

***In vivo* Untersuchungen von Gewebe
durch Detektion diffusen Lichtes im
sichtbaren und nahen infraroten
Spektralbereich**

Diploma paper
by
Daniela Heinrich

Lund Reports on Atomic Physics, LRAP-196
Lund, March 1996

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	3
2	THEORIE	6
2.1	Die Physik der Wechselwirkung von Strahlung mit Gewebe	6
2.1.1	Streuung und Brechung	7
2.1.2	Absorption	9
2.1.3	Die Phasenfunktion der Streuung	11
2.2	Theorie zur Strahlungsausbreitung in Gewebe	13
2.2.1	Die Transportgleichung	13
2.2.2	Die Diffusionsnäherung	15
2.2.3	Die Monte Carlo Methode	18
2.2.4	Das Photonenwanderungsmodell	23
2.3	Optische Eigenschaften von Gewebe	26
3	TRANSMISSIONSEXPERIMENT ZUR BESTIMMUNG DES SAUERSTOFFGEHALTES VON BLUT	28
3.1	Medizinischer Hintergrund	28
3.2	Experimenteller Aufbau	30
3.2.1	Die Meßanordnung	31
3.2.2	Ablauf einer Messung	34
3.3	Ergebnisse der Messungen	35
3.4	Schlußfolgerungen	42
4	DIFFUSE REFLEXIONSMESSUNGEN ZUR UNTERSUCHUNG VON PORTWEINMALEN	44
4.1	Medizinischer Hintergrund	44
4.2	Experimenteller Aufbau	46
4.2.1	Die Meßanordnung	47
4.2.2	Ablauf einer Messung	49

4.3 Zuverlässigkeit der Methode	50
4.3.1 Phantommessungen	51
4.3.2 Diskussion	54
4.4 Messung an menschlicher Haut	57
4.4.1 Melaninkonzentration	57
4.4.2 Absorption des Blutes	59
4.4.3 Rötungsgrad der Haut	62
4.4.4 Zusammenfassung	64
4.5 Simulationen	65
4.5.1 Das Simulationsprogramm	65
4.5.2 Simulationen und Ergebnisse	66
4.5.3 Diskussion und Vergleich mit Meßergebnissen	73
5 ZUSAMMENFASSUNG	75
LITERATURVERZEICHNIS	77

1 EINLEITUNG

Die Idee, Licht für medizinische Zwecke zu verwenden, ist sehr alt. Schon vor 3000 Jahren wurden Pflanzenextrakte zur Erhöhung der Lichtempfindlichkeit der Haut verwendet, um in Verbindung mit Sonnenstrahlung pigmentelle Veränderungen der Haut zu behandeln [1]. Zwei Beispiele aus diesem Jahrhundert für die Anwendung von Licht in zur Diagnose und Behandlung sind die Durchleuchtung von Gewebe zur Auffindung von Brustkrebstumoren (erstmalig 1929) [2] und die ersten Behandlungen von Hauterkrankungen mit Hilfe von ultraviolettem Licht zu Beginn des Jahrhunderts [3]. Seit der Erfindung des Lasers (1960) sind viele weitere Anwendungsbereiche hinzugekommen.

Bei der Verwendung von Licht im oder nahe des sichtbaren Bereiches zur Behandlung macht man sich die Absorption des Lichtes in Gewebe zunutze, welche verschiedene Effekte mit sich bringt. Diese werden in photochemische Effekte, thermische Effekte und elektomechanische Effekte eingeteilt. Die Veränderungen in Gewebe bei der Bestrahlung mit Licht sind bestimmt durch die Bestrahlungsstärke (J/cm^2) und die Impulsdauer (s). Der Kohlendioxidlaser ist ein Beispiel für einen Laser in medizinischer Anwendung, dessen Wirkungsweise auf thermischen Effekten im Gewebe beruht. Im kontinuierlichen Betrieb wird er in der Laserchirurgie zum Entfernen von Gewebe verwendet. Der Vorteil im Vergleich zur herkömmlichen Chirurgie besteht darin, daß die erreichten Temperaturen im Gewebe bei 80 °C bis 100 °C liegen, so daß Wasser verdampft wird und zerstörte Blutgefäße durch thermische Gerinnungseffekte verschlossen werden. Laser werden noch in vielen anderen medizinischen Bereichen, wie der Augenheilkunde, der Gynäkologie, der Dermatologie, der Onkologie und der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde zur Behandlung eingesetzt.

Die Anwendung von Licht zur Diagnose hat eine Reihe von Vorteilen. Auf das Entnehmen von Gewebeprobe kann verzichtet werden, es werden Echtzeitdaten erhalten und Information ist *in vivo* verfügbar. Darüber hinaus ist die Strahlung nicht ionisierend.

Ein Beispiel für die Anwendung von Laserlicht in der Diagnose ist die Messung der Dopplerverschiebung der Lichtfrequenz bei der Streuung an sich bewegenden Blutzellen zur Bestimmung des Blutflusses. Die elastische Streuungs-Spektroskopie (ESS, elastic-scattering spectroscopy) und die Reflexionsspektroskopie sind Diagnosemethoden die kontinuierliche Lichtquellen verwenden. Beispielsweise wird die Reflexionspektroskopie zur Erkennung von Hautkrebs verwendet. Hierbei werden die Streu- und Absorptionseigenschaften von Gewebe über einen weiten Bereich von Wellenlängen untersucht, im Gegensatz zur Betrachtung einzelner ausgewählter Wellenlängen wie bei der Laserspektroskopie. Die Vorteile des Aufnehmens eines breiten Spektrums liegen darin, daß die gesuchten Parameter weniger abhängig von Variationen zwischen verschiedenen Personen sind und daß dem Spektrum mehr Information entnommen werden kann.

In den in dieser Arbeit beschriebenen Experimenten werden zwei Möglichkeiten der Verwendung kontinuierlichen Lichtes im sichtbaren bis nahen infraroten Wellenlängenbereich zur Diagnose untersucht. Es handelt sich dabei um die Bestimmung des Sauerstoffgehaltes in Blut und die Lagebestimmung einer krankhaften Hautveränderung, dem Portweinmal.

Hierzu wird in Kapitel 2 zunächst auf die optischen Eigenschaften von menschlichem Gewebe eingegangen und die Theorie zur Beschreibung der Lichtausbreitung in biologischem Gewebe vorgestellt.

Kapitel 3 behandelt Experimente zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes in Blut mit Hilfe der Transmission von kontinuierlichem Licht durch die Fingerspitzen verschiedener Personen. Dabei wurden Unterschiede in der Absorption von Hämoglobin im Sauerstoff-beladenen und Sauerstoff-freien Zustand im Spektrum zwischen 700 nm und 900 nm genützt. Den erhaltenen Transmissionsspekten konnten unter Verwendung einer modifizierten Form des Lambert-Beerschen Gesetzes grundsätzlich die gesuchten Informationen entnommen werden. Die Methode bedarf allerdings noch einiger Verbesserungen.

In Kapitel 4 werden Untersuchungen zur Lage und Struktur eines Portweinmals in der Haut vorgestellt. Hierfür wurden unter Verwendung einer Ulbrichtkugel diffuse Reflexionsspektren im Wellenlängenbereich von 460 nm bis 700 nm aufgenommen. Im ersten Schritt wurden Messungen an Phantomen zur Überprüfung der Meßanordnung durchgeführt. Anschließend wurde die Rückstreuung von Licht an

gesunder menschlicher Haut und Haut mit Portweinmalen untersucht und die Unterschiede quantifiziert. Zusätzlich wurden Monte Carlo Simulationen zu einem Modell der Haut mit Portweinmal durchgeführt. So konnte die Empfindlichkeit von Rückstreuenspektren für Variationen in Tiefe und Dicke des Portweinmals untersucht werden. Anhand der erhaltenen Meßergebnisse und durch Vergleich mit Simulationsergebnissen werden die Anwendungsmöglichkeiten der Methode diskutiert.

2 THEORIE

2.1 Die Physik der Wechselwirkung von Strahlung mit Gewebe

Zur Anwendung von Strahlung des Ultravioletten bis nahen Infraroten in medizinischer Behandlung und Diagnose benötigt man das Verständnis der verschiedenen Wechselwirkungen von Licht mit menschlichem Gewebe.

Ganz allgemein kann Strahlung in biologischen Objekten aufgrund von lokalen Änderungen des Brechungsindex im Gewebe gestreut werden, es kann von Molekülen absorbiert oder an Gewebeoberflächen reflektiert werden. Jeder dieser Prozesse liefert Informationen über die Mikro- und Makrostruktur des Mediums, sowie über die Bewegung und Form der Bestandteile.

Die Art der Wechselwirkung hängt stark von der Wellenlänge ab. Strahlung sehr hoher Energie (Gamma- und Röntgenstrahlung) kann alle Atome und Moleküle, die in biologischer Materie in komplexer Weise organisiert sind, ionisieren. Die Wechselwirkung hängt nicht mit den chemischen Bindungsverhältnissen der Molekülsysteme zusammen. Auch können Bindungen in Molekülen aufgebrochen werden.

Strahlung sehr geringer Energie dagegen (fernes Infrarot, Mikrowellen und Radiowellen) können eine selektive Wirkung auf bestimmte Moleküle haben. Sie kann die Anregung von niederfrequenten Molekülschwingungen, von Rotationszuständen, von mechanischen Schwingungen von Makromolekülen oder von akustischen Schwingungen in Zellmembranen hervorrufen. Diese Anregungen sind jedoch meist von thermischen Effekten überlagert.

Optische Strahlung, vom Ultravioletten (UV) bis zum Infraroten (IR), hat mehr molekülspezifische Wechselwirkungen mit biologischem Gewebe [4-6]. In der hier vorgestellten Arbeit wird Strahlung im sichtbaren bis nahen infraroten Wellenlängenbereich behandelt. Für diese wird der Begriff Licht verwendet werden.

2.1.1 Streuung und Brechung

Es soll nun genauer auf die Wechselwirkungen von Licht mit menschlichem Gewebe eingegangen werden. Durch Coulombwechselwirkung (elektrische Dipolnäherung) kommt es zu Streuung, Reflektion und Absorption.

Bei Streuprozessen unterscheidet man zwischen elastischer und inelastischer **Streuung**. Für Photonen im sichtbaren Wellenlängenbereich kann die Streuung im Gewebe als elastisch angenommen werden, da der Streuquerschnitt für inelastische Streuung sehr klein ist. Dabei kann man weiter unterscheiden zwischen der Streuung an kleinen Teilchen, mit $d \leq 0,1\lambda$ (Rayleigh-Streuung) und an großen Teilchen mit $d \geq \lambda$ (Mie-Streuung), wobei d die Teilchengröße bezeichnet und λ die Wellenlänge.

Die Wahrscheinlichkeit für Rayleigh-Streuung ist proportional zu λ^{-4} . Die Mie-Streuung ist dagegen nur schwach wellenlängenabhängig. Weiter ist die Streuleistung (die aus dem Primärstrahl herausgestreute Intensität) für Rayleigh-Streuung proportional zu d^6 . Die Streuleistung für Mie-Streuung ist stark abhängig von optischen Stoffeigenschaften, Richtung und Raumwinkel und ist ungefähr proportional zu d^2 .

Die Intensität der **Reflexion** an Grenzübergängen zwischen Medien mit verschiedenen Brechungsindizes ist stark abhängig vom Unterschied der Brechungsindizes. Aber auch der Einfallswinkel zur Oberfläche, die Polarisation des Lichtes und die Beschaffenheit der Oberfläche spielen eine Rolle. Nach dem Reflexionsgesetz ist der Einfallswinkel φ eines betrachteten Lichtstrahls gleich dem Ausfallswinkel. Der reflektierte Strahl liegt in der Einfallsebene, welche durch den einfallenden Strahl und der Oberflächennormalen im Berührungspunkt aufgespannt wird. Das resultierende Signal enthält Informationen über die Rauheit der Oberfläche und den Brechungsindex der obersten Gewebsschicht.

Diffuse Reflexion entsteht durch interne Mehrfachstreuung in einer dünnen Oberflächenschicht einer Probe. Das Licht wandert eine gewisse Distanz durch das Gewebe bevor es als Reflexionssignal detektiert wird. Es trägt wertvolle Informationen über Absorptionseigenschaften der Probe und ermöglicht das Aufnehmen von Absorptionsspektren völlig undurchsichtiger Proben.

Wenn der Lichtstrahl in das Medium mit anderem Brechungsindex eintritt, ändert sich durch **Brechung** die Strahlrichtung. Die Abhängigkeit der Strahlrichtung von den Brechungsindizes der Medien wird durch das Snellsche Gesetz beschrieben:

$$\frac{\sin \varphi}{\sin \chi} = \frac{n_2}{n_1} \quad (2.1)$$

χ ist der Brechungswinkel und beschreibt unter welchem Winkel zur Oberflächennormalen sich der Strahl im Medium ausbreitet. Der Brechungsindex n ist eine Funktion der Wellenlänge und beschreibt die Eigenschaften des Mediums. Er ist definiert als Verhältnis zwischen der Lichtgeschwindigkeit im Vakuum (c_0) und der in dem betrachteten Medium (c_n):

$$n(\lambda) = \frac{c_0}{c_n} \quad (2.2)$$

Beim Übergang zu Medien mit höherem Brechungsindex wird der Lichtstrahl zum Einfallslot hin gebrochen und umgekehrt. Daraus folgt die Existenz eines Grenzwinkels θ_g für den Übergang von Medien mit niedrigerem zu Medien mit höherem Brechungsindex. Für Einfallswinkel $\varphi > \theta_g$ tritt Totalreflexion ein. Die Intensitätsverhältnisse für Reflexion und Brechung können mit den Fresnel-Formeln beschrieben werden.

Die wichtigsten streuenden Inhomogenitäten in biologischem Gewebe sind makromolekulare Strukturen (≤ 10 nm), Membranen (~ 100 nm), Membranfaltungen wie das endoplasmatische Redikulum oder Organellen (> 100 nm), Zellen (≥ 10.000 nm) und Bestandteile außerhalb der Zellen, wie Collagenfasern (100-3000 nm). Die Strukturen in der Größenordnung der Lichtwellenlänge (d.h. 100-1000 nm, wie Membranen und Membranfaltungen) sind die wichtigsten Streuzentren im Sichtbaren und Infraroten und führen zur stark vorwärtsgerichteten Mie-Streuung. Zwei Beispiele für Mie-Streuzentren sind die Mitochondrien in den Zellen und außerhalb der Zellen die Collagenfasern, besonders die langen Fasern der zweiten Hautschicht (Dermis). Die Strukturen, welche viel kleiner sind als die Wellenlänge (d.h. makromolekulare Strukturen), verhalten sich wie einzelne, weniger stark streuende Inhomogenitäten, auch wenn ihre Anzahldichte vielleicht ziemlich hoch ist. Diese

Strukturen führen im Durchschnitt zu Rayleigh-Streuung. In der Dermis sind bei 632 nm circa 10 % der Streuung Rayleigh-Streuung.

Die Größe mit der man die Streuung beschreibt, ist der Streuquerschnitt; man kann auch einen Streukoeffizient μ_s einführen mit der Dimension 1/Länge. Der Streukoeffizient ist proportional zur Anzahldichte der Streuzentren, ρ_s [cm^{-3}], und zur Querschnittsfläche A_s [cm^2] der Teilchen:

$$\mu_s = \rho_s Q_s A_s = \rho_s \sigma_s. \quad (2.3)$$

Der Proportionalitätsfaktor ist Q_s . σ_s [cm^2] ist der integrale Streuquerschnitt.

2.1.2 Absorption

Wenn Moleküle des Gewebes einfallende Photonen absorbieren, kann die aufgenommene Energie entweder als Fluoreszenz wieder abgestrahlt werden, zu photochemischen Prozessen führen oder durch Relaxationsprozesse im Gewebe thermalisiert werden.

Die physikalische, makroskopische Größe mit der die Lichtabsorption in Gewebe bei einer bestimmten Wellenlänge beschrieben wird, ist der Absorptionskoeffizient μ_a . Der Absorptionskoeffizient ist, analog zum Streukoeffizienten, proportional zur Anzahldichte der Absorptionszentren, ρ_a [cm^{-3}], und zum Teilchenquerschnitt A_a [cm^2]:

$$\mu_a = \rho_a Q_a A_a = \rho_a \sigma_a. \quad (2.4)$$

Q_a ist der Proportionalitätsfaktor.

In biologischem Gewebe kann sichtbares Licht von verschiedenen Absorptionszentren, welche man Chromophore nennt, absorbiert werden. In menschlichem Gewebe gibt es eine Vielzahl solcher Chromophore, wie zum Beispiel Hämoglobin, Melanin, NADH und Vitamine. Die Absorption ist stark wellenlängenabhängig. Ein weiterer wichtiger Absorber ist Wasser, besonders im UV-

Bereich bei Wellenlängen unter 200 nm und im IR bei Wellenlängen über ca. 1300 nm. In Abbildung 2.1 ist zu sehen, daß die Absorption von Sauerstoff-beladenem Hämoglobin und Melanin im Spektrum deutlich hervortritt. Als sogenanntes optisches Fenster bezeichnet man den Bereich zwischen 650 nm und 1300 nm, wo die Absorption dieser Chromophore stark abgefallen ist und Wasser noch nicht absorbiert.

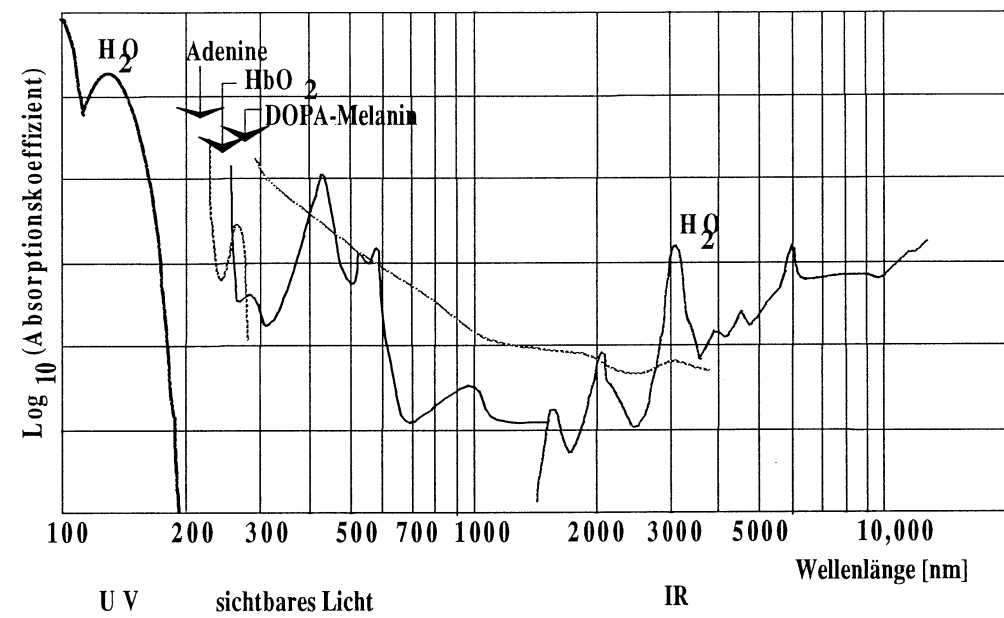


Abb.2.1: Absorptionskoeffizienten von Wasser, Melanin, Adenin und Sauerstoff-beladenem Hämoglobin [7].

2.1.3 Die Phasenfunktion der Streuung

Die Wahrscheinlichkeitsverteilung des Streuwinkels bei der Streuung von Licht wird Phasenfunktion genannt. Sie hat jedoch nichts mit der Phase der Lichtwelle zu tun, sondern beschreibt die Wahrscheinlichkeit für ein Photon mit der Ausbreitungsrichtung \vec{s}' in die Richtung \vec{s} gestreut zu werden, $p(\vec{s}, \vec{s}')$ [6,8]. Die Streuwinkelfunktion beschreibt die Wahrscheinlichkeit der Ablenkung der Photonen in eine neue Richtung mit Hilfe der Winkel θ (Ablenkungswinkel) und φ (Azimutwinkel). Sie kann kompliziert und unsymmetrisch sein [9].

In Gewebe kann die Phasenfunktion für jedes Streuzentrum unterschiedlich sein und diese Streuzentren liegen oft nahe beieinander, so daß sie ihre Phasenfunktionen gegenseitig beeinflussen. Da in der Optik jedoch nur makroskopische Effekte von Bedeutung sind, kann die Phasenfunktion von Gewebe genähert werden. Die erste Annahme für diese Näherung ist, daß es im Gewebe keine ausgezeichnete Richtung gibt, so daß die Phasenfunktion nur vom Streuwinkel θ (d.h. vom Winkel zwischen Einfall- und Streurichtung, $p(\theta)$ oder $p(\cos\theta)$) des Photons abhängt.

$$p(\vec{s}, \vec{s}') = p(\vec{s} \cdot \vec{s}') = p(\cos\theta) \quad (2.5)$$

In medizinischen und biologischen Anwendungen biologischer Proben spielt die Streuung oft eine wesentlich größere Rolle als die Absorption. Es finden also viele Streuvorgänge statt, bevor ein Absorptionsereignis eintritt, was zur Folge hat, daß die Einzelheiten der Streufunktion weniger wichtig werden. Eine gemittelte Größe, welche man Asymmetrie- oder Anisotropiefaktor g nennt, ist zur Beschreibung eines Streuvorgangs nützlich [9].

$$g = \langle \cos\theta \rangle = \int_{4\pi} p(\cos\theta) \cos\theta d\Omega. \quad (2.6)$$

Ist die Phasenfunktion isotrop folgt $g = 0$. Da die Phasenfunktion eine Wahrscheinlichkeitsverteilung ist, ist

$$\int_{4\pi} p(\cos\theta) d\Omega = 1. \quad (2.7)$$

Weiter wird eine in der Astrophysik zur Näherung von Mie-Streuung vorgestellte Phasenfunktion, die Henyey-Greenstein Phasenfunktion, verwendet. Diese Funktion wurde in der Originalveröffentlichung zur Beschreibung der Streuung von Licht durch interstellaren Staub im All entwickelt [10].

$$p(\cos\theta) = \frac{1}{4\pi} \frac{1 - g^2}{(1 + g^2 - 2g \cos\theta)^{3/2}} \quad (2.8)$$

Die Henyey-Greenstein Phasenfunktionen sind in Abbildung 2.2 für $g = 0$, $g = 0,5$ und $g = 0,9$ gezeigt. In Gewebe besitzt die Streuung normalerweise einen starken Mie-Streuungsanteil und ist vorwärtsgerichtet. Die Werte für g liegen im sichtbaren bis nahen infraroten Spektrum gewöhnlich zwischen 0,85 und 0,99 ($\cos 23^\circ = 0,9$).

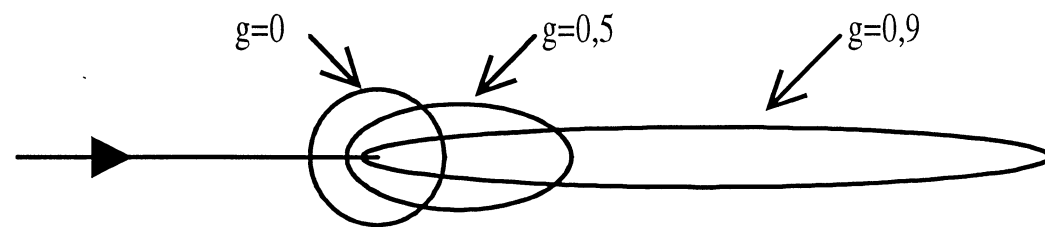


Abb. 2.2: Die Henyey-Greenstein Phasenfunktion.

