Entwicklung eines dynamischen Gewebephantoms zur Validierung von NIRS - Systemen

Masterarbeit

Studiengang Applied Physics

RheinAhrCampus Remagen Fachhochschule Koblenz

vorgelegt von

Christian Schmickler geb. am 05.06.1982 in Bad Neuenahr

Erstprüfer: Zweitprüferin: Prof. Dr. Matthias Kohl-Bareis Priv. Doz. Dr.rer.nat. Jochen Zange

Remagen, Januar 2012

Kurzfassung

Die hier vorgestellte Masterthesis befasst sich mit der Entwicklung, dem Bau und den anschließenden Messungen eines dynamischen Gewebephantoms. Da es für den Einsatz in der Nahinfrarotspektroskopie am Menschen konzipiert wurde, lag der Fokus bei der Entwicklung darauf, die optischen Eigenschaften menschlichen Gewebes, insbesondere von Muskelgewebe, möglichst genau nachzubilden. Durch das Gewebephantom soll die Möglichkeit gegeben werden Nahinfrarotspektrometer zu validieren und eventuelle Mängel aufzuspüren, außerdem soll es dabei helfen diese gegebenenfalls zu beseitigen und die Systeme daraufhin zu optimieren.

Diese Arbeit entstand in einer Kooperation des RheinAhrCampus, an dem die hier verwendeten NIRS – Systeme entwickelt wurden, und dem DLR, dem Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt, wo der Bau und die Messungen am Gewebephantom stattfanden.

Schlagwörter: Nahinfrarotspektroskopie, Gewebephantom, Muskelgewebe, RheinAhr-Campus, Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt

Abstract

The content of this Master thesis is the development, the construction and the measurements of a dynamic tissue phantom. It is conceived for the use in the near infrared spectroscopy at humans, so its development focus was to be as close as possible on the optical properties of human tissue, especially the muscle tissue. With this model, it should be possible to validate a near infrared spectrometer and if some faults were found, eventually to abolish them and improve the system.

This work is a result of a cooperation between the RheinAhrCampus, where the here used NIRS – systems were developed, and the DLR, the German Aerospace Center, where the construction and the measurements took place.

Keywords: near infrared spectroscopy, tissue phantom, muscle tissue, RheinAhrCampus, German Aerospace Center

Inhaltsverzeichnis

Kurzfa	assung	. 2			
Abstra	act	. 2			
Inhalt	Inhaltsverzeichnis				
Abbil	dungsverzeichnis	. 5			
Tabel	enverzeichnis	. 8			
Abküı	rzungsverzeichnis	.9			
Danks	sagung	10			
1	Einleitung	11			
1.1	Über das DLR	13			
2	Grundlagen	14			
2.1	Biologische Grundlagen	14			
2.1.1	Menschliches Blut	14			
2.1.2	Erythrozyten	14			
2.1.3	Hämoglobin	15			
2.1.4	Methämoglobin	17			
2.1.5	Myoglobin	18			
2.1.6	Haut	19			
2.1.7	Muskelgewebe	20			
2.2	Wechselwirkung von Licht und Gewebe	21			
2.2.1	Absorption	21			
2.2.2	Streuung	24			
2.2.3	Differenzenspektrosopie	25			
2.2.4	4 Räumlich aufgelöste Spektroskopiemethode				
3	Material und Methoden	28			
3.1	Blut	28			
3.2	Krebs-Henseleit Puffer	29			
3.3	D – Glukose	30			
3.4	Intralipid	30			
3.5	Fettgewebe	31			
4	Komponenten und Aufbau des Gewebephantoms	32			
4.1	Mischkammer	32			

4.2	Messkammer	33
4.2.1	Alternative Konfiguration	35
4.3	Schläuche und Rollpumpe	37
4.4	Gase	37
4.5	Wasserbad	40
4.6	Verwendete Sensoren	40
4.6.1	Oxi 197i	40
4.6.2	StirrOx G	40
4.6.3	BB-NIRSvI & BB-NIRSvII	42
5	Messungen	44
5.1	Probandenmessungen für Referenzdaten	44
5.2	Variation der Eindringtiefe am Gewebephantom	52
5.3	Messung unterschiedlicher Fettschichtdicken am Gewebephantom	59
5.4	Abgleich mit pO ₂ Sensor	63
6	Diskussion	68
7	Ausblick	70
7.1	Simulation von Haut und Knochen	70
7.2	Genauere Dosierung der Gase mit Hilfe von Gasmischpumpen	71
7.3	Mehrschichtphantom	71
7.4	Gelphantom mit Konzentrationsgradient	72
8	Quellen	73
Selbs	tständigkeitserklärung	76
9	Anhang	77
9.1	Misserfolge	77
9.1.1	Triton X-100	77
9.1.2	Cystein/Methämoglobinpulver	80
9.2	Bemaßungen der Mischkammer in Normalprojektion:	81
9.3	MatLab – Plots	84

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1.1.1: Luftaufnahme des DLR Standorts in Köln [2]
- Abbildung 2.1.2.1: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Erythrozyten [6]
- Abbildung 2.1.3.1: Bändermodell Hämoglobin [7]
- Abbildung 2.1.3.2: Strukturformel von Hämoglobin [7]
- Abbildung 2.1.3.3: S förmiger Verlauf der Sauerstoffbindungskurve [8]
- Abbildung 2.1.5.1: Sauerstoffbindungskurven von Hämoglobin und Myoglobin [11]
- Abbildung 2.1.6.1: Aufbau der Haut im schematischen Querschnitt [12]
- Abbildung 2.2.1: Lichtspektrum [15]
- Abbildung 2.2.1.1: Absorptionsspektren der wichtigsten Absorber im menschlichen Gewebe [18]
- Abbildung 2.2.2.1: Verschiedene Anisotropiefaktoren und ihr Einfluss auf die Streuung [22]
- Abbildung 4.1.1: Erlenmeyerkolben als Mischkammer
- Abbildung 4.2.1: Gehäuse der Messkammer im ursprünglichen Zustand ohne jede Modifikation [28]
- Abbildung 4.2.2: Messkammer mit Modifikationen.
- Abbildung 4.2.3: Deckel der modifizierten Messbox mit angeschlossenem NIRS
- Abbildung 4.2.1.4: Gehäusedeckel der Messkammer des Gewebephantoms in unterschiedlichen Konfigurationen.
- Abbildung 4.4.1: Erlenmeyerkolben mit Phantomlösung in unterschiedlichen Zu ständen der Sauerstoffsättigung
- Abbildung 4.4.2: Verlauf einer Messung am Gewebephantom exemplarisch dargestellt
- Abbildung 4.6.2.1: Darstellung der verwendeten Sauerstoffpartialdruckelektrode *StirrOx G* der Firma *WTW* [32]
- Abbildung 5.1.1: Skelettmuskulatur des Menschen [36]
- Abbildung 5.1.2: Musculus gastrocnemius medialis [36]
- Abbildung 5.1.3: Bestimmung der Schichtdicke des Fettgewebes per Ultraschall

Abbildung 5.1.4:	Proband mit geführter Langhantelstange
Abbildung 5.1.5:	Verlauf der Kraftübung, gemessen am Musculus gastrocnemius- medialis
Abbildung 5.1.6:	Sauerstoffsättigungen des Musculus gastrocnemius medialis
Abbildung 5.1.7:	Änderungen in der prozentualen Sauerstoffsättigungen der Probanden 1 bis 6
Abbildung 5.2.1:	Stufenartiger Verlauf der Konzentration von totHb (Messung ohne Fett)
Abbildung 5.2.2:	Stufenartiger Verlauf der Konzentration von totHb (Messung ohne Fett)
Abbildung 5.2.3:	Stufenartiger Verlauf der Konzentration von totHb (Messung mit Fett)
Abbildung 5.2.4:	Stufenartiger Verlauf der Konzentration von totHb (Messung mit Fett)
Abbildung 5.2.5:	Die gemessene Sauerstoffkonzentration ändert sich in Abhängig- keit von der maximalen Eindringtiefe (oxygenierte Lösung)
Abbildung 5.2.6:	Die gemessene Sauerstoffkonzentration ändert sich in Abhängig- keit von der maximalen Eindringtiefe (deoxygenierte Lösung)
Abbildung 5.2.7:	Prozentuale Abweichung der gemessenen sO2 gegenüber dem Baselinewert bei maximaler Sauerstoffsättigung
Abbildung 5.2.8:	Prozentuale Abweichung der gemessenen sO2 gegenüber dem Baselinewert bei minimaler Sauerstoffsättigung
Abbildung 5.4.1:	Deoxgenierung der Phantomlösung; Messung vom 21.07.11 Darstellung sO ₂ gegen über pO ₂
Abbildung 5.4.2:	Deoxgenierung der Phantomlösung; Messung vom 25.08.11 Darstellung sO ₂ gegen über pO ₂
Abbildung 5.4.3:	Deoxgenierung der Phantomlösung; Messung vom 26.08.11 Darstellung sO ₂ gegen über pO ₂
Abbildung 5.4.4:	Deoxgenierung der Phantomlösung; Messung vom 01.09.11 Darstellung sO ₂ gegen über pO ₂
Abbildung 9.1.1.1:	Erythrozyten ohne Zugabe von Triton X-100
Abbildung 9.1.1.2:	Erythrozyten bei einer 0.3 % ´ígen Konzentration <i>Triton X-100</i> im Blut

Erythrozyten bei einer 0.5 % ´ígen Konzentration <i>Triton X-100</i> im Blut
Mischkammer in Normalprojektion; Draufsicht
Mischkammer in Normalprojektion; Vorderansicht
Mischkammer in Normalprojektion; Seitenansicht
Darstellung der NIRS Daten des gemessenen oxyHb und deoxyHb des gesamten Messverlaufs von 5.3 Variation der Eindringtiefe am Gewebephantom
Darstellung der NIRS Daten des gemessenen totHb des gesamten Messverlaufs von 5.3 Variation der Eindringtiefe am Gewebephantom
Darstellung der NIRS Daten der gemessenen sO ₂ des gesamten Messverlaufs von 5.3 Variation der Eindringtiefe am Gewebephantom

Tabellenverzeichnis

- Tabelle 2.2.2.1:
 Auswirkungen unterschiedlicher Anisotropiefaktoren auf die Streuung
- Tabelle 3.2.1:Zusammensetzung des Krebs-Henseleit Puffers für extrazelluläres
Niveau
- Tabelle 3.4.1:
 Zusammensetzung der Phantomlösung für eine Menge von 2.5 Litern
- Tabelle 4.4.1:
 Zusammensetzung der genutzten Gasmischungen am Gewebephantom
- Tabelle 5.1.1:Exemplarische Darstellung der Messpunkteverteilung der
Ultraschallmessung für Proband P1
- Tabelle 5.1.2:Mittelwerte der Fettschichtdicke und Konzentrationen von totHb und
der sO2 des Musculus gastrocnemius medialis für die Probanden P1
bis P6.
- Tabelle 5.2.1:Eindringtiefen der NIRS Systeme BB-NIRSvI und BB-NIRSvII für
Gewebe mit und ohne Fettschicht (5 mm)
- Tabelle 5.3.1:Übersicht über die Mittelwerte der Sauerstoffsättigungen bei unter-
schiedlichen Fettschichtdicken
- Tabelle 5.3.2:Vergleich der gemessenen Sauerstoffsättigungen zwischen den Pro-
banden $P_{1,3,6}$ bzw. $P_{2,4,5}$ und den Daten des Gewebephantoms bei den
Fettschichten 4 mm und 8 mm

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
atm	physikalische Atmosphäre
Kap.	Kapitel
DLR	Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt
DPF	Differential Pathlength Factor
3	Stoffabhängiger Extinktionskoeffizient [m²/mol]
Hb	Hämoglobin
deoxyHb	deoxygeniertes Hämoglobin
metHb	Methämoglobin
oxyHb	oxygeniertes Hämoglobin
totHb	totale Hämoglobinkonzentration
Mb	Myoglobin
O_2	Sauerstoff
pO_2	Sauerstoffpartialdruck [torr]
sO_2	Sauerstoffsättigung [%]
μ_s	Streukoeffizient [1/m]
μ_{s}	reduzierter Streukoeffizient [1/m]
μ_a	Absorptionskoeffizient [1/m]
NIRS	Nahinfrarotspektroskopie / Nahinfrarotspektroskop
BB-NIRSvI	Breitband Nahinfrarot Spektrometer (Version 1)
BB-NIRSvII	Breitband Nahinfrarot Spektrometer (Version 2)

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen, mich bei allen Personen die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, zu bedanken.

Zunächst gilt meine Dank Herrn Prof. M. Kohl-Bareis für die freundliche und fachkundige Betreuung und Anregungen sowie für die Übernahme der Erstkorrektur.

Für die Betreuung dieser Arbeit auf Seiten des DLR, sowie für die Übernahme der Zweitkorrektur gilt mein Dank Dr. Jochen Zange. Auch den vielen Kollegen im DLR, deren Rat und Unterstützung mir bei der Entwicklung dieser Arbeit oft eine sehr große Hilfe war möchte ich herzlich "Danke" sage, besonders dem Team der Werkstatt des DLR. Allen voran Herrn Simon Jokisch, der auch nach der zehnten kleineren oder größeren Überarbeitung der Komponenten des Gewebephantoms nicht kapitulierte, sondern die Entwicklung stets mit wertvollen Ideen und Interesse verfolgte und voran trieb.

Frau Carmen Fehling sei an dieser Stelle besonders hervorgehoben. Ihre freundliche Unterstützung in sämtlichen Fragen des labortechnischen Bereichs und darüber hinaus war mir eine große Hilfe.

Mein Dank gilt ebenso Herrn Karl Theisen für die produktive und kurzweilige Zusammenarbeit am Gewebephantom, sowie Herrn Darius Kornetka, auf dessen Unterstützung, Rat und hilfreiche Anmerkungen ich mich stets verlassen konnte.

Ich hoffe sehr, dass dieses Modell dazu beiträgt in Zukunft auch weitere Innovationen und Verbesserungen der NIRS Systeme realisieren zu können. Auch würde ich eine Weiterentwicklung des Gewebephantoms durchaus begrüßen. Sollten es in diesem Rahmen zu Fragen oder Probleme kommen, bin ich gerne bereit mein Möglichstes dazu bei zu tragen um diese zu klären.

1 Einleitung

Ein nicht unerhebliches Problem bei den heutigen bemannten Weltraummissionen und dem längeren Aufenthalt in der Schwerelosigkeit ist der durch die fehlende Gravitation verursachte, erhöhte Abbau von Muskel- und Knochenstrukturen im Körper der Astronauten. Dies hat nicht nur unmittelbare Auswirkungen für die Zeit des Aufenthalts im All, bei längeren Missionen zieht dies unter Umständen aufwendige Rehabilitationsmaßnahmen nach sich. Um diesem Einfluss erfolgreich entgegen wirken zu können, muss der Astronaut täglich ein zwei bis drei stündiges Fitness- und Widerstandstraining absolvieren.

Im Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt, Standort Köln, in der Arbeitsgruppe für integrative Muskelphysiologie wird unter anderem daran gearbeitet neue Trainingsansätze zu entwickeln und bereits bestehende Methoden zu verbessern um ein Training zur Vorbereitung sowie für den Aufenthalt in der Schwerelosigkeit so effektiv wie möglich zu gestalten.

Am RheinAhrCampus werden seit einigen Jahren Nahinfrarotspektrometer entwickelt und ständig weiter verbessert. Mit Hilfe dieser Systeme ist es möglich nicht-invasiv und in vivo die quantitative Konzentrationen von Sauerstoff und Hämoglobin (oxygeniert, deoxigeniert und Gesamtmenge) im Muskelgewebe zu bestimmen.

Aufgrund der engen Zusammenarbeit zwischen dem DLR und dem RheinAhrCampus, werden die genannten NIRS Systeme bei vielen Studien eingesetzt um den Verlauf der Sauerstoffkonzentration zu erfassen. Dies gibt beispielsweise Aufschluss über die Regenerationsfähigkeit des betrachteten Muskels.

Die NIRS Messungen an verschiedenen, realen Probanden zum Erhalt von Referenzdaten unterliegt einigen Problemen. Faktoren, wie beispielsweise unterschiedlich pigmentierte Haut, verschiedene Dicke des Unterhautfettgewebes oder der Trainingszustand und damit die Ausprägung und Struktur der Muskulatur spielen selbst bei Messungen an der Muskulatur gleichen Typs eine Rolle. Auch die Positionierung sowie die Befestigung (Anpressdruck, Einstrahlung von unerwünschtem Raumlicht...) der Optode haben großen Einfluss auf das spätere Messergebnis. Der Einfluss dieser Faktoren auf die erhobenen Daten bei Messungen an Personen lässt sich kaum, teilweise gar nicht verhindern. Auch das synchrone Messen an exakt denselben Positionen eines Muskels mit verschiedenen NIRS – Systemen lässt sich an Probanden nicht durchführen, was den Vergleich unterschiedlicher NIRS - Systeme erschwert. Der Schwerpunk dieser Arbeit liegt auf der Entwicklung eines Gewebephantoms für die oben genannten NIRS Systeme, dessen optische Eigenschaften möglichst nahe an die des menschlichen Muskelgewebes herankommen sollen. Mit dessen Hilfe soll es dann möglich sein einige bisher unbeantwortete Fragen zu klären und den Weg für eine weitere Optimierung zu ebnen. Unter anderem soll geklärt werden, wie hoch die Eindringtiefe des NIRS ins menschliche Muskelgewebe ist oder welchen Einfluss unterschiedlich dicke Fettschichten auf das NIRS Signal haben. Durch das Modell besteht die Möglichkeit Messungen unter genau definierten Bedingungen durchführen zu können, was die Vergleichbarkeit der erhobenen Daten erhöht und eine Basis für mögliche Referenzdaten bilden kann. Auch soll die Möglichkeit bestehen mit zwei NIRS – Systemen zeitgleich unter den exakt selben Bedingungen Messungen durchzuführen, was ein Vergleich beider Systeme erheblich vereinfachen würde.

