrochene Linie) wird durch das Verhältnis von statischer zu dynamischer Streuung im Medium bestimmt.

3.2.3 Korrelations-Transport-Theorie

Die zentrale Fragestellung der dynamischen Streulicht-Spektroskopie besteht darin, aus der Geometrie und den dynamischen Prozessen in einem Medium mit gegebenen optischen Eigenschaften die Feld-Korrelationsfunktion zu bestimmen. Einen solchen Ansatz stellt die von DOUGHERTHY et al. vorgeschlagene Korrelations-Transport-Theorie [30] dar. Darin wird gezeigt, dass der räumliche Verlauf der Feld-Korrelationsfunktion als

Transporterscheinung gedeutet werden kann. Daher weist die Korrelations-Transport-Theorie eine formelle Ähnlichkeit mit der Strahlungstransporttheorie (siehe Kapitel 3.1.2) auf, die die Ausbreitung von Licht in einem trüben Medium als Transportprozess beschreibt. In der Korrelations-Transport-Theorie wird die richtungsabhängige Feld-Korrelationsfunktion $G_1^T(\vec{r}, \vec{s}, \tau)$ betrachtet, zu der nur Photonen mit einer gegebenen Ausbreitungsrichtung \vec{s} beitragen. Die Feld-Korrelationsfunktion $G_1(\vec{r}, \tau)$ ergibt sich durch Integration über den Raumwinkel:

$$G_1(\vec{r}, \tau) = \int_{4\pi} G_1^T(\vec{r}, \vec{s}, \tau) d\Omega \quad (3.66)$$

während der Vektor der Flussdichte der Korrelation $\vec{J}_g(\vec{r}, \tau)$ gegeben ist durch:

$$\vec{J}_g(\vec{r}, \tau) = \int_{4\pi} \vec{s} \cdot G_1^T(\vec{r}, \vec{s}, \tau) d\Omega \quad (3.67)$$

In seiner Rechnung kommt DOUGERTHY zu dem Ergebnis, dass der räumliche Verlauf der richtungsabhängigen Feld-Korrelationsfunktion der Korrelationstransportgleichung genügt:

$$\vec{s} \cdot \vec{\nabla} G_1^T(\vec{r}, \vec{s}, \tau) = -(\mu_a + \mu_s) G_1^T(\vec{r}, \vec{s}, \tau) + \mu_s \cdot \int G_1^T(\vec{r}, \vec{s}', \tau) \cdot g_1^s(\vec{s}, \vec{s}', \tau) \cdot p(\vec{s}, \vec{s}') d\Omega' + S(\vec{r}, \vec{s}) \quad (3.68)$$

Darin sind:

- $p(\vec{s}, \vec{s}')$: normierte Phasenfunktion des Mediums
- $g_1^s(\vec{s}, \vec{s}', \tau)$: normierte Feld-Korrelationsfunktion für ein einzelnes Streuereignis
- $S(\vec{r}, \vec{s})$: Quellterm der Feld-Korrelationsfunktion

Die Funktion g_1^s gibt an, welchen Beitrag ein einzelnes Streuereignis, bei dem ein Photon mit Ausbreitungsrichtung \vec{s} in die Richtung \vec{s}' gestreut wird, zum Abfall der Feld-Korrelationsfunktion G_1 liefert. Sie hängt von der Geschwindigkeitsverteilung der Streuer im Medium ab. Für eine isotrope Geschwindigkeitsverteilung der Streuer gilt [9,10]:

$$\begin{aligned} g_1^s(\vec{s}, \vec{s}', \tau) &= \exp\left\{-\frac{1}{6} q^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle\right\} \\ &= \exp\left\{-\frac{1}{3} k_n^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle (1 - \vec{s} \cdot \vec{s}')\right\} \end{aligned} \quad (3.69)$$

Hierin sind q der Impulsübertrag des Streuereignisses mit $q^2 = 2k_n^2(1 - \vec{s} \cdot \vec{s}')$, k_n die Wellenzahl des Lichtes im Medium und $\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$ die mittlere quadratische Verschiebung des Streuers im Zeitraum τ .

Ähnlich wie bei der Strahlungstransportgleichung (3.15) ist auch eine anschauliche Deutung der Korrelationstransportgleichung möglich. Der Term $\vec{s} \cdot \vec{\nabla} G_1^T(\vec{r}, \vec{s}, \tau)$ auf der linken Seite von Gleichung (3.68) beschreibt die Änderung der Feld-Korrelationsfunktion in Richtung von \vec{s} . Die drei Beiträge zur Änderung von G_1^T auf der rechten Seite von Gleichung (3.68) sind:

$-(\mu_a + \mu_s)G_1^T(\vec{r}, \vec{s}, \tau)$	Abnahme des Absolutbetrages von G_1^T in Richtung \vec{s} durch Absorption und Streuung von Licht in eine andere Richtung
$\mu_s \cdot \int G_1^T(\vec{r}, \vec{s}', \tau) \cdot g_1^s(\vec{s}, \vec{s}', \tau) \cdot p(\vec{s}, \vec{s}') d\Omega'$	Beitrag zu Abfall von G_1^T durch dynamische Streuung von Photonen in Richtung \vec{s}
$S(\vec{r}, \vec{s})$	richtungsabhängiger Quellterm

Die Ursache für die Abnahme der Korrelationen ist also die Streuung an mobilen Partikeln. Jedes Streueignis liefert hierzu einen Beitrag der gegeben ist durch die normierte Feld-Korrelationsfunktion für ein Einzelstreueignis g_1^s .

3.2.4 Näherungslösungen für die Korrelationstransportgleichung

Die Lösung der Korrelationstransportgleichung gestaltet sich ähnlich wie die Lösung der Strahlungstransportgleichung. Analytische Lösungen sind nur für wenige Spezialfälle möglich. Um eine Näherungslösung zu erhalten, können G_1^T und S nach Kugelfunktionen entwickelt werden. Wird diese Entwicklung nach dem Term erster Ordnung abgebrochen, so ergibt sich analog zur Diffusionsapproximation (siehe Kapitel 3.1.3) die P_1 -Approximation der Korrelations-Transportgleichung [9,10]:

$$\begin{aligned}
 G_1^T(\vec{r}, \vec{s}, \tau) &= \frac{1}{4\pi} G_1(\vec{r}, \tau) + \frac{3}{4\pi} \vec{s} \cdot \vec{J}_g(\vec{r}, \vec{s}, \tau) \\
 S(\vec{r}, \vec{s}) &= \frac{1}{4\pi} S_0(\vec{r}) + \frac{3}{4\pi} \vec{s} \cdot \vec{S}_1(\vec{r}, \vec{s})
 \end{aligned}
 \tag{3.70}$$

Zur weiteren Rechnung ist eine Näherung für die normierte Feld-Korrelationsfunktion für ein Einzelstreueignis g_1^s durchzuführen. Wird der dafür in Gleichung (3.69) hergeleitete Ausdruck bis zum Term erster Ordnung in einer Taylorreihe entwickelt, so gilt für kleine Korrelationszeiten τ mit $k_n^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle \ll 1$:

$$\begin{aligned}
 g_1^s(\vec{s}, \vec{s}', \tau) &= 1 - \frac{1}{3} k_n^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle (1 - \vec{s} \cdot \vec{s}') \\
 &= 1 - \frac{1}{3} k_n^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle \left(1 - \frac{4\pi}{3} \sum_{l=1}^1 Y_l^{m*}(\vec{s}') Y_l^m(\vec{s}) \right)
 \end{aligned}
 \tag{3.71}$$

Unter der Annahme, dass die Phasenfunktion $p(\vec{s}, \vec{s}')$ nur vom Winkel zwischen \vec{s} und \vec{s}' abhängt, liefert die Entwicklung der Phasenfunktion nach Kugelfunktionen Y_l^m :

$$p(\vec{s}, \vec{s}') = \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^l p_l Y_l^{m*}(\vec{s}') Y_l^m(\vec{s}) \quad (3.72)$$

Einsetzen der Gleichungen (3.70) bis (3.72) in Gleichung (3.68) ergibt nach einigen Umformungen und Vereinfachungen eine Diffusionsgleichung für die Feld-Korrelationsfunktion G_1 :

$$\left(D_\gamma \bar{\nabla}^2 - c_n \mu_a - \frac{1}{3} c_n \mu'_s k_n^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle \right) G_1(\vec{r}, \tau) = -c_n S_0(\vec{r}) \quad (3.73)$$

mit

$$\begin{aligned} D_\gamma &= \frac{c_n}{3(\mu_a + \mu'_s)} && \text{Photonendiffusionskoeffizient} \\ \mu'_s &= \mu_s (1 - g) && \text{Reduzierter Streukoeffizient} \\ c_n &= \frac{c_0}{n} && \text{Lichtgeschwindigkeit im Medium} \\ \langle \Delta r^2(\tau) \rangle &&& \text{mittlere quadratische Verschiebung der streuenden Partikel} \end{aligned}$$

Zur Herleitung von Gleichung (3.73) wurde angenommen, dass die Streuphasenfunktion $p(\vec{s}, \vec{s}')$ und die normierte Feld-Korrelationsfunktion für Einfachstreuung $g_1^s(\vec{s}, \vec{s}', \tau)$ nur vom Streuwinkel $\vartheta = \arccos(\vec{s} \cdot \vec{s}')$ abhängen. Diese Voraussetzung ist erfüllt für Systeme mit statistisch orientierten Partikeln, für die eine isotrope Geschwindigkeitsverteilung gilt. Des Weiteren wurde bei der Taylorentwicklung der Feld-Korrelationsfunktion für ein Einzel-Streuereignis in Gleichung (3.71) die Bedingung $k_n^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle \ll 1$ vorausgesetzt. Dies bedeutet, dass die Näherung für Korrelationszeiten τ gültig ist, in denen sich die Streuzentren um Strecken bewegen, die wesentlich kleiner sind als die Wellenlänge des eingestrahnten Lichtes.

3.2.5 Einfluss der Bewegungsform der Streuer auf die Korrelationsfunktionen

Für die Bewegung von Streuern in einem trüben Medium kommen verschiedene Ursachen in Betracht. Handelt es sich bei den Streuern um Partikel, die sich in einer flüssigen Phase befinden, wie es in Suspensionen der Fall ist, so ist stets eine Diffusion der Partikel zu beobachten, die zum Abfall der Korrelationen des kohärenten Streulichtes beiträgt. Ist D_B der Brown'sche Diffusionskoeffizient der Partikel in der Lösung, so gilt für die mittlere quadratische Verschiebung der Partikel [26]:

$$\langle \Delta r^2(\tau) \rangle = 6D_B \tau \quad (3.74)$$

Eine andere Form der Bewegung tritt bei der Durchblutung von biologischen Geweben auf. Nahezu alle biologischen Gewebe sind von einem kapillären Gefäßsystem durchzogen. Dabei handelt es sich um ein dreidimensionales Netzwerk von kleinen Gefäßen, die eine statistische Orientierung aufweisen. Für die Strömung der Erythrozyten im kapillären Gefäßsystem kann eine isotrope Geschwindigkeitsverteilung angenommen werden [9,16]. Eine solche

Bewegungsform wird in der Literatur als Random Flow bezeichnet. Ist $\langle v^2 \rangle$ die mittlere quadratische Geschwindigkeit der Partikel im Random Flow, so gilt für die mittlere quadratische Verschiebung [9,10]:

$$\langle \Delta r^2 \rangle = \langle v^2 \rangle \tau^2 \quad (3.75)$$

Da sowohl bei der Diffusion als auch beim Random Flow eine isotrope Geschwindigkeitsverteilung angenommen werden kann, kann für die Berechnung der Feld-Korrelationsfunktion die Diffusionsgleichung (3.73) zugrunde gelegt werden. Darin sind für die mittlere quadratische Verschiebung die Werte aus Gleichung (3.74) bzw. Gleichung (3.75) einzusetzen.

Eine andere Situation liegt bei einer anisotropen Geschwindigkeitsverteilung der Partikel vor, wie sie beispielsweise für eine laminare Strömung folgt. Die P₁-Approximation der Korrelationstransportgleichung ergibt für diesen Fall [9,10]:

$$\left(D_\gamma \bar{\nabla}^2 - c_n \mu_a - \frac{1}{15} \frac{c_n k_n^2 \Gamma^2 \tau^2}{\mu'_s} \right) G_1(\vec{r}, \tau) = -c_n S_0(\vec{r}) \quad (3.76)$$

Darin ist Γ die Schergeschwindigkeit der laminaren Strömung:

$$\Gamma = \bar{\nabla} \cdot \vec{v} \quad (3.77)$$

In beiden Fällen (isotrope und anisotrope Geschwindigkeitsverteilung) kann die Diffusionsgleichung für die Feld-Korrelationsfunktion in der Form

$$\left(\bar{\nabla}^2 - \alpha^2(\tau) \right) G_1(\vec{r}, \tau) = -\frac{c_n}{D_\gamma} S(\vec{r}) \quad (3.78)$$

geschrieben werden [9,10,110]. Ein Vergleich von Gleichung (3.78) mit Gleichung (3.28) zeigt, dass die Funktion $\alpha(\tau)$ für den Korrelationstransport die gleiche Rolle spielt wie der effektive Schwächungskoeffizient κ in der Diffusionsapproximation der Strahlungstransportgleichung. Daher wird die Funktion $\alpha(\tau)$ im Folgenden als Korrelations-Schwächungskoeffizient bezeichnet.

Neben dem räumlichen Verlauf der Feld-Korrelationsfunktion im Medium beschreibt der Korrelations-Schwächungskoeffizient auch das zeitliche Verhalten der Feld-Korrelationsfunktion. Die Zeitabhängigkeit von $\alpha(\tau)$ wird von den dynamischen Eigenschaften im Inneren des Mediums bestimmt. Für die drei hier diskutierten Bewegungstypen gilt [9,10]:

Bewegungstyp	$\alpha^2(\tau)$
Diffusion	$3\mu_a\mu'_s + 6D_B\mu_s'^2k_n^2\tau$
Random Flow	$3\mu_a\mu'_s + \mu_s'^2k_n^2\langle v^2 \rangle\tau^2$
Laminare Strömung	$3\mu_a\mu'_s + \frac{1}{5}k_n^2\Gamma^2\tau^2$

Table 3.1: Korrelations-Schwächungskoeffizient für verschiedene Bewegungstypen. Details siehe Text

Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass bei vernachlässigbarer Absorption der Korrelations-Schwächungskoeffizient für eine laminare Strömung anders als für eine isotrope Geschwindigkeitsverteilung nicht vom reduzierten Streukoeffizienten μ_s' abhängt. Zur anschaulichen Erklärung dieses Sachverhaltes betrachte man zwei benachbarte Streuereignisse in der laminaren Strömung. Dort bewegen sich die Streuer nicht unabhängig voneinander, sondern auf einem parabelförmigen Geschwindigkeitsprofil. Werden der Flüssigkeit mehr Streuer zugefügt, so finden zwar mehr Streuereignisse statt, jedoch liegen dann auch zwei aufeinanderfolgende Streuereignisse räumlich dichter beieinander, so dass die Relativgeschwindigkeit der Streuer für die benachbarten Streuereignisse geringer ist. Diese beiden Faktoren wirken sich gegenläufig aus und kompensieren sich, so dass in der laminaren Strömung kein Einfluss der Streuerkonzentration auf den Korrelations-Schwächungskoeffizienten festzustellen ist. Diese Aussage der Korrelations-Transport-Theorie konnte experimentell bestätigt werden [139].

Darüber hinaus kann mit der Korrelations-Transport-Theorie auch eine Überlagerung verschiedener Bewegungsformen behandelt werden. So folgt beispielsweise für den Korrelations-Schwächungskoeffizienten α bei der Überlagerung einer laminaren Strömung und einer ungerichteten Diffusionsbewegung [110]:

$$\alpha^2(\tau) = 3\mu_a\mu'_s + 6D_B\mu_s'^2k_n^2\tau + \frac{1}{5}k_0^2\Gamma^2\tau^2 \quad (3.79)$$

Gleichung (3.79) besagt, dass sich die Beiträge der laminaren Strömung und der Diffusion zum Abfall der Korrelationsfunktion addieren.

3.2.6 Randbedingungen

Ähnlich wie bei der Diffusionsapproximation (siehe Kapitel 3.1.3) müssen bei der P_1 -Approximation der Korrelationstransportgleichung Randbedingungen auf der Oberfläche sowie auf Grenzflächen innerhalb des Mediums erfüllt werden. Zur Formulierung der Randbedingungen werden die Fresnelreflexionen der Fluenz an der Oberfläche O des Mediums berechnet. Dazu wird ein effektiver Reflexionskoeffizient R_{eff} der Oberfläche definiert. Damit folgt für die Feld-Korrelationsfunktion die Bedingung [51,110]:

$$G_1(\vec{r}, \tau) - \Delta \cdot I_r(\vec{n} \cdot \vec{\nabla} G_1(\vec{r}, \tau)) = 0 \quad \text{für } \vec{r} \in O \quad (3.80)$$

mit

$$\Delta = \frac{2}{3} \cdot \frac{1 + R_{eff}}{1 - R_{eff}} \quad (3.81)$$

Darin ist $l_{tr}=1/\mu_s'$ die Transportweglänge des Lichtes im Medium. Der Parameter Δ hängt von der Streuphasenfunktion an der Oberfläche und dem Brechungsindex des Mediums ab. Bei isotroper Streuung und gleichem Brechungsindex von Medium und Umgebung gilt $\Delta=0.7104$ [51,110].

Statt mit der Bedingung (3.80) arbeitet man auch oft mit der sogenannten extrapolierten Randbedingung. Dazu wird die extrapolierte Grenzfläche E des Mediums eingeführt. Hierunter versteht man diejenige Fläche, die sich in einem Abstand von

$$z_l = \Delta \cdot l_{tr} \quad (3.82)$$

von der Grenzfläche außerhalb des Mediums befindet. Die extrapolierte Randbedingung lautet [51]:

$$G_1(\vec{r}, \tau) = 0 \quad \text{für } \vec{r} \in E \quad (3.83)$$

Darüber hinaus führen optische und dynamische Inhomogenitäten im Inneren des Mediums zu zusätzlichen Randbedingungen. Bei Vernachlässigung von Unterschieden des Brechungsindex ist an Grenzflächen I im Inneren des Mediums die Stetigkeit der Feld-Korrelationsfunktion sowie die Stetigkeit der Normalkomponenten des Gradienten der Feld-Korrelationsfunktion zu fordern [9,10]:

$$\begin{aligned} G_1^A(\vec{r}, \tau) &= G_1^B(\vec{r}, \tau) \\ \vec{n} \cdot \vec{\nabla} G_1^A(\vec{r}, \tau) &= \vec{n} \cdot \vec{\nabla} G_1^B(\vec{r}, \tau) \end{aligned} \quad \text{für } \vec{r} \in I \quad (3.84)$$

Mit diesen Randbedingungen kann die Korrelationstransportgleichung für verschiedene Geometrien gelöst werden.

3.2.7 Infinites Medium

Für ein unendlich ausgedehntes, absorptionsfreies Medium, in dem sich bei $\vec{r} = 0$ eine kohärente Punktlichtquelle befindet, lautet die Randbedingung, dass die Feld-Korrelationsfunktion für $r \rightarrow \infty$ verschwindet. Damit folgt für die Lösung der Korrelations-Transportgleichung [9,10]:

$$G_1(\vec{r}, \vec{s}, \tau) = \frac{c_n \cdot S_0}{4\pi D_\gamma r} \cdot \exp(-\alpha(\tau) \cdot r) \quad (3.85)$$

Darin wird das zeitliche Verhalten durch den Term $\exp\{-\alpha(\tau)r\}$ bestimmt. Für große Abstände r zwischen Quelle und Detektor ist also ein schneller Abfall der Feld-Korrelationsfunktion zu beobachten. Dieses Verhalten kann so erklärt werden, dass mit wachsenden Abständen die mittlere Weglänge der Photonen zwischen Quelle und Detektor

und damit die Anzahl an Streueignissen an mobilen Partikeln zunehmen. Jedes Streueignis liefert einen Beitrag g_1^s zum Abfall der Korrelationsfunktion G_1 . Da sich die Beiträge addieren, erfolgt mit wachsendem Abstand zwischen Quelle und Detektor ein schnellerer Abfall der Feld-Korrelationsfunktion.

3.2.8 Semiinfinites Medium

Zur Berechnung der Feld-Korrelationsfunktion in einem halbumendlichem Medium muss die Randbedingung (3.83) an der Grenzfläche zum Medium erfüllt werden. Wird das Medium mit einem Lichtstrahl beleuchtet, dessen Durchmesser kleiner ist als die Transportweglänge l_{tr} des Lichtes im Medium, so kann die Lichtquelle S als punktförmig angenommen werden. Für die Feld-Korrelationsfunktion an einem Punkt auf der Oberfläche des Mediums im Abstand ρ von dem beleuchteten Punkt folgt [110]:

$$G_1(\rho, \tau) = \frac{1}{4\pi D_\gamma} \left\{ \frac{\exp(-\alpha(\tau)\rho)}{\rho} - \frac{\exp\left(-\alpha(\tau)\sqrt{\rho^2 + 4\gamma^2 l_{tr}^2}\right)}{\sqrt{\rho^2 + 4\gamma^2 l_{tr}^2}} \right\} \quad (3.86)$$

Darin ist $\gamma=1+\Delta$ eine numerische Konstante, wobei sich Δ aus der Lage der extrapolierten Grenzfläche des Mediums ergibt (vgl. Gleichung (3.82)). Für die in dieser Arbeit durchgeführten Versuche wird Gleichung (3.86) bei der Berechnung der mittleren Geschwindigkeit von Erythrozyten im kapillären Gewebe der Haut eingesetzt. Wie in Kapitel 3.2.5 beschrieben, kann die Bewegung von Erythrozyten in einem kapillären Gefäßsystem als Random Flow beschrieben werden. Bei einer Anwendung von (3.86) zur Berechnung der Feld-Korrelationsfunktion des an der Haut gestreuten Lichtes muss berücksichtigt werden, dass dabei die Streuung nicht nur an den mobilen Erythrozyten, sondern auch an den immobilien Komponenten der Gewebematrix stattfindet. Für diesen Fall liefert die Rechnung für den Korrelations-Schwächungskoeffizienten $\alpha(\tau)$ bei Vernachlässigung der Absorption im Gewebe [9,10]:

$$\begin{aligned} \alpha^2(\tau) &= \left(f_{Blut} \frac{\mu_s'(Blut)}{\mu_s'} \right)^2 \mu_s'^2 \langle v^2 \rangle k_n^2 \tau^2 \\ &= f_{Blut}^2 \mu_s'^2 (Blut) \langle v^2 \rangle k_n^2 \tau^2 \end{aligned} \quad (3.87)$$

Die Vernachlässigung der Absorption in Gleichung (3.87) ist für kleine Abstände zwischen Quell- und Detektorfaser ($\rho < 5$ mm) gerechtfertigt. Bei einer solchen Messgeometrie hängt die mittlere Weglänge der Photonen in biologischen Geweben nur schwach vom Absorptionskoeffizienten ab [135]. Daher ist auch nur mit einer schwachen Abhängigkeit der Feld-Korrelationsfunktion vom Absorptionskoeffizienten zu rechnen [86].

In Gleichung (3.78) stimmt der Korrelations-Schwächungskoeffizient $\alpha(\tau)$ mit der in Tabelle 3.1 angegebenen Formel für einen Random Flow bis auf einen Faktor

$$S = f_{\text{Blut}} \frac{\mu_s'(Blut)}{\mu_s'} \quad (3.88)$$

überein. Darin ist f_{Blut} der Volumenanteil des Blutes im Gewebe und $\mu_s'(Blut)$ der reduzierte Streukoeffizient von humanem Blut. Durch den Faktor S wird berücksichtigt, dass nur die Streueignisse an den mobilen Erythrozyten einen Beitrag zum Abfall der Feld-Korrelationsfunktion liefern.

Um den Einfluss der mittleren quadratischen Erythrozytengeschwindigkeit $\langle v^2 \rangle$ und des Blutanteils f_{Blut} auf die Messung der Gewebeparameter in der Haut zu diskutieren, wird im Folgenden der Verlauf der Feld-Korrelationsfunktion für verschiedene Werte dieser Parameter berechnet. Für die Rechnungen wird eine Wellenlänge von $\lambda = 633 \text{ nm}$ und ein Brechungsindex des Gewebes von $n = 1,4$ zugrundegelegt. Der reduzierte Streukoeffizient von Haut liegt bei dieser Wellenlänge bei $\mu_s' = 2,5 \text{ mm}^{-1}$ [56] entsprechend einer Transportweglänge von $l_{\text{tr}} = 0,4 \text{ mm}$. Für den reduzierten Streukoeffizienten von humanem Blut gilt bei einem Hämatokrit von 41 % ein Wert von ca. $\mu_s' = 1,8 \text{ mm}^{-1}$ [97]. Für den Faserabstand wird ein Wert von $\rho = 3 \text{ mm}$ gewählt. In Abbildung 3.12 ist der Verlauf der normierten Feld-Korrelationsfunktion für einen Blutanteil von $f_{\text{Blut}} = 10 \%$ für verschiedene Werte der Wurzel aus dem mittleren Geschwindigkeitsquadrat v_{rms} der Erythrozyten zwischen 2 mm/s und 14 mm/s gezeigt:

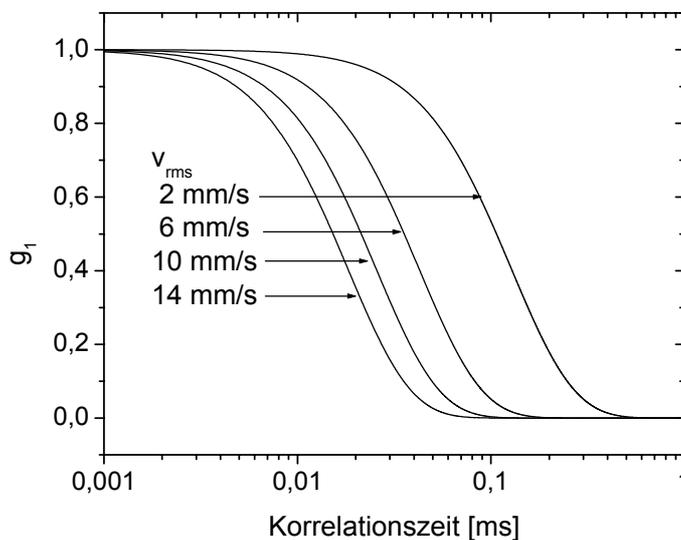


Abbildung 3.12: Berechneter Verlauf der normierten Feld-Korrelationsfunktion bei dynamischer Streuung von Licht an humaner Haut. Es ist eine deutliche Abhängigkeit der Feld-Korrelationsfunktion von der Wurzel aus dem mittleren Geschwindigkeitsquadrat v_{rms} der Erythrozyten im kapillären Gewebe festzustellen.

In Abbildung 3.12 ist eine klare Abhängigkeit des Verlaufes der normierten Feld-Korrelationsfunktion g_1 von der Erythrozytengeschwindigkeit zu erkennen. Mit zunehmender Geschwindigkeit liefern die Streueignisse einen höheren Beitrag zur Abnahme der Feld-Korrelationsfunktion.

Um den Einfluss des Blutanteils f_{Blut} im Gewebe zu diskutieren, wurde in Abbildung 3.13 die Feld-Korrelationsfunktion bei einer mittleren Geschwindigkeit von $v_{\text{rms}} = 10 \text{ mm/s}$ für verschiedene Werte von f_{Blut} berechnet. Auch hier ist eine deutliche Abhängigkeit der Feld-Korrelationsfunktion vom Blutgehalt f_{Blut} zu sehen. Mit steigendem Blutgehalt finden mehr Streueignisse an den mobilen Erythrozyten statt. Deren Beiträge summieren sich und führen

zu einer schnelleren Abnahme der Feld-Korrelationsfunktion. Die Tatsache, dass die Geschwindigkeit der Erythrozyten und der Blutgehalt im Gewebe einen ähnlichen Einfluss auf den Verlauf der Feld-Korrelationsfunktion haben, drückt sich mathematisch dadurch aus, dass die beiden Größen als Produkt in den Korrelations-Schwächungskoeffizienten in Gleichung (3.87) eingehen.

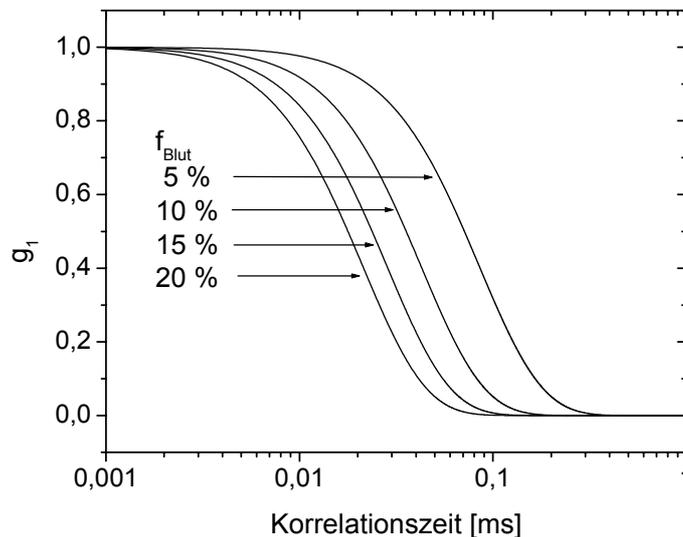


Abbildung 3.13: Berechneter Verlauf der normierten Feld-Korrelationsfunktion bei dynamischer Streuung von Licht an humaner Haut. Es ist eine deutliche Abhängigkeit der Feld-Korrelationsfunktion vom Blutgehalt f_{Blut} im Gewebe festzustellen.

Dies zeigt, dass eine Bestimmung der Erythrozytengeschwindigkeit mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie nur dann durchgeführt werden kann, wenn der Blutgehalt im Gewebe bekannt ist. Im Rahmen dieser Arbeit wurde durch eine Kombination der dynamischen Streulicht-Spektroskopie mit der Frequency-Domain Spektroskopie erstmals ein Verfahren (siehe Kapitel 4.2) eingesetzt, das simultan eine absolute Messung des Blutgehaltes des Gewebes erlaubt. Auf diese Weise können neben der Sauerstoffsättigung und dem Gesamthämoglobingehalt auch der Flux und die mittlere Geschwindigkeit der Erythrozyten im Gewebe absolut bestimmt werden.

3.2.9 Medien mit optischen und dynamischen Inhomogenitäten

Neben den Grenzflächen zwischen dem Medium und der Umgebung führen Grenzflächen im Inneren des Mediums zu zusätzlichen Randbedingungen. Grenzflächen innerhalb des Mediums sind z.B. dann zu berücksichtigen, wenn das Medium aus Regionen mit unterschiedlichen dynamischen oder optischen Eigenschaften besteht. Als Beispiel soll hier der Fall eines halbunendlichen Mediums diskutiert werden, in dem sich eine zylindrische, parallel zur Oberfläche verlaufende Inhomogenität befindet (Abbildung 3.14). Ein Beispiel für eine solche Geometrie aus dem Bereich der Biologie ist eine Vene, die parallel zur Oberfläche der Haut in das umliegende Gewebe eingebettet ist. Das zylindrische Areal habe den Radius a und einen Abstand z_0 zur Oberfläche. In Abbildung 3.14 wurde das Koordinatensystem so gewählt, dass die x - y -Ebene mit der Oberfläche des semiinfiniten Mediums zusammenfällt. Die Achse der zylindrischen Region verläuft parallel zur x -Achse und hat die y -Koordinate 0. Die (x,y) -Koordinaten der Quell- und Detektorfaser sind $(0,-y_S)$ bzw. (x_D,y_D) .

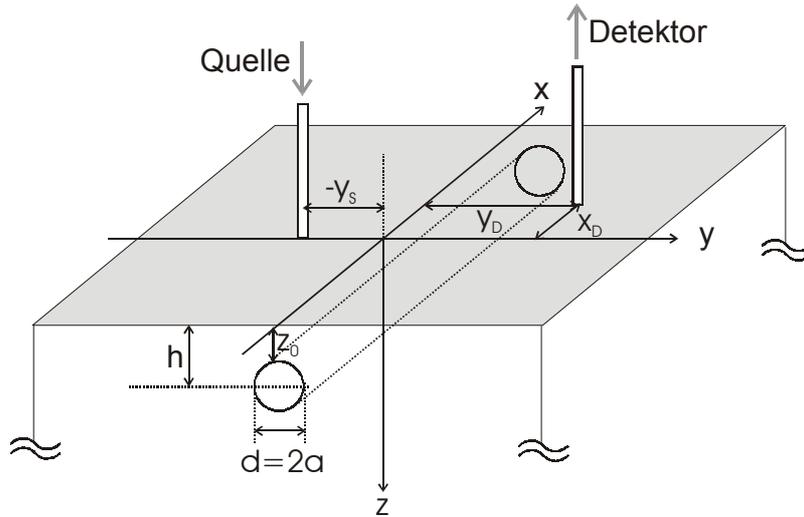


Abbildung 3.14: Geometrie bei der Bestimmung der Korrelationsfunktion des Streulichtes an einem semiinfinitem Medium mit einer zylindrischen Inhomogenität parallel zur Oberfläche.

Neben der Randbedingung (3.82) ist zusätzlich die Randbedingung (3.83) an der zylindrischen Grenzfläche innerhalb des Mediums zu berücksichtigen. Für die Feld-Korrelationsfunktion G_1 wird eine Summe aus der Feld-Korrelationsfunktion G_1^O des homogenen, semiinfinitem Mediums und der an dem zylindrischen Areal gestreuten Korrelationsfunktion G_1^S angesetzt [110]:

$$G_1(\vec{r}, \tau) = G_1^O(\vec{r}, \tau) + G_1^S(\vec{r}, \tau) \quad (3.89)$$

Im Folgenden seien die Korrelations-Schwächungskoeffizienten außerhalb der zylindrischen Inhomogenität mit $\alpha_{out}(\tau)$ und innerhalb mit $\alpha_{in}(\tau)$ bezeichnet. Entsprechend seien D_γ^{out} und D_γ^{in} der Photonendiffusionskoeffizient außerhalb bzw. innerhalb der zylindrischen Region. Für die Feld-Korrelationsfunktion des homogenen, semiinfinitem Mediums gilt gemäß den Ausführungen aus Kapitel 3.2.8:

$$G_1^O = \frac{1}{4\pi D_\gamma^{out}} \left\{ \frac{\exp(-\alpha_{out}(\tau)\rho)}{\rho} - \frac{\exp(-\alpha_{out}(\tau)\sqrt{\rho^2 + 4\gamma^2 l_r^2})}{\sqrt{\rho^2 + 4\gamma^2 l_r^2}} \right\} \quad (3.90)$$

während die Rechnung für die gestreute Feld-Korrelationsfunktion

$$G_1^S = -\frac{1}{2\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \int_0^{\infty} dp \cos(n\Theta) \cos(px) f_n \left(r_D \sqrt{p^2 + \alpha_{out}^2}, r_S \sqrt{p^2 + \alpha_{out}^2}, a \sqrt{p^2 + \alpha_{out}^2}, a \sqrt{p^2 + \alpha_{in}^2} \right) \quad (3.91)$$

liefert [9,10,110]. Darin sind:

$$\begin{aligned} \Theta &= \arctan\left(\frac{y_D}{h}\right) \\ r_D &= \sqrt{h^2 + y_D^2} \\ r_S &= \sqrt{h^2 + y_S^2} \\ h &= z_0 + a \end{aligned}$$

und

$$f_n(x_1, x_2, x_3, x_4) = K_n(x_1)K_n(x_2) \left\{ \frac{D_\gamma^{out} x_3 I_n'(x_3) I_n(x_4) - D_\gamma^{in} x_4 I_n(x_3) I_n'(x_4)}{D_\gamma^{out} x_3 K_n'(x_3) I_n(x_4) - D_\gamma^{in} x_4 K_n(x_3) I_n'(x_4)} \right\}$$

Hierbei sind I_n bzw. K_n die modifizierten Besselfunktionen erster bzw. zweiter Gattung n -ter Ordnung. In der Rechnung wurde angenommen, dass die Brechungsindizes innerhalb und außerhalb des zylindrischen Areals identisch sind. Diese Voraussetzung ist im Experiment im Allgemeinen nicht erfüllt. Der Einfluss unterschiedlicher Brechungsindizes auf die Feld-Korrelationsfunktion wird in Kapitel 5.2.2 anhand von experimentellen Daten diskutiert.

Der hier angegebene Ausdruck für die Feld-Korrelationsfunktion kann nicht analytisch berechnet werden. Zu seiner Auswertung muss daher auf numerische Verfahren zurückgegriffen werden. Prinzipiell ist eine Berechnung der in Gleichung (3.91) enthaltenen Besselfunktionen, Integrale und Summen mit Standardsoftware wie Mathematica (Wolfram Research) oder Mathcad (MathSoft) möglich. Es hat sich jedoch gezeigt, dass die damit benötigte Rechenzeit für eine hinreichende Anzahl von Datenpunkten relativ groß ist (typischerweise einige Minuten). Dies erweist sich insbesondere bei der Lösung des inversen Problems (siehe Kapitel 5.2.2), bei dem aus einer experimentell bestimmten Feld-Korrelationsfunktion die Geschwindigkeit der Streuer berechnet wird, als problematisch. Daher wurde zur numerischen Berechnung von Gleichung (3.91) ein Programm in Visual C++ 5.0 (Microsoft) erstellt. Die darin verwendeten Algorithmen zur Berechnung der modifizierten Besselfunktionen sind in [90] beschrieben. Die Berechnung des Integrals in Gleichung (3.91) basiert auf dem Verfahren der Romberg-Integration [91]. Bei der Ausführung der Summe in Gleichung (3.91) zeigt es sich, dass die Reihe sehr schnell konvergiert, so dass die Summation bereits nach den 20. Term abgebrochen werden kann [93].

Zur Diskussion von Gleichung (3.91) sei hier der Fall betrachtet, bei dem das zylindrische Areal durch eine Bohrung in einem quaderförmigen Festkörper gebildet wird. Ein derartiges Objekt wird in Kapitel 5.2.2 als Modellsystem zum Fluss von Blut durch eine Vene oder Arterie in einer Gewebematrix untersucht. Durch die Bohrung wird eine Flüssigkeit gepumpt, so dass sich in der Bohrung eine laminare Strömung bildet. Da die Streuer in dem Festkörper nicht mobil sind, verschwindet dort der Korrelations-Schwächungskoeffizient:

$$\alpha_{out}^2 = 0 \quad (3.92)$$

Nach Tabelle 3.1 beträgt der Korrelations-Schwächungskoeffizient bei Vernachlässigung der Absorption in der Bohrung:

$$\alpha_{in}^2(\tau) = \frac{1}{5} k_n^2 \langle \Gamma^2 \rangle \tau^2 \quad (3.93)$$

Der Erwartungswert des Quadrates der Schergeschwindigkeit ergibt sich durch Mittelung über die Querschnittsfläche der Bohrung zu [110]:

$$\langle \Gamma^2 \rangle = \frac{8}{\pi^2} \cdot \frac{Q^2}{a^6} \quad (3.94)$$

Darin ist Q die Flussrate der Flüssigkeit in der Bohrung, die mit der mittleren Geschwindigkeit $\langle v \rangle$ der Strömung wie folgt zusammenhängt:

$$Q = \pi \cdot a^2 \cdot \langle v \rangle \quad (3.95)$$

Insgesamt folgt also für den Korrelations-Schwächungskoeffizienten:

$$\begin{aligned} \alpha_{in}^2(\tau) &= \frac{8}{5\pi^2} \cdot \frac{k_n^2 Q^2 \tau^2}{a^6} \\ &= \frac{8}{5} \cdot \frac{k_n^2 \langle v \rangle^2 \tau^2}{a^2} \end{aligned} \quad (3.96)$$

Nach den Ausführungen aus Kapitel 3.2.2 handelt es sich bei dem hier betrachteten Objekt um ein nicht-ergodisches System. Die normierte Feld-Korrelationsfunktion g_1 kann dann nach Gleichung (3.62) als Summe eines konstanten Beitrages und eines Beitrages $g_{1,f}$ der dynamisch gestreuten Photonen geschrieben werden. In Abbildung 3.15 ist der Verlauf der Feld-Korrelationsfunktion $g_{1,f}$ der dynamisch gestreuten Photonen für verschiedene Werte der mittleren Geschwindigkeit der Streuer in der laminaren Strömung aufgetragen. Die Rechnungen wurden wiederum für eine Wellenlänge von 633 nm und einen Brechungsindex von $n = 1,4$ durchgeführt. Für die reduzierten Streukoeffizienten der Matrix und der Flüssigkeit wurde ein Wert von $\mu_s' = 1 \text{ mm}^{-1}$ angenommen. Der Radius der Bohrung wurde mit $a = 2,5 \text{ mm}$ und der Faserabstand mit $\rho = 3 \text{ mm}$ gewählt.

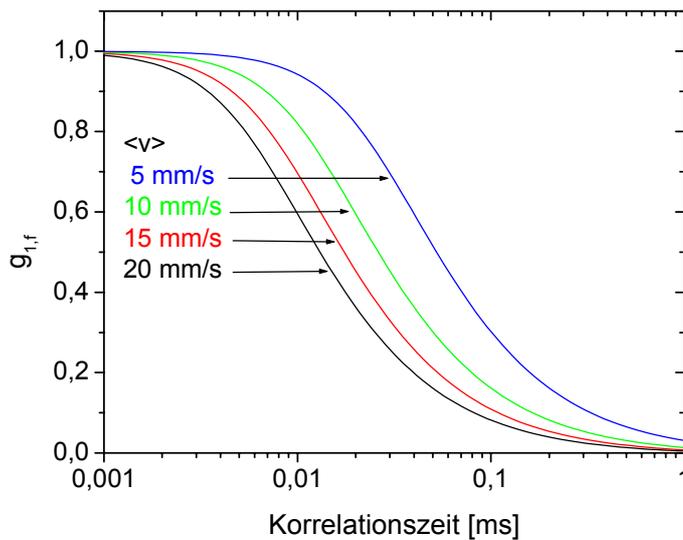


Abbildung 3.15: Berechneter Verlauf der normierten Feld-Korrelationsfunktion $g_{1,f}$ bei dynamischer Streuung von Licht an einer laminaren Strömung in einem nicht-ergodischen System für verschiedene Werte der mittleren Geschwindigkeit $\langle v \rangle$.