2.2 Theorie zur Lichtausbreitung in Gewebe

Die Ausbreitung von Licht wird durch Vielfachstreuung stark modifiziert und durch die Transportgleichung beschrieben. Die allgemeine Transportgleichung kann jedoch nicht analytisch gelöst werden. In der Literatur wurden Lösungsmethoden für verschiedene Ansätze vorgestellt [11-15]. Im Folgenden werden drei Näherungsmethoden, die Monte Carlo Methode, die Diffusionsnäherung und die Photonenwanderung, kurz besprochen.

2.2.1 Die Transportgleichung

Die Transportgleichung ist ein theoretisches Modell für den Transport von Teilchen durch ein streuendes Medium unter dem Einfluß von Stößen. Sie wird in vielen Bereichen angewendet, zum Beispiel der kinetischen Gastheorie (Boltzmann-Gleichung) und in der Astronomie. Die grundlegende Idee ist es, ein Energiegleichgewicht in einem kleinen Volumenelement des Mediums zu beschreiben. Die Photonen werden in ihr als Punktteilchen betrachtet, welche nicht miteinander wechselwirken, so daß ihre Felder aufsummiert und Interferenzen vernachlässigt werden können [8].

Bevor die Transportgleichung vorgestellt wird, wird noch auf die enthaltenen Größen genauer eingegangen. Eine Funktion zur Beschreibung der Lichtenergie ist die Strahldichte $L(\vec{r}, \vec{s})$ (oder zeitabhängig $L(\vec{r}, \vec{s}, t)$). Sie ist definiert als die Energieflußdichte im Punkt r in Richtung \vec{s} ($\|\vec{s}\|=1$) und hat die Einheit Energie pro Fläche pro Raumwinkel, $\text{W m}^{-2} \text{sr}^{-1}$.

Die grundlegenden Parameter zur Beschreibung der Lichtausbreitung in Gewebe sind, wie in Abschnitt 2.1. vorgestellt, der Streukoeffizient (μ_s), der Absorptionskoeffizient (μ_a) und die Phasenfunktion der Streuung ($p(\vec{s}, \vec{s}')$) (Abschnitt 2.1.3).

Der totale Schwächungskoeffizient ist:

$$\mu_t = \mu_s + \mu_a. \quad (2.9)$$

Die allgemeine Transportgleichung für Licht in Gewebe kann geschrieben werden als [8]

$$\begin{aligned} \frac{1}{c} \int_V \frac{\partial L(\vec{r}, \vec{s}, t)}{\partial t} dV = & - \int_V \vec{s} \nabla L(\vec{r}, \vec{s}, t) dV - \\ & - \int_V \mu_a L(\vec{r}, \vec{s}, t) dV - \int_V \mu_s L(\vec{r}, \vec{s}, t) dV + \\ & + \int_V \mu_s \int_{4\pi} p(\vec{s}, \vec{s}') L(\vec{r}, \vec{s}, t) d\Omega' dV + \\ & + \int_V \varepsilon(\vec{r}, \vec{s}, t) dV. \end{aligned} \quad (2.10)$$

Die linke Seite der Gleichung stellt die Änderung der Strahldichte im Volumen V im Punkt \vec{r} in Richtung \vec{s} dar. Die Terme auf der rechten Seite beschreiben nacheinander:

- Verluste durch die Oberfläche des Volumens. Dieser Term wurde aus dem Oberflächenintegral, $-\int_S L(\vec{r}, \vec{s}, t) \vec{s} dS$ unter Anwendung des Gaußschen Satzes abgeleitet.
- Verluste durch Absorption im Volumen V .
- Verluste durch Streuung der Photonen in eine andere Richtung.
- Zugewinn durch aus allen Richtungen \vec{s}' gestreuten Photonen in die Richtung \vec{s} ; $d\Omega'$ stellt dabei den Raumwinkel zur Richtung \vec{s}' dar.
- Zugewinn durch eine Lichtquelle ε .

Diese Gleichung kann durch Weglassen der Volumenintegrale und unter Verwendung von Gleichung 2.9 kürzer geschrieben werden:

$$\frac{1}{c} \frac{\partial L(\vec{r}, \vec{s}, t)}{\partial t} = -\vec{s} \cdot \nabla L(\vec{r}, \vec{s}, t) - \mu_t L(\vec{r}, \vec{s}, t) + \mu_s \int_{4\pi} p(\vec{s}, \vec{s}') L(\vec{r}, \vec{s}', t) d\Omega' + \varepsilon(\vec{r}, \vec{s}, t) \quad (2.11)$$

Eine exakte Lösung dieser Gleichung ist nicht möglich. Es existieren jedoch einige Methoden, die unter bestimmten Annahmen gute Näherungen zur Lösung liefern. Eine solche ist die Diffusionsnäherung.

2.2.2 Die Diffusionsnäherung

Diese Näherung beruht auf der Idee die Winkelverteilung der Strahlung durch eine nach dem n-ten Glied abgebrochenen Reihe von Kugelfunktionen auszudrücken. Die Näherung niedrigster Ordnung P_0 beschreibt eine gleichmäßige (isotrope) Winkelverteilung. In der ersten Näherung, welche die Diffusionsnäherung genannt wird, hat die Winkelverteilung mehr die Form eines Eies. Je höher die Ordnung der Näherung, desto unregelmäßigere Winkelverteilungen können erfaßt werden. Mit einer Näherung P_N kann die stationäre Transportgleichung in ein gekoppeltes System von $(N+1)^2$ linearen Differentialgleichungen ersten Grades vereinfacht werden.

Ganz allgemein kann die Verteilung der diffusen Strahldichte $L_d(\vec{r}, \vec{s})$ in eine unendliche Reihe von Kugelfunktionen entwickelt werden:

$$L_d(\vec{r}, \vec{s}) = \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^n L_{nm}(\vec{r}) Y_n^m(\vec{s}) \quad (2.12)$$

Unter der diffusen Strahldichte versteht man Licht, des schon mindestens einmal gestreut worden ist. $Y_n^m(\vec{s})$ sind die Kugelfunktionen und

$$L_{nm}(\vec{r}) = \int_{4\pi} L_d(\vec{r}, \vec{s}) Y_n^{m*}(\vec{s}) d\Omega, \text{ wobei } Y_n^{m*} \text{ die konjugiert komplexe Funktion von } Y_n^m$$

ist.

Die Henyey-Greenstein Phasenfunktion kann als

$$p(\vec{s}, \vec{s}') = p(\cos\theta) \cong \sum_{n=0}^{\infty} \left(\frac{2n+1}{4\pi} \right) g^n P_n(\cos\theta) = \sum_{k=0}^{\infty} \sum_{l=-k}^k g^k Y_k^{l*}(\vec{s}') Y_k^l(\vec{s}) \quad (2.13)$$

geschrieben werden. Hier wurde für die zweite Umformung das Additionstheorem, welches Legendresche Polynome in Kugelfunktionen ausdrückt, verwendet. Der Ausdruck kann in die Transportgleichung (2.11) eingesetzt werden.

Die Diffusionsnäherung ist unter folgenden Bedingungen gültig.

Erstens muß das Medium stark streuend und die Streuung selbst eher isotrop sein [5]:

$$\frac{\mu_a}{\mu_s} \ll 1 - g^2. \quad (2.14)$$

Zum Zweiten darf der räumliche Gradient der Strahldichte nicht zu steil sein, d.h. die Strahldichte darf räumlich nicht zu schnell abfallen.

Sollte man an der zeitabhängigen Diffusionsgleichung interessiert sein, kommt noch eine dritte Bedingung hinzu: Die zeitliche Variation des Strahlungsflusses muß unter Beachtung der Streuung klein sein gegen eine typische Schwächung,

$$\left| \frac{1}{\bar{F}(\vec{r}, t)} \frac{\partial \cdot \bar{F}(\vec{r}, t)}{\partial t} \right| \ll c \cdot \mu_t. \quad (2.15)$$

Für die Diffusionsnäherung wird nur die Näherung ersten Grades betrachtet. Das bedeutet, daß die Transportgleichung in eine Differenzialgleichung zweiter Ordnung übergeht. Zum selben Ergebnis wie bei der Reihenentwicklung in Kugelfunktionen kann man jedoch auch auf einem anderen Weg gelangen, welcher hier genauer beschrieben werden soll.

Man kann die Strahldichte durch eine Taylorreihe ausdrücken, welche nach dem zweiten Glied abgebrochen wird.

$$L_d(\vec{r}, \vec{s}) \cong \frac{1}{4\pi} \Psi(\vec{r}) + \frac{3}{4\pi} \bar{F}(\vec{r}) \vec{s} \quad (2.16)$$

Hierbei sind $\Psi(\vec{r})$ und $\vec{F}(\vec{r})$ die Flußrate (oder Bestrahlstärke) und der Strahlungsfluß (d.h. die Rate des Energieflusses pro Einheitsfläche durch eine Oberfläche).

$$\Psi(\vec{r}) = \int_{4\pi} L(\vec{r}, \vec{s}) d\Omega \quad (2.17)$$

$$\vec{F}(\vec{r}) = \int_{4\pi} \vec{s} L(\vec{r}, \vec{s}) d\Omega \quad (2.18)$$

Man setzt nun den Ansatz für $L_d(\vec{r}, \vec{s})$ (2.16) in die Transportgleichung für die diffuse Strahlendichte ein. Diese entspricht der Transportgleichung bis auf einen Zusatzterm $+\mu_s \int_{4\pi} p(\vec{s}', \vec{s}) L_c(\vec{r}, \vec{s}') d\Omega'$, welcher eine zusätzliche Quelle im betrachteten Volumenelement beschreibt, die rein kollimierte Strahlung aussendet. Daraufhin integriert man zum einen über $d\Omega$ und zum anderen multipliziert man mit dem Richtungsvektor \vec{s} und integriert über $d\Omega$. Man erhält zwei Gleichungen die den Fluß und die Flußrate in gegenseitiger Abhängigkeit beschreiben [8].

$$\nabla \cdot \vec{F}(\vec{r}) = -\mu_a \Psi(\vec{r}) + \int_{4\pi} \varepsilon_d(\vec{r}, \vec{s}) d\Omega + \mu_s \int_{4\pi} L_c(\vec{r}, \vec{s}') d\Omega' \quad (2.19)$$

$$\nabla \Psi(\vec{r}) = -3\mu_{tr} \vec{F}(\vec{r}) + 3 \int_{4\pi} \vec{s} \varepsilon_d(\vec{r}, \vec{s}) d\Omega + 3\mu_s g \int_{4\pi} \vec{s}' L_c(\vec{r}, \vec{s}') d\Omega' \quad (2.20)$$

Für g setzt man Gleichung (2.6) und (2.7) ein und μ_{tr} ist der Abschwächungskoeffizient,

$$\mu_{tr} = \mu_a + \mu_s(1-g). \quad (2.21)$$

Gleichung (2.20) ist als das Ficksche Gesetz bekannt. Sie sagt aus, daß das Licht von Gebieten mit hohen Flußraten zu Gebieten mit niedrigen Flußraten diffundiert.

Wenn die optischen Parameter eines betrachteten Mediums nicht räumlich variieren, kann man (2.19) und (2.20) zu einer Differentialgleichung zusammenfassen. Dies ergibt die sogenannte Diffusionsgleichung:

$$\Delta\Psi(\vec{r}) - k^2\Psi(\vec{r}) = -3\int_{4\pi}(\mu_{tr} - \nabla \cdot \vec{s})\varepsilon(\vec{r}, \vec{s})d\Omega - 3\mu_s\int_{4\pi}(\mu_{tr} - g\nabla \cdot \vec{s}')L_c(\vec{r}, \vec{s}')d\Omega' \quad (2.22)$$

Die Eigenwerte k und $-k$ bestimmen die Lösung der Diffusionsgleichung.

$$k = \sqrt{3\mu_a\mu_{tr}} \quad (2.23)$$

Wird das Gewebe mit perfekt diffusem Licht bestrahlt, kann der Term für die kollimierte Strahlung weggelassen werden und die Gleichung vereinfacht sich zu

$$\Delta\Psi(\vec{r}) - k^2\Psi(\vec{r}) = 0. \quad (2.24)$$

Man sollte aber immer in Erinnerung behalten, daß die Anwendung der Diffusionsgleichung an eine Reihe von Bedingungen geknüpft ist. Daraus können zum Beispiel Probleme bei der Lösung dieser Gleichung an Grenzflächen entstehen. Um die Diffusionsgleichung jedoch auch für Problemstellungen mit Schichten verschiedener optischer Eigenschaften lösen zu können, hilft man sich mit einem einfachen Trick weiter. Zum Beispiel ist es beim Übergang von Luft zu Gewebe eine gute Näherung, die Flußrate für eine außerhalb des Mediums liegende angenommene Grenzschicht als Null anzunehmen. Das kann man erreichen, in dem man die eigentliche Lichtquelle durch zwei symmetrisch zur angenommenen Grenzschicht angeordnete Lichtquellen ersetzt. Sollen mehrere Schichten behandelt werden, müssen entsprechend mehr solcher Dipollichtquellen richtig plziert werden [16].

2.2.3 Die Monte Carlo Methode

Eine weitere Methode die exakte Lösung der Transportgleichung abzuschätzen, ist die Monte Carlo Methode. Sie basiert auf einem statistischen Verfahren, bei dem die

Strahlungsverteilung durch die Simulation von zufällig gewählten möglichen Wegen durch das Gewebe abgeschätzt wird. An dieser Stelle soll noch einmal erwähnt werden, daß die Photonen als Punktteilchen betrachtet werden und ihre Wellennatur völlig ignoriert wird.

Der Erwartungswert einer stochastischen Größe ist das Integral über alle möglichen Werte dieser Größen multipliziert mit deren Wahrscheinlichkeiten. Auch die Transportgleichung läßt sich in eine solche Integralform bringen [8].

$$L(\vec{r}, \vec{s}) = \int_{R=0}^{\infty} \exp(-\mu_t R) \mu_s \int_{4\pi} p(\vec{s}, \vec{s}') L(\vec{r} - R\vec{s}, \vec{s}') d\Omega' dR + \int_{R=0}^{\infty} \exp(-\mu_t R) \epsilon(\vec{r} - R\vec{s}, \vec{s}) dR \quad (2.25)$$

Hier ist L die Strahldichte im Punkt \vec{r} in Richtung \vec{s} . Sie setzt sich zusammen aus der von einer Lichtquelle ausgesandten Strahlung und aus der Strahlung die irgendwo in Richtung \vec{s} gestreut wurde. Der Parameter R ist eine Weglänge. Der erste Term stellt das Licht dar, das im Punkt $\vec{r} - R\vec{s}$ aus irgendeiner Richtung \vec{s}' in Richtung \vec{s} gestreut wurde und die Wanderung von $\vec{r} - R\vec{s}$ zur Position \vec{r} überlebt hat (Faktor $\exp(-\mu_t R)$). Der zweite Term der rechten Seite der Gleichung stellt Licht von einer Quelle in $\vec{r} - R\vec{s}$ in Richtung \vec{s} dar, welches ebenfalls Position \vec{r} erreicht hat.

Diese beiden Integralterme werden in der Monte Carlo Methode nun auf folgende Weise abgeschätzt. Der Weg von Photonen ergibt sich aus der Zufallsgröße für die Weglänge zwischen zwei Streuvorgängen und der für den Streuwinkel. In jedem Punkt in dem eine Wechselwirkung stattfindet werden die Zufallsgrößen aus den Wahrscheinlichkeitsverteilungen ausgewählt.

$p(x)$ ist die Funktion der Wahrscheinlichkeitsdichte einer Zufallsgröße x ($a \leq x \leq b$), mit

$$\int_a^b p(x) dx = 1. \quad (2.26)$$

$$\varphi_{rnd} = 2\pi RND_2 \quad (2.35)$$

Ist die gegebene Streuung isotrop, vereinfachen sich diese Gleichungen, da in diesem Fall $g = 0$ ist. Das Photon wird aus der alten Richtung $\vec{s} = (u, v, w)$ mit den im Stichprobenverfahren ermittelten Winkeln $(\theta_{rnd}, \varphi_{rnd})$ in die neue Richtung $\vec{s}' = (u', v', w')$ gestreut, wobei

$$u' = \frac{\sin(\theta_{rnd})}{\sqrt{1-w^2}} (uw \cos(\varphi_{rnd}) - v \sin(\theta_{rnd})) + u \cos(\theta_{rnd}), \quad (2.36)$$

$$v' = \frac{\sin(\theta_{rnd})}{\sqrt{1-w^2}} (vw \cos(\varphi_{rnd}) + u \sin(\varphi_{rnd})) + v \cos(\theta_{rnd}), \quad (2.37)$$

$$w' = -\sin(\theta_{rnd}) \cos(\varphi_{rnd}) \sqrt{1-w^2} + w \cos(\theta_{rnd}). \quad (2.38)$$

Sollte $|w|$ zu nahe an 1 liegen, wird angenommen, daß die Photonen nicht abgelenkt werden und

$$\vec{s}' = \begin{pmatrix} \sin(\theta_{rnd}) \cos(\varphi_{rnd}) \\ \sin(\theta_{rnd}) \sin(\varphi_{rnd}) \\ \frac{w}{|w|} \cos(\theta_{rnd}) \end{pmatrix}. \quad (2.39)$$

Sollte ein Photon einen Grenzübergang zwischen verschiedenen Medien erreichen, müssen weitere Betrachtungen angestellt werden. Die Übergänge zwischen nicht streuenden Medien, wie Luft, und streuenden Medien werden anders behandelt, als Übergänge zwischen zwei streuenden Medien [8,17].

Bewegt sich ein Photon beispielsweise von Gewebe zu Luft, wird ein Teil seines Wichtungsfaktors aus dem Gewebe transmittiert. Dieser Vorgang wird von dem Snellschen und den Fresnelgesetzen beschrieben. Der dem transmittierten Anteil entsprechende Wichtungsanteil wird je nach Richtung in die Transmissionsmatrix (positive Richtung), oder in die Reflexionsmatrix (negative Richtung) eingelagert. Der im Medium verbleibende reflektierte Anteil setzt seinen Zufallsweg fort.

Bei Übergängen zwischen verschiedenen streuenden Schichten ändern sich die Weglängenverteilungen und die Streufunktion. So muß die verbleibende Weglänge auf das neue Medium angepaßt werden: $R' = (\mu_{t1}/\mu_{t2})R'$, und es müssen die neuen optischen Größen verwendet werden. Sollten sich auch die Brechungsindizes ändern, wird ein Teil des Lichtes reflektiert und ein Teil transmittiert. Es werden jedoch nicht die Wege beider Teile verfolgt. Stattdessen wird mit Hilfe einer Zufallszahl entschieden, ob das Photon als ganzes reflektiert oder transmittiert wird. In Referenz [8] wird dies genauer für ebene, kugelförmige, elliptische und zylindrische Grenzflächen diskutiert.

2.2.4 Das Photonenwanderungsmodell

In dieser Arbeit wurde ein auf dem Photonenwanderungsmodell basierender Formalismus zur Bestimmung verschiedener Parameter aus einem gemessenen Spektrum für diffuse Reflexion verwendet. Das Photonenwanderungsmodell wurde von R. F. Bonner *et al.* vorgestellt und diskutiert [18-20]. Es soll hier zuerst kurz die grundlegende Idee besprochen und dann auf das darauf aufgebaute analytische Modell von Michael S. Feld *et. al.* [21] eingegangen werden.

Bei der Beschreibung der Bewegung von Photonen in Gewebe in diesem Modell wird wieder eine Wahrscheinlichkeitsbetrachtung angestellt. Es werden wie bei der Diffusionsnäherung eine große Zahl an Streuvorgängen und isotrope Streuung vorausgesetzt. Man betrachtet dann kollimiertes Licht, welches in Richtung der Normalen auf die Oberfläche eines Medium eingestrahlt wird. Das Medium wird dabei in alle anderen Richtungen als unendlich ausgedehnt angenommen. Damit kann die Wahrscheinlichkeit, daß Photonen das Medium an anderen Grenzen als der betrachteten Oberfläche verlassen, vernachlässigt werden.

Bei Wechselwirkungen mit Bestandteilen des Gewebes besteht eine gewisse Wahrscheinlichkeit, daß es absorbiert wird ($\frac{\mu_a}{\mu_a + \mu_s} = \frac{\mu_a}{\mu_t}$) und eine gewisse Wahrscheinlichkeit, daß es gestreut wird ($\frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s}$) (siehe dazu auch Kapitel 2.2.3.

Die Monte Carlo Methode). Die Wichtung des Photons wird bei jeder Wechselwirkung gemäß der Absorptionswahrscheinlichkeit herabgesetzt.

Jedes Photon wird in diesem Modell irgendwann das Gewebe wieder durch die Oberfläche verlassen. Experimentell wird dies als diffuse Reflektanz beobachtet. Ein Photon, welches n mal gestreut wurde, besitzt eine Wichtung von a^n , wobei a das Albedo

$$a = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} \quad (2.40)$$

ist [21]. Die Wahrscheinlichkeit, daß ein Photon das Gewebe nach n Streuvorgängen wieder verläßt, wird mit f_n bezeichnet. Diese Funktion hängt nicht von μ_a und μ_s ab, sondern nur vom Asymmetriefaktor g .

Die diffuse Reflektanz in diesem Modell ist gegeben durch

$$R(\mu_a, \mu_s, g) = \sum_{n=1}^{\infty} a^n f_n(g). \quad (2.41)$$

Da $f_n(g)$ nicht von μ_a und μ_s abhängig und g nur schwach wellenlängenabhängig ist, kann eine Näherung unabhängig von der Wellenlänge des eingestrahnten Lichtes für $f_n(g)$ gefunden werden.

Ein später in dieser Arbeit angewendete Zusammenhang zwischen der diffusen Reflexion und μ_a , μ_s und g ergibt sich nun, wenn man für $f_n(g)$ den analytischen Ausdruck [21]

$$f_n(g) = \left\{ 1 - \exp[-0.45(1-g)n] \right\}^2 \left[\frac{3}{2\pi(1-g)} \right]^{1/2} n^{-3/2} \quad (2.42)$$

ansetzt und diesen in (2.41) einsetzt. Damit kann die diffuse Reflektanz geschrieben werden als

$$R(\mu_a, \mu_s, g) = \sqrt{6} \left\{ 2 \left[0.45 - \frac{\ln(a)}{(1-g)} \right]^{1/2} - \left[-\frac{\ln(a)}{(1-g)} \right]^{1/2} - \left[0.9 - \frac{\ln(a)}{(1-g)} \right]^{1/2} \right\}. \quad (2.43)$$

Nennt man $[-\ln(a)/(1-g)]$ kurz J , läßt sich diese Gleichung in ein Polynom umschreiben:

$$J^3 + \alpha J^2 + \beta J + \gamma = 0. \quad (2.44)$$

Die Parameter α , β und γ sind reine Funktionen der meßbaren Größe R und sind gegeben durch:

$$\begin{aligned} \alpha &= 3A - \frac{9}{16}R'^2, \\ \beta &= 2A^2 - \frac{3}{32}(4A^2 - 12R'^2 A + R'^4), \\ \gamma &= -\frac{(4A^2 - 12R'^2 A + R'^4)^2}{256R'^2}. \end{aligned} \quad (2.45)$$

Hier gilt $A = 0,45$ und $R' = R/\sqrt{6}$. Mit $J' = J + \alpha/3$ kann eine weitere Umwandlung vorgenommen werden:

$$J'^3 + 3\alpha' J' + 2\beta' = 0, \quad (2.46)$$

mit

$$\begin{aligned} \alpha' &= \frac{1}{3}\left(\beta - \frac{\alpha^2}{3}\right), \\ \beta' &= \frac{1}{2}\left(\gamma - \frac{\alpha\beta}{3} + \frac{2\alpha^3}{27}\right). \end{aligned} \quad (2.47)$$

Damit folgt

$$J' = -\left[\beta' + (\beta'^2 + \alpha'^3)^{1/2}\right]^{1/3} - \left[\beta' - (\beta'^2 + \alpha'^3)^{1/2}\right]^{1/3}. \quad (2.48)$$

Nun kann $J(a, g) = [-\ln(a)/(1-g)]$ analytisch aus einem gemessenen Spektrum errechnet werden. Es können so physikalische Wechselwirkungsparameter von

erkranktem Gewebe durch Aufnehmen eines Spektrums der diffusen Reflexion untersucht werden. Der Fehler der erhaltenen Werte liegt im Bereich von 6 % [21].