Dabei soll es sich um eine möglichst einfache Konstruktion handeln, die mit wenig Aufwand modifiziert und an eventuelle neue Begebenheiten, wie andere NIRS Systeme, die Veränderung von Komponenten bei bestehenden Systemen oder das hinzufügen neuer Sensoren, angepasst werden kann. Das Gewebephantom soll sich dabei als so einfach wie möglich, aber so genau wie nötig erweisen.

Zunächst soll auf die biologischen und physikalischen Grundlagen, die für die Entwicklung des Gewebephantoms und für die generellen Messungen in der Nahinfrarotspektroskopie eine wichtige Rolle spielen, eingegangen werden. Im Material und Methoden Teil werden die einzelnen Komponenten sowie deren Funktion vorgestellt und der generelle Messablauf erläutert. Danach sollen die einzelnen Messreihen und deren Ergebnisse dargestellt und erläutert werden. In einer abschließenden Diskussion wird das Phantom bewertet.

Diese Arbeit soll auch als Anleitung zum Aufbau und Gebrauch des entwickelten Gewebephantoms angesehen werden. Aus diesem Grund ist im Anhang auch die Beschreibung einiger Misserfolge zu finden die bei der Entwicklung des Phantoms auftraten.

1.1 Über das DLR

Das Deutsche Zentrum für Luft- und Raumfahrt besteht nun seit mehr als 100 Jahren (Gründung 1907) und beschäftigt derzeit in 16 Standorten und 32 Instituten mehr als 7000 Angestellte [1]. Die Grundlagenforschung ist einer der Hauptzweige des DLR, aber auch die Entwicklung neuer innovativer Anwendungen und Produkten, auch in Kooperation mit Wirtschaft, Bundeswehr oder anderen Forschungseinrichtungen, zählen zu seinen Aufgaben. Hierbei konzentriert man sich besonders auf die Bereiche der Luftfahrt, Raumfahrt, Verkehr, Energie sowie Umwelt und Kommunikation.

Am 1959 eröffneten Standort Köln beschäftigt derzeit rund 1400 Mitarbeiter [1].Hier befinden sich unter anderem der Sitz des Vorstandes sowie die zentrale Verwaltung des DLR. Der Fokus der Forschung liegt hier in den Bereichen Luftfahrt, Raumfahrt, Verkehr, Energie und Sicherheit, außerdem ist auf dem Gelände auch das Astronautenzentrum EAC der Europäischen Weltraumbehörde ESA angesiedelt. Neben einem Hochflussdichte-Sonnenofen und dem modernsten Windkanal Europas entsteht derzeit das *:envihab*. Hierbei handelt es sich um eine hochmoderne Forschungsanlage in der die Wirkung verschiedenster Umweltbedingungen auf den Menschen sowie mögliche Gegenmaßnahmen erforscht werden sollen. Die Fertigstellung der Einrichtung ist für das dritte Quartal 2012 geplant.



Abbildung 1.1.1 : Luftaufnahme des DLR Standorts in Köln.

2 Grundlagen

2.1 Biologische Grundlagen

2.1.1 Menschliches Blut

Der Anteil des Blutes am Körpergewicht eines Menschen beträgt ca. 6 bis 8 % bei Erwachsenen und Jugendlichen, 8 bis 9 % bei Kindern [3]. Abhängig von Faktoren wie Alter, Gewicht, Geschlecht usw. ergibt sich ein Durchschnittswert von 4 – 6 Liter für eine ausgewachsene, gesunde Person. Der pH-Wert des Blutes liegt bei 7.4 und wird durch unterschiedliche Blutpuffersysteme in einem engen Rahmen gehalten. Sinkt der Wert unter 7.35 ist in der Medizin von einer Azidose, also einer Übersäuerung des Bluts die Rede. Steigt der pH-Wert hingegen über einen Grenzwert von 7.44 spricht man von einer Alkalose, also einer Untersäuerung [4].

Blut hat im Körper eine Vielzahl von Aufgaben. Zu den wichtigsten zählen Nährstofftransport, Immunabwehr und Wärmeregulation. Eine ausführliche Beschreibung von Aufgaben und Zusammensetzung würde den Rahmen dieser Arbeit bei weitem sprengen, weshalb an dieser Stelle nur auf die für die im Folgenden beschriebenen Versuche wichtigsten Bestandteile des Bluts eingegangen wird.

Blut kann in zwei Hauptbestandteile aufgeteilt werden. Den flüssigen Anteil, das Blutplasma, was etwa 55% des Blutes ausmacht und zu 90 % aus Wasser besteht, und die zellulären, festen Bestandteile (Leukozyten, Thrombozyten) die unter dem Namen Hämatokrit zusammengefasst sind. Sie machen ca. 44% des Blutvolumens aus [4].

2.1.2 Erythrozyten

Die Erythrozyten stellen den bei Weitem größten Bestandteil des Hämatokrits dar. Ihr Anteil liegt bei etwa 99%. Ihr Scheibenförmiger Aufbau (*Abb. 2.1.2.1*) hat ein einen mittleren Durchmesser von 7.5 µm. Die Höhe beträgt 1 µm in der Mitte und 2 µm am Rand [3]. Der scheibenförmige Bau entsteht durch ein Skelett aus Spektrinfilamenten das mit einer Membran überzogen ist. Ihre Anzahl ist stark geschlechterspezifisch. Für Männer liegt der Wert bei 155g/l. Für Frauen hingegen gilt ein Wert von 145 g/l. [4]



Abbildung 2.1.2.1: Elektronenmikroskopische, Aufnahme von Erythrozyten. Der Scheibenförmige Aufbau hat einen Durchmesser von 7.5 µm, die Höhe beträgt 1µm. Die Form entsteht durch ein ringförmiges Skelett, das mit einer Membran überzogen ist.

2.1.3 Hämoglobin

In den Erythrozyten liegt der für diese Arbeit mit Abstand wichtigste Bestandteil im menschlichen Blut, das Hämoglobin.

Hämoglobin ist ein Protein, das sich aus Eiweiß (Globin) und dem Farbstoff (Häm) zusammensetzt, welcher dem Blut seine rote Farbe verleiht. In vier Untereinheiten, zwei vom Typ α - und zwei vom Typ β , (*Abb. 2.1.3.1*) ist je ein Eisenionkomplex (Fe²⁺) (*Abb. 2.1.3.2*) gebunden welcher die Sauerstoffaufnahme (Oxygenierung) und Sauerstoffabgabe (Deoxygenierung) ermöglicht. [5]



$Hb + 4O_2 \Rightarrow Hb(O_2)_4$	Oxygenierung von Hb	Formel 2.1.3.1
$Hb(O_2)_4 - 4O_2 \Rightarrow Hb$	Deoxygenierung von Hb	Formel 2.1.3.2

Das Verhältnis von oxygeniertem Hämoglobin (oxyHb) zum Gesamthämoglobin (totHb) wird als Sauerstoffsättigung (sO₂) bezeichnet.

$$So2 = \frac{oxyHb}{oxyHb+deoxyHb} * 100$$
 Sauerstoffsättigung [%] Formel 2.1.3.3

Ein Hämoglobinkomplex - Molekül ist in der Lage vier Sauerstoffmoleküle zu binden. Die Sättigung mit O₂ hängt im Wesentlichen vom herrschenden Partialdruck pO₂ [torr¹] in der Umgebung ab. Ist er niedrig, wird die Bindung aufgelöst und O₂ in das benachbarte Gewebe z.B. Muskel abgegeben. In der Lunge hingegen herrscht ein hoher Partialdruck, was dazu führt, dass Sauerstoff von Hämoglobin aufgenommen wird. Die Bindungen erfolgen dabei kooperativ, das heißt, die Sauerstoffaffinität nimmt mit steigender Bindungszahl zu. Dies führt zum typischen S-förmigen Profil der Sauerstoffbindungskurve/Sauerstoffdissotiationskurve [5] (*Abb. 2.1.3.3*).



Abbildung 2.1.3.3: Durch das Auftragen der prozentualen Sauerstoffsättigung des Hämoglobins gegenüber dem herrschenden Sauerstoffpartialdruck erhält man den S – förmiger Verlauf der Sauerstoffbindungskurve. Die Form entsteht durch die kooperativen Bindunseigenschaften des Hämoglobins. Die Verschiebung aufgrund des pH – Werts ist als Bohreffekt bekannt.

Die pH-Wert abhängige Verschiebung der Kurve ist als Bohr-Effekt² bekannt. Er gewährleistet eine erhöhte Freisetzung des Sauerstoffs in besonders Stoffwechselaktiven Regionen. Kommt es, beispielsweise bei erhöhter Aktivität im Muskelgewebe, zu einem vermehrten O_2 Verbrauch, steigt gleichzeitig der CO_2 Wert an. Der pH-Wert sinkt ab, und die Abgabe des O_2 an das umliegende Gewebe wird erleichtert. Dieser Effekt ist besonders für Ausdauertrainingseinheiten von großer Bedeutung, er ermöglicht eine schnellere Sauerstoffzufuhr in übersäuertem Muskelgewebe [9].

2.1.4 Methämoglobin

Anders als bei der bereits beschriebenen Oxygenierung des Hämoglobins kommt es bei Methämoglobin zu einer Oxidation des Eisenions. Statt zu Fe²⁺ wird der Eisenkomplex im Methämoglobin zu Fe³⁺ oxydiert (*Formel 2.1.4.1*). Dies wirkt sich direkt auf die Saueraffinität aus und hat zur Folge, dass O₂ zwar gebunden jedoch nur sehr schwer wieder abgegeben werden kann. Methämoglobin ist also für den Transport von O₂ von der Lunge ins benötigte Gewebe ungeeignet. Da im menschlichen Körper das Enzym Methämoglobinreduktase für die Rückführung des Methämoglobins in Hämoglobin sorgt, wird im Allgemeinen ein Methämoglobinverhältnis von 1.5% zum Hämoglobin nicht überschritten. Durch Krankheiten oder Vergiftungen kann dieser Anteil aber durchaus steigen. Ab einem Kritischen Wert von 15% spricht man von einer Zyanose [10].

Da sich Hämoglobin und Methämoglobin in ihrem strukturellen Aufbau ähnlich sind, gleichen sich auch ihre spektroskopischen Eigenschaften stark. Sie sind also durch eine Spektroskopie nur sehr schwer unterscheidbar.

$$2Fe^{2+} + \frac{1}{2}O_2 + 2H^+ \Rightarrow 2Fe^{3+} + H_2O$$

Formel 2.1.4.1

Die Einheit torr ist eine eher veraltete, in der Medizin und Biologie aber immer noch übliche Einheit für den Druck. Sie ist identisch mit der Einheit Millimeter – Quecksilbersäule [mmHg]
 1 Torr ≈ 133.322 Pa; 760 Torr = 1 atm

^{2:} Der *Bohr-Effekt* ist nach seinem Entdecker, dem dänischen Physiologen Christian Bohr (1855–1911) benannt. Er war der Vater des bekannten Physikers Niels Bohr

2.1.5 Myoglobin

Myoglobins ist ähnlich aufgebaut wie eine der Untereinheiten des Hämoglobins. Sein Molekulargewicht steht zum Gewicht des Hämoglobins im Verhältnis ¹/₄ [3]. Es ist ein Muskeleiweiß und besitzt die zur Sauerstoffbindung nötige Häm Gruppe, ist also zur O_2 Aufnahme und Abgabe fähig. Da es allerdings nur über eine Häm Gruppe verfügt, ist es auch nur zur Bindung eines O₂ Moleküls in der Lage (Formel 2.1.5.1). Anders als beim Hämoglobin erfolgt die Sauerstoffbindung hier jedoch nicht kooperativ. Myoglobin kommt ausschließlich in der Herz- und Skelettmuskulatur vor, und übernimmt hier die Aufgabe des O₂ Transport innerhalb der Muskelzellen. Hier kann es kurzzeitig den gesteigerten Sauerstoffbedarf zu Beginn der Muskelarbeit decken, bevor es zur entsprechenden Anpassung der Durchblutung kommt und somit wieder ausreichend Sauerstoff zur Verfügung steht. Seine Sauersoffbindungskurve verläuft aufgrund seiner höheren Sauerstoffaffinität im Vergleich mit der Hb – Bindungskurve wesentlich steiler (Abb. 2.1.5.1). Da die spezifische Absorption von Myoglobin der des Hämoglobins sehr ähnlich ist, ist eine Spektroskopische Trennung der beiden Stoffe nur sehr schwer möglich. Seine Konzentration fällt im Vergleich zum Hämoglobin jedoch deutlich geringer aus, weshalb im Folgenden nur noch von Hämoglobin gesprochen wird. Der Bohr Effekt kommt hier, anders als beim Hämoglobin nicht zum Tragen [5].





Abbildung 2.1.5.1: Sauerstoffbindungskurven von Hämoglobin und Myoglobin. Aufgrund seiner höheren Sauerstoffaffinität verläuft die Bindungskurve des Mb deutlich steiler als die des Hämoglobins.

2.1.6 Haut

Mit einer Größe von $1.5 - 1.8 \text{ m}^2$ und einem Gewicht von bis zu 15 kg ist die Haut das größte und schwerste der menschlichen Organe. [13] Als Hüllorgen grenzt sie das Körperinnere gegen äußere Umwelteinflüsse ab. Sie bildet eine mechanische sowie chemische Barriere. Zu ihren weiteren Funktionen zählen unter anderem die Regelung der Körpertemperatur durch Schweißbildung und die Größenänderung ihrer oberen Blutgefäße, die Erfassung von Sinneseindrücken über berührungsempfindliche Rezeptoren, die Regulation des Wasserhaushaltes, sowie Kommunikation, beispielsweise durch Erröten oder Erblassen. Sie ist unser vielseitigstes Organ. Ihr Aufbau kann grundsätzlich in drei Schichten unterteilt werden, die Epidermis (Oberhaut), Dermis (Lederhaut) und Subcutis (Unterhaut) (*Abb. 2.1.6.1*). [4]



Abbildung 2.1.6.1: Aufbau der Haut; Querschnitt durch Epidermis, Dermis und Subcutis

Die Epidermis hat abhängig von ihrer Position am Körper eine Dicke von 0.05 bis 0.2 mm, im Durchschnitt 0.05 mm [13]. An Händen oder Füßen wo die Ausprägung der Hornhaut jedoch sehr stark sein kann, kann die Dicke der Epidermis mehr als einen Millimeter annehmen. Während ihre Hornschicht das einfallende Licht streut, ist für Spekt-

roskopische Untersuchungen vor allem das Pigment Melanin von Bedeutung. Es absorbiert Licht im blauen und ultravioletten Bereich sehr stark, während weißes Licht zum Teil gestreut, aber auch absorbiert wird [14].

Die Dermis (auch als Corium bekannt) besteht vor allem aus unregelmäßigem Bindegewebe, welches von Nerven, Fett und Blutgefäßen durchzogen ist. Da ihr Wassergehalt mit bis zu 70 % sehr groß ist [14], kann die wellenlängenabhängige Absorption hier gegenüber den anderen Hautschichten sehr groß ausfallen. Die Dicke der Dermis liegt zwischen 0.3 mm und 4 mm

Die unterste Hautschicht, die Subcutis (auch als Hypodermis bekannt), stellt die Verbindung zum Muskel da. Sie besteht zum größten Teil aus Bindegewebe mit eingelagerten Fettzellen. Die Dicke dieser Schicht ist je nach Alte, Geschlecht, Trainings- und Gesundheitszustand der jeweiligen Person sehr variabel. Sie kann von einigen, wenigen Millimetern bis hin zu mehreren Zentimetern betragen [4]. Das eingelagerte Fett bewirkt hier eine Streuung der einfallenden Lichts.

2.1.7 Muskelgewebe

Grundsätzlich lässt sich die Muskulatur des Menschen in drei Gruppen aufteilen, die glatte Muskulatur, die Herzmuskulatur und die Skelettmuskulatur (gestreifte Muskulatur). Die Skelettmuskulatur stellt dabei mit 40 bis 50 % beim Mann, und 25 bis 35 % bei der Frau, des gesamten Körpergewichts die bei weitem größte Gruppe dar. Diese gestreifte Muskulatur ist die für aktive Bewegungen von z.B. Beine, sowie für die Stabilisierung z.B. des Oberkörpers durch Rücken und Bauchmuskulatur zuständig. Diese Muskelgruppe kann bewusst gesteuert werden, im Gegensatz zur glatten Muskulatur. Sie wird vom vegetativen Nervensystem gesteuert und ist somit nicht der bewussten Kontrolle einer Person ausgesetzt. Zu dieser Gruppe zählt beispielsweise die Muskulatur tur des Darms. [9]

ATP (Adenosintriphosphat) ist der Energielieferant für die Muskelarbeit. Durch die Spaltung von ATP in Phosphat und Diphosphat wird Energie freigesetzt die der Muskel für seine Bewegungsarbeit nutzen kann. [10]

2.2 Wechselwirkung von Licht und Gewebe

Licht ist eine elektromagnetische Strahlung. Nur ein kleiner Ausschnitt des Frequenzspektrums ist für das menschliche Auge sichtbar (*Abb. 2.2.1*). Weitaus größere Bereiche können vom Menschen ohne Hilfsmittel nicht wahrnehmen. Jedoch können wir sie trotzdem nutzen, wie z.B. den Bereich der Röntgenstrahlung, der Radiowellen usw. Der für diese Arbeit relevante Bereich liegt zwischen 650 nm und 1000 nm, also im Frequenzband des Nahinfrarotspektrums (700 nm bis 2500 nm).



Abbildung 2.2.1: Ausschnitt aus dem Wellenlängenspektrum. Der für diese Arbeit relevante Bereich von 650 nm bis 100 nm liegt im Frequenzband des Nahinfrarotspektrums.

Da in dieser Arbeit sowohl die Beschreibungen einiger Spektralbereiche in Frequenzen wie auch Nanometern zu finden ist, stellt *Formel 2.2.1* den Zusammenhang zwischen der Wellenlänge λ in [nm] und Frequenz f in [Hz] dar, c ist dabei die Geschwindigkeit des Lichts im entsprechenden Medium in [m/s]

$$\lambda = \frac{c}{f}$$
 Umrechnung von Wellenlänge und Frequenz Formel 2.2.1

Die beiden wichtigsten Faktoren für die Ausbreitung von Licht im Gewebe sind Streuung und Absorption.