In Abbildung 3.15 zeigt sich eine deutliche Abhängigkeit der Feld-Korrelationsfunktion von der mittleren Geschwindigkeit der Streuer in der laminaren Strömung. Dieses Verhalten ist nach Gleichung (3.96) zu erwarten, weil der dort hergeleitete Ausdruck für den Korrelations-

Schwächungskoeffizienten von der mittleren Geschwindigkeit $\langle v \rangle$ abhängt. Dagegen ist für die laminare Strömung der Korrelations-Schwächungskoeffizient vom reduzierten Streukoeffizienten der strömenden Flüssigkeit unabhängig. Hier zeigt sich ein Unterschied zum Random Flow, für den in Kapitel 3.2.8 der Einfluss des reduzierten Streukoeffizienten der strömenden Flüssigkeit auf den Korrelations-Schwächungskoeffizienten untersucht wurde. Für das hier betrachtete inhomogene System ist nach Gleichung (3.91) dennoch eine schwache Abhängigkeit der normierten Feld-Korrelationsfunktion $g_{1,f}$ vom reduzierten Streukoeffizienten der Flüssigkeit zu erwarten. Dieser Effekt ist durch einen Einfluss der optischen Eigenschaften der Flüssigkeit auf die Photonenbahnen zwischen Quell- und Detektorfaser zu erklären. Um dies zu verdeutlichen, wurde in Abbildung 3.16 der Verlauf von $g_{1,f}$ für eine mittlere Geschwindigkeit von $\langle v \rangle = 10$ mm/s für verschiedene Werte des reduzierten Streukoeffizienten der Flüssigkeit in der Bohrung aufgetragen.

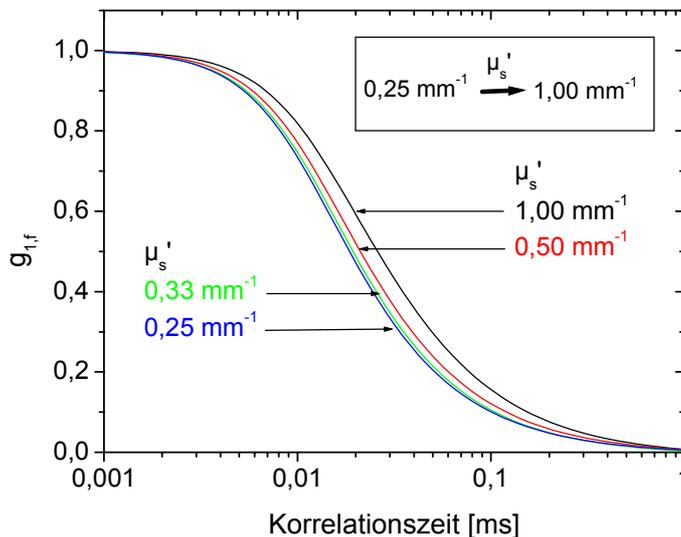


Abbildung 3.16: Berechneter Verlauf der normierten Feld-Korrelationsfunktion $g_{1,f}$ bei dynamischer Streuung von Licht an einer laminaren Strömung in einem nicht-ergodischen System für verschiedene Werte des reduzierten Streukoeffizienten μ'_s . Der Pfeil deutet den späteren Abfall der Feld-Korrelationsfunktion bei größeren Werten des reduzierten Streukoeffizienten an.

3.3 Zusammenfassung: Theorie

Im Rahmen dieses Kapitels wurden die theoretischen Ansätze, die für diese Arbeit von Bedeutung sind, eingeführt. Im ersten Teil wurden Modelle zur Lichtausbreitung in trüben Medien beschrieben. Die Mie-Theorie erlaubt eine Berechnung der Streuung und Absorption von Licht durch sphärische Partikel und wird im Folgenden zur Berechnung der optischen Eigenschaften von Suspensionen von Polystyrenkugeln in Wasser verwendet (siehe Kapitel 4.3.1). Die Strahlungstransporttheorie liefert die Grundlage für eine phänomenologische Beschreibung der Lichtausbreitung in trüben Medien. Eine analytische Näherungslösung der Strahlungstransportgleichung ist die Diffusionsapproximation, die die Lichtausbreitung jedoch nur in hinreichend großen Abständen von Lichtquellen beschreiben kann. Ein Ansatz, der die Remission von Licht durch ein trübes Medium auch bei kompakter Messgeometrie beschreiben kann, ist das mikroskopische Beer-Lambert Gesetz (MBL). Das modifizierte MBL spielt eine wichtige Rolle bei der Messung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes mittels FD-DS Spektroskopie (siehe Kapitel 5.3.1). Eine

Berechnung des Wechselwirkungsvolumens der Photonen mit dem Gewebe wird durch Monte Carlo Simulationen ermöglicht (siehe Kapitel 5.1).

Im zweiten Teil des Theoriekapitels werden Kohärenzeffekte bei der Streuung von Licht in trüben Medien behandelt. Dazu wurde die Korrelations-Transport-Theorie eingeführt. Die Lösung der Korrelationstransportgleichung zeigt eine formelle Ähnlichkeit mit der Lösung der Strahlungstransportgleichung. Es wurden Näherungslösungen (P_1 -Approximation) der Korrelationstransportgleichung für verschiedene Geometrien beschrieben. Diese Näherungen gelten nur für nicht zu große Korrelationszeiten τ , in denen die Bewegung der Partikel im Medium deutlich kleiner ist als die Wellenlänge des Lichtes. Darüber hinaus wird nur eine schwache Richtungsabhängigkeit der Feld-Korrelationsfunktion G_1^T zugelassen. Die Anwendung der Korrelations-Transport-Theorie bei der Untersuchung der Durchblutung biologischer Gewebe wurde diskutiert. Die Korrelations-Transport-Theorie spielt eine wichtige Rolle bei der Messung des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten in biologischen Geweben mittels FD-DS Spektroskopie (siehe Kapitel 5.3.1).

4. Methoden und Materialien

In diesem Kapitel werden die für diese Arbeit relevanten Methoden und Materialien behandelt. Als Modellsystem für die dynamische Streulicht-Spektroskopie werden Phantome verwendet, deren Herstellung Kapitel 4.3 beschrieben wird. Eine Charakterisierung der optischen Eigenschaften der Phantome erfolgt mit der Ulbrichtkugel-Spektroskopie. Der Aufbau des dazu verwendeten Ulbrichtkugel-Spektrometers wird in Kapitel 4.1 dargestellt. In Kapitel 4.2 wird die Kombination der Frequency-Domain Spektroskopie und der dynamischen Streulicht-Spektroskopie zu einem neuen Messverfahren zur in vivo Messung von Gewebeparametern behandelt.

4.1 Ulbrichtkugel-Spektrometer

Zur Bestimmung der optischen Eigenschaften der verwendeten Festkörper- und Flüssigphantome wurde ein Ulbrichtkugel-Spektrometer aufgebaut (Abbildung 4.1). Als Lichtquelle dient eine Xenon Kurzbogenlampe (XBO 75W/2, Osram), die in einem Gehäuse (Series Q Convective Lamp Housing Model 60000, Oriel Instruments) montiert ist. Der Lampenstrom von 5,4 A bei einer Spannung von 14 V wird von einem Netzteil (50-200Watt Arc Lamp Power Supply Model 68806, Oriel Instruments) geliefert. Die Selektion der Wellenlänge erfolgt mit einem Gitter-Monochromator (MS257, Oriel Instruments). Durch Verwendung verschiedener Kombinationen von Reflexionsgittern und Filtern kann damit monochromatisches Licht über einen Wellenlängenbereich von 400 nm bis 1400 nm generiert werden. Die Bandbreite des Lichtes wird durch die Größe der Schlitzblende an Ausgang des Monochromators bestimmt, für die in den folgenden Messungen ein Wert von 1 mm gewählt wurde. Das Licht wird mit einem Chopper (Light Beam Chopper 221, HMS) mit einer Frequenz von 180 Hz moduliert und über zwei Silberspiegel (M1 und M2) auf die Probe gelenkt. Zur Messung der diffusen Reflexion (RD), der totalen Transmission (TT) sowie der kollimierten Transmission (TC) werden Ulbrichtkugeln (U1 und U2, IS-060-SL, Durchmesser 6 Zoll, Labsphere) verwendet. Zur Referenzmessung der Intensität des aus dem Monochromator austretenden Lichtbündels wird ein Teil des Lichtes über einen Strahlteiler (BS) ausgekoppelt und in einer weiteren Ulbrichtkugel (U3, IS-020-SL, Durchmesser 2 Zoll, Labsphere) detektiert. Die Messung der Lichtintensität in den Ulbrichtkugeln erfolgt mit Photodioden (PD1-PD3). Der in den Photodioden generierte Photostrom wird über externe Vorverstärker verstärkt und mit Lock-In Verstärkern (Model 3981 PC Lock-In Amplifier, Ithaco) detektiert. Das Referenzsignal für die Lock-In Verstärker wird vom Chopper generiert. Zur Steuerung des Aufbaus und zur Datenerfassung wird ein Personal Computer (PC, Prozessor: Pentium 166 MHz, Intel) verwendet.

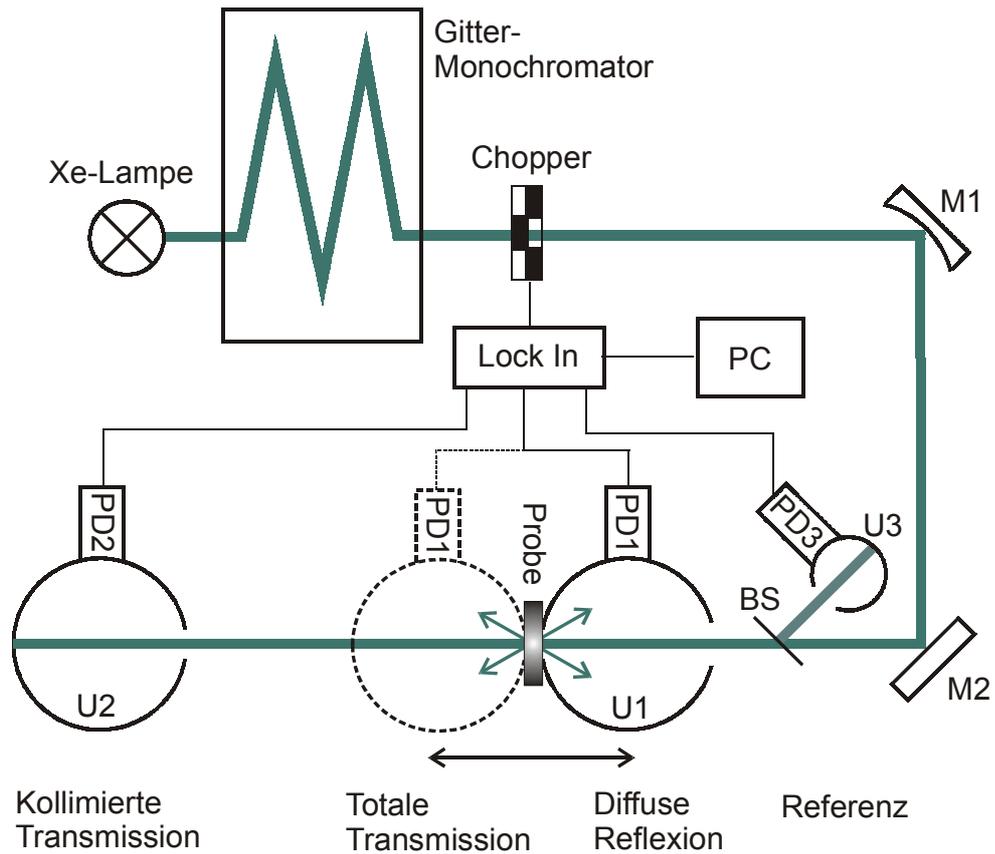


Abbildung 4.1: Ulbrichtkugel-Spektrometer zur Bestimmung optischer Eigenschaften trüber Medien. Erläuterungen siehe Text.

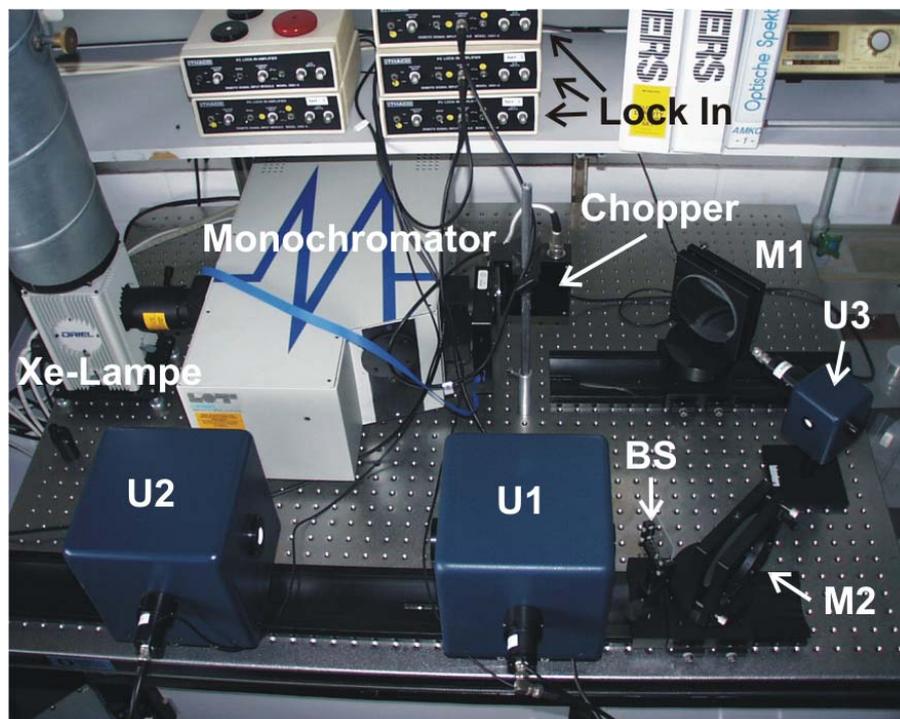


Abbildung 4.2: Fotografie des Ulbrichtkugelspektrometers. U1-U3: Ulbrichtkugeln, M1-M2: Spiegel, BS: Strahlteiler.

Vor der Messung wird zunächst der Lichtstrahl aus dem Monochromator unterbrochen und eine Kalibrierung der Lock-In Verstärker sowie eine Messung der Dunkelströme I_1^0 , I_2^0 und I_3^0 in den Photodioden PD1-PD3 vorgenommen. Prinzipiell können mit einem Ulbrichtkugel-Spektrometer die totale (TT) oder diffuse (TD) Transmission und die diffuse Reflexion (RD) gleichzeitig gemessen werden. Um eine Wechselwirkung der Strahlungsfelder in den Kugeln zu vermeiden, wird für die in dieser Arbeit durchgeführten Messungen die Bestimmung von RD und TT in zwei Schritten mit jeweils nur einer Kugel durchgeführt. Im ersten Schritt werden die Kugeln für die diffuse Reflexion und die kollimierte Transmission (TC) wie in Abbildung 4.1 gezeigt positioniert. Zur Bestimmung des Referenzwertes $RD_{100\%}$ für eine diffuse Reflexion von 100 % wird ein Weissstandard (Spektralon®) an der hinteren Öffnung von U1 angebracht. Der Referenzwert ergibt sich nach Abzug der Dunkelströme und Normierung auf die Referenzintensität des Lichtstrahles aus dem Monochromator zu:

$$RD_{100\%} = \frac{I_1 - I_1^0}{I_3 - I_3^0}, \quad (4.1)$$

wobei hier die Ströme in den Photodioden PD1-PD3 mit I_1 - I_3 bezeichnet werden. Zur Bestimmung des Referenzwertes $TC_{100\%}$ für eine kollimierte Transmission von 100 % wird der Photostrom I_2 von PD2 ohne Probe im Strahlengang gemessen:

$$TC_{100\%} = \frac{I_2 - I_2^0}{I_3 - I_3^0} \quad (4.2)$$

Zur Bestimmung der diffusen Reflexion und der kollimierten Transmission wird die Probe an der hinteren Öffnung von U1 angebracht. Die Werte von RD und TC folgen aus den so gemessenen Photoströmen zu:

$$RD = \frac{(I_1 - I_1^0)/(I_3 - I_3^0)}{RD_{100\%}} \quad (4.3)$$

$$TC = \frac{(I_2 - I_2^0)/(I_3 - I_3^0)}{TC_{100\%}} \quad (4.4)$$

Im zweiten Schritt wird die Kugel U1 in die Position für die Messung der totalen Transmission gebracht und ein Bariumsulfat-Reflektor in die hintere Öffnung der Kugel eingelassen. Die Referenzmessung für eine totale Transmission von 100 % wird ohne Probe durchgeführt:

$$TT_{100\%} = \frac{I_1 - I_2^0}{I_1 - I_3^0} \quad (4.5)$$

Der Wert für die totale Transmission wird nach Anbringen der Probe an der vorderen Öffnung aus dem gemessenen Photostrom in PD1 berechnet:

$$TT = \frac{(I_1 - I_1^0)/(I_3 - I_3^0)}{TT_{100\%}} \quad (4.6)$$

Zur Steuerung der einzelnen Schritte bei der Datenakquisition wurde auf Basis der grafischen Programmiersprache Lab View (National Instruments) ein Messprogramm entwickelt. Zur Kommunikation mit den Lock-In Verstärkern wurde ein Treiber in Visual C++ 5.0 (Microsoft) programmiert, über den die Steuerung und der Datenaustausch mit Lab View realisiert wird. Die Steuerung und der Datenaustausch mit dem Monochromator erfolgen über eine GPIB-Karte (PCI-GPIB, National Instruments). Zur Berechnung der optischen Eigenschaften der Probe (Absorptionskoeffizient μ_a , Streukoeffizient μ_s und Anisotropiefaktor g) wird eine inverse Monte Carlo Simulation (Magic Light, Version 3.12, siehe Kapitel 3.1.5) verwendet.

4.2 Kombination von Frequency-Domain- und dynamischer Streulicht-Spektroskopie (FD-DS Spektroskopie)

Die bislang in der medizinischen Praxis und Forschung eingesetzten Verfahren zur Bestimmung von Gewebeparametern weisen verschiedene Nachteile auf. Insbesondere stellt die Notwendigkeit einer Kalibrierung solcher Messverfahren stets eine Quelle von systematischen Messfehlern dar (siehe Kapitel 2.5 und 2.6). Daher wurde im Rahmen dieser Arbeit ein neues Konzept zur Messung von Gewebeparametern mittels einer Kombination von Frequency-Domain Spektroskopie und dynamischer Streulicht-Spektroskopie entwickelt. Dieses Verfahren erlaubt eine absolute Bestimmung der Sauerstoffsättigung, des Gesamthämoglobingehaltes, des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten im durchstrahlten Gewebe. Voraussetzung für eine absolute Bestimmung der Gewebeparameter ist die Anwendung neuer theoretischer Modelle zur Lichtausbreitung in trüben Medien. Dazu werden das modifizierte MBL (Kapitel 3.1.4) und die Korrelations-Transport-Theorie (Kapitel 3.2.3 bis 3.2.6) eingesetzt. In den folgenden Kapiteln wird der Aufbau des FD-DS Spektrometers beschrieben. Eine schematische Darstellung des Versuchsaufbaus ist in Abbildung 4.3 gezeigt.

Die Komponenten des Aufbaus werden in den Kapiteln 4.2.1 (Frequency-Domain Spektroskopie) und 4.2.2 (dynamische Streulicht-Spektroskopie) behandelt. In Kapitel 4.2.3 folgt eine Beschreibung des Applikators, der in diesem Gerät bei der Messung von Gewebeparametern eingesetzt wird. Eine Beschreibung der Messsequenz, die zur Messung von Gewebeparametern mittels FD-DS Spektroskopie angewandt wird, schließt sich in Kapitel 4.2.4 an.

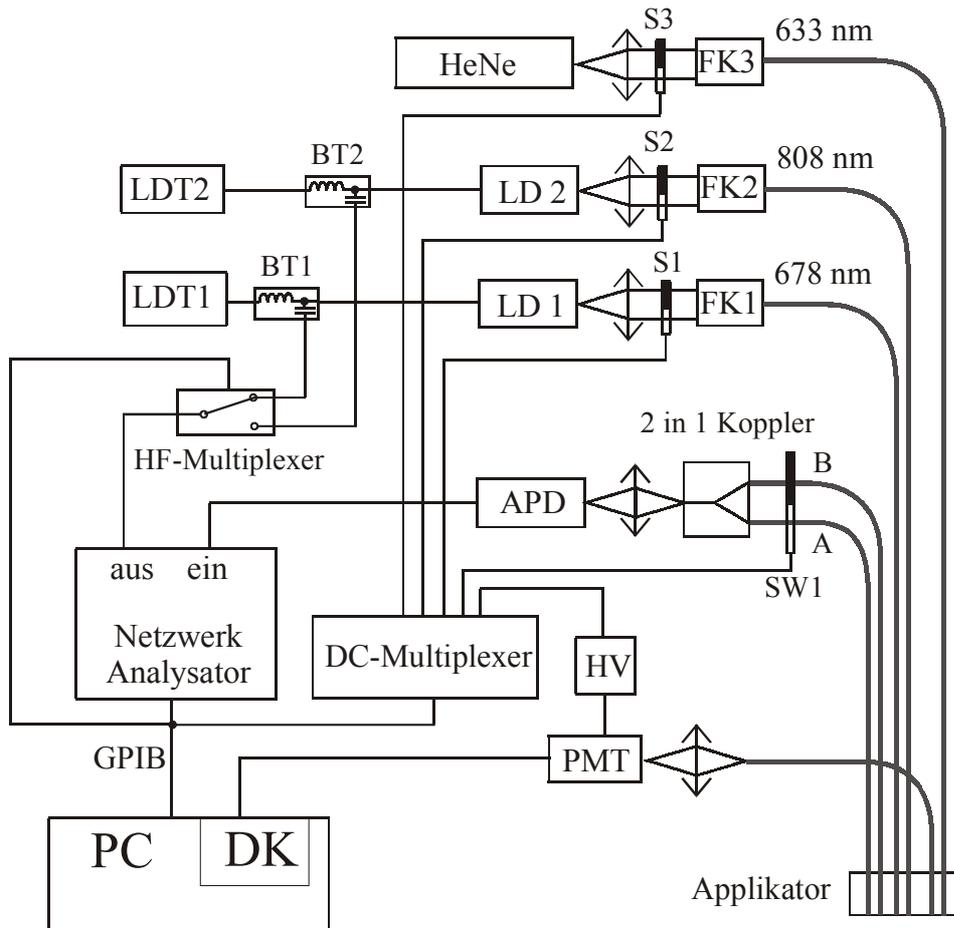


Abbildung 4.3: Skizze des Versuchsaufbaus zur Messung von Gewebeparametern mittels Frequency-Domain Spektroskopie und dynamischer Streulicht-Spektroskopie

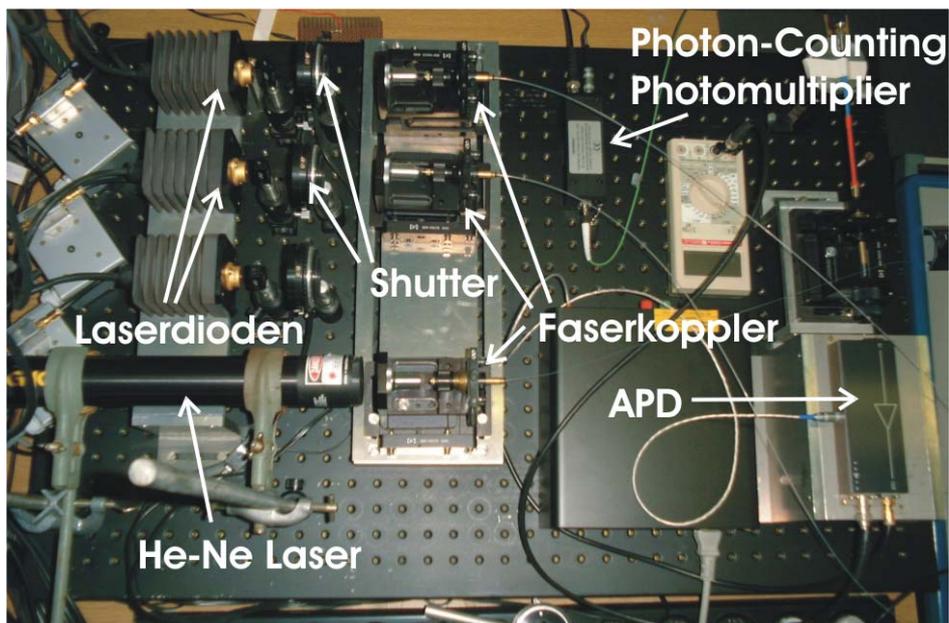


Abbildung 4.4: Fotografie des Versuchsaufbaus zur Kombination der Frequency-Domain Spektroskopie mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie

4.2.1 Frequency-Domain Oxymetrie

Der Versuchsaufbau in Abbildung 4.3 beinhaltet ein Frequency-Domain Oxymeter, das bereits von WILLMANN et al. beschrieben wurde [134,135,136]. Damit wird der Absorptionskoeffizient eines Gewebes bei zwei verschiedenen Wellenlängen mittels Frequency-Domain Spektroskopie bestimmt. Auf Basis der Zwei-Linien-Absorptionsspektroskopie können daraus die Sauerstoffsättigung und der Gesamthämoglobingehalt des Gewebes absolut ermittelt werden.

In dem Frequency-Domain Spektrometer werden als Lichtquellen zwei Laserdioden (LD1, 7432-H1, SDL und LD2, 2352-H1, SDL) mit den Wellenlängen von 678 nm und 808 nm verwendet. Zur Stromversorgung der Laserdioden kommen zwei Treiber (LDT1 und LDT2, Wavelength Electronics) zum Einsatz. Dem Gleichstrom der Treiber kann über einen HF-Multiplexer (Modell 7061, Keithley) in einem Bias-Tee (BT 1 und BT 2, Model 5580, Picosecond Labs) das Ausgangssignal eines Vektor-Netzwerkanalysators (HP 8712C, Hewlett Packard) überlagert werden. Auf diese Weise kann von den Dioden amplitudenmoduliertes Licht mit Frequenzen zwischen 300 kHz und 1,3 GHz generiert werden. Über Faserkoppler (FK1 und FK2) wird das Licht in die proximalen Enden der Quellfasern eingekoppelt. Dabei handelt es sich um Quarz-Quarz Lichtwellenleiter mit einem Kerndurchmesser von 600 μm und einer numerischen Apertur von $\text{NA}=0,2$. Vor den Faserkopplern befinden sich elektronische Shutter (S1 und S2, 04 IES 001, Melles Griot) im Strahlengang, so dass das Licht von jeweils nur einer Laserdiode für die Messung selektiert werden kann.

Die Detektion des vom Messobjekt diffus gestreuten Lichtes erfolgt mit zwei Quarz-Quarz Lichtwellenleitern (Detektorfasern A und B, Kerndurchmesser 600 μm , NA 0,2), deren distale Enden in zwei unterschiedlichen Abständen zu den Quellfasern angebracht sind. Mit Hilfe eines optischen Schalters (SW1) und eines 2 in 1 Kopplers wird das Licht einer Detektorfaser selektiert und über einen Faserkoppler auf eine Avalanche-Photodiode (APD, S90302C, EG&G Electrooptics) fokussiert. Das von der APD gemessene Signal wird mit einem HF-Vorverstärker (Femto) verstärkt und dem Eingang des Netzwerkanalysators zugeführt, der die Transmission und die Phasenverschiebung der elektrischen Leistung zwischen Quelle und Detektor misst. Die Steuerung des Netzwerkanalysators, der Multiplexer, der Shutter und des optischen Schalters erfolgen über das GPIB Interface (GPIB, National Instruments) eines Personal Computers (PC, Intel Pentium 133).

4.2.2 Dynamische Streulicht-Spektroskopie

Um mit dem oben beschriebenen Gerät zusätzlich eine Messung des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten durchführen zu können, wurden die Komponenten zur dynamisches Streulicht-Spektroskopie in den Aufbau integriert. Als Lichtquelle wird darin ein Helium-Neon Laser (HeNe, Modell 05 LHR 151, Melles Griot) verwendet. Zur Beleuchtung des Messobjektes wird das Licht des Lasers über einen Shutter (S3, 04 IES 001, Melles Griot) und Faserkoppler (FK3) in eine optische Faser (Newport, Kerndurchmesser 200 μm , numerische Apertur 0,37) eingekoppelt. Zur Detektion des Streulichtes wird eine Singlemode-Faser (Newport, Kerndurchmesser 4,6 μm , numerische Apertur 0,11) verwendet. Die Detektion des Streulichtes erfolgt mit einem Photon-Counting Photomultiplier (PMT, ALV-SIPC, ALV Vertriebsgesellschaft m.b.H.). Der Photomultiplier verfügt über einen

integrierten Faserkoppler, über den das proximale Ende der Singlemodefaser mit einem FC-Adapter angeschlossen werden kann.

Zur on-line Signalverarbeitung des detektierten Signals wird ein digitaler Korrelator (DK, ALV 5000/E, ALV Vertriebsgesellschaft m.b.H.) verwendet. Dieser ist in der Lage, die Korrelationsfunktion des vom Photon-Counting Photomultiplier gelieferten Signals mit einer Zeitauflösung von 200 ns in Echtzeit zu berechnen. Dazu stehen im Gerät 288 Kanäle zur Verfügung. Durch Verwendung des Multiple-Tau Verfahrens (siehe Kapitel 2.7) kann darin die Korrelationsfunktion bis zu einer maximalen Korrelationszeit von 3435 s bestimmt werden.

Der digitale Korrelator ist auf einer ISA-Karte aufgebaut und wird in den Steckplatz des Personal Computers (PC) eingebaut. Zur Steuerung des Gerätes steht eine Software (ALV Software System Version 2.7.3.0) zur Verfügung, mit der sich der Messprozess über eine graphische Benutzerschnittstelle unter Windows NT 4.0 (Microsoft) steuern lässt. Darüber hinaus verfügt die Software über ein Shared-Memory Interface, über das die Steuerung des Korrelators auch von anderen Applikationen erfolgen kann. Um eine Steuerung des Korrelators mit der Programmiersprache Lab View (National Instruments) zu ermöglichen, wurde in Visual C++ 5.0 (Microsoft) eine Dynamische Link Library (DLL) programmiert. Diese DLL kann in Lab View Programme integriert werden und über das Shared Memory Interface mit der Korrelator-Software kommunizieren.

4.2.3 Applikator zur Messung von Gewebeparametern

Zur *in vivo* Messung der Gewebeparameter mit dem FD-DS Spektrometer werden die distalen Enden der Quell- und Detektorfasern mit dem Gewebe in Kontakt gebracht. Um eine richtige Positionierung der Fasern zu gewährleisten, wurde ein geeigneter Applikator konstruiert. Dabei handelt es sich um eine Kunststoffscheibe, in der sich Bohrungen zur Aufnahme der distalen Enden der Lichtwellenleiter befinden. Die Fasern können darin mit Madenschrauben fixiert werden. Die geometrische Anordnung der Fasern ist schematisch in Abbildung 4.5 gezeigt.

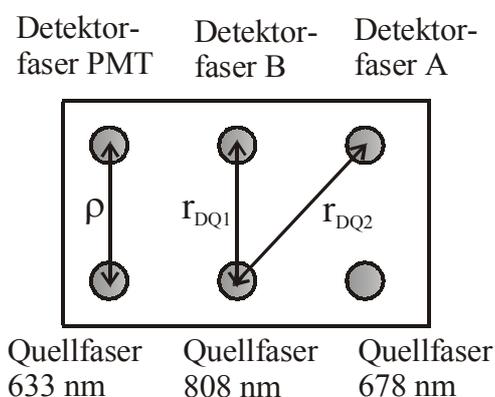


Abbildung 4.5: Geometrische Anordnung der Lichtwellenleiter im Applikator bei der kombinierten Messung von Gewebeparametern mittels Frequency-Domain Spektroskopie und dynamischer Streulicht-Spektroskopie. Die Abstände der Fasern betragen $\rho = r_{DQ1} = 3 \text{ mm}$ und $r_{DQ2} = 4,2 \text{ mm}$.

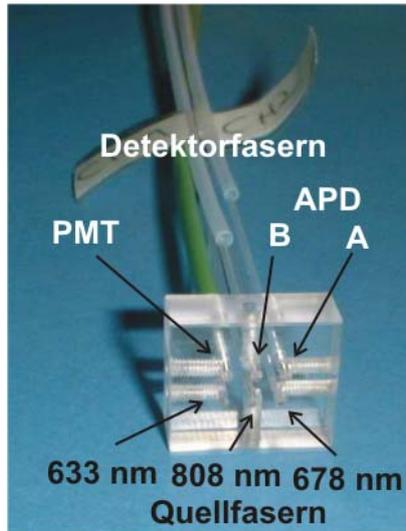


Abbildung 4.6: Fotografie des Applikators für die Messung von Gewebeparametern bei kompakter Messgeometrie

Für die Leistung des Lichtes am distalen Ende der Quellfasern wurden mit einem Leistungsmessgerät (FieldMaster, Coherent) und einem Halbleiterdetektor (LM-2 VIS, Coherent) Werte von etwa 90 mW für die Laserdioden und 4,5 mW für den Helium-Neon Laser bestimmt.

Bei der Durchführung der Frequency-Domain Messung muss für die korrekte Auswertung der Messdaten berücksichtigt werden, dass die beiden Detektorfasern A und B in Kombination mit dem optischen 2 in 1 Schalter im Allgemeinen unterschiedliche Beiträge zur Transmission und zur Phasenverschiebung liefern. Die unterschiedlichen Transmissionen und Weglängen der Photonen der beiden Detektionszweige können experimentell bestimmt werden. Dazu wird der Messkopf auf einem Phantom positioniert und bei einer festen Modulationsfrequenz für eine Wellenlänge die Schwächung des Lichtes beim Durchgang durch das Phantom gemessen. Durch sequentielles Öffnen und Schließen des optischen Schalters werden abwechselnd die Transmissionen $T_A(r_{DQ1})$ für Faser A im Abstand r_{DQ1} und $T_B(r_{DQ2})$ für Faser B im Abstand r_{DQ2} gemessen (Abbildung 4.7). In einem zweiten Schritt wird die Position der Detektorfasern im Messkopf vertauscht und die Messung wiederholt. Auf diese Weise werden die Transmissionen $T_A(r_{DQ2})$ von Faser A beim Abstand r_{DQ2} und $T_B(r_{DQ1})$ bestimmt.

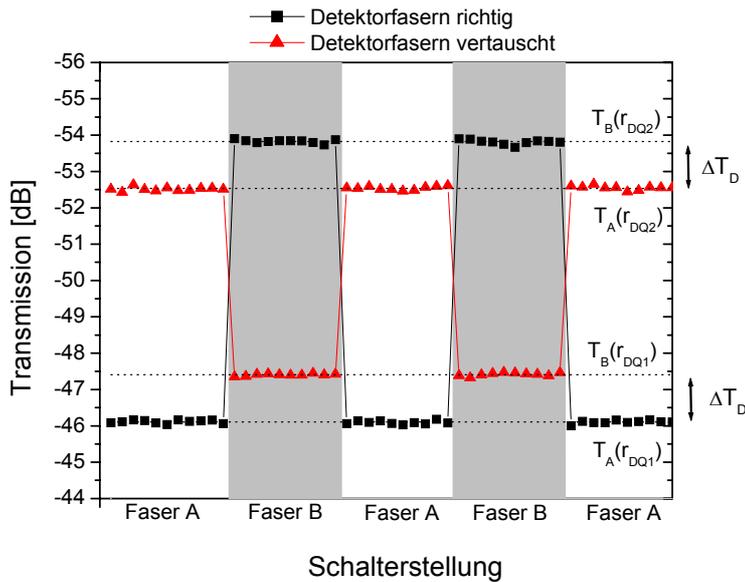


Abbildung 4.7: Messung der Differenz der Transmission ΔT_D der Detektorfasern bei einer Modulationsfrequenz von $f = 1$ MHz. Punkte: gemessene Transmission des Lichtes durch ein Phantom bei richtiger und vertauschter Position der Detektorfasern im Applikator. Gepunktete Linie: Mittelwert der Transmission nach Tabelle 4.1.

In diesem Beispiel wurden folgende Mittelwerte und Messgenauigkeiten für die Transmission bestimmt:

	Mittelwert [dB]	Standardfehler [dB]
$T_A(r_{DQ1})$	-46,11	0,01
$T_B(r_{DQ1})$	-47,41	0,01
$T_A(r_{DQ2})$	-52,53	0,02
$T_B(r_{DQ2})$	-53,82	0,02

Tabelle 4.1: Messung der Transmission beim Durchgang des Lichtes durch ein Phantom mit den Fasern A und B für zwei verschiedene Abstände r_{DQ} zwischen Quell- und Detektorfasern

Für die Differenz der Transmissionen ΔT_D der Detektorfasern gilt dann:

$$\begin{aligned}\Delta T_D(r_{DQ1}) &= T_A(r_{DQ1}) - T_B(r_{DQ1}) = 1,30 \pm 0,02 \text{ dB} \\ \Delta T_D(r_{DQ2}) &= T_A(r_{DQ2}) - T_B(r_{DQ2}) = 1,29 \pm 0,02 \text{ dB}\end{aligned}$$

Es zeigt sich, dass die Differenzen der Transmission für beide Faserabstände im Rahmen der Messgenauigkeit übereinstimmen.

Zur Bestimmung des Unterschiedes der Laufzeit des Lichtes in den Detektorfasern werden die Phasenverschiebungen ϕ_A und ϕ_B des Lichtes beim Durchgang durch ein Phantom für beide Fasern A und B bei gleichem Abstand r_{DQ1} zur Quellfaser für Modulationsfrequenzen f zwischen 1 MHz und 200 MHz bestimmt. In Abbildung 4.8 ist die so bestimmte Differenz der Phasenverschiebung $\Delta\phi_D$ mit

$$\Delta\phi_D = \phi_A(r_{DQ1}) - \phi_B(r_{DQ1}) \quad (4.7)$$

gezeigt. Analog zu Gleichung (3.39) besteht zwischen der Phasendifferenz $\Delta\phi_D$ und der Modulationsfrequenz f für Werte von $f \leq 200$ MHz ein linearer Zusammenhang:

$$\Delta\phi_D = 2\pi \cdot \Delta t_D \cdot f \quad (4.8)$$

Darin ist Δt_D die Flugzeitdifferenz der Photonen in den beiden Detektorfasern. Sie kann also aus der Steigung der Regressionsgeraden der gemessenen Phasendifferenzen in Abhängigkeit von der Frequenz bestimmt werden. Für die hier gezeigte Messung ergibt sich ein Wert von $\Delta t_D = 49,5 \pm 0,5$ ps.

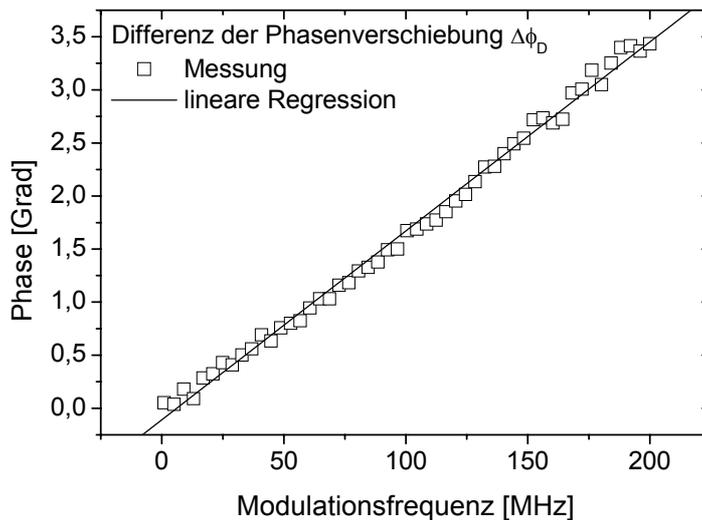


Abbildung 4.8: Messung der Laufzeitdifferenz des Lichtes in den beiden Detektorfasern, Kästchen: Messwerte, Linie: lineare Regression.

Die Werte der Flugzeit- und Transmissionsdifferenz der Detektorfasern ändern sich nicht, solange keine Veränderungen an den optischen Komponenten wie den Lichtwellenleitern oder dem optischen Schalter vorgenommen werden. Je nach Beanspruchung des Applikators kann eine Überprüfung dieser Werte im Abstand von einigen Tagen bis Wochen vorgenommen werden. Gegebenenfalls können die Enden der Fasern erneut gebrochen und poliert werden, um eine effizientere Bestrahlung und Detektion zu gewährleisten. Danach müssen die Werte von Δt_D und ΔT_D neu gemessen werden. Die Berücksichtigung der Differenzen der Transmission und der Flugzeit der Photonen in den Detektorfasern bei der Auswertung der Frequency-Domain Daten wird in Kapitel 5.3.1 beschrieben.

4.2.4 Messsequenz zur Bestimmung von Gewebeparametern

Mit dem PC können die Komponenten des Aufbaus so angesteuert werden, dass nacheinander die Frequency-Domain Messung und anschließend die dynamische Streulicht Messung durchgeführt werden. Dazu wurde in der Programmiersprache Lab View (National Instruments) ein Programm entwickelt, das neben der Steuerung der Messung und der Datenakquisition auch die Berechnung der Gewebeparameter aus den Messgrößen übernimmt. Die einzelnen Schritte, die von dem Programm ausgeführt werden, sind im Flussdiagramm in Abbildung 4.9 gezeigt.