2.3 Die optischen Eigenschaften von Gewebe

Wie schon erwähnt, ist die Absorption durch Chromophore des Gewebes bedingt. Die Streuung wird durch Ungleichmäßigkeiten im Brechungsindex auf mikroskopischer Ebene bewirkt. Im optischen Fenster des Gewebes (650 nm bis 1300 nm) variiert der Absorptionskoeffizient für weiches Gewebe (z.B. Leber, Gehirn, Lunge, Haut) zwischen $0,1 \text{ cm}^{-1}$ und 10 cm^{-1} und der Streukoeffizient zwischen 100 cm^{-1} und 1000 cm^{-1} . In diesem Bereich dominiert also die Streuung über die Absorption ($\mu_s \gg \mu_a$). Für Wellenlängen unter 600 nm und über 1300 nm nimmt die Absorption stark zu.

Zur Bestimmung des Absorptions- und Streukoeffizienten von Gewebe werden unterschiedlichste Methoden angewendet [22]. So können für *in vitro* Experimente zum Beispiel optisch dünne Gewebeproben für Reflexions- und Transmissionsmessungen verwendet werden [23-26]. Für *in vivo* Experimente können die gepulste photothermische Radiometrie, die photoakustische Spektroskopie und die optische Spektroskopie, bei der das Lichtsignal selbst betrachtet wird, genannt werden [27-29]. Die optische Spektroskopie weist den anderen Methoden gegenüber einige Vorteile auf. Sie ist beispielsweise nicht von thermischen und mechanischen Effekten im Gewebe abhängig, sie ist nicht invasiv und klinisch vielseitig anwendbar.

In Tabelle 2.1 sind die optischen Wechselwirkungsparameter für einige Arten von menschlichem Gewebe kurz zusammengestellt. Man kann sehen, daß sich diese Parameter für verschiedene Gewebearten und Wellenlängen stark unterscheiden. Aber auch bei einer Wellenlänge und derselben Art von Gewebe werden von verschiedenen Autoren völlig unterschiedliche Werte angegeben. Experimente zur Bestimmung dieser Werte werden größtenteils *in vitro* durchgeführt. Dies kann wohl ein Grund für die verschiedenen Daten darstellen, denn die Proben können mehr oder weniger unversehrt sein, blutleer, gefroren oder sonst besonders präpariert. Doch auch *in vivo* Messungen liefern kaum allgemein gültige Werte, da menschliches Gewebe nicht homogen ist. Es ist deshalb sehr schwierig zu entscheiden, welchen Werten man vertrauen soll, wenn man auf die Literatur angewiesen ist.

Tabelle 2.1: Absorptionskoeffizient (μ_a), Streukoeffizient (μ_s), Asymmetriefaktor (g) und Brechungsindex (n) für menschliches Gewebe.

Gewebe	Wellenlänge [nm]	μ_a [cm ⁻¹]	μ_s [cm ⁻¹]	g	n	Referenz	
Aorta	476	6	414	0,91		[4]	
	632,8	0,52	316	0,87		[30]	
Adventitia	476	18,1	267	0,74		[30]	
	580	11,3	217	0,77		[30]	
	600	6,1	211	0,78		[30]	
	633	5,8	195	0,81		[30]	
	1060	2,0	-	-		[30]	
Leber	635	2,3	313	0,68		[30]	
	515	18,9	285			[30]	
	633				1,367	[4]	
Muskel	515	11,2	530			[30]	
Haut: Dermis	633	2,7	187	0,81		[30]	
	633	4,6				[4]	
	633	2,0	185,5	0,804		[4]	
	488	2,6	250	0,761		[4]	
	514	2,2	250	0,769		[4]	
	585	2,2	196	0,790		[4]	
	(Europäer)	700	27				[23]
	(Afrikaner)	700	81				[23]
		500	2,6	255	0,760		[31]
		545	2,3	230	0,780		[31]
	560	2,2	220	0,785		[31]	
	577	2,2	210	0,787		[31]	
	585	2,2	205	0,790		[31]	
	633	2,7	187	0,820		[31]	
	590	2,2	200	0,8		[32]	
Epidermis	488	50	600	0,761		[4]	
	514	44	600	0,769		[4]	
	585	36	470	0,790		[4]	
	633	35	450	0,804		[4]	
	500	240	590	0,760		[31]	
	545	200	500	0,780		[31]	
	560	190	490	0,785		[31]	
	577	185	480	0,787		[31]	
	585	180	470	0,790		[31]	
	633	170	500	0,820		[31]	
	590	19	460	0,800		[32]	
stratum corneum	400	230	2000	0,9		[4]	

3 TRANSMISSIONSEXPERIMENT ZUR BESTIMMUNG DES SAUERSTOFFGEHALTES VON BLUT

3.1 Medizinischer Hintergrund

In Blut bindet und transportiert Hämoglobin Sauerstoffmoleküle. Das Hämoglobin befindet sich nur in den roten Blutkörperchen und versorgt das Gewebe des ganzen Körpers mit Sauerstoff. In den Membranen der Mitochondrien der Gewebezellen fungiert Cytochrom aa_3 als elektronentransportbetriebene H^+ Pumpe und gibt Elektronen an Sauerstoff ab. Sowohl Hämoglobin als auch Cytochrome aa_3 treten in oxidierter und reduzierter Form auf und sind folglich geeignete Indikatoren für die Sauerstoffanreicherung des Blutes und des Gewebes [6,33].

Das Ziel der hier beschriebenen Versuche ist es, die Möglichkeiten der Sauerstoffgehaltsbestimmung von Blut mit einer nicht invasiven Sonde im Spektrum zwischen 700 nm und 940 nm zu untersuchen.

Die zu geringe Sauerstoffversorgung von Zellen (Hypoxie) und der erhöhte Sauerstoffgehalt in Blut (Hyperoxie) sind Krankheitssymptome mit sehr schädlichen Auswirkungen. Zu ihrer Diagnose muß die Sauerstoffsättigung durch *in vivo* Messungen abgeschätzt werden. Die dazu am häufigsten verwendeten klinischen Methoden sind invasiv, teuer, oft schmerzhaft, nicht sehr aussagekräftig und nicht ohne Risiko für den Patienten. Die nicht invasiven Methoden, die sich in klinischer Anwendung befinden (*pulse oximetry* und *transcutaneous oximetry*), sind nicht ohne Schwächen und können in manchen klinisch gegebenen Situationen versagen [34]. Eine alternative nicht invasive Methode ist die Spektrophotometrie im nahen infraroten Spektralbereich. Die optische Spektrophotometrie umfaßt sämtliche Meßmethoden, die auf Wechselwirkung von Licht und Materie beruhen. In diesem Kapitel wird über die *in vivo* Messung der Transmission von Licht durch Fingerspitzen verschiedener Personen zur O_2 -Konzentrationsbestimmung berichtet.

Bei der Wahl der optimalen Wellenlänge zur Messung des Sauerstoffgehaltes müssen drei Forderungen berücksichtigt werden:

I. die Strahlung muß bis zu einem gewissen Grad durch das Gewebe transmittiert werden, um den Sauerstoffgehalt im Blut und Gewebe mit einem angemessenen Sondenvolumen bestimmen zu können;

II. andere Bestandteile des Gewebes dürfen das Absorptionsprofil nicht verfälschen;

III. die Absorption von Strahlung der gewählten Wellenlängen muß für Sauerstoff-beladene und Sauerstoff-freie Formen der Chromophoren unterschiedlich sein.

Punkt I. ist für Licht der Wellenlängen im sogenannten optischen Fenster für Gewebe (200 nm-1300nm, siehe Kapitel 2.1.2.) erfüllt. Am transparentesten für Licht ist der menschliche Körper für Wellenlängen um 1 μm . Deshalb erscheint das nahe Infrarot (nahes IR) interessant für die Messung der Sauerstoffkonzentration in Blut. Es sollte noch einmal erwähnt werden, daß die Eindringtiefe der Strahlung in diesem Wellenlängenbereich hauptsächlich durch Streuprozesse bestimmt ist. Die Absorption des Gewebes ist in diesem Wellenlängenbereich nur schwach [7]. Als einziges nicht sauerstoffabhängiges Chromophor absorbiert Melanin im nahen IR. In Abbildung 3.1 sind die Absorptionskoeffizienten von Hämoglobin, Cytochrom aa₃ und Melanin im betrachteten Wellenlängenbereich in willkürlichen Einheiten dargestellt. Die Absorption von Melanin fällt zu längeren Wellenlängen monoton ab, so daß Punkt II. erfüllt ist. Punkt drei ist erfüllt, da sich die Absorption der Sauerstoff-beladenen und der Sauerstoff-freien Form von Hämoglobin im nahen IR unterscheiden. Als weiteres Chromophor mit sauerstoffabhängigem Absorptionsverhalten in diesem Bereich muß Cytochrome aa₃ betrachtet werden. Auch für Cytochrom aa₃ sind die Anforderungen I.-III. erfüllt. Andere Chromophoren mit oxidationsabhängigem Absorptionsverhalten sind entweder nur in unbedeutender Konzentration vorhanden oder besitzen eine vernachlässigbare Absorption im infraroten Spektralbereich [35].

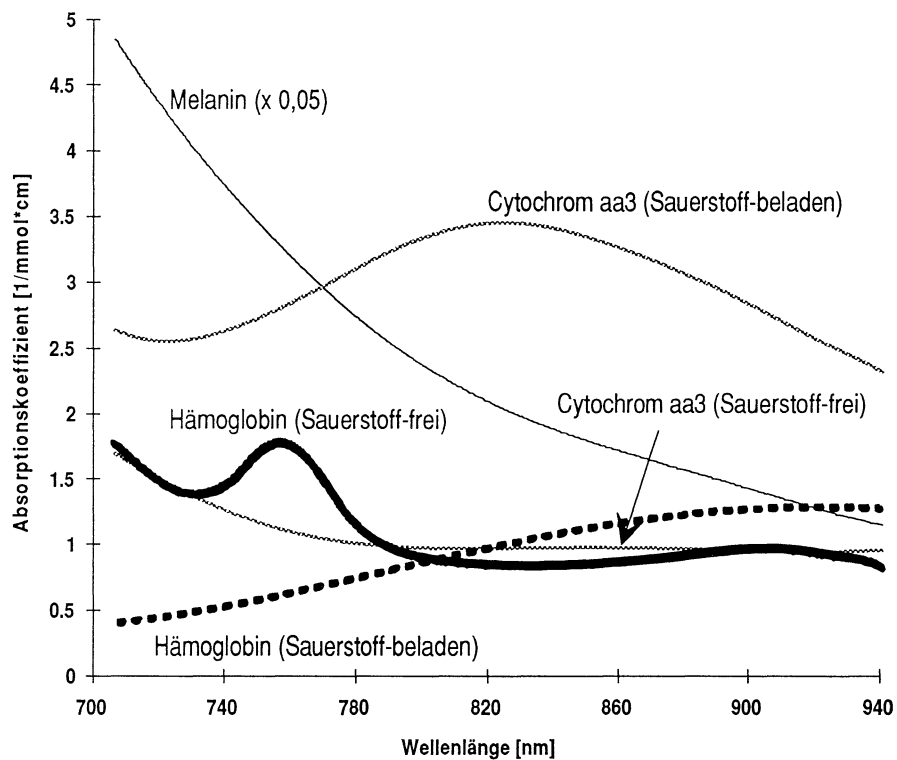


Abbildung 3.1: Molarer Absorptionskoeffizienten von Hämoglobin, Cytochrom aa₃ und Melanin.

3.2 Experimenteller Aufbau

Zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes in Blut wurde die kontinuierliche Breitbandstrahlung einer Halogenlampe verwendet. Mit dem Licht der Glühlampe wurden die Fingerspitzen der Zeigefinger verschiedener Testpersonen durchstrahlt. Um quantitative Informationen über den Anteil von mit Sauerstoff-beladenem Hämoglobin in Blut und Cytochrom aa₃ im Gewebe zu erhalten, wurden Spektren des transmittierten Lichtes sowohl bei normaler Durchblutung als auch bei unterbrochener Durchblutung aufgenommen. Die Durchblutung des Fingers wurde mit Hilfe einer Druckmanschette am Oberarm für ca. drei Minuten unterbrochen. Wenn die Manschette auf ungefähr 160 mmHg aufgepumpt ist, kann fast kein Blut mehr in den Arm gelangen oder vom Arm wegfließen. Dies hat zur Folge, daß der Arm nicht mit frischem Sauerstoff versorgt wird, während der Sauerstoffverbrauch gleich bleibt. Daraus resultierte eine Veränderung des Sauerstoffgehaltes in Blut und Gewebe des Arms. Eine halbe Minute nach Aufpumpen der Manschette wurde eine

zweieinhalbminütige Messung begonnen. Auf diese Weise konnten die spektralen Veränderungen der durch Gewebe transmittierten Strahlung für verschiedene Sauerstoffanreicherungen des Blutes untersucht werden [36].

3.2.1 Die Meßanordnung

Der für dieses Experiment verwendete Aufbau setzt sich aus der Lichtquelle, einigen optischen Komponenten vor und hinter der Probe, einem Spektrometer, einem CCD-Vielkanal-Detektor (charge-coupled device) und einem Personal Computer (PC) zusammen.

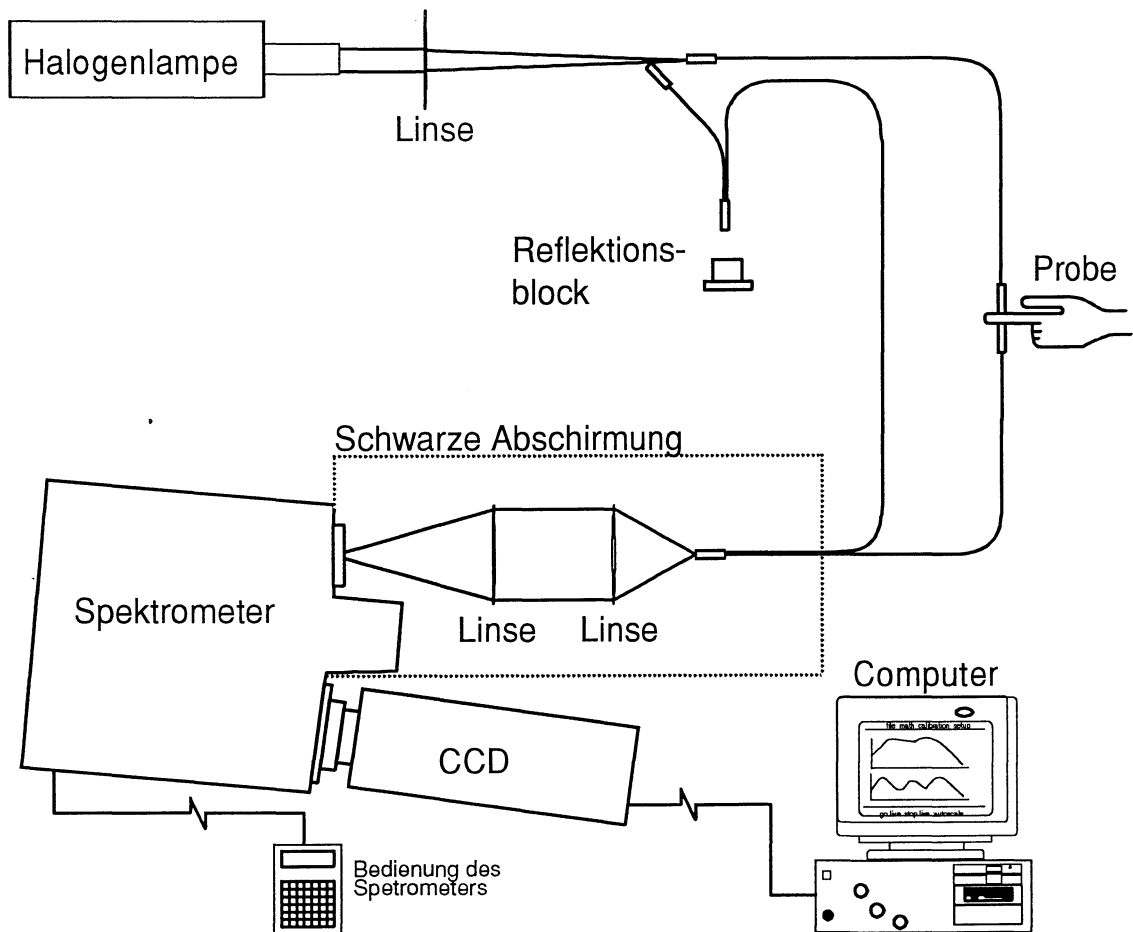


Abbildung 3.2: Aufbau zur Bestimmung der Sauerstoffanreicherung des Blutes.

Die Anordnung ist in Abbildung 3.2 schematisch dargestellt. Das Licht der Halogenlampe wurde mit einer plankonvexen Quarzglaslinse (10 cm im Durchmesser, 17,5 cm Brennweite) in eine plastikummantelte Einzelfaser (PCS) mit Quarzglaskern (600 μm Durchmesser) fokussiert und zur Probe geleitet. Die Verluste in einer solchen optischen Faser variieren im Wellenlängenbereich zwischen 450 nm und 1100 nm laut Angaben des Herstellers von 5 dB/km bis 12 dB/km. Die verwendete Faser war 1,5 Meter lang. Daraus ergibt sich eine Transmission von etwa 97 %. Wegen des geringen Einkoppelfaktors erreichen nur ungefähr 2.5 mW der ausgestrahlten Lichtenergie der Lampe die Probe. Eine zweite, gleichartige Lichtfaser wird verwendet, um Licht zu einem mit Bariumsulfatfarbe beschichtetem Block zu führen, einem nahezu idealen Diffusreflektor. Zum Einkoppeln des Lichtes wird die Faser etwas außerhalb des Fokus des Lampenlichtes plaziert. Die Reflektivität des Blockes beträgt nach Angaben des Herstellers 99,2 %. Das zurückgestreute Licht wird simultan als Vergleichssignal gemessen.

Zum Messen des transmittierten bzw. reflektierten Lichtes hinter der Probe und dem Referenzblock werden zwei plastikummantelte Quarzfasern mit Durchmesser 200 μm , Länge 0,5 m und Transmission 99 % verwendet. Diese leiten das Licht zum Spektrometer, wo es mit zwei plankonvexen Linsen auf den Eingangsspalt in unterschiedlicher Spalthöhe fokussiert wird. Die erste Sammellinse (BK 7, \varnothing 2 cm, 5 cm Brennweite) erzeugt zwei parallele Lichtbündel, die zweite Linse (Quarz, \varnothing 2,5 cm, 5 cm Brennweite) bewirkt die Bündeleinengung.

Das durch die Probe transmittierte weiße Licht wird mit einem Gitterspektrometer analysiert. Die spektrale Intensitätsverteilung wird mit einem Vielkanalanalysator (optical multichannel analyser, OMA) ausgewertet. Als Detektor wird eine CCD-Kamera verwendet.

Das Spektrometer: Das Spektrometer ist einstufig in Czerny-Turner Anordnung mit einer Brennweite von $f = 270$ mm und der Lichtstärke $f/4$. Für die Messung wird ein Gitter mit 150 Linien/mm und einer Blazewellenlänge von 500 nm verwendet. Die Dispersion beträgt 24,8 nm/mm in der Bildebene der Kamera. Die Breite des Eingangsspalt es kann in Schritten von 6,25 μm von 0 bis 7000 μm variiert werden

und die Höhe beträgt 1.5 cm. Für die Messungen beträgt die Breite des Eingangspalts 25 μm . Die spektrale Auflösung von ca. 0,7 nm ist für die hier beschriebene Anwendung mehr als ausreichend, da ein breites Spektrum ohne scharfe Linien betrachtet wird.

Der CCD-Detektor: Der Detektor am Ausgang des Spektrometers detektiert beide durch das Spektrometer passierenden Lichtsignale zur gleichen Zeit. Das Matrixfeld der Halbleiterdiodenanordnung mit 512 Zeilen und 512 Spalten hat die Abmessung $9,5 \times 9,5 \text{ mm}^2$; jedes der 512×512 Bildelemente (pixels) besitzt eine $19 \times 19 \mu\text{m}^2$ große lichtempfindliche Fläche. Um den Dunkelstrom gering zu halten, wird der Detektor mit flüssigem Stickstoff gekühlt. Die Temperatur der Halbleiterfeldes kann zwischen $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ und $-120 \text{ }^\circ\text{C}$ eingestellt werden. Die gewählte Temperatur von $-120 \text{ }^\circ\text{C}$ wird mit einer Genauigkeit von $0,01 \text{ }^\circ\text{C}$ gehalten. Nach Angaben des Herstellers beträgt der Dunkelstrom bei $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ weniger als 300 Photoelektronen pro Bildelement und Stunde, bei $-110 \text{ }^\circ\text{C}$ weniger als 10. Der Detektor ist im Bereich von 400 nm bis 1000 nm anwendbar. Er besitzt zwischen 500 nm und 900 nm nahezu konstante Empfindlichkeit.

Der CCD-Detektor war mit einer Steckkarte (Optical Multichannel Analyser OMA 4 Controller Board) an einen PC gekoppelt. Mit dieser wurde der Betrieb des Detektors geleitet und die Analyse, die Einspeicherung und die Wiedergabe von erfaßten Daten der Spektren koordiniert. Die verwendete *software* (OMA SPEC 4000 Software) umfaßt ein *Pulldown*-Menü, eine schnelle Anzeige für echte hintergrund- und wellenlängenkorrigierte Daten, die komplette experimentelle Kontrolle und eine Reihe von Drucker-, Plotter- und Anzeigenkartentreibern.

Die zwei Fasern müssen in unterschiedlicher Höhe vor dem Spektrometer so angeordnet sein, daß ihre Signale auf dem Detektorfeld nicht überlappen. Um das zu erreichen wird ein Programm (High Dynamic Range Imaging System, HiDRIS Software) verwendet, mit dessen Hilfe die Ausleuchtung des Detektorfeldes und das Intensitätsprofil dieser Ausleuchtung am Bildschirm des PC's dargestellt werden kann. Unter Verwendung dieses Programms wird die Anordnung optimiert. Die Zeilen, die das Licht einer Faser detektieren, werden zu je einer Spur

zusammengefaßt. Nur diese beiden Spuren werden eingelesen (Abbildung 3.3). Dies bringt auch den Vorteil, daß der Dunkelstrom in zur Signalanalyse nicht benötigten Zeilen des Halbleiterfeldes ausgeschlossen wird.

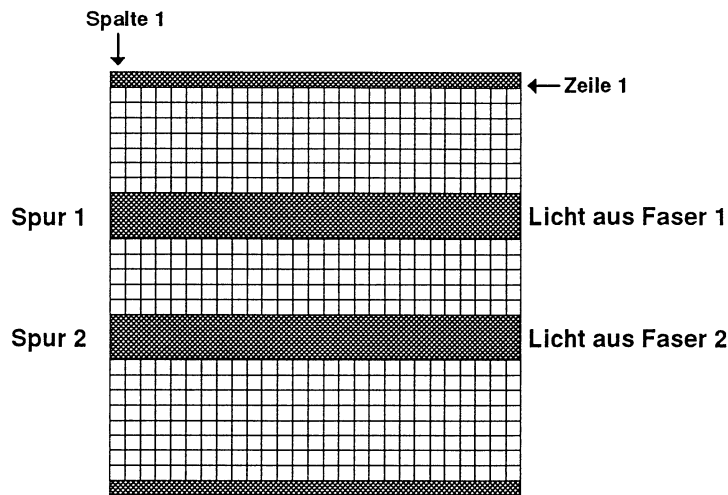


Abbildung 3.3: Die Halbleiterdiodenanordnung des Detektors.