2.2.1 Absorption

Als Grundlage der quantitativen spektroskopischen Messung kann das Lambert-Beer Gesetz³ (*Formel 2.2.1*) angesehen werden. Es beschreibt den Zusammenhang von Eintritts- und Austrittsintensität einer Elektromagnetischen Strahlung die ein klares, nicht streuendes Medium durchläuft.

$$I = I_0 \cdot e^{-\varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot d}$$

Stellt man die *Formel 2.2.1.1* um, erhält man ein Maß für die Lichtschwächung, die wellenlängenabhängige Abschwächung oder Attenuation. Sie wird in der Einheit [OD] angegeben, was sich aus dem Englischen "optical density" (optische Dichte) ableitet. [16]

I = Austrittsintensität

c = Konzentration [mol/l]]

I₀ = Eingangsintensität

d = Strecke (Dicke des Mediums) [m]

 $\varepsilon(\lambda) = \text{Extinktionskoeffizient } [\text{m}^2/\text{mol}] \text{ (wellenlängenabhängig)}$

 $A(\lambda) = Attenuation [OD]$

$$A(\lambda) = -\log_{10}\left(\frac{l}{l_0}\right) = \log_{10}\left(\frac{l_0}{l}\right) = \ln(10) \cdot \varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot d \qquad \text{Formel } 2.2.1.2$$

Dementsprechend gibt

$$\Delta A(\lambda) = \ln(10) \cdot \varepsilon(\lambda) \cdot \Delta c \cdot d$$
 Formel 2.2.1.3

die Attenuationsänderung in Abhängigkeit der Konzentrationsänderung an.

Die beiden stoffabhängigen Variablen $\varepsilon(\lambda)$ und c lassen sich zum Absorptionskoeffizienten $\mu_a(\lambda)$ [1/m] zusammenfassen. [16]

Somit lassen sich also Aussagen über die wellenlängenabhängige Abschwächung von Licht beim Durchgang durch ein Medium treffen. Im Fall von menschlichem Gewebe finden sich verschiedene Substanzen wie z.B. Fett, Hämoglobin, Melanin. Jede dieser Substanzen absorbiert das Licht auf unterschiedlichen, stoffspezifischen Wellenlängen. Der gesamte Absorptionskoeffizient ergibt sich aus der Konzentration der einzelnen Absorber und deren spezifischen Extinktionskoeffizienten.

Formel 2.2.1.1

^{3: &}quot;Das Lambert-Beersche Gesetz wurde von Pierre Bouguer vor dem Jahre 1729 entdeckt. Häufig wird es fälschlicherweise Johann Heinrich Lambert zugeschrieben, der Bouguers "Essai d'optique sur la gradation de la lumière" in seiner "Photometria" (1760) anführt und sogar daraus zitiert. Im Jahre 1852 erweiterte August Beer das Gesetz, indem er die Konzentration des Absorbanten in Abhängigkeit zum transmittierten Licht stellte" [17]

$$\mu_a(\lambda) = \sum_i \varepsilon_i(\lambda) \cdot c_i$$

Formel 2.2.1.4

Der größte Absorber im Gewebe ist das Wasser. Es hat ein starkes Absorptionsband über einen großen Wellenlängenbereich, bei Wellenlängen über 1000 nm. Jedoch von 650 – 950 nm ist seine Absorption nur sehr gering (*Abb. 2.2.1.1*). Dieser Bereich wird als "optisches Fenster" bezeichnet, da auch die Abschwächungen von Hämoglobin und Fett hier besonders gering sind. Im direkten Vergleich zu anderen Frequenzbändern ist hier also eine relativ hohe Eindringtiefe des Lichtes ins Gewebe möglich [16].

Von besonderer Bedeutung sind auch die unterschiedlichen Absorptionsspektren von oxygeniertem- und deoxygeniertem Hämoglobin. Während deoxyHb bei 760nm ein Maximum aufweist, ist die Absorption von oxyHb hier deutlich geringer. Diese Differenz wird später genutzt um sauerstoffbeladene und unbeladenes Hämoglobin zu unterscheiden.



Abbildung 2.2.1.1: Absorptionsspektren der wichtigsten Absorber im menschlichen Gewebe. Der Wellenlängenbereich von 650 nm bis 950 nm wird als "optisches Fenster" bezeichnet. Die Absorption Hämoglobin, Fett und Wasser ist hier besonders gering, was im Vergleich zu anderen Frequenzbereichen eine hohe Eindringtiefe ins Gewebe ermöglicht. Dieser Wellenlängenbereich wird bei den Messungen von den beiden NIRS – Systemen BB-NIRSvI und BB-NIRSvII genutzt.

2.2.2 Streuung

Streuung tritt auf, wenn Photonen auf ihrer Bahn auf Materie treffen. Hierbei kommt es zu einer Wechselwirkung zwischen Photon und einem Atom, welches als schwingender Dipol angesehen werden kann. Durch den Zusammenstoß erfährt das Photon eine Änderung in seiner Richtung und der Polarisation. Über den materialabhängigen Anisotropiefaktor g kann eine Aussage über den Streuwinkel gemacht werden. Der Wert für g liegt dabei zwischen -1 und 1 und ist einheitenlos. Für Gewebe liegt der Wert typischer Weise zwischen 0.6 und 0.99. [19]

g =	-1	Rückwärtig gerichtete Streuung (anisotrop)
g =	0	Gleiche Streuwahrscheinlichkeit für alle Raumrichtungen (isotrop)
g =	+1	Nach Vorne gerichtete Streuung (anisotrop)

Tabelle 2.2.2.1: Auswirkungen unterschiedlicher Anisotropiefaktoren auf die Streuung



Abbildung 2.2.2.1: Verschiedene Anisotropiefaktoren und ihr Einfluss auf die Streuung.

Der wellenlängenabhängige Streukoeffizient μ_s [1/m] gibt Aufschluss über die mittlere, wellenlängenabhängige Wegstrecke l [m], die ein Photon zwischen zwei Streuereignissen zurücklegt.

$$l = \frac{1}{\mu_{s(\lambda)}}$$
 Formel 2.2.2.1

Unter Berücksichtigung der bereits erwähnte Streurichtung, also des Anisotropiefaktor, erhält man den wellenlängenabhängigen, reduzierten Streukoeffizienten $\mu_{s'}$ [1/m]. [16]

$$\mu'_{s(\lambda)} = (1 - g) \cdot \mu_{s(\lambda)}$$
Formel 2.2.2.2

2.2.3 Differenzenspektrosopie

Durch die Erweiterung des Lambert-Beer´schen Gesetzes (Formel 2.2.1.1) um einen streuungsbeschreibenden Term, den so genannten Differential Pathlength Factor (DPF) sowie um einen weiteren, konstanten Term (const) der die Mehrfachstreuung im Medium repräsentiert, erhält man das modifizierte Labert-Beer Gesetz und somit die Gesamtattenuation.[20]

$$A(\lambda) = \log(10) \cdot \varepsilon(\lambda) \cdot d \cdot c \cdot DPF(\lambda) + const$$
 Formel 2.2.3.1

Das modifizierte Lambert-Beer Gesetz stellt die Grundlage der Differenzmethode zur Berechnung der wellenlängenabhängigen Attenuation im menschlichen Gewebe da.

Da der konstante Term (const) in *Formel 2.2.3.1* eine Unbekannte darstellt, ist es mit dieser Formel allein noch nicht möglich Konzentrationsänderungen von oxyHämoglobin oder deoxyHämoglobin zu bestimmen. Zu diesem Zweck werden die Gesamtattenuationen einer Wellenlänge, die zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten detektierten wurden, voneinander subtrahiert. [20]

$$\Delta A (\lambda_1) = A_2(\lambda_1) - A_1(\lambda_1)$$
 Formel 2.2.3.2

Da der konstante Term durch die Subtraktion wegfällt, kann die Formel leicht nach Δc umgestellt werden und man erhält die gewünschte Konzentrationsänderung Δc .

$$\Delta c = \frac{\Delta A(\lambda 1)}{\ln(10) \cdot \varepsilon(\lambda) \cdot d \cdot DPF(\lambda)}$$
 Formel 2.2.3.3

2.2.4 Räumlich aufgelöste Spektroskopiemethode

Die in dieser Arbeit verwendeten NIRS – Systeme, BB-NIRSvI und BB-NIRSvII, arbeiten beide nach der Methode der räumlich aufgelösten Spektroskopie. Um die absoluten Konzentrationen von Oxy- und Deoxyhämoglobin, und damit schließlich die absolute Sauerstoffkonzentration bestimmen zu können, wird zunächst die diffuse Reflexion als Funktion von μ_a , $\mu_{s'}$ und ρ gemessen. ρ ist hierbei der Abstand zwischen Lichtquelle und Detektor in [m]. [21]

$$R(\mu_{a(\lambda)},\mu_{s(\lambda)'},\rho) = \frac{1}{\mu_{s(\lambda)'}} \cdot \frac{e^{-\left(\sqrt{3\mu_{a(\lambda)}}\left(\mu_{a(\lambda)}+\mu_{s'(\lambda)}\right)\cdot\rho}}{2\pi\rho^2} \cdot \left(\sqrt{3\mu_{a(\lambda)}\left(\mu_{a(\lambda)}+\mu_{s'(\lambda)}\right)}+\frac{1}{\rho}\right)$$

Formel 2.2.4.1

Durch Einsetzen von 2.2.4.1 in 2.2.1.4, die Formel für die Attenuation, erhält man

$$\frac{\partial A(\lambda)}{\partial \rho} = \frac{1}{\ln (10)} \cdot \left(\sqrt{3\mu_{a(\lambda)} \cdot \mu_{s(\lambda)'}} + \frac{2}{\rho} \right)$$
 Formel 2.2.4.2

man ein Maß für die Attenuation in Abhängigkeit vom Abstand. Dies wird für jede vom Messsystem genutzte Wellenlänge berechnet. Der Abstand ρ kann als bekannt angenommen werden. Für den reduzierten Streukoeffizienten im menschlichen Gewebe, gilt die Annahme

$$\mu_{s(\lambda)'} = \mu_{s(\lambda)} \cdot (1-g) \approx 1 \frac{1}{m}$$
 Formel 2.2.4.3

mit g = 0.9 und $\mu_{s}(\lambda) = 10 \frac{1}{m}$ [16]

Durch die Umstellung von 2.2.4.1 nach μ_a ergibt sich

$$\mu_{a(\lambda)} = \frac{1}{3\mu_{s'(\lambda)}} \cdot \left(\ln (10) \cdot \frac{\partial A(\lambda)}{\partial \rho} - \frac{2}{\rho} \right)^2$$
 Formel 2.2.4.4

Die gesuchten Informationen über die Konzentrationen von oxyHb und deoxyHb befinden sich in den Absorbtionskoeffizeienten $\mu_a(\lambda)$. Unter Annahme der entsprechenden Extinktionskoeffizienten können diese durch das Lösen eines linearen Gleichungssystems (*Formel 2.2.4.5*) berechnet werden. [21]

$\begin{bmatrix} \mu_{a(\lambda 1)} \\ \mu_{a(\lambda 2)} \end{bmatrix}$		Γε _{c1,1} ($(\lambda_1)\cdots \varepsilon_c$	$_{1,m}(\lambda_1)$]	۲ <i>С</i> 17
$\mu_{a(\lambda 2)}$		•	•	· ·	•
•	=		•		
•			•	.	
$\mu_{a(\lambda n)}$		$\varepsilon_{cn,1}($	λ_n) · · · · ε_c	$_{n,m}(\lambda_n)$	$\lfloor c_m \rfloor$

Formel 2.2.4.5

3 Material und Methoden

In diesem Kapitel werden die verwendeten Materialien vorgestellt und der grundsätzliche Aufbau des Gewebephantoms dargestellt.

Die wohl wichtigste und gleichzeitig auch am schwersten zu kontrollierende Komponente des Gewebephantoms ist die Phantomlösung. Es hat einiges an Zeit und mehrere Versuchsreihen benötigt um ihrer jetzige, stabile Form zu erreichen. Der kritische Faktor hierbei ist das im Blut enthaltene Hämoglobin, das sehr empfindlich auf Schwankungen des pH Wertes oder der Temperatur reagiert.

3.1 Blut

Da menschliches Blut nicht ohne hohen Kosten und erheblichen, formellen Aufwand zu beziehen ist, wurde in sämtlichen Versuchen ausschließlich Rinderblut verwendet. Es ist dem menschlichen Blut sehr ähnlich, und kann spektroskopisch als identisch angesehen werden. Außerdem ist die Übertragung von Krankheiten auf den Menschen durch Rinderblut nahezu ausgeschlossen, was seine Handhabung erheblich vereinfacht. Nach der Schlachtung untersuchte eine Fachärztin das Blut auf eventuelle Verunreinigungen sowie Erkrankungen des Tieres. Es wurde also ausschließlich Blut genutzt das auch problemlos in der Lebensmittelproduktion eingesetzt werden konnte.

Das Vollblut wurde den Rindern unmittelbar nach der Schlachtung entnommen und mit einem Gerinnungshemmer versetzt um die Hämostase (Blutgerinnung) zu stoppen. Hierbei kam tri-Natriumcitrat Dihydrat ($C_6H_5Na_3O_7*2H_2O$) oder Fibrisol, ein in der Lebensmittelindustrie üblicher Gerinnungshemmer, zum Einsatz. Versuche haben gezeigt, dass sich beide Gerinnungshemmer gleichermaßen gut für den Aufbau des Gewebephantoms eigenen. Im direkten Vergleich konnte kein Unterschied in deren Absorptionsspektren festgestellt werden. Aus Gründen der Verfügbarkeit, wurde sich schließlich für das Natriumcitrat entschieden. Als ausreichende Menge hat sich 100ml 0.11 molare Na-Citratlösung auf 900 ml Rinderblut herausgestellt.

Weitere mögliche, alternative Gerinnungshemmer wären beispielsweise Heparin oder EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure). Soll die Blutgerinnung möglichst ohne die Zugabe weiterer Substanzen erfolgen besteht die Möglichkeit das frische Vollblut unmittelbar nach der Entnahme zu "schlagen". Bei dieser Methode wird das Blut kräftig mit der Hand oder einem geeigneten Hilfsmittel gerührt. Nach ca. 3 - 6 Minuten beginnt sich das im Blut enthaltene Fibrin langen Ketten auszubilden was zu einer Verklumpung des Fibrins führt. Die festen Bestandteile lassen sich nun leicht herausfiltern und eine Gerinnung ist nicht mehr möglich.

Nicht unmittelbar benötigtes Frischblut ließ sich im Kühlschrank bei 4°C problemlos ca. 7 Tage lagern. Nach ca. 9 Tagen wurde das Blut unbrauchbar, was sich durch Verfärbung und einen immer deutlicher werdenden schwefligen Geruch zeigte. Die Ausbildung des Schwefelgeruchs ist auf die Entstehung von Schwefelwasserstoff (H₂S), aufgrund des Zerfalls von Proteinen, zurückzuführen und stellte sich als guter Indikator zur Überprüfung der Haltbarkeit dar. Auffällig war außerdem eine deutliche Verfärbung des Vollblutes von hell- (Sauerstoffreich) nach dunkelrot (sauerstoffarm) während längerer Lagerzeiten, trotz luftdichtem Verschluss, was auf eine Sauerstoffzehrung der Zellen zurückzuführen ist [23].

3.2 Krebs-Henseleit Puffer

Die Erythrozyten im Blut reagieren empfindlich auf Veränderungen des pH-Wertes. Gäbe man das Vollblut direkt in deionisiertes Wasser (pH 4,5 – 5,5) würde dies aufgrund des osmotischen Drucks, zu einer sofortigen Hämolyse der Erythrozyten sowie zur Zerstörung des Hämoglobins führen. Der pH Wert ist hier also von entscheidender Bedeutung. Aus diesem Grund wurden sämtliche Bestandteile der Phantomlösung nicht in deionisiertes Wasser, sondern in eine Krebs-Henseleit Pufferlösung gegeben. Dieser erfüllt die gleichen Aufgaben wie die bereits erwähnten Blutpuffer und hält den pH-Wert in engen Grenzen. Die Lösung setzt sich wie folgt zusammen:

Formel	Name der Substanz	Stoffmenge [mmol]	Gewicht für 10 Liter Pufferlösung [g]
KCl	Kaliumchlorid	5	89.4
CaCl_2^*	Calciumchlorid*	2.5*	2.775*
NaCl	Natriumchlorid	120	2.925
MgSo ₄	Magnesuimsulfat	1.64	1.968
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat	24.9	20.916
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat	1.2	1.632
NaH ₂ PO ₄	Natriumdihydrogenphosphat	2.5	3.45
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat	2.5	3.55

 Tabelle 3.2.1:
 Zusammensetzung des Krebs-Henseleit Puffers für ein extrazelluläres Zellniveau

Die in der Tabelle aufgeführte Zusammenstellung bezieht sich auf den Krebs-Henseleit Puffer für extrazelluläre Verhältnisse. Er wurde für Gewebephantomlösungen genutzt in denen die Erythrozyten nicht hämolysiert, also noch intakt waren.

Zu Anfang der Versuche, wurde der Ansatz verfolg die Erythrozyten zu hämolysieren umso eine Sedimentation in der Messkammer des Gewebephantoms zu vermeiden. Beim Mischen der Pufferlösung wurden dabei die Mengenangaben von KCl und NaCl getauscht um ein intrazelluläres Niveau zu schaffen. Die Versuche das Hämoglobin aus den Erythrozyten zu lösen wurde allerdings nach einigen Versuchen abgebrochen und nicht weiter verfolgt. (siehe *9.1.1 Triton X-100*)

Es wurden in der Regel 10 Liter des Puffers mit den oben genannten Inhaltsstoffen sowie deionisiertem Wasser angesetzt. Nachdem alle Inhaltsstoffe abgewogen und gemischt waren, wurde die Lösung in Kanister abgefüllt und mit Stickstoff begast. Dadurch konnte ein pH-Wert von 7.4 erreicht werden, was exakt dem des Blutes entspricht. Eine Lagerung der nicht benötigten Menge war problemlos möglich.