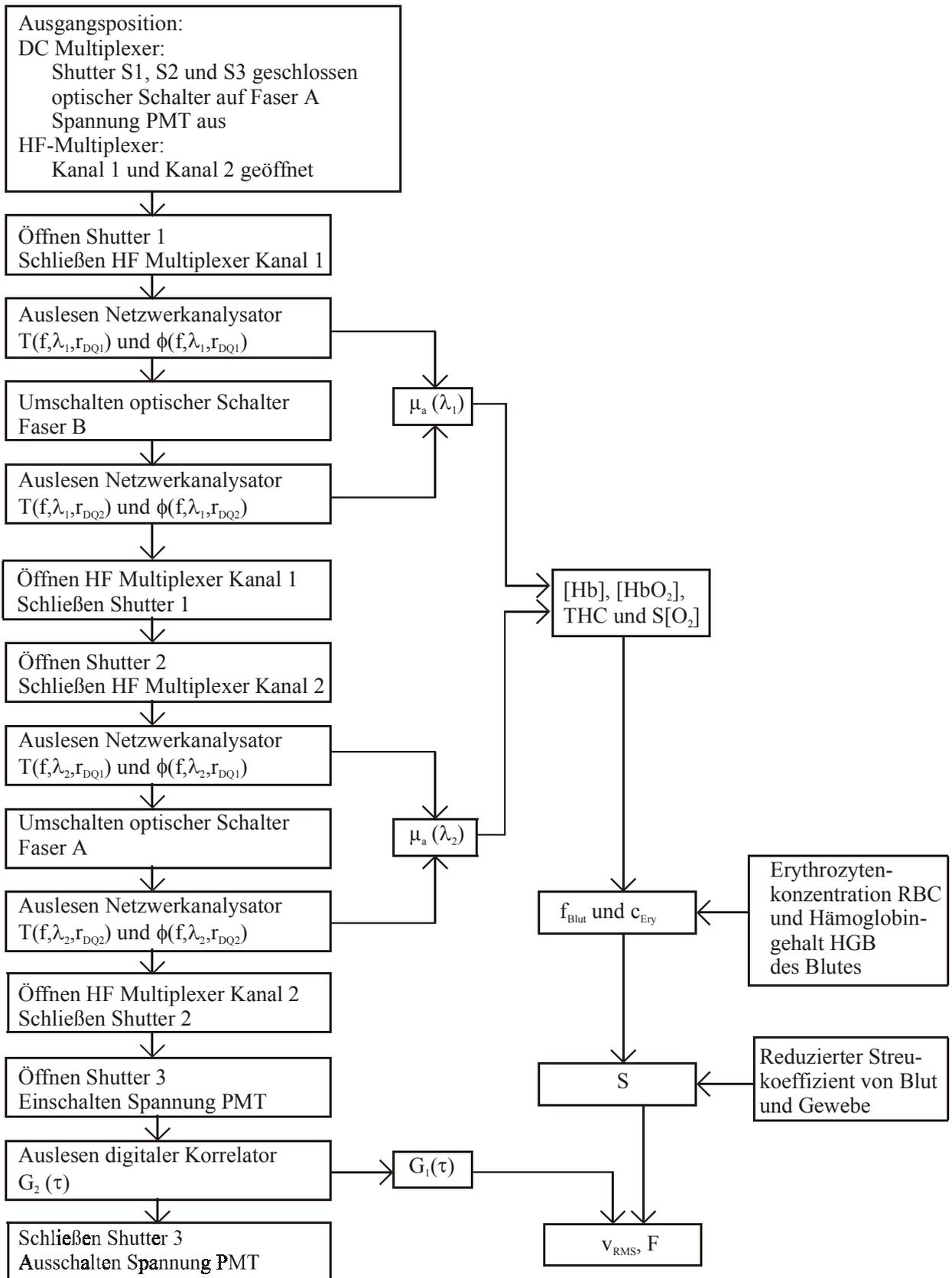


Abbildung 4.9: Messsequenz zur on-line Bestimmung von Gewebeparametern mittels Frequency-Domain Spektroskopie und dynamischer Streulicht-Spektroskopie. Abkürzungen und Details siehe Text.

In der Ausgangsposition nach dem Einschalten aller Komponenten des Gerätes sind die Shutter S1 bis S3 geschlossen und der optische Schalter SW1 ist geöffnet für Licht aus der Detektorfaser A. Zum Schutz vor Überlastung ist die Spannungsversorgung des Photomultipliers während der Beleuchtung des Gewebes mit den Laserdioden ausgeschaltet. Im ersten Schritt wird Shutter 1 geöffnet und mit der Detektorfaser A die Transmission $T(f, \lambda_1, r_{DQ1})$ und die Phasenverschiebung $\phi(f, \lambda_1, r_{DQ1})$ des Lichtes beim Durchgang durch das Gewebe bei einer Wellenlänge von $\lambda_1 = 678$ nm und einem Faserabstand r_{DQ1} für Modulationsfrequenzen f zwischen 1 MHz und 200 MHz gemessen. Im nächsten Schritt wird durch Ansteuerung des optischen Schalters SW1 die Detektorfaser gewechselt und die Transmission $T(f, \lambda_1, r_{DQ2})$ und die Phasenverschiebung $\phi(f, \lambda_1, r_{DQ2})$ mit der Faser B für den Faserabstand r_{DQ2} bestimmt. Nach Schließen von Shutter 1 und Öffnen von Shutter 2 werden die Transmission $T(f, \lambda_2, r_{DQ1})$ und die Phasenverschiebung $\phi(f, \lambda_2, r_{DQ1})$ bei einem Faserabstand r_{DQ1} und einer Wellenlänge von $\lambda_2 = 808$ nm gemessen. Schließlich werden nach dem Zurücksetzen des optischen Schalters die Transmission $T(f, \lambda_2, r_{DQ2})$ und die Phasenverschiebung $\phi(f, \lambda_2, r_{DQ2})$ bei einem Faserabstand r_{DQ2} ermittelt. Aus den Frequency-Domain Daten werden mit Hilfe des MBL (Kapitel 3.1.4) die Absorptionskoeffizienten $\mu_a(\lambda_1)$ und $\mu_a(\lambda_2)$ des Gewebes bei den beiden Laserwellenlängen bestimmt werden. Auf Basis der Zwei-Linien Absorptions-Spektroskopie werden daraus, gegebenenfalls unter Berücksichtigung von optischen Inhomogenitäten des untersuchten Gewebes, die Sauerstoffsättigung $S[O_2]$ und der Gesamthämoglobingehalt THC im untersuchten Volumen ermittelt (Kapitel 2.5.4). Bei bekanntem Hämoglobingehalt HGB und Erythrozytenkonzentration RBC des Blutes können daraus der Blutgehalt f_{Blut} des Gewebes und die Erythrozytenkonzentration c_{Ery} im Gewebe bestimmt werden. Anhand der Werte der reduzierten Streukoeffizienten für Blut und humane Haut folgt daraus nach Kapitel 3.2.8 der Anteil S der Erythrozyten an der Streuung im Gewebe.

Im weiteren Verlauf wird zur Messung der Korrelationsfunktion $G_2(\tau)$ Shutter 2 geschlossen und Shutter 3 geöffnet, so dass das Gewebe mit dem Licht des Helium-Neon Lasers beleuchtet wird. Nach dem Einschalten der Versorgungsspannung des Photomultipliers und einer Wartezeit von 2 Sekunden wird die Messung der Intensitäts-Korrelationsfunktion am digitalen Korrelator gestartet. Nach Beendigung der Datenakquisition werden die gemessenen Werte der Korrelationsfunktion vom Computer ausgelesen. Basierend auf der Korrelations-Transportgleichung werden aus der Feld-Korrelationsfunktion und aus den mit der Frequency-Domain Messung ermittelten Gewebeparametern der Flux F und die mittlere Geschwindigkeit v_{rms} der Erythrozyten im Gewebe bestimmt. Nach Schließen von Shutter 3 und Ausschalten der Spannungsversorgung des Photomultipliers befindet sich das Gerät wieder im Ausgangszustand. Für eine detaillierte Beschreibung der Berechnung der physiologischen Parameter aus den so gewonnenen Messdaten sei auf Kapitel 5.3.1 verwiesen.

Am Netzwerkanalysator können zur Datenakquisition verschiedene Werte für die Akquisitionszeit, die Anzahl der Mittelungen, die Anzahl der Messpunkte sowie die Bandbreite des Eingangskanals eingestellt werden. Durch eine Erhöhung der Akquisitionszeit kann das Signal-zu-Rausch Verhältnis der Messwerte verbessert werden. Eine detaillierte Untersuchung der optimalen Einstellungen des Netzwerkanalysators für eine minimale

Akquisitionszeit bei einem maximalen Signal-zu-Rausch Verhältnisse findet sich in [136]. Für diese Arbeit wurden ähnliche Einstellungen gewählt:

Startfrequenz	1 MHz	<i>Tabelle 4.2: Einstellungen des Netzwerkanalysators zur <i>in vivo</i> Bestimmung physiologischer Parameter</i>
Stoppfrequenz	200 MHz	
Anzahl Messwerte	51	
Akquisitionszeit	31 ms	
Anzahl Mittelungen	8	
Bandbreite Signaleingang	3700 Hz	

Auch für den digitalen Korrelator können verschiedene Akquisitionszeiten gewählt werden, wobei eine Erhöhung der Akquisitionszeit in einer Verbesserung des Signal-zu-Rausch Verhältnisses der gemessenen Korrelationsfunktion resultiert. Zur *in vivo* Messung der Gewebeparameter konnte die Korrelationsfunktion bei der kleinstmöglichen Akquisitionszeit von 3 s mit einer hinreichenden Genauigkeit bestimmt werden.

Insgesamt ergibt sich mit den angegebenen Akquisitionszeiten des Netzwerkanalysators und des digitalen Korrelators sowie den Schaltzeiten eine Aufnahmedauer von etwa 25 s für die Messsequenz. Für die *in vivo* Messung der Gewebeparameter wurde durch Einfügen einer Verzögerung von 5 s eine Zeitauflösung von 30 s festgelegt.

4.3 Phantome

Zum Test und zur Kalibrierung von Messgeräten hat sich in der biomedizinischen Optik der Einsatz von Phantomen bewährt. Dabei handelt es sich um Modellsysteme mit definierten optischen Eigenschaften. Der Vorteil bei der Verwendung von Phantomen liegt darin, dass dabei die optischen Eigenschaften gezielt variiert werden können. Auf diese Weise kann mit den Phantomen eine Veränderung von physiologischen Parametern simuliert werden, wie sie in biologischen Systemen ohne Schädigung des Organismus im Allgemeinen nicht erzielt werden kann.

Die Herstellung von flüssigen und festen Phantomen mit ähnlichen optischen Eigenschaften wie in biologischen Systemen ist in der Literatur von verschiedenen Autoren beschrieben worden und ist nach wie vor Gegenstand der aktuellen Forschung. Flüssigphantome werden häufig auf der Basis von Intralipid, einer Fettemulsion zur intravenösen Infusion, hergestellt [11,40,101,128]. Darüber hinaus ist auch die Verwendung von Suspensionen von Polystyrenkugeln zur Herstellung von Flüssigphantomen beschrieben worden [11,45,133]. Als Basismaterial für feste Phantome wird von zahlreichen Autoren klares Epoxyharz verwendet [61,89,119]. Epoxyharz ist zunächst flüssig und härtet nach Zugabe eines Katalysators aus. Als Streuer können dem Epoxyharz beispielsweise Titandioxydpartikel zugefügt werden.

Die Herstellung von Festkörperphantomen mit optischen Eigenschaften, die denen von humaner Haut bei verschiedenen Sauerstoffsättigungen ähnlich sind, ist von WILLMANN et al. beschrieben worden [134,135,136]. Mit diesen Phantomen wurde die Anwendung des in Kapitel 4.2.1 beschriebenen Frequency-Domain Spektrometers zur absoluten Bestimmung

von Absorptionskoeffizienten und zur *in vivo* Bestimmung der Sauerstoffsättigung in humaner Haut demonstriert.

Die Herstellung von Phantomen, mit denen die Durchblutung von biologischem Gewebe simuliert wird, ist mit einem höheren Aufwand verbunden, da für solche Modellsysteme neben den optischen Eigenschaften auch die Strömungsverhältnisse denen in biologischen Systemen ähnlich sein müssen [8,9,10,110]. Die Herstellung solcher Phantome wird in den folgenden Kapiteln beschrieben. Dabei werden zwei unterschiedliche Arten von Teilchenbewegungen betrachtet, wie sie in biologischen Systemen vorkommen. In Kapitel 4.3.1 wird die Herstellung von Phantomen beschrieben, mit dem die Durchblutung von kapillärem Gewebe simuliert wird. Das in Kapitel 4.3.2 beschriebene Phantom dient dagegen als Modellsystem für die gerichtete Durchblutung von größeren Gefäßen (Venen oder Arterien).

4.3.1 Modellsystem für kapilläre Gefäße

Nahezu alle biologischen Gewebe sind von kapillären Blutgefäßen durchzogen. Dabei handelt es sich um ein System von sehr kleinen Gefäßen mit einem Durchmesser von etwa $6 \mu\text{m}$, die in Form eines engen Netzes in das Gewebe eingebettet sind. Die Gefäße des kapillären Systems weisen statistisch verteilte Orientierungen auf, so dass eine Bewegung der Erythrozyten in viele verschiedene Richtungen stattfindet (Random Flow) [9,10]. Aufgrund dieser komplizierten Struktur ist eine Nachbildung eines kapillären Systems als Modellsystem praktisch nicht durchführbar. Stattdessen werden als Modellsysteme oft Suspensionen von Partikeln verwendet, die in einer Flüssigkeit diffundieren [33,68,87]. Sowohl für den Fluss von Erythrozyten durch ein kapilläres Gewebe als auch für die Diffusion von Partikeln in einer Flüssigkeit kann eine isotrope Geschwindigkeitsverteilung angenommen werden. Für die mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie gemessene Korrelationsfunktion ist daher eine ähnliche Abhängigkeit von der Teilchenkonzentration zu erwarten wie für *in vivo* Messungen der Korrelationsfunktion in kapillären Geweben wie z.B. Haut.

Als Modellsystem für ein kapilläres Gewebe wurden Flüssigphantome aus einer Suspension von Polystyrenkugeln (Standard Dow Latex 44420, Serva) in Wasser hergestellt. Der Durchmesser der Kugeln wird vom Hersteller mit $0,236 \mu\text{m} \pm 0,0068 \mu\text{m}$ angegeben. Der Anteil an Polystyren in der Stammlösung beträgt $f_{\text{sca}}=10\%$.

Da es sich bei den Polystyrenpartikeln um kugelförmige Objekte mit einem einheitlichen Durchmesser handelt, können die optischen Eigenschaften der Suspensionen mit der Mie-Theorie berechnet werden. Zur Berechnung der Brechungsindizes von Wasser und Polystyren wurden die Sellmeier-Formeln aus Kapitel 2.1.1 verwendet. Die mittels Mie-Algorithmus [14] bestimmten Werte des Streukoeffizienten μ_s , des Anisotropiefaktors g und des reduzierten Streukoeffizienten μ_s' der Suspension bei einem Streuergehalt von $f_{\text{sca}} = 0,1 \%$ sind in Abbildung 4.10 für den Spektralbereich von 400 – 800 nm dargestellt.

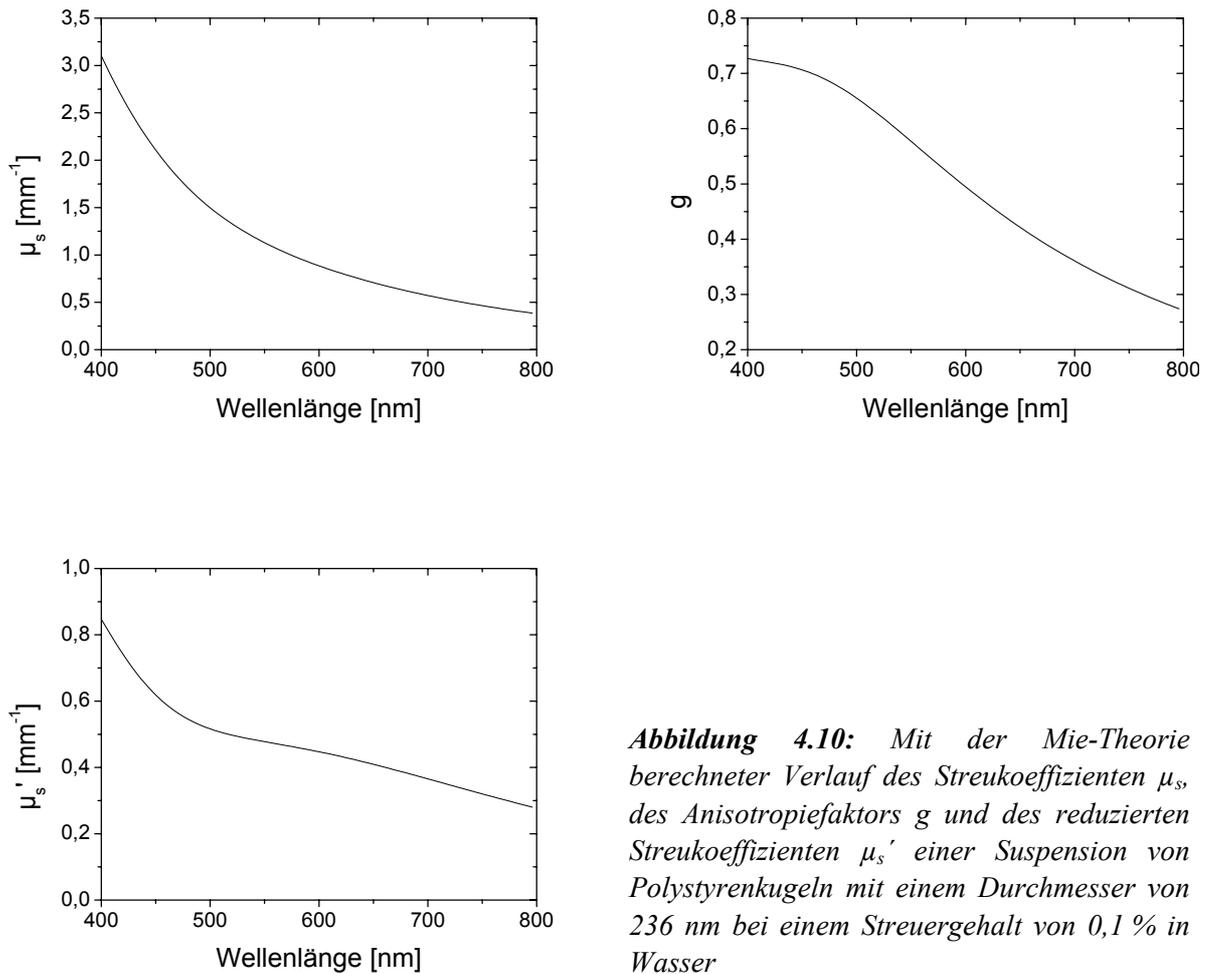


Abbildung 4.10: Mit der Mie-Theorie berechneter Verlauf des Streukoeffizienten μ_s , des Anisotropiefaktors g und des reduzierten Streukoeffizienten μ'_s einer Suspension von Polystyrenkugeln mit einem Durchmesser von 236 nm bei einem Streuergehalt von 0,1 % in Wasser

Bei der Wellenlänge des Helium-Neon Lasers von 633 nm liefert die Rechnung für den reduzierten Streukoeffizienten einen Wert von $0,424 \text{ mm}^{-1}$. Da nach Gleichung (3.14) der Streukoeffizient zum Streuergehalt proportional ist, kann der reduzierte Streukoeffizient für Suspensionen mit anderen Streuergehalten f_{sca} berechnet werden:

$$\mu'_s(f_{sca}) = \frac{0,424 \text{ mm}^{-1}}{0,1\%} \times f_{sca} \quad (4.9)$$

Zur Herstellung der Phantome wurde zunächst die Stammlösung zur Auflösung etwaiger Kluster der Polystyrenkugeln für 30 Minuten im Ultraschallbad behandelt und anschließend mit destilliertem Wasser verdünnt. Die Verdünnung der Suspension wurde so gewählt, dass der reduzierte Streukoeffizient der Suspension dem von humanem Blut bei einem Hämatokrit zwischen 5 % und 50 % entspricht. Wie in Referenz [97] beschrieben, steigt der reduzierte Streukoeffizient von humanem Blut bis zu einem Hämatokrit von 50 % mit guter Genauigkeit linear an und beträgt dann ca. 2 mm^{-1} . Daher wurden Suspensionen mit folgenden Streuergehalten hergestellt:

f_{sca} [%]	0,083	0,100	0,125	0,167	0,250	0,500
μ_s' [mm^{-1}]	0,352	0,424	0,530	0,708	1,06	2,12

Tabelle 4.3: Volumenanteil der Polystyrenkugeln f_{sca} und reduzierter Streukoeffiziente μ_s' der verwendeten Flüssigphantome nach Gleichung (4.9)

4.3.2 Modellsystem für Arterie oder Vene

Neben dem kapillären Gefäßsystem existieren in biologischen Systemen zahlreiche Arterien und Venen mit einem Durchmesser in der Größenordnung von einigen Millimetern bis zu einigen Zentimetern. In weiten Abschnitten solcher Gefäße findet eine laminare Strömung statt [137]. Eine Bestimmung der Geschwindigkeit von Erythrozyten in solchen Gefäßen kann ebenfalls mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie durchgeführt werden. Um dies zu zeigen, wurde ein Modellsystem hergestellt, in dem Flüssigkeiten durch eine Bohrung mit einem Durchmesser von 5 mm in einem Festkörper-Gewebephantom gepumpt werden. Damit können ähnliche Strömungsverhältnisse wie in einer Vene oder einer Arterie hergestellt werden. Zur Herstellung des Phantoms wurde ein quaderförmiger Block aus Epoxyharz verwendet, der Titandioxyd-Partikel als Streuer enthält. Im Gegensatz zu den Polystyrenkugeln aus Kapitel 4.3.1 können für die Titandioxyd-Partikel keine Kugelform und keine einheitliche Größe angenommen werden. Daher wurden die optischen Eigenschaften des Phantoms nicht mit der Mie-Theorie berechnet, sondern mit dem Ulbrichtkugel-Spektrometer gemessen.

Um für das Phantom optische Eigenschaften zu erhalten, die denen von biologischen Geweben ähnlich sind, erfolgte die Zusammensetzung des Phantoms in Anlehnung an die von WILLMANN et al. beschriebene Rezeptur [134,136]. Dazu wurde aus 310 mg Titandioxyd-Partikeln (Ti-Pure[®] Rutile R-960, DuPont) und 3 ml Ethanol (Reinheit: 99,8%) eine Suspension hergestellt. Zur Trennung von aneinander haftenden Titandioxyd-Partikel wurde die Suspension für 30 Minuten im Ultraschallbad behandelt. Diese Suspension wurde zu 300 ml des flüssigen Epoxyharzes (Norpol 450-500, Reichhold) beigegeben und verrührt. Nach der Zugabe von 3 ml eines Härters (Methylethylketonperoxid, Reichhold) wurde daraus in einem Gefäß mit rechteckiger Grundfläche ein quaderförmiger Block ausgegossen, der innerhalb von 24 Stunden aushärtete. Zusätzlich wurde zur Bestimmung der optischen Eigenschaften des Phantoms zwischen zwei Deckgläsern eine dünne Schicht des Materials mit einer Dicke von 0,48 mm ausgegossen, die ebenfalls nach 24 h aushärtete. Mit dem Ulbrichtkugel-Spektrometer wurden im Wellenlängenbereich zwischen 500 nm und 800 nm im Abstand von 10 nm jeweils fünf Messungen der diffusen Reflexion, der totalen Transmission und der kollimierten Transmission durchgeführt. In Abbildung 4.11 sind die Mittelwerte dieser fünf Messungen aufgetragen. Die in den Diagrammen eingetragenen Fehlerbalken entsprechen den Standardabweichungen der fünf Messwerte. Die Ungenauigkeit der Messung hängt von der Helligkeit der Lichtquelle und die Empfindlichkeit des Detektors bei der entsprechenden Wellenlänge ab. In dem betrachteten Spektralbereich wurde bei größeren Wellenlängen eine höhere Messgenauigkeit erzielt.

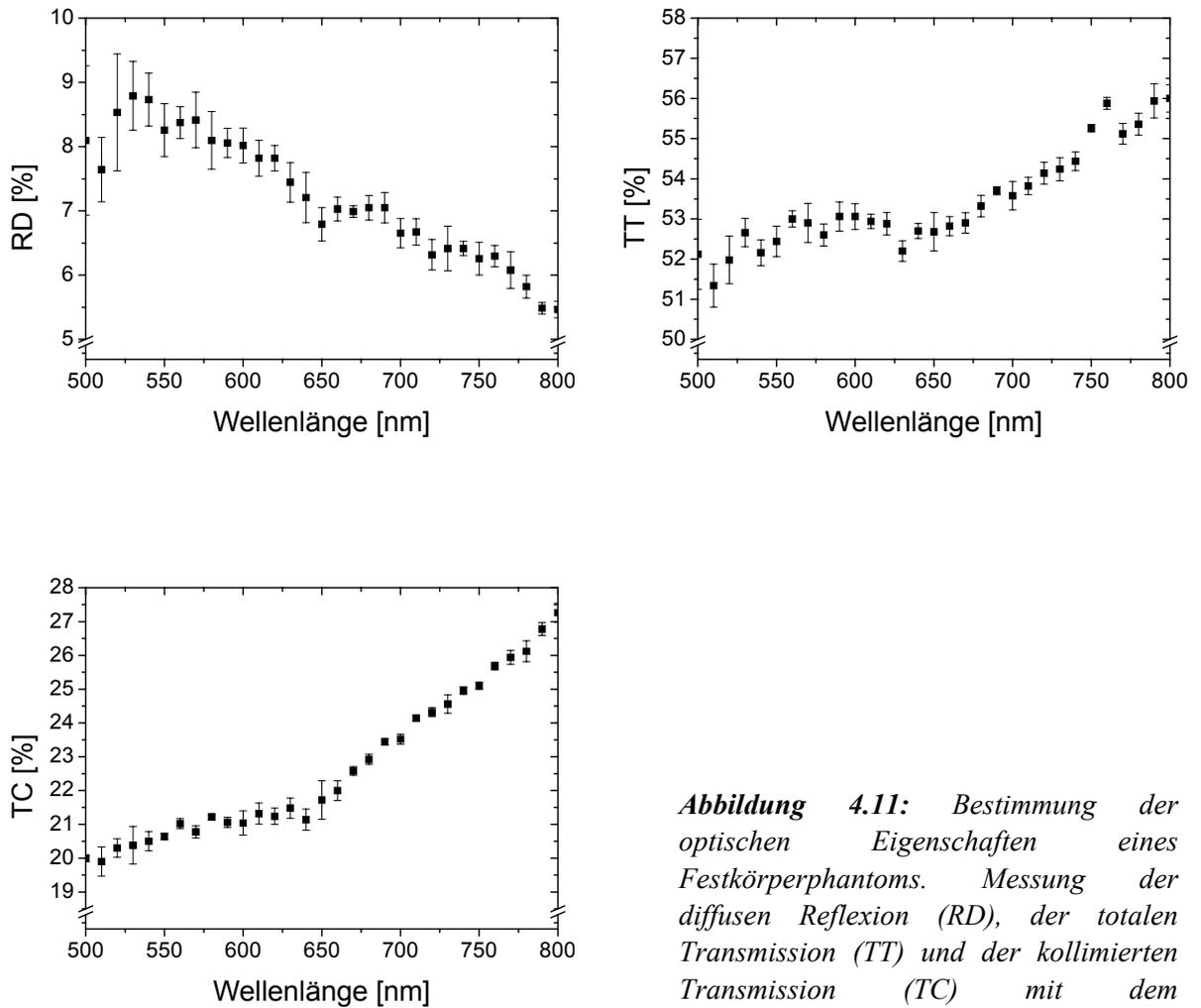


Abbildung 4.11: Bestimmung der optischen Eigenschaften eines Festkörperphantoms. Messung der diffusen Reflexion (RD), der totalen Transmission (TT) und der kollimierten Transmission (TC) mit dem Ulbrichtkugel-Spektrometer

Die daraus mit der inversen Monte Carlo Simulation ermittelten optischen Eigenschaften des Phantoms sind in Abbildung 4.12 gezeigt. Darin repräsentieren die Kästchen den Mittelwert von jeweils fünf Messwerten, während die Fehlerbalken den Standardabweichungen von jeweils fünf Messwerten entsprechen.

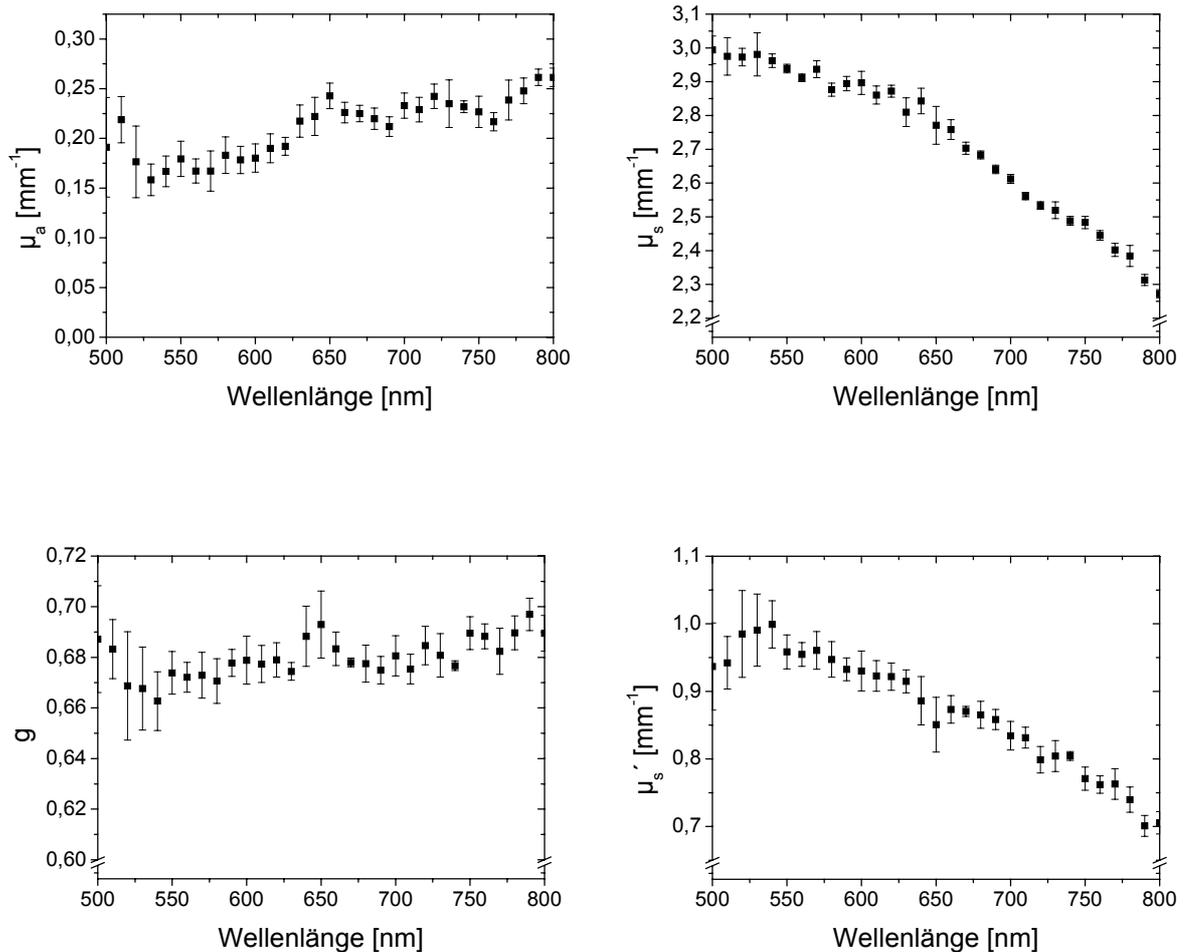


Abbildung 4.12: *Optische Eigenschaften des Festkörperphantoms. μ_a : Absorptionskoeffizient, μ_s : Streukoeffizient, g : Anisotropiefaktor, μ_s' : reduzierter Streukoeffizient. Die Messpunkte sind Mittelwerte aus 5 Messwerten, die Fehlerbalken sind die daraus berechnete Standardabweichung.*

Bei der Wellenlänge des Helium-Neon Lasers von 633 nm wurde ein Absorptionskoeffizient von $\mu_a = 0,21 \text{ mm}^{-1}$ und ein reduzierter Streukoeffizient von $\mu_s' = 0,91 \text{ mm}^{-1}$ gemessen. Damit liegen die optischen Eigenschaften des Festkörperphantoms in einem Bereich, wie er für biologische Gewebe typisch ist. So werden z.B. in [22] folgende Werte für verschiedene Gewebearten bei einer Wellenlänge von 633 nm angegeben:

Gewebe	$\mu_a \text{ [mm}^{-1}\text{]}$	$\mu_s' \text{ [mm}^{-1}\text{]}$
Graue Gehirnmasse (human)	0,263	0,722
Leber (Rind)	0,321	0,523
Muskel (Rind)	0,150	0,70
Dermis (human, kaukasisch)	0,27	3,55

Tabelle 4.4: *Optische Eigenschaften verschiedener biologischer Gewebe bei einer Wellenlänge von 633 nm.*

Zur weiteren Verarbeitung wurde in den Harzblock senkrecht zur Oberfläche eine Bohrung mit einem Durchmesser von $d = 5 \text{ mm}$ durchgeführt. Anschließend wurde die Oberfläche des Materials abgefräst, so dass der Abstand zwischen dem Rand der Bohrung und der Oberfläche $z = 0,9 \text{ mm}$ betrug (Abbildung 4.13).

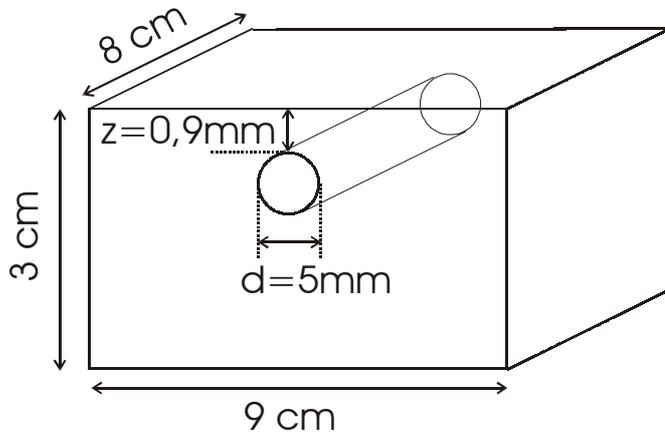


Abbildung 4.13: Abmessungen des Festkörperphantoms mit einer zylindrischen Bohrung zur dynamischen Streulicht-Spektroskopie an einer laminaren Strömung



Abbildung 4.14: Fotografie des Festkörperphantoms mit zylindrischer Bohrung. An den Enden der Bohrung befinden sich Tüllen zum Anschluss von Schläuchen.

An den Seitenwänden des Phantoms wurde jeweils ein Gewinde in die Bohrung geschnitten, in das eine Tülle geschraubt wurde. Wie in Abbildung 4.15 gezeigt, wurde das Phantom über Teflonschläuche an eine Zahnradpumpe (Reglo-Z, Ismatec) und an ein Vorratsgefäß angeschlossen. In Verbindung mit dem verwendeten Pumpkopf (Modell M86899, Novodirect) können Flüssigkeiten mit Flussraten zwischen 0 und $1,42 \text{ ml/s}$ durch die Bohrung im Harzblock befördert werden. Das entspricht einer mittleren Strömungsgeschwindigkeit zwischen 0 und 72 mm/s . Der Antrieb der Pumpe erlaubt eine Regulierung der Flussrate in 100 Schritten von $1,42 \cdot 10^{-2} \text{ ml/s}$. Damit kann die Strömungsgeschwindigkeit der Flüssigkeit in der Bohrung so reguliert werden, dass sie mit der von Blut in Arterien oder Venen mit einem Durchmesser von 5 mm vergleichbar ist (siehe Seite 15, Tabelle 2.1).

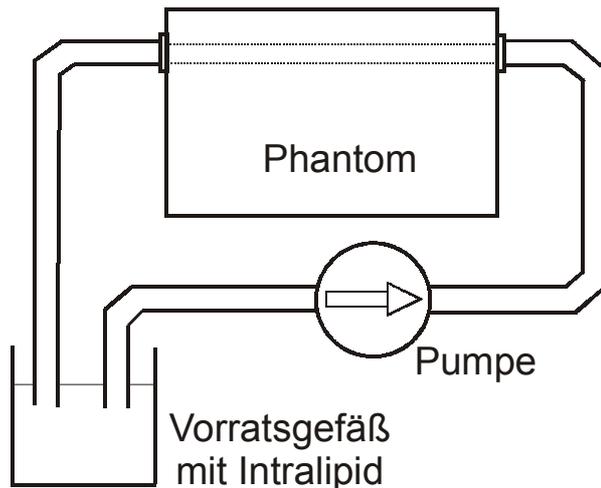


Abbildung 4.15: Phantom zur Simulation einer Arterie oder einer Vene, die unter der Hautoberfläche in die Gewebematrix eingebettet ist. Mit der Zahnradpumpe können verschiedene Volumenflussraten eingestellt werden. Zur Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit in der Bohrung wird die Korrelationsfunktion des am Phantom gestreuten Lichtes bestimmt.

In Kapitel 4.3.1 wurde bereits die Herstellung eines Flüssigphantoms mit ähnlichen optischen Eigenschaften wie Blut aus einer Suspension von Polystyrenkugeln beschrieben. Diese Flüssigkeit kann hier jedoch nicht verwendet werden, da die Gefahr einer Verstopfung der Zahnradpumpe durch die festen Polystyrenpartikel besteht. Satt dessen wurden Flüssigphantome auf der Basis Intralipid hergestellt. Bei dem dazu verwendeten Intralipid (LCT 20, Fresenius) handelt es sich um eine Suspension von Fetttropfen in Wasser, deren Fettgehalt $f_{\text{sca}} = 20\%$ beträgt. Da die Größe der Fetttropfen in der Suspension nicht bekannt ist, können die optischen Eigenschaften der Flüssigkeit nicht mit der Mie-Theorie berechnet werden. Stattdessen wurden sie mit dem Ulbrichtkugel-Spektrometer gemessen. Dazu wurde zunächst die Stammlösung im Verhältnis 1:400 mit destilliertem Wasser entsprechend einem Streugehalt von $f_{\text{sca}} = 0,05\%$ verdünnt und in eine Quarzküvette mit einer Dicke von 10 mm und einer Wandstärke von 1 mm gefüllt. Abbildung 4.16 zeigt den Verlauf der diffusen Reflexion, der totalen Transmission und der kollimierten Transmission im Wellenlängenbereich zwischen 500 und 800 nm.

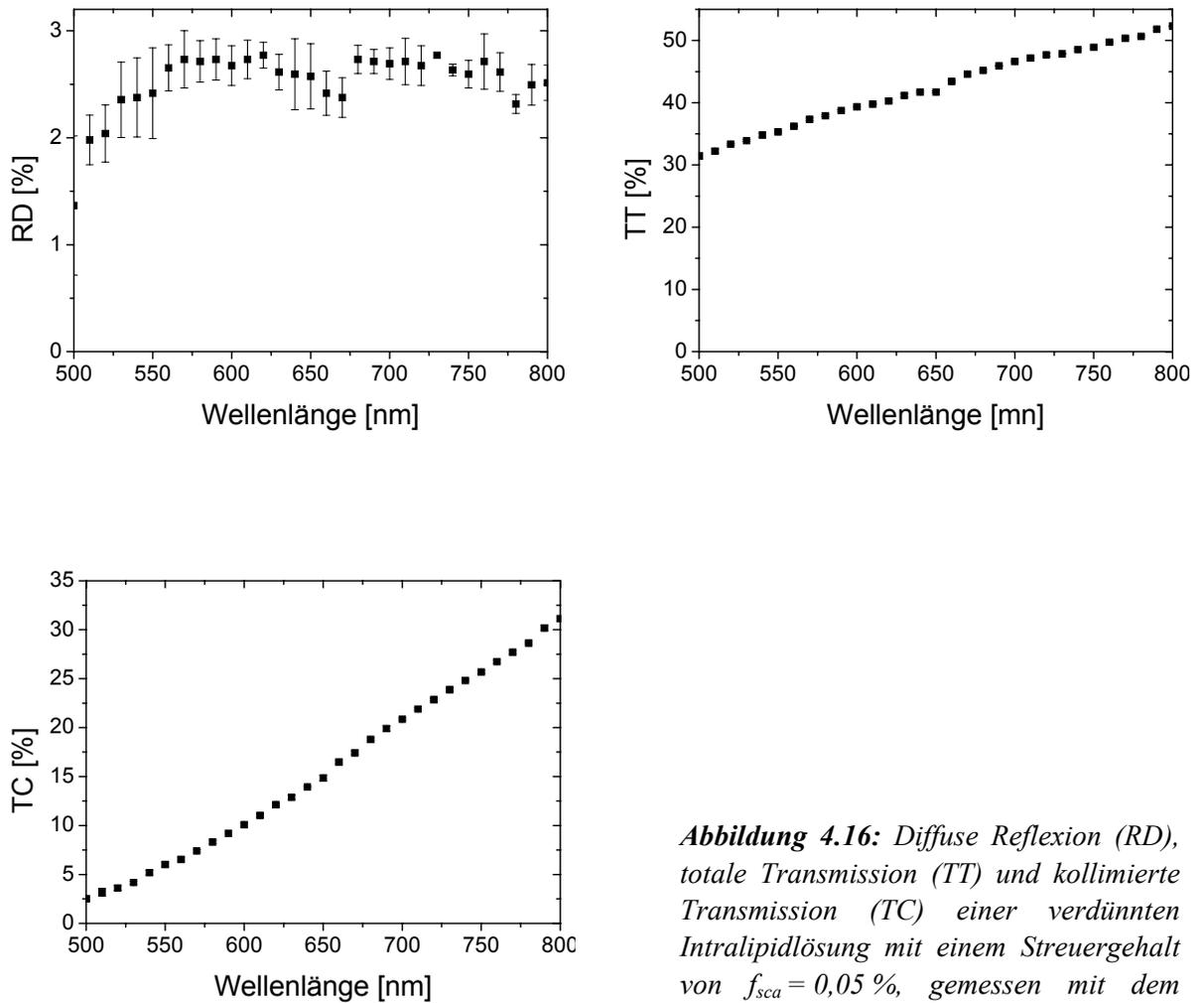


Abbildung 4.16: Diffuse Reflexion (RD), totale Transmission (TT) und kollimierte Transmission (TC) einer verdünnten Intralipidlösung mit einem Streugehalt von $f_{sca} = 0,05\%$, gemessen mit dem Ulbrichtkugel-Spektrometer.