3.2.2 Ablauf einer Messung

Es wurde im Wellenlängenbereich zwischen 700 nm und 940 nm gemessen. Die Versuchspersonen plazierten die Fingerspitze ihres Zeigefingers zwischen die zwei Quarzfasern. Um dieses so angenehm wie möglich zu gestalten und um eine ungewollte Unterbrechung des Blutflusses, z. B. durch das Auflegen des Arms an der Tischkante, zu vermeiden, wurde eine Ablage für den Arm aufgebaut. Die Testpersonen mußten nun die Innenseite der Fingerspitze in sehr leichten Kontakt mit der das Licht aussendenden Faser bringen. Auf der anderen Seite des Fingers, ungefähr in der Mitte des Fingernagels, wurde ein Teil des transmittierten Lichtes in die zweite Faser eingekoppelt und zum Spektrometer geführt.

Um die arterielle Stauung des Blutes zu erreichen wurde eine Manschette so schnell wie möglich auf den Druck von 160 mmHg aufgeblasen (ca. 1 Sekunde). Dies war notwendig, um ein Füllen des Arms mit Blut während des Aufpumpens zu vermeiden, da der venöse Fluß bereits bei einem Druck von 80 mmHg unterbrochen

wird, der arterielle jedoch erst bei 130 mmHg. Die Manschette war eine gewöhnliche zur Messung des Blutdruckes verwendete Manschette mit Druckanzeige.

Die Messungen wurden direkt vor der Stauung des Blutes und während der Stauung durchgeführt. Die Zeit je Messung variierte für verschiedene Personen zwischen 80 und 150 Sekunden und war für die beiden zu vergleichenden Spektren immer gleich lang. In diesen Zeitspannen wurde das Signal am Detektor angehäuft. Das Referenzsignal vom bariumsulfatbeschichteten Block wurde auf die gleiche Art detektiert.

Die Intensitätswerte der Fingerspektren wurden durch die entsprechenden spektralen Amplituden der Referenzspektren dividiert. Dadurch wurden Fluktuationen der Intensität der Lichtquelle und unterschiedliches Verhalten des Detektorsystems kompensiert. Die Spektren wurden auch automatisch bezüglich einer in regelmäßigen Abständen aufgenommenen Hintergrundstrahlung korrigiert.

3.3 Ergebnisse der Messungen

In Abbildung 3.4 sind typische Transmissionsspektren für zwei Testpersonen gezeigt. Es ist jeweils eine Veränderung von dem vor der Unterbrechung des normalen Blutflusses aufgenommenen Spektrum (I.) zu dem eine halbe Minute nach der Unterbrechung aufgenommenen (II.) zu erkennen. Die Spektren unterscheiden sich von Versuchsperson zu Versuchsperson. Ein Grund ist die unterschiedliche Anreicherung des Blutes mit Sauerstoff, die beispielsweise davon abhängt, ob es sich bei der Person um einen Nichtraucher oder einen Raucher handelt. Bei Rauchern ist der Anteil von Kohlenmonoxid-beladenem Hämoglobin stark erhöht. Die prozentuale Änderung der Hämoglobinkonzentrationen hängt sowohl von der Ausgangssauerstoffanreicherung als auch von der Effektivität der Unterbrechung der Durchblutung ab. Letztere hängt beispielsweise vom Blutdruck der Person ab. Auch könnte das Anlegen der Manschette vor Beginn der ersten Messung am Oberarm bei einigen Personen schon eine leichte Stauung des Blutes bewirkt haben. Die Angaben der Personen über den lockeren Sitz der Manschette sind subjektiv und daher unterschiedlich.

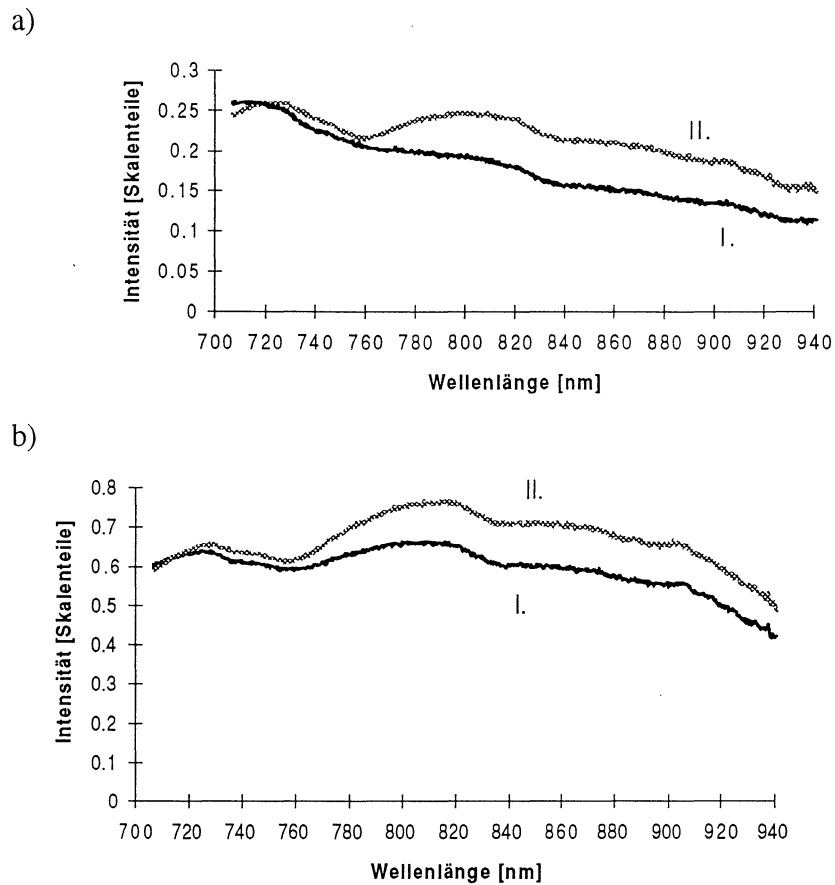


Abb.3.4: a) Die erhaltenen Spekten vor Unterbrechung des Blutflusses (I.) und danach (II.) für eine Versuchsperson. b) Die entsprechenden Spekten für eine andere Versuchsperson.

Um nun Informationen über die Sauerstoffanreicherung des Blutes und Gewebes zu erhalten, wurde aus den gemessenen Spekten mit einer Exponentialfunktion, entsprechend dem Lambert-Beerschen Gesetz, die Konzentration der sauerstoffabhängigen Chromophoren bestimmt.

$$I(\lambda) = I_0 \exp\left\{-[c_1\alpha_1(\lambda) + c_2\alpha_2(\lambda) + c_3\alpha_3(\lambda) + c_4\alpha_4(\lambda) + c_5\alpha_5(\lambda)]d(\lambda)\right\} \quad (3.1)$$

Hierbei ist $I(\lambda)$ die gemessene transmittierte Intensität nach Normierung auf das Referenzspektrum. I_0 ist ein Skalierungsfaktor. Die Parameter c_1 und c_2 sind die gesuchten Konzentrationen des Sauerstoff-beladenen und des Sauerstoff-freien

Hämoglobins. c_3 , c_4 und c_5 sind die Parameter für die Konzentrationen von Sauerstoff-freiem und Sauerstoff-beladenem Cytochrom aa₃ und Melanin. Die $\alpha_i(\lambda)$ sind die molaren Absorptionskoeffizienten der jeweiligen Substanzen. Für ihre Bestimmung wurden Einzelwerte der Literatur entnommen [4,35] und durch Polynome angepaßt. So konnten die 512 benötigten Wellenlängenwerte zwischen 700 nm und 940 nm errechnet werden. Die aus den angepassten Werten gewonnenen Spektren sind in Abbildung 3.1 gezeigt. In Tabelle 3.1 sind einige der verwendeten Werte für die molaren Absorptionskoeffizienten aufgelistet. Die Produkte $c_i\alpha_i(\lambda)$ entsprechen den Absorptionskoeffizienten der jeweiligen Substanzen.

Tabelle 3.1: Molare Absorptionskoeffizienten für Sauerstoff-beladenes Hämoglobin $\alpha_1(\lambda)$, Sauerstoff-freies Hämoglobin $\alpha_2(\lambda)$, Sauerstoff-beladenes Cytochrom aa₃ $\alpha_3(\lambda)$, Sauerstoff-freies Cytochrom aa₃ $\alpha_4(\lambda)$ und Melanin $\alpha_5(\lambda)$.

Wellenlänge [nm]	$\alpha_1(\lambda)$ [mmol ⁻¹ cm ⁻¹]	$\alpha_2(\lambda)$ [mmol ⁻¹ cm ⁻¹]	$\alpha_3(\lambda)$ [mmol ⁻¹ cm ⁻¹]	$\alpha_4(\lambda)$ [mmol ⁻¹ cm ⁻¹]	$\alpha_5(\lambda)$ [mmol ⁻¹ cm ⁻¹]
700	0,38	1,91	2,71	1,79	95,0
730	0,48	1,38	2,56	1,37	76,0
732	0,49	1,36	2,58	1,35	75,2
740	0,52	1,44	2,63	1,26	70,0
750	0,57	1,68	2,72	1,17	64,0
758	0,62	1,77	2,82	1,11	60,4
760	0,63	1,75	2,83	1,10	60,0
780	0,74	1,15	3,10	1,01	52,2
800	0,86	0,90	3,33	0,96	44,0
830	1,02	0,83	3,44	0,98	37,2
860	1,16	0,86	3,41	0,98	32,0
900	1,27	0,96	3,27	0,95	26,4
920	1,29	0,94	2,83	0,94	24,0
940	1,27	0,83	2,33	0,95	21,6

Die Größe d ist die effektive Weglänge durch das Medium. Wegen der Lichtstreuung in menschlichem Gewebe kann die Weglänge d der Photonen durch das Gewebe nicht gleich der Fingerdicke D angenommen werden. Für d wurde eine

auf der Diffusionsnäherung beruhende Formel in Abhängigkeit des Absorptionskoeffizienten, Streukoeffizienten und der Phasenfunktion (μ_a, μ_s, g) verwendet [37]:

$$d(\mu_a, \mu_s, g) = \left(\frac{D}{2\gamma} \sqrt{\frac{c}{\mu_a}} \right) \left(1 + \frac{3\gamma^2 \mu_a}{c} \right) \left(1 - \frac{1}{1 + \rho D} \right) \quad (3.2)$$

$$\text{mit } \gamma^2 = \frac{c}{3(\mu_a + \mu_s(1-g))} \text{ und } \rho = \frac{\sqrt{\mu_a c}}{\gamma}.$$

Die Dicke D der Finger der Versuchspersonen wurde mit einer Schublehre gemessen und variierte zwischen 0,8 cm und 1,3 cm. Für die drei Wechselwirkungsparameter (μ_a, μ_s, g) wurden bekannte Werte für die Adventitia für verschiedene Wellenlängen verwendet [30]. Die Adventitia ist eine Schicht der menschlichen Aorta und ist in ihren optischen Eigenschaften Muskelgewebe sehr ähnlich. Es sind nur wenige Daten für die Wechselwirkungsparameter in der Literatur zu finden. Die Werte für die benötigten Wellenlängen wurden aus den gegebenen extrapoliert. Die verwendeten Werte sind in Tabelle 2.1 aufgelistet.

Durch ein Angleichen der Exponentialfunktion (3.1) an den Quotienten $I(\lambda)/I_0$ mit den freien Parametern c_1, c_2, c_3, c_4 und c_5 , konnten schließlich relative Konzentrationen der vier sauerstoffabhängigen Chromophore gefunden werden. In Abbildung 3.5 ist ein typisches Beispiel für angegliche Spektren gezeigt.

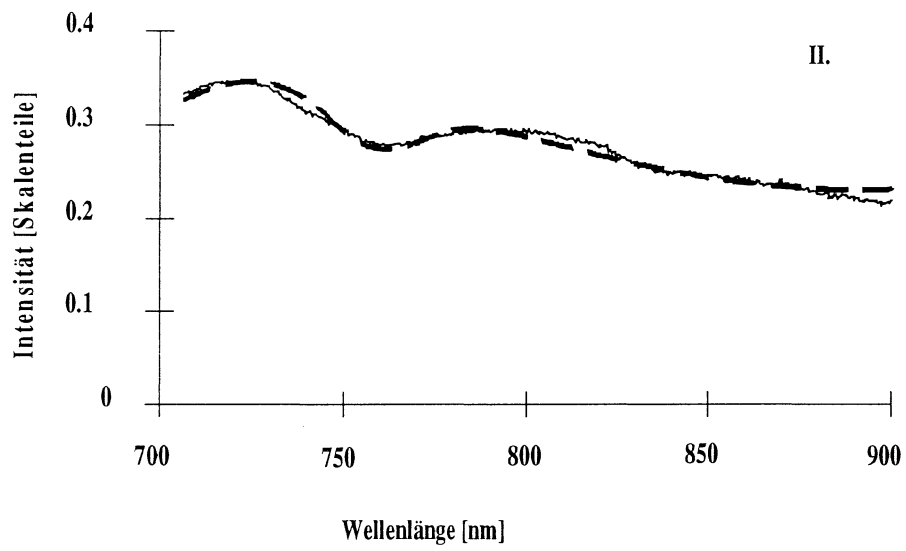
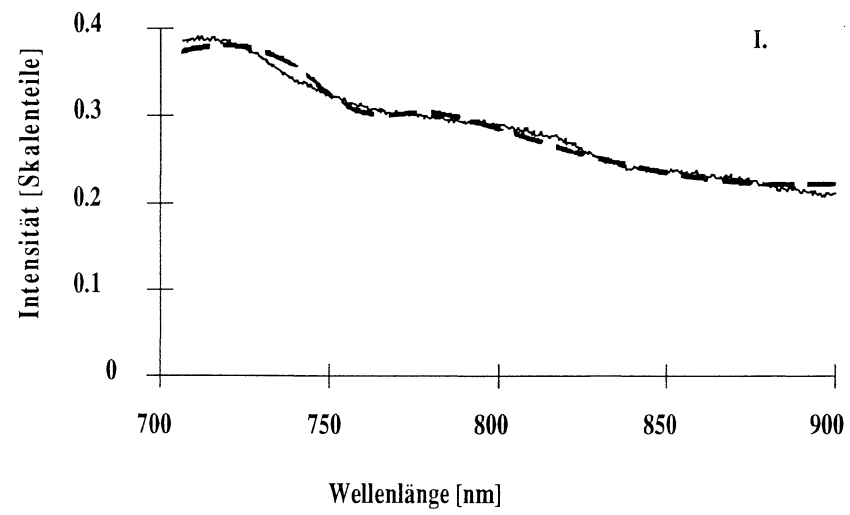
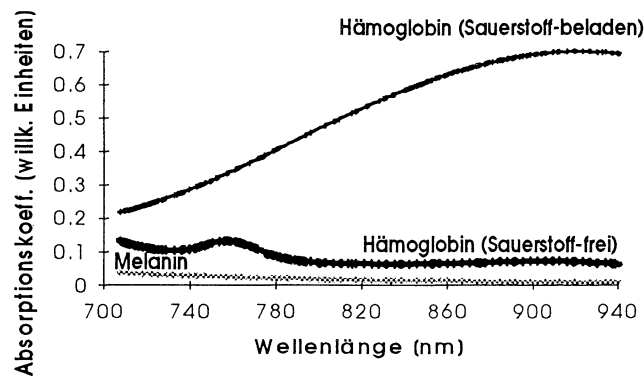


Abbildung 3.5: Dargestellt sind die gemessenen Spektren mit normaler Durchblutung (I.) und unterbrochener Durchblutung (II.) und ihre Annäherung durch die Exponentialfunktion (3.1) (gestrichelte Linie).

a)



b)

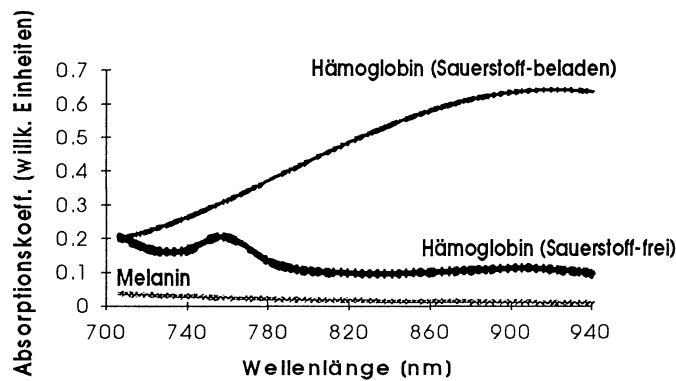


Abbildung 3.6: a) Die für die Anpassung dargestellt in Abbildung 3.5 I.) errechneten Absorptionskoeffizienten. b) Entsprechende Absorptionskoeffizienten für die Anpassung in Abbildung 3.5 II.).

Die erhaltenen Konzentrationen stellen keine Absolutwerte dar, es kann jedoch für die einzelnen Versuchspersonen eine prozentuale Veränderung der Konzentration der einzelnen Chromophore beobachtet werden. In Tabelle 3.1 sind einige dieser Werte für Hämoglobin, Cytochrom aa_3 und Melanin gegeben. Aus den Ergebnissen geht konsistenterweise hervor, daß die Konzentration des Sauerstoff-beladenen Hämoglobins von Messung I. (normale Durchblutung) zu Messung II. (gestoppter Blutfluß) abnimmt, während die Konzentration des Sauerstoff-freien Hämoglobins zunimmt.

Tabelle 3.1: Errechnete Konzentrationen für Sauerstoff-beladenes Hämoglobin (HbO₂), Sauerstoff-freies Hämoglobin (Hb), oxidiertes Cytochrom aa₃ (Cyt. ox.), reduziertes Cytochrom aa₃ (Cyt. red.) und Melanin in willkürlichen Einheiten und die prozentuale Veränderung von Messung I. (normale Durchblutung) zu Messung II. (unterbrochene Durchblutung) für fünf Personen.

Messung	c ₁ (HbO ₂)	Änderung [%]	c ₂ (Hb)	Änderung [%]	c ₃ (Cyt. ox.)	c ₄ (Cyt. red.)	c ₅ (Melanin)
I.	0,43	26,1	0,04	43,0	-	-	0,067
II.	0,32		0,07		-	-	
I.	0,40	66,5	0,07	15,7	-	-	0,067
II.	0,14		0,09		-	-	
I.	0,55	8,4	0,08	35,3	-	-	0,036
II.	0,50		0,12		-	-	
I.	0,57	25,1	0,08	34,4	-	-	0,097
II.	0,42		0,12		-	-	
I.	0,39	1,2	0,08	37,0	0,020	0,001	0,007
II.	0,38		0,11		0,019	0,003	

Für die Hämoglobinkonzentrationen wurden größenordnungsmäßig gleiche Werte für alle gemessenen Spektren erhalten. Die Werte für Melanin lagen für die meisten Spektren ebenfalls in einer Größenordnung. In einigen Fällen ergab sich jedoch eine zehnmal geringere Melaninkonzentration, bei gleichzeitig erhöhter Konzentration von Sauerstoff-freiem Cytochrom aa₃. Ein Grund hierfür kann im Anpassungsvorgang selbst zu finden sein. Die Meßspektren werden durch Skalierung der fünf gegebenen wellenlängenabhängigen Absorptionskoeffizienten angenähert. Sollten zwei oder mehrere Koeffizienten dabei einen ähnlichen spektralen Verlauf aufweisen, können gleich gute Anpassungen durch verschiedenen Kombinationen der Konzentrationen dieser erhalten werden. Für die zwei Formen des Cytochroms aa₃ ergab sich jedoch in den meisten Fällen eine vernachlässigbare Konzentration. Dies ist konsistent mit der viel geringeren Cytochromkonzentration verglichen mit der Hämoglobinkonzentration [37].

Die unterschiedlichen Konzentrationsänderungen für Hämoglobin der beiden Formen läßt sich damit erklären, daß beim Unterbrechen des Blutflusses mit der manuell aufgepumpten Druckmanschette keine vollständige Unterbrechung erreicht

wurde. Zudem ist trotz des schnellen Aufpumpens ein Füllen des Arms mit Blut nicht auszuschließen. Das veränderte Blutvolumen, sowie unterschiedlich effektives Abbinden des Arms, dürften hier ausschlaggebend sein. Weitere Gründe werden in Kapitel 3.4 besprochen.

3.4 Schlußfolgerungen

Die prozentuale Änderung der Konzentration des Sauerstoff-beladenen und Sauerstoff-freien Hämoglobins bei Unterbrechung der Durchblutung zeigten, daß die Transmissionsspektroskopie ausreichend empfindlich zur Bestimmung der Sauerstoffkonzentration in Blut ist um als Meßmethode in Frage zu kommen. Im Folgenden werden Fehlerquellen im Hinblick auf die Eignung der Meßmethode zur Bestimmung von Absolutwerten der Sauerstoffkonzentration diskutiert.

Eine Unsicherheit stellt die Weglänge von Photonen durch das Gewebe dar. Die verwendete Formel (3.2) ist streng genommen nur für eine angenommene Punktquelle in der Mitte einer kugelförmigen Probe gültig. Sie ist daher nur eine grobe Abschätzung der realen Gegebenheiten [37]. Weiterhin geht man davon aus, daß die effektive Weglänge bei Transmissionsmessungen nur wenig von der Änderung der Absorption und Streuung beeinflußt ist [35]. In dem hier betrachteten Fall mit signifikanten Konzentrationsänderungen von Hämoglobin der beiden Formen ist dies für verschiedene Wellenlängen nicht mehr gegeben. Zudem wurde gefunden, daß sich in menschlichem Gewebe die effektive Weglänge mit der Zeit verändert [38]. Außerdem stellen die in der Exponentialfunktion (3.1) enthaltenen, wellenlängenabhängigen Absorptionskoeffizienten für die fünf Chromophoren *in vitro* gemessene Werte dar und sind unter Umständen *in vivo* nicht richtig [39]. Es muß ein möglicher, nicht abschätzbarer Fehler durch Verwendung dieser Werte in Kauf genommen werden.

Die hohe Anzahl der freien Parameter und der teilweise ähnliche Verlauf der beteiligten Absorptionsspektren machen den Anpassungsvorgang unsicher. Um die Anzahl der freien Parameter möglicherweise verringern zu können, müssen die erwarteten Größenordnungen der Konzentrationen der einzelnen Chromophore besser bekannt sein. Weiter ist eine verbesserte Beschreibung der gemessenen

Spektren durch die Exponentialfunktion nötig. So wurde in diesen Untersuchungen die Absorption von Wasser völlig vernachlässigt. Die Vernachlässigung ist wegen dem hohen Wasseranteil in Gewebe jedoch nicht gerechtfertigt, wie in den vorliegenden Spektren (Abbildung 3.5) deutlich sichtbar wird. Der in allen Spektren auftretende Abfall der Transmissionsintensität bei ca. 735 nm, 835 nm und 905 nm kann durch die Absorption von Wasser erklärt werden [40,41].

Die meisten Fehlerquellen hat die hier beschriebene Transmissionspektroskopie gemeinsam mit anderen, ähnlichen Methoden, beispielsweise der Laserspektroskopie. Die Anpassungsprozedur bietet jedoch prinzipiell die Möglichkeit den totalen Fehler zu verringern, da insgesamt in einem breiten Spektrum mehr Information zur Verfügung steht.