3.3 D – Glukose

Die Aufnahme und Abgabe von Sauerstoff in den Zellen erfordert Energie. Da eine Phantomlösung teils mehrere Male oxgeniert und wieder deoxygeniert wurde, diente eine geringe Menge von 0.4505 g an D-Glucose ($C_6H_{12}O_6$) in der Lösung als Energie-lieferant für die Zellen.

3.4 Intralipid

Als Streukörper in der Phantomlösung diente die Intralipidlösung *Lipovenös 20* der *Fresenius Kabi AG* in eine Konzentration von 0.5 % [25]. Es handelt sich hierbei um eine Wasser-/Fettemulsion die in der Medizin zur parenteralen⁴ Ernährung intravenös eingesetzt wird. Die Größe der Fettpartikel, also der Streuer liegt zwischen 0.5 und 1.0 µm im Durchmesser, bei der auftretenden Streuung wird es sich also um Miestreuung⁵ handeln. Der Streukoeffizient μ_s sollte bei der gewählten Konzentration in der Phantomlösung von 0.5 % und dem genutzten Wellenlängenbereich der NIRS – Systeme (650 nm bis 100 nm) bei ca. 100/liegen, was in etwa dem μ_s des Muskelgewebes entspricht. [26],[27]

Der pH-Wert der Emulsion liegt zwischen 6.5 und 8.7. Als denkbare alternative Streukörper wären Milch oder Tinte einsetzbar. Während sich herkömmliche, homogenisierte Milch im Versuch als durchaus brauchbare Alternative herausgestellt hat, kann es bei Tinte je nach Sorte aufgrund ihrer Färbeeigenschaften zu ungewollten Absorptionen im ergebnisrelevanten Absorptionsspektrum. Die oben genannten Komponenten gingen in folgenden Konzentrationen in die Lösung ein:

	Menge in 2.5 Li- tern Phantomlösung [ml]	Anteil an der Phantomlösung [%]
Krebs-Henseleit Puffer	2267.5	90.7 %
Rinderblut*	220	8 %
Na-Citrat	20	0.8 %
Intralipid	12.5	0.5 %

Tabelle 3.4.1: Zusammensetzung der Phantomlösung für eine Menge von 2.5 Litern

Daraus ergibt sich eine Gesamtmenge von 2.5 Litern an Phantomlösung.

*Nach der Annahme, dass ca. 8% Blut im Muskelgewebe vorhanden sind, müsste die Menge an Rinderblut eigentlich 200ml betragen. Da im Blut aber noch 10% des zuvor erwähnten Gerinnungshemmers enthalten sind, muss die Menge auf 220 ml aufgestockt werden.

3.5 Fettgewebe

Um die Auswirkungen von unterschiedlich dicken Fettgewebeschichten auf die NIRS Signale am Gewebephantom bestimmen zu können, diente handelsüblicher Schweinebauchspeck aus der Metzgerei. Eingefroren ließ sich dieser gut lagern und im Angetauten Zustand in die Gewünschte Dicke zuschneiden. Er wurde in der Messbox mit Hilfe eines speziell für diesen Zweck angebrachten Halterahmens platziert. Um ein diffundieren in die Phantomlösung während der Messreihen zu verhindern, diente eine dünne Polyethylenfolie. Aufgrund ihrer geringen Dicke von 12 μ m (Herstellerangaben) sollten Mehrfachreflexionen innerhalb der Folie das Signal nicht stören. Im Rahmen von Vergleichsmessungen, konnte kein Unterschied in den Daten mit und ohne Folie festgestellt werden.

^{4:} **Parenterale Ernährung** (PE) "ist eine Form der künstlichen Ernährung, bei der der Magen-Darm-Trakt umgangen wird" [24]

^{5:} **Miestreuung:** Miestreuung tritt auf, wenn die eingehende Wellenlänge in derselben Größenordnung wie das sphärische, streuende Objekt liegt.

4 Komponenten und Aufbau des Gewebephantoms

Das Gewebephantom ist als ein Kreislaussystem aufgebaut, die Phantomlösung befindet sich also in ständiger Bewegung. Das sorgt für eine fortwährende Durchmischung der Lösung, was für eine gleichmäßige Temperaturverteilung und den Gasaustausch unerlässlich ist. Durch die Bewegung wird auch ein unerwünschtes Absinken der Erythrozyten, speziell in der Messkammer, verhindert. Als Hauptkomponenten können die Mischkammer, in der der Gasaustausch stattfindet, und die Messkammer, welche mit unterschiedlichen Sensoriken ausgerüstet ist, genannt werden.

4.1 Mischkammer

Die Mischkammer besteht aus einem Erlenmeyerkolben mit einem Fassungsvermögen von 2 Litern. Im Kolben findet der Gasaustausch und die damit verbundene Oxy- bzw. Deoxygenierung der Erythrozyten statt. Die Oberfläche der Phantomlösung sollte im Kolben möglichst groß sein, da nur an der Oberfläche ein Gasaustausch stattfinden kann. Hierzu wurde die Lösung als dünner Film an der Innenseite des Gefäßes herunter geleitet. Außerdem wurde die Lösung durch einen Magnetrührer ständig durchmischt, was den Gasaustausch der Lösung begünstigte. Die Geometrie des Kolbens mit seiner großen Grundfläche, war ebenfalls vorteilhaft für den Gasaustausch. Die integrierte Heitzplatte wirkte der Auskühlung der Lösung im Kolben entgegen.

Nachdem die Lösung in den Kolben eingebracht und die benötigten Zu- und Ableitungen in das Gefäß geführt wurden, konnte der Hals leicht durch flexiblen Parafilm verschlossen werden (*Abb. 4.1.1*). Falls noch kleinere Lücken nach dem Verschließen vorhanden waren, stellte dies kein Problem für den Aufbau da. Durch die ständige Zufuhr von Gas, herrschte ein leichter Überdruck im Kolben, so dass das unerwünschte Eindringen von Luft ausgeschlossen werden konnte.



Abbildung 4.1.1: Ein Erlenmeyerkolben diente als Mischkammer, hier dargestellt mit Zu- und Ableitung, sowie der Gaszufuhr. Der Magnetrührer sowie die große Grundfläche des Kolbens, und die daraus resultierende große Oberfläche der Lösung, begünstigen eine raschere Sauerstoffsättigung bzw. Entsättigung. Außerdem konnte durch die integrierte Heizplatte der Auskühlung der Lösung verhindert werden

4.2 Messkammer

Das zentrale Element des Gewebephantoms ist die Messkammer. Sie besteht aus einem handelsüblichen, modifizierten ABS Gehäuse der Firma *FIBOX (Abb. 4.2.1)*. Das Gehäuse ist mit einer Dichtung versehen, die es gegenüber Strahlwasser schützt (Schutzklasse IP 65) und außerdem sehr strapazierfähig. Es ist laut Hersteller für den Dauergebrauch im Temperaturbereich von -40° C bis 60° C geeignet. Die Box hat die Außenmaße 187 x 122 x 90 mm (L x B x H) bei einer Wandstärke von 3 mm. Der Volumeninhalt der modifizierten Box beträgt ca. 1.8 Liter.

Das oben genannte ABS Gehäuse eignete sich gut als Grundeinheit. Allerdings musste diese noch um einige Modifikationen ergänzt werden (*Abb. 4.2.2*).

Eine schematische Zeichnung der modifizierten Messbox mit Bemaßung der einzelnen Komponenten ist unter 9.2 *Bemaßung der Messbox in Normalprojektion* im Anhang zu finden.







Abbildung 4.2.2: Messkammer mit Modifikationen. Zu erkennen sind zwei der vier Zu- bzw. Abläufe (A), der Anschluss für die Partialdruckelektrode (B), sowie die höhenverstellbare Bodenplatte (C).

An den schmalen Seiten wurden je zwei Zu- bzw. Abläufe angebracht. Das Innere der Box musste schwarz mattiert werden, um unerwünschte Reflexionen an den Wänden zu minimieren. An der Rückseite wurde ein Schieber mit Bodenplatte (ebenfalls mattiert) angebracht (*Abb. 4.2.2*), welcher sich von außen bedienen ließ. Hierdurch war es bei einer späteren Messreihe möglich die Eindringtiefe des Lichts in die Messbox stufenlos zu variieren. Eine Öffnung mit Dichtungsring, die speziell an die verwendeten *StirrOx G* Sauerstoffelektrode der Firma *WTW* angepasst war, wurde auf einer der breiten Seiten platziert.

Am Deckel (*Abb. 4.2.3*) wurden Bohrungen für die Anschlüsse der Lichtquelle (C) sowie die für die Detektorfasern (A & B) der verwendeten NIRS Systeme gesetzt. Die Lichtleiter wurden während den Messungen mit einem Silikonkleber angebracht, der gleichzeitig als Dichtung fungierte (A). Der etwas größere Anschluss der Lichtquelle (4.4 mm Durchmesser) wurde mit einer Silikondichtung versehen. Da das Phantom sich dazu eignen sollt mit zwei NIRS Systemen zeitgleich genutzt zu werden, wurden die Anschlüsse für das BB-NIRSvI und BB-NIRSvII im 90 Grad Winkel zu einander angebracht. Im gemeinsamen Schnittpunkt sitzt der Anschluss der Lichtquelle. Der Abstand Vom Mittelpunkt der Lichtquelle zu je ersten Detektoranschluss, beträgt jeweils 26 mm. Die bisher angenommene Eindringtiefe des NIRS – Systems beträgt 15 bis 20 mm. Da es galt eventuelle Reflexionen von den Innenseiten der Box zu vermeiden, beträgt der minimale Abstand des Lichtquellenanschlusses zur nächsten Wand 50 mm.



Abbildung 4.2.3: Deckel der modifizierten Messbox mit angeschlossenen NIRS – Detektorphasern (A). Markierung (C) kennzeichnet den Anschluss für die Lichtquelle. An Markierung (B) können die Detektorfasern eines weiteren NIRS – Systems angeschlossen werden.

Um die bei einigen Messungen benötigten Fettschichten leichter am Phantom anbringen und fixieren zu können, wurde im Gehäuse ein Halterahmen angebracht der sich mit acht Schrauben am Deckel befestigen ließ (*Abbildung 4.2.4* linker Deckel). Er wurde direkt über den Anschlüssen für Lichtquelle und Detektorfasern platziert, so war es möglich das Fettgewebe einfach zu fixieren. Als Dichtung für die Schrauben und Halterung, stellte sich auch hier der bereits erwähnte Silikonkleber als sehr gut geeignet heraus.

4.2.1 Alternative Konfiguration

Ein wichtiger Punkt bei der Entwicklung des Phantoms war die Flexibilität des Systems. So soll es auch ohne größere Änderungen möglich sein das Phantom anzupassen, um Messungen mit anderen NIRS Systemen, veränderter Sensorik oder veränderten Komponenten der benutzten Systeme zu erlauben.

Diese Überlegung kam während der Entstehung dieser Arbeit bereits zum Tragen. Die detektorseitigen Lichtleiter des BB-NIRSvI wiesen eine irreparable Beschädigung auf und mussten ausgetauscht werden. Die Ersatzfasern wiesen am Anschlussende eine komplett andere Geometrie auf. Die ursprünglichen Enden waren in einer Stiftform gehalten, während die neuen Enden einen 90 Grad Winkel und einen kleinen Metallblock aufwiesen. Des Weiteren wurde die Anzahl der Lichtleiter von sechs auf vier reduziert. Durch die Beschaffung und erneute Modifikation des Deckels der ABS Box, konnte dieses Problem leicht gelöst werden. *Abbildung 4.2.4* zeigt eine Übersicht der verschiedenen genutzten Deckelmodifikationen.



Abbildung 4.2.1.4: Gehäusedeckel der Messkammer des Gewebephantoms in unterschiedlichen Konfigurationen. (links): Anschluss von zwei NIRS – Systemen gleichzeitig möglich. Die sichtbaren Schrauben machen das Anbringen eines Halterahmens für die Befestigung zusätzlicher Fettschichten im Inneren der Messbox möglich. Diese Version wurde bei allen in Kapitel 5 beschriebenen Messungen verwendet. (mittig, rechts): Frühe Versionen eines Messboxdeckels.
4.3 Schläuche und Rollpumpe

Die verwendeten Schläuche stammen von der Firma *Ismatec*. Aufgrund seiner Materialeigenschaften wurde der *TYGON – ST* Schlauch gewählt. Der Außendurchmesser beträgt 9.6 mm bei einer Wandstärke von 1.6 mm. Die Vorteile (Herstellerangaben [29]) die er für diese Anwendung bot sind:

- Resistent gegen fast alle anorganischen Chemikalien
- Geringe Gasdurchlässigkeit
- Günstig
- Transparent
- Flexibel
- Keine Alterung und keine Oxidierung
- Glattpolierte Innenwand
- Nutzbar in einem Temperaturbereich von -50°C bis +74°C

Als Nachteil kann seine mit 30 bis35 Stunden geringe Lebensdauer angesehen werden. Diese wurde jedoch während der Messungen nicht überschritten.

Auch für die Schläuche der Schlaupumpe wurde TYGON - ST gewählt. Allerdings handelte es sich hier um 2-Stopper-Schläuche mit einem Außendurchmesser von 4.89 mm und einer Wandstärke von 0.86 mm.

Nach jedem Gebrauch wurden die Schläuche, sowie alle übrigen Teile des Phantoms, zuerst mit heißem Wasser und Seife gereinigt und anschließend mit entionisiertem Wasser abgespült um eventuelle Rückstände und die damit einhergehende Verunreinigung der Phantomlösung zu verhindern.

Die Schlauchpumpe *MV-C/4* stammt ebenfalls von der Firma *Ismatec*. Ihr Fördervolumen lässt sich von 0.02 ml/min. bis 200 ml/min. pro Förderkanal regeln. Die *MV-C/4* verfügt über vier Förderkanäle, und wurde durchgehend bei maximaler Leistung betrieben, was zu einer maximalen Fördermenge von 800 ml/min. führt. [30]

4.4 Gase

Um die Phantomlösung mit Sauerstoff zu sättigen bzw. zu entsättigen wurden zwei Gasmischungen verwendet. Die Regulierung ihrer Zufuhr konnte über die an der Gasflasche angebrachten Regulierungs- und Feinregulierungsventile eingestellt werden. Ihre Zusammensetzung sah folgendermaßen aus:

	Gasmischung A	Gasmischung B
	(Sauerstoffsättigung)	(Sauerstoffentsättigung)
Kohlendioxid CO ₂	5 %	5 %
Sauerstoff O ₂	20 %	-
Stickstoff N ₂	75 %	95 %

Tabelle 4.4.1: Zusammensetzung der genutzten Gasmischungen zur Oxygenierung (A) bzw. Deoxygenierung (B) der Phantomlösung.

Gas A wurde zum Sättigen der Lösung verwendet und ist in seiner Zusammensetzung unserer Atemluft sehr ähnlich. Auch wenn ein höherer Sauerstoffanteil im Gas zu einer schnelleren Sättigung der Lösung mit O₂ führen würde, so waren der Gebrauch sowie die Lagerung dessen aus sicherheitstechnischen Gründen untersagt. Durch eine kontinuierliche Gaszufuhr in die Mischkammer, sowie die bereits in *Kapitel 4.1* erwähnten Maßnahmen konnte eine Sättigung der Phantomlösung mit Sauerstoff jedoch auch mit einer 20% 'ígen O₂ Konzentration in Gas A erreicht werden.

Durch den hohen Stickstoffanteil in Gas B wird der Sauerstoff beim Begasen der Lösung aus dieser verdrängt, und es kommt zur Deoxygenierung.

Die Änderung der Sauerstoffsättigung ließ sich auch optisch gut verfolgen (*Abb. 4.4.1*).



Abbildung 4.4.1: Erlenmeyerkolben mit Phantomlösung in unterschiedlichen Zuständen der Sauerstoffsättigung. Sättigung in (A): mittlerer Level; Sättigung in (B): maximal; Sättigung in (C): minimal

Während Lösung B einen maximalen Sättigungslevel aufweist, ist die Lösung in Kolben C auf einem sehr niedrigen Level. Der Sättigungslevel von Lösung A hingegen kann zwischen dem von Lösung B und C angesehen werden.

Abbildung 4.4.2 zeigt den typischen Verlauf einer Messung am Gewebephantom, gemessen mit BB-NIRSvII. Vor Beginn der Aufzeichnung wurde die Phantomlösung durch die Zufuhr von Gasmischung A auf ihren maximal möglichen Oxydationslevel gebracht. Durch Begasung mit Gasmischung B ging die Oxydation im Laufe der Messung immer weiter zurück, bis ein Oxydationsminimum erreicht war. Die obere Grafik zeigt dabei den Verlauf von oxygeniertem Hämoglobin (rot) und deoxygeniertem Hämoglobin (blau) an. Im mittleren Fenster ist die Sauerstoffsättigung in % dargestellt. Die untere Abbildung zeigt den Verlauf des gesamten Hämoglobins (grün) an.



Abbildung 4.4.2: Verlauf einer Messung am Gewebephantom exemplarisch dargestellt. Die Phantomlösung wird vom ihrem maximalen Oxydatinonsniveau durch das Begasen mit Gasmischung B auf ihr minimales Niveau gebracht. Oberer Plot: Verlauf oxyHb (rot) und deoxyHb (blau); mittlerer Plot: Verlauf der Sauerstoffsättigung (blau); unterer Plot: Verlauf des Gesamthämoglobins (grün)

4.5 Wasserbad

Um die Temperatur der Lösung möglichst auf dem Niveau der Körpertemperatur bei ca. 37° C zu halten wurden die Messkammer sowie die Zu- und Ableitungen während der Messungen in einem Wasserbad aufbewahrt. Außerdem befand sich die Mischkammer auf einem Magnetrührgerät, welches gleichzeitig als Wärmeplatte genutzt werden konnte. Die Temperatur in der Mischkammer wurde automatisch von der Sauerstoffpartialdruckelektrode erfasst. In der Mischkammer befand sich ein Thermometer, außerdem verfügte das Wasserbad über eine eigene Temperaturanzeige.