Die Ergebnisse der inversen Monte Carlo Simulation sind in Abbildung 4.17 gezeigt. Wie in Abbildung 4.17 zu sehen ist, beträgt der reduzierte Streukoeffizient bei einem Streugehalt von $f_{sca} = 0,05\%$ bei der Wellenlänge des Helium-Neon Lasers von 633 nm $0,048 \pm 0,002 \text{ mm}^{-1}$. Für andere Werte des Streugehaltes f_{sca} kann der reduzierte Streukoeffizient μ_s' nach

$$\mu_s'(f_{sca}) = \frac{0,048 \text{ mm}^{-1}}{0,05\%} \times f_{sca} \quad (4.10)$$

berechnet werden.

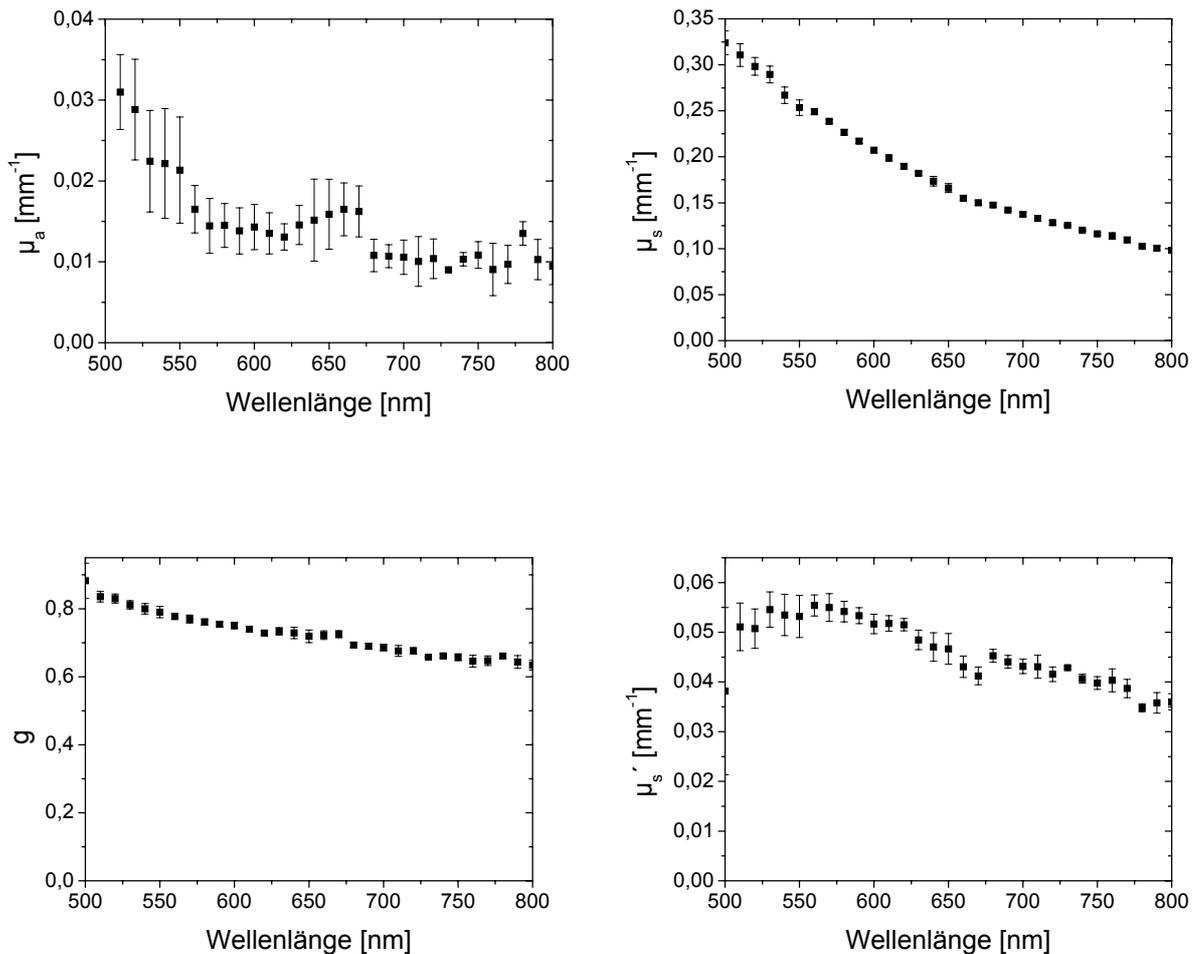


Abbildung 4.17: Optische Eigenschaften einer verdünnten Intralipidlösung (μ_a : Absorptionskoeffizient, μ_s : Streukoeffizient, g : Anisotropiefaktor, μ_s' : reduzierter Streukoeffizient)

Um Flüssigphantome mit einem reduzierten Streukoeffizienten zu erhalten, der dem von humanem Blut bei einem Hämatokrit zwischen 5 % und 50 % entspricht, wurden die in Tabelle 4.5 gezeigten Verdünnungen aus der Intralipid-Stammlösung hergestellt.

f_{sca} [%]	0,40	0,50	0,67	0,80	1,00	1,33	2,00
μ_s' [mm ⁻¹]	0,384	0,480	0,643	0,768	0,960	1,277	1,920

Tabelle 4.5: Volumenanteil der Fetttropfen f_{sca} und reduzierter Streukoeffizient μ_s' der verwendeten Intralipid-Suspensionen nach Gleichung (4.10)

4.4 Zusammenfassung: Methoden und Materialien

In diesem Kapitel wurden die für diese Arbeit relevanten Methoden und Materialien beschrieben. Als Modellsystem für die dynamische Streulicht-Spektroskopie wurden verschiedene Phantome hergestellt. Dabei wurde den unterschiedlichen Strömungsformen, wie sie bei der Durchblutung biologischer Gewebe auftreten, Rechnung getragen. Als

Modellsystem mit einer isotropen Geschwindigkeitsverteilung, wie sie für kapilläre Gewebe angenommen werden kann, wurden Suspensionen von Polystyrenkugeln hergestellt. Die optischen Eigenschaften der Suspensionen wurden auf der Grundlage der Mie-Theorie berechnet. Als Modellsystem mit einer gerichteten Strömung, wie sie in einer größeren Vene oder Arterie auftritt, wurden Intralipid-Suspensionen durch eine Bohrung in einem Festkörperphantom gepumpt. Zur Charakterisierung der optischen Eigenschaften der verwendeten Materialien wurde ein Ulbrichtkugel-Spektrometer verwendet.

Des Weiteren wurde ein Versuchsaufbau beschrieben, der erstmals eine Kombination der Frequency-Domain Spektroskopie mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie ermöglicht (FD-DS Spektroskopie). Dieses Verfahren wird in Kapitel 5.3 zur absoluten *in vivo* Messung von Gewebeparametern eingesetzt. Dazu wurde ein Applikator konstruiert, der die Messung der Gewebeparameter bei kompakter Messgeometrie erlaubt. Die zur Durchführung der Messung erforderlichen Voruntersuchungen am Applikator wurden ebenfalls behandelt. Die Datenakquisition bei der Untersuchung biologischer Gewebe wird in dem beschriebenen Aufbau von einem Personal-Computer gesteuert. Dazu wurde ein Messprotokoll entwickelt, das die sequentielle Untersuchung des Gewebes mit der Frequency-Domain Spektroskopie und der dynamischen Streulicht-Spektroskopie erlaubt. Die absolute Berechnung von Gewebeparametern aus den so gewonnenen Messdaten ist Gegenstand eines späteren Kapitels 5.3.1.

5. Ergebnisse

Im Rahmen dieses Kapitels wird die Anwendung der FD-DS Spektroskopie zur absoluten *in vivo* Bestimmung von Gewebeparametern demonstriert. Dazu werden zunächst Monte Carlo Simulationen zur Lichtausbreitung in humaner Haut durchgeführt. Auf diese Weise kann das Wechselwirkungsvolumen der detektierten Photonen mit dem Gewebe berechnet werden. Darüber hinaus werden auch die Weglängen der Photonen in den verschiedenen Hautschichten und die mittlere Eindringtiefe der Photonen im Gewebe berechnet. Die Ergebnisse dieser Rechnungen liefern wichtige Informationen für die Interpretation der *in vivo* gemessenen Gewebeparameter.

Im folgenden Kapitel werden Messungen der Autokorrelationsfunktion der Intensität des Streulichtes an Phantomen durchgeführt, deren optische und dynamische Eigenschaften mit denen von biologischen Geweben vergleichbar sind (siehe Kapitel 4.3). Basierend auf der Korrelations-Transportgleichung (siehe Kapitel 3.2) können unter Berücksichtigung der Geometrie und der optischen Eigenschaften der Modellsysteme der Diffusionskoeffizient bzw. die mittlere Strömungsgeschwindigkeit der mobilen Komponenten ermittelt werden. Anhand dieser Versuchsreihen werden die Genauigkeit und die Grenzen der dynamischen Streulicht-Spektroskopie zur quantitativen Bestimmung von dynamischen Prozessen in trüben Medien diskutiert.

Anschließend werden kombinierte Messungen mittels dynamischer Streulichtspektroskopie und Frequency-Domain Spektroskopie zur *in vivo* Messung von humanen Gewebeparametern vorgestellt. Mit der Kombination dieser beiden Methoden können erstmals gleichzeitig die Sauerstoffsättigung, der Gesamthämoglobingehalt, der Flux und die mittlere Geschwindigkeit der Erythrozyten im Gewebe absolut bestimmt werden. Die Durchführung einer solchen Messung und die Berechnung der Gewebeparameter aus den physikalischen Messgrößen werden anhand eines Beispiels erläutert. Danach werden die Ergebnisse einer Messung der Gewebeparameter bei einer provozierten Störung der Durchblutung gezeigt. Schließlich erfolgt ein Vergleich der hier beschriebenen Messverfahren mit anderen Methoden zur Bestimmung der Gewebeparameter.

5.1 Monte Carlo Simulationen

Bei der Anwendung des in dieser Arbeit beschriebenen FD-DS Spektrometers zur *in vivo* Messung von Gewebeparametern in der menschlichen Haut erfolgen die Beleuchtung und die Detektion mit Lichtwellenleitern in Reflexionsgeometrie. Dabei werden die von Gewebe zurückgestreuten Photonen gemessen. Die detektierten Photonen legen im Allgemeinen unterschiedliche Wege im Gewebe zurück. Die menschliche Haut besteht aus verschiedenen Schichten mit unterschiedlichen optischen und physiologischen Gewebeparametern. Die mit der FD-DS Spektroskopie gemessenen Werte repräsentieren einen gewichteten Mittelwert der Gewebeparameter über das Wechselwirkungsvolumen der detektierten Photonen im Gewebe. Dabei liefern die Orte, an denen die Dichte der detektierten Photonen groß ist, einen hohen Beitrag zum Messwert. Daher ist die Kenntnis des Wechselwirkungsvolumens der detektierten Photonen im Gewebe von großer Bedeutung für die Interpretation der *in vivo* gemessenen Gewebeparameter.

In diesem Kapitel wurde das Wechselwirkungsvolumens der detektierten Photonen in menschlicher Haut für eine Reflexionsgeometrie mit dem in Kapitel 3.1.5 beschriebenen Mehrschicht Monte Carlo Verfahren berechnet. Die Rechnungen wurden für Abstände zwischen 2 mm und 10 mm zwischen Quell- und Detektorfaser durchgeführt. Für die Fasern wurde jeweils ein Durchmesser von 0,6 mm und eine numerische Apertur von 0,2 angenommen. In den Simulationen wurden die drei oberen Hautschichten, nämlich die Epidermis, die Dermis und die Subcutis berücksichtigt. Die Haut wird dabei als ein semiinfinite Medium betrachtet, bei dem die verschiedenen Schichten planparallel angeordnet sind. Für die Epidermis wird eine Dicke von 0,06 mm und für die Dermis eine Dicke von 2 mm angenommen. Unter der Dermis befindet sich die Subcutis, für die eine mittlere Dicke von 8 mm angenommen werden kann [70]. Für die hier untersuchten Faserabstände von 2 bis 10 mm ist zu erwarten, dass die detektierten Photonen nicht wesentlich tiefer als einen Zentimeter in das Gewebe eindringen. Daher braucht das unter der Subcutis liegende Gewebe zur Berechnung des Photonentransportes nicht berücksichtigt werden. Aus diesem Grunde wird für die Subcutis eine unendliche Schichtdicke angenommen. Zur Durchführung der Monte Carlo Simulationen müssen neben der Dicke der Hautschichten auch deren optische Eigenschaften bekannt sein. Dazu wurden die in Kapitel 2.4 in Tabelle 2.3 angegebenen Werte zugrundegelegt.

Mit dem Mehrschicht Monte Carlo Modell wurde zunächst die Matrix der Wechselwirkungsdichte $\sigma(x,z)$ der detektierten Photonen berechnet. In Abbildung 5.1 ist die Wechselwirkungsmatrix für vier verschiedene Abstände zwischen Quell- und Detektorfaser in der Haut bei einer Wellenlänge von 678 nm dargestellt. Darin wird der bananenförmige Verlauf des Wechselwirkungsvolumens der Photonen im Gewebe deutlich sichtbar. Daher wird das Wechselwirkungsvolumen für die Reflexionsgeometrie in der Literatur häufig auch als „Photonenbanane“ bezeichnet. Darüber hinaus ist in Abbildung 5.1 auch die Grenze zwischen der Dermis und dem subcutanen Fettgewebe in einer Tiefe von $z = 2,06$ mm zu erkennen. An dieser Grenze findet eine un stetige Abnahme der Wechselwirkungsmatrix statt. Dies beruht darauf, dass für die Subcutis ein geringerer Streukoeffizient als für die Dermis bzw. die Epidermis zugrundegelegt wurde (siehe Seite 21, Tabelle 2.3). Da die Wechselwirkungsmatrix die Anzahl der Streueignisse pro Volumenelement darstellt, ist ihr Wert an Orten mit geringerer Streukoeffizient bei gleicher Lichtintensität kleiner. Die Unstetigkeit der Streukoeffizienten an der Grenze zwischen Dermis und Subcutis verursacht also einen Sprung der Wechselwirkungsmatrix, obwohl die Lichtintensität an dieser Grenze bei identischem Brechungsindex ($n = 1,4$) stetig ist.

Die statistische Genauigkeit der Monte Carlo Simulationen steigt mit der Anzahl der detektierten Photonen. Als Abbruchbedingung für die Simulationen wurde eine Anzahl von 1000 detektierten Photonen bei dem größten Faserabstand von 10 mm festgelegt. Da die Wahrscheinlichkeit für die diffuse Reflexion eines Photons in der Nähe der Quellfaser höher ist, wird dann bei den kleineren Faserabständen eine größere Anzahl von Photonen detektiert. Daher weisen die Wechselwirkungsmatrizen für die kleinen Faserabstände eine höhere statistische Genauigkeit auf. Insgesamt wurden für die Berechnung der Wechselwirkungsmatrizen in Abbildung 5.1 32.805.511 Photonennbahnen simuliert. Die dafür benötigte Rechenzeit auf einem Personal Computer (Prozessor: AMD Athlon, 1 GHz) betrug etwa einen Tag.

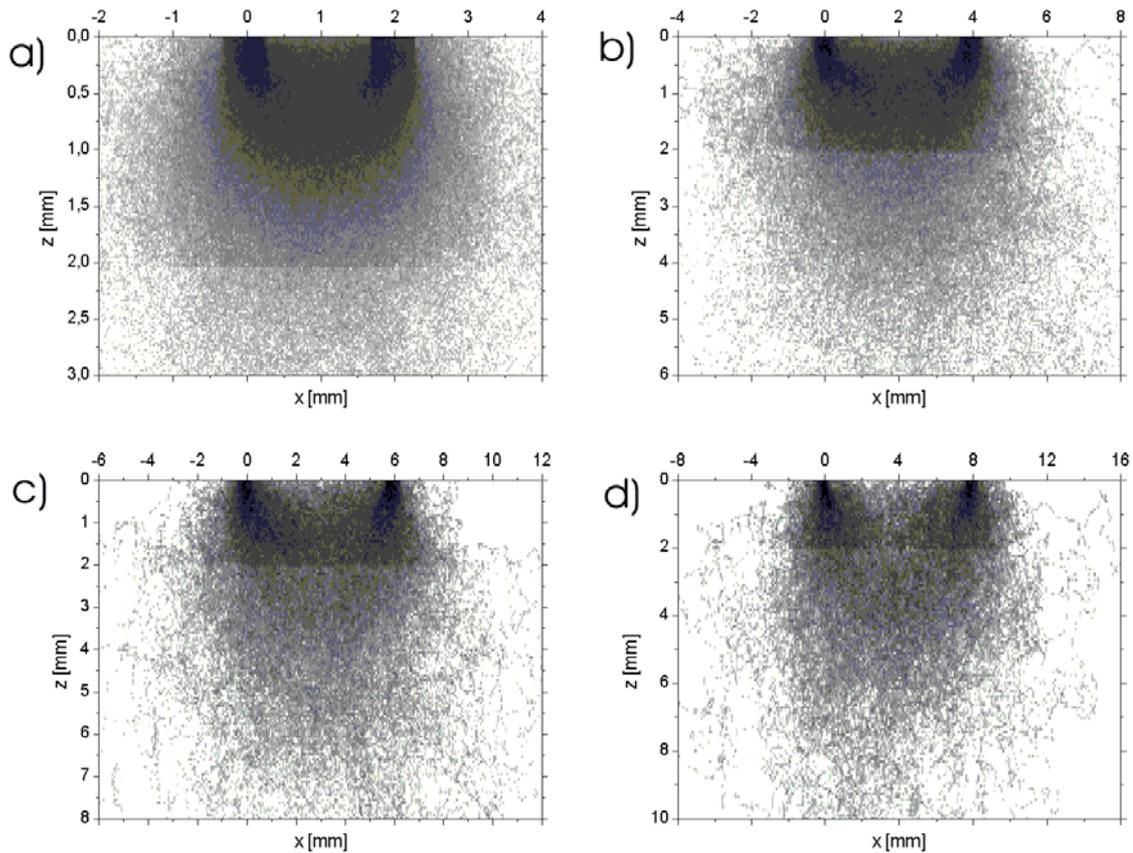


Abbildung 5.1: Wechselwirkungsdichte der detektierten Photonen in humaner Haut. Die Quellfaser befindet sich bei $x = 0$ mm, die x -Koordinate der Detektorfaser ist a) 2 mm, b) 4 mm, c) 6 mm und d) 8 mm. Die Grenzen zwischen den Hautschichten liegen bei $z = 0,06$ mm und $z = 2,06$ mm. Die Anzahl der detektierten Photonen beträgt a) 53988, b) 12402, c) 4082 und d) 2127. Details siehe Text.

In Bezug auf die Hautanatomie macht Abbildung 5.1 deutlich, dass die Photonenbananen durch mehrere Schichten im Gewebe verlaufen. Die Lage der Photonenbanane hängt darin deutlich vom Abstand zwischen Quell- und Detektorfaser ab. Zur quantitativen Beschreibung der Eindringtiefe der detektierten Photonen sei zunächst auf die Spiegelsymmetrie der Photonenbananen hingewiesen. Die Symmetrieachse schneidet die x -Achse in der Mitte zwischen Quell- und Detektorfaser senkrecht. An dieser Stelle ragt die Photonenbanane am tiefsten in das Gewebe hinein. Daher wird die Eindringtiefe d der Photonen als Schwerpunkt der Wechselwirkungsmatrix bei $x = r_{DQ}/2$ in der Mitte zwischen Quell- und Detektorfaser definiert:

$$d = \frac{\sum_i \sigma(r_{DQ}/2, z_i) \cdot z_i}{\sum_i \sigma(r_{DQ}/2, z_i)} \quad (5.1)$$

In Abbildung 5.2 ist die so berechnete Eindringtiefe für die Laserwellenlängen gegen den Faserabstand aufgetragen:

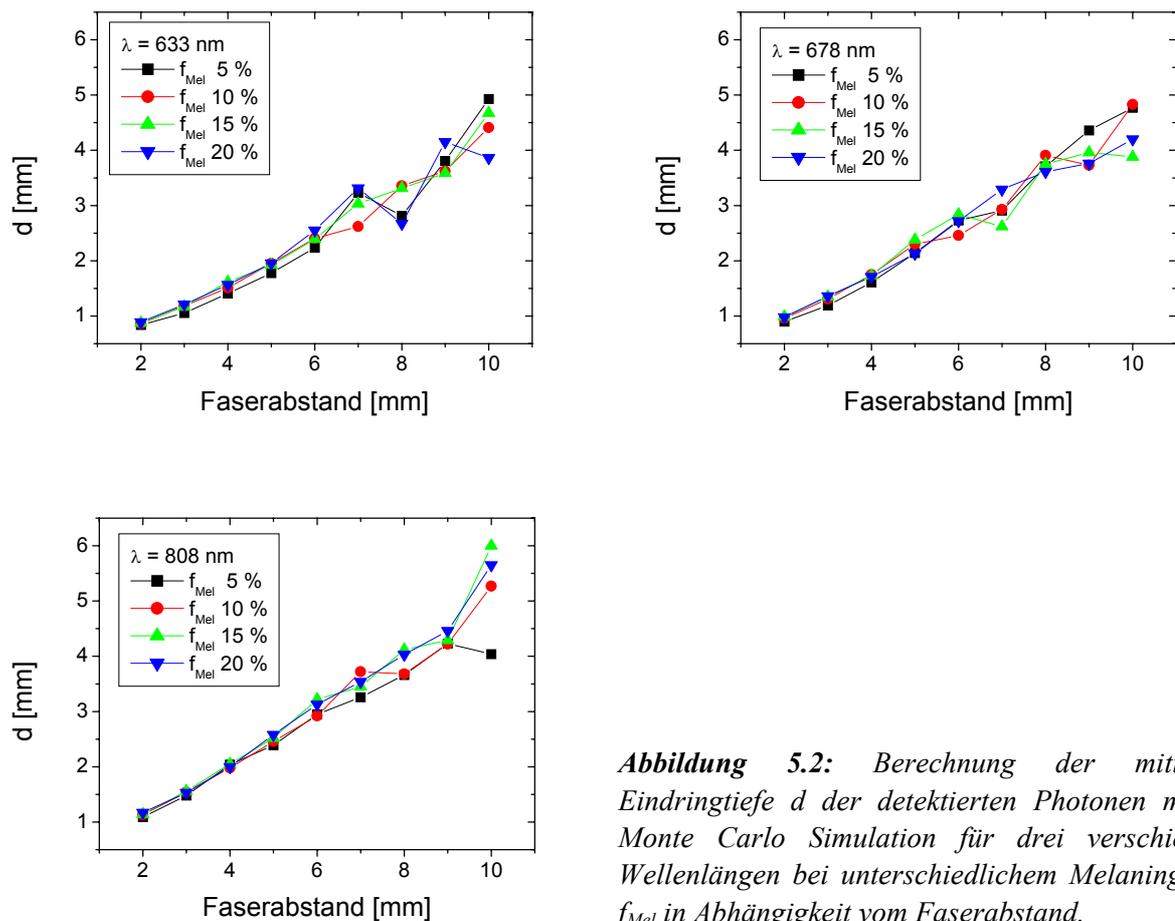


Abbildung 5.2: Berechnung der mittleren Eindringtiefe d der detektierten Photonen mittels Monte Carlo Simulation für drei verschiedene Wellenlängen bei unterschiedlichem Melaningehalt f_{Mel} in Abhängigkeit vom Faserabstand.

In den Diagrammen in Abbildung 5.2 ist eine klare Abhängigkeit der Eindringtiefe der detektierten Photonen vom Faserabstand zu beobachten. Für die beiden Größen gilt für den betrachteten Bereich in guter Näherung ein linearer Zusammenhang, wobei die mittlere Eindringtiefe der detektierten Photonen etwa halb so groß ist wie der Faserabstand. Dagegen hat der Melaningehalt der Epidermis keinen signifikanten Einfluss auf die Eindringtiefe der detektierten Photonen. Es sei an dieser Stelle daran erinnert, dass die so bestimmten Werte der Eindringtiefe der Photonen bei kleinen Faserabständen eine höhere statistische Genauigkeit aufweisen.

Für eine Interpretation der *in vivo* gemessenen Gewebeparameter sind neben der mittleren Eindringtiefe der detektierten Photonen auch die mittleren Weglängen der detektierten Photonen in den verschiedenen Schichten von Bedeutung. Diese wurden ebenfalls mit der Monte Carlo Simulation berechnet. Abbildung 5.3 zeigt die Verhältnisse der Weglängen in der Epidermis δ_{Epi} und der Dermis δ_{Dermis} zur gesamten Weglänge der detektierten Photonen bei den Laserwellenlängen von 633 nm, 678 nm und 808 nm. Auch diese Rechnungen zeigen eine klare Abhängigkeit der Weglängen der Photonen vom Faserabstand. Mit zunehmendem Faserabstand wächst die Weglänge der detektierten Photonen im subcutanen Fettgewebe an, so dass die Weglängen der Photonen in der Epidermis und in der Dermis im Verhältnis zur Gesamtweglänge abnehmen. Bei einer Wellenlänge 633 nm und einem Faserabstand von 3 mm liegt der Anteil des Weges der detektierten Photonen je nach Melaningehalt bei etwa 1,2 – 1,9 % in der Epidermis und 80 % in der Dermis. Für die so berechneten relativen

Weglängen der Photonen im Gewebe gilt ebenfalls bei kleineren Faserabständen eine höhere statistische Genauigkeit.

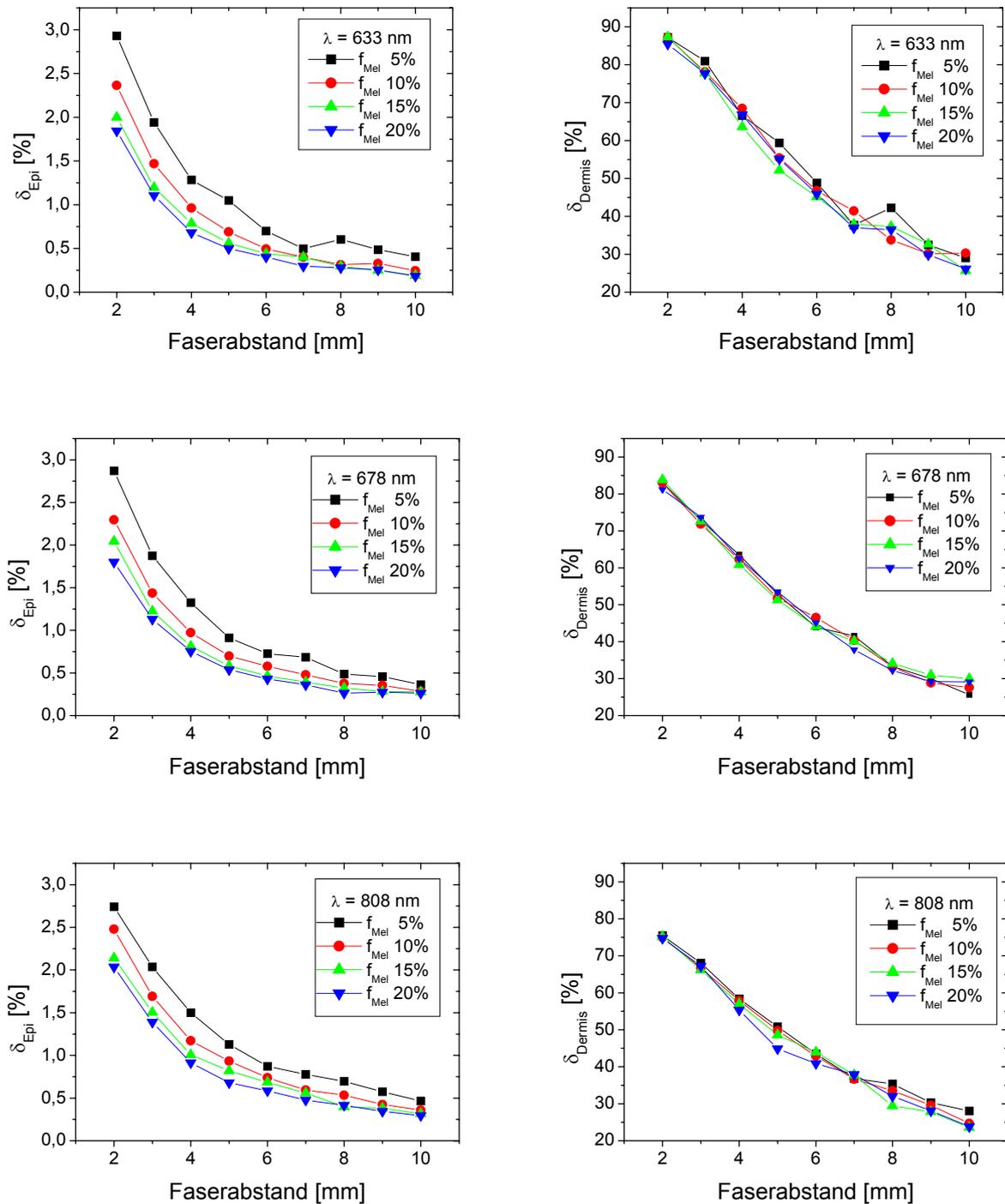


Abbildung 5.3: Verhältnis der Weglängen der detektierten Photonen in der Epidermis δ_{Epi} und in der Dermis δ_{Dermis} zur gesamten Weglänge für die drei Laserwellenlängen bei verschiedenen Melaningehältern f_{Mel} in der Epidermis.

Diese Ergebnisse machen deutlich, dass bei einer *in vivo* Messung der Gewebeparameter in menschlicher Haut mittels FD-DS Spektroskopie die Messtiefe durch den Abstand zwischen Quell- und Detektorfaser bestimmt wird. Um eine Messung der Gewebeparameter in der

Dermis durchzuführen, wurden für die Folgenden *in vivo* Messungen Abstände von 3 mm bzw. 4,2 mm gewählt. Darüber hinaus spielen diese Ergebnisse eine Rolle bei der Berechnung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes der Haut mittels Zwei-Linien Absorptionsspektroskopie. Wie in Kapitel 2.5.4 beschrieben, kann bei Kenntnis der relativen Weglänge der Photonenbahnen in der Epidermis eine Absorption der Photonen durch das Melanin in der Epidermis berücksichtigt werden. Für einen Melaniningehalt zwischen 5 % und 10 % kann bei den Wellenlängen 678 nm und 808 nm für die hier gewählten Faserabständen ein mittlerer Wert von $\delta_{\text{Epi}} = 1,6 \%$ in Gleichung (2.35) angenommen werden.

5.2 Dynamische Streulicht-Spektroskopie an Phantomen

In diesem Kapitel werden Messungen mittels dynamischer Streulicht-Spektroskopie (siehe Kapitel 4.2.2) an Phantomen geschildert. Die Herstellung und Charakterisierung der Phantome ist in Kapitel 4.3 beschrieben. Bei den Phantomen handelt es sich um Modellsysteme, in denen ähnliche Strömungsverhältnisse und optische Eigenschaften wie in biologischen Geweben vorliegen. Zunächst werden Suspensionen von Polystyrenkugeln mit verschiedenen Konzentrationen der Kugeln untersucht. Wie in Kapitel 4.3.1 beschrieben, entsprechen diese Phantome einem kapillären Gewebe, welches vom Blut mit unterschiedlichem Hämatokritwert durchflossen wird. In einer zweiten Messreihe wird ein Modellsystem untersucht, bei dem eine laminare Strömung in einer Bohrung in einem Festkörper-Gewebephantom erzeugt wird. Ähnliche Strömungsverhältnisse liegen bei der Durchblutung größerer Venen und Arterien, die in eine Gewebematrix eingebettet sind, vor. Durch diese Bohrung werden Suspensionen von Intralipid in verschiedenen Konzentrationen gepumpt. Dem entsprechen unterschiedliche Hämatokritwerte des Blutes in biologischen Systemen. Mit diesen Phantomen ist eine detaillierte Untersuchung der Anwendung der dynamischen Streulichtspektroskopie für medizinische Zwecke möglich.

Darüber hinaus sind die dabei gewonnenen Ergebnisse auch aus physikalischer Sicht von Interesse. Wie in Kapitel 3.2.5 erläutert, ist bei einer isotropen Geschwindigkeitsverteilung der Partikel, wie sie bei der Diffusion der Polystyrenkugeln auftritt, ein deutlicher Einfluss der Konzentration der Streuer auf die gemessene Korrelationsfunktion zu erwarten. Dieser Effekt ist dadurch zu erklären, dass bei einer isotropen Geschwindigkeitsverteilung der Korrelations-Schwächungskoeffizient von der Streuerkonzentration abhängt. Im Gegensatz dazu ist der Korrelations-Schwächungskoeffizient bei einer anisotropen Geschwindigkeitsverteilung, wie sie bei einer laminaren Strömung vorliegt, von der Streuerkonzentration unabhängig. Dieser Effekt ist in der Vergangenheit von verschiedenen Autoren untersucht worden. Dazu wurden laminare Strömungen einer Suspension von Streuern in einer transparenten Küvette erzeugt. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Korrelationsfunktion der Intensität des Streulichtes vom Streuergehalt der Suspension unabhängig ist [68,139]. Wenig untersucht wurde dagegen der Fall einer laminaren Strömung in einer Matrix, wie sie bei dem Phantom aus Kapitel 4.3.2 stattfindet. Wie in Kapitel 3.2.9 beschrieben, ist dafür mit einer schwachen Abhängigkeit der Korrelationsfunktion von der Teilchenkonzentration zu rechnen. Diese Vorhersage der Korrelations-Transport-Theorie wird in Kapitel 5.2.2 untersucht.

5.2.1 Dynamische Streulicht-Spektroskopie an diffundierenden Partikeln

In diesem Abschnitt werden die im Kapitel 4.3.1 beschriebenen Phantome mit der dynamischen Streulichtspektroskopie untersucht. Dabei handelt es sich um Suspensionen von Polystyrenkugeln mit einem Durchmesser von 236 nm in Wasser. Der Volumenanteil der Kugeln wurde zwischen 0,083 % und 0,5 % variiert. Damit ergeben sich für die Phantome reduzierte Streukoeffizienten, die denen von humanem Blut bei einem Hämatokrit zwischen 5 % und 50 % (siehe Seite 81, Tabelle 4.3) entsprechen. Für geringe Konzentrationen kann die Wechselwirkung der Polystyrenkugeln untereinander vernachlässigt werden. Für diesen Fall kann der Diffusionskoeffizient D_B der Kugeln mit der Stokes-Einstein Gleichung berechnet werden:

$$D_B = \frac{kT}{6\pi\eta r} \quad (5.2)$$

Darin sind:

- k: Boltzmann Konstante [J K^{-1}]
- T: Temperatur [K]
- η : dynamische Viskosität von Wasser [Pa s]
- r: Radius der Kugeln [μm]

Für die Temperatur der Suspension wurde mit einem elektronischen Thermometer (CTA 1220, Ebro) ein Wert von 20 °C ermittelt. Bei dieser Temperatur beträgt die Viskosität von Wasser $1,002 \cdot 10^{-3} \text{ Pa s}$ [117]. Daraus ergibt sich für den Diffusionskoeffizienten der Kugeln bei geringen Konzentrationen ein Wert von $1,81 \mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$. Bei der Wellenlänge des Helium-Neon Lasers von 633 nm liefert die Sellmeier-Formel aus Kapitel 2.1.1 für den Brechungsindex von Wasser einen Wert von $n = 1,331$. Für die Wellenzahl des Lichtes in der Suspension folgt damit ein Wert von $k_n = 2\pi n/\lambda = 1,321 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-1}$.

Zur Durchführung der Messung wurden die Suspensionen in ein Becherglas gegeben und die Quell- und Detektorfaser bei einem Abstand von $\rho = 3,8 \text{ mm}$ senkrecht zur Oberfläche der Flüssigkeit fixiert (Abbildung 5.4).

Für die Akquisitionszeit zur Aufnahme der Intensitäts-Korrelationsfunktion G_2 wurde ein Wert von 6 s gewählt. Daraus kann mit der Siegert-Relation (3.58) die Feld-Korrelationsfunktion bestimmt werden. Da in dieser Messung nur der zeitliche Verlauf, nicht jedoch der Absolutbetrag der Feld-Korrelationsfunktion von Interesse ist, braucht keine Normierung durchgeführt zu werden:

$$G_1 \propto \sqrt{g_2 - 1} \quad (5.3)$$

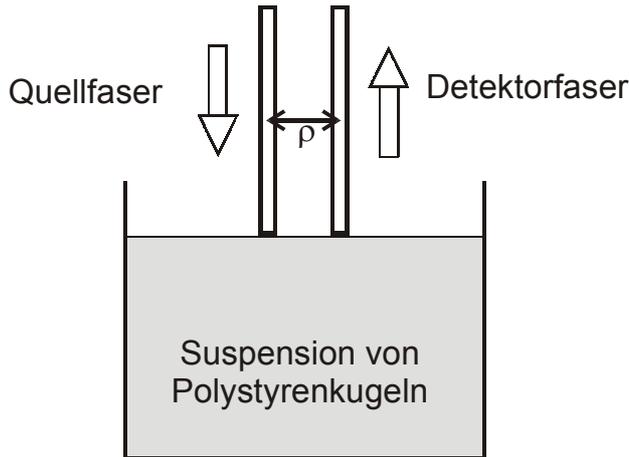


Abbildung 5.4: Messgeometrie zur Bestimmung der Korrelationsfunktion des an einer Suspension von Polystyrenkugeln gestreuten Lichtes

In Abbildung 5.5 ist die Feld-Korrelationsfunktion für die verschiedenen Volumenanteile der Polystyrenkugeln gezeigt. Darin ist deutlich zu erkennen, dass der Verlauf der Feld-Korrelationsfunktion des Streulichtes vom Volumenanteil der Streuer und damit vom reduzierten Streukoeffizienten abhängt. Diese Tatsache kann in Übereinstimmung mit der Korrelations-Transport-Theorie erklärt werden. Nach Gleichung (3.86) kann die Feld-Korrelationsfunktion bei Streuung von Licht an einem semiinfiniten Medium mit diffundierenden Partikeln bei Vernachlässigung der Absorption geschrieben werden als:

$$G_1(\rho, \tau) = A \left\{ \frac{\exp(-\sqrt{P_{diff}} \cdot \tau \cdot \rho)}{\rho} - \frac{\exp(-\sqrt{P_{diff}} \cdot \tau \cdot \sqrt{\rho^2 + 4\gamma^2 / \mu_s'^2})}{\sqrt{\rho^2 + 4\gamma^2 / \mu_s'^2}} \right\} \quad (5.4)$$

mit

$$A = \frac{1}{4\pi D_\gamma} \quad (5.5)$$

$$P_{diff} = 6D_B \cdot k_n^2 \cdot \mu_s'^2$$

Darin sind:

- D_γ : Photonendiffusionskoeffizient des Mediums [$\mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]
- ρ : Abstand zwischen Quell- und Detektorfaser [mm]
- γ : numerische Konstante
- μ_s' : reduzierter Streukoeffizient des Mediums [mm^{-1}]
- k_n : Wellenzahl des Lichtes [cm^{-1}]
- D_B : Diffusionskoeffizient der Polystyrenkugeln [$\mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

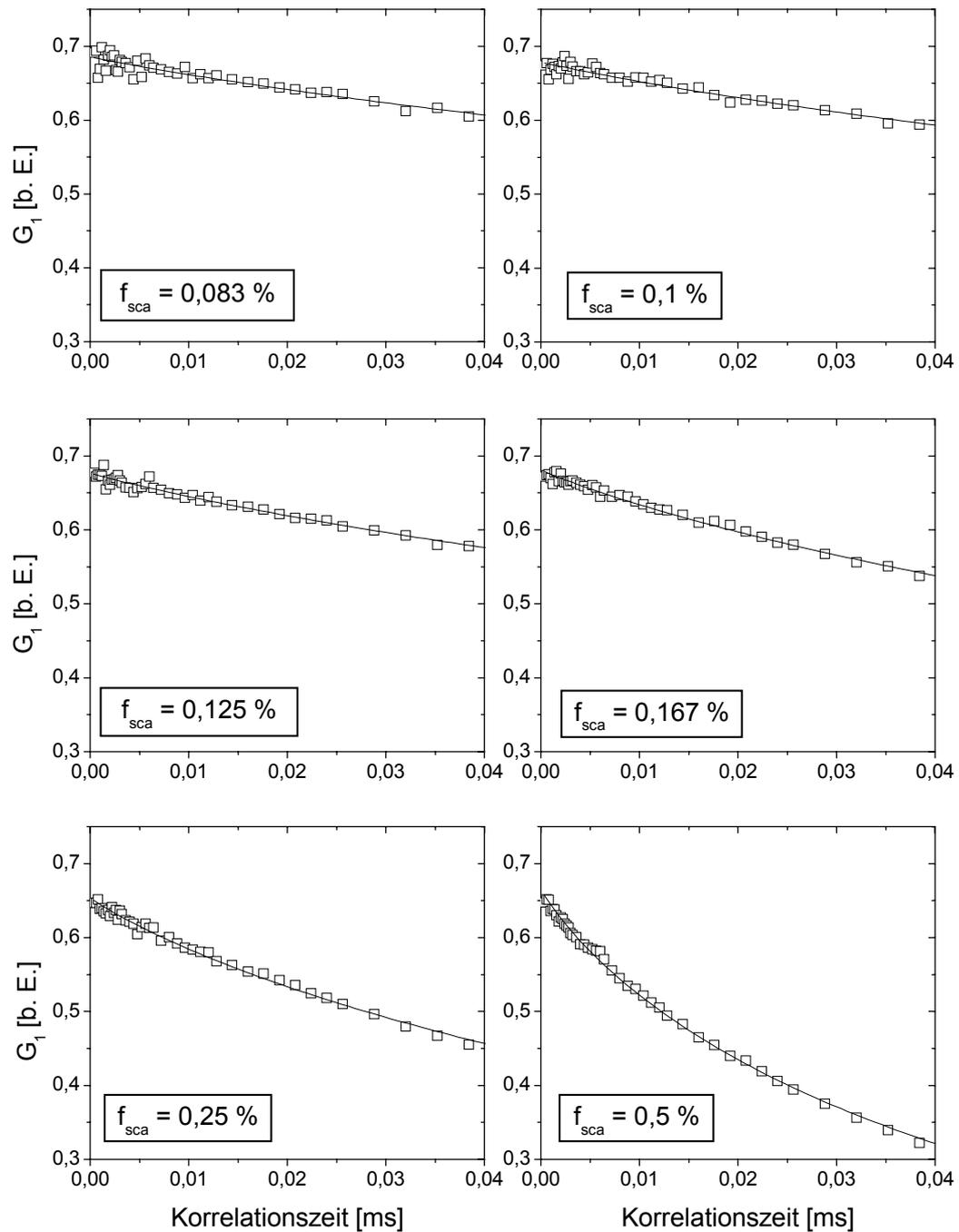


Abbildung 5.5: Feld-Korrelationsfunktion G_1 des Streulichtes einer Suspension von Polystyrenkugeln bei verschiedenen Werten des Volumenanteils der Polystyrenkugeln f_{sca} . Kästchen: Messwerte, durchgezogene Linien: Fit nach Gleichung(5.4).