Zusammenfassend erscheint es damit durchaus möglich durch Transmissionsmessungen den Sauerstoffgehalt in Blut ausreichend genau bestimmen zu können. Jedoch sind noch eine Reihe von Verbesserungen der Methode nötig. Erstens muß das Problem der Bestimmung der effektiven Weglänge für Photonen beim Durchlaufen von menschlichem Gewebe gelöst werden. Zweitens sind Untersuchungen der Absorptionskoeffizienten der verschiedenen Chromophore *in vivo* notwendig. Ebenso müssen Absorptionskoeffizienten, Streukoeffizienten und Phasenfunktionen für mehrere Arten von menschlichem Gewebe *in vivo* bestimmt werden, um eine genauere Beschreibung der optischen Eigenschaften der Fingerspitze erhalten zu können. Drittens darf dabei das Wasser im Gewebe nicht vernachlässigt werden.

4 DIFFUSE REFLEXIONSMESSUNGEN ZUR UNTERSUCHUNG VON PORTWEINMALEN

Das Ziel der hier vorgestellten Untersuchungen war es, zu erproben, ob sich die Aufnahme eines Reflektionsspektrums unter Verwendung einer Ulbrichtkugel eignet, um die Lage eines Portweinmals (port-wine stain, PWS) in der Haut *in vivo* zu bestimmen.

4.1 Medizinischer Hintergrund

Ein Portweinmal ist eine angeborene vaskuläre Mißbildung der Haut[42]. Es handelt sich um eine meist im Gesicht auftretende hellrote bis violette Hautverfärbung [43,44].

Die menschliche Haut ist im wesentlichen aus zwei Schichten aufgebaut, der Epidermis und der Dermis. Ihre Farbe ist im Prinzip gegeben durch die Anwesenheit des Pigments Melanin, das in der Epidermis produziert und eingelagert wird.

Die **Epidermis** setzt sich aus den fünf Schichten stratum corneum, stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum und stratum basale zusammen [45]. Die Dicke der Epidermis variiert zwischen 60 µm und 150 µm für dünne Haut und kann an Handflächen und Fußsohlen 600 µm erreichen [46]. Die **Dermis** besteht aus Bindegewebe und enthält Lymphgefäße, Nervengeflecht, Tastkörperchen, Talg- und Schweißdrüsen, elastische Fasern und Blutgefäße. Die Dicke der Haut insgesamt variiert zwischen 1,5 mm für Kopfhaut und 4 mm für die Haut am Rücken. Bei einem **Portweinmal** sind sowohl kapillare als auch venöse Blutgefäße der Dermis permanent stärker ausgedehnt [44]. Das vergrößerte Blutvolumen gibt dieser Gewebsveränderung eine hellrote bis violette Färbung [43].

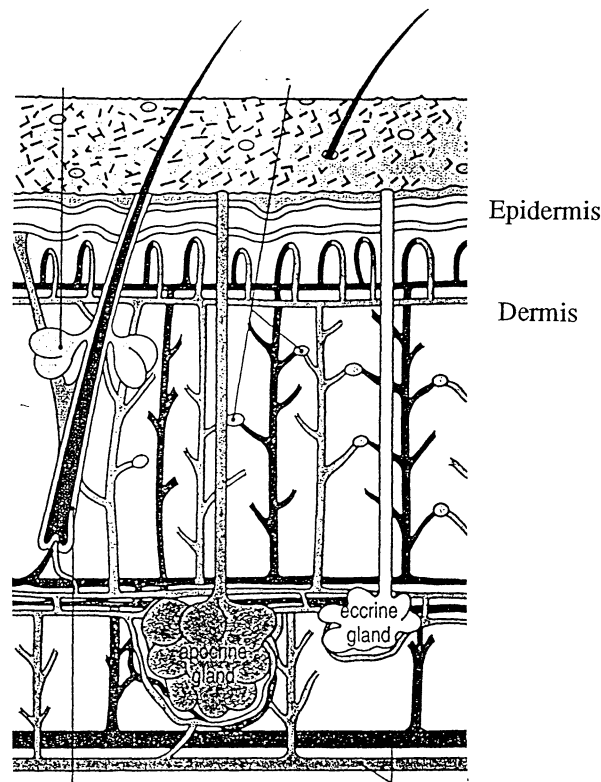


Abbildung 4.1: Querschnitt durch die Haut.

Das klinische Ziel einer Portweimalbehandlung mit Laserstrahlung ist es, irreversible Zerstörungen der Blutgefäße des Males durch Erhitzen zu erreichen, ohne andere Bestandteile der Haut zu zerstören [31]. Daher sollte die Wellenlänge der Strahlung in einem Bereich liegen, in dem der Absorptionskoeffizient von Blut größer ist als die Absorptionskoeffizienten anderer Bestandteile des Gewebes. Dies ist der Fall bei 577 nm, wie in Abbildung 2.1. (Kapitel 2.1.2) zu sehen ist. Heutzutage werden hauptsächlich gepulste Farbstofflaser (585 nm oder 577 nm) verwendet [47]. Jedoch sind auch der frequenzverdoppelte Nd:YAG Laser (532 nm), kontinuierliche Farbstofflaser (577 nm) und der Kupferdampflaser (578 nm) im Gebrauch. Für die Behandlung sind sowohl die Wellenlänge der Laserstrahlung als auch Impulslänge, Bestrahlungsstärke (W/cm^2) und Durchmesser des Laserbündels von entscheidender Bedeutung. Je nach Laserart müssen zwei bis vier dieser Parameter vom Arzt individuell für jeden Patienten gewählt werden [47,48]. Dies kann nur aus der Erfahrung des Arztes heraus geschehen, was zur Folge hat, daß die Behandlung mit absolut unbefriedigenden Resultaten ausfallen kann [49]¹. Um diese Unsicherheiten zu vermeiden, ist es von großem Interesse, eine einfache Methode zu entwickeln, mit

¹ Agneta Troilius, Krankenhaus Malmö; Nils Bendsoe, Hautklinik Lund

der genauere Aussagen über Dicke und Lage einer Schicht mit erhöhten Blutgehalt möglich sind. Hierfür ist zunächst jede Information über die optischen Eigenschaften des betrachteten Gewebes von Interesse. Wegen der Verfärbung der Hauterkrankung liegt es nahe, die gesuchten Informationen in einem Reflexionsspektrum im sichtbaren Wellenlängenbereich zu erwarten [43].

Die Arbeit im vorliegenden Projekt wird in drei Schritten vorgestellt. Zunächst wird die Zuverlässigkeit der Meßmethode durch Phantommessungen überprüft. Als Phantom soll eine Substanz bezeichnet werden, deren Absorptions- und Streuverhalten bekannt ist. Durch Vergleichen experimentell bestimmter Werte für Absorptionskoeffizienten und Rückstreuung mit den zuvor bekannten Werten wird sichergestellt, daß die Meßmethode zuverlässige Ergebnisse liefert. Im zweiten Schritt wird untersucht wie sich das diffuse Reflexionsspektrum der Haut eines Portweimal von dem gesunder Haut unterscheidet. Insbesondere werden der Rötungsgrad der Haut und die Blutkonzentration betrachtet, sowie der Einfluß der Pigmentkonzentration in der Haut untersucht. Im dritten Schritt wird mit Hilfe von Simulationen die Empfindlichkeit der Rückstreuung auf Variationen der Tiefe und Dicke von Portweimalen untersucht.

4.2 Experimenteller Aufbau

Für das Aufnehmen der spektralen Intensitätsverteilung der diffusen Reflexion (Rückstreuung) menschlicher Haut *in vivo* wurden zwei unterschiedliche Aufbauten verwendet. Der erste Aufbau wurde nach dem Vorbild eines Aufbaus errichtet, der zur Bestimmung der optischen Eigenschaften von Gewebe verwendet worden war [24,25]. Es stellte sich jedoch heraus, daß dieser mit zu vielen Problemen und Fehlerquellen verbunden war. Ein Hauptproblem stellte der mit einem Schrittmotor gesteuerte Monochromator dar. Es ergaben sich nur unzuverlässige Spektren, da der gewählte Wellenlängenbereich nicht zuverlässig kontinuierlich durchfahren werden konnte und keine Möglichkeit zur Kalibration bestand. Zudem resultierte aus dem Auswählen einzelner Wellenlängen aus dem gesamten Spektrum der Lampe ein sehr kleines Signal. Dies hatte neben einer aufwendigen Versuchsanordnung zur Detektion des Signals auch eine Meßzeit von bis zu zehn Minuten je Spektrum zur Folge. Diese

Zeit war zu lang, um Messungen an Personen durchzuführen ohne Unsicherheiten durch unbeabsichtigte Bewegungen zu erhalten. Aus diesen Gründen wurde der Aufbau so verbessert, daß er im Grundkonzept dem Aufbau zur Messung der Sauerstoffanreicherung des Blutes ähnlich wurde. Dadurch wurde unter anderem die notwendige Meßzeit um das mehr als 300-fache verkürzt und die Möglichkeit einer genaueren Wellenlängenkalibration geschaffen.

4.2.1 Die Meßanordnung

In Abbildung 4.2 ist der für die Messungen benützte, verbesserte Aufbau dargestellt.

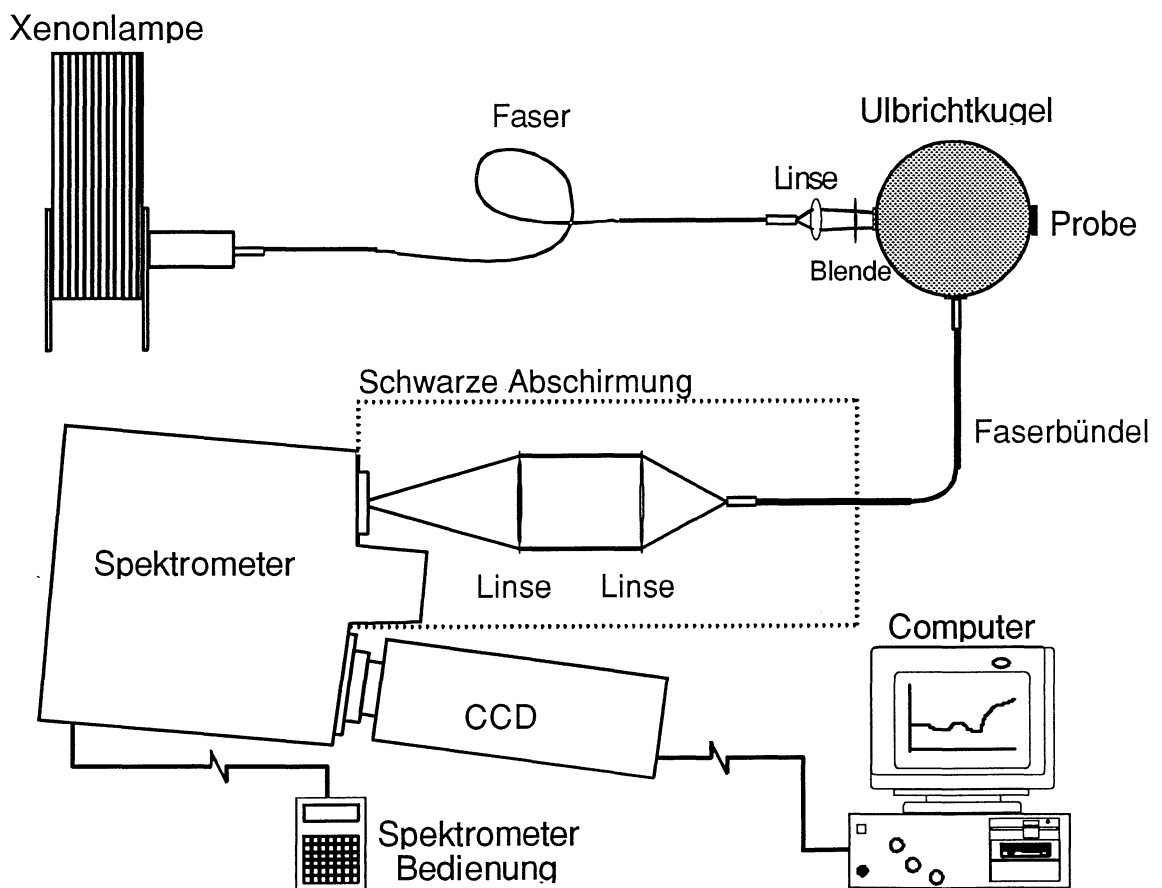


Abbildung 4.2: Die Meßanordnung im Überblick

Als Lichtquelle dient eine 75 Watt Xenonlampe, die laut Hersteller eine nahezu konstante relative spektrale Intensitätsverteilung im Wellenlängenbereich zwischen

460 nm und 700 nm aufweist. Das Licht dieser kontinuierlichen Lichtquelle ist auf einen Punkt außerhalb ihres Gehäuses fokussiert. In diesem Fokus wird eine 1,5 m lange Einzelfaser mit 600 μm Durchmesser (vgl. 3.2.1.) platziert, um das Licht zu einer Ulbrichtkugel zu führen. Der prinzipielle Aufbau einer solchen Hohlkugel ist in Abbildung 4.3 gezeigt.

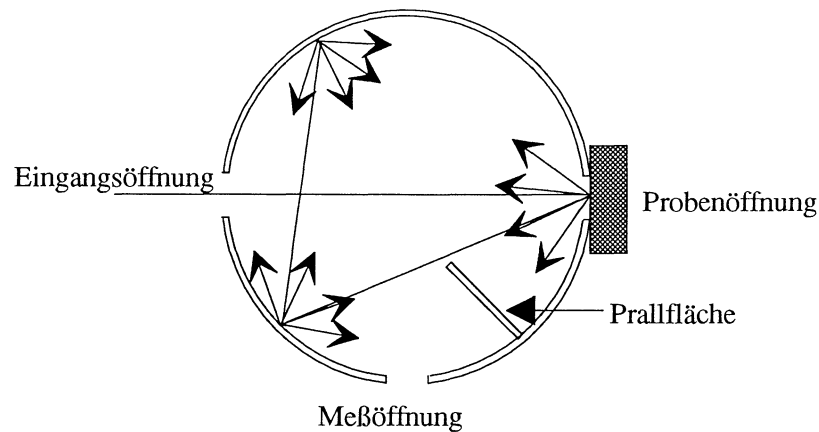


Abbildung 4.3: Horizontaler Querschnitt durch eine Ulbrichtkugel. Die Prallfläche dient dazu die Detektion ohne vorangegangene Vielfachreflexion zu vermeiden.

Für Reflexionsmessungen wird das eingestrahelte Licht durch die Eingangsöffnung der Kugel auf die gegenüberliegende Öffnung mit der Probe fokussiert. Mit Hilfe einer bikonvexen Linse (2,5 cm Brennweite) wird ein kollimiertes Bündel erzeugt, das in der Mitte der kreisförmigen Probenöffnung mit 1,1 cm Radius eine Fläche mit 0,5 cm Durchmesser ausleuchtet. Ungefähr 10 mW Lichtleistung erreichen die Probe.

Eine Ulbrichtkugel wird benutzt, um das diffus reflektierte Licht von menschlicher Haut zu detektieren. Die Wirkungsweise dieser Hohlkugel beruht auf der Beschichtung der inneren Oberfläche mit einem Material, welches ein hohes diffuses Reflexionsvermögen besitzt, und der Kugelform an sich. Die Beschichtung der verwendeten Ulbrichtkugel besteht aus Bariumsulfat mit einem diffusen Reflexionsvermögen von ca. 98% im betrachteten Wellenlängenbereich. Aufgrund dieser Beschichtung verhält sich jede Einheitsfläche der Kugellinnenseite wie eine Lambertquelle. Der Strahlungsfluß pro Einheitsfläche hat gemäß des quadratischen

Abstandsgesetzes ein Minimum im entferntesten Punkt der Kugel. Die Beleuchtungsstärke einer Einheitsfläche hängt jedoch vom Einfallswinkel ab. Ein großer Einfallswinkel bewirkt, daß der einfallende Fluß über eine große Fläche verteilt wird (Kosinusprojektion). Die Kosinusprojektion gilt natürlich auch umgekehrt für die projizierte Fläche der Quelle. Beide Effekte heben sich in der Kugel genau auf, so daß die Lichtintensität über die gesamte innere Oberfläche gleichmäßig ist. Diese Eigenschaften der Ulbrichtkugel haben zur Folge, daß die an der Meßöffnung nach Vielfachreflexion erhaltene Intensität einen Mittelwert der totalen Intensität des Reflektionslichtes darstellt, was eine aussagekräftige Intensitätsmessung ermöglicht.

In der Meßöffnung ist ein optisches Faserbündel angebracht (Abb. 4.2). Die Fasern des Bündels sind an einem Ende zu einer kreisförmigen Fläche angeordnet, während sie am anderen Ende zu einer Linie aneinandergereiht sind. Das Ende mit der kreisförmigen Anordnung der Fasern wird zum Sammeln des Reflexionssignals an der Meßöffnung der Ulbrichtkugel verwendet. Das am Ende mit der langgestreckten Faseranordnung ausgesandte Licht wird mit zwei plankonvexen Linsen sorgfältig auf den Eingangsspalt des Gitterspektrometers abgebildet und die spektrale Intensitätsverteilung mit einer CCD-Kamera aufgenommen. Für eine genauere Beschreibung des Spektrometers, des CCD-Detektors und des Analyseprogramms wird auf Kapitel 3.2.1 verwiesen.

Die erforderliche Meßzeit für ein Spektrum beträgt eine Sekunde. In dieser Zeitspanne wird das Signal im Detektor angesammelt. Die spektrale Auflösung beträgt etwa 0,7 nm (Spaltbreite 25 μm).

4.2.2 Ablauf einer Messung

Für die Messungen wurde der Wellenlängenbereich von 460 nm bis 700 nm ausgewählt. In diesem Bereich weist die Blutabsorption ein sehr charakteristisches Verhalten auf. Wie in Abbildung 2.1 zu sehen ist, besitzt das Spektrum für Blut (d.h. Sauerstoff-beladenes Hämoglobin) zwei Absorptionsmaxima bei 540 nm und 577 nm. Anschließend fällt die Absorption zu 700 nm hin stark ab.

Zur richtigen Wahl der Position des Gitters im Spektrometer und zur Kalibrierung der einem Bildelement des Detektors entsprechenden Wellenlängen wurden die stärksten Emissionslinien einer Heliumlampe in diesem Wellenlängenbereich benutzt. Vor Beginn jeder Meßreihe wurde ein Hintergrundspektrum aufgenommen, welches von den Meßspektren subtrahiert wurde. Dazu wurde der Strahlengang zwischen der Linse und der Blende vor dem Eingang der Hohlkugel mit Hilfe mehrfach gefalteter schwarzer Pappe blockiert. Vor jeder einzelnen Messung wurde eine Referenzmessung gemacht. Sowohl für das Hintergrundspektrum als auch für die Referenzmessungen wurde die Probenöffnung an der Ulbrichtkugel mit einem Block, der genau in die Ausgangsöffnung paßt, verschlossen. Dieser war ebenfalls, wie das Kugellinnere, mit Bariumsulfat beschichtet.

Durch die Referenzmessungen konnten langsame Fluktuationen in der Lampenintensität berücksichtigt werden, so daß ein Bestimmen der Rückstreuintensität der Proben möglich war. Fluktuationen im Sekundenbereich konnten mit dieser Methode zwar nicht erfaßt werden, sind aber nach einer kurzen Aufwärmphase der Lampe nicht zu erwarten.

Die meisten Messungen wurden an Testpersonen durchgeführt, aber auch unterschiedliche Lösungen als Modelle für Streuung und Absorption wurden untersucht. Um die Resultate verschiedener Messungen vergleichen zu können, mußte die Probenöffnung immer vollständig mit der Probe verschlossen sein. Dies bedeutete für die Testpersonen, daß sie den zur Bestimmung der Hautreflexion erwünschten Körperteil in Kontakt mit der Öffnungsumrandung bringen mußten. Hier waren die mit diesem Aufbau erreichten kurzen Meßzeiten ein großer Vorteil.

4.3 Zuverlässigkeit der Meßmethode

Bei Reflexionsmessungen an Haut erhält man komplexe Spektren. Gewebe an sich kann als trübes, stark streuendes Medium im sichtbaren Wellenlängenbereich angesehen werden, in welches verschiedene Absorber eingebettet sind. Die Reflexion ist, wie in Kapitel 2.2.4. beschrieben, proportional zum Albedo ($a = \mu_s / (\mu_a + \mu_s)$). Dies bewirkt, daß Absorption und Streuung nicht getrennt voneinander betrachtet werden können, was die Bestimmung der beiden Koeffizienten erschwert. Es ist daher

von großem Nutzen die Zuverlässigkeit der Meßmethode an Substanzen mit bekanntem Streu- und Absorptionsverhalten zu erproben.

4.3.1 Phantommessungen

Als Substanz mit bekanntem Streuverhalten verwendet man Intralipid [50-53]. Intralipid ist in der medizinischen Physik die allgemein anerkannt beste Möglichkeit das Streuverhalten von menschlichem Gewebe zu simulieren. Intralipid ist eine Emulsion aus Phospholipidmizellen und Wasser und wird im Krankenhaus als intravenöser Nährstoff verwendet. Es ist trüb, hat keine starken Absorptionsbänder im sichtbaren Spektrum, ist leicht zu erhalten und relativ billig [51]. Die fettigen Streuzentren haben unterschiedliche Größe und die sich daraus ergebende Streuung stellt eine gute Näherung der Streuung von Licht in menschlichem Gewebe dar. Als Absorber ist es in der medizinischen Physik üblich Tinte zu benutzen [51-54]. Tinte weist ein gutes Lösungsverhalten in Intralipid auf. In dieser Arbeit wurde stark verdünnte Tinte der Firma Pelikan verwendet.

Zunächst wurde der Absorptionskoeffizient der verwendeten Tinte für die Wellenlänge von 400 nm bis 900 nm mit einem Spektralphotometer bestimmt.² Es wurde der Absorptionskoeffizient der Lösung mit 0,004 Volumenprozent gemessen. Der angegebene Fehler beruht auf dem Fehler einer nicht perfekten Verdünnung der Tinte. Er wurde aus einer Vergleichsmessung an einer unabhängigen Probe abgeschätzt und für die anderen Konzentrationen extrapoliert.

² Dies geschah mit Hilfe von Josefine Persson am Lehrstuhl für Angewandte Biochemie der Universität Lund.

Tabelle 4.1: Mit Hilfe eines Spektralphotometers gemessener Absorptionskoeffizient für Tinte der Firma Pelikan in Wasser bei 633 nm.

Tintenkonzentration [Volumenprozent]	μ_a [cm ⁻¹]
0,004	0,263 ± 0,02
0,008	0,527 ± 0,03
0,012	0,790 ± 0,05
0,016	1,053 ± 0,07
0,032	2,107 ± 0,12
0,048	3,160 ± 0,20
0,064	4,213 ± 0,28

In Abbildung 4.4 sind die erhaltenen Spektren für eine 10 % Lösung von Intralipid in destilliertem Wasser, welcher Tinte beigemischt wurde, dargestellt. Als erstes wurde ein Spektrum der reinen Intralipidlösung aufgenommen. Dieser Lösung wurde anschließend stufenweise Tinte zugefügt, so daß sich nacheinander eine Tintenkonzentration von 0,000 %, 0,004 %, 0,008 %, 0,012 %, 0,016 %, 0,032%, 0,048 % und 0,064 % ergab.

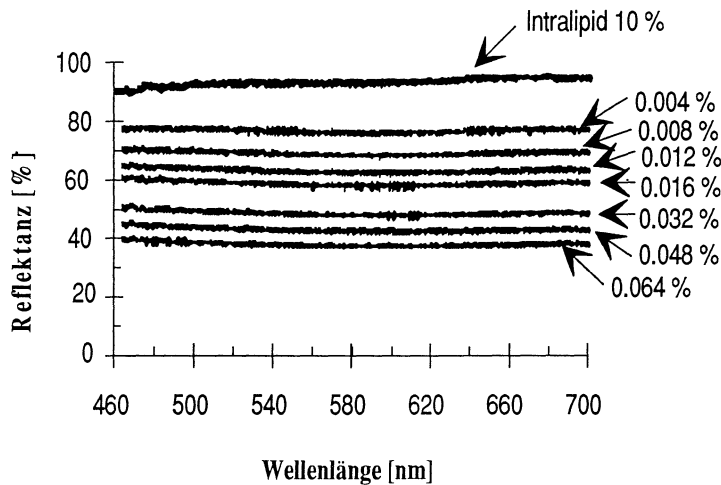


Abbildung 4.4: Diffuses Reflexionsspektrum von Intralipid in einer 10 % Lösung und derselben Lösung von Intralipid unter Beimengung verschiedener Konzentrationen von schwarzer Tinte.