4.6 Verwendete Sensoren

4.6.1 Oxi 197i

Das *Oxi 197i* der Firma *WTW* ist ein portables Sauerstoffmessgerät, mit dem sowohl die Stauerstoffkonzentration (C_{O2}) in [%] wie auch die Sauerstoffsättigung (S_{O2}) in [mg/l] gemessen werden kann. Es diente bei den durchgeführten Versuchsreihen als Basisgerät zur passenden Sauerstoffpartialdruckelektrode *StirrOx G* (ebenfalls ein Produkt der Firma *WTW*). Seine Genauigkeit beträgt in beiden Messverfahren (C_{O2} und S_{O2}) ± 0,5 % vom Messwert [31]

Das *Oxi 197i* verfügt über eine "AutoRange" Funktion, welche beim Überschreiten von internen Grenzen automatisch in den nächst höheren oder niedrigeren Messbereich wechselt wodurch stets mit der höchst möglichen Auflösung gemessen werden kann.

4.6.2 StirrOx G

Der StirrOx G ist ein galvanischer Sauerstoffsensor, passend zum Basisgerät Oxi 197i.

Hierbei handelt es sich um einen elektrochemischen Sensor, dessen Hauptbestandteile die sauerstoffdurchlässige Membran, die Arbeitselektrode (Kathode; Material Gold) sowie die Gegenelektrode (Anode; Material Blei oder Silber) sind. Zwischen beiden Elektronen fließt ein Strom. Sie werden eingeschlossen von einem Sensorkopf, welcher mit einer Elektrolythlösung befüllt wird. Dringt Sauerstoff in den Sensorkopf ein, reagiert dieser elektrochemisch. Er wird an der Kathode reduziert, d.h. die aus der Goldkathode gelösten Elektronen reagieren mit dem Sauerstoff und Wasser zu Hydroxidionen. Das Material der Anode hingegen oxydiert, wobei wiederum Elektronen frei werden. Dieser Prozess beeinflusst den Stromfluss zwischen Anode und Kathode. Die Änderung des Stroms kann als kann als proportional zur Sauerstoffkonzentration angesehen werden, woraus sich die Menge des Sauerstoffs leicht berechnen lässt. Grundsätzlich differenziert man zwischen zwei verschiedenen Sensortypen die sich je im Material ihrer Anoden unterscheiden. Der polarographischer Sensor besitzt eine Silberanode. Hier muss eine externe Spannung vom Messgerät angelegt werden. Beim zweiten Typ, dem selbstpolarographischen Sensor (galvanisch) zu dem auch der *StirrOx G* gehört, besteht die Anode aus Blei und die benötigte Spannung wird von den beiden im Sensor vorhandenen Elektroden selbst aufgebaut. Dies hat unter anderem den Vorteil, dass bei Messungen, anders als bei polarographischen Sensoren, keine Polarisationszeit abgewartet werden muss. Der Nachteil besteht darin, dass sich die Elektrolythlösung durch die ständig anliegende Spannung auch dann verbraucht, wenn keine Messungen durchgeführt werden. Der Sensor muss also häufiger gewartet werden.

Ein entscheidender Faktor bei der Messung der Sauerstoffkonzentration sowie bei der Messung der Sättigung ist die Temperatur. Nicht nur die Durchlässigkeit der Membran, auch die Fähigkeit der Lösung Sauerstoff aufzunehmen hängt direkt mit dem Partialdruck und somit mit der Temperatur zusammen.

Ein Beispiel:

Bei 20°C und einem Luftdruck von 1013 hPa lösen sich 9,09mg/L O2 in Wasser.

Bei 40°C und konstantem Luftdruck sind es hingegen nur noch 6,41 mg/L.

Aus diesem Grund hat der *StirrOx G* einen Temperaturfühler integriert, welcher für einen Bereich von 0 bis + 50° C geeignet ist und es dem *Oxi 197i* ermöglicht eine automatische Temperaturkorrektur durchzuführen. Des Weiteren informiert eine Kontrollanzeige über die Qualität der sich im Sensor befindlich Elektrolythlösung. [32]

Der *StirrOx G* besitzt zusätzlich eine Rührfunktion, welche aber im Rahmen der Messungen nicht benötigt und aufgrund der Einbaugeometrie entfernt wurde.



Abbildung 4.6.2.1: Darstellung der verwendeten Sauerstoffpartialdruckelektrode, *StirrOx G* der Firma *WTW*. Dieser Sensor wurde im Inneren der Messbox angebracht und fungierte als Referenz für die Werte der Sauerstoffsättigung.

4.6.3 BB-NIRSvI & BB-NIRSvII

Bei den beiden in dieser Arbeit verwendeten NIRS – Systemen handelt es sich um das BB-NIRSvI und das BB-NIRSvII, durch spezifische Anpassungen des Deckels der Messkammer ist aber auch ein Betrieb mit anderen NIRS - Systemen ohne weiteres möglich. Es handelt sich um Breitbandspektrometer, beide wurden am RheinAhrCampus entwickelt. Das BB-NIRSvII ist eine Weiterentwicklung des BB-NIRSvI. Die beiden Systeme unterscheiden sich in einigen Punkten.

Im älteren System, dem BB-NIRSvI wird die verwendete Kamera durch ein Peletierelement auf -45°C gekühlt, was das Untergrundrauschen in den gemessenen Signalen deutlich reduziert. Zur Selektion der einzelnen Lichtfrequenzen kommt ein Reflexionsgitter zum Einsatz, im neueren System, dem BB-NIRSvII wird dagegen ein

Transmissonsgitter genutzt, die Kamera arbeitet ungekühlt. Die Aufnahmefrequenz der Messdaten wird hier über die eingestellte Belichtungszeit bzw. Auslesefrequenz des CCD - Chips (Charge-coupled-Device) bestimmt. Die bei Messungen am Gewebephantom und an Probanden verwendeten Belichtungszeiten wurden stark durch die Dicke der vorhandenen Fettschicht sowie durch das Level der Oxygenierung des betrachteten Gewebes bestimmt. Sie lagen zwischen 260 ms und 2300 ms. Das ältere System nutzt hingegen zur Regelung der Belichtung eine mechanischen Blende, welche die Aufnahmefrequenz der Daten auf maximale 0.5 Hz begrenzt. Die Aufnahmefrequenz ist hier also deutlich geringer als beim BB-NIRSvII.

Im Vergleich zum BB-NIRSvI, welches aufgrund seiner Größe und seines Gewichts nur bedingt zum Transport geeignet ist, wurde beim BB-NIRSvII auf eine kompaktere Bauweise und eine Reduktion des Gewichts geachtet um das System auch für den mobilen Einsatz nutzbar zu machen. Außerdem verfügt das BB-NIRSvII gegenüber dem BB-NIRSvI über einen weiteren Aufnahmekanal. Es bietet somit die Möglichkeit zwei Datensätze gleichzeitig aufzuzeichnen.

Sowohl die Bedienoberfläche wie auch die Programmierung beider Systeme basieren auf LabView[®] (National Instruments).

Für weiterführende Informationen über beide NIRS – Systeme soll an dieser Stelle auf die Arbeiten von Herrn Karl Theisen mit dem Titel "Entwicklung von Soft- und Hardware eines optischen Muskeloxygenierungsmonitors" [33] (Informationen zum BB-NIRSvII) und Frau Agnes Illbruck mit dem Titel " Experimentelle Vorbereitungen und Grundlagen für die Untersuchung der Hämodynamik und Muskelaktivität im Bein in Abhängigkeit von Vibrationen" [34] (Informationen zum BB-NIRSvI) verwiesen werden. Hier finden sich detaillierte Informationen zum Aufbau, den einzelnen Komponenten und den Funktionsweisen beider NIRS – Systeme.

5 Messungen

In diesem Kapitel werden die unterschiedlichen Messreihen vorgestellt, sowie ihre Auswertung dargelegt. Eine ausführliche Beschreibung der verwendeten Komponenten ist in den vorangegangenen Kapiteln zu finden. Die Auswertung der Daten erfolgte in MatLab[®] (Mathworks) sowie in Excel (Microsoft).

<u>Anmerkung:</u> Bei einigen Messungen wird der Begriff "Baseline" benutzt. Dieser bezieht sich je nach Messung auf einen Ruhezustand oder Ausgangswert, auf den sich die im weiteren Verlauf der Messung erhobenen Daten beziehen.

5.1 Probandenmessungen für Referenzdaten

Das Ziel dieser Arbeit ist es, ein Modell des menschlichen Muskelgewebes (mit zusätzlicher Unterhautfettschicht) zu entwickeln das in seinen optischen Eigenschaften möglichst nahe an reales menschliches Gewebe heranreicht.

Hierzu war es wichtig entsprechende Referenzdaten von realen Probanden zu erhalten. Die Daten sollten sowohl den oxygenierten wie auch den deoxygenierten Zustand des Muskels zeigen. Anhand dieser Daten war es möglich einen Vergleich zwischen Modell und Mensch zu erheben.

Das sechsköpfige Probandenkollektiv bestand aus männlichen und weiblichen Personen im Alter zwischen 19 und 29 Jahren, das Durchschnittsalter betrug dabei 24.33 Jahre. Alle Probanden waren in gesunder körperlicher Verfassung. Zur groben Beurteilung der Belastbarkeit der einzelnen Personen wurde ihr BMI (Body-Mass-Index) bestimmt. Dieser lag zwischen 19.2 und 26, der Durchschnittswert betrug hierbei 22,12. Der Bereich von 18.5 bis 25 wird dabei als Normalgewicht bezeichnet, Werten zwischen 25 und 30 fallen in den Bereich der Präadipositas, also des leichten Übergewichts.

Der Body-Mass-Index setzt die Körpergröße und das Gewicht einer Person in Relation zu einander und gibt so einen groben Richtwert für die körperliche Fitness der entsprechenden Person an. Allerdings werden hierbei einige wichtige Faktoren wie z.B. Geschlecht, Alter, die individuelle Zusammensetzung der Körpermasse aus Fett- und Muskelgewebe, nicht berücksichtigt. Der BMI wird mit Formel 5.1.1 berechnet, wobei m die Masse der Person in [kg] und l die Körpergröße in [cm] angibt.

 $BMI = \frac{m}{l^2}$ Berechnung des BMI Formel 5.1.1

Bei der Probandenauswahl wurde darauf geachtet, Personen mit möglichst unterschiedlicher körperlicher Fitness zu messen um später die Auswirkungen von unterschiedlich dickem Fettgewebe über der Muskulatur auf das NIRS Signal beurteilen zu können.

Diese Daten sollen später mit der Messreihe 5.3 "Messung unterschiedlicher Fettschichtdicken am Gewebephantom" verglichen werden. Gemessen wurde am Musculus gastrocnemius medialis, den inneren Wadenmuskel des rechten Beins (markiert in *Abb*. 5.1.1 und 5.1.2)



Abbildung 5.1.1: Skelettmuskulatur des Menschen. Markiert ist der Musculus gastrocnemius medialis.

Abbildung 5.1.2: Musculus gastrocnemius medialis mit Markierung der drei Messpunte für die Ultraschallmessung.

Zu Beginn, galt es die Dicke der Fettschicht zu Bestimmen. Hierzu wurde am Musculus gastrocnemius medialis an drei Positionen A, B und C mit je 1.5 cm Abstand (*Abb. 5.1.2*) bei jedem Probanden per Ultraschall (*MyLab 25 GOLD* der Firma *esaote*) gemessen [Einstellungen: B – Mode; 12 MHz;]. Der Schallkopf wurde quer zur Muskulatur angesetzt. Auf der Abbildung des Ultraschallgeräts konnte die Dicke mit Hilfe der integrierten Messfunktion direkt bestimmt werden. Die Dicke wurde jeweils am Anfang (1), in der Mitte (2) und am Ende (3) des 4 cm breiten Schallkopfs bestimmt (*Abb. 5.1.3*). Aus der so entstandenen Matrix an Datenpunkten wurde ein Mittelwert für die Höhe des Fettgewebes gebildet (exemplarisch in *Tabelle 5.1.1* für Proband P1 dargestellt). Um sicherzustellen, dass die Beinbehaarung der Probanden die Signale von Ultraschall und NIRS nicht beeinflussen kann, wurde diese zu vorher entfernt.



Abbildung 5.1.3: Per Ultraschall wurden Schnittbildaufnahmen von des Unterhautfettgewebes der Probanden aufgenommen und deren Dicke mit der integrierten Messfunktion des Gerätes (*MyLab 25 GOLD* der Firma *esaote*) an drei Positionen (A,B,C) festgestellt. Der obere Pfeil kennzeichnet die Trenschicht zwischen Haut und Unterhautfettgewebe, der untere Pfeil markiert die Trenschicht zwischen Unterhautfettgewebe und Muskel.

Dicke des Fettgewebes [mm] - Proband P1					
Positionen	1	2	3		
А	3.4	3.4	3.5		
В	3.4	3.2	3.2		
С	3	3	2.9		
Mittelwert Spalten	3.27	3.2	3.2		
Mittelwert gesamt		3.22			

Tabelle 5.1.1: Exemplarische Darstellung der Messpunkteverteilung für die Messung der Fettschicht

 dicke per Ultraschall für Proband P1. Über die entstandene Matrix von Messwerten am Musculus

 gastrocnemius medialis wird ein Mittelwert gebildet, welcher als Dicke der Fettschicht über der Muskula

 tur angesehen wird.

Tabelle 5.1.2 zeigt die Darstellung der Mittelwerte der Fettschichtdicke für alle Probanden sowie die Absolutwerte des Gesamthämoglobins und die Sauerstoffsättigung im oxygenierten und deoyxgenierten Zustand. Messungen

Probanden	P1	P2	P3	P4	Р5	P6
Mittlerer Wert der Fettschichtdi- cke [mm]	3.22	7.14	4.42	6.93	8.57	3.82
totHb - Ruhephase BB-NIRSvI [mmol]	0.023623	0.018827	0.015001	0.017721	0.008874	0.035272
totHb – Ermüdung BB- NIRSvI [mmol]	0.022136	0.017433	0.015786	0.013353	0.008876	0.027564
totHb - Ruhephase BB-NIRSvII [mmol]	0.078454	0.044066	0.045774	0.128323	0.037836	0.109815
totHb - Ermüdung BB- NIRSvII [mmol]	0.064112	0.044387	0.045393	0.115676	0.042679	0.091531
So2 - Ruhephase BB-NIRSvI [%]	51.59	51.5254	52.1684	48.5027	53.1796	47.8274
So2 - Ermüdung BB-NIRSvI [%]	34.2067	41.9914	43.7039	34.7346	49.223	32.0888
So2 - Ruhephase BB-NIRSvII [%]	44.3104	88.6771	58.7288	56.2885	59.5123	47.4441
So2 - Ermüdung BB-NIRSvII [%]	4.173	31.9599	27.2404	24.1036	45.2204	7.2807

Tabelle 5.1.2:Darstellung der Mittelwerte der Fettschichtdicke sowie die Konzentrationen von totHbund der Sauerstoffsättigung des Musculus gastrocnemius medialis für die Probanden P1 bis P6.

Die Position der Messpunktematrix wurde auf der Haut der Probanden markiert. Anschließend starteten zwei Messreihen. Bei der ersten Reihe wurde das BB-NIRSvI verwendet, die zweite Messung wurde mit dem BB-NIRSvII durchgeführt. Die gemessenen NIRS Daten hängen sehr stark von der Position der Optode auf dem Muskel ab. Aufgrund der unterschiedlichen Geometrien der Optodenplatten und der unterschiedlichen Abstände von Lichtquelle und Detektoren der Optoden von BB-NIRSvI und BB-NIRSvII war es nicht möglich in beiden Messreihen an der exakt gleichen Stelle des Musculus gastrocnemius medialis zu messen.

Um die Muskulatur sowohl im oxygenierten, wie auch im deoxygenierten Zustand messen zu können, absolvierten die Probanden ein Krafttraining mit einer geführten Langhantelstange (*Abb. 5.1.4*). Die Führung der Stange gewährleistete eine gleichmäßige Gewichtsverteilung auf beide Körperseiten. Das Gesamtgewicht von Stang und Gewichtscheiben lag bei 75 kg. Um das Risiko einer Fehlbelastung der Rückenmuskulatur zu minimieren, wurde allen Probanden ein Gewichtheber Gürtel angelegt welcher die Rückenhaltung stabilisierte. Zur Vorbereitung der Messung saßen die Probanden in der Kraftstation, die NIRS Optode wurde mit Klebeband an der zuvor markierten Stelle der rechten Wade angebracht. Dabei war es für das NIRS Signal wichtig sicherzustellen, dass die Optode auch während der Übung nicht verrutschte und eng an der Haut anlag. Nach dem Start der Messung saßen die Probanden für 10 Minuten um eine eventuelle Belastung des Musculus gastrocnemius medialis auszuschließen (Baseline). In diesem Zeitraum hatte der Muskel die Gelegenheit sich zu erholen, und seinen maximalen Oxydationslevel zu erreichen. Beim Start der Übung wurde der Hocker entfernt und dem Probanden die Langhantelstange mit Gewichten auf die Schultern gelegt. Die Stange wurde aus Sicherheitsgründen während der Übung auf beiden Seiten von Helfern mitgeführt. Sollte es also während der Durchführung zu unerwarteten Komplikationen kommen, konnte der Proband das Gewicht sofort gefahrlos übergeben. Er führte nun zwanzig Zehenstände aus um den Muskel zu ermüden, also zu Deoxygenieren. Um eine gleichmäßige Ausführung bei allen Probanden sicherzustellen, wurde ein Metronom genutzt. Ein Zehenstand wurde innerhalb von zwei Sekunden durchgeführt. Der gesamte Zeitraum des aktiven Krafttrainings betrug somit 40 Sekunden. Wichtig hierbei war, dass auch zwischen den einzelnen Zehenständen die Fersen der Probanden den Boden nicht berührten. Durch den ständigen Muskeltonus wurde der Wadenmuskulatur keine Möglichkeit zur Entspannung und der damit verbundenen Regeneration gegeben.