Zur experimentellen Überprüfung von Gleichung (5.4) wurde der Parameter P_{diff} für jede der sechs Kurven mit Hilfe eines Levenberg-Marquardt Algorithmus (Origin 6.0, Microcal) an die Messdaten angepasst. Dabei ist zu beachten, dass Gleichung (5.4) lediglich für nicht zu große Korrelationszeiten τ mit

$$k_n^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle = 6k_n^2 D_B \tau \ll 1 \quad (5.6)$$

eine hinreichend gute Näherung darstellt. Aus diesem Grunde wurden für die Kurvenanpassung nur die Messwerte der Korrelationsfunktion mit $\tau \leq 0,04$ ms berücksichtigt. Bei einem zu erwartenden Diffusionskoeffizienten von $D_B = 1,81 \mu\text{m}^2/\text{s}$ wird damit die Bedingung (5.6) erfüllt: $6k_n^2 D_B \tau = 7,6 \cdot 10^{-8} \ll 1$.

Die so ermittelte Fitfunktion ist als durchgezogene Linie in Abbildung 5.5 dargestellt. Darin ist eine gute Übereinstimmung der gemessenen Korrelationsfunktion mit der Fitfunktion zu erkennen.

Nach Gleichung (5.5) ist für die Quadratwurzel des Fitparameters P_{diff} , der den zeitlichen Verlauf der Korrelationsfunktion bestimmt, mit einem linearen Zusammenhang mit dem reduzierten Streukoeffizienten der Suspension zu rechnen. In Abbildung 5.6 wurden die im Experiment ermittelten Werte von $\sqrt{P_{diff}}$ gegen μ_s' aufgetragen und eine lineare Regression durchgeführt. Für den Regressionskoeffizienten wurde ein Wert von $R = 0,997$ ermittelt. Die Fehlerbalken in Abbildung 5.6 wurden anhand des vom Levenberg-Marquardt Algorithmus für P_{diff} gelieferten Messunsicherheit ΔP_{diff} gemäß $\Delta \sqrt{P_{diff}} = \Delta P_{diff} / (2\sqrt{P_{diff}})$ berechnet.

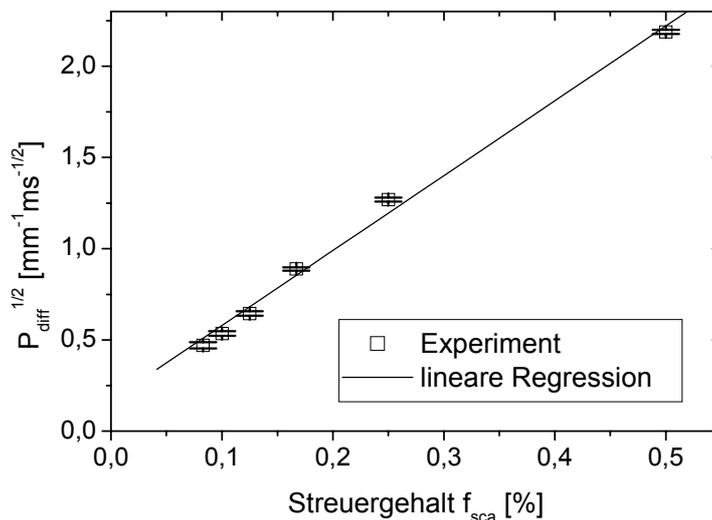


Abbildung 5.6: Abhängigkeit der Quadratwurzel des Fitparameters P_{diff} vom reduzierten Streukoeffizienten μ_s' der Suspension. Punkte: Messwerte, durchgezogene Linie: lineare Regression

Darüber hinaus kann nach Gleichung (5.5) aus dem Fitparameter P_{diff} bei bekanntem reduziertem Streukoeffizienten der Diffusionskoeffizient D_B der Polystyrenkugeln bestimmt werden:

$$D_B = \frac{1}{6} \frac{P_{diff}}{(k_n \mu_s')^2} \quad (5.7)$$

Für die Messunsicherheit des so bestimmten Diffusionskoeffizienten folgt unter Berücksichtigung der Messunsicherheit des Parameters P_{diff} :

$$\Delta D_B = D_B \cdot \frac{\Delta P_{diff}}{P_{diff}} \quad (5.8)$$

Abbildung 5.7 zeigt den so ermittelten Wert des Diffusionskoeffizienten für die verschiedenen Konzentrationen der Polystyrenkugeln in der Suspension.

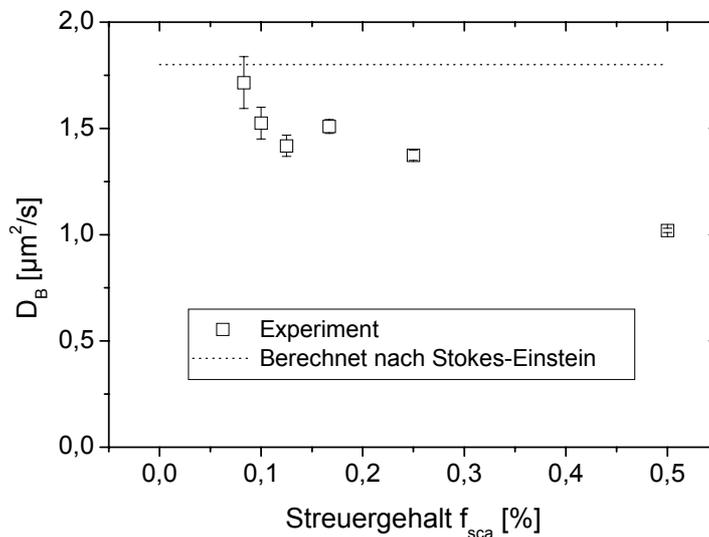


Abbildung 5.7: Brownscher Diffusionskoeffizient der Polystyrenkugeln für die verschiedenen Konzentrationen der Kugeln in der Suspension. Kästchen: experimentell ermittelte Werte, unterbrochene Linie: berechnet nach Stokes-Einstein. Die Stokes-Einstein Gleichung erlaubt eine Berechnung des Diffusionskoeffizienten nur bei geringem Streuergehalt. Details siehe Text.

Darüber hinaus ist in Abbildung 5.7 der zuvor mit der Stokes-Einstein Gleichung berechnete Wert des Diffusionskoeffizienten von $D_B = 1,81 \mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$ als unterbrochene Linie eingezeichnet. Dabei wird deutlich, dass die Stokes-Einstein Gleichung eine Berechnung des Diffusionskoeffizienten nur bei geringen Konzentrationen der Polystyrenkugeln erlaubt. Für den geringsten Volumenanteil von $f_{sca} = 0,083\%$ stimmt der gemessene Wert des Diffusionskoeffizienten mit dem nach Stokes-Einstein berechneten im Rahmen der Messgenauigkeit überein. Für höhere Streuergehalte sind jedoch Abweichungen vom gemessenen und berechneten Diffusionskoeffizienten zu beobachten. Dabei nimmt der gemessene Diffusionskoeffizient mit zunehmendem Streuergehalt ab. Dieser Effekt kann durch eine zunehmende Wechselwirkung der Polystyrenkugeln untereinander bei größerem Streuergehalt erklärt werden. So wurde von MARET et al. eine Abnahme der Diffusionskoeffizienten von Polystyrenkugeln mit steigendem Volumenanteil f_{sca} beobachtet [68]. Darüber hinaus kann auch eine Klusterbildung bei hohen Konzentrationen nicht ausgeschlossen werden [133].

Wie für die Polystyrenkugeln bei der Diffusion kann auch für die Erythrozyten bei der Durchblutung eines kapillären Gewebes eine isotrope Geschwindigkeitsverteilung angenommen werden [16]. Daher kann die dynamische Streulicht-Spektroskopie auch zur

Messung der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten im kapillären Gewebe verwendet werden. Wie die Messung an den Polystyrenkugeln zeigt, muss dazu jedoch die Konzentration der Erythrozyten im Gewebe bekannt sein. Diese kann z.B. wie in Kapitel 5.3 beschrieben mit Hilfe der Frequency-Domain Spektroskopie bestimmt werden.

5.2.2 Dynamische Streulicht-Spektroskopie an laminarer Strömung

Neben einer Messung der Geschwindigkeit der Erythrozyten in kapillären Gefäßen ist auch die Messung deren Geschwindigkeit in größeren Venen oder Arterien von Interesse. In weiten Teilen der Venen und Arterien findet eine laminare Strömung statt [137]. Um dynamische Streulicht-Spektroskopie an einem vergleichbaren Modellsystem durchzuführen, wurde das in Kapitel 4.3.2 beschriebene Phantom verwendet. Dabei handelt es sich um ein Festkörperphantom mit einer Bohrung, durch die Suspensionen von Intralipid mit verschiedenen Konzentrationen und verschiedenen Flussgeschwindigkeiten gepumpt werden. Die Flussraten Q , mit denen in den folgenden Versuchen die Flüssigkeiten durch die Bohrung im Festkörperphantom gepumpt wurden, sind in Tabelle 5.1 gezeigt. Bezeichnet a den Radius der Bohrung, so gilt für die mittlere Strömungsgeschwindigkeit $\langle v \rangle$:

$$\langle v \rangle = \frac{Q}{\pi \cdot a^2} \quad (5.9)$$

Die Werte von Q wurden so gewählt, dass die mittlere Strömungsgeschwindigkeit $\langle v \rangle$ in der Bohrung der von Blut in Gefäßen mit einem vergleichbaren Durchmesser entspricht (siehe Seite 15, Tabelle 2.1).

Flussrate Q [ml/s]	$\langle v \rangle$ [mm/s]
0,14	7,13
0,28	14,3
0,43	21,9
0,57	29,0
0,71	36,2
0,81	41,3
0,99	50,4
1,13	57,6
1,28	65,2

Tabelle 5.1: Flussrate Q und nach Gleichung (5.9) berechnete mittlere Strömungsgeschwindigkeit $\langle v \rangle$, mit der die Intralipid-Suspensionen in den folgenden Versuchsreihen durch die Bohrung im Gewebephantom gepumpt wurden.

Zur Abschätzung, ob es sich bei der Strömung in der Bohrung tatsächlich um eine laminare Strömung handelt, kann die Reynold'sche Zahl Re berechnet werden [129]:

$$Re = \frac{\rho \cdot v_{Max} \cdot a}{\eta} \quad (5.10)$$

Darin sind:

- $v_{\text{Max}}=2\langle v \rangle$: maximale Strömungsgeschwindigkeit in der Bohrung [mm s^{-1}]
 ρ : Dichte der Flüssigkeit [g ml^{-1}]
 η : dynamische Viskosität der Flüssigkeit [Pa s]

Da der Fettgehalt der Intralipid-Suspensionen in allen Fällen kleiner als 2 % war, können für die Dichte und die dynamische Viskosität der Flüssigkeit in guter Näherung die Werte für Wasser bei Raumtemperatur zugrundegelegt werden. Damit folgt bei der höchsten mittleren Strömungsgeschwindigkeit von 65,2 mm/s eine Reynold'sche Zahl von $Re = 324$. Das zeigt, dass für alle in dieser Versuchsreihe betrachteten Strömungsgeschwindigkeiten eine laminare Strömung vorliegt, da in einem Rohr erst ab einer Reynold'schen Zahl von $Re > 1000$ mit einer Wirbelbildung zu rechnen ist [129].

Zur Durchführung der dynamischen Streulicht-Messung wurden die Quell- und Detektorfaser wie in Abbildung 5.8 gezeigt symmetrisch zur Achse der Bohrung mit einem Abstand von $\rho = 2$ mm positioniert. Für die Akquisitionszeit des digitalen Korrelators zur Aufnahme der Daten wurde ein Wert von 6 s gewählt.

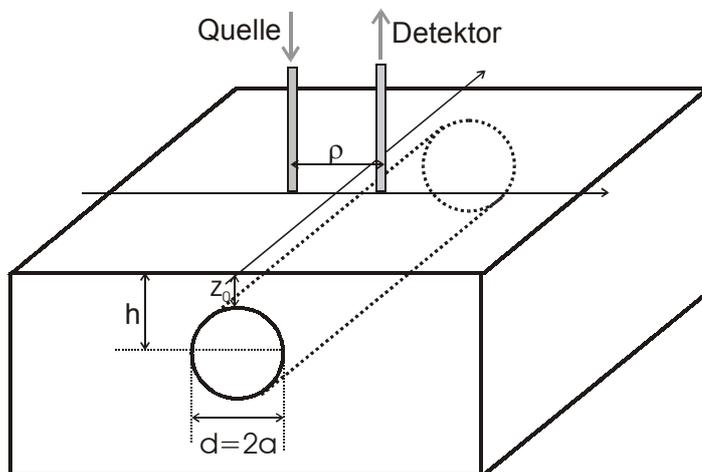


Abbildung 5.8: Messgeometrie bei der Bestimmung der Korrelationsfunktion des an einer laminaren Strömung einer Intralipid-Suspension gestreuten Lichtes. Die Maße sind: $d = 5$ mm, $z_0 = 0,9$ mm, $\rho = 2$ mm.

In Abbildung 5.9 ist exemplarisch die in dieser Messreihe bestimmte Feld-Korrelationsfunktion für verschiedene Flussraten bei einem Streugehalt der Intralipid-Suspension von 0,8 % aufgetragen. Zur Interpretation dieser Daten muss zunächst berücksichtigt werden, dass nicht alle Photonen, die zum Messsignal beitragen, an den mobilen Partikeln im Inneren der Bohrung gestreut wurden. Ein Teil der detektierten Photonen wird nur an den immobilen Partikeln der Festkörpermatrix gestreut. Daher handelt es sich bei dem vorliegenden Phantom um ein nicht-ergodisches System (siehe Kapitel 3.2.2). Aus diesem Grunde mündet die Feld-Korrelationsfunktion zunächst nach einer Korrelationszeit von etwa $\tau_p = 0,1$ ms in ein Plateau, bevor sie weiter abnimmt. Bezeichnet $\langle I_f \rangle$ den mittleren Beitrag der dynamisch gestreuten Photonen und $\langle I_c \rangle$ den mittleren Beitrag der statisch gestreuten Photonen, so liegt das Plateau bei einem Wert $\langle I_c \rangle / (\langle I_c \rangle + \langle I_f \rangle)$.

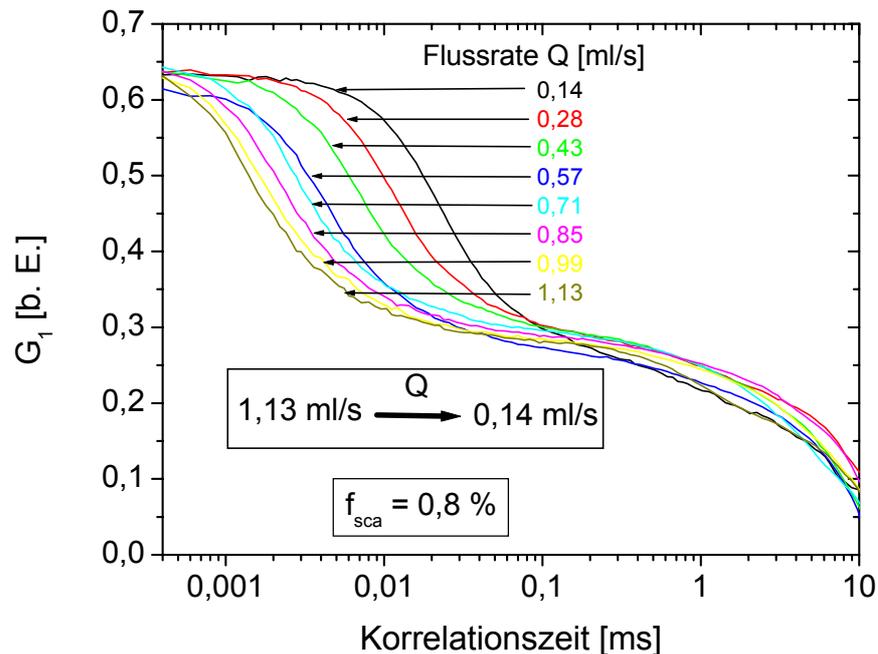


Abbildung 5.9: Messung der Feld-Korrelationsfunktion des an einer laminaren Strömung gestreuten Lichtes für verschiedene Flussraten. Das für nicht-ergodische Systeme charakteristische Plateau tritt bei einer Korrelationszeit von etwa 0,1 ms auf. Der Pfeil symbolisiert den späteren Abfall der Feld-Korrelationsfunktion bei kleinen Werten der Flussrate Q .

Zur weiteren Auswertung ist es zweckmäßig, die Beiträge der statisch und dynamisch gestreuten Photonen zur Feld-Korrelationsfunktion voneinander zu separieren. Nach Gleichung (3.65) tragen für Korrelationszeiten $\tau < \tau_p$ nur die dynamisch gestreuten Photonen zur Abnahme der Korrelationsfunktion bei. Der Beitrag $g_{1,f}$ der dynamisch gestreuten Photonen zur normierten Feld-Korrelationsfunktion nimmt in diesem Zeitraum von einem Wert von 1 bei $\tau = 0$ auf einen Wert von 0 bei $\tau = \tau_p$ ab. Daher können zur Berechnung von $g_{1,f}$ im Zeitraum $0 < \tau \leq \tau_p$ die gemessenen Feld-Korrelationsfunktionen G_1 auf einen Wert von 1 bei einer Korrelationszeit von 400 ns und einen Wert von 0 bei einer Korrelationszeit von 0,1 ms normiert werden. Die so bestimmten normierten Feld-Korrelationsfunktionen der dynamisch gestreuten Photonen $g_{1,f}$ sind in Abbildung 5.10 für drei verschiedenen Flussgeschwindigkeiten gezeigt. Diese Ergebnisse können in Übereinstimmung mit den Rechnungen aus Kapitel 3.2.9 erklärt werden, wo die Lösungen der Korrelations-transportgleichung für die hier vorliegende Messgeometrie diskutiert wurden. Danach ist mit steigender Geschwindigkeit in der Bohrung mit einer schnelleren Abnahme der Feld-Korrelationsfunktion zu rechnen. Für den Streuergehalt ist jedoch nur ein schwacher Einfluss auf den Verlauf der Feld-Korrelationsfunktion zu erwarten. Dieses Verhalten kann qualitativ in den Graphen in Abbildung 5.10 verifiziert werden.

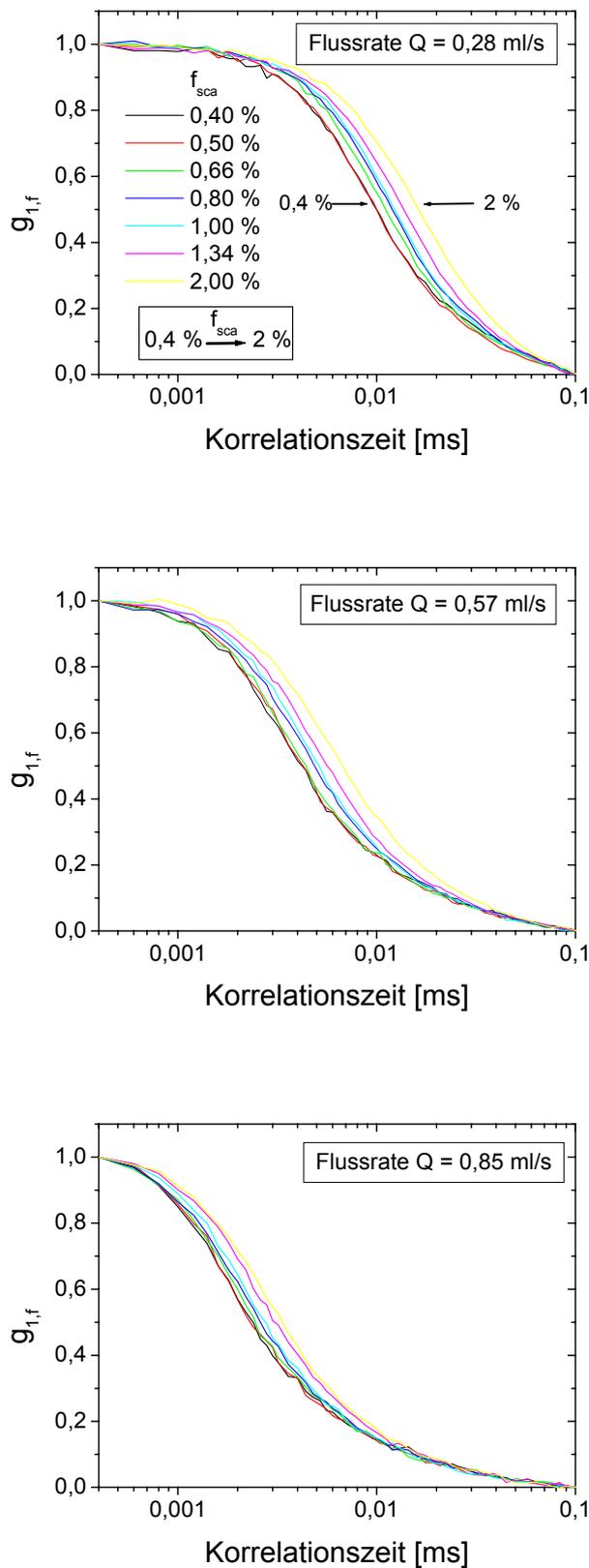


Abbildung 5.10: Verlauf der normierten Feld-Korrelationsfunktion $g_{1,f}$ der dynamisch gestreuten Photonen in einem nicht-ergodischen System mit einer gerichteten Strömung bei verschiedenen Flussraten und verschiedenen Werten des Volumenanteils der Streuer f_{sca} in der Strömung. Es kann eine deutliche Abhängigkeit der Feld-Korrelationsfunktion von der Geschwindigkeit der Streuer festgestellt werden. Dagegen ist nur eine schwache Abhängigkeit vom Streuergehalt f_{sca} zu beobachten. Der Pfeil symbolisiert den geringfügig späteren Abfall der Feld-Korrelationsfunktion bei großen Werten des Streuergehaltes f_{sca} .

Für eine quantitative Untersuchung der Messwerte wird an das in Kapitel 3.2.9 beschriebene numerische Verfahren zur Berechnung der Feld-Korrelationsfunktion bei den hier gegebenen Randbedingungen angeknüpft. Für eine Anwendung der Korrelations-Transport-Gleichung zur Bestimmung der Flussrate in der Bohrung des Gewebephantoms muss das inverse Problem gelöst werden: Die Flussrate muss so bestimmt werden, dass die berechnete Feld-Korrelationsfunktion möglichst gut mit der im Experiment ermittelten übereinstimmt. Zu diesem Zweck wurde ein weiteres Programm in Visual C++ 5.0 (Microsoft) erstellt, in dem das in Kapitel 3.2.9 beschriebene Programm mit einem Simplex-Algorithmus [92] kombiniert wird. Bei diesem Verfahren wird der Wert der Flussrate Q variiert, bis sich im Rahmen einer vorher definierten Toleranz ein Minimum für die quadratische Abweichung der berechneten Feld-Korrelationsfunktion $g_{1,f}^{Calc}$ von der gemessenen Feld-Korrelationsfunktion $g_{1,f}^{Exp}$ ergibt:

$$\sum_i [g_{1,f}^{Exp}(\tau_i) - g_{1,f}^{Calc}(Q, \tau_i)]^2 = Min \quad (5.11)$$

Bei der Berechnung von $g_{1,f}^{Calc}$ in Gleichung (5.11) muss der Brechungsindex des Phantoms bekannt sein. Nach der Sellmeier-Formel aus Kapitel 2.1.1 folgt für Epoxyharz bei der Wellenlänge des Helium-Neon Lasers ein Brechungsindex von $n_{Harz} = 1,555$. Dieser Wert wurde für die folgenden Rechnungen zugrundegelegt. In Abbildung 5.11 sind die gemessenen Feld-Korrelationsfunktionen für drei verschiedene Flussraten bei einem Streuergehalt von 0,4 % mit den dazugehörigen Fitfunktionen gezeigt. Darin ist zu erkennen, dass sich mit dem Algorithmus eine sehr gute Übereinstimmung zwischen Experiment und Rechnung erzielen lässt.

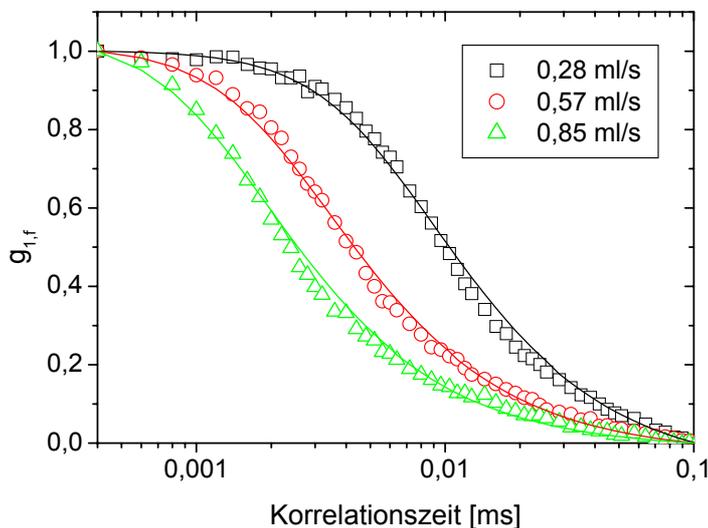


Abbildung 5.11: Nichtlineare Kurvenanpassung der Lösung der Korrelations-Transportgleichung an die gemessene Feld-Korrelationsfunktion $g_{1,f}$ für drei verschiedene Flussraten bei einem Streuergehalt von 0,4 %.

Abbildung 5.12 zeigt den so bestimmten Wert der Flussrate Q in Abhängigkeit des Volumengehaltes der Streuer in der laminaren Strömung für drei verschiedene Flussraten.

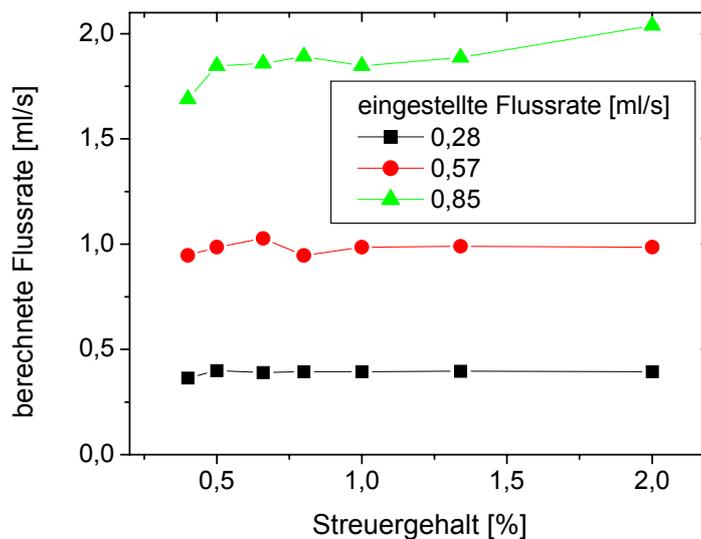


Abbildung 5.12: Berechnete Flussrate in Abhängigkeit des Streuergehaltes für drei verschiedene Werte der eingestellten Flussrate

In Abbildung 5.12 ist zu erkennen, dass der Algorithmus im Rahmen der Messgenauigkeit bei konstanter Flussrate im Phantom auch für verschiedene Streuergehälter einen konstanten Wert für die berechnete Flussrate liefert. Die berechneten Werte der Flussrate sind jedoch etwa um einen Faktor 2 größer als die zu erwartenden Werte.

Vergleichbare Messungen sind von anderen Arbeitsgruppen mit größeren Faserabständen durchgeführt worden. Diese Messungen haben ebenfalls einen Faktor 2 für den Unterschied zwischen gemessener und erwarteter Flussrate ergeben [9,10]. Aufgrund der großen Faserabstände konnte darin die bei der P_1 -Approximation vorgenommenen Vereinfachungen als Fehlerquelle ausgeschlossen werden. Vielmehr wurde darin der Unterschied der Brechungsindizes der flüssigen und der festen Komponenten des Phantoms als Ursache für die gemessenen Abweichungen angenommen. Aufgrund des Unterschiedes der Brechungsindizes finden Fresnel-Reflexionen an der Grenzfläche der Bohrung statt, die die Lichtausbreitung im Phantom beeinflussen. Daher haben die Brechungsindizes einen Einfluss auf die gemessenen Feld-Korrelationsfunktion und auf die experimentell bestimmte Flussrate. Diese Fresnel-Reflexionen wurden bei der Lösung der Korrelationstransportgleichung nicht berücksichtigt. Nach den Sellmeier-Formeln aus Kapitel 2.1.1 beträgt bei einer Wellenlänge von 633 nm der Brechungsindex von Wasser $n_{\text{Wasser}} = 1,331$ und von Epoxyharz $n_{\text{Harz}} = 1,555$.

Ähnliche Strömungsverhältnisse wie in dem hier untersuchten Phantom liegen auch in Venen oder Arterien vor. Daher erlaubt die dynamische Streulicht-Spektroskopie prinzipiell auch eine Messung der Flussgeschwindigkeit in solchen Gefäßen. Wie die Messungen an dem Phantom zeigen, ist für eine Berechnung der mittleren Strömungsgeschwindigkeit die Kenntnis der Konzentration der Erythrozyten im Gefäß nicht erforderlich. Dagegen müssen jedoch der Durchmesser und die Lage des Gefäßes im Gewebe bekannt sein. Diese Größen können mit Hilfe von Ultraschall-Untersuchen ermittelt werden.

Bei einer Anwendung der dynamischen Streulicht-Spektroskopie zur Bestimmung von Strömungsgeschwindigkeiten in Venen oder Arterien ist mit einem Messfehler aufgrund des

Unterschiedes des Brechungsindex von Blut und dem Gewebe zu rechnen. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass in einem biologischen System die Differenz der Brechungsindizes geringer ist als in dem hier untersuchten Phantom. So kann für die Gewebematrix bei der Wellenlänge von 633 nm ein Brechungsindex von 1,4 angenommen werden [99]. Der Brechungsindex von Blut liegt je nach Hämatokrit zwischen 1,333 und 1,402 [97]. Die Abweichung der gemessenen Strömungsgeschwindigkeit um einen Faktor 2 im Phantom kann also als obere Grenze für die Messunsicherheit in biologischen Systemen angesehen werden.

5.3 In vivo Messungen

In diesem Kapitel werden *in vivo* Messungen von Gewebeparametern in humaner Haut mittels FD-DS Spektroskopie vorgestellt. Die Messungen wurden mit der in Kapitel 4.2 beschriebenen Apparatur durchgeführt. Diese beinhaltet ein Frequency-Domain- sowie ein dynamisches Streulicht-Spektrometer. Zur Bestimmung der Gewebeparameter werden zunächst aus den Frequency-Domain Daten die Sauerstoffsättigung und der Gesamthämoglobingehalt der Haut ermittelt. In Kombination mit den dynamischen Streulicht-Messungen können zusätzlich der Flux sowie die mittlere Geschwindigkeit der Erythrozyten im Gewebe bestimmt werden.

Im folgenden Kapitel werden zunächst die einzelnen Schritte bei der Aufnahme der Messdaten sowie die Bestimmung der Gewebeparameter aus den Messwerten erläutert. Es folgt eine Messung der Gewebeparameter, in der der Einfluss einer provozierten Störung der Durchblutung auf die physiologischen Parameter untersucht wird. Schließlich werden in einer weiteren Messung die Gewebeparameter an verschiedenen Körperregionen bestimmt und mit den Messungen mit einem kommerziellen Gerät verglichen.

5.3.1 Berechnung von Gewebeparametern

In diesem Kapitel wird das Vorgehen bei der Bestimmung von Gewebeparametern mittels FD-DS Spektroskopie beschrieben. Die Schritte bei der Datenakquisition sind im Detail im Kapitel 4.2.4 beschrieben. Ein vereinfachtes Flussdiagramm, das die einzelnen Schritte bei der Berechnung der Gewebeparameter aus den Messgrößen darstellt, ist in Abbildung 5.13 dargestellt. Im Verlauf der Messung werden zunächst mit der Frequency-Domain Spektroskopie die Phasenverschiebungen $\phi(f, \lambda_i, r_{DQ_i})$ und die Transmissionsdifferenzen $T(f, \lambda_i, r_{DQ_i})$, $i \in \{1, 2\}$, bei den Wellenlängen $\lambda_1 = 678$ nm und $\lambda_2 = 808$ nm und den Faserabständen $r_{DQ1} = 3$ mm und $r_{DQ2} = 4,2$ mm für Modulationsfrequenzen f zwischen 1 MHz und 200 MHz gemessen. Anschließend wird mit der dynamischen Streulichtspektroskopie die Intensitäts-Korrelationsfunktion $G_2(\tau)$ des vom Gewebe gestreuten Lichtes des Helium-Neon Lasers mit einer Wellenlänge von 633 nm ermittelt. In diesem Kapitel wird die Berechnung der Gewebeparameter aus diesen Messdaten anhand eines Beispiels beschrieben. Dazu wurde an der Handinnenseite einer freiwilligen, gesunden Versuchsperson eine Messung mit dem FD-DS Spektrometer durchgeführt (Abbildung 5.14).

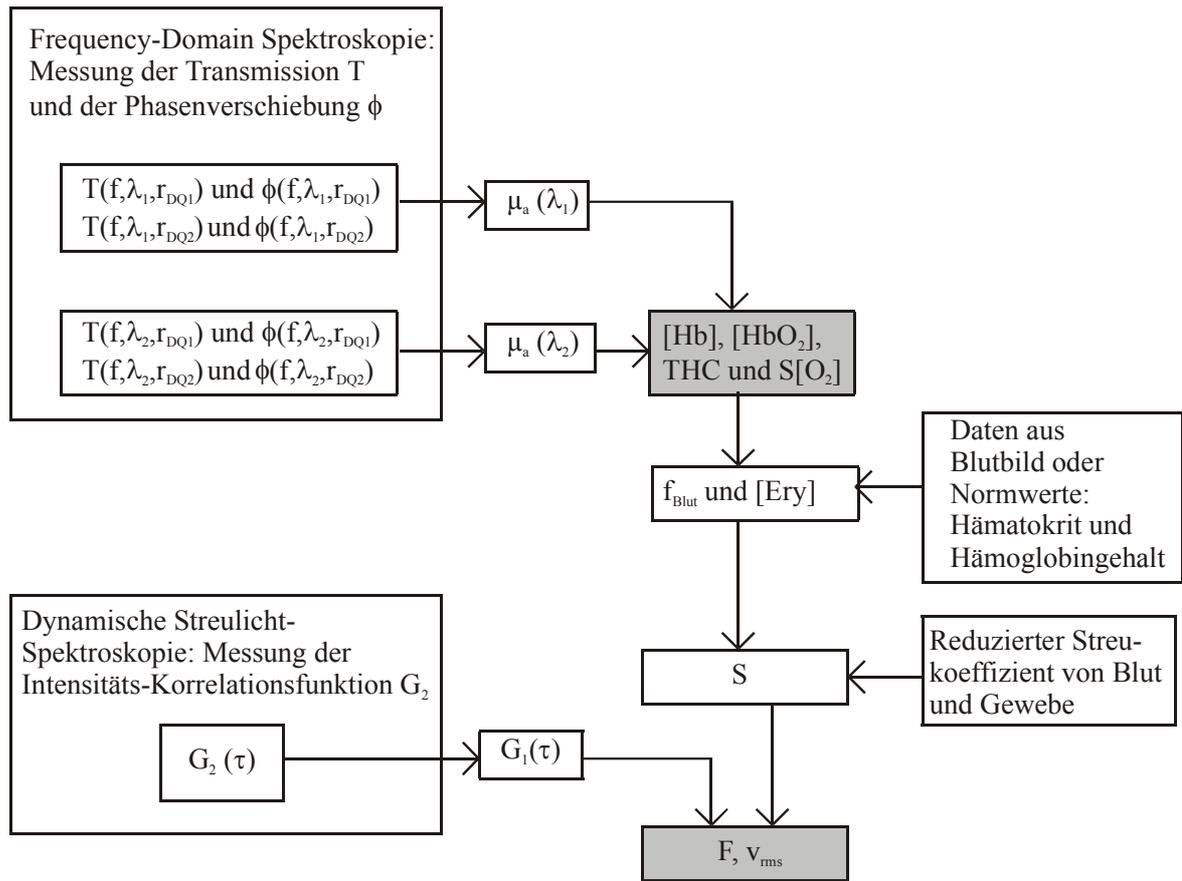


Abbildung 5.13: Flussdiagramm zur Berechnung von Gewebeparametern aus den mittels FD-DS Spektroskopie gemessenen Daten. Für diagnostische Zwecke sind in erster Linie die Konzentrationen von Hämoglobin $[Hb]$ und Oxyhämoglobin $[HbO_2]$, der Gesamthämoglobingehalt THC , die Sauerstoffsättigung $S[O_2]$, der Flux F sowie die mittlere Geschwindigkeit v_{rms} der Erythrozyten von Bedeutung. Details siehe Text.

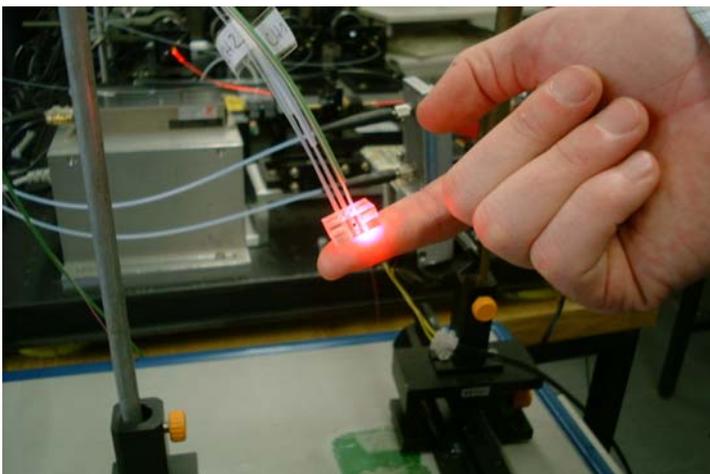


Abbildung 5.14: In vivo Messung der Gewebeparameter in menschlicher Haut mittels FD-DS Spektroskopie

Zur Berechnung der Gewebeparameter werden zunächst die Differenzen $\Delta\phi_M(\lambda_i)$ der Phasenverschiebung für die beiden Faserabstände r_{DQ1} und r_{DQ2} bestimmt:

$$\Delta\phi_M(f, \lambda_j) = \phi(f, \lambda_j, r_{DQ1}) - \phi(f, \lambda_j, r_{DQ2}) \quad (5.12)$$

In Abbildung 5.15 sind die Phasendifferenzen $\Delta\phi_M$ für die beiden Laserwellenlängen $\lambda_1 = 678 \text{ nm}$ und $\lambda_2 = 808 \text{ nm}$ gezeigt:

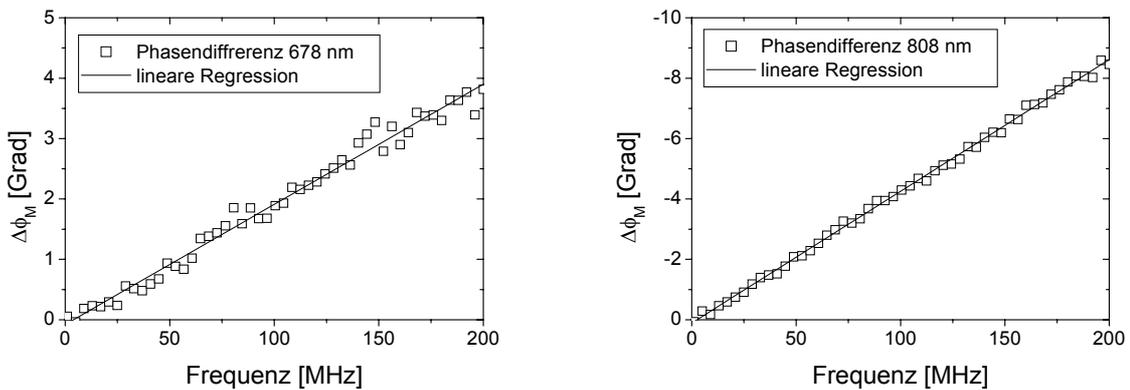


Abbildung 5.15: Frequency-Domain Messung der Phasendifferenzen $\Delta\phi_M$ an humaner Haut für die beiden Laserwellenlängen von 678 nm und 808 nm. Kästchen: Messwerte, durchgezogene Linie: Regressionsgeraden. Die unterschiedlichen Vorzeichen bei der Phasenverschiebung werden durch den Beitrag der Flugzeitdifferenz in den Detektorfasern verursacht (siehe Text).