Die verschiedenen Mischungen wurden in einem rechteckigen Plastikbehälter von 200 ml Fassungsvermögen mit sehr geringer Wanddicke (ca. 1 mm) an der

Ausgangsöffnung der Ulbrichtkugel für die Reflexionsmessungen plaziert. Bei der Wahl des Behälters geht man davon aus, daß die effektive Eindringtiefe, wie sie aus der Diffusionstheorie hervorgeht, $D_{\text{eff}} = 1/\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu_s(1-g))}$ beträgt. Dies ist die Weglänge, nach der die Energieflußrate im Medium um den Faktor e abgefallen ist [55]. Für die Simulation eines Phantoms unendlicher Ausdehnung sollte nun die Dicke und die Entfernung von den Kanten zum Ort des eingestrahltten Lichtes ungefähr zehn Eindringtiefen betragen [22]. Typische Werte sind $\mu_a = 0,2\text{cm}^{-1}$, $\mu_s = 320\text{cm}^{-1}$ und $g = 0,82$ [51], woraus sich ergibt, daß das Gefäß knapp 2 cm in jede Richtung ausgedehnt sein sollte. Das verwendete Gefäß besaß eine Kantenlänge von 7 cm.

In Tabelle 4.2 sind die erhaltenen Ergebnisse für die Messung der diffusen Reflektanz von Intralipid mit verschiedenen Tintenkonzentrationen für eine Wellenlänge von 633 nm aufgelistet. Die Intensität der diffusen Reflexion ist gegeben durch $R = R_S(I_R/I_S)$. Hierbei ist I_R das gemessene Rückstreusignal der Probe, I_S ist das gemessene Rückstreusignal des bariumsulfatbeschichteten Blocks und $R_S = 0,992$ das Reflexionsvermögen des Blockes. Der angegebene Fehler für die Rückstreuintensität setzt sich aus dem Meßfehler und dem Fehler von ca. 0,5 %, der durch die Gefäßwand entsteht, zusammen. Der Einfluß der Gefäßwand wurde mit Hilfe des in Kapitel 4.3.3 beschriebenen Simulationsprogramms ermittelt.

Tabelle 4.2: Gemessene Rückstreuintensität R für Intralipid unter Beimischung verschiedenen Konzentrationen von Tinte der Firma Pelikan bei 633 nm.

Tintenkonzentration [Volumenprozent]	R [%]
0,004 ± 0,0004	76,2 ± 1,27
0,008 ± 0,001	68,3 ± 1,22
0,012 ± 0,002	62,3 ± 1,19
0,016 ± 0,002	58,1 ± 1,16
0,032 ± 0,004	47,8 ± 1,10
0,048 ± 0,006	42,3 ± 1,07
0,064 ± 0,009	37,3 ± 1,03

Es wurde auch das Rückstreusignal für den mit destilliertem Wasser gefüllten Plastikbehälter aufgenommen. Die Intensität der Rückstreuung hatte für alle

Wellenlängen näherungsweise den gleichen Wert und war ungefähr eine Größenordnung kleiner als die der Intralipidlösung. Die diffuse Reflexion ohne Intralipid und Tinte ist jedoch schwer zu interpretieren, da das detektierte Licht von allen fünf Wänden des Behälters, sowie an Gegenständen außerhalb des Behälters, reflektiert werden und zurück in die Ulbrichtkugel gelangen konnte. Dagegen ist das Phantom so gewählt, daß nur der Einfluß der Gefäßwand an der Probenöffnung eine Rolle spielt.

4.3.2 Diskussion

Im Folgenden werden die für die verschiedenen Mischungen erhaltenen Rückstreuintensitäten und die daraus errechneten Absorptionskoeffizienten mit den im Spektralphotometer bestimmten Absorptionskoeffizienten für die Tinte und den daraus errechneten zugehörigen Rückstreuintensitäten verglichen. Die Intralipidlösung bestand zu 90 % aus Wasser und zu 10 % aus Fettmizellen. Der Brechungsindex der Mizellen ist nur wenig größer als der für Wasser. Es erscheint also als gerechtfertigt für die Intralipidlösung den Brechungsindex von Wasser, $n = 1,33$, anzunehmen [51]. Leider unterscheiden sich die veröffentlichten Werte für Streukoeffizienten, Absorptionskoeffizienten und Asymmetriefaktoren von Intralipid 10 % bedeutend [50,51,56]. Vor allem der Absorptionskoeffizient ist schwer zu bestimmen [53]. Die Ursache für die Diskrepanzen ist unbekannt. Es sollte jedoch nicht vergessen werden, daß Intralipid nicht als optisches Streumedium hergestellt wird und deshalb Schwankungen abhängig vom Herstellungsprozeß auftreten können. Auch die Art der Meßmethode scheint eine wichtige Rolle zu spielen [51].

Die meisten veröffentlichten Werte für Intralipid beziehen sich auf die Wellenlänge 633 nm. Im Folgenden werden daher die Ergebnisse der hier durchgeführten Messungen stellvertretend für diese Wellenlänge diskutiert.

Unter Verwendung des in 2.2.4 beschriebenen Photonenwanderungsmodell und mit den Werten $\mu_s = 322\text{cm}^{-1}$ und $g = 0,82$ für den Streukoeffizienten und den Asymmetriefaktor [51] ergibt sich aus der gemessenen Reflektanz von $93,7\% \pm 1,3$ bei 633 nm ein Absorptionskoeffizient von $3,2 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^{-1} \pm 0,2 \cdot 10^{-3}$ für Intralipid 10 %. Der Absorptionskoeffizient von Wasser beträgt $0,0028 \text{ cm}^{-1}$ bei einer Wellenlänge

von 633 nm. Nimmt man an, daß der Hauptabsorber der Intralipidlösung Wasser ist, erscheint der gemessene Wert vernünftig. Diese Werte wurden im weiteren zur Beschreibung der mit Tinte versetzten Intralipidlösung verwendet.

Um die Meßergebnisse bei gleichzeitiger Anwesenheit von Streuung und Absorption zu überprüfen, wurde wie folgt vorgegangen. Es wurden aus den gemessenen Intensitäten der Rückstreuung R der Intralipidlösungen mit unterschiedlichen Tintenkonzentrationen c die Absorptionskoeffizienten μ_a unter Verwendung des Photonenwanderungsmodells errechnet. Andererseits wurden auf gleiche Weise die zugehörigen Rückstreuintensität R' zu den mit Hilfe des Spektralphotometers gemessenen Absorptionskoeffizienten μ_a' errechnet. Die Werte für R und R' sowie die Absorptionskoeffizienten μ_a und μ_a' müssen nun, falls die Meßergebnisse richtig sind, übereinstimmen. Die gemessenen und errechneten Größen sind in Tabelle 4.3 zusammengestellt. Der Fehler für μ_a und R' ergibt sich aus Berücksichtigung der Ungenauigkeit der eingesetzten Größen und des Fehlers der verwendeten Näherung.

Tabelle 4.3: Aus der Rückstreuintensität R errechnete Werte für den Absorptionskoeffizient μ_a der verwendeten Lösungen und die aus den mit Hilfe eines Spektralphotometers bestimmten Absorptionskoeffizienten μ_a' errechneten Werte der Rückstreuintensität R' .

c [%]	R [%]	μ_a [cm^{-1}]	μ_a' [cm^{-1}]	R' [%]
0,004	$76,2 \pm 1,27$	$0,23 \pm 0,04$	$0,26 \pm 0,02$	$75,1 \pm 5,3$
0,008	$68,3 \pm 1,22$	$0,49 \pm 0,09$	$0,53 \pm 0,03$	$67,5 \pm 4,8$
0,012	$62,3 \pm 1,19$	$0,78 \pm 0,12$	$0,79 \pm 0,05$	$62,2 \pm 4,6$
0,016	$58,1 \pm 1,16$	$1,05 \pm 0,09$	$1,05 \pm 0,07$	$58,0 \pm 4,5$
0,032	$47,8 \pm 1,10$	$1,98 \pm 0,13$	$2,11 \pm 0,12$	$46,7 \pm 3,8$
0,048	$42,3 \pm 1,07$	$2,71 \pm 0,18$	$3,16 \pm 0,20$	$40,0 \pm 3,5$
0,064	$37,3 \pm 1,03$	$3,58 \pm 0,24$	$4,21 \pm 0,28$	$34,4 \pm 3,2$

Die gemessene und errechnete Rückstreuintensität stimmen innerhalb der angegebenen Fehlergrenzen überein. Die Abweichungen sind für die letzten zwei Konzentrationen etwas höher als für die geringeren Tintenkonzentrationen. Größer sind die Abweichungen der Absorptionskoeffizienten voneinander. Sie stimmen jedoch abgesehen von den letzten zwei Werten innerhalb der Fehlergrenzen ebenfalls überein. Insgesamt ist die Übereinstimmung gut.

Eine Erklärung für die Abweichungen bei hohen Tintenkonzentrationen könnte in der gängigen Annahme liegen, die Tinte trüge nicht zur Streuung bei. Diese Annahme ist falsch, wie sich bei elektronenmikroskopischen Aufnahmen gezeigt hat [52]. Lösungen von Tinte in Wasser enthalten kleine kugelförmige Partikel und je nach Tintenkonzentration größere Verklumpungen mehrerer kleiner Partikel. Das kann zu einem nicht vernachlässigbaren Beitrag der Tinte zur Streuung führen, was zwei Konsequenzen hätte. Erstens würde bei der Berechnung der Absorption aus der Rückstreuintensität die Streuung der Lösung unterschätzt werden. Das hatte jedoch hier keinen Einfluß, da die Streuung des Intralipids bedeutend größer als die Streuung der Tinte ist. Man nimmt für die Tinte einen Streukoeffizienten von $\mu_s = 0,09 \cdot \mu_t$ an [53]. Dabei ist der totale Abschwächungskoeffizient μ_t gleich dem im Spektralphotometer gemessenen Absorptionskoeffizienten. Der Streukoeffizient der Tinte liegt damit bei Werten um $0,01 \text{ cm}^{-1}$. Dies ist verglichen mit dem Streukoeffizienten von Intralipid (322 cm^{-1}) vernachlässigbar. Zweitens würde bei der Bestimmung der Absorption mit einem Spektralphotometer die Absorption überschätzt werden, da bei der Bestimmung des Absorptionskoeffizienten im Spektralphotometer der Anteil des Lichtes, welcher nach Transmission durch die Probe den Detektor nicht erreicht, als absorbiert betrachtet wird [52]. So trägt auch das gestreute Licht zum errechneten Absorptionskoeffizienten bei. Der dadurch verursachte Fehler in μ_a würde systematisch zu größeren Tintenkonzentrationen hin zunehmen.

Zusammenfassend haben die Messungen an den Phantomen gezeigt, daß mit dem Meßaufbau vertrauenswürdige Ergebnisse für die Intensität der diffusen Reflexion und damit für das Albedo erhalten werden und daß die Verwendung des

Photonenwanderungsmodells (2.4.4) zu konsistenten Ergebnissen führt. Damit war die Grundlage gegeben um die Meßmethode für *in vivo* Messungen zu benutzen.

4.4 Messung an menschlicher Haut

Aus den Rückstreuungsspektren von gesunder Haut sollten zunächst grundlegende Eigenschaften solcher Spektren im Hinblick auf die Bestimmung der Lage von Portweinmalen geklärt werden. So wurde ein Einfluß der Melaninkonzentration in der Epidermis, des Blutvolumens in der Dermis und der Durchblutung der Dermis auf die Rückstreuungsspektren erwartet.

Es wurden Reflexionsmessungen an der Haut von Außenarmen, Innenarmen, Handrücken und Gesichtern von 20 Personen durchgeführt. Diese Personen stammten größtenteils aus Schweden, doch auch Personen aus Südeuropa, Afrika und Asien stellten sich für die Messungen zur Verfügung. Diffuse Reflexionsspektren von Portweinmalen im Gesicht von vier schwedischen Personen dienten zum Vergleich.

Zunächst wurde die Abhängigkeit der Spektren von der Melaninkonzentration in der Epidermis untersucht. Der Einfluß der Blutmenge wurde über die Absorption von Hämoglobin durch Veränderung der Sauerstoffkonzentration im Blut ermittelt. Auch eine quantitative Bestimmung des Rötungsgrades der Haut wurde durchgeführt.

4.4.1 Melaninkonzentration

Melanin absorbiert stark und der Absorptionskoeffizient fällt im betrachteten Wellenlängenbereich monoton auf ein Viertel des Wertes bei 460 nm ab. Offensichtlich spielt die Melaninkonzentration eine wichtige Rolle für die Intensität der Rückstreuung der Haut [57]. Der Verlauf des Absorptionskoeffizienten von Melanin ist in Abbildung 2.1 dargestellt.

Abbildung 4.5 zeigt den Verlauf der Reflexionsspektren für die Haut der Außenarme von Personen aus Nordeuropa, Südeuropa und Afrika. Es ist deutlich ein Zusammenhang zwischen der Hautfarbe, das heißt dem Melaninanteil in der Haut,

und der Reflektanz im gesamten Wellenlängenbereich zwischen 460 nm und 700 nm zu erkennen. Mit steigender Melaninkonzentration nimmt die Reflektanz ab.

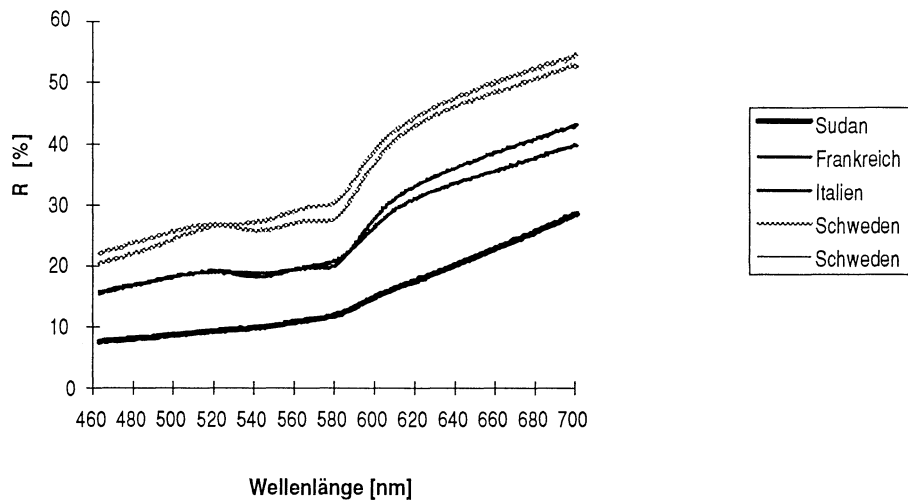


Abbildung 4.5: Diffuse Reflexionssignale der äußeren Unterarme von fünf Personen aus verschiedenen Ländern.

Im nächsten Schritt wurden die Spektren verschiedener Hautregionen verglichen (Abbildung 4.6). Es ist einzusehen, daß sich die Rückstreuintensitäten von Innenarm und Außenarm unterschiedlich verhalten sollten. Diese Körperteile sind dem Sonnenlicht normalerweise in verschiedenem Maße ausgesetzt und besitzen dementsprechende Tönungsgrade. Der Einfluß der Tönungsgrade wurde auch beobachtet.

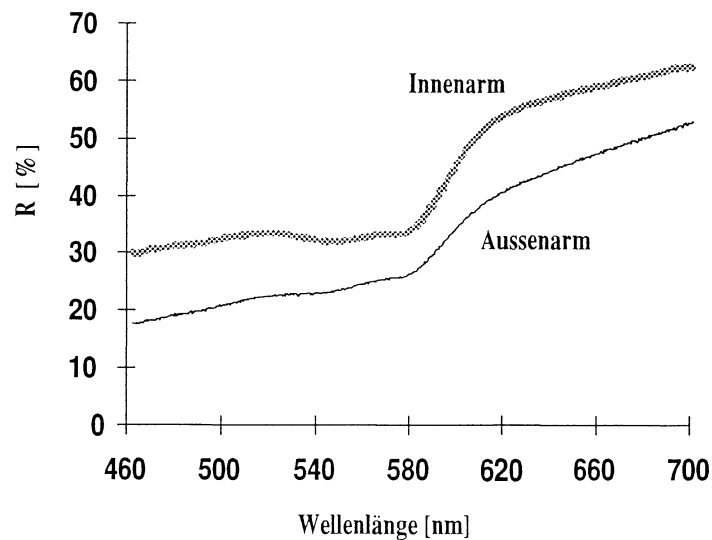


Abbildung 4.6: Rückstreuintensität für Außenarm und Innenarm einer Person.

4.4.2 Absorption des Blutes

Die Spektren zur Messung unterschiedlicher Sauerstoffanreicherung des Blutes wurde wieder unter Verwendung einer Druckmanschette aufgenommen. Der normaldurchblutete Arm wurde nach dem Aufnehmen eines Spektums in der gleichen Position an der Probenöffnung belassen. Die Durchblutung wurde mit Hilfe der Manschette bei einem Druck von ungefähr 160 mmHg unterbrochen und eine zweite Messung nach einer Wartezeit von ca. 30 Sekunden durchgeführt. In Abbildung 4.7a sind die erhaltenen Meßkurven dargestellt. In Abbildung 4.7b sind die Absorptionskurven von Sauerstoff-beladenem und Sauerstoff-freiem Hämoglobin im entsprechenden Wellenlängenbereich mit ihren charakteristischen Maxima gezeigt. Ein Vergleich mit den Rückstreuungsspektren läßt klar den Zusammenhang zu den gemessenen Spektren herstellen. Für eine genauere Diskussion von auftretenden Effekten bei der Störung der Durchblutung des Arms wird auf Kapitel 3.2.2 verwiesen.

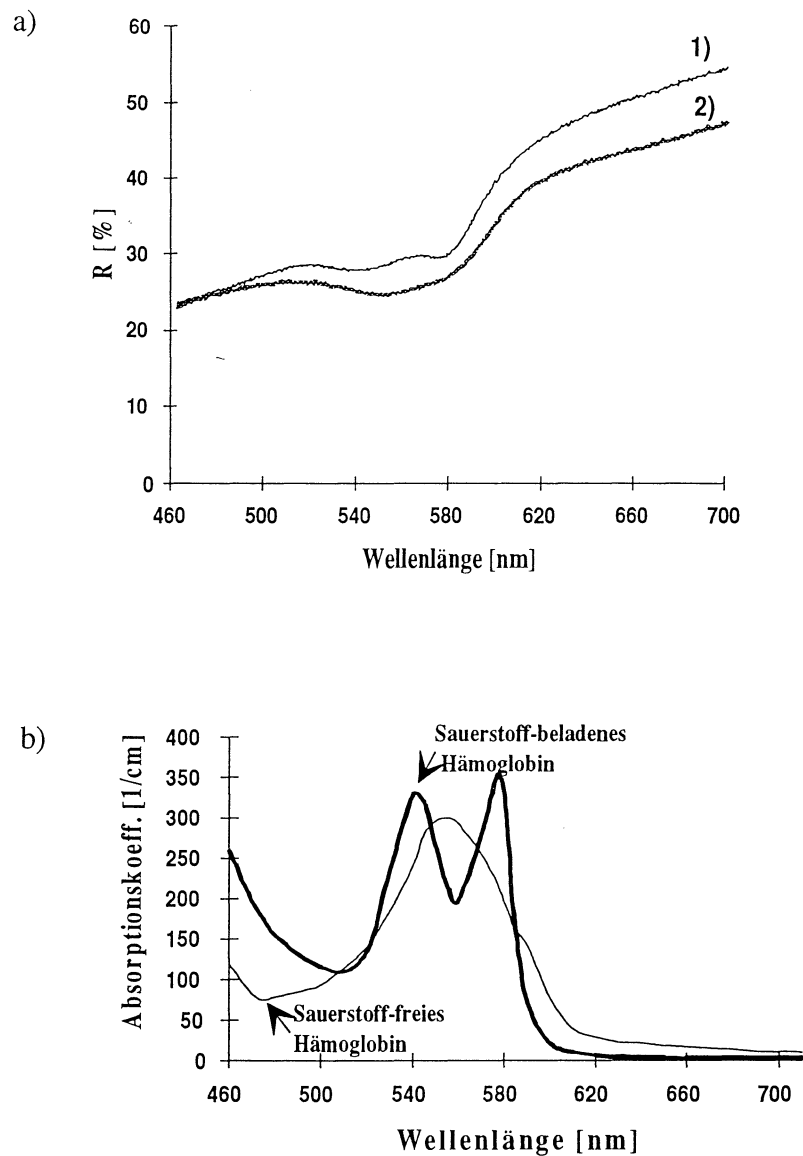


Abbildung 4.7: a) 1) Diffuse Reflexionsspektrum für den Innearm einer Person bei normaler Durchblutung und 2) nach Unterbrechung des Blutflusses. b) Absorptionskoeffizienten (1/cm) für Sauerstoff-beladenes und Sauerstoff-freies Hämoglobin zwischen 460 und 700 nm.

Der unterschiedliche Verlauf des Spektrums in Abbildung 4.5 für die Haut des Außenarms des Afrikaners im Vergleich mit denen der Süd- und Nordeuropäer läßt sich wiederum anhand von Abbildung 2.1 verstehen. Der Absorptionskoeffizienten nimmt linear mit der Melaninkonzentration zu (Absorptionskoeffizient = Konzentration \cdot molarer Extinktionskoeffizient). Dies hat zur Folge, daß die in Abbildung 2.1 dargestellte Kurve gedanklich zu höheren Werten verschoben werden

muß. So kann man erkennen, daß der Melaninabsorptionskoeffizient ab einer bestimmten Konzentration für jede Wellenlänge größer als der für Blut ist. Das erklärt, warum im Spektrum des Afrikaners die zwei Minima, die aus der Absorption von Sauerstoff-beladenem Hämoglobin folgen, sowie der Anstieg der Intensität zwischen 580 nm und 630nm, nicht mehr erkennbar sind. Zum besseren Verständnis kann auch Abbildung 3.6 betrachtet werden. Die dargestellten Absorptionskoeffizienten für Melanin und Hämoglobin sind in Abhängigkeit der Konzentrationsverhältnisse dieser Chromophore bezogen auf den gesamten Finger gegeben. Bei der diffusen Reflexion wird jedoch nur eine dünne Oberflächenschicht (ca. 1 mm) der Haut untersucht. Dabei ist die Epidermis, in der sich das Melanin ausschließlich befindet, die oberste Schicht. Die starke Absorption von Melanin hat hier folglich nicht nur einen größeren Einfluß, sondern verhindert, daß eine tiefer liegende Schicht überhaupt untersucht werden kann.

Umgekehrt ist zu erwarten, daß die beiden Minima stärker ausgeprägt sind, wenn die Konzentration des mit Sauerstoff-beladenen Hämoglobins zunimmt. Dies ist unter anderem der Fall, wenn das gesamte Blutvolumen in der Haut vergrößert ist, wie das bei einem Portweinmal gegeben ist. Jedoch muß man beachten, daß das Spektrum nur von einem effektiven Blutvolumen beeinflusst ist. Dieses ist abhängig von der Größe der Blutgefäße. Für große Blutgefäße wird das Licht der Wellenlängen der Absorptionsmaxima von Sauerstoff-beladenem Blut bereits in dem äußeren Volumen eines zylinderförmig angenommenen Blutgefäßes absorbiert. Das sich weiter innen befindende Blutvolumen trägt nicht zur Absorption bei. Auch tritt ein Abschirmungseffekt der tiefer liegenden Blutgefäße auf. Außerdem hängt die Ausprägung der Minima weiter vom Anteil des Sauerstoff-beladenen Hämoglobins im Blut im Verhältnis zum Sauerstoff-freien Hämoglobin ab (Abbildung 4.7 b)). In Abbildung 4.8 ist das diffuse Reflexionsspektrum für ein Portweinmal in der Haut einer Wange dargestellt.