Abbildung 5.1.4: Proband mit geführter Langhantelstange. Während der Übungen wird mit den beiden NIRS – Systeme BB-NIRSvI und BB-NIRSvII der Verlauf der Sauerstoffsättigung des rechten Musculus gastrocnemius medialis mit dem BB-NIRSvI und BB-NIRSvII gemessen.

Nachdem die zwanzig Zehenstände absolviert waren, erhielt der Proband einer erneute zehnminütige Pause im Sitzen. Während dieser Zeit konnte sich die Muskulatur regenerieren. Der komplette Messvorgang wurde anschließend mit dem BB-NIRSvII wiederholt.

Der Verlauf der Messung lässt sich in *Abbildung 5.1.5* gut nachvollziehen. Dargestellt sind die Verläufe von oxyHb(rot) und deoxyHb (blau) von Proband 5. Bereich A zeigt die unbelastete Muskulatur (Baseline) sowie das Aufstehen und die Gewichtsaufnahme des Probanden. Der plötzliche Anstieg von oxyHb und deoxyHb entstehen durch das aufrichten des Probanden und die damit verbundene Flüssigkeitsverschiebung in die unteren Extremitäten. Die Konzentrationsänderungen liegen hier bei ca. 15 % für oxyHb, bei deoxyHb sind es ca. 18 %. Die Sauerstoffsättigung bleibt im gleichen Zeitraum nahezu konstant.

Die Peaks in Phase B sind die einzelnen Zehenstände des Probanden. Das deutliche Absinken des oxygenierten Hämoglobins bei gleichzeitigem Anstieg des deoxygnierten Hämoglobins zeigt den Sauerstoffverbrauch innerhalb des untersuchten Muskelvolumens an. Die Sauerstoffsättigung im Musculus gastrocnemius medialis ließ sich durch die Belastung von 59.51 % (Baseline) auf 45.22 % absenken. Phase C zeigt die Erholung des Muskels an. Der Proband hat die Gewichte abgelegt und sitzt. Es wirkt also keine Belastung mehr auf die Muskulatur. Der oxyHb Wert geht wieder auf das Niveau der Baseline zurück, während der Wert des deoxyHb sich ca. 17% über seinem Baselineniveau einpendelt.



Abbildung 5.1.5: Verlauf der Kraftübung, gemessen am Musculus gastrocnemius medialis. Der Verlauf von oxyHb und deoxyHb bei Proband 5 lässt die einzelnen Zehenstände (B) gut erkennen. Markierung A schließt einen Teil der Ruhephase sowie das Aufstehen und die Aufnahme des Gewichtes mit ein. Im Bereich C legt der Proband das Gewicht ab, setzt sich und geht in die Ruhephase Erholungsphase über.

Änderungen in der totHb Konzentration (oxyHb + deoxyHb) sind auf Kontraktionen und Relaxationen des Muskels zurück zu führen. Spannt sich der Muskel an, wird Flüssigkeit aus dem Gewebe verdrängt. Bei erneuter Entspannung steigt die Mengen an Blut und damit auch die Konzentration im untersuchten Volumen wieder an.

Ein Vergleich der Absolutwerte verschiedener Probanden ist aufgrund der unterschiedlichen Optodenpositionierung und der unterschiedlichen Gewebeeigenschaften nur sehr schwer möglich und hätte nur geringe Aussagekraft (*Abb. 5.1.6*). Was sich jedoch statt der Absolutwerte vergleichen lässt, sind die Änderungen z.B. in der Sauerstoffsättigung.



Abbildung 5.1.6: Sauerstoffsättigungen des rechten Musculus gastrocnemius medialis der Probanden 1 bis 6. Gemessen wurde der Muskel mit den beiden NIRS – Systemen BB-NIRSvI und BB-NIRSvII, zunächst im Ruhezustand, dann im ermüdeten Zustand nach der Durchführung einer Kraftübung. Die großen Unterschiede in den Messwerten der einzelnen Probanden sind auf Faktoren wie beispielsweise die Positionierung der Optode oder die unterschiedliche Beschaffenheit des Gewebes bei verschiedenen Probanden zurückzuführen, was einen direkten Vergleich der Absolutwerte unterschiedlicher Personen stark erschwert.

Abbildung 5.1.7 zeigt die Änderungen der prozentualen Sauerstoffsättigungen der Probanden 1 bis 6 im erholten und ermüdeten Zustand. Da dieser Vergleich nicht zwischen unterschiedlichen Probanden angestellt wird, kommen die oben erwähnten Störfaktoren beim Vergleich der Absolutwerte (unterschiedliche Gewebestruktur, unterschiedliche Position der Optode) hier nicht zum Tragen. Die Dargestellten Änderungen beziehen sich also auf die Unterschiede in der Sauerstoffsättigung eines Probanden. Der Mittelwert der Änderungen des BB-NIRSvII liegt bei 35.83 %. Die größte Abweichung vom Mittelwert ist mit 56.72 % bei Proband 2 zu beobachten, die niedrigste Abweichung liegt mit 14.29 % bei Proband 5. Auffällig ist, dass die mit BB-NIRSvI gemessenen Änderungen deutlich niedriger ausfallen. Der Mittelwert der Änderungen liegt hier bei 11.47 %. Die größte Abweichung vom Mittelwert wurde mit 17.38 % bei Proband 1 gemessen, die niedrigste Abweichung mit 3.96 % liegt erneut bei Proband 5.



Abbildung 5.1.7: Änderungen in der prozentualen Sauerstoffsättigungen (rechter Musculus *g*astrocnemius medialis) bei Ruhephase und Ermüdung der Probanden 1 bis 6, gemessen mit BB-NIRSvI und BB-NIRSvII.

Während bei Proband Nr. 5 mit der dicksten Fettschicht von 8.57 mm die geringsten Änderungen in der Sauerstoffsättigung zu erkennen sind, fallen die Änderungen bei Proband Nr. 2 mit einer Fettschicht von 7.14 mm, und damit der zweit dicksten Fettschicht in diesem Probandenkollektiv, am größten aus.

Nach dieser Betrachtung kann gesagt werden, dass die Fettschicht natürlich auf Grund ihrer geringeren Hämoglobinkonzentration Einwirkungen auf die Messungen der NIRS – Systeme hat, diese Auswirkung jedoch nicht relevant für die gemessene Sauerstoffsättigung ist, da diese aus dem Verhältnis von oxyHb zum totHb berechnet wird (*Formel 2.1.3.3*).

An dieser Stelle soll noch einmal darauf hingewiesen werden, dass die Daten der NIRS Systeme sehr stark von der Position und der Befestigungen der Optode abhängen. Dieser Systematische Fehler lässt sich bei den Messungen an Probanden nicht vollkommen vermeiden. Da am Gewebephantom die Positionen und Befestigungen der Optoden jedoch fest vorgegeben ist, kann der Fehler dort vermieden werden. Es wird sich bei den Auswertungen der Messungen 5.1.2 und 5.1.3 zeigen, ob die prozentualen Änderungen in den Sauersoffsättigungen bei beiden Systemen, zeitgleich gemessen unter absolut gleichen Bedingungen, noch immer deutlich unterschiedlich ausfallen.

5.2 Variation der Eindringtiefe am Gewebephantom

Eine der zu klärenden Fragestellungen zu Beginn dieser Arbeit bezog sich auf die maximal mögliche Eindringtiefe ins Gewebe der beiden NIRS - Systeme BB-NIRSvI und BB-NIRSvII. Um diese Fragestellungen klären zu können wurden beide Systeme zeitgleich am Gewebephantom angeschlossen und zwei Messreihen, ein ohne Fettschicht, die zweite mit einer zusätzlichen 5 mm dicken Fettgewebeschicht, durchgeführt. Während beiden Messungen wurde die maximal mögliche Eindringtiefe kontinuierlich in äquidistanten Schritten von je zwei mm geändert (siehe *4.2 Messkammer*).

Da sich bei Messungen mit Probanden die Eindringtiefe der NIRS – Systeme messen oder regulieren ließ, konnten bisher Aussagen über die Eindringtiefe der Signale nur anhand von Simulationen mit festgelegten Parametern getroffen werden. Mit Hilfe der variablen Bodenplatte der Messbox, kann die Eindringtiefe nun genau festgelegt werden.

Nachdem die Phantomlösung in das System eingefüllt wurde, begann zunächst die Begasung mit Gasmischung A (Zusammensetzung in *Kap. 4.4 Gase*) um eine Maximalsättigung der Lösung mit Sauerstoff zu erzielen. Nachdem ein stabiles Ausgangsniveau (Baseline) erreicht wurde, begannen die eigentlichen Messungen.

Hierbei wurde zunächst mit Hilfe der höhenverstellbaren Bodenplatte der Messbox eine minimale Eindringtiefe der NIRS Signale von praktisch 0 mm, bzw. 5 mm bei der Messung mit zusätzlicher Fettgewebeschicht, eingestellt.

Durch das Setzen eines Markers wurde jeweils der Beginn einer neuen Stufe gekennzeichnet. Nach je ca. 30 Sekunden Datenaufnahme pro Stufe, wurde die Position der Bodenplatte in äquidistanten Schritten von je 2 mm verändert, und die Eindringtiefe somit kontinuierlich erhöht. Die so entstandene Stufenprofiele der Absolutwerte von oxyHb, deoxyHb, totHb und S₀₂ lassen sich gut erkennen und sind in den *Abbildung 5.2.1* bis *5.2.4* exemplarisch für den Verlauf der Gesamthämoglobinmenge dargestellt. Eine Übersicht über die gesamten Verläufe befindet sich im Anhang (oxyHb, deoxyHb, totHb, S₀₂). Während der gesamten Zeit lief die Begasung mit Gas A weiter, um die Sauerstoffsättigung auf ihrem maximalen Level zu halten. Die Variation der Eindringtiefe wurde so lange fortgeführt bis keine Änderungen in den Signale mehr auftraten und wieder das Niveau der Baseline erreicht wurde.

Die Begasung mit A wurde eingestellt und die Begasung mit B startete, was zu einer Deoxygenierung der Phantomlösung führte. Nachdem die minimale Sauerstoffsättigung erreicht war, wurde erneut mit der Variation der Eindringtiefe, wie oben bereits beschrieben begonnen. Allerdings wurde nun mit der maximalen Eindringtiefe begonnen, und diese mit jeder weiteren Stufe abgesenkt. Die Bodenplatte wurde dazu in Schritten von je 2 mm in Richtung der NIRS - Sensorik geschoben, bis eine minimale Eindringtiefe von 0 mm bzw. 5 mm bei der Messung mit zusätzlicher Fettgewebeschicht, erreicht war. Auch hier zeigte sich wie erwartet wieder der treppenartige Verlauf der Absolutwerte von oxyHb, deoxyHb, totHb und S_{O2} , der mit den Änderungen der Eindringtiefen einher ging (in *Abb. 5.2.1* bis *5.2.4*) exemplarisch für totHb dargestellt). Die Begasung mit Gas B wurde kontinuierlich fortgesetzt um die maximale Deoxigenierung aufrecht zu erhalten.



Abbildung 5.2.1: Darstellung der Messungen der Konzentration von totHb bei Variation der Eindringtiefen des NIRS - Signals. Der stufenartige Verlauf wird durch die Erhöhung der Eindringtiefe äquidistante Schritten, von je 2 mm der Bodenplatte in der Messbox des Gewebephantoms hervorgerufen. Start der Eindringtiefe ist bei 0 mm. Gemessen wurde mit den NIRS - Systemen BB-NIRSvI & BB-NIRSvII bei maximaler Sauerstoffsättigung ohne Fettschicht.



Abbildung 5.2.2: Darstellung der Messungen der Konzentration von totHb bei Variation der Eindringtiefen des NIRS - Signals. Der stufenartige Verlauf wird durch die Erhöhung der Eindringtiefe äquidistante Schritten, von je 2 mm der Bodenplatte in der Messbox des Gewebephantoms hervorgerufen. Start der Eindringtiefe ist bei 0 mm. Gemessen wurde mit den NIRS - Systemen BB-NIRSvI & BB-NIRSvII bei minimaler Sauerstoffsättigung ohne Fettschicht.



Abbildung 5.2.3: Darstellung der Messungen der Konzentration von totHb bei Variation der Eindringtiefen des NIRS - Signals. Der stufenartige Verlauf wird durch die Erhöhung der Eindringtiefe äquidistante Schritten, von je 2 mm der Bodenplatte in der Messbox des Gewebephantoms hervorgerufen. Start der Eindringtiefe ist aufgrund der Fettschicht bei 5 mm. Gemessen wurde mit den NIRS - Systemen BB-NIRSvI & BB-NIRSvII bei minimaler Sauerstoffsättigung.



Abbildung 5.2.4: Darstellung der Messungen der Konzentration von totHb bei Variation der Eindringtiefen des NIRS - Signals. Der stufenartige Verlauf wird durch die Erhöhung der Eindringtiefe äquidistante Schritten, von je 2 mm der Bodenplatte in der Messbox des Gewebephantoms hervorgerufen. Start der Eindringtiefe ist aufgrund der Fettschicht bei 5 mm. Gemessen wurde mit den NIRS - Systemen BB-NIRSvI & BB-NIRSvII bei minimaler Sauerstoffsättigung.

Die markanten Peaks die am Anfang einiger neuer Stufen auftraten (insbesondere bei den *Abbildungen 5.2.2* und *5.2.4*) lassen sich auf Gaseinschlüssen in der Messkammer zurückführen. Es wurde versucht diese durch Drehung und Änderung der Lage der

Messkammer zu entfernen. Es ist also anzunehmen dass es sich bei den Peaks um Bewegungsartefakte handelt.

Um die Absolutwerte der einzelnen Stufen besser mit einander vergleichen zu können, wurde eine Mittelung über mehrere Datenpunkte vorgenommen. Bei den Messreihen des BB-NIRSvII wurde über je 40 Werte gemittelt, beim BB-NIRSvI konnte aufgrund der geringeren zeitlichen Auflösung (ein Datenpunkt alle 2.5 Sekunden) nur eine Mittelung über 10 Datenpunkte erfolgen. Die Messreihe ohne Fettschicht startet und endet bei einer Eindringtiefe von 0 mm, die Messreihe mit Fettschicht startet und endet bei einer Eindringtiefe von 5 mm.

In den *Abbildungen 5.2.5* und *5.2.6* ist das Verhalten der gemessenen Sauerstoffsättigung dargestellt. Obwohl sO₂ durch die konstante Begasung mit dem Gasgemisch A bzw. B auf ihrem maximalen bzw. minimalen Level gehalten wird, ist eine Änderung in der Sättigung die mit der Änderung der Eindringtiefen einhergeht deutlich zu erkennen. Bei der Oxygenierung in *Abbildung 5.2.5* ist die größte Differenz zwischen den Stufen 1 und zwei, also dem Sprung zwischen den Eindringtiefen von 0 mm und 2 mm im Datensatz der Messung ohne Fettschicht, gemessen mit BB-NIRSvI zu erkennen. Hier wurde ein Sprung der gemessenen Sättigung von 38.92 % auf 50.03 %, also eine Differenz von 11.11 % gemessen.



Abbildung 5.2.5: Obwohl die tatsächliche Sauerstoffsättigung der Lösung durch Begasung mit Gas A konstant auf ihrem max. Level gehalten wird ändert sich die gemessene Sauerstoffsättigung stufenweise mit der Änderung der Eindringtiefe. Bei jeder Stufe wird die mögliche Eindringtiefe um 2 mm erhöht. Die Messreihe ohne Fettschicht startet bei 0 mm, die Messreihe mit Fettschicht startet bei 5 mm.



Abbildung 5.2.6: Obwohl die tatsächliche Sauerstoffsättigung der Lösung durch Begasung mit Gas B konstant auf ihrem min. Level gehalten wird ändert sich die gemessene Sauerstoffsättigung stufenweisen mit der Änderung der Eindringtiefe. Bei jeder Stufe wird die Eindringtiefe um 2 mm verringert. Die Messreihe ohne Fettschicht endet bei 0 mm, die Messreihe mit Fettschicht endet bei einer Eindringtiefe von 5 mm.



Abbildung 5.2.7: Die Eindringtiefe wird stufenweise erhöht. Die prozentuale Abweichung bezogen auf den Wert der Baseline sinkt dabei kontinuierlich. Die tatsächliche Sauerstoffsättigung der Lösung wird durch Begasung mit Gasmischung A konstant auf ihrem maximalen Level gehalten.



Abbildung 5.2.8: Die maximal mögliche Eindringtiefe wird stufenweise abgesenkt. Die prozentuale Abweichung bezogen auf den Wert der Baseline sinkt dabei kontinuierlich. Die tatsächliche Sauerstoffsättigung der Lösung wird durch Begasung mit Gasmischung B konstant auf ihrem minimalen Level gehalten.

Die *Abbildungen 5.2.7* und *5.2.8* zeigen die prozentualen Abweichungen der einzelnen Stufen. Währende in *Abbildung 5.2.7* die Lösung maximal oxygeniert ist und die maximal mögliche Eindringtiefe stufenweise erhöht wird, weist die Lösung in *5.2.8* eine minimale Sauerstoffsättigung aus und die Eindringtiefe wird stufenweise begrenzt.

Die prozentuale Abweichung gibt das Verhältnis vom gemessenen Wert, bezogen auf den Wert der Baseline an. Diese ergibt sich aus einer Mittelung über je 40 Datenpunkte, welche bei konstanter Sauerstoffsättigung bzw. Entsättigung und ohne eine Begrenzung der maximal möglichen Eindringtiefe durch die variable Bodenplatte gemessen wurden.

Davon ausgehend, dass die maximale Eindringtiefe erreicht ist, wenn eine weitere Erhöhung um 2 mm nicht mehr detektiert werden kann (als Grenze wurde eine Änderung von mindestens 0.5 % zum vorangegangenen Messwert festgelegt. Geringere Änderungen können sich auch durch Faktoren wie Temperaturänderungen oder das Bewegen der Messbox einstellen, und somit nicht als direkte Auswirkung einer weiteren Stufe der Erhöhung der Eindringtiefe angesehen werden) kann die maximale Eindringtiefe der beiden NIRS - Systeme der *Tabelle 5.2.1* entnommen werden.