Nach Gleichung (3.39) hängen die Phasendifferenzen für Modulationsfrequenzen $f \leq 200 \text{ MHz}$ linear von der Modulationsfrequenz ab:

$$\Delta\phi_M(f, \lambda_j) = 2\pi \cdot \Delta\langle t_M(\lambda_j) \rangle \cdot f \quad (5.13)$$

Darin ist $\langle t_M(\lambda_j) \rangle$ die mittlere Flugzeit der Photonen der Wellenlänge λ_j . Sie kann aus der Steigung der Regressionsgeraden (durchgezogene Linie in Abbildung 5.15) bestimmt werden. Zur weiteren Auswertung der Daten muss berücksichtigt werden, dass sowohl die Laufzeitdifferenzen in den Detektorfasern $\Delta\langle t_D \rangle$ als auch im Gewebe $\Delta\langle t \rangle$ zur gemessenen mittleren Flugzeit $\Delta\langle t_M \rangle$ beitragen. Dabei wurde die Flugzeitdifferenz in den Detektorfasern in Kapitel 4.2.3 als Differenz der Flugzeiten in den Fasern A und B definiert: $\Delta\langle t_D \rangle = t_A - t_B$. Bei der Frequency-Domain Messung werden die Detektorfasern für die beiden Wellenlängen in umgekehrter Reihenfolge ausgelesen (Faser A entspricht r_{DQ1} für 678 nm und r_{DQ2} für 808 nm). Daher muss zur Berechnung der Flugzeit im Gewebe bei der Wellenlänge von 678 nm $\Delta\langle t_D \rangle$ von der gemessenen Flugzeit subtrahiert, für die Wellenlänge von 808 nm jedoch addiert werden:

$$\Delta\langle t \rangle = \Delta\langle t_M \rangle \mp \Delta\langle t_D \rangle \quad \text{mit} \quad \begin{cases} - \text{ für } 678 \text{ nm} \\ + \text{ für } 808 \text{ nm} \end{cases} \quad (5.14)$$

Für die Laufzeitdifferenz der Photonen in den Detektorfasern wurde vor der Durchführung dieser Messung wie in Kapitel 4.2.3 beschrieben ein Wert von $\langle \Delta t_D \rangle = (85,0 \pm 0,5) \text{ ps}$

ermittelt. Damit folgen die in Tabelle 5.2 gezeigten Werte für die Flugzeitdifferenz der Photonen im Gewebe:

Wellenlänge [nm]	Steigung Regressionsgerade [Grad/MHz]	Regressions- koeffizient	$\Delta\langle t \rangle$ [ps]
678	$0,0199 \pm 0,0004$	0,992	$-29,8 \pm 1$
808	$-0,0436 \pm 0,0003$	-0,999	$-36,2, \pm 0,7$

Tabelle 5.2: Berechnung der Flugzeitdifferenz $\Delta\langle t \rangle$ der Photonen im Gewebe

Aus den gemessenen Werten der Transmission wurden die Differenzen ΔT_M für die beiden Faserabstände berechnet:

$$\Delta T_M(f, \lambda_j) = T(f, \lambda_j, r_{DQ1}) - T(f, \lambda_j, r_{DQ2}) \quad (5.15)$$

Dafür ergaben sich die in Abbildung 5.16 gezeigten Werte:

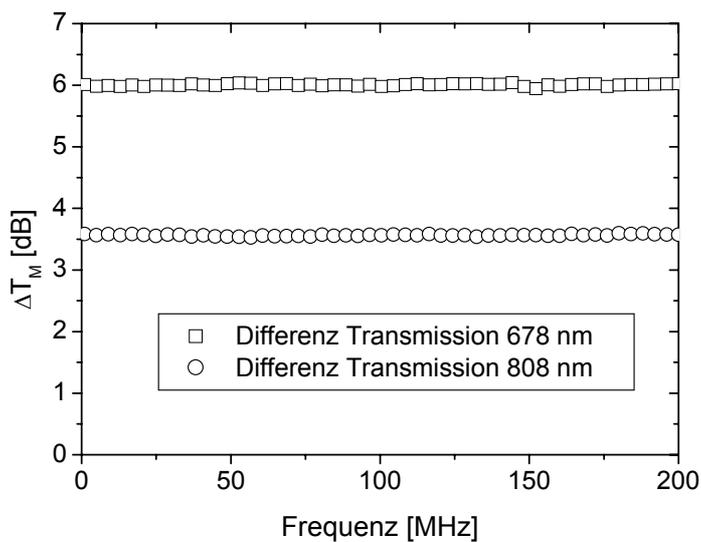


Abbildung 5.16: Messung der Differenz der Transmission für zwei verschiedene Abstände zwischen Quell- und Detektorfaser. Kästchen: Messwerte für 678 nm, Kreise: Messwerte für 808 nm

Wie nach Gleichung (3.38) zu erwarten, ist für die jeweilige Wellenlänge die Transmissionsdifferenz für alle Werte der Modulationsfrequenz im Rahmen der Messgenauigkeit konstant. Die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Transmissionsdifferenzen sind in Tabelle 5.3 für die beiden Wellenlängen gezeigt. Zur Bestimmung der Transmissionsdifferenz ΔT der Photonen im Gewebe muss berücksichtigt werden, dass auch die beiden Detektorfasern einen Beitrag ΔT_D zur gemessenen Transmissionsdifferenz ΔT_M liefern:

$$\Delta T = \Delta T_M \mp \Delta T_D \quad \text{mit} \quad \begin{cases} - & \text{für 678 nm} \\ + & \text{für 808 nm} \end{cases} \quad (5.16)$$

Für ΔT_D wurde zuvor ein Wert von $\Delta T_D = 1,65 \text{ dB} \pm 0,02 \text{ dB}$ gemessen. Damit folgt der in der rechten Spalte von Tabelle 5.3 gezeigte Wert für ΔT :

Wellenlänge [nm]	Mittelwert ΔT_M [dB]	Transmissionsdifferenz ΔT des Gewebes [dB]
678	6,009±0,003	4,36±0,02
808	3,584±0,002	5,23±0,02

Table 5.3: Berechnung des Beitrages des Gewebes zur gemessenen Transmissionsdifferenz der beiden Detektionskanäle für die beiden Laserwellenlängen

Für eine Bestimmung der optischen Eigenschaften des Gewebes mit dem modifizierten mikroskopischen Beer-Lambert Gesetz (3.38) muss aus den Messdaten die Differenz des natürlichen Logarithmus der Intensität des gestreuten Lichtes $\Delta \ln(I_{DC})$ berechnet werden. Dazu muss berücksichtigt werden, dass vom Netzwerkanalysator die Transmission der elektrischen Leistung P_{el} in der Einheit Dezibel gemessen wird. Für die gemessene Transmissionsdifferenz ΔT gilt also:

$$\Delta T = 10 \cdot \log \left[\frac{P_{el}(r_{DQ2})}{P_{el}(r_{DQ1})} \right] \quad (5.17)$$

Die in den Laserdioden erzeugte optische Leistung ist proportional zum Strom und damit zur Quadratwurzel aus der elektrischen Leistung [136]. Daher ist im logarithmischen Maß die Differenz der optischen Transmission nur halb so groß wie die Differenz der elektrischen Transmission:

$$\Delta \ln[I_{DC}] = \ln \left[\frac{I(r_{DQ1})}{I(r_{DQ2})} \right] = \frac{1}{2} \ln \left[\frac{P_{el}(r_{DQ1})}{P_{el}(r_{DQ2})} \right] = \frac{\ln(10)}{20} \Delta T \quad (5.18)$$

Darin vermittelt der Faktor $\ln(10)$ die Umrechnung vom dekadischen in den natürlichen Logarithmus. Mit dieser Rechnung kann das mikroskopische Beer-Lambert Gesetz (3.38) auch in der Form

$$\mu_a = -\frac{\ln(10)}{20} \cdot \frac{\Delta T}{c_n \cdot \Delta \langle t \rangle} \quad (5.19)$$

geschrieben werden. Für die Ungenauigkeit $u(\mu_a)$ des so bestimmten Absorptionskoeffizienten folgt gemäß Gaußscher Fehlerfortpflanzung:

$$\begin{aligned}
u(\mu_a) &= \left[\left(\frac{\partial \mu_a}{\partial \Delta T} u(\Delta T) \right)^2 + \left(\frac{\partial \mu_a}{\partial \Delta \langle t \rangle} u(\Delta \langle t \rangle) \right)^2 \right]^{1/2} \\
&= \frac{\ln(10)}{20} \frac{1}{c_n} \left[\frac{u^2(\Delta T_G) + u^2(\Delta T_D)}{(\Delta \langle t_G \rangle + \Delta \langle t_D \rangle)^2} + \frac{(\Delta T_G + \Delta T_D)^2 (u^2(\Delta \langle t_G \rangle) + u^2(\Delta \langle t_D \rangle))}{(\Delta \langle t_G \rangle + \Delta \langle t_D \rangle)^4} \right]^{1/2}
\end{aligned} \tag{5.20}$$

Bei den Betrachteten Wellenlängen beträgt der Brechungsindex der Haut $n_{\text{Haut}} = 1,40$ [99]. Für die Lichtgeschwindigkeit im Gewebe folgt $c_n = 0,214$ mm/ps. Damit ergibt sich für die Absorptionskoeffizienten des Gewebes bei den beiden Laserwellenlängen:

$$\begin{aligned}
\mu_a(678 \text{ nm}) &= (0,079 \pm 0,003) \text{ mm}^{-1} \\
\mu_a(808 \text{ nm}) &= (0,078 \pm 0,002) \text{ mm}^{-1}
\end{aligned}$$

Unter Berücksichtigung der Schichtstruktur der menschlichen Haut können aus den so bestimmten Absorptionskoeffizienten wie in Kapitel 2.5.4 beschrieben der Gesamthämoglobingehalt (THC) und die Sauerstoffsättigung im Gewebe bestimmt werden. Dazu wurde für die Epidermis ein Melaningehalt von $f_{\text{Mel}} = 5\%$ (siehe Kapitel 2.4) und eine relative Weglänge der Photonen von $\delta_{\text{Epi}} = 1,6\%$ (siehe Kapitel 5.1) zugrundegelegt. Nach Gleichung (2.36) folgt für die im Beispiel gemessenen Werte:

$$\begin{aligned}
\text{THC} &= (221 \pm 11) \mu\text{mol/l} \\
\text{S}[\text{O}_2] &= (84 \pm 5) \%
\end{aligned}$$

Aus dem Gesamthämoglobingehalt kann außerdem der Anteil des Blutes f_{Blut} im Messvolumen bestimmt werden. Dazu wurde zuvor vom Probanden ein kleines Blutbild angefertigt (Modell SE 9000, Sysmex). Für den Hämoglobingehalt wurde ein Wert von $\text{HGB} = 14,4$ g/dl entsprechend einer Konzentration $c_{\text{HGB}} = 2,23 \cdot 10^{-3}$ Mol/l im Blut ermittelt. Die Konzentration der Erythrozyten im Blut betrug $\text{RBC} = 4,79 \cdot 10^6 \mu\text{l}^{-1}$, der Hämatokrit betrug $\text{HKT} = 41\%$. Daraus wurde der Blutanteil im Gewebe gemäß Gleichung (2.37) zu

$$f_{\text{Blut}} = (9,9 \pm 0,5) \%$$

bestimmt. Damit folgt nach Gleichung (2.38) für die Erythrozytenkonzentration c_{Ery} im Gewebe:

$$c_{\text{Ery}} = (0,474 \pm 0,02) \cdot 10^6 \mu\text{l}^{-1}$$

Nachdem die Frequency-Domain Messung abgeschlossen ist, wird im weiteren Verlauf der Messsequenz mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie die Intensitäts-Korrelationsfunktion G_2 des Streulichtes des Helium-Neon Lasers bei einem Faserabstand von $\rho = 3$ mm gemessen. Daraus wird mit der Siegert-Reaktion (5.3) die Feld-Korrelationsfunktion G_1 bestimmt. Die so bestimmten Werte Feld-Korrelationsfunktion sind in Abbildung 5.17 für Korrelationszeiten zwischen $0 \mu\text{s}$ und $12 \mu\text{s}$ als Kästchen dargestellt.

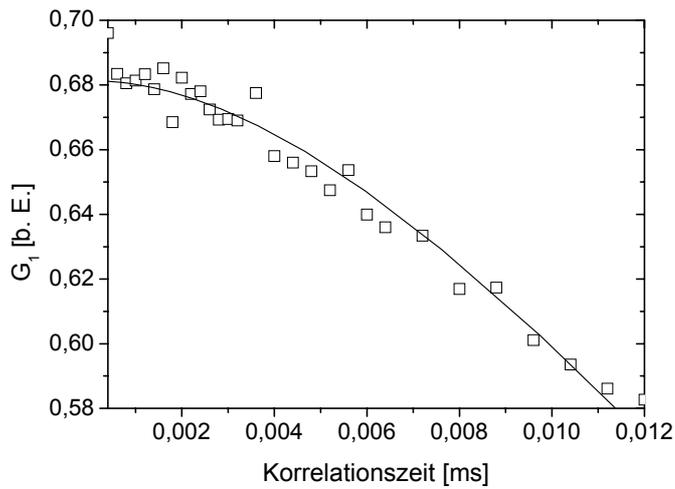


Abbildung 5.17: Verlauf der Feld-Korrelationsfunktion des an humaner Haut gestreuten Lichtes eines Helium-Neon Lasers. Kästchen: Messwerte, durchgezogene Linie: Fit

In dieser Messung kann davon ausgegangen werden, dass die Photonen in erster Linie mit Blut im kapillären Gewebe der Dermis wechselwirken. Daher kann die Bewegung der Erythrozyten im Messvolumen als Random Flow beschrieben werden. Für eine Messung von Gewebeparametern auf der Hautoberfläche bei kann bei dem gegebenen Faserabstand in guter Näherung eine semiinfinite Messgeometrie angenommen werden. Nach Kapitel 3.2.8 kann dann die Feld-Korrelationsfunktion in der Form

$$G_1(\rho, \tau) = A \cdot \left\{ \frac{\exp\left(-\sqrt{P_{flow}} \tau^2 \cdot \rho\right)}{\rho} - \frac{\exp\left(-\sqrt{P_{flow}} \tau^2 \cdot (\rho^2 + 4\gamma^2 l_r^2)\right)}{\sqrt{\rho^2 + 4\gamma^2 l_r^2}} \right\} \quad (5.21)$$

geschrieben werden. Darin ist:

$$P_{flow} = \langle v^2 \rangle (k_n \cdot S \cdot \mu_s')^2 \quad (5.22)$$

Bei der Berechnung der Feld-Korrelationsfunktion muss berücksichtigt werden, dass Gleichung (5.21) nur für nicht zu große Korrelationszeiten mit

$$k_n^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle = k_n^2 \langle v^2 \rangle \tau^2 \ll 1 \quad (5.23)$$

gilt (siehe Kapitel 3.2.4). Um die Bedingung (5.23) für Strömungsverhältnisse, wie sie in kapillären Geweben vorliegen, zu präzisieren, wurden von BOAS Monte Carlo Simulationen zur Lösung der Korrelationstransportgleichung vorgenommen [9,10]. Darin wurde gezeigt, dass Gleichung (5.21) eine Berechnung der Feld-Korrelationsfunktion bis zu einer maximalen Korrelationszeit τ_{Max} mit

$$k_n^2 \langle v^2 \rangle \tau_{Max}^2 < 0,16 \quad (5.24)$$

mit einer guten Genauigkeit erlaubt.

Für die Geschwindigkeit von Erythrozyten in kapillären Gefäßen ist mit einer Geschwindigkeit in der Größenordnung von $\langle v \rangle = 1$ mm/s zu rechnen [102]. Daher wurden

bei der Kurvenanpassung nach Gleichung (5.21) nur die Messwerte bis zu einer maximalen Korrelationszeit von $\tau_{\text{Max}} = 0,012$ ms berücksichtigt, um die Bedingung (5.24) nicht zu verletzen. Das Ergebnis der Kurvenanpassung ist als durchgezogene Linie in Abbildung 5.17 gezeigt. Für den Fitparameter P_{flow} liefert die Kurvenanpassung:

$$P_{\text{flow}} = (29 \pm 1) \text{ mm}^2\text{ms}^{-2}$$

Für den Brechungsindex humaner Haut wird in den folgenden Rechnungen ein Wert von $n_{\text{Haut}} = 1,40$ zugrundegelegt [99]. Bei der Wellenlänge des Helium-Neon Lasers von 633 nm beträgt dann die Wellenzahl in der Haut $k_n = 1,39 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-1}$. Der Faktor S in Gleichung (5.22) gibt das Verhältnis der reduzierten Streukoeffizienten der Erythrozyten in der Gewebematrix zum reduzierten Streukoeffizienten des Gewebes an:

$$S = \frac{f_{\text{Blut}} \cdot \mu_s'(\text{Blut})}{\mu_s'} \quad (5.25)$$

Darin sind $\mu_s'(\text{Blut})$ der reduzierte Streukoeffizient des Blutes und μ_s' der reduzierte Streukoeffizient des Gewebes. Beide Größen sind in der Literatur detailliert untersucht worden. Für μ_s' folgt nach Kapitel 2.4 bei der Wellenlänge des Helium-Neon Lasers von 633 nm ein Wert von $\mu_s' = 2,5 \text{ mm}^{-1}$. Bei der Bestimmung von $\mu_s'(\text{Blut})$ muss berücksichtigt werden, dass die optischen Eigenschaften von Blut von der Konzentration der Erythrozyten abhängen. Für den Probanden wurde im Blutbild ein Hämatokrit von 41 % gemessen. Damit beträgt der reduzierte Streukoeffizient des Blutes $\mu_s'(\text{Blut}) = 1,8 \text{ mm}^{-1}$ [97]. Für S folgt somit ein Wert von:

$$S = 0,071 \pm 0,004$$

Nach Gleichung (5.22) folgt für die Wurzel aus der mittleren quadratischen Geschwindigkeit v_{rms} der Erythrozyten:

$$v_{\text{rms}} = \sqrt{\langle v^2 \rangle} = \frac{\sqrt{P_{\text{flow}}}}{k_n \cdot S \cdot \mu_s'} \quad (5.26)$$

Unter Berücksichtigung der Messunsicherheit von P_{flow} und S folgt für die Genauigkeit der mittleren Geschwindigkeit:

$$\Delta v_{\text{rms}} = v_{\text{rms}} \left[\left(\frac{1}{2} \frac{\Delta P_{\text{flow}}}{P_{\text{flow}}} \right)^2 + \left(\frac{\Delta S}{S} \right)^2 \right]^{1/2} \quad (5.27)$$

Für diese Messung wurde ein Wert von

$$v_{\text{rms}} = (2,2 \pm 0,1) \text{ mm/s}$$

ermittelt. Mit dem so berechneten Wert der mittleren Geschwindigkeit kann nachträglich die Gültigkeit der Bedingung (5.24) überprüft werden:

$$k_n^2 \cdot \langle \Delta r^2(\tau_{\text{Max}}) \rangle = 0,13 < 0,16$$

Damit ist der berechnete Wert der mittleren Geschwindigkeit konsistent mit dem zur Datenauswertung benutzten Wertebereich $0 < \tau \leq 0,012$ ms.

Für den Flux F folgt mit den Gleichungen (2.38), (2.42), (5.22) und (5.25):

$$F = \langle v_{rms} \rangle \cdot C_{Ery} = \frac{\sqrt{P_{flow}}}{k_n \cdot S \cdot \mu_s'} \cdot RBC \cdot f_{Blut} = \frac{RBC \cdot \sqrt{P_{flow}}}{k_n \cdot \mu_s'(Blut)} \quad (5.28)$$

Unter Berücksichtigung der Ungenauigkeit des Parameters P_{flow} folgt für die Ungenauigkeit des Flux:

$$\Delta F = \frac{1}{2} F \frac{\Delta P_{flow}}{P_{flow}} \quad (5.29)$$

In diesem Beispiel beträgt also der Flux F :

$$F = (1,04 \pm 0,02) \cdot 10^6 \text{ mm/s}/\mu\text{l}$$

Für die in den folgenden Kapiteln beschriebenen *in vivo* Messungen mittels FD-DS Spektroskopie wurde die Datenauswertung mit dem hier beschriebenen Verfahren durchgeführt.

5.3.2 Messung der Gewebeparameter bei Ischämie

In dieser Messreihe wurde der Einfluss einer provozierten Störung der Durchblutung (ischämische Anämie) auf die Gewebeparameter untersucht. Dazu wurde am Oberarm einer freiwilligen, gesunden Versuchsperson eine Blutdruckmanschette angebracht. Damit wurde zunächst für den Blutdruck der Versuchsperson ein Wert von 120 zu 85 mmHg gemessen. Während der Messung der Gewebeparameter wurde der Unterarm der Person in horizontaler Position auf einem Tisch ruhend gelagert. Um einen Einfluss der Temperatur der Tischplatte auf die Gewebeparameter zu minimieren, wurde eine Baumwollunterlage zwischen den Tisch und den Unterarm gelegt.

Die Gewebeparameter wurden zunächst über einen Zeitraum von 2,5 Minuten (5 Messpunkte) bei geöffneter Manschette bestimmt. Anschließend wurde durch Aufpumpen der Manschette auf einen Druck von 150 mmHg eine Störung der Durchblutung des Armes der Versuchsperson provoziert. Nach jeder weiteren Messung der Gewebeparameter wurde der Druck in der Manschette um 10 mmHg verringert, bis er nach insgesamt 20 Messungen wieder einen Wert von 0 mm Hg erreicht hat. Anschließend wurden 10 weitere Messungen der Gewebeparameter bei geöffneter Manschette durchgeführt. Der zeitliche Verlauf des Druckes in der Manschette ist in Abbildung 5.18 gezeigt. Darin sind auch der Beginn und das Ende der Ischämie sowie der systolische und diastolische Blutdruck des Probanden gekennzeichnet.

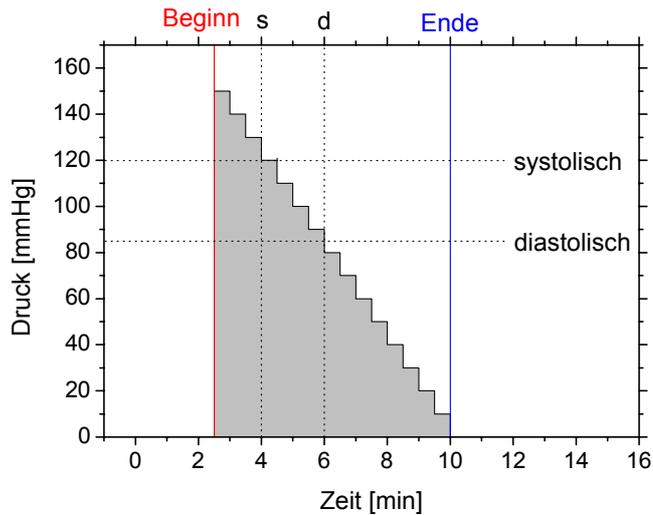


Abbildung 5.18: Verlauf des Druckes am Oberarm während der Durchführung der Messung

Die Ergebnisse der Messung sind in Abbildung 5.19 gezeigt. Zu Beginn der Messung wurde bei geöffneter Manschette eine Sauerstoffsättigung zwischen 85 % und 92 % sowie ein Gesamthämoglobingehalt zwischen 175 $\mu\text{mol/l}$ und 225 $\mu\text{mol/l}$ gemessen. Die Konzentrationen von Hämoglobin und Oxyhämoglobin im Gewebe lagen zwischen 16 $\mu\text{mol/l}$ und 25 $\mu\text{mol/l}$ (Hb) beziehungsweise 150 $\mu\text{mol/l}$ und 205 $\mu\text{mol/l}$ (HbO₂). Der Flux lag zwischen $3,5 \cdot 10^6$ mm/s/ μl und $5 \cdot 10^6$ mm/s/ μl , für die mittlere Geschwindigkeit wurde ein Wert zwischen 8 mm/s und 13 mm/s gemessen.

Im Verlauf der Messung kann ein deutlicher Einfluss des Druckes in der Manschette auf die gemessenen Gewebeparameter beobachtet werden. Im Zeitraum zwischen 2,5 min und 4 min liegt der Druck in der Manschette oberhalb des systolischen Blutdrucks des Probanden. Unter diesen Bedingungen kann angenommen werden, dass sowohl der Zufluss von arteriellem Blut als auch der Abfluss von venösem Blut unterbrochen sind. Während dieser Zeit ist eine Abnahme der Sauerstoffsättigung auf etwa 80 % zu beobachten. Dabei sinkt die Konzentration an Oxyhämoglobin auf etwa 90 $\mu\text{mol/l}$, während die Konzentration an Hämoglobin nahezu konstant bleibt. Dies geht mit einer Abnahme des Gesamthämoglobingehaltes auf etwa 110 $\mu\text{mol/l}$ einher. Die Abnahme der Sauerstoffsättigung kann dadurch erklärt werden, dass durch metabolische Prozesse im Gewebe weiterhin Sauerstoff verbraucht wird, die Zufuhr arteriellem Blut jedoch unterbrochen ist. Die genaue Ursache für die Abnahme des Gesamthämoglobingehaltes ist noch nicht bekannt. Eine mögliche Erklärung ist eine Kontraktion der Gefäße (Vasokontraktion) in der Haut. Die mittlere Geschwindigkeit der Erythrozyten sinkt im betrachteten Zeitraum auf Werte von nahezu 0 mm/s. Daher kann auch eine Abnahme des Flux auf fast 0 mm/s/ μl beobachtet werden. Dies zeigt an, dass die Blutzirkulation im Gewebe in der Tat nahezu vollständig unterbrochen ist.

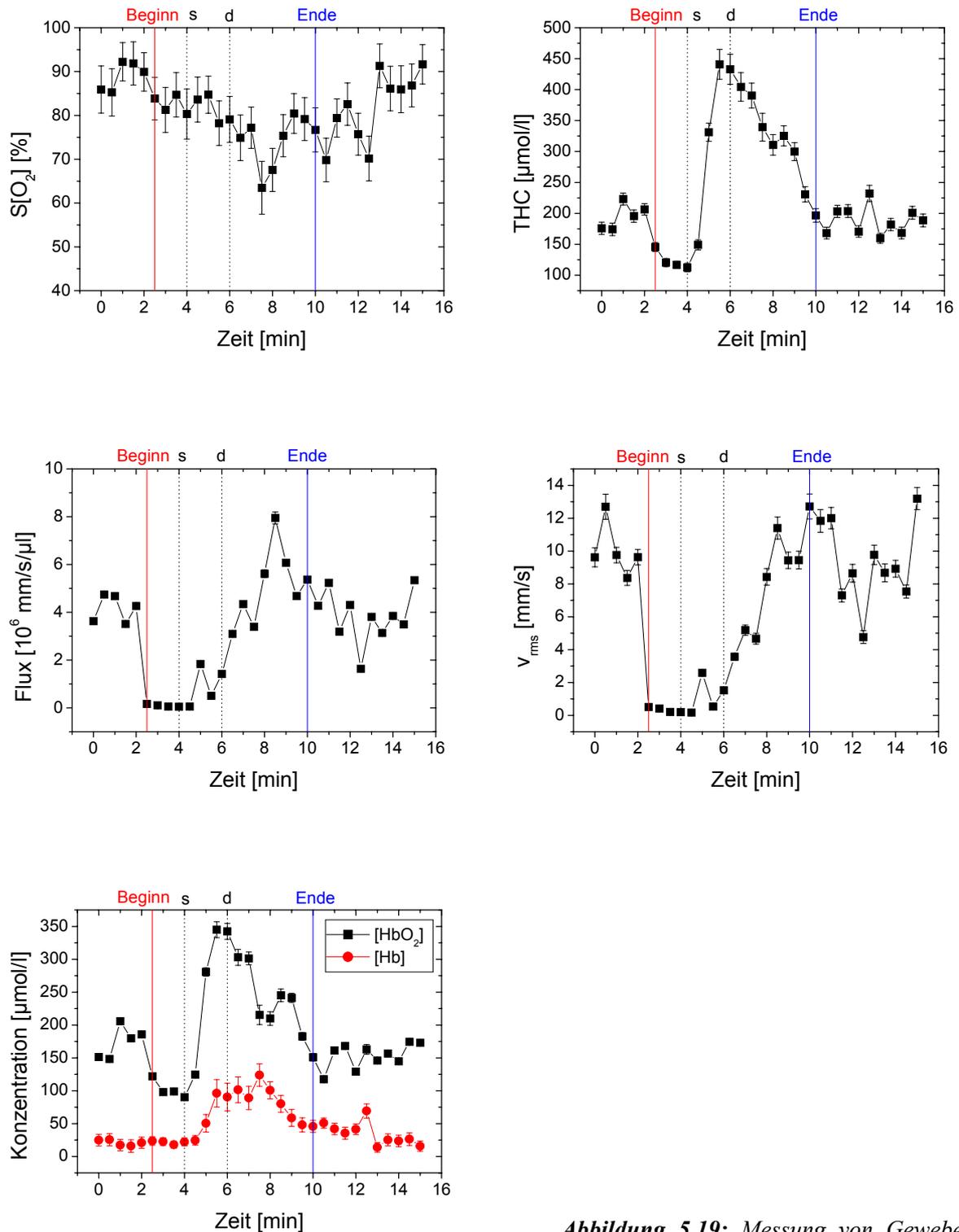


Abbildung 5.19: Messung von Gewebeparametern bei Ischämie

Im Zeitraum zwischen 4 min und 6 min liegt der Manschettendruck zwischen dem systolischen und dem diastolischen Blutdruck des Probanden (85-120 mmHg). Unter diesen Bedingungen ist ein deutlicher Anstieg der Konzentrationen von Hb und HbO₂ im Gewebe zu beobachten. Daraus resultiert ein Anstieg des Gesamthämoglobingehaltes auf Werte von über 400 $\mu\text{mol/l}$. Diese Beobachtung kann dadurch erklärt werden, dass zwar Blut in das Gewebe hinein-, nicht jedoch hinausfließen kann. Dadurch entsteht eine Stauung des Blutes,

die sich durch eine erhöhte Hämoglobinkonzentration äußert. Für den Flux und die Geschwindigkeit der Erythrozyten kann eine geringe Zunahme beobachtet werden. Für die Sauerstoffsättigung ist eine leicht abnehmende Tendenz festzustellen.

Erst wenn der Druck in der Manschette unterhalb des diastolischen Drucks des Probanden liegt (<85 mmHg), kann Blut wieder aus dem Gewebe abfließen. Dadurch können eine kontinuierliche Abnahme des Gesamthämoglobingehaltes sowie eine kontinuierliche Zunahme des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten erklärt werden. Jedoch findet auch bei einem geringen Druck in der Manschette eine Beeinträchtigung der Durchblutung des Gewebes statt. Die ursprünglichen Werte des Gesamthämoglobingehaltes, des Flux und der mittleren Geschwindigkeit stellen sich erst wieder bei einem Druck von 0 mmHg in der Manschette ein. Ein Anstieg der Sauerstoffsättigung ist erst bei einem Druck von weniger als 60 mmHg zu beobachten. Die Ursprünglichen Werte für die Sauerstoffsättigung werden erst erreicht, wenn die Manschette für 2 min vollständig geöffnet ist.

5.3.3 Messungenauigkeit der FD-DS Spektroskopie

Anhand der Messung der Gewebeparameter während der Ischämie kann die Messungenauigkeit bei einer *in vivo* Untersuchung biologischer Gewebe mit der FD-DS Spektroskopie ermittelt werden. Für die Sauerstoffsättigung wurde eine Messungenauigkeit von $\Delta S[O_2] = 5\%$ bestimmt. Die relative Messungenauigkeit für den Gesamthämoglobingehalt betrug $\Delta THC/THC = 5\%$. Für die mittlere Geschwindigkeit der Erythrozyten wurde eine relative Ungenauigkeit von $\Delta \langle v_{rms} \rangle / \langle v_{rms} \rangle = 6\%$ ermittelt. Die relative Messungenauigkeit des Flux betrug $\Delta F/F = 3\%$.

Die so bestimmte Messungenauigkeit der FD-DS Spektroskopie liegt in dem Bereich, der in der Literatur für konventionelle Messverfahren angegeben wird. So wird für die Pulsoxymetrie in [109] eine Ungenauigkeit von 3 % für die arterielle Sauerstoffsättigung angegeben. Dieser Wert gilt jedoch nur, wenn die arterielle Sauerstoffsättigung über 70 % liegt. Andernfalls ist mit einer deutlich höheren Unsicherheit bei der Messung zu rechnen [109]. Bei *in vivo* Messungen mit der Laser Doppler Fluxmetrie wurden von SMITS je nach untersuchter Gewebart Werte zwischen 1 % und 5 % gefunden [111]. Zusätzlich sind jedoch systematische Messfehler bei der Pulsoxymetrie [109], bei der NIR-Spektroskopie [69,138] und bei der Laser Doppler Fluxmetrie [62,81,111] beobachtet worden. Solche Fehler haben ihre Ursache in lokalen Unterschieden im Gewebe, die bei einer Kalibrierung der Geräte nicht berücksichtigt werden können.

5.3.4 Vergleich mit anderen Messverfahren

In kommerziellen Geräten, die bisher in der Medizin zur Messung von Gewebeparametern eingesetzt werden, kommen verschiedene Messverfahren zum Einsatz. Eine Bestimmung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes wird in zahlreichen Geräten durch NIR-Spektroskopie in Reflexionsgeometrie realisiert. Die Messung der Durchblutung erfolgt im Allgemeinen mit Laser Doppler Fluxmetern. Eine Kombination beider Messverfahren wurde mit dem Modell O2C der Firma LEA Medizintechnik realisiert (Abbildung 5.20).

Damit ist eine Messung der Sauerstoffsättigung, des Gesamthämoglobingehaltes, des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten in relativen Einheiten möglich.



Abbildung 5.20: Das LEA O2C erlaubt eine Messung von Gewebeparametern mittels NIR-Spektroskopie und Laser Doppler Fluxmetrie. Quelle: [63]

In diesem Kapitel erfolgt ein Vergleich des LEA O2C mit dem FD-DS Spektrometer. Dazu wurden die Gewebeparameter einer freiwilligen, gesunden Versuchsperson mit beiden Geräten an der Fingerbeere, am Daumenballen und an der proximalen Innenseite des Unterarms gemessen. Um die Fluktuationen der Messwerte so gering wie möglich zu halten, wurde für diese Messreihe der Messsensor am Körper des Probanden fixiert. Das O2C besitzt einen flachen Messkopf, der mit einem Klebestreifen an der Haut des Probanden befestigt werden kann. Für den Sensor des FD-DS Spektrometers wurden Halterungen konstruiert, mit denen der Messkopf gegebenenfalls unter Zuhilfenahme eines Stativs mit der Haut in Kontakt gebracht werden kann.

Während der gesamten Dauer der Messung saß der Proband auf einem Stuhl, um einen Einfluss von körperlicher Aktivität auf die Messdaten zu vermeiden. Der Arm des Probanden wurde in horizontaler Stellung gelagert. Die Messungen mit den beiden Geräten wurden hintereinander an der gleichen Stelle auf der Haut durchgeführt. Die Ergebnisse der Versuchsreihe sind in Abbildung 5.21 und Abbildung 5.22 zu sehen. Die beiden fehlenden Datenpunkte in der Messung mit dem FD-DS Spektrometer am Daumenballen bei 0,5 min und 1 min wurden durch einen Defekt eines Shutters während der Versuchsreihe verursacht.

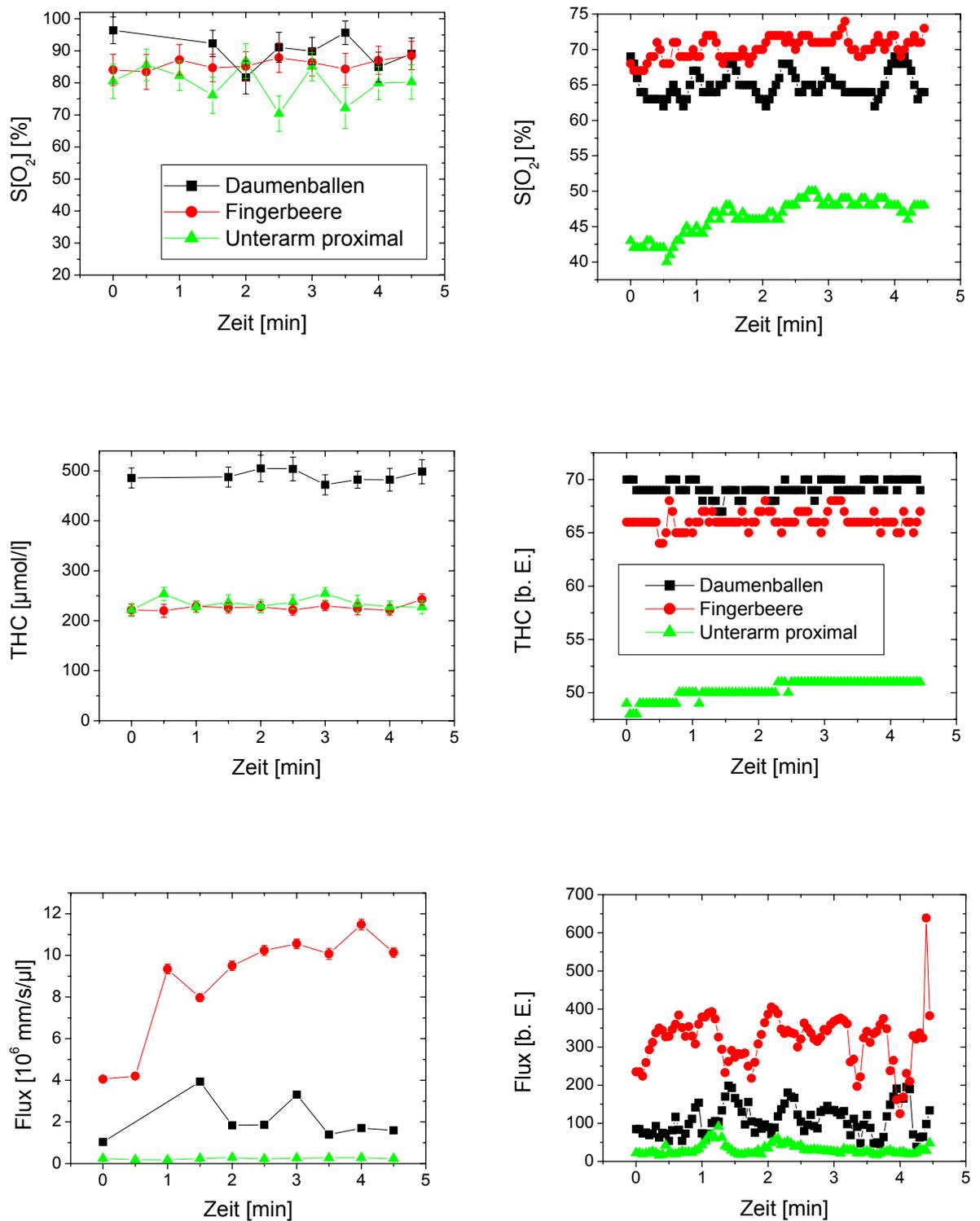


Abbildung 5.21: Messung der Sauerstoffsättigung $S[O_2]$, des Hämoglobingehaltes THC und des Flux mit der FD-DS Spektroskopie und dem LEA O2C. Es wurden Messungen der Gewebeparameter an der Fingerbeere, am Daumenballen und am Unterarm durchgeführt.

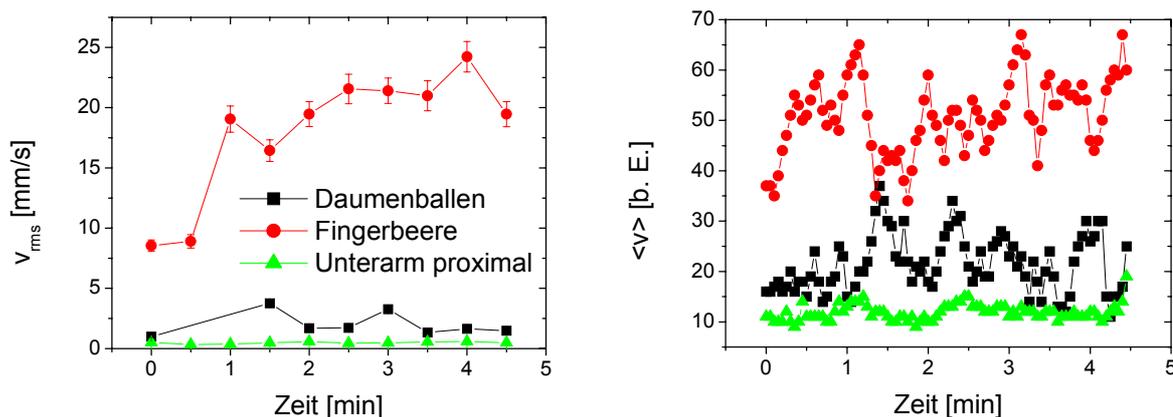


Abbildung 5.22: Messung der mittleren Geschwindigkeit v_{rms} bzw. $\langle v \rangle$ der Erythrozyten mit der FD-DS Spektroskopie und dem LEA O2C. Es wurden Messungen der Gewebeparameter an der Fingerbeere, am Daumenballen und am Unterarm durchgeführt.

Für eine Beurteilung der verschiedenen Messverfahren werden im Folgenden die mit den beiden Geräten gemessenen Gewebeparameter verglichen. Dazu wurden in Tabelle 5.4 und Tabelle 5.5 die Mittelwerte \pm Standardabweichung der Messwerte berechnet.