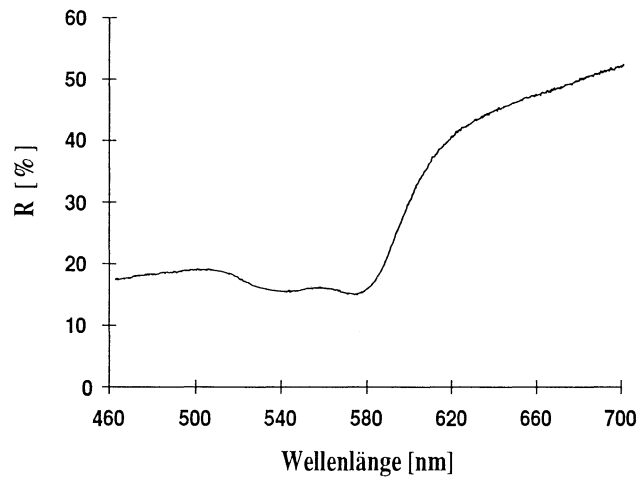


Abbildung 4.8: Diffuses Reflexionsspektrum der Haut mit Portweinmal.

4.4.3 Rötungsgrad der Haut

Weiter wurden Messungen an zwei Stellen in Gesichtern von acht Personen durchgeführt. Einmal wurde in der Mitte der Stirn und einmal an der Wange gemessen. Für Gesichter wurde ein anderes Reflexionsverhalten gefunden, als für Arme (Tabelle 4.1). Die Intensität der diffusen Reflexion liegt für 650 nm im gleichen Bereich wie für die der Innen- und Außenarme, bei 550 nm aber deutlich darunter. Für nähere Betrachtungen wurden bewußt die Wellenlängen 550 nm im Grünen und 650 nm im Roten gewählt. Bildet man das Verhältnis zwischen den Rückstreuintensitäten dieser beiden Wellenlängen ($R(550\text{nm})/R(650\text{nm})$), läßt sich die Rötung der Haut abschätzen. Dieses Verhältnis wird im weiteren als Rotverhältnis bezeichnet. Intensive rote Farbe führt zu einem sehr kleinen Wert, während der Wert eins für eine absolut weiße Oberfläche steht [43].

In Tabelle 4.4 sind neben den Mittelwerten der Reflektanzen von Armen, Händen und Gesichtern und den doppelten Standardabweichungen auch diese Verhältnisse angegeben. Für eine sinnvolle Mittelwertbildung wurden jedoch nur die Werte für

Nordeuropäer gewählt. Es zeigt sich eine stärkere Rotfärbung der Gesichtshaut als an den anderen gewählten Körperstellen. Dies deutet auf ein größeres Blutvolumen in der Haut hin, da die Größe der Kapillaren der normalen Haut am ganzen Körper nährungsweise gleich ist. Somit geben die Spektren Aufschluß über die Anzahl der Blutgefäße. Tatsächlich beträgt die spezifische Flußrate von Blut in der Haut des Gesichtes 70,3 ml/min bezogen auf 100 g, wohingegen die in der Haut der Hände 20,1 ml/min und die in der Haut der Arme 8,4 ml/min beträgt [58].

Tab. 4.4 : Mittelwerte für die diffuse Reflektanz der Haut von zehn Nordeuropäern, unter anderem vier Personen mit Portweinmalen. In Klammern die doppelten Standardabweichungen.

	R(550 nm) [%]	R (650 nm) [%]	R(550 nm)/ R(650 nm)
Handrücken	24,12 (2,3)	48,56 (2,6)	0,4960 (0,048)
Außenarm	25,25 (2,7)	46,24 (3,5)	0,5455 (0,056)
Innenarm	31,86 (4,3)	54,48 (3,3)	0,5828 (0,106)
Gesicht:			
Stirn	19,85 (4,8)	47,59 (10,1)	0,4177 (0,094)
Wange	22,10 (5,4)	52,57 (10,0)	0,4229 (0,088)
Portweinmal	17,06 (0,7)	53,10 (3,8)	0,3222 (0,024)

Ausgehend von diesen Ergebnissen sollte sich für Messungen an Portweinmalen ein noch kleinerer Wert für das Rotverhältnis ergeben. Alle Testpersonen, die an Messungen teilnahmen, hatten ihre Male im Gesicht. Leider standen nur vier Personen mit diesen Hautveränderungen als Testpersonen zur Verfügung, was die Statistik der Ergebnisse begrenzte. Dennoch läßt deutlich erkennen, daß der Mittelwert der Rotverhältnisse für die Haut mit Portweinmal unter dem für gesunde Haut liegt (Tabelle 4.4).

4.4.4 Zusammenfassung

Aus der Reflektanz im betrachteten Wellenlängenbereich läßt sich die Melaninkonzentration in der Haut bestimmen. Falls die Melaninkonzentration nicht zu hoch ist, lassen sich aus dem Verlauf der Spektren auch Schlüsse auf die relative Blutkonzentration von in der untersuchten Hautschicht ziehen. Die zwei hämoglobinrelatierten Minima und der Anstieg der Intensität zwischen 580 und 630 nm in den Reflexionsspektren sind für höhere effektive Blutkonzentrationen mit entsprechend höherem Anteil an Sauerstoff-beladenem Hämoglobin stärker ausgeprägt.

Mit Hilfe der Verhältnisse der Reflektanzen bei 550 nm und 650 nm konnte die Rötung der Haut abgeschätzt werden. Der errechnete Mittelwert für das Rotverhältnis der Haut mit Portweinmal liegt unter dem für gesunde Haut. Jedoch ist ein sicherer Befund nicht möglich, da die Rotverhältnisse unter Berücksichtigung der doppelten Standardabweichung leicht überlappen. Die Größe des statistischen Fehlers ist aber irreführend, da es sich um Mittelwerte verschiedener Personen handelt. Der Unterschied zwischen gesunder Haut und Portweinmal der selben Person wird als signifikant eingestuft, so daß die diffuse Reflexionspektroskopie für die Lagebestimmung von Portweinmalen grundsätzlich geeignet erscheint. Der Vergleich der diffusen Reflexion der gesunden Gesichtshaut mit der des Portweinmals für eine einzelne Person ist aber notwendig. Hierfür muß im nächsten Schritt der Untersuchungen festgestellt werden, wie sehr das Rückstreuungssignal zwischen verschiedenen Stellen im Gesicht variiert.

Ein weiterer vielversprechender Schritt wäre, ein ähnliches Modell wie in Kapitel 3 zur Beschreibung der Transmissionsspektren mit Hilfe der Exponentialfunktion zu entwickeln. Dadurch könnte dann auch hier ein weiter Bereich des Spektrums berücksichtigt werden, anstatt wie bei der Angabe des Rotverhältnisses nur zwei Wellenlängen zu berücksichtigen. Die Entwicklung eines solchen Modells ist für ein diffuses Reflexionsspektrum von Haut ein komplexeres Problem, da die Eindringtiefe der diffus reflektierten Photonen bekannt sein muß und der Aufbau der Haut genau beschrieben werden muß. Ein solches Modell wird als nächster Schritt in diesen Untersuchungen angestrebt. Damit könnten sämtliche im Spektrum enthaltenen Informationen errechnet werden. Die Möglichkeit zur Bestimmung der lateralen

Lage, der Tiefe und der Größe der das Portweimal verursachenden Blutgefäße wäre so gegeben.

Eine Diskussion der Spektren im Hinblick auf die Blutkonzentration und die Lage des Portweimal in der Haut erfolgt im nächsten Kapitel.

4.5 Simulationen

Mit Hilfe eines Programms für Monte Carlo Simulationen der Lichtausbreitung in Gewebe lassen sich Abhängigkeiten der Meßergebnisse von sonst unzugänglichen Parametern untersuchen. Im Rahmen dieses Projekts wurde ein solches Programm angewendet [17], um herauszufinden wie empfindlich die Rückstreuung auf Variationen der Tiefe und Dicke von Portweimalen reagiert. Es wurde ein deutlicher Einfluß der Tiefe des Portweimal auf die diffuse Reflexion gefunden.

4.5.1 Das Simulationsprogramm

Das Programm MCML (Monte Carlo Multi-Layered) ist auf das Problem der Photonenausbreitung in undurchsichtigen, vielschichtigen Medien zugeschnitten. Im Folgenden ist die Funktionsweise dieses Simulationsprogramms zusammengefaßt.

Die für die Simulationen benötigten Daten sind für jede Schicht der Brechungsindex (n), der Absorptionskoeffizient (μ_a), der Streukoeffizient (μ_s), der Asymmetriefaktor ($g = \langle \cos \theta \rangle$) und die Schichtdicke (d). Weiter muß die gewünschte Anzahl von Photonen festgelegt werden. Die verbesserte Statistik mit zunehmender Photonenzahl geht einher mit einer verlängerten Simulationszeit. Auch muß das betrachtete Medium für die Simulationen radial in konzentrische Zylinder frei wählbarer Radien und in z-Richtung in gleich hohe Abschnitte zerlegt werden. Es besteht die Möglichkeit eine Winkelauflösung der reflektierten und transmittierten Photonen zu erhalten. Hierfür muß die gewünschte Anzahl an Gitterelementen, in die der Winkel von 90° zwischen Normalen und Oberfläche des Mediums zerlegt werden soll, angegeben werden. In dieser Arbeit wurde auf diese verzichtet und die entsprechende Variable wurde zu eins gesetzt.

Das Programm arbeitet prinzipiell nach der Monte Carlo Methode, wie in Abschnitt 2.2.3 beschrieben. Jedes ausgesandte Photonenpaket wird mit einem Wichtungsfaktor versehen. Innerhalb jeder Schicht kann Streuung oder Absorption auftreten, an jeder Grenzschicht kann Reflexion oder Transmission erfolgen. Die Wahrscheinlichkeiten für jedes dieser Ereignisse wird ermittelt und der Wichtungsfaktor des Photonenpakets in jedem Wechselwirkungspunkt entsprechend verändert. Der Wichtungsfaktor besitzt für jedes Photonenpaket zu Beginn den Wert eins und wird nach jedem Schritt herabgesetzt. Fällt er unter einen Grenzwert von 0,0001 wird die Ausbreitung des Pakets beendet.

Ist eine Simulation abgeschlossen, können verschiedenste Größen als Resultat entnommen werden. Für diese Arbeit waren die folgenden von Bedeutung:

- die Spiegelreflektanz
- die totale diffuse Reflektanz
- die eindimensionale, radiale Verteilung der diffusen Reflektanz [$1/\text{cm}^2$]

Alle Photonen für die Simulationen werden in einem Punkt der Medienoberfläche ausgesendet. Bei den Experimenten wurde jedoch eine Fläche mit 0,5 cm Durchmesser ausgeleuchtet. Mit Hilfe eines Umwandlungsprogramms [17] lassen sich die Ergebnisse der Simulationen auf den real gegebenen Fall umrechnen.

4.5.2 Simulationen und Ergebnisse

Das für die Simulationen verwendete vierschichtige Medium ist in Abbildung 4.9 dargestellt. Der ersten Schicht entspricht die Epidermis, der zweiten und vierten die Dermis. Die dritte Schicht wird im folgenden vereinfachend als Portweinmal bezeichnet. Sie ist in die Dermis eingelagert und enthält einen erhöhten Blutanteil.

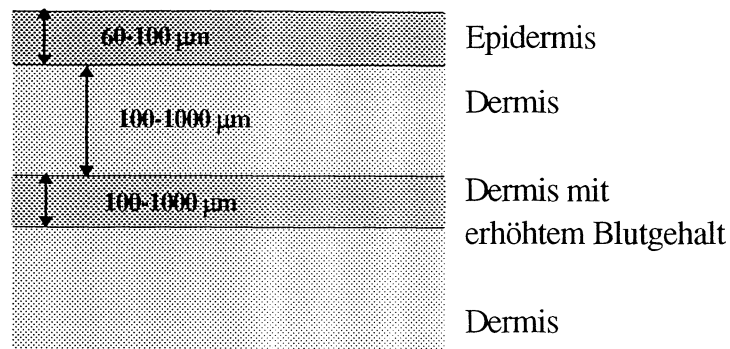


Abb.4.9: Das vierschichtige Modell der Haut zur Simulation des Einflusses eines Portweinglases auf das diffuse Reflexionsspektrum der Haut.

Bevor die Simulationen zum Einfluß eines Portweinglases auf die Reflektanz der Haut durchgeführt werden konnten, mußten die benötigten Daten aus der Literatur [31,32,43,59,60] zusammengesucht werden. Für den Vergleich von gemessenen Rückstreuintensitäten mit den Simulationsergebnissen waren Simulationen zu mehreren Wellenlängen zwischen 460 nm und 700 nm nötig. Deshalb wurden Angaben bezüglich eines Parameters für alle sechs verwendeten Wellenlängen jeweils aus derselben Veröffentlichung entnommen. Die Absorptionskoeffizienten für die sechs verschiedenen Wellenlängen für Epidermis, Dermis und Portweinglas wurden einzeln unter Verwendung der in Tabelle 4.5 gegebenen Formeln ermittelt. Dies brachte den Vorteil, die Blutkonzentration des Portweinglases und die Melaninkonzentration in der Epidermis gesondert behandeln zu können. Die Werte für die Streukoeffizienten des Portweinglases wurden mit einer weiteren Formel errechnet. Alle anderen benötigten Werte wurden direkt aus der Literatur übernommen.

Es wurde überprüft, welche Werte für Absorption und Streuung der verschiedenen Schichten der Haut zu akzeptablen Simulationsergebnissen für die Reflektanz führten. Zum Test der Werte wurden zuerst Simulationen für Haut ohne Portweinglas durchgeführt. Die Epidermis wurde als 60 µm dick und die Dermis als unendlich ausgedehnt angenommen. Mit den in Tabelle 4.5 aufgelisteten Werten stimmten die Ergebnisse für die Reflektanzen verschiedener Wellenlängen mit den Messungen für Gesichter gut überein (Abbildung 4.10 und 4.11). Abweichungen für gemessene und

simulierte Reflektanzen sind wie in Abschnitt 2.3 erläutert auf Fehler in den in der Literatur gegebenen Absorptionskoeffizienten, Streukoeffizienten und Asymmetriefaktoren zurückzuführen.

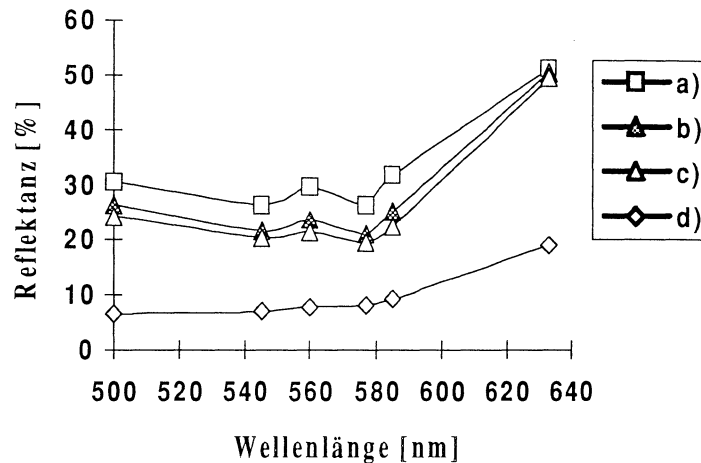


Abbildung 4.10: Ergebnisse der Simulationen für die Reflektanz von a) gesunder Haut, b) Haut mit Portweinmal mit 5 % Blutgehalt, c) Haut mit Portweinmal mit 10 % Blutgehalt und d) Haut mit hohem Melaninanteil.

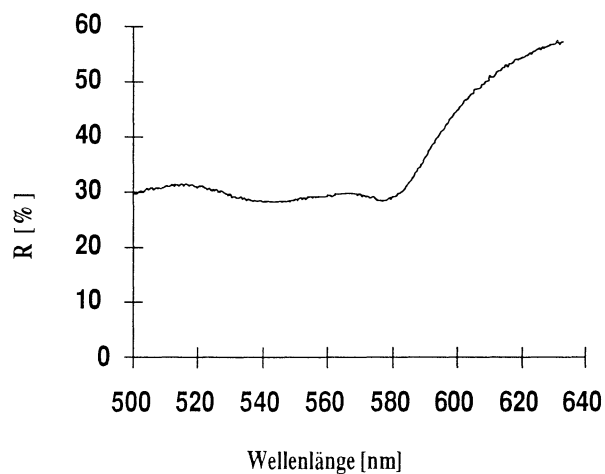


Abbildung 4.11: Rückstreuungsspektrum der Haut des Gesichtes eines Nordeuropäers.

Als nächstes wurde mit Hilfe des Umwandlungsprogramms getestet, inwieweit ein Vergleich der Meßergebnisse mit den Simulationen möglich ist, obwohl sich die simulierte und die experimentelle Beleuchtung der Proben unterschieden. In den

Simulationen werden die Photonen in einem Punkt eingestrahlt und alle Photonen, welche das Medium durch die Oberfläche wieder verlassen, in den Wert für die Reflektanz miteingerechnet. Bei den Messungen hingegen wurde eine Fläche mit 0,5 cm Durchmesser ausgeleuchtet und die reflektierten Photonen von einer Fläche mit 2,2 cm Durchmesser detektiert. Aus diesem Grund wurde die radiale Verteilung der diffus reflektierten Strahlung in diesem Radius für eine Wellenlänge mit großer Penetration im Gewebe genauer betrachtet. Hiefür wurde ein Simulationsergebnis für die radiale Verteilung der diffusen Reflektanz bei 633 nm für eine Ausleuchtung mit einem Gaußschen Profil und 0,25 cm Radius umgerechnet. Die jeweilige Verteilung der Intensität des reflektierten Lichtes in Abhängigkeit vom Radius ist in Abbildung 4.12 gezeigt. Es ist zu erkennen, daß die Intensität der Rückstreuung außerhalb des betrachteten Radius vernachlässigbar ist. Dies erlaubt Schlüsse von den Simulationsergebnissen auf die Meßergebnisse und belegt, daß das diffus von der Haut reflektierte Licht bei den Experimenten für alle Wellenlängen nahezu verlustfrei detektiert wurde.

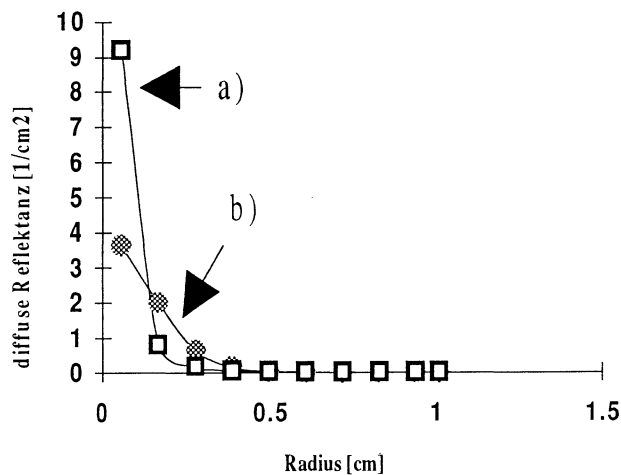


Abbildung 4.12: Radiale Verteilung der Intensität des diffus reflektierten Lichtes. a) Bei Einstrahlung des Lichtes in einem Punkt. b) Bei Beleuchtung einer Fläche von 0,5 cm Durchmesser mit Gaußscher Strahlungsverteilung.

Als nächstes wurde untersucht, welchen Einfluß eine erhöhte Melaninkonzentration in der Epidermis hat, wie sie für Afrikaner gegeben gegeben ist. Das Ergebnis ist ebenfalls in Abbildung 4.10 zu sehen. Es ist konsistent mit dem in Abbildung 4.5 gezeigten Meßergebnis.

Tabelle 4.5: Verwendete Formeln und Werte für die Monte Carlo Simulationen.

Parameter	Erklärung	Formel	eingesetzte Werte für die Wellenlängen [nm]						Referenzen
			500	545	560	577	585	633	
$\mu_{a,E}$	Absorptionskoeffizient der Epidermis	$\mu_{a,E} = \mu_{a,m} + \mu_{a,b}B_E + \mu_{a,n}$							[43]
$\mu_{a,D}$	Absorptionskoeffizient der Dermis	$\mu_{a,D} = \mu_{a,b}B_D + \mu_{a,n}$							[43]
$\mu_{a,PWS}$	Absorptionskoeffizient des Portweinnmals	$\mu_{a,PWS} = \mu_{a,b}B_{PWS} + \mu_{a,n}(1 - B_{PWS})$							[43]
$\mu_{a,b}$	Absorptionskoeffizient von Blut		115	320	196	354	161	3	[61]
$\mu_{a,m}$	Absorptionskoeffizient von Melanin		25,09	20,36	18,61	16,83	15,59	8,41	[31]
$\mu_{a,n}$	Absorptionskoeffizient von blut- und melaninleerem Gewebe		0,25 cm (entspricht der Absorption des menschlichen Auges im Wellenlängenbereich von 600 nm bis 900 nm)						[43]
B_E	Blutanteil in der Epidermis		0,2 %						[31,43]
B_D	Blutanteil in der Dermis		1 %						[43]
B_{PWS}	Blutanteil im Portweinmal		5 %, 10 %						[43,62]
$\mu_{s,E}$	Streukoeffizient der Epidermis		590	500	490	480	470	500	[31,32]
$\mu_{s,D}$	Streukoeffizient der Dermis		255	230	220	210	205	187	[31,32]
$\mu_{s,PWS}$	Streukoeffizient des Portweinnmals	$\mu_{s,PWS} = \mu_{s,D}(1 - B_{PWS}) + \mu_{s,b}B_{PWS}$							[43]
g	Asymmetriefaktor für Epidermis und Dermis		0,76	0,78	0,785	0,787	0,79	0,82	[31,32]
g	Asymmetriefaktor für Blut		0,995	0,995	0,995	0,995	0,995	0,995	[31,32,60]
n	Brechungsindex für Epidermis und Dermis		1,37						[31]

Bei den Simulationen für das Modell mit Portweinmal wurde in folgender Weise vorgegangen. Das Portweinmal wurde in einer Tiefe von 200 μm unter der Hautoberfläche angenommen. Für die Epidermis wurde die Dicke 60 μm beibehalten [31,43,62]. Es wurde die Reflektanz von Haut mit einem Portweinmal mit 5 % Blutgehalt und von Haut mit einem Portweinmal mit 10 % Blutgehalt ermittelt. Die erhaltenen Werte für sechs Wellenlängen sind ebenfalls in Abbildung 4.10 gezeigt. Man erkennt einen deutlichen Unterschied der Reflektanz für normale Haut und Haut mit Portweinmal. Der Verlauf der Spektren ergibt sich wie erwartet, wenn man den Absorptionskoeffizienten für Sauerstoff-beladenes Hämoglobin in Abhängigkeit von der Wellenlänge betrachtet (Abbildung 4.7). Der Einfluß der zusätzlichen Schicht mit erhöhtem Blutgehalt ist im Wellenlängenbereich bis 620 nm wichtig und sollte für 633 nm kaum ins Gewicht fallen. Dies ist in den Spektren in Abbildung 4.10 gegeben.

Nachdem diese Übereinstimmung erhalten worden war, konnten die eigentlich beabsichtigten Simulationen begonnen werden. Es wurden Simulationen durchgeführt, in denen die Dicke der dem Portweinmal mit 5 % Blutgehalt entsprechenden Schicht bei gleichbleibender Schichtdicke der darüberliegenden Epidermis und Dermis verändert wurde. In Abbildung 4.12 sind die Ergebnisse gezeigt. Man sieht, daß die Dicke sowohl bei 545 nm als auch bei 633 nm nur einen geringen Einfluß auf die Reflektanz hat.