	BB-NIRSvI ohne Fett	BB-NIRSvI mit 5mm Fett- schicht	BB-NIRSvII ohne Fett	BB-NIRSvII mit 5mm Fett- schicht	
Eindringtiefe [mm]	22	27	20	25	

Tabelle 5.2.1: Eindringtiefen der NIRS – Systeme BB-NIRSvI und BB-NIRSvII für Gewebe mit und ohne einer 5 mm dicken Fettschicht. Das BB-NIRSvI weist gegenüber dem BB-NIRSvI eine um 2 mm erhöhte Eindringtiefe auf.

Auffällig ist, dass bei einer Eindringtiefe von 0 mm Daten erhoben werden konnten, obwohl hier aufgrund der fehlenden Lösung kein Signal zu erwarten ist. Dies ist möglicherweise auf einen dünnen Film zwischen der variablen Bodenplatte in der Messbox und deren Deckel, an dem beide NIRS – Systeme angebracht sind, zurückzuführen.

Bei der Messreihe mit zusätzlichem 5 mm dickem Fettgewebe zeigt sich, dass die Eindringtiefe deutlich erhöht ist. Durch das Fett, wird das eindringende Licht zwar gestreut und legt somit einen weiteren Weg zurück, jedoch ist die Absorption aufgrund des fehlenden Hämoglobins hier nur sehr gering. Es können mehr Photonen in tiefer gelegenes Gewebe eindringen.

Der ungewöhnliche Verlauf der Werte des ersten Schrittes von 24 mm auf 22 mm Eindringtiefe des BB-NIRSvI in den *Abbildungen 5.2.5* und *5.2.8* deutet an dieser Stelle auf einen Messfehler oder eine Fehler im Gewebephantom, zum Beispiel durch eine Gasblase hin. Der gemessene Sprung ist gerade bei dieser hohen Eindringtiefe ungewöhnlich groß. Außerdem müsste der Wert abfallen und nicht ansteigen. Auch der Abgleich mit den Werten des BB-NIRSvII, dessen Daten im gleichen Zeitraum keinen ungewöhnlichen Verlauf zeigen, und der Verlauf der weiteren Daten, deuten auf einen falschen, zu niedrigen Messwert an dieser Stelle hin.

Bezüglich des Anstiegs der gemessenen Sauerstoffsättigung über den Wert der Baseline hinaus (*Abb. 5.2.7*) des BB-NIRSvI bei der Messung mit Fett, kann an dieser Stelle keine konkrete Aussage getroffen werden. Aufgrund des gleichmäßig steigenden Verlaufs über den Baselinewert hinaus, ist ein Systemfehler oder das Vorhandensein einer Gasblase eher unwahrscheinlich. Ein zu geringer Wert der zuvor Aufgenommenen Baseline, ist hier eher Wahrscheinlich.

An dieser Stelle soll darauf hingewiesen werden, dass bei der Simulation der Eindringtiefe am Phantom die Haut und speziell die Durchblutung der Haut mit ihrer Absorption, nicht berücksichtigt werden konnte. Bei Messungen an realen Probanden ist daher mit einer niedrigeren Eindringtiefe der Signale ins Gewebe zu rechnen.

5.3 Messung unterschiedlicher Fettschichtdicken am Gewebephantom

In dieser Messreihe sollen die Auswirkungen von Fettschichten in unterschiedlichen Dicken im Gewebephantom auf die beiden NIRS – Systeme BB-NIRSvI & BB-NIRSvII untersucht werden. Die Dicke der Schichten startete bei 0 mm und wurde bei jeder neuen Stufe um 2 mm, bis zu einem Maximum von 10 mm erhöht. Die Eindringtiefe wurde bei dieser Messung nicht durch die variable Bodenplatte begrenzt. Im Anschluss werden die Daten mit denen der Probanden aus *Kapitel 5.1 Probandenmessungen für Referenzdaten* verglichen.

Nach dem Ansetzen wurde die Phantomlösung in die Messkammer eingefüllt und mit der Gasmischung A oxygeniert. Beim Erreichen der maximalen Sättigung der Lösung begann die Messreihe zunächst ohne Fett (= 0 mm). Um die unterschiedlichen Fett-schichten am Phantom anbringen zu können, musst der Deckel der Messbox geöffnet und die Schichten ausgetauscht werden (siehe *Kap. 4.1.2 Messkammer*). Nach dem erneuten Verschließen wurde die unerwünschte Luft aus der Messbox entfernt und die Box wieder im Wasserbad positioniert. Durch den Schichtwechsel kühlte die Lösung leicht aus, die Temperatur fiel jedoch nie unter 35.1 °C. Die Datenaufnahme pro Schicht betrug je acht Minuten. Anfang und Ende jeder Schichtmessung wurden durch Marker gekennzeichnet.

Nach der Datenaufnahme der 10 mm Schicht, wurde die Begasung mit Gasgemisch B gestoppt und die Begasung mit B startete. nachdem die minimale Sauerstoffsättigung der Lösung erreicht war wurden die Fettschichten erneut wie bereits beschrieben ausgetauscht beginnend mit der 10 mm Schicht.

Bei der Auswertung werden die Daten ohne Fettschicht (im oxygenierten sowie im deoxygenierten Zustand) als Referenz/Baseline angesehen. Zur Auswertung wurden die Daten pro Fettschicht gemittelt. Die Mittelung der gemessenen Werte pro Schicht liegt bei 110 Datenpunkten für das BB-NIRSvII und bei 55 Datenpunkten für das BB-NIRSvI aufgrund seiner geringeren zeitlichen Auflösung. Messungen

Dicke der Fettschicht [mm]	0	2	4	6	8	10
BB-NIRSvI oxygenierte						
Lösung						
sO2 Mittelwert	51.38%	60.75%	58.79%	59.96%	57.23%	55.39%
sO2 min.	46.32%	59.25%	57.53%	56.97%	55.92%	53.94%
sO2 max.	55.13%	62.20%	59.94%	61.39%	58.80%	56.60%
BB-NIRSvI deoxygenierte						
Lösung						
Dicke der Fettschicht [mm]	10	8	6	4	2	0
sO2 Mittelwert	45.86%	52.87%	46.96%	41.11%	43.06%	69.40%
sO2 min.	44.99%	49.85%	40.10%	39.47%	40.27%	63.82%
sO2 max.	46.63%	57.53%	53.06%	42.61%	48.67%	76.51%
BB-NIRSvII oxygenierte						
Lösung						
Dicke der Fettschicht [mm]	0	2	4	6	8	10
sO2 Mittelwert	65.41%	66.05%	63.35%	63.80%	64.98%	56.23%
sO2 min.	64.08%	65.40%	62.90%	63.34%	64.52%	55.56%
sO2 max.	66.45%	66.86%	63.73%	64.40%	65.42%	56.61%
BB-NIRSvII deoxygenierte						
Lösung						
Dicke der Fettschicht [mm]	10	8	6	4	2	0
sO2 Mittelwert	45.39%	43.43%	43.66%	40.25%	37.11%	71.56%
sO2 min.	45.16%	43.11%	42.75%	38.70%	36.78%	66.14%
sO2 max.	45.59%	43.72%	44.44%	40.99%	37.54%	79.02%

Tabelle 5.3.1: Übersicht über die Mittelwerte der Sauerstoffsättigungen bei unterschiedlichen Fettschichtdicken, gemessen im oxygenierten sowie im deoxygenierten Zustand mit BB-NIRSvI und BB-NIRSvII, sowie den minimalen und maximalen Sauerstoffsättigungen bei jeder Fettschichtdicke.

Tabelle 5.3.1 zeigt die gemessenen Sauerstoffkonzentrationen der unterschiedlichen Fettschichten.

Die gemessenen Werte der einzelnen Stufen schwanken beim BB-NIRSvI, besonders im bei den Messungen des deoxygenierten Zustands, teils stark. Der Mittelwert der Schwankungen aller Stufen liegt hier bei 7.76 %, die größten Schwankungen sind mit 12.07 % in den Daten ohne Fettschicht zu finden. Für die Messungen des oxygenierten Zustandes liegen die Schwankungen des Mittelwerts aller Stufen bei 4.02 %, auch hier sind die größten Schwankungen mit 8.8 % in den Daten ohne Fettschicht zu finden.

Beim BB-NIRSvII fallen die Schwankungen der gemessenen Werte der einzelnen Stufen deutlich geringer aus. Der Mittelwert aller Schwankungen liegt im deoxygenierten Zustand bei 3.11%. Die größten Schwankungen mit 12.88% sind auch hier wieder in den Daten ohne Fettschicht zu finden. Für die Messungen im oxygenierten Zustand liegt der Mittelwert aller Schwankungen bei 1.28 %. Die größten Schwankungen mit 2.37 % finden sich erneut im Datensatz ohne Fettschicht.

Die auffallend hohe Variation der Messwerte der Stufe ohne Fettschicht im deoxygenierten Zustand, sowohl in den Daten des BB-NIRSvI wie auch in denen des BB-NIRSvII (der Mittelwert der Schwankungen aller Übrigen Stufen des deoxygenierten Zustandes ohne Fett lagen zwischen 0.43 % und 2.29 %, während hier Abweichungen von 12.69 % bzw. 12.88 % zu erkennen waren) lässt auf einen möglichen störenden Einfluss im Gewebephantom schließen. Denkbar wären hier Luft oder Gaseinschlüsse in der Messbox, welche die Messungen beeinflussen.

Auffällig in den Daten der Sauerstoffsättigung ist, dass die Messwerte des BB-NIRSvII für die Messungen des oxygenierten Zustandes, ausnahmslos über denen des BB-NIRSvI liegen, im Durchschnitt um 6.05 % bei einem Maximum von 14.03 % für die Daten ohne Fettschicht. Im deoxygenierten Zustand hingegen liegen die Messwerte des BB-NIRSvII bis auf eine Ausnahme, die Messung ohne Fettschicht mit einer Abweichung von +2.16 %, unter denen des BB-NIRSvI. Der Durchschnittswert beträgt hier -2.98 %. Ließe man Messung ohne Fettschicht hier auf Grund möglicher äußerer Störeinflüsse (möglicherweise Gas oder Lufteinschlüsse in der Messkammer) außer Acht, lägen die gemessenen Werte des BB-NIRSvII im Durchschnitt um 3.34 % unter denen des BB-NIRSvII. Die Variation der gemessenen Sauerstoffsättigung ist beim BB-NIRSvII also deutlich größer als beim BB-NIRSvI. Die Unterschiede in den Messspannen beider Systeme deuten möglicherweise auf eine Diskrepanz zwischen den Berechnungen der Sauerstoffsättigung beider Systeme hin.

Der Vergleich mit den Realdaten einzelner Probanden (siehe *Kap. 5.1 Probandenmessungen für Referenzdaten*) gestaltet sich schwierig, da die Messdaten der Probanden untereinander, auch bei ähnlichen Fettschichtdicken, sich teilweise erheblich voneinander unterscheiden. Aus diesem Grund werden die Daten von je drei Probanden mit ähnlich dicken Fettschichten zusammengefasst und gemittelt. Aus den Daten der Probanden P1 (3.22 mm Fettschicht), P3 (4.22 mm Fettschicht) und P6 (3.82 mm Fettschicht) wird durch Mittelung der fiktive Proband P_{1,3,6} (3.82 mm Fettschicht, während die Daten der Probanden P2 (7.14 mm Fettschicht), P4 (6.93 mm Fettschicht) und P5 (8.57 mm Fettschicht) zum fiktiven Proband P_{2,4,5} (7.54 mm Fettschicht) gemittelt werden. Diese Daten lassen sich gut mit denen der 4 mm und 8 mm dicken Fettschicht am Gewebephantom vergleichen.

Anmerkung:

Zwei von drei Daten die in die Berechnung der Sauerstoffsättigung von Proband $P_{1,3,6}$ gemessen mit BB-NIRSvII einfließen sind (*Tabelle 5.3.2 Zeile 5, Spalte 2*) sind mit 4.17 % bzw. 7.28 % extrem niedrig. Obwohl die Position der Optode während der Messung

Sauerstoffsättigung	P _{1,3,6} 3.82mm Fettschicht	Phantom 4mm Fett- schicht	P _{2,4,5} 7.54mm Fettschicht	Phantom 8mm Fett- schicht			
BB-NIRSvI oxygenierter Zustand	50.53 %	58.79%	49.27 %	57.23%			
BB-NIRSvI deoxygenierte Zustand	36.66 %	41.11%	41.98 %	52.87%			
BB-NIRSvII oxygenierte Zustand	50.16 %	63.35%	68.16 %	64.98%			
BB-NIRSvII deoxygenierte Zustand	12.9 %	40.25%	33.76 %	43.43%			

nicht verändert wurde, ist es beispielsweise möglich, dass durch die Bildung einer Schweißschicht zwischen Haut und Optode ein unerwünschter Einfluss auf die Messdaten entsteht.

Tabelle 5.3.2: Vergleich der gemessenen Sauerstoffsättigungen zwischen den fiktiven Probanden $P_{1,3,6}$ bzw. $P_{2,4,5}$ und den Daten gemessen am Gewebephantom mit den Systemen BB-NIRSvI und BB-NIRSvII bei den Fettschichten 4 mm und 8 mm.

Tabelle 5.3.2 zeigt einen Vergleich der gemessenen Sauerstoffsättigungen von Probanden- und Phantomdaten. Bis auf eine Ausnahme (*Tabelle 5.3.2 Zeile 4*, Vergleich der Spalten 4 und 5) liegen die Werte des Phantoms immer über denen der Probenden. Vergleicht man die gemessenen Daten der entsprechenden Systeme mit einander kommt man auf eine durchschnittliche Abweichung von 13.31 % bei dem Verglich von $P_{1,3,6}$ und der Messung der 4 mm Fettschicht am Phantom. Die Abweichungen des BB-NIRSvII liegen deutlich über denen des BB-NIRSvI. Beim Verglich von $P_{2,4,5}$ und der Messung der 8 mm Fettschicht am Phantom liegt die Durchschnittliche Abweichung bei 7.93 %. Die gemessenen Werte des BB-NIRSvII haben hier eine etwas bessere Übereinstimmung mit den Probandendaten als die des BB-NIRSvI.

Der Vergleich aus *Tabelle 5.3.2* zeigt eine relativ hohe Differenz zwischen Real- und Phantomdaten auf. Eine angestrebte durchschnittliche Abweichung von maximal 5 % konnte nicht erreicht werde. Die weiteren Schritte sollten hier aus der Vermessung eines größeren Probandenkollektivs mit möglichst unterschiedlichen Fettschichtdicken, sowie mehreren Wiederholungen der beschriebenen Messungen am Gewebephantom bestehen. Auch wenn die Dicke der Fettschichten einzelner Probanden sich ähnelt, spielen dennoch Faktoren wie Hautpigmentation, die Positionierung der Optode oder der Trainingszustand einzelner Probanden eine wichtige Rolle bei der Bestimmung deren Sauerstoffsättigung im Muskelgewebe. Auch im Phantom kann es bei Ansetzen der Lösung, da beispielsweise das Blut von verschiedenen Rindern eine unterschiedlich hohe Konzentration von Hämoglobin enthalten kann, oder durch eine eventuelle Verformung der Fettschicht in der Messkammer bei Fortschreiten der Messreihe zu unerwünschten Einflüssen auf das gemessene Ergebnis kommen. Diese Faktoren, sowohl beiden Probanden wie auch beim Gewebephantom könnten durch die Mittelung der so gewonnenen Daten minimiert werden, was die Aussagekraft des hier angeführten Vergleichs deutlich steigern würde.

5.4 Abgleich mit pO₂ Sensor

Als Referenzmethode zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung im Gewebephantom wurde eine Sauerstoffpartialdruckelektrode genutzt. Die Beschreibung deren Funktionsweise ist in *Kapitel 4.6.2 StirrOx G* zu finden.

Insgesamt wurden die Datensätze von vier unterschiedlichen Messungen bezüglich dem Verlauf der Sauerstoffsättigung der Phantomlösung ausgewertet und ein Vergleich zwischenden gemessenen Daten des pO_2 Sensors und den beiden NIRS – Systemen angestellt. Der Ausgangszustand war bei allen Messungen der maximale Oxygenierungszustand der Lösung. Dieser wurde im Verlauf der Messung durch die Zufuhr von Gasmischung B auf ihren minimalen Level gebracht.

Die Dauer der Deoxigenierungszyklen lag zwischen 82 und 120 Minuten. Alle 2 Minuten wurde der Sauerstoffsättigungswert der pO_2 Elektrode notiert, die Anzahl der Messpunkte lag also zwischen 42 und 61 Punkten.

Die gemessenen Werte wurden in *Formel 5.4.1* als sO_2 eingesetzt, woraus sich der entsprechende Sauerstoffpartialdruck, pO_2 [torr] bestimmen lies. Da die Kalibration der pO_2 Elektrode in einem Luftkalibriergefäß durchgeführt wurde, musste an dieser Stelle der Atmosphärendruck von 760 torr sowie ein Skalierungsfaktor für die prozentuale Sauerstoffsättigung der Luft von 0.2 (entsprechend dem ca. 20 % igem Sauerstoffanteil in der Luft unter Normalbedingungen) mit eingerechnet werden.

 $pO_2 = sO_2 \cdot 0.2 \cdot 760 \ torr$

Mit diesen Angaben ließ sich nun über die Hillgleichung (*Formel 5.4.2*) die Sättigung des Hämoglobins bestimmen. Die Sättigung y, ist dabei definiert als der Grad der Belegung der sauerstoffbindenden Zentren und kann Werte zwischen 0 (keine Belegung) bis 1 (alle Zentren belegt) annehmen. Der Faktor n ergibt sich aus dem Hilldiagramm und wird als einheitenloser Hillkoeffizient bezeichnet und bezieht sich auf die Sauerstoffbindungseigenschaften. Sein Wert für Hämoglobin liegt bei 2.8, für Myoglobin bei 1. Dies gibt die kooperative Bindungseigenschaft des Hämoglobins an, wohingegen Myoglobinmoleküle Sauerstoff unabhängig voneinander binden [5]. (siehe *Kap. 2.1.3* für *Hämoglobin* und *Kap. 2.1.5* für *Myoglobin*). Der Wert P₅₀ wird als sogenannte Halbsättigung bezeichnet, und gibt den Partialdruck an bei dem genau 50 % der sauerstoffbindenden Zentren eines Moleküls belegt sind, also y = 50 %. Der Wert für P₅₀ liegt für Hämoglobin bei 26.6 torr (37°C, pH 7.4) [9].

$$y = \frac{(pO_2)^n}{(pO_2)^n + (pO_{50})^n}$$
Hillgleichung Formel 5.4.2

Durch das Auftragen von y gegen den herrschenden Sauerstoffpartialdruck erhält man die Hillkurve (siehe auch *Kap. 2.1.3 Hämoglobin*).