	Fingerbeere	Daumenballen	Unterarm proximal
S[O ₂] [%]	85,9 \pm 1,8	90,1 \pm 5,0	79,9 \pm 5,5
THC [μ mol/l]	226 \pm 7	490 \pm 12	235 \pm 11
Flux [10^6 mm/s/ μ l]	8,8 \pm 2,6	2,1 \pm 1,0	0,243 \pm 0,036
v_{RMS} [mm/s]	18,0 \pm 5,3	1,99 \pm 1,0	0,484 \pm 0,079

Tabelle 5.4: Messung der Gewebeparameter mit dem FD-DS-Spektrometer

	Fingerbeere	Daumenballen	Unterarm proximal
S[O ₂] [%]	70,3 \pm 1,5	65,0 \pm 1,8	46,4 \pm 2,4
THC [b.E.]	66,1 \pm 0,8	69,2 \pm 0,7	50,3 \pm 0,8
Flux [b.E.]	319 \pm 67	109 \pm 40	30,9 \pm 13,8
v [b.E.]	50,8 \pm 7,5	21,4 \pm 5,7	11,8 \pm 1,6

Tabelle 5.5: Messung der Gewebeparameter mit dem LEA O2C

Abweichungen der Messwerte zeigen sich in der Sauerstoffsättigung. Während mit dem FD-DS Spektrometer Mittelwerte zwischen 80 und 90 % gemessen wurden, liegen die mit dem LEA O2C gemessenen Werte deutlich darunter. Insbesondere die am Unterarm gemessene Sauerstoffsättigung von 46,4 % liegt sehr niedrig. Übereinstimmend wurde aber auch mit dem FD-DS-Spektrometer am Unterarm die geringste Sauerstoffsättigung gemessen. Mit beiden Geräten wurde am Daumenballen der höchste Gesamthämoglobingehalt gemessen. Die mit dem FD-DS-Spektrometer gemessenen THC Werte der Fingerbeere und

des Unterarms lagen deutlich darunter. Abweichend war der mit dem LEA O2C gemessene THC Wert der Fingerbeere nur geringfügig kleiner. Gute qualitative Übereinstimmungen der beiden Messverfahren zeigen sich bei den Messungen des Flux und der Geschwindigkeit. Mit beiden Verfahren wurden hierfür in der Fingerbeere die höchsten Werte gemessen, gefolgt vom Daumenballen und vom Unterarm.

Zur Interpretation des Vergleichs beider Verfahren sei darauf hingewiesen, dass die Messungen mit unterschiedlichen Applikatoren vorgenommen wurden. Bei dem LEA O2C betrug der Abstand zwischen den Quell- und Detektorfasern 2 mm, bei dem FD-DS Spektrometer dagegen 3 mm bzw. 4,2 mm. Dadurch bedingt wurden die Gewebeparameter nicht exakt im gleichen Volumen, sondern in einer unterschiedlichen Tiefe im Gewebe gemessen. Es ist jedoch bekannt, dass in unterschiedlichen Tiefen im Gewebe lokale Unterschiede der Gewebeparameter auftreten können [76]. Diese Tatsache ist eine mögliche Erklärung für die in dieser Messreihe festgestellten Abweichungen. Daher haben die hier gezeigten Messergebnisse vorläufigen Charakter. Für einen detaillierten Vergleich müssen Messungen mit identischen Applikatoren durchgeführt werden. Dabei ist die Verwendung von kommerziell erhältlichen Applikatoren zusammen mit dem FD-DS Spektrometer prinzipiell möglich. Als mögliche Ursache für die gemessenen Abweichungen zwischen beiden Geräten müssen auch Kalibrierungsartefakte beim LEA O2C in Betracht gezogen werden. Für die FD-DS Spektroskopie können dagegen Kalibrierungsartefakte ausgeschlossen werden, weil damit eine absolute Messung der Gewebeparameter möglich ist.

5.4 Zusammenfassung: Ergebnisse

In diesem Kapitel wurde mit der FD-DS Spektroskopie ein neues Messverfahren vorgestellt, das erstmals eine absolute Messung der Sauerstoffsättigung, des Gesamthämoglobingehaltes, des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten in biologischen Geweben erlaubt. Zunächst wurden Monte Carlo Simulationen zur Lichtausbreitung in menschlicher Haut durchgeführt. In diesen Rechnungen wurde das Wechselwirkungsvolumen der Photonen mit der Haut bei einer Messung der Gewebeparameter untersucht. Anschließend wurden Messungen mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie an Gewebephantomen vorgenommen. Anhand dieser Messungen wurde die Anwendung der dynamischen Streulicht-Spektroskopie zur Untersuchung der Durchblutung biologischer Gewebe diskutiert. In einer ersten *in vivo* Messungen wurden die Gewebeparameter in der Haut bei einer provozierten Störung der Durchblutung mittels FD-DS Spektroskopie untersucht. Die dabei gemessenen Änderungen der Gewebeparameter konnten in Übereinstimmung mit physiologischen Prozessen während der Ischämie erklärt werden. Anhand dieser Messreihe wurde die Messungenauigkeit der FD-DS Spektroskopie für eine *in vivo* Untersuchung von Gewebeparametern diskutiert. In einem weiteren *in vivo* Versuch wurde die FD-DS Spektroskopie mit einem kommerziellen Gerät verglichen.

6. Diskussion

6.1 Motivation

Die *in vivo* Bestimmung von physiologischen Gewebeparametern stellt eine wichtige Aufgabe in der medizinischen Praxis und Forschung dar. Von besonderer Bedeutung ist eine nicht-invasive Messung der Sauerstoffsättigung, des Gesamthämoglobingehaltes, des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten im Gewebe. Zur Messung dieser Größen werden verschiedene Verfahren eingesetzt.

Die Pulsoxymetrie erlaubt eine Bestimmung der arteriellen Sauerstoffsättigung. Mit der NIR-Spektroskopie ist eine Messung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes möglich. Ein Nachteil dieser Verfahren besteht darin, dass damit keine absolute Messung der Gewebeparameter möglich ist. Vielmehr müssen die Geräte zunächst *in vivo* oder *in vitro* kalibriert werden. Bei der Kalibrierung können jedoch lokale Unterschiede in der Struktur der Gewebe nicht berücksichtigt werden, so dass mit Artefakten bei der Messung zu rechnen ist. [36,64,69,109,113]. Dadurch wird auch ein Vergleich der Messwerte, die an verschiedenen Probanden oder an verschiedenen Körperregionen gewonnen wurden, erschwert. Ein Nachteil der Pulsoxymetrie besteht in den dafür benötigten, vergleichsweise voluminösen Applikatoren. Daher ist die Pulsoxymetrie nur eingeschränkt für Untersuchungen bei kompakter Messgeometrie geeignet, wie sie beispielsweise beim fetalen Sauerstoffmonitoring *sub partu* [134,136] oder bei der laserinduzierten interstitiellen Thermotherapie (LITT) [120] erforderlich ist.

Um den Nachteil einer Kalibrierung zu vermeiden, wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen Frequency-Domain Oxymeter zur Messung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes entwickelt [35,42]. Da die darin verwendeten Algorithmen zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung auf der Diffusionsapproximation beruhen, setzten diese Geräte jedoch ebenfalls voluminöse Applikatoren mit einem Abstand von einigen Zentimetern zwischen Quell- und Detektorfaser voraus. Daher erlaubt dieses Verfahren keine Messung der Sauerstoffsättigung bei kompakter Messgeometrie. Darüber hinaus ist zu beachten, dass bei großen Faserabständen mit einer hohen Eindringtiefe der detektierten Photonen in das Gewebe zu rechnen ist. Bei einer Messung auf der Hautoberfläche tragen auch die darunter liegenden Gewebe wie z.B. Muskeln zum Messsignal bei. Dabei wird ein Teil des Lichtes durch den Muskelfarbstoff Myoglobin absorbiert. Aus diesem Grunde müssen bei der Berechnung der Sauerstoffsättigung zusätzliche Annahmen über die Untergrundabsorption in den Muskeln gemacht werden [35].

Eine absolute Bestimmung des Absorptionskoeffizienten trüber Medien mit der Frequency-Domain Spektroskopie bei kleinen Faserabständen kann auf der Basis des modifizierten MBL durchgeführt werden. [120,135,136]. Dieses Verfahren ist auch zur absoluten *in vivo* Messung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes humaner Haut eingesetzt worden [134].

Zur Messung der Durchblutung werden Laser Doppler Fluxmeter verwendet. Auch diese Geräte erlauben keine absolute Messung und müssen zunächst kalibriert werden. Aus diesem Grunde ist mit Kalibrierungsartefakten bei der Messung zu rechnen. Beispielsweise ist bei hohen Werten der Konzentration oder der Geschwindigkeit der Erythrozyten ist mit

Abweichungen des linearen Zusammenhangs des Messsignals mit dem Flux zu rechnen [16,31,33,81,111]. Darüber hinaus wird eine Interpretation der Messwerte dadurch erschwert, dass mit Laser Doppler Fluxmetern nur eine Messung des Flux, nicht jedoch eine separate Bestimmung der Geschwindigkeit und der Konzentration der Erythrozyten möglich ist [29].

Eine neue Methode zur Untersuchung der Durchblutung biologischer Gewebe mittels dynamischer Streulichtspektroskopie in Kombination mit der Korrelations-Transport-Theorie wurde von BOAS diskutiert [9,10]. Zur Demonstration dieses Verfahrens wurde die Intensitäts-Korrelationsfunktion des vom Gewebe gestreuten kohärenten Lichtes eines Titan:Saphir Lasers gemessen. Damit konnte jedoch nur eine qualitative Bestimmung der Durchblutung durchgeführt werden, weil keine Informationen über den Blutgehalt im Gewebe vorliegen.

Um eine eindeutige Interpretation der gemessenen Gewebeparameter zu ermöglichen, ist es wünschenswert, verschiedene Messverfahren miteinander zu kombinieren [29]. So wurde in dem Gerät O2C der Firma LEA Medizintechnik eine Kombination aus NIR-Spektrometer und Laser Doppler Fluxmeter realisiert. Mit diesem Gerät ist eine Messung der Sauerstoffsättigung in Prozent sowie eine Messung des Gesamthämoglobingehaltes, des Flux und der Erythrozytengeschwindigkeit in beliebigen Einheiten möglich.

Zusammenfassend kann jedoch festgestellt werden, dass bisher kein Verfahren zur absoluten *in vivo* Bestimmung der Sauerstoffsättigung, des Gesamthämoglobingehaltes, des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten bei kompakter Messgeometrie existiert. Im Rahmen dieser Arbeit wurde erstmals ein solches Verfahren entwickelt. Dieses Ziel wurde durch eine Kombination der Frequency-Domain Spektroskopie mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie (FD-DS Spektroskopie) erreicht. Dabei erlaubt die Frequency-Domain Spektroskopie eine absolute Messung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes. In Verbindung mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie können der Flux und die mittlere Geschwindigkeit der Erythrozyten im Gewebe bestimmt werden.

In dieser Arbeit wurde ein Versuchsaufbau konstruiert, in dem die Frequency-Domain Spektroskopie und die dynamische Streulichtspektroskopie miteinander kombiniert wurden. Zur Berechnung der Gewebeparameter aus den physikalischen Messgrößen wurden verschiedene theoretische Modelle diskutiert. Die Genauigkeit des neuen Verfahrens zur Bestimmung von Gewebeparametern wurde zunächst anhand von Phantomen untersucht. Anschließend wurden in einem ersten *in vivo* Versuch die Gewebeparameter in menschlicher Haut während einer provozierten Störung der Durchblutung des Gewebes untersucht. In einer weiteren *in vivo* Messungen wurden die mit der FD-DS Spektroskopie und mit einem kommerziellen Gerät gemessenen Gewebeparameter miteinander verglichen.

6.2 Verwendete Laser

In dem experimentellen Aufbau, der im Rahmen dieser Arbeit zur Messung von Gewebeparametern realisiert wurde, werden die Frequency-Domain Spektroskopie und die dynamische Streulicht-Spektroskopie miteinander kombiniert. Für die Frequency-Domain Spektroskopie wurden zwei Laserdioden bei den Wellenlängen 678 nm und 808 nm verwendet. Zur Stabilisierung der Wellenlängen werden die Laserdioden mit einem Peltier-Element auf einer konstanten Temperatur gehalten. Diese Wellenlängen wurden im Hinblick

auf die Anwendung des Verfahrens zur Messung der Sauerstoffsättigung ausgewählt. Bei einer Wellenlänge von 678 nm weisen die Absorptionsspektren von Hämoglobin und Oxyhämoglobin einen maximalen Unterschied auf, während die Wellenlänge von 808 nm in der Nähe des isobestischen Punktes (gleiche molare Extinktionskoeffizienten) liegt.

Für die dynamische Streulicht-Spektroskopie wurde eine Helium-Neon Lasers bei einer Wellenlänge von 633 nm beleuchtet. Dieser Laser weist eine hohe Kohärenzlänge auf, wie sie für die dynamische Streulicht-Spektroskopie wichtig ist [4].

Bei der Messung von Gewebeparametern mit der FD-DS Spektroskopie ist zu beachten, dass für die verwendeten Wellenlängen eine ähnliche Eindringtiefe der Detektierten Photonen angenommen werden kann. Dieser Aspekt wird in einem späteren Kapitel über Monte Carlo Simulationen diskutiert.

6.3 Modelle zur Datenauswertung

Die physikalischen Größen, die mit dem hier beschriebenen Verfahren zur kombinierten Frequency-Domain Spektroskopie und dynamischen Streulicht-Spektroskopie gemessen werden, sind:

- die Phasenverschiebung und die Schwächung des amplitudenmodulierten Lichtes der beiden Laserdioden (678 nm und 808 nm) bei zwei verschiedenen Abständen zwischen Quell- und Detektorfaser
- die Autokorrelationsfunktion der Intensität des Streulichtes des Helium-Neon Lasers (633 nm)

Um daraus die Gewebeparameter berechnen zu können, müssen geeignete Modelle zur Datenauswertung gefunden werden. Die Anforderungen, die dabei an die Modelle gestellt werden sind:

- das Modell muss konform mit den hier benutzten kleinen Faserabständen sein
- es soll eine Datenauswertung in Echtzeit ermöglichen

Zur Datenauswertung wird zunächst aus den Frequency-Domain Daten der Absorptionskoeffizient des Gewebes bei den beiden Wellenlängen der Laserdioden berechnet. Dafür kann die oft verwendete Diffusionsapproximation der Strahlungstransportgleichung nicht eingesetzt werden, weil diese eine Berechnung der Lichtausbreitung nur in hinreichend großen Abständen von der Quellfaser ermöglicht [144]. Eine Berechnung der Lichtausbreitung in der Nähe der Quellfaser kann prinzipiell mit Monte Carlo Simulationen durchgeführt werden. Aufgrund der dafür benötigten hohen Rechenzeiten eignen sich Monte Carlo Simulationen bisher jedoch noch nicht für eine on-line Datenauswertung. Eine Verkürzung der Rechenzeit ist in der Zukunft durch den Einsatz neuer Rechnerarchitekturen möglich. In dieser Arbeit wird zur Berechnung des Absorptionskoeffizienten bei kleinen Faserabständen das modifizierte MBL verwendet [120,135,136]. Beim MBL handelt es sich um einen analytischen Ansatz, der eine schnelle Datenauswertung ermöglicht. Eine Berechnung der Sauerstoffsättigung und des Hämoglobingehaltes erfolgt auf Basis der Zwei-Linien Absorptionsspektroskopie. Damit können auch optische Inhomogenitäten und eine Untergrundabsorption des Gewebes berücksichtigt werden [134].

Zur Auswertung der mittels dynamischer Streulicht-Spektroskopie gewonnenen Daten sind in der Literatur verschiedene Modelle beschrieben worden. Mit der Quasi-Elastic Light

Scattering (QELS) kann die Geschwindigkeit von Partikeln in Medien bestimmt werden, in denen höchstens eine Einfachstreuung der detektierten Photonen an mobilen Partikeln stattfindet. Die Diffusing-Wave Spectroscopy (DWS) erfüllt den gleichen Zweck für Medien, in denen Vielfachstreuung dominiert. In dieser Arbeit wurde erstmals die Anwendung eines neuen Ansatzes, der Korrelations-Transport-Theorie [30], zur quantitativen Untersuchung der Durchblutung biologischer Gewebe demonstriert. Damit kann prinzipiell der gesamte Bereich von dynamischer Einfachstreuung bis hin zur dynamischen Vielfachstreuung behandelt werden [9,10]. Darüber hinaus erlaubt die Korrelations-Transport-Theorie eine Behandlung von Medien mit optischen und dynamischen Inhomogenitäten, wie sie in biologischen Geweben auftreten.

Bei der Anwendung der Korrelations-Transport-Theorie muss zwischen verschiedenen Strömungsformen unterschieden werden. So kann bei der Durchblutung eines kapillären Gewebes eine isotrope Geschwindigkeitsverteilung (Random Flow) zugrundegelegt werden [16]. Dagegen folgt für die gerichtete Durchblutung größerer Venen oder Arterien eine anisotrope Geschwindigkeitsverteilung (laminare Strömung) [137]. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Lösungen der Korrelationstransportgleichung für Strömungsverhältnisse, wie sie in einem kapillären Gewebe und in Venen oder Arterien vorliegen, beschrieben. Dabei wurde der Einfluss verschiedener Faktoren wie die Konzentration oder die mittlere Geschwindigkeit der Erythrozyten im Gewebe diskutiert. Bei den vorgestellten Lösungen handelt es sich um P_1 -Approximationen der Korrelationstransportgleichung. Diese lassen nur eine schwache Richtungsabhängigkeit der Feld-Korrelationsfunktion G_1^T zu. Die Gültigkeit dieser Annahme wurde für die hier betrachteten Faserabstände durch Messungen an Phantomen (siehe unten) gezeigt.

Eine absolute Berechnung des Flux und der mittleren Erythrozytengeschwindigkeit im kapillären Gewebe aus der gemessenen Intensitäts-Korrelationsfunktion mit der Korrelations-Transportgleichung kann nur dann durchgeführt werden, wenn zusätzlich der Blutgehalt des Gewebes bekannt ist. Dieser kann mit dem hier beschriebenen Aufbau aus dem gemessenen Hämoglobingehalt des Gewebes bestimmt werden. Damit wurde mit dem hier beschriebenen System erstmals eine absolute Bestimmung des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten im Gewebe durch die Kombination aus der dynamischen Streulichtspektroskopie und der Frequency-Domain Spektroskopie ermöglicht.

6.4 Monte Carlo Simulationen

Zur Berechnung des Wechselwirkungsvolumens der Photonen mit dem Gewebe bei einer Messung der Gewebeparameter in humaner Haut wurden zunächst Monte Carlo Simulationen durchgeführt. Für die Simulationen wurde der Mehrschicht Monte Carlo Algorithmus aus Kapitel 3.1.5 zugrundegelegt. Darin wurden die oberen drei Hautschichten, nämlich die Epidermis, die Dermis und die Subcutis, berücksichtigt. Die Rechnungen wurden für Faserabstände zwischen 2 und 10 mm durchgeführt. Die optischen Eigenschaften der Hautschichten wurden entsprechend den Wellenlängen der verwendeten Laser (633 nm, 678 nm und 808 nm) gewählt. Für die Epidermis wurden Melaniningehalte zwischen 5 % und 20 % gewählt. Auf diese Weise können unterschiedliche Hautfarben in der Rechnung

berücksichtigt werden. Für die Dermis wurde ein Blutanteil von 5 % bei einer Sauerstoffsättigung von 90 % angenommen.

Für das Wechselwirkungsvolumen der detektierten Photonen konnte der für die Reflexionsgeometrie typische bananenförmige Verlauf gezeigt werden. Als Maß für die mittlere Eindringtiefe der detektierten Photonen wurde der Schwerpunkt der Photonenbanane in der Mitte zwischen Quell- und Detektorfaser berechnet. Es zeigt sich, dass die Eindringtiefe der detektierten Photonen für alle Wellenlängen etwa halb so groß ist wie der Faserabstand. Für die Eindringtiefe wurde keine signifikante Abhängigkeit vom Melaningehalt beobachtet.

Zusätzlich wurden die Weglängen der detektierten Photonen in den drei Hautschichten berechnet. Für eine Berücksichtigung der Lichtabsorption durch Melanin bei der Berechnung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes mittels Zwei-Linien-Absorptionsspektroskopie ist die Kenntnis der relativen Weglänge δ_{Epi} der Photonen in der Epidermis von Bedeutung. Bei einem Melaningehalt von 5 % nimmt δ_{Epi} von etwa 3 % bei einem Faserabstand von 2 mm auf etwa 0,5 % bei einem Faserabstand von 10 mm ab. Dies ist vor allem auf einen Anstieg der Gesamtlänge der Photonenbahnen bei steigendem Abstand zwischen Quell- und Detektorfaser zurückzuführen. Mit steigendem Melaningehalt wurde eine leichte Abnahme von δ_{Epi} beobachtet. Dieser Effekt ist dadurch zu erklären, dass bei hohem Melaningehalt aufgrund der größeren Absorption in der Epidermis Photonenbahnen mit einer kurzen Weglänge in der Epidermis bevorzugt werden. Darüber hinaus wurde nur eine schwache Abhängigkeit von δ_{Epi} von der Wellenlänge festgestellt. Für einen Melaningehalt zwischen 5 % und 10 % wurde für die Faserabstände von 3 mm und 4,2 mm bei den Wellenlängen 678 nm und 808 nm ein mittlerer Wert von $\delta_{\text{Epi}} = 1,6 \%$ gefunden.

Die relative Weglänge der Photonen in der Dermis nahm von etwa 80 % bei einem Faserabstand von 2 mm auf etwa 30 % bei einem Faserabstand von 10 mm ab. Dies drückt die Tatsache aus, dass bei hohen Faserabständen in erster Linie die Gewebeparameter in tieferliegenden Schichten (Subcutis und Muskel) gemessen werden.

6.5 Phantome

Die Herstellung von Phantomen mit definierten optischen Eigenschaften ist in der Literatur von verschiedenen Autoren beschrieben worden und ist nach wie vor Gegenstand der aktuellen Forschung. Zur Evaluierung neuer Messverfahren hat sich in der biomedizinischen Forschung der Einsatz von Phantomen bewährt, deren optische Eigenschaften denen von biologischen Geweben ähnlich sind. Eine Evaluierung des in dieser Arbeit verwendeten Frequency-Domain Aufbaus mit Phantomen ist bereits von WILLMANN et al. durchgeführt worden [135,136]. Dazu wurden Festkörperphantome mit verschiedenen Gehältern an Streuern und Absorbern hergestellt. Die optischen Eigenschaften der Phantome entsprachen denen von humaner Haut bei verschiedenen Sauerstoffsättigungen und verschiedenen Gesamthämoglobingehältern. Es wurde gezeigt, dass der Frequency-Domain Aufbau in Verbindung mit dem modifizierten Beer-Lambert Gesetz eine absolute Bestimmung der Absorptionskoeffizienten der Phantome ermöglicht.

Zur Demonstration der Anwendbarkeit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie in Verbindung mit der Korrelations-Transport-Theorie zur Untersuchung der Durchblutung biologischer Gewebe wurden weitere Phantome hergestellt. Dabei zeigt es sich, dass in der

Korrelations-Transport-Theorie zwischen isotroper und anisotroper Geschwindigkeitsverteilung unterschieden werden muss. Beide Bewegungsformen sind in biologischen Geweben zu beobachten. So ist die Geschwindigkeitsverteilung der Erythrozyten in einem kapillären Gewebe isotrop und in einer Vene oder einer Arterie anisotrop.

Als Modellsystem für ein kapilläres Gewebe wurden Suspensionen von Polystyrenkugeln mit einem Durchmesser von 236 nm in Wasser hergestellt. Aufgrund der Diffusion gilt für die Polystyrenkugeln eine isotrope Geschwindigkeitsverteilung. Der Brown'sche Diffusionskoeffizient D_B kann bei geringen Konzentrationen der Kugeln mit der Stokes-Einstein Gleichung bestimmt werden. Dafür wurde ein Wert von $D_B = 1,81 \mu\text{m}^2/\text{s}$ berechnet. Die Konzentrationen der Polystyrenkugeln wurden so gewählt, dass deren reduzierter Streukoeffizient dem von menschlichem Blut bei einem Hämatokrit zwischen 5 % und 50 % entspricht. Der zeitliche Verlauf der an diesen Phantomen gemessenen Feld-Korrelationsfunktionen konnte in Übereinstimmung mit der Korrelationstransportgleichung beschrieben werden. Insbesondere wurde eine Abhängigkeit der Feld-Korrelationsfunktion von der Konzentration der Polystyrenkugeln beobachtet. Aus der gemessenen Korrelationsfunktion wurde der Diffusionskoeffizient der Kugeln in der Suspension berechnet. Dabei zeigte sich, dass die Stokes-Einstein Gleichung in der Tat nur bei geringen Konzentrationen eine Berechnung des Diffusionskoeffizienten der Polystyrenkugeln mit einer hinreichenden Genauigkeit erlaubt. Mit zunehmenden Konzentrationen wurde eine Abnahme der experimentell bestimmten Diffusionskoeffizienten festgestellt. Dieses Verhalten wurde durch eine zunehmende Wechselwirkung der Polystyrenkugeln untereinander erklärt.

Aus den Messungen wurde geschlossen, dass die dynamische Streulicht-Spektroskopie auch eine Bestimmung der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten im kapillären Gewebe erlaubt. Dies setzt jedoch voraus, dass die Konzentration der Erythrozyten im Gewebe bekannt ist. Diese kann beispielsweise mit der Frequency-Domain Spektroskopie bestimmt werden. Daher ermöglicht erst eine Kombination beider Messverfahren eine absolute Bestimmung des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten. Die Anwendung der FD-DS Spektroskopie zur *in vivo* Untersuchung kapillärer Gewebe wird in den beiden folgenden Kapiteln diskutiert.

Ein Modellsystem mit einer anisotropen Geschwindigkeitsverteilung wurde auf Basis eines quaderförmigen Festkörperphantoms hergestellt, dessen optische Eigenschaften mit denen von biologischen Geweben vergleichbar ist. In das Phantom wurde parallel zur Oberfläche eine Bohrung mit einem Durchmesser von 5 mm vorgenommen. Durch diese Bohrung wurden Flüssigkeiten mit verschiedenen Geschwindigkeiten gepumpt, so dass darin ähnlich wie in einer Vene oder Arterie eine laminare Strömung entsteht. Als Flüssigkeit wurden Verdünnungen einer Intralipid-Suspension verwendet, deren reduzierter Streukoeffizient dem von humanem Blut bei einem Hämatokrit zwischen 5 % und 50 % entspricht. Auch für dieses Phantom konnte der zeitliche Verlauf der gemessenen Feld-Korrelationsfunktion sehr gut durch die Korrelations-Transportgleichung wiedergegeben werden. Insbesondere konnte mit den Messungen in Übereinstimmung mit theoretischen Vorhersagen gezeigt werden, dass die Feld-Korrelationsfunktion nur schwach vom reduzierten Streukoeffizienten der Flüssigkeit in der Bohrung abhängt. Dagegen war eine deutliche Abhängigkeit der Feld-Korrelationsfunktion von der mittleren Strömungsgeschwindigkeit zu beobachten. Basierend auf der Korrelations-Transport-Theorie wurde aus dem Verlauf der gemessenen Feld-

Korrelationsfunktion die mittlere Strömungsgeschwindigkeit der Flüssigkeit in der Bohrung berechnet. Dabei zeigt es sich, dass die experimentell bestimmte Strömungsgeschwindigkeit etwa doppelt so groß ist wie zu erwarten. Ähnliche Abweichungen sind bereits bei vergleichbaren Experimenten von anderen Arbeitsgruppen beobachtet worden [8,9,10]. Als mögliche Ursache wurde dort die Differenz der Brechungsindizes der festen und der flüssigen Komponenten genannt. Bei dem hier untersuchten Phantom können für die feste und die flüssige Komponente die Brechungsindizes von Epoxyharz ($n_{\text{Harz}} = 1,555$) und von Wasser ($n_{\text{Wasser}} = 1,331$) zugrundegelegt werden.

Diese Messungen zeigen, dass die dynamische Streulicht-Spektroskopie prinzipiell auch eine Bestimmung der mittleren Geschwindigkeit von Erythrozyten in Venen oder Arterien erlaubt. Eine solche Messung setzt nicht die Kenntnis der Konzentration der Erythrozyten im Gefäß voraus. Dagegen müssen jedoch der Durchmesser und die Lage des Gefäßes im Gewebe bekannt sein. Aufgrund der Differenz der Brechungsindizes von Blut und der Gewebematrix ist auch in biologischen Systemen mit einer systematischen Abweichung der Messwerte zu rechnen. Für die Differenz der Brechungsindizes ist in biologischen Systemen jedoch mit geringeren Werten zu rechnen als in dem Phantom. Daher ist die beim Phantom festgestellte Abweichung der gemessenen Flussrate um einen Faktor 2 eine obere Grenze für die Messungenauigkeit in biologischen Systemen. Eine *in vivo* Messung der Strömungsgeschwindigkeit in größeren Venen oder Arterien mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie wurde in dieser Arbeit noch nicht vorgenommen und ist im Rahmen zukünftiger Untersuchungen durchzuführen.

6.6 Messung der Gewebeparameter bei Ischämie

In einem ersten *in vivo* Versuch wurde die Anwendung der FD-DS Spektroskopie zur Messung von Gewebeparametern demonstriert. Dazu wurden die Gewebeparameter eines freiwilligen, gesunden Probanden während einer provozierten Störung der Durchblutung (Ischämie) bestimmt. Der Applikator wurde mit der Fingerbeere des Zeigefingers in Kontakt gebracht. Am Oberarm des Probanden wurde eine Blutdruckmanschette angebracht. Die Gewebeparameter wurden kontinuierlich über einen Zeitraum von 15 min im Abstand von 30 s gemessen. Die Messung wurde zunächst über einen Zeitraum von 2,5 min bei einem Druck von 0 mmHg in der Manschette durchgeführt. Anschließend wurde durch Aufpumpen der Manschette auf einen Druck von 150 mmHg eine Störung der Durchblutung provoziert. Der Druck in der Manschette wurde im weiteren Verlauf der Messung nach jeweils 30 s um 10 mmHg verringert, bis er nach 10 min wieder einen Wert von 0 mmHg erreicht hatte. Anschließend wurden die Gewebeparameter für weitere 5 min bei geöffneter Manschette gemessen.

Im Laufe der Messung wurde ein deutlicher Einfluss des Druckes in der Manschette auf die gemessenen Gewebeparameter festgestellt. Dabei spiegeln die beobachteten Änderungen der Gewebeparameter physiologische Vorgänge wieder, wie sie bei einer Störung der Durchblutung zu erwarten sind. So konnte während der Ischämie eine Beeinträchtigung der Blutzirkulation beobachtet werden, die sich in einer Abnahme der Sauerstoffsättigung, des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten äußert. Bei einem Druck in der Manschette, der zwischen dem systolischen und dem diastolischen Druck des Probanden lag,

wurde eine Stauung des Blutes im Gewebe beobachtet. Diese Stauung äußerte sich durch einen starken Anstieg der Gesamthämoglobinkonzentration im Gewebe.

6.7 Vergleich mit anderen Messverfahren

In dieser Arbeit wurde durch die Kombination der Frequency-Domain Spektroskopie und der dynamischen Streulicht-Spektroskopie ein Verfahren zur absoluten Bestimmung der Sauerstoffsättigung, des Gesamthämoglobingehaltes, des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten entwickelt. Ein kommerzielles Gerät, welches eine Messung dieser Gewebeparameter in beliebigen Einheiten durch eine Kombination der Reflexionsspektroskopie und der Laser Doppler Fluxmetrie ermöglicht, wird von der Firma LEA Medizintechnik unter dem Namen O2C vertrieben.

Zum Vergleich der beiden Geräte wurden bei einem freiwilligen, gesunden Probanden die Gewebeparameter sowohl mit dem FD-DS Spektrometer als auch mit dem LEA O2C gemessen. Dazu wurden nacheinander mit beiden Verfahren die Gewebeparameter an der Fingerbeere des Zeigefingers, am Daumenballen und an der proximalen Innenseite des Unterarms des Probanden über einen Zeitraum von 5 min gemessen. Dabei zeigten sich für die Sauerstoffsättigung und den Gesamthämoglobingehalt Abweichungen zwischen beiden Geräten. Eine qualitative Übereinstimmung wurde für den Flux und die mittlere Geschwindigkeit der Erythrozyten beobachtet. Da die Messungen mit unterschiedlichen Applikatoren durchgeführt wurden, hat der Vergleich jedoch nur vorläufigen Charakter. Für einen aussagekräftigen Vergleich beider Verfahren sind Messungen mit identischen Applikatoren im Rahmen einer zukünftigen Studie durchzuführen. Für die beobachteten Abweichungen zwischen beiden Geräten müssen auch Kalibrierungsartefakte der beim LEA O2C eingesetzten Messverfahren in Betracht gezogen werden. Solche Artefakte können bei der FD-DS Spektroskopie ausgeschlossen werden, da dieses Verfahren eine absolute Bestimmung von Gewebeparametern ermöglicht. Daher ist eine Anwendung der FD-DS Spektroskopie vor allem in Fällen, in denen solche Artefakte ausgeschlossen werden müssen, vorzuziehen. Als Beispiel seien die laserinduzierte interstitielle Thermotherapie, das fetale Sauerstoffmonitoring *sub partu* und die Untersuchung von Gewebeschädigungen bei Diabetes-Patienten genannt.

Im Vergleich zum LEA O2C erfordert jedoch die in der FD-DS Spektroskopie eine deutlich aufwendigere Messtechnik. Darüber hinaus ist die Akquisitionszeit des LEA O2C mit 12,5 ms deutlich geringer als bei der FD-DS Spektroskopie. Daher ist der Einsatz konventioneller Messverfahren für Anwendungen, bei denen beispielsweise relative Änderungen von Gewebeparametern untersucht werden, nach wie vor sinnvoll.

6.8 Grenzen der Methodik

Anhand der *in vivo* Versuche wurde die Messungenauigkeit der FD-DS Spektroskopie bei einer Bestimmung der Gewebeparameter bestimmt. Für die Sauerstoffsättigung wurde eine absolute Messungenauigkeit von 5 % ermittelt. Die relative Messungenauigkeit betrug 5 % für den Gesamthämoglobingehalt, 3 % für den Flux und 6 % für die mittlere Geschwindigkeit der Erythrozyten. Eine ähnliche statistische Messungenauigkeit wurde auch für

konventionelle Messverfahren wie Pulsoxymetrie [109] oder Laser Doppler Fluxmetrie [111] festgestellt. Darüber hinaus muss bei konventionellen Messverfahren jedoch mit systematischen Messfehlern durch Kalibrierungsartefakte gerechnet werden [81,109]. Solche Kalibrierungsartefakte können bei der FD-DS Spektroskopie ausgeschlossen werden, da dieses Verfahren eine absolute Messung von Gewebeparametern ermöglicht.

Bei der FD-DS Spektroskopie müssen zur Berechnung des Flux und der Erythrozytengeschwindigkeit der reduzierte Streukoeffizient, der Hämoglobingehalt und die Erythrozytenkonzentration von Blut bekannt sein. Dafür können die in der Literatur veröffentlichten Werte zugrunde gelegt werden. Abweichungen von den Normwerten können zu einem systematischen Messfehler der Gewebeparameter führen. Um dies zu vermeiden, können der reduzierte Streukoeffizient, Hämoglobingehalt und die Erythrozytenkonzentration des Blutes in einer separaten Messung (Blutbild) bestimmt werden.

Bei einer Bestimmung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes in der Haut mittels Zwei-Linien Absorptionsspektroskopie müssen Annahmen über die Geometrie und die Hintergrundabsorption im Gewebe gemacht werden. Die Struktur und die optischen Eigenschaften der Haut sind jedoch in der Vergangenheit sehr detailliert beschrieben worden (siehe Kapitel 2.4), so dass eine Berücksichtigung der Hintergrundabsorption in den Hautschichten keine Probleme bereitet [134]. In konventionellen Messverfahren (Pulsoxymetrie und NIR-Spektroskopie) sind bei der Messung der Sauerstoffsättigung Artefakte durch die Hauttönung des Patienten beobachtet worden [27]. Dagegen erlaubt die Zwei-Linien Absorptionsspektroskopie eine Berücksichtigung der Hauttönung des Patienten [134]. Dazu können für unterschiedliche Hauttypen verschiedene Melaniningehälter in der Epidermis zugrundegelegt werden [56].

Bei einer Untersuchung der Durchblutung eines Gewebes mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie muss zwischen verschiedenen Strömungsformen im Gewebe unterschieden werden. So kann die Bewegung der Erythrozyten in kapillären Gefäßen als Random Flow beschrieben werden [16], während in größeren Venen oder Arterien eine laminare Strömung vorliegt [137]. Eine Unterscheidung von Strömungsformen anhand der mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie gewonnenen Daten ist nicht möglich. Stattdessen kann jedoch anhand der Anatomie des untersuchten Gewebes darauf geschlossen werden, welche Strömungsform im Messvolumen vorliegt.

Ein generelles Problem stellt die Beeinflussung der gemessenen Gewebeparameter durch den Kontakt des Gewebes mit dem Applikator dar. So können beispielsweise die Temperatur [137] und der Anpressdruck des Applikators [23] die gemessenen Werte der Gewebeparameter verfälschen. Darüber hinaus sind auch Bewegungsartefakte bei der Messung von Gewebeparametern beobachtet worden [81]. Die Entwicklung von Applikatoren, die solche Artefakte minimieren, ist Gegenstand der aktuellen medizinischen Forschung.

Für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Bestimmung von Gewebeparametern mittels FD-DS Spektroskopie betrug die Akquisitionszeit für eine Messung 30 s. Diese Zeitauflösung ist für die im Zusammenhang mit der FD-DS Spektroskopie diskutierten Anwendungen wie, dem fetalen Sauerstoffmonitoring *sub partu*, der Therapieüberwachung bei der laserinduzierten interstitiellen Thermotheapie und der Untersuchung von Diabetes-Patienten ausreichend. Eine weitere Verkürzung der Akquisitionszeit kann durch Verwendung einer

zweiten Avalanche-Photodiode für die Frequency-Domain Spektroskopie erzielt werden. Durch Verwendung von Filtern im Detektorstrahlengang können dann die Frequency-Domain Messungen bei beiden Wellenlängen und die dynamische Streulicht-Spektroskopie simultan durchgeführt werden.

6.9 Ausblick

In dieser Arbeit wurde die Anwendung der FD-DS Spektroskopie zur absoluten *in vivo* Bestimmung von Gewebeparametern in humaner Haut demonstriert. Zur Erschließung weiterer Anwendungsgebiete ist eine klinische Evaluierung des Verfahrens sinnvoll. So ist ein Einsatz der FD-DS Spektroskopie beispielsweise auch für das fetale Sauerstoffmonitoring *sub partu* [134,136] und die Therapiekontrolle bei LITT [118,120] von Interesse.

Die für die Frequency-Domain Spektroskopie gewählten Wellenlängen von 678 nm und 808 nm wurden im Hinblick auf eine optimale Bestimmung der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes ausgewählt. Durch Verwendung zusätzlicher Wellenlängen können darüber hinaus auch andere Absorber im Gewebe quantifiziert werden. So ist beispielsweise eine Bestimmung der Konzentration von Bilirubin zur Diagnose des Neugeborenenikterus von Interesse. In der Vergangenheit ist auch eine spektroskopische Untersuchung der Konzentration von reduziertem und oxydiertem Cytochrom aa_3 von zahlreichen Autoren diskutiert worden [32,95]. Bei Cytochrom aa_3 handelt es sich um ein Enzym, das eine wichtige Rolle in der Atemkette bei der Sauerstoffverbrennung im Organismus spielt. Durch eine Messung der Konzentration und des Redoxzustandes von Cytochrom aa_3 können wichtige Informationen über metabolische Prozesse im Gewebe gewonnen werden.

Im Zusammenhang mit der spektroskopischen Untersuchung biologischer Gewebe ist die multivariate Kalibrierung von Bedeutung [48,49]. Dabei handelt es sich um Algorithmen, die für eine Bestimmung physiologischer Gewebeparameter aus spektroskopischen Daten verwendet werden können. Im Zusammenhang mit der NIR-Spektroskopie ist die multivariate Kalibrierung in der Vergangenheit zur *in vivo* Untersuchung des pH-Wertes biologischer Gewebe [148] und zur *in vitro* Untersuchung des Glucosegehaltes von Blut [47] eingesetzt worden. In Zukunft kann die multivariate Kalibrierung auch in Kombination mit der FD-DS Spektroskopie eingesetzt werden. Damit ist ein Ansatz für die Entwicklung neuer Verfahren zur Untersuchung biologischer Gewebe geschaffen.

7. Zusammenfassung

Optische Messverfahren spielen in der Medizin eine wichtige Rolle bei der *in vivo* Untersuchung biologischer Gewebe. Mit solchen Verfahren können physiologische Gewebeparameter wie beispielsweise die Sauerstoffsättigung und der Gesamthämoglobingehalt des Gewebes sowie die mittlere Geschwindigkeit und der Flux (definiert als das Produkt aus der Konzentration und der mittleren Geschwindigkeit) der Erythrozyten im Gewebe bestimmt werden. Mit den meisten bisher dafür eingesetzten Verfahren kann eine quantitative Bestimmung von physiologischen Gewebeparametern nur nach einer aufwendigen Kalibrierung durchgeführt werden. Andere Verfahren, die eine absolute Messung von Gewebeparametern erlauben, erfordern vergleichsweise voluminöse Messsensoren und sind daher nicht für Messungen bei kompakter Messgeometrie, wie sie beispielsweise für endoskopische Anwendungen erforderlich ist, geeignet. Ziel dieser Arbeit war daher die Entwicklung eines neuen Messverfahrens, welches eine absolute Bestimmung der oben genannten Gewebeparameter bei kompakter Messgeometrie ermöglicht. Dazu wurde erstmals eine Kombination der Frequency-Domain Spektroskopie mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie (FD-DS Spektroskopie) vorgenommen. Dabei erlaubt die Frequency-Domain Spektroskopie in Kombination mit dem modifizierten Beer-Lambert Gesetz (MBL) eine absolute Messung des Absorptionskoeffizienten des untersuchten Gewebes. Durch Messung des Absorptionskoeffizienten bei zwei verschiedenen Wellenlängen können die Sauerstoffsättigung und der Gesamthämoglobingehalt berechnet werden. Bei der dynamischen Streulicht-Spektroskopie wird die zeitliche Autokorrelationsfunktion der Intensität des an den beweglichen Erythrozyten im Gewebe gestreuten kohärenten Lichtes eines Lasers bestimmt. In Verbindung mit den mittels Frequency-Domain Spektroskopie gemessenen Größen können daraus der Flux und die mittlere Geschwindigkeit der Erythrozyten berechnet werden. Die Grundlage für diese Berechnung liefert die Korrelations-Transport-Theorie.