Anschließend wurde die Tiefe in der sich das Portweinmal mit 5 % Blutgehalt befinden sollte variiert. Dieses wurde durch Ändern der Schichtdicke der darüberliegenden Dermis erreicht. Für das Portweinmal wurde eine Dicke von 500 μm Dicke angenommen. Die Ergebnisse dieser Simulationen sind in Abbildung 4.13 gezeigt. Hier ist ein deutlicher Einfluß der Tiefe des Portweinmals in der Haut auf die Reflektanz bei 545 nm zu erkennen. Bei 0,2 mm ist die Reflektanz ca. 21 % und bei 1 mm Tiefe auf ca. 26 % angestiegen. Ab einer Tiefe von ca. 0,8 mm wird der Einfluß vernachlässigbar. Bei 633 nm ist der Einfluß gering und liegt in der gleich Größenordnung, wie der der Dicke.

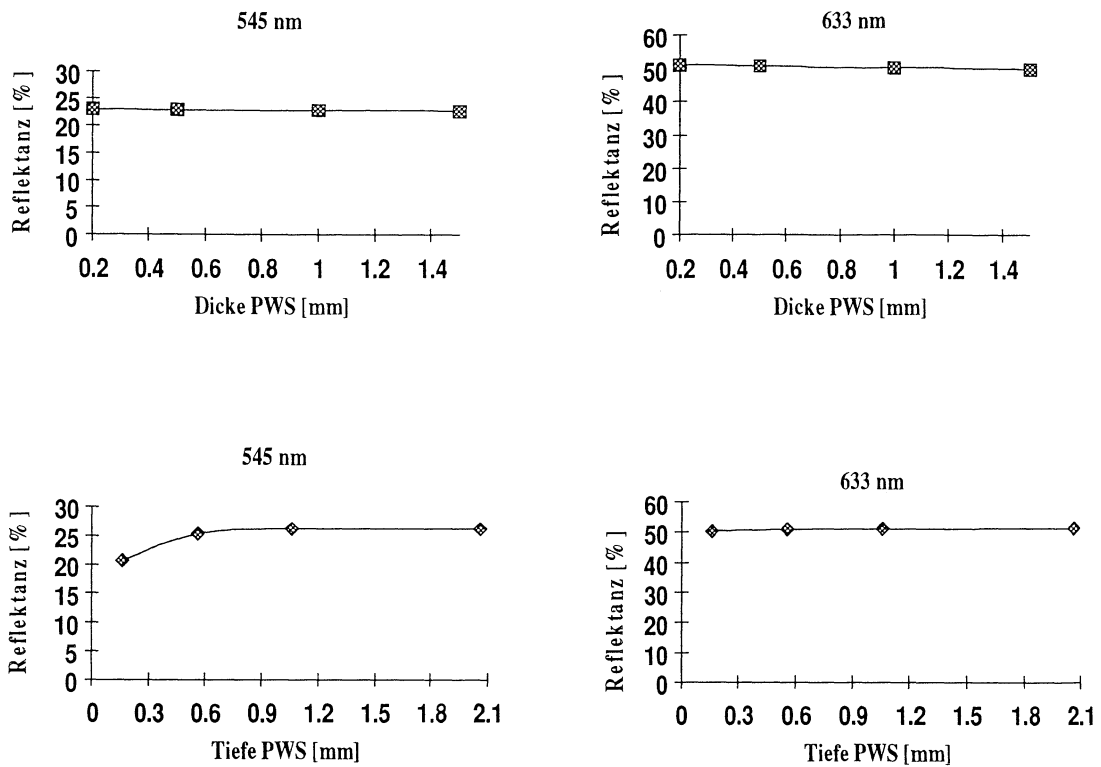


Abbildung 4.13: Abhängigkeit der Reflektanz bei 545 nm und 633 nm von der Dicke eines Portweimalms und der Tiefe eines Portweimalms.

4.5.3 Schlußfolgerungen

Durch die Simulationen zur Lage eines Portweimalms in der Haut wurde ein Einfluß der Tiefe auf die Reflektanz gefunden. Die Tiefe im Bereich von 0,2 mm bis 1 mm unter der Hautoberfläche hat einen deutlichen Einfluß auf die Reflektanz bei 545 nm, der sich bei höherem Blutgehalt noch verstärkt. Das in Kapitel 4.4.3 beschriebene Rotverhältnis ist folglich abhängig von der Tiefe (bis ca. 1 mm) und dem Blutgehalt eines Portweimalms. Ein tiefer liegendes Mal erscheint weniger rot, als eines das dichter unter der Hautoberfläche liegt. Dieser Effekt nimmt mit steigendem Blutgehalt zu. Ab ca. 1 mm Tiefe haben weder Blutvolumen noch Tiefe einen Einfluß auf das Reflexionssignal. Dies ist damit zu erklären, daß in dem Rückstreusignal kaum Informationen über diese Tiefen enthalten sind. Von Biopsien weiß man, daß ein Portweimal für Kinder typisch bis 0,5 mm und für Erwachsene typisch zwischen 0,2

mm und 1 mm Tiefe zu finden ist. Im relevanten Tiefenbereich kann die Reflektanz also Informationen über die Lage, nicht aber über die Dicke, von Portweinmalen liefern.

Abschließend sollte noch erwähnt werden, daß kürzlich bei Simulationen bei denen diskrete Blutgefäße anstatt einer Schicht mit homogen erhöhtem Blutgehalt angenommen wurden, detailliertere Informationen erhalten werden konnten. Es wurde ein Einfluß der Blutgefäßgröße auf die Reflektanz gefunden [61]. Dieser Einfluß liegt an dem zuvor beschriebenen effektiven Blutvolumen, welches bei Rückstreumessungen untersucht wird.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß ein Spektrum der diffusen Reflexion von Haut Informationen über ein Portweinmal enthält. Es sind jedoch keine verallgemeinerten Schlüsse aus einem Spektrum an Haut mit Portweinmal möglich, sondern es müssen individuell Vergleichsspektren aufgenommen werden. Es erscheint weiter möglich die Auswertung der Spektren durch das Anpassen mit einer die gesuchten Parameter enthaltenden Funktion deutlich verbessern zu können. Das Ermitteln einer solchen Funktion ist als nächster Schritt in diesen Untersuchungen geplant.

5 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit werden zwei Möglichkeiten der Verwendung kontinuierlichen Lichtes im sichtbaren bis nahen infraroten Spektralbereich zur Diagnose verschiedener Krankheitssymptome untersucht. Es handelt sich dabei um Transmissionsmessungen im Wellenlängenbereich zwischen 700 nm und 940 nm zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes von Blut und um diffuse Reflexionsmessungen im Wellenlängenbereich von 460 nm bis 700 nm zur Bestimmung der Lage eines Portweimalms in der Haut.

Zur Messung des Sauerstoffgehaltes in Blut wurden die Zeigefingerspitzen verschiedener Personen mit dem Licht einer Halogenlampe durchleuchtet. Der benötigte Meßaufbau wurde im Rahmen der Arbeit entwickelt. Die erhaltenen Transmissionspektren wurden durch Anpassen einer auf dem Lambert-Beerschen Gesetz basierenden Funktion ausgewertet. Auf diese Weise konnten sowohl relative Konzentrationen für Sauerstoff-beladenes Hämoglobin, Sauerstoff-freies Hämoglobin und Melanin errechnet werden als auch prozentuale Veränderungen des Sauerstoffgehaltes im Blut ermittelt werden. Die erhaltenen Daten sind jedoch mit Unsicherheiten behaftet, welche ausführlich diskutiert werden. Möglichkeiten zur Verbesserung werden vorgeschlagen.

Bei den Untersuchungen zur Diagnose von Portweimalen wurden die Rückstreuintensitäten der Haut unter Verwendung einer Ulbrichtkugel untersucht. Ein bestehender Aufbau wurde hierzu grundlegend verändert, um ihn an die besonderen Anforderungen, die Messungen an Personen stellen, anzupassen. Durch Messungen an geeigneten Phantomen für menschliches Gewebe wurde bestätigt, daß der Aufbau zuverlässige Ergebnisse liefert. Durch diffuse Reflexionsmessungen an gesunder Haut wurde ein grundsätzliches Verständnis der Reflexionsspektren erlangt. Es wurde ein deutlicher Einfluß der Melaninkonzentration in der Epidermis und der Blutkonzentration in Haut gefunden. Im Hauptteil des Projekts wurde die diffuse Reflexion normaler Haut mit der von Portweimalen verglichen. Durch die Bestimmung eines sogenannten Rotverhältnisses aus den Rückstreuintensitäten bei

550 nm und 650 nm konnte der Rötungsgrad von Portweinalen quantifiziert werden. Trotz eines deutlichen Trends kann aufgrund der Variationen von Person zu Person kein absolutes Kriterium für die Diagnose eines Portweinals angegeben werden. Individuelle Vergleichsspektren von Hautregionen der gleichen Person mit vergleichbarem Rückstreuverhalten sind notwendig für die Bestimmung der lateralen Lage eines Portweinals. Für die Verwendung der Rückstreuspektroskopie zur vertikalen Lagebestimmung von Portweinalen muß die Reflektanz von der Tiefe des Mals abhängen. Bei Monte Carlo Simulationen der Reflektanz für ein vierschichtiges Modell der Haut wurde ein deutlicher Einfluß der Tiefe der dem Portweinal entsprechenden Schicht gefunden. Der Einfluß ist desto stärker, je höher die angenommene Blutkonzentration in dieser Schicht ist. Die Information über sowohl die laterale Lage, als auch die vertikale Lage eines Portweinals sind folglich in den diffusen Reflexionsspektren enthalten. Im nächsten Schritt sollte untersucht werden, ob diese Informationen durch Auswerten des gesamten Spektrums entnommen werden können. Dazu könnte ein ähnliches Modell wie es in dieser Arbeit bei der Bestimmung des Sauerstoffgehaltes in Blut verwendet wurde hilfreich sein.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] K. Svanberg, The interaction of laser light with tissue - fluorescence diagnosis of tumours and atherosclerotic lesions and photochemical treatment, Dissertation thesis, Lund University Hospital, Department of Internal Medicine and Department of Oncology, (1989).
- [2] M. Cutler, Transilluminating as an aid in the diagnosis of breast lesions, *Surg. Gynecol. Obstet.* **48**, 721-728 (1929).
- [3] N.R. Finsen, Phototherapy, *Eward Arnolds, London* (1901).
- [4] V.V. Tuchin, Lasers and Fiber Optics in Biomedicine, *Laser Physics* **3**, 767-820 (1993).
- [5] R. Berg, Laser-based cancer diagnostics and therapy - Tissue optics considerations, Dissertation thesis, Lund Institute of Technology, (1995).
- [6] S. Andersson-Engels, Laser-induced fluorescence for medical diagnostics, Dissertation thesis, Lund Institute of Technology, *Lund Reports on Atomic Physics LRAP-108*, (1989).
- [7] S. Svanberg, Atomic and molecular spectroscopy, (Springer Verlag, Heidelberg, Germany, 1992).
- [8] M. Keijzer, Light transport for medical laser treatments, Ph.D. Thesis, (1993).
- [9] R. Marbach and H.M. Heise, Optical diffuse reflectance accessory for measurements of skin tissue by near-infrared spectroscopy, *Appl. Opt.* **34**, 610-621 (1995).
- [10] L.G. Henyey and J.L. Greenstein, Diffuse radiation in the galaxy, *Astrophysics Journal* **93**, 70-83 (1941).
- [11] P. Kubelka, New contributions to the optics of intensely light-scattering materials. Part I, *J. Opt. Soc. Am.* **38**, 448-457 (1948).
- [12] A. Ishimaru, Wave propagation and scattering in random media, (Academic press, New York, 1978).
- [13] A. Ishimaru, Diffusion of light in turbid material, *Appl. Opt.* **28**, 2210-2215 (1989).

- [14] K.M. Case, Elementary solutions of the transport equation and their applications, *Annals of Physics* **9**, 1-23 (1960).
- [15] P.S. Andersson, J. Johansson, E. Kjellén, S. Montán, K. Svanberg and S. Svanberg, Diagnostics of cancer tumours and atherosclerotic plaque using laser-induced fluorescence, in *Laser Spectroscopy VIII*, Springer Series in Optical Sciences **55**, eds. W. Persson and S. Svanberg, pp. 372-373 (Springer Verlag, Heidelberg, Germany, 1987). (Invited paper).
- [16] B.C. Wilson, M.S. Patterson, S.T. Flock and D.R. Wyman, Tissue optical properties in relation to light propagation models and in vivo dosimetry, in *Photon migration in tissue*, ed. B. Chance, pp. 24-42 (Plenum, New York, 1989).
- [17] L. Wang and S.L. Jacques, Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues in standard C, (1992).
- [18] R.F. Bonner, R. Nossal, S. Havlin and G.H. Weiss, Model for photon migration in turbid biological media, *J. Opt. Soc. Am. A* **4**, 423-432 (1987).
- [19] M. Swift, D. Morrell, R.B. Massey and C.L. Chase, Incidence of cancer in 161 families affected by ataxia-telangiectasia, *New Engl. J. Med.* **325**, 1831-1836 (1991).
- [20] A.H. Gandjbakhche, R. Nossal and R.F. Bonner, Scaling relationships for theories of anisotropic random walks applied to tissue optics, *Appl. Opt.* **32**, 504-516 (1993).
- [21] J. Wu, F. Partovi, M.S. Feld and R.P. Rava, Diffuse reflectance from turbid media: an analytical model of photon migration, *Appl. Opt.* **32**, 1115-1121 (1993).
- [22] B.C. Wilson and S.L. Jacques, Optical Reflectance and Transmittance of Tissues: Principles and Applications, *IEEE J. Quant. Electr.* **26**, 2186-2199 (1990).
- [23] R. Graaf, A.C.M. Dassel, M.H. Koelink, F.F.M. de Mul, J.G. Aarnoudse and W.G. Zijlstra, Optical properties of human dermis *in vitro* and *in vivo*, *Appl. Opt.* **32**, 435-447 (1993).

- [24] A.M.K. Nilsson, R. Berg and S. Andersson-Engels, Measurements of the optical properties of tissue in conjunction with photodynamic therapy, *Appl. Opt.* **34**, 4609-4619 (1995).
- [25] A.M.K. Nilsson, R. Berg and S. Andersson-Engels, Integrating sphere measurements of tissue optical properties for accurate PDT dosimetry, *SPIE* **2323**, (1994).
- [26] J.W. Pickering, S.A. Prahl, N. van Wieringen, J.F. Beek, H.J.C.M. Sterenborg and M.J.C. van Gemert, Double-integrating-sphere system for measuring the optical properties of tissue, *Appl. Opt.* **32**, 399-410 (1993).
- [27] I.A. Vitkin, B.C. Wilson and R.R. Anderson, Analysis of layered scattering materials by pulsed photothermal radiometry: application to photon propagation in tissue, *Appl. Opt.* **34**, 2973-2982 (1995).
- [28] S.A. Prahl, I.A. Vitkin, U. Bruggemann, B.C. Wilson and R.R. Anderson, Determination of optical properties of turbid media using pulsed photothermal radiometry, *Phys. Med. Biol.* **37**, 1203-1217 (1992).
- [29] F.W. Cross, R.K. Al Dahir, P.E. Dyer and A.J. MacRobert, Time-resolved photoacoustic studies of vascular tissue ablation at three laser wavelengths, *Appl. Phys. Lett.* **50**, 1019-1031 (1987).
- [30] W.F. Cheong, S.A. Prahl and A.J. Welch, A review of the optical properties of biological tissues, *IEEE J. Quant. Electr.* **26**, 2166-2185 (1990).
- [31] M.J.C. van Gemert, J.W. Pickering and A.J. Welch, Modeling laser treatment of port-wine stains, in *Management and treatment of benign cutaneous vascular lesions*, ed. O.T. Tan, pp. 24-47 (Lea & Febiger, Philadelphia, 1992).
- [32] W. Verkruyse, J.W. Pickering, J.F. Beek, M. Keijzer and M.J.C. van Gemert, Modelling the effect of wavelength on the pulsed dye laser treatment of port wine stains, *Appl. Opt.* **32**, 393-398 (1993).
- [33] L. Streyer, *Biochemistry*, (W.H. Freeman and Company, New York, USA, 1988).
- [34] D.A. Benaron, W.E. Benitz, R.L. Ariagno and D.K. Stevenson, Noninvasive Methods for Estimating In Vivo Oxygenation, *Clin. Ped.* **31**, 258-273 (1992).

- [35] M. Cope and D.T. Delpy, 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).
- [36] S. Silbernagel, A. Despopoulos, dtv-Atlas der Physiologie, (Deutscher Taschenbuch Verlag, Germany, 1991).
- [37] M. Cope, P. van der Zee, M. Essenpreis, S.R. Arridge and D.T. Delpy, Data analysis methods for near infrared spectroscopy of tissue: problems in determining the relative cytochrome aa₃ concentration, *SPIE* 1431-1438 (1995).
- [38] M.S. Patterson, B. Chance and B.C. Wilson, Time resolved reflectance and transmittance for the non-invasive measurement of optical properties, *Appl. Opt.* **28**, 2331-2336 (1989).
- [39] S. Wray, M. Cope, D.T. Delpy, J.S. Wyatt and E.O.R. Reynolds, Characterization of the near infrared absorption spectra of cytochrome aa₃ and haemoglobin for the non-invasive monitoring of cerebral oxygenation, *Biochim. Biophys. Acta* **933**, 184-192 (1988).
- [40] J.R. Collins, Change in the infrared absorption spectrum of water with temperature, *Phys. Rev.* **26**, 771-779 (1925).
- [41] S.A. Sullivan, Experimental study of the absorption in distilled water, artificial sea water, and heavy water in the visible region of the spectrum, *J. Opt. Soc. Am.* **53**, 962-968 (1963).
- [42] W. Verkruyse, M.A. Trelles, J.W. Pickering, M. Vélez and J. Rigau, Port-wine stain treatment is wavelength independent in the range 488-620 nm using 200-ms pulses, *Lasers Med. Sci.* **9**, 91-98 (1994).
- [43] L.O. Svaasand, L.T. Norvang, E.J. Fiskerstrand, E.K.S. Stopps, M.W. Berns and J.S. Nelson, Tissue parameters determining the visual appearance of normal skin and port-wine stains, *Lasers Med. Sci.* **10**, 55-65 (1995).
- [44] N. Kahn, J. Hamblton, P.G. Shakespeare and J.A.S. Carruth, Assessing argon laser therapy of port-wine stains, *Lasers Med. Sci.* **9**, 81-89 (1994).
- [45] L.P. Gartner, L.H. James, Color atlas of histology, (William & Wilkins, Baltimore, 1994).
- [46] L.C. Junqueira, J. Carneiro and J.A. Long, Basic histology, (LANGE Medical Publications, Los Altos, California, 1986).

- [47] M.J.C. van Gemert, A.J. Welch, J.W. Pickering, O.T. Tan and G.H.M. Gijbbers, Wavelength for laser treatment of port wine stains and telangiectasia, *Lasers Surg. Med.* **16**, 147-155 (1995).
- [48] J.S. Nelson, T.E. Milner, L.O. Svaasand and S. Kimel, Laser pulse duration must match the estimated thermal relaxation time for successful photothermolysis of blood vessels, *Lasers Med. Sci.* **10**, 9-12 (1995).
- [49] O.T. Tan, P. Morrison and A.K. Kurban, 585 nm for the treatment of port-wine stains, *Plast. Reconstr. Surg.* **86**, 1112-1117 (1990).
- [50] H.J. van Staveren, C.J.M. Moes, J. van Marle, S.A. Prahl and M.J.C. van Gemert, Light scattering in Intralipid-10 % in the wavelength range of 400-1100 nm, *Appl. Opt.* **30**, 4507-4514 (1991).
- [51] S.T. Flock, S.L. Jacques, B.C. Wilson, W.M. Star and M.J.C. van Gemert, Optical properties of Intralipid: A phantom medium for light propagation studies, *Lasers Surg. Med.* **12**, 510-519 (1992).
- [52] S.J. Madsen, M.S. Patterson and B.C. Wilson, The use of india ink as an optical absorber in tissue-simulating phantoms, *Phys. Med. Biol.* **37**, 985-993 (1992).
- [53] S.J. Madsen, B.C. Wilson, M.S. Patterson, Y.D. Park, S.L. Jacques and Y. Hefetz, Experimental tests of a simple diffusion model for the estimation of scattering and absorption coefficients of turbid media from time-resolved diffuse reflectance measure, *Appl. Opt.* **31**, 3509-3517 (1992).
- [54] S.T. Flock, B.C. Wilson and M.S. Patterson, Total attenuation coefficients and scattering phase functions of tissues and phantom materials at 633 nm, *Med. Phys.* **14**, 835-841 (1987).
- [55] S.T. Flock, B.C. Wilson, M.S. Patterson and D.R. Wyman, Monte Carlo Modeling of Light Propagation in Highly Scattering Tissues-I: Model predictions and comparison with diffusion theory, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **36**, 1162-1168 (1989).
- [56] S.L. Jacques and S.T. Flock, Effect of surface boundary on time-resolved reflectance: measurements with a prototype endoscopic catheter, *SPIE Time-Resolved Spectroscopy and Imaging of Tissue* **1431**, (1991).

- [57] J.C. Fisher, Photons, psychiatrists, and physicians: a practical guide to understanding laser light interaction with living tissue, part I, *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* **10**, 419-426 (1996).
- [58] K.M. Sekins, A.F. Emery, Thermal science for physical medicine, in *Therapeutic heat and cold*, ed. J.F. Lehmann, pp. 70-132 (Williams & Wilkins, Baltimore, 1982).
- [59] V.V. Tuchin, S.R. Utz and I.V. Yaroslavsky, Tissue optics light distribution and spectroscopy, *Opt. Eng.* **33**, 3178-3188 (1994).
- [60] M.J.C. van Gemert, S.L. Jacques, H.J.C.M. Sterenborg and W.M. Star, Skin Optics, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **36**, 1146-1155 (1989).
- [61] W. Verkruijsse, G.W. Lucassen and M.J.C. van Gemert, Discrete vessel versus homogeneous distribution of blood in PWS modelling, *BiOS Europe '95*, Barcelona, Spain, September 12-16, 1995.
- [62] O. Lankmaker, J.W. Pickering and M.J.C. van Gemert, Modeling the color perception of port wine stains and its relation to the depth of laser coagulated blood vessels, *Lasers Surg. Med.* **13**, 219-226 (1993).

DANK

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bedanken bei

Prof. Dr. Alfred Laubereau für die Möglichkeit, meine Diplomarbeit im Ausland durchzuführen und die engagierte Betreuung über die Distanz hinweg

Prof. Sune Svanberg für die freundliche Aufnahme als Gast an seinem Lehrstuhl

Stefan Andersson-Engels für die sehr freundliche Aufnahme in der Gruppe, für die Überlassung von interessanten Themen und die Einführung in die experimentelle Arbeit

Annika Nilsson für geduldiges Beantworten aller meiner Fragen, Claes af Klinteberg für Hilfe bei allen Computerproblemen und bei allen Mitgliedern der Medizingruppe für die gute Atmosphäre und die nette Unterstützung

Heiner Linke für geduldiges Lesen und Korrigieren meiner Diplomarbeit und für eine kontinuierliche Versorgung mit leckeren Abendessen

Annika, Josefine, Sarah, Richard, Peter, Heiner, Eva und Peter für graue Plastiktüten, flying teaspoons, Irish coffee, tote Enten, Färste und vieles mehr, was mir die Zeit in Lund unvergeßlich macht

Mami, Sendy und Philipp für all die Schokolade und daß sie mich nicht vergessen haben.

punktslut