In den *Abbildungen 5.4.1* bis *5.4.4* ist die gemessene Sauerstoffsättigung gegen den herrschenden Partialdruck für die pO₂ Elektrode (grün) sowie das BB-NIRSvI (blau) und das BB-NIRSvII (rot) aufgetragen. Die Kurve des pO₂ Sensors deckt den Bereich von 0 % bis 100 % der Sauerstoffsättigung nahezu komplett ab und kommt damit sehr nahe an die aus der Literatur bekannten Hillkurve heran (*Kap. 2.1.3 Hämoglobin*) [3]. Die Werte der beiden NIRS Systeme jedoch weichen in allen Messungen deutlich von dieser Darstellung ab. Der Verlauf ist bei allen Messungen ähnlich. Liegen die NIRS - Werte bei niedrigem Partialdruck weit über denen des Sensors, sind sie bei hoher Sättigung der Lösung deutlich niedriger. Ein Schnittpunkt der drei Kurven ist in den Abbildungen 5.4.2 bis 5.4.4 in dem nahen Bereich der Halbsättigung (y = 50 %) zu erkennen. In den *Abbildungen 5.4.1* und *5.4.2*, den Messungen ohne eine zusätzliche Fettschicht, ist im Verlauf der NIRS – Daten die Hillkurve noch zu erkennen. Die gemessene Sättigung bewegt sich allerdings bei beiden Systemen in zu engen Bereichen und kommt weder an die 0 % noch an die 100 % der Sauerstoffsättigung heran.



Abbildung 5.4.1: Deoxgenierung der Phantomlösung; gemessen mit BB-NIRSvI, BB-NIRSvII und Sauerstoffpartialdruckelektrode. Dargestellt ist die prozentuale Sauerstoffsättigung (y – Achse) gegenüber dem herrschenden Sauerstoffpartialdruck (x- Achse).



Abbildung 5.4.2: Deoxgenierung der Phantomlösung; gemessen mit BB-NIRSvI, BB-NIRSvII und Sauerstoffpartialdruckelektrode. Dargestellt ist die prozentuale Sauerstoffsättigung (y – Achse) gegenüber dem herrschenden Sauerstoffpartialdruck (x- Achse).



Abbildung 5.4.3: Deoxgenierung der Phantomlösung mit 5 mm Fettschicht; gemessen mit BB-NIRSvI, BB-NIRSvII und Sauerstoffpartialdruckelektrode. Dargestellt ist die prozentuale Sauerstoffsättigung (y – Achse) gegenüber dem herrschenden Sauerstoffpartialdruck (x- Achse).



Abbildung 5.4.4: Deoxgenierung der Phantomlösung mit 10 mm Fettschicht; gemessen mit BB-NIRSvI, BB-NIRSvII und Sauerstoffpartialdruckelektrode. Dargestellt ist die prozentuale Sauerstoffsättigung (y – Achse) gegenüber dem herrschenden Sauerstoffpartialdruck (x- Achse).

Die Abbildungen 5.4.3 und 5.4.4 stammen von Messreihen mit einer 5 bzw. 10 mm dicken Fettschicht. Hier weicht der gemessene Verlauf der Sauerstoffsättigung der beiden NIRS –Systeme noch stärker als in den vorangegangenen Messungen ohne Fettschicht von dem des pO_2 – Sensors ab. Der typische S – förmige Verlauf ist hier in beiden Abbildungen nicht mehr zu erkennen. Die Werte beider Systeme liegen hier jedoch sehr eng bei einander.

Über den genauen Grund für den gravierenden Unterschied zwischen den NIRS - Daten und den Daten der pO_2 Elektrode kann an dieser Stelle keine genaue Aussage getroffen werden. Als mögliche Fehlerquellen kommt hier eine Reihe von verschiedenen Faktoren oder auch das Zusammenspiel mehrerer Einflüsse in Frage.

Auf Seiten des Gewebephantoms kann es beispielsweise durch die ungewollte Oxydation von Hämoglobin zur Bildung von unerwünschtem Methämoglobin kommen, dessen Sauerstoffbindungseigenschaften von denen des Hämoglobins abweichen. Eine weitere Möglichkeit wäre das Vorhandensein eines bisher unbekannten Stoffs, dessen spektrale Eigenschaften in einigen Punkten denen des Hämoglobins ähneln. Die Bildung einer solchen Substanz wäre beispielsweise durch eine Kreuzreaktion von zwei oder mehr Stoffen die sich in der Lösung befinden denkbar.

Auf Seiten der NIRS – Systeme können Einflüsse wie Untergrundrauschen oder falsche Extinktionskoeffizienten zu fehlerhaften Messergebnissenführen. Da der Verlauf der beiden unabhängigen NIRS – Systeme innerhalb der einzelnen Messungen jedoch sehr ähnlich ist, ist eine Wahrscheinlichkeit für Fehler am Gewebephantom, speziell an der Phantomlösung, eher gegeben.

6 Diskussion

Rückblickend auf die durchgeführten Messungen und deren Auswertungen kann das Gewebephantom als partieller Erfolg gewertet werden. Einige Fragestellungen vom Beginn der Arbeit ließen sich klären andere wiederum wurden durch neu aufgetretene Fragen ersetzt.

Eine generelle Funktion des Gewebephantoms in der vorgestellten Konfiguration ist durchaus gegeben. Die Fragestellung nach der maximal möglichen Eindringtiefe für die beiden NIRS – Systeme BB-NIRSvI und BB-NIRSvII konnte in *Kapitel 5.2 Variation der Eindringtiefe am Gewebephantom* geklärt werden. Beim BB-NIRSvII liegt sie ohne Fettschicht bei 18 mm, mit einer 5 mm dicken Fettschicht bei 25 mm. Beim BB-NIRSvI ist sie um 2 mm höher. Hier liegt die Eindringtiefe bei 22 mm ohne und 27 mm mit Fettschicht. Wichtig ist bei dieser Betrachtung jedoch, dass die Möglichkeiten der Simulation von Haut und Hautdurchblutung am Gewebephantom derzeit nicht gegeben sind. Bei Messungen an realen Probanden tragen diese Faktoren zur zusätzlichen Absorption bei, was die Eindringtiefe beider Systeme etwas herabsetzen wird.

Bei den Messungen mit unterschiedlichen Fettschichtdicken in Kapitel 5.3 Messung unterschiedlicher Fettschichtdicken am Gewebephantom zeigte sich, dass der Rahmen in dem sich die Änderung der Sauerstoffsättigung bewegt, beim BB-NIRSvII deutlich größer ist als beim BB-NIRSvI. Dieser Punkt sollte in einer weiterführenden Messreihe genauer untersucht werden, da es sich hier um einen Systematischen Fehler in einem der beiden Systeme handeln kann. Der Abgleich mit Probandendaten aus Kapitel 5.1 zeigte eine relativ hohe Abweichung zwischen den Datensätzen. Die angestrebte, maximale, durchschnittliche Abweichung von 5 % zwischen Real- und Modelldaten wurde hier deutlich überschritten, was die Aussagekraft der Phantomdaten bezüglich unterschiedlicher Fettschichtdicken in Frage stellt. Ein möglicher weiterer Schritt wäre hier zunächst das Erheben weiterer Probandendaten mit möglichst unterschiedlichen Fettschichtdicken. Durch die Mittelung ähnlicher Datensätze ließen sich so störende Faktoren wie beispielsweise unterschiedliche Hautpigmentation oder die unterschiedliche Positionierung der Optode am Muskel auf Probandenseite minimieren. Durch die mehrfache Wiederholung der beschriebenen Messreihen am Phantom ließen sich ebenfalls, durch Mittelung der Datensätze, Störfaktoren wie beispielsweise die unterschiedliche Hämoglobinkonzentration im Blut, und damit in der Phantomlösung, unterschiedlicher Tiere reduzieren.

Der in *Kapitel 5.4 Abgleich mit pO*₂ *Sensor* angeführte Vergleich zwischen den Daten der NIRS – Systeme und denen der pO₂ Elektrode zeigte hier eine erhebliche Diskre-

panz auf. Stimmt der Verlauf der Hillkurve für den pO_2 Sensor in allen betrachteten Messungen gut mit dem erwarteten Ergebnis aus der Literatur überein, weichen die Ergebnisse beider NIRS – Systeme stark davon ab. In den Messungen ohne Fettschicht ist der typische S – förmige Verlauf der Hillkurve noch im Ansatz zu erkennen, in den Messungen mit Fettschicht geht auch dieser Ansatz komplett verloren. Da der pO_2 Sensor als Referenz für die Bestimmung der Sauerstoffsättigung diente, stellt dieses Ergebnis die Aussagekraft des Phantoms im Ganzen in Frage. Über Gründe der starken Abweichungen kann an dieser Stelle keine Aussage getroffen werden. Denkbar ist die bereits erwähnte Bildung von Methämoglobin oder ein mögliche Kreuzreaktion zwischen Inhaltsstoffen der Phantomlösung.

Um diesen Punkt zu klären werden weiterführende Messreihen nötig sein. Zunächst sollte der bestehende pO₂ Sensor durch eine weitere Referenzmethode ersetzt oder besser ergänzt werden. Zu diesem Zweck bieten sich beispielsweise die Verfahren der Blutgasanalyse oder einer weiteren photometrischen Untersuchung an. Außerdem könnte die Zusammensetzung der Phantomlösung systematisch variiert und auf eine bessere Übereinstimmung zwischen pO₂ Sensor und NIRS hin optimiert werden. Dabei wäre es ratsam einen Biologen, Chemiker oder Biochemiker in die Versuchsreihen mit einzubinden.

Aufgrund der ungenügenden Übereinstimmung mit den Daten des pO_2 – Sensors bleibt es bis auf weiteres offen, in welcher Weise sich das Gewebephantom zur Validierung, Weiterentwicklung und dem Erheben von Referenzdaten für die genutzten NIRS – Systeme eignet. In Messreihen bei denen nicht die Sauerstoffsättigung im Vordergrund steht, wie beispielswiese der Bestimmung der Eindringtiefe (hier spielten die gemessenen Absolutwerte eine untergeordnete Rolle, der Fokus lag auf den Änderungen verschiedener Daten beim Erhöhen oder Absenken der möglichen maximalen Eindringtiefe) kann das Phantom in seiner derzeitigen Form jedoch durchaus genutzt werden. Neben den in den vorangegangenen Kapitel vorgestellten Messreihen wurde das Gewebephantom bereits erfolgreich bei einigen Messreihen der Bachelorarbeit von Herrn Karl Theisen eingesetzt, beispielsweise zum Vergleich des Ein- und Zweikanalbetriebs des BB-NIRSvII, sowie bei der Untersuchung des Crosstalks auf dem CCD – Chip im Zweikanalmodus. [35]

7 Ausblick

Das Gewebephantom stellt in seiner jetzigen Ausführung den einfachsten möglichen Aufbau dar. Allerding bieten sich einige Möglichkeiten zum Verbesserten Aufbau an. Im Folgenden soll auf einige mögliche Weiterentwicklungen eingegangen werden:

7.1 Simulation von Haut und Knochen

Für die weitere Entwicklung und Optimierung des Gewebephantoms lässt sich an unterschiedlichen Bereichen ansetzen. Auf die Möglichkeit den Deckel auszutauschen und an beliebige andere NIRS-Systeme oder ähnliches anzupassen wurde bereits am Anfang dieser Arbeit eingegangen. Dabei wäre es denkbar eine Art von künstlicher Haut als oberste Schicht anzubringen, die je nach Konstruktion sogar mit der Möglichkeit auf eine eigenständige "Durchblutung" versehen werden könnte. Aus Kostengründen ist es auch denkbar bei ersten Versuchen mit frischer Schweine- oder Rinderhaut zu beginnen. Durch künstliches Einfärben könnten unterschiedlich stark pigmentierte Hauttypen simuliert werden. Selbst Haare (auch hier wäre künstliches Einfärben denkbar um unterschiedliche Haartypen zu berücksichtigen) könnten in Kombination mit der Tierhaut am Phantom implementiert werden Probanden ermitteln lassen würde.

Eine weitere kostengünstige und leicht umsetzbare Weiterentwicklung bestünde in der Simulation von Knochensubstanz, die bisher nicht berücksichtigt wurde. Diese ließe sich leicht auf der höhenverstellbaren Bodenplatte befestigen. Auch hier bietet es sich wieder an frisches Knochenmaterial vom Schwein oder Rind zu verwenden. Selbst die Knochenhaut, die einen Einfluss auf die Eindringtiefe des nahinfraroten Lichts in die Knochensubstanz, und somit unmittelbaren Einfluss auf das Signal hat, ließe sich leicht am Gewebephantom anbringen. Über die Haltbarkeit von Knochensubstanz und Haut, sowie auf deren Lagerung kann an dieser Stelle keine Aussage getroffen werden.

7.2 Genauere Dosierung der Gase mit Hilfe von Gasmischpumpen

In der aktuellen Konfiguration des Gewebephantoms ist es möglich die Sättigung der Phantomlösung auf einem maximalen oder minimalen Stand konstant zu halten. Die exakte Einhaltung des Zustandes einer Teilweisen Sättigung konnte bisher nicht realisiert werden. Eine denkbare Lösung für dieses Problem besteht in der Nutzung von Gasmischpumpen. An diesen Pumpen ist es möglich zwei oder mehr verschiedene Gassorten nach Belieben in ein exaktes Mischverhältnis zu setzen. Durch die Wahl des geeigneten Mischverhältnisses kann jeder beliebige, mögliche Zustand der Sauerstoffsättigung der Phantomlösung erreicht werden.

Eine andere denkbare Alternative liegt in der Beschaffung einer Reihe von Gasen mit je unterschiedlichen Mischungsverhältnissen von Sauerstoff und Stickstoff. Dies würde jedoch gegenüber der möglichen Nutzung von Gasmischpumpen einen erheblich größeren Aufwand an Kosten und Lagerkapazität bedeuten, sowie die Flexibilität bei der Wahl der unterschiedlichen Begasungsstufen einschränken. Des Weiteren ist in den meisten Laboren die zugelassene Anzahl der zu lagernden Gasflaschen stark eingeschränkt.

7.3 Mehrschichtphantom

Bisher ist es nur möglich, je eine einzelne Muskel- Fett- und Hautschicht zu simulieren. Oft setzt sich das zu untersuchende Gewebe jedoch aus mehreren Muskelsträngen oder verschiedenen Muskelgruppen zusammen, die auch unterschiedliche sogar Oxygenierungsstadien aufweisen können. Aus diesem Grund wäre es wünschenswert mit Hilfe des Gewebephantoms unterschiedliche Schichten simulieren zu können, die bestenfalls auch unabhängig voneinander auf verschiedene Oxygenierungslevel gebracht werden können. Hierbei ist abzuwägen, ob man gasundurchlässige Trennschichten, beispielsweise aus Plexiglas oder PVC Folie, oder semipermeable Membranen, die den Gasaustausch in gewissem Umfang zulassen, bevorzugt. Dieser Aufbau ließe es unter anderem auch zu, den störenden Einfluss von externen Lichtquellen, wie zum Beispiel Laborbeleuchtung, zu untersuchen.

Der wahrscheinlich am leichten zu realisierende Aufbau besteht aus mehreren, aus Plexiglas oder ähnlichem Material gefertigten, Quadern. Diese könnten bei der Fertigung leicht in der gewünschten Höhe angepasst werden. Auch ließe sich hier, ohne größeren Aufwand an jedem einzelnen Quader ein Zu- sowie ein Abfluss anbringen, wodurch unterschiedliche Sauerstoffsättigungen in den einzelnen Kammern erreicht werden könnten. Probleme könnten durch die Reflexion des nahinfraroten Lichts an den jeweiligen Grenzschichten, sowie Mehrfachreflexionen innerhalb des Materials auftreten. deshalb sollten die Wanddicken so dünn wie möglich gehalten werden. Des Weiteren ist unbedingt auf die spektralen Eigenschaften des Materials zu achten. Die Lichtabsorption sollte im nahinfraroten Bereich so gering wie möglich ausfallen.

Der Einsatz von Folien an Stelle von Plexiglas würde den Vorteil bieten, dass die Mehrfachreflexionen innerhalb des Materials geringer ausfielen. Außerdem wäre es so leicht die Geometrie der einzelnen Kammern beliebig anzupassen. Es wäre zum Beispiel möglich die Kammern um einen Knochen herum zu legen oder einzelne Muskelfasern auszuformen, was der realen Geometrie natürlich weitaus näher käme als die zuvor erwähnten Quader.

Auch eine Kombination aus Folien als Trennschicht und der aktuellen Konfiguration der Messkammer wäre denkbar.

7.4 Gelphantom mit Konzentrationsgradient

Ein anderer möglicher Ansatz um das Gewebephantom weiter zu entwickeln besteht in einer Art Gelblock in dem das Hämoglobin als Vollblut oder in Form von Pulver, sowie die benötigten Streukörper, direkt beim Guss eingebracht wurden. Ein möglichst steriler Umgang sowie der Einsatz eines Breitbandantibiotikas wären nötig um die Haltbarkeit des Gelblocks zu erhöhen. Dabei muss darauf geachtet werden in wie fern sich das Gel und das Antibiotikum auf die spektralen Eigenschaften auswirken.

Durch die Begasung einer Wand des Gelblocks mit Gas A und der Begasung der Gegenüberliegenden Wand mit Gas B sollte sich nach einiger Zeit ein Gradient in der Sauerstoffsättigung einstellen.
8 Quellen