Vor der Anwendung des neuen Verfahrens zur Messung von Gewebeparametern in humaner Haut wurden zunächst Monte Carlo Simulationen zur Berechnung des Wechselwirkungsvolumens der Photonen mit dem Gewebe durchgeführt. Darin wurde die Haut als semiinfinite Medium betrachtet und die drei oberen Hautschichten berücksichtigt. Die Rechnungen wurden für Faserabstände zwischen 2 und 10 mm durchgeführt. Die optischen Eigenschaften der Hautschichten wurden entsprechend den Wellenlängen der verwendeten Laser (633 nm, 678 nm und 808 nm) gewählt. Für die Epidermis wurden verschiedene Melaningehälter entsprechend unterschiedlicher Hautfarben berücksichtigt. Die mittels FD-DS Spektroskopie gemessenen Gewebeparameter repräsentieren einen Mittelwert über das Wechselwirkungsvolumen der detektierten Photonen mit dem Gewebe. Daher liefern die Monte Carlo Simulationen wichtige Informationen für die Interpretation der *in vivo* gewonnenen Messdaten. Für die betrachteten Wellenlängen war die mittlere Eindringtiefe der detektierten Photonen unabhängig vom Melaningehalt der Epidermis etwa halb so groß wie der Faserabstand.

Bei der Anwendung der dynamischen Streulicht-Spektroskopie zur Untersuchung der Durchblutung biologischer Gewebe muss berücksichtigt werden, dass das Blut durch unterschiedliche Gefäßabschnitte fließt, in denen verschiedene Strömungsformen vorliegen.

Kapilläre Gefäße weisen eine statistische Orientierung im Raum auf, so dass für die Erythrozyten eine isotrope Geschwindigkeitsverteilung angenommen werden kann (Random Flow). In den größeren Arterien und Venen findet dagegen eine gerichtete Strömung statt (laminare Strömung), so dass für die Erythrozyten eine anisotrope Geschwindigkeitsverteilung gilt. Diese unterschiedlichen Strömungsformen können bei der Datenauswertung mit der Korrelations-Transport-Theorie berücksichtigt werden. Um dies auch experimentell zu zeigen, wurden für beide Strömungsformen Gewebephantome hergestellt.

Als Modellsystem für ein kapilläres Gewebe wurden Suspensionen von Polystyrenkugeln verwendet. Aufgrund der Diffusion gilt für die Polystyrenkugeln, ähnlich wie für die Erythrozyten im kapillären Gewebe, eine isotrope Geschwindigkeitsverteilung. Mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie konnte der Diffusionskoeffizient der Kugeln bei geringen Konzentrationen in Übereinstimmung mit der Stokes-Einstein Gleichung experimentell bestimmt werden. Abweichungen des experimentell ermittelten Diffusionskoeffizienten bei höheren Konzentrationen konnten durch eine Wechselwirkung der Kugeln untereinander erklärt werden.

Als Modellsystem für eine Arterie oder Vene wurden Flüssigphantome auf Intralipid-Basis bei verschiedenen Flussraten durch eine Bohrung in einem Festkörperphantom gepumpt. Die Flussraten wurden so vorgegeben, dass sich in der Bohrung ähnlich wie in einer Vene oder Arterie eine laminare Strömung bildet. Zusätzlich wurden die Flussraten der Flüssigkeit in der Bohrung mit der dynamischen Streulicht-Spektroskopie experimentell ermittelt. Die dabei gemessenen Flussraten lagen etwa um einen Faktor 2 über den zu erwarteten Flussraten. Diese Abweichungen sind durch die Differenz des Brechungsindex der festen und der flüssigen Komponenten des Phantoms zu erklären. Für Messungen an biologischen Systemen ist diese Abweichung als obere Grenze anzusehen, weil für die Differenz des Brechungsindex von Blut und der Gewebematrix mit geringeren Werten zu rechnen ist.

In einem ersten *in vivo* Versuch wurde die Tauglichkeit der FD-DS Spektroskopie zur Messung der Gewebeparameter im kapillären Gewebe des Zeigefingers einer freiwilligen, gesunden Versuchsperson gezeigt. Im Verlauf der Messung wurde durch Aufpumpen einer Blutdruckmanschette, die am Oberarm des Probanden angebracht war, eine Störung der Durchblutung (Ischämie) provoziert. Dabei ist mit einer Stauung des arteriellen bzw. venösen Blutes und mit einer Beeinträchtigung der Zirkulation im Gewebe zu rechnen. Die im Verlauf des Versuches gemessenen Änderungen der Gewebeparameter konnten in Übereinstimmung mit diesen physiologischen Prozessen erklärt werden.

In einem weiteren *in vivo* Versuch wurden die Gewebeparameter eines Probanden an drei verschiedenen Körperstellen mittels FD-DS Spektroskopie und mit einem kommerziellen Gerät (LEA O2C) gemessen. Das LEA O2C erlaubt eine Messung der Sauerstoffsättigung in Prozent sowie eine Messung des Hämoglobingehaltes, des Flux und der mittleren Geschwindigkeit in beliebigen Einheiten. Der in diesem Versuch vorgenommene Vergleich der beiden Messverfahren hat jedoch wegen der unterschiedlichen Geometrie der verwendeten Applikatoren nur eingeschränkte Aussagekraft. Für einen detaillierten Vergleich der FD-DS Spektroskopie mit anderen Messverfahren sind daher weitere Untersuchungen erforderlich.

Mit der FD-DS Spektroskopie wurde ein Messverfahren entwickelt, das erstmals eine absolute Messung der Sauerstoffsättigung, des Gesamthämoglobingehaltes, des Flux und der mittleren Geschwindigkeit der Erythrozyten in biologischen Geweben bei kompakter Messgeometrie erlaubt. Für ein solches Messverfahren besteht ein großes Anwendungspotenzial in der medizinischen Praxis und Forschung. Als Beispiele seien hier die Messung von Gewebeparametern bei Diabetes-Patienten, das fetale Sauerstoffmonitoring *sub partu* sowie die Therapieüberwachung bei der laserinduzierten interstitiellen Thermotherapie genannt.

Literatur

1. ALV-5000 Multiple Tau Digital Correlator Reference Manual, ALV-Laser Vertriebsgesellschaft m.b.H., Langen, Germany (1993)
2. Arridge S. R., Cope M., Delpy D. T.: "The theoretical basis for the determination of optical pathlengths in tissue: temporal and frequency analysis" *Phys. Med. Biol.* **37**, 1531-1560 (1992)
3. Belcaro G., Laurora G., Cesarone M. R., Gaspari A. L., Errichi B. M., Cotellese R., Ricci A., Marelli C.: "Laser Doppler Flowmetry and Transcutaneous Oximetry Evaluation in Microangiopathic Diabetic Patients Treated with Defibrotide" *Current Therapeutic Research* **45**, 726-732 (1989)
4. Bellini T., Glaser M. A., Clark N. A., Degiorgio V.: "Effects of finite laser coherence in quasielastic multiple scattering" *Phys. Rev. A* **44**, 5215-5223 (1991)
5. Berlien H. P., Müller G.: *Angewandte Lasermedizin – Handbuch für Praxis und Klinik*, ecomed Verlagsgesellschaft mbH, Landsberg (1992), Kapitel 1
6. Berne B. J., Pecora R.: "Basic Light Scattering Theory" in *Dynamic Light Scattering*, John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Totonto (1976) S. 24-37
7. Berne B. J., Pecora R.: "Introduction" in *Dynamic Light Scattering*, John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Totonto (1976) S.3-9
8. Boas D. A., Campbell L. E., Yodh A. G.: "Scattering and Imaging with Diffusing Temporal Field Correlations" *Phys. Rev. Lett.* **75** (9), 1855-1858 (1995)
9. Boas D. A., Yodh A. G.: "Spatially varying dynamical properties of turbid media probed with diffusing temporal light correlation" *J. Opt. Soc. Am. A* **14** (1), 192-214 (1997)
10. Boas D.: *Diffuse Photon Probes of Turbid Media: Theory and Applications*, PhD Thesis, University of Pennsylvania, USA (1996)
11. Bocher T.: *Untersuchungen zur Nutzung von Photonen-Dichtewellen für die Bestimmung der optischen Parameter in stark streuenden Medien*, Dissertation, Freie Universität Berlin (1997)
12. Bohren C. F., Huffmann D. R.: "A Potpourri of Particles" in *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*, John Wiley & Sons, New York (1983) S. 181-223
13. Bohren C. F., Huffmann D. R.: "Absorption and Scattering by a Sphere" in *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*, John Wiley & Sons, New York (1983) S. 82-129

14. Bohren C. F., Huffmann D. R.: "Absorption and Scattering by an Arbitrary Particle" in *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*, John Wiley & Sons, New York (1983) S.57-81
15. Bohren C. F., Huffmann D. R.: "Particles Small Compared with the Wavelength" in *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*, John Wiley & Sons, New York (1983) S. 130-157
16. Bonner R., Nossal R.: "Model for laser Doppler measurements of blood flow in tissue" *Applied Optics* **20**, 2097-2107 (1981)
17. Bronstein I. N., Semendjajew K. A.: *Taschenbuch der Mathematik*, Verlag Harri Deutsch, Thun, Frankfurt/Main (1989), S. 667-668
18. Brown W. (Hrsg.): *Dynamic Light Scattering: The Method and Some Applications*, Claredon, New York (1993)
19. Chance B., Alfano R., Tromberg B. J. (Hrsg.): *Optical Tomography and Spectroscopy of Tissues III*, SPIE Vol. 3597, Bellingham, Washington (1999)
20. Chance B.: "Rapid and sensitive spectrophotometry: A double beam apparatus" *Rev. Sci. Instrum.* **22**, 634-638 (1951)
21. Chandrasekhar S.: "The Equation of Transfer" in *Radiative Transfer*, Dover Publications, New York (1960) S. 1-53
22. Cheong W. F., Prahl, S. A., Welch A. J.: "A Review of the Optical Properties of Biological Tissues", *IEEE J. Quant. Elect.* **26** (12), 2166-2185 (1990)
23. Colin D., Saumet J. L.: "Influence of external pressure on transcutaneous oxygen tension and laser Doppler flowmetry on sacral skin" *Clinical Physiology* **16**, 61-72 (1996)
24. Cope M., Delpy D. T.: "System for long-term measurement of cerebral blood and tissue oxygenation on newborn infants by near infra-red transillumination" *Med. & Biol. Eng. & Comput.* **26**, 289-294 (1988)
25. Cummins H. Z., Swinney H. L.: "Light Beating Spectroscopy" in Wax N. (Hrsg.): *Selected papers on noise and stochastic processes*, Dover Publications, New York (1954) S. 141-154
26. Cussler E. L.: *Diffusion: Mass transfer in fluid systems*, Cambridge University Press (1984) S.118 ff
27. d'Antona D., Aldrich C. J., o'Brien P., Lawrence S., Delpy D. T., Wyatt J. S.: "Recent advances in fetal near infrared spectroscopy" *J. Biomed. Opt.* **2**, 15-21 (1997)
28. Delpy D. T., Cope M., van der Zee P., Arridge S., Wray S., Wyatt J.: "Estimation of optical pathlength through tissue from direct time of flight measurement", *Phys. Med. Biol.* **33**, 1433-1442 (1988)

29. Dougherty G., Lowry J.: "Design and evaluation of an instrument to measure microcirculatory blood flow and oxygen saturation simultaneously" *Journal of Medical Engineering & Technology* **16**, 123-128 (1992)
30. Dougherty R. L., Ackerson B. J., Reguigui N. M., Dorri-Nowkooorani F., Nobbmann U.: "Correlation Transfer: Development and Application" *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer* **52** (6), 713-727 (1994)
31. Driessen G., Rütten W., Inhoffen W., Scheidt H., Heidtmann H.: "Is the laser doppler flow signal a measure of microcirculatory cell flux?" *Int. J. Microcirc. : Clin. Exp.* **9**, 141-161 (1990)
32. Edwards A. D., Brown G. C., Cope M., Wyatt J. S., McCormick D. C., Roth S. C., Delpy D. T., Reynolds E. O. R. "Quantification of concentration changes in neonatal human cerebral oxidized cytochrome oxidase" *J. Appl. Physiol.* **71**, 1907-1913 (1991)
33. Fairs S. L. E.: "Observations of a laser Doppler flowmeter output made using a calibration standard" *Med. & Biol. Eng. & Comput.* **26**, 404-406 (1988)
34. Fantini S., Franceschini M. A., Gratton E.: "Semi-infinite-geometry boundary problem for light migration in highly scattering media: a frequency-domain study in the diffusion approximation" *J. Opt. Soc. Am. A* **11**, 2128-2138 (1994)
35. Fantini S., Franceschini M. A., Maier J. S., Walker S. A., Barbieri B., Gratton E.: "Frequency-domain multichannel optical detector for noninvasive tissue spectroscopy and oxymetry" *Opt. Eng.* **34**, 32-42 (1995)
36. Feng W., Haishu D., Fenghua T., Jun Z., Qing X., Xianwu T.: "Influence of overlying tissue and probe geometry on the sensitivity of a near-infrared tissue oximeter", *Physiol. Meas.* **22**, 201-208 (2001)
37. Fishkin J. B., Coquoz O., Anderson E. R., Brenner M., Tromberg B. J.: "Frequency-domain photon migration measurements of normal and malignant tissue optical properties in human subject" *Appl. Opt.* **36**, 10-20 (1997)
38. Fishkin J., Gratton E.: "Propagation of photon-density waves in strongly scattering media containing an absorbing semi-infinite plane bounded by a straight edge" *J. Opt. Soc. Am. A* **10**, 127-140 (1993)
39. Flatau P. J.: "SCATTERLIB: Light Scattering Codes Library", Scripps Institution of Oceanography, Center for Atmospheric Sciences, University of California, San Diego, <http://atol.ucsd.edu/~pflatau/> (2002)
40. Flock S. T., Jacques S. L., Wilson B. C., Star W. M., van Gemert M. J. C.: "Optical properties of Intralipid: A Phantom Medium for Light Propagation Studies" *Las. Surg. Med.* **12**, 510-519 (1992)
41. Franceschini M. A., Fantini S., Gratton E.: "LEDs in fequency domain spectroscopy of tissues" *Proc. SPIE* **2135**, 300-306 (1994)

42. Franceschini M. A., Gratton E., Fantini S.: "Noninvasive optical method of measuring tissue and arterial saturation: an application to absolute pulse oximetry of the brain" *Opt. Lett.* **24** 829-831 (1999)
43. Franceschini M. A., Gratton E., Hueber D., Fantini S.: "Near-Infrared Absorption and Scattering Spectra of Tissues in vivo" *Proc. SPIE* **3597**, 526-531 (1999)
44. Furutsu K.: "Diffusion equation derived from space-time transport equation," *J. Opt. Soc. Am.* **70**, 360-366 (1980)
45. Goldbach, T.: *Grundlegende Untersuchungen zur Bestimmung der optischen Eigenschaften biologischer Gewebe*, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Cuvillier Verlag, Göttingen (1997) S.44 f
46. Grote J.: "Gewebsatmung" in Schmidt R. F., Thewes G. (Hrsg.): *Einführung in die Physiologie des Menschen*, 18. Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1976) S. 507-518
47. Haaland D. M., Ries Robinson M., Koepf G. W., Thomas E. V., Eaton R. P.: "Reagentless Near-Infrared Determination of Glucose in Whole Blood Using Multivariate Calibration" *Applied Spectroscopy* **46**, 1575-1578 (1992)
48. Haaland D. M., Thomas E. V.: "Partial Least-Squares Methods for Spectral Analyses. 1. Relation to Other Quantitative Methods and the Extraction of Qualitative Information" *Analyt. Chem.* **60**, 1193-1202 (1988)
49. Haaland D. M., Thomas E. V.: "Partial Least-Squares Methods for Spectral Analyses. 2. Application to Simulated and Glass Spectral Data" *Analyt. Chem.* **60**, 1202-1208 (1988)
50. Harrison D. K., Evans S. D., Abbot N. C., Beck J.S., McCollum P.T.: "Spectrophotometric measurements of haemoglobin saturation and concentration in skin during the tuberculin reaction in normal human subjects" *Clin. Phys. Physiol. Meas.* **13**, 349-363 (1992)
51. Haskell R. C., Svaasand L. O., Tsay T. T., Feng T. C., McAdams M. S., Tromberg B. J.: "Boundary conditions for the diffusion equation in radiative transfer" *J. Opt. Soc. Am. A* **11**, 2727-2741 (1994)
52. Henyey L. G., Greenstein J. L.: "Diffuse Radiation in the Galaxy" *Astrophys. J.* **93**, 70-83 (1941)
53. Hiraoka M., Firbank M., Essenpreis M., Cope M., Arridge S. R., van der Zee P., Delpy D. T.: "A Monte Carlo investigation of optical pathlength in inhomogeneous tissue and its application to near-infrared spectroscopy" *Phys. Med. Biol.* **38**, 1859-1876 (1993)
54. Hueber D. M., Franceschini M. A., Ma H. Y., Zhang Q., Ballesteros J. R., Fantini S., Wallace D., Ntziachristos V., Chance B.: "Non-invasive and quantitative near-infrared haemoglobin spectrometry in the piglet brain during hypoxic stress, using a frequency-domain multidistance instrument" *Phys. Med. Biol.* **46**, 41-62 (2001)

55. Ishimaru A.: "Diffusion Approximation" in *Wave propagation and scattering in random media*, Academic Press, New York, San Francisco, London (1978) S. 175-190
56. Jacques S. L. : "Skin Optics", Oregon Medical Laser Center, <http://omlc.ogi.edu/news/jan98/skinoptics.html> (1999)
57. Jacques S. L., McAuliffe D. J.: "The melanosome: threshold temperature for explosive vaporization and internal absorption coefficient during pulsed laser irradiation" *Photochem. Photobiol.* **53**, 769-775 (1991)
58. Jacques S. L.: "Time-Resolved Reflectance Spectroscopy in Turbid Tissues" *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* **36**, 1155-1161 (1989)
59. Jakeman E.: "Photon Correlation" in Cummins H. Z., Pike E. R. (Hrsg.): *Photon Correlation and Light Beating Spectroscopy*, Plenum Press, New York, London (1974) S.75-150
60. Koelink M. H., de Mul F. F. M., Leerkotte B., Greve J., Jentink H. W., Graaf R., Dassel A. C. M., Aarnoudse J. G.: "Signal Processing for a Laser Doppler Perfusion Meter" in Koelink M. H.: *Direct-contact and self-mixing laser Doppler blood flow velocimetry*, CIP-Data Koninklijke Bibliotheek, Den Haag (1993) S. 47-71
61. Kurth C. D., Liu H., Thayer W. S., Chance B.: "A dynamic phantom brain model for near-infrared spectroscopy" *Phys. Med. Biol.* **40**, 2079-2092 (1995)
62. Larsson M., Steenbergen W., Strömberg T.: "Influence of optical properties and fiber separation on laser doppler flowmetry" *J. Biomed. Opt.* **7**, 236-243 (2002)
63. LEA Medizintechnik: "O2C OXYGEN TO SEE" <http://www.lea.de/deu/indexd.html> (2001)
64. Lin L., Niwayama M., Shiga T., Kudo N., Takahashi M., Yamamoto K.: "Influence of a fat layer on muscle oxygenation measurement using near-IR spectroscopy: quantitative analysis based on two-layered phantom experiments and Monte Carlo simulation" *Frontiers Med. Biol. Engng.* **10**, 43-58 (2000)
65. Madsen P. L., Secher N. H.: "Near-Infrared Oximetry Of The Brain" *Progress in Neurobiology* **58**, 541-560 (1999)
66. Madsen S. J., Anderson E. R., Haskell R. C., Tromberg B. J.: "Portable, high-bandwidth frequency-domain photon migration instrument for tissue spectroscopy" *Opt. Lett.* **19**, 1934-1937 (1994)
67. Madsen S. J., Wilson B. C., Patterson M. S., Park Y. D., Jacques S. L., Hefetz Y.: "Experimental tests of a simple diffusion model for the estimation of scattering and absorption coefficients of turbid media from time-resolved diffuse reflectance measurements" *Appl. Opt.* **31**, 3509-3517 (1992)

68. Maret G., Wolf P. E.: "Multiple Light Scattering from Disordered Media. The Effect of Brownian Motion of Scatterers" *Z. Phys. B – Condensed Matter* **65**, 409-413 (1987)
69. Matcher S. J., Elwell C. E., Cooper C. E., Cope M., Delpy D. T.: "Performance Comparison of Several Published Tissue Near-Infrared Spectroscopy Algorithms" *Analytical Biochemistry* **227**, 54-68 (1995)
70. Meglinsky I. V., Matcher S. J.: "Modeling the sampling volume for skin blood oxygenation measurements" *Med. & Biol. Eng. & Comput.* **39**, 44-50, (2001)
71. Mendelson Y.: "Pulse Oximetry: Theory and Applications for Noninvasive Monitoring", *Clin. Chem.* **38** (9), 1601-1607 (1992)
72. Middleton P. M., Henry J. A.: "Pulse oxymetry: evolution and directions" *Int. J. Clin. Pract.* **54**, 438-444 (2000)
73. Mie G.: "Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloider Metallösungen" *Ann. Phys.* **IV**, 377-445 (1908)
74. Millikan G. A.: "Oximeter, instrument for measuring continuously oxygen saturation of arterial blood in man" *Rev. Sci. Instrum.* **13**, 434 (1942)
75. Morris S. J., Shore A. C., Tooke J. E.: "Responses of the skin microcirculation to acetylcholine and sodium nitroprusside in patients with NIDDM" *Diabetologia* **38**, 1337-1344 (1995)
76. Newton D. J., Harrison D. K., Delaney C. J., Beck J. S., Mc Collum P. T.: "Comparison of macro- and micro-lightguide spectrophotometric measurements of microvascular haemoglobin oxygenation in the tuberculin reaction in normal human skin" *Physiol. Meas.* **15**, 115-128 (1994)
77. Niedrig H. (Hrsg.): *Bergmann · Schäfer, Lehrbuch der Experimentalphysik, Optik*, Band 3, 9. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin, New York (1993), S. 256 ff
78. Niedrig H. (Hrsg.): *Bergmann · Schäfer, Lehrbuch der Experimentalphysik, Optik*, Band 3, 9. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin, New York (1993), S. 466 ff
79. Niemz M. H.: "Medical Applications of Lasers" in *Laser-Tissue Interactions – Fundamentals and Applications*, Springer-Verlag, Berlin (1996) S.149-241
80. Nishimura G., Katayama K., Knijo M., Tamura M.: "Diffusing-wave absorption spectroscopy in homogenous turbid media" *Optics Communications* **128**, 99-107 (1996)
81. Obeid A. N., Barnett N. J., Dougerthy G., Ward G.: "A critical review of laser Doppler flowmetry" *Journal of Medical Engineering & Technology* **14** 178-181 (1990)
82. Odland G. F.: "Structure of the Skin" in Goldsmith L. A. (Hrsg.): *Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin*, Second Edition, Oxford University Press, New York, Oxford (1991) S. 3 ff

83. Patterson M. S., Chance B., Wilson B. C.: "Time resolved reflectance and transmittance for the non-invasive measurement of tissue optical properties" *Appl. Opt.* **28**, 2331-2336 (1989)
84. Patterson M. S., Moulton J. D., Wilson B. C., Berndt K. W., Lakowicz J. R.: "Frequency-domain reflectance for the determination of the scattering and absorption properties of tissues" *Appl. Opt.* **30**, 4474-4476 (1991)
85. Pickering J. W., Prahl S. A., van Wieringen N., Beeck J. F., Sterenborg H. J. C. M., van Gemert M. J. C.: "Double integrating sphere system for measuring the optical properties of tissue" *Appl. Opt.* **32**, 399-410 (1993)
86. Pine D. J., Weitz D. A., Chaikin P. M., Herbolzheimer E.: "Diffusing-wave spectroscopy" *Phys. Rev. Lett.* **60**, 1134-1137 (1988)
87. Pine D. J., Weitz D. A., Zhu J. X., Herbolzheimer E.: "Diffusing-wave spectroscopy: dynamic light scattering in the multiple scattering limit" *J. Phys. France* **51**, 2101-2127 (1990)
88. Prahl S. A.: "Optical Absorption of Hemoglobin", Oregon Medical Laser Center, <http://omlc.ogi.edu/spectra/hemoglobin/index.html> (2001)
89. Prahl S. A.: "Optical Phantoms", Oregon Medical Laser Center, <http://omlc.ogi.edu/classroom/phantom/> (1998)
90. Press W. H., Teukolsky S. A., Vetterling W. T., Flannery B. P.: "Modified Bessel Functions of Integer Order" in [94], S. 236-240
91. Press W. H., Teukolsky S. A., Vetterling W. T., Flannery B. P.: "Improper Integrals" in [94], S. 141-147
92. Press W. H., Teukolsky S. A., Vetterling W. T., Flannery B. P.: "Downhill Simplex Method in Multidimensions" in [94], S. 408-412
93. Press W. H., Teukolsky S. A., Vetterling W. T., Flannery B. P.: "Series and Their Convergence" in [94], S. 165-166
94. Press W. H., Teukolsky S. A., Vetterling W. T., Flannery B. P.: *Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing*, 2. Auflage, Cambridge University Press (1992)
95. Quaresima V., Springett R., Cope M., Wyatt J. T., Delpy D. T., Ferrari M., Cooper C. E.: "Oxydation and reduction of cytochrome oxidase in the neonatal brain observed by in vivo near-infrared spectroscopy" *Biochimica et Biophysica Acta* **1366**, 291-300 (1998)
96. Roggan A., Beuthan J., Schröder S., Müller G.: "Diagnostik und Therapie mit dem Laser" *Physikal. Bl.* **55**, 25-30 (1999)
97. Roggan A., Friebel M., Dörschel K., Hahn A., Müller G.: "Optical Properties of Circulating Human Blood" *Proc. SPIE* **3252**, 70-83 (1998)

98. Roggan A., Minet O., Schröder C., Müller G. J.: "Determination of optical tissue properties with double integrating sphere technique and Monte Carlo simulations" *Proc. SPIE* **2100**, 42-56 (1994)
99. Roggan A.: *Dosimetrie thermischer Laseranwendungen in der Medizin: Untersuchung der optischen Gewebeeigenschaften und physikalisch-mathematische Modellentwicklung*, ecomed Verlag, Landsberg/Lech (1997) S. 203
100. Roggan A.: *Dosimetrie thermischer Laseranwendungen in der Medizin: Untersuchung der optischen Gewebeeigenschaften und physikalisch-mathematische Modellentwicklung*, ecomed Verlag, Landsberg/Lech (1997) S. 45 ff
101. Royston D. D., Poston R. S., Prahl S. A.: "Optical Properties of Scattering and Absorbing Materials used in the Development of Optical Phantoms at 1064 nm" *J. Biomed. Opt.* **1**, 110-116 (1996)
102. Ryan T. R.: "Cutaneous Circulation" in Goldsmith L. A. (Hrsg.): *Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin*, Second Edition, Oxford University Press, New York, Oxford (1991) S.1019 ff
103. Saidi I. S., Jacques S. L., Tittel K. F.: "Mie and Rayleigh modeling of visible-light scattering in neonatal skin" *Appl. Opt.***34**, 7410-7418 (1995)
104. Saidi I. S.: *Transcutaneous optical measurement of hyperbilirubinemia in neonates*, PhD Thesis, Rice University, Houston, USA (1992)
105. Schätzel K., Drewel M., Stimac S.: "Photon correlation measurements at large lag times: improving statistical accuracy" *Journal of Modern Optics* **35**, 711-718 (1988)
106. Schätzel K.: "Correlation Techniques in Dynamic Light Scattering" *Appl. Phys. B* **42**, 193-213 (1987)
107. Schiebler T. H., Peiper U., Schneider F.: *Histologie*, 2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin (1986), S. 370 ff
108. Simpson C. R., Kohl M., Essenpreis M., Cope M.: "Near-infrared optical properties of ex vivo human skin and subcutaneous tissues measured using the Monte Carlo inversion technique", *Phys. Med. Biol.* **43**, 2465-2478 (1998)
109. Sinex J. E.: "Pulse oximetry: principles and limitations" *Am. J. Emerg. Med.* **17**, 59-67 (1999)
110. Skipetrov S. E., Meglinskii I. V.: "Diffusing-wave spectroscopy in randomly inhomogenous media with spatially localized scatterer flows" *Journal of Experimental and Theoretical Physics* **86**, 661-665 (1998)
111. Smits G. J., Roman R. J., Lombard J. H.: "Evaluation of laser-Doppler flowmetry as a measure of tissue blood flow" *J. Appl. Physiol.* **62** (2), 666-672 (1986)

112. Soelkner G., Mitic G., Lohwasser R.: "Monte Carlo simulations and laser Doppler flow measurements with high penetration depth in biological tissuelike head phantims" *Appl. Opt.* **36**, 5647-5654 (1997)
113. Soubani A. O.: "Noninvasive monitoring of oxygen and carbon dioxide" *Am. J. Emerg. Med.* **19**, 141-146 (2001)
114. Stenn K. S.: "The Skin" in Weiss L. (Hrsg.): *Cell and Tissue Biology, A Textbook of Histology*, Sixth Edition, Urban und Schwarzenberg, Baltimore, Munich (1988), S.539 ff
115. Stern M. D.: "In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering" *Nature* **254**, 56-58 (1975)
116. Stevens M. J., Edmonds M. E., Foster A. V. M., Douglas S. L. E., Watkins P. J.: "Paradoxical Blood Flow Responses in the Diabetic Neuropathic Foot: an Assesment of the Contribution of Vascular Denervation and Microangiopathy" *Diabetic Medicine* **9**, 49-54 (1992)
117. Stöcker H. (Hrsg.): *Taschenbuch der Physik*, 2. Auflage, Verlag Harri Deutsch, Frankfurt am Main (1994)
118. Sturesson C., Ivarsson K., Anderson-Engels S., Tranberg K. G.: "Changes in Local Hepatic Blood Perfusion During Interstitial Laser-Induced Thermotherapy of Normal Rat Liver Measured by Interstitial Laser Doppler Flowmetry" *Lasers Med. Sci.* **14**, 143-149 (1999)
119. Sukowski U., Schubert F., Grosenick D., Rinneberg H.: "Preparation of solid phantoms with defined scattering and absorption properties for optical tomography" *Phys. Med. Biol.* **41**, 1823-1844 (1996)
120. Terenji A.: *Bestimmung optischer Eigenschaften trüber Medien mit Hilfe der Frequency-Domain Technik*, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf (1999)
121. Thewes G.: "Atemgastransport und Säure-Basen-Status des Blutes" in Schmidt R. F., Thewes G. (Hrsg.): *Einführung in die Physiologie des Menschen*, 18. Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1976) S. 487 ff
122. Tromberg B. J., Svaasand L. O., Tsay T. T., Haskell R. C.: "Properties of photon density waves in multiple-scattering media" *Appl. Opt.* **32**, 607-616 (1993)
123. Tsuchiya Y., Urakami T.: "Photon migration model for turbid biological medium having various shapes" *Jpn. J. Appl. Phys.* **34**, 79-81 (1995)
124. Tsuchiya Y., Urakami T.: "Quantification of absorbing substances in turbid media such as human tissue based on the microscopic Beer-Lambert law" *Opt. Comm.* **144**, 269-280 (1997)
125. Ulbricht R.: "Die Bestimmung der mittleren räumlichen Lichtintensität durch nur eine Messung" *Electrotech. Z.* **21**, 595-597 (1900)

126. van der Zee P., Cope M., Arridge S. R., Essenpreis M., Potter L. A., Edwards A. D., Wyatt J. S., McCormick D. C., Roth S. C., Reynolds E. O. R., Delpy D. T.: "Experimentally Measured Optical Pathlengths for the Adult Head, Calf and Forearm and the Head of the Newborn Infant as a Function of Inter Optode Spacing" in *Oxygen Transport to Tissue XIII*, Plenum Press, New York (1992), S. 143-153
127. van Gemert M. J. C., Jacques S. L., Sterenborg H. J. C. M., Star W. M.: "Skin Optics" *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **36**, 1146-1154 (1989)
128. van Staveren H. J., Moes C. J. M., van Marle J., Prahl S. A., van Gemert M. J. C.: "Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400-1100 nm" *Appl. Opt.* **30**, 4507-4514 (1991)
129. Vogel H.: "Mechanik deformierbarer Körper" in *Gerthsen Physik*, 19. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg (1997), S. 93-140
130. Wang L., Jacques S. L., Zheng L.: "MCML – Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues" *Computer Methods and Programs in Biomedicine* **47**, 131-146 (1995)
131. Weiss C.: "Funktion des Blutes" in Schmidt R. F., Thewes G. (Hrsg.): *Einführung in die Physiologie des Menschen*, 18. Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1976), S. 318-345
132. Williams I. M., Mortimer A. J., Mc Collum C. N.: "Recent Developments in Cerebral Monitoring – Near infrared Light Spectroscopy. An Overview" *Eur. J. Vas. Endovasc. Surg.* **12**, 263-271 (1996)
133. Willmann S., Schwarzmaier H. J., Terenji A., Yaroslavsky I. V., Hering P.: "Quantitative Microspectrophotometry in turbid media" *Appl. Opt.* **38**, 4904-4913 (1999)
134. Willmann S., Terenji A., Osterholz J., Hering P., Schwarzmaier H. J.: "Small Volume Frequency-Domain Oximetry: Phantom Experiments and first *in vivo* Results" *J. Biomed. Opt.* (submitted 2002)
135. Willmann S., Terenji A., Osterholz J., Schwarzmaier H. J., Hering P.: "Absolute absorber quantification in turbid media at small source-detector separations", *Appl. Phys. B* **74**, 589-595 (2002)
136. Willmann S.: *Streulichtspektroskopie mit Hilfe von Photonendichtewellen*, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf (1999)
137. Witzleb E.: "Funktionen des Gefäßsystems" in Schmidt R. F., Thewes G. (Hrsg.): *Einführung in die Physiologie des Menschen*, 18. Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1976) S. 386 ff

138. Wolf M., von Siebenthal K., Keel M., Dietz V. Baenziger O., Bucher U.: "Comparison of three methods to measure absolute cerebral hemoglobin concentration in neonates by near-infrared spectrophotometry" *J. Biomed. Opt.* **7**, 221-227 (2002)
139. Wu X. L., Pine D. J., Chaikin P. M., Huang J. S., Weitz D. A.: "Diffusing-wave spectroscopy in a shear flow" *J. Opt. Soc. Am. B* **7** (1), 15-20 (1990)
140. Yaroslavsky A. N., Yaroslavsky I. V., Goldbach T., Schwarzmaier H. J.: "Influence of the Scattering Phase Function Approximation on the Optical Properties of Blood Determined from the Integrating Sphere Measurements" *J. Biomed. Opt.* **4**, 47-53 (1999)
141. Yaroslavsky I. V., Terenji A., Willmann S., Yaroslavsky A. N., Busse H., Schwarzmaier H.-J.: "Small-Volume Tissue Spectroscopy using Photon-Density Waves: Apparatus and Technique" *Proc. SPIE* **3597**, 465-473 (1999)
142. Yaroslavsky I. V., Yaroslavsky A. N., Goldbach Th., Schwarzmaier H.-J.: "Inverse hybrid technique for determining the optical properties of turbid media from integrating-sphere measurements" *Appl. Opt.* **35**, 6797-6809 (1996)
143. Yaroslavsky I. V., Yaroslavsky A. N., Schwarzmaier H.-J., Akchurin G. G., Tuchin V. V.: "New approach to Monte Carlo simulation of photon transport in the frequency-domain" *Proc. SPIE* **2626**, 45-54 (1995)
144. Yoo K. M., Liu F., Alfano R. R.: "When does the diffusion approximation fail to describe photon transport in random media ?" *Phys. Rev. Lett.* **64**, 2647-2650 (1990)
145. Yoshiya I., Shimada Y., Tanaka K.: "Spectrophotometric monitoring of arterial oxygen saturation in the fingertip", *Med. Biol. Eng.* **18**, 27-32 (1980)
146. Zhang H., Miwa M., Yamashita Y., Tsuchiya Y.: "Quantitation of absorbers in turbid media using time-integrated spectroscopy based on microscopic Beer-Lambert law" *Jpn. J. Appl. Phys.* **37**, 2724-2727 (1998)
147. Zhang H., Urakami T., Tsuchiya Y., Lu Z., Hiruma T.: "Time integrated spectroscopy of turbid media based on the microscopic Beer-Lambert law: application to small phantoms having different boundary conditions" *J. Biomed. Opt.* **4**, 183-190 (1999)
148. Zhang S., Soller B. R., Micheels R. H.: "Partial Least-Squares Modeling of Near-Infrared Reflectance Data for Noninvasive *in Vivo* Determination of Deep-Tissue pH" *Applied Spectroscopy* **52**, 400-406 (1997)

Anhang

Eigene Publikationen

- Terenji A., Willmann S., Osterholz J., Hering P., Schwarzmaier H. J.: „Measurement of the coagulation dynamic of bovine liver using the modified microscopic Beer-Lambert law” *Las. Surg. Med.* (in Vorbereitung 2002)
- Willmann S., Terenji A., Osterholz J., Meister J., Hering P., Schwarzmaier H. J.: „Small Volume Frequency-Domain Oximetry: Phantom Experiments and first *in vivo* Results“ *J. Biomed. Opt.* (eingereicht Mai 2002)
- Willmann S., Terenji A., Osterholz J., Schwarzmaier H. J., Hering P.: „Absolute absorber quantification in turbid media at small source-detector separations“ *Appl. Phys. B* **74**, 589-595 (2002)
- Osterholz J., Willmann S., Terenji A., Schwarzmaier H. J., Hering P.: „Messung von Gewebeparametern mittels Frequency-Domain- und dynamischer Streulicht-Spektroskopie“, *Verhandl. DPG (VI)* **37**, 131 (2002)
- Osterholz J., Schwarzmaier H. J., Hering P.: „Influence of the Erythrocyte Concentration on Laser Doppler Flow Measurement of Tissue Perfusion using Phantoms“ *Verhandl. DPG (VI)* **36**, 231-232 (2001)
- Osterholz J., Willmann S., Terenji A., Schwarzmaier H. J., Hering P.: „Medizinische Anwendungen der on-line Bestimmung optischer Eigenschaften von biologischen Geweben bei kompakter Messgeometrie“ *Verhandl. DPG (VI)* **35**, 1067-1068 (2000)
- Osterholz J., Willmann S., Terenji A., Hering P.: „Laser as a diagnostic tool: on-line monitoring of physiological processes“, Vortrag, Symposium on Cellular Engineering, Aachen, 16. Februar 2000
- Osterholz J., Terenji A., Willmann S., Schwarzmaier H. J., Hering P.: „On-line Gewebedifferenzierung und Stoffwechselmonitoring – Standardisierte Bestimmung optischer Konstanten“, Poster, Norddeutscher Lasertag, Hamburg, 8. Dezember 1999

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Instituts für Lasermedizin für die freundliche Atmosphäre, die gute Zusammenarbeit und die ständige Diskussionsbereitschaft während der Durchführung dieser Arbeit bedanken.

Mein besondere Dank gilt Herrn Prof. Dr. P. Hering, der die Betreuung der Arbeit übernommen hat und stets als Ansprechpartner zur Verfügung stand. Herrn Prof. Dr. K. Schierbaum und Herrn Prof. Dr. D. Schmid vom Institut für Physik der kondensierten Materie möchte ich für die Übernahme des Koreferats danken. Mein Dank gilt auch Herrn Priv.-Doz. Dr. H. J. Schwarzmaier und Herrn Prof. Dr. R. Bayer, die mir als ständige Diskussionspartner bei medizinischen Fragestellungen zur Seite standen.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Dr. Stefan Willmann und Herrn Dr. Albert Terenji bedanken, die als Mitglieder der Arbeitsgruppe wertvolle Anregungen bei der Planung und Durchführung des Projektes beigetragen haben.

Herrn Dipl.-Ing. A. Rood danke ich für die Unterstützung bei der Anfertigung elektronischer Schaltungen. Mein Dank gilt auch Herrn B. Münstermann für die Konstruktion diverser mechanischer Komponenten.

Herrn Dr. A. Stirban vom deutschen Diabetes-Forschungsinstitut Düsseldorf danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der in vivo Messung von Gewebeparametern.

Den Mitarbeitern des Zentrallabors des Universitätsklinikums Düsseldorf danke ich für die Anfertigung von Blutbildern.

Der Firma Reichhold danke ich für die kostenlose Überlassung von Epoxyharz und Härter zur Herstellung von Festkörperphantomen.

Für die Hilfe bei der Überarbeitung des Manuskriptes möchte ich mich bei Frau S. Berger, Frau I. Wegling und Herrn Dr. T. Mitra bedanken.

Schließlich möchte ich mich bei meiner Frau Stephanie und meiner Familie bedanken, die durch ihre persönliche Unterstützung während des Studiums und während der Anfertigung dieser Dissertation zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Diese Arbeit wurde erstellt im Rahmen des Teilprojektes „Standardisierte Bestimmung optischer Konstanten“ des Forschungsverbundes „Online Stoffwechselmonitoring und Gewebedifferenzierung“, das vom Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie gefördert wurde (Förderkennzeichen BMBF 13N7076/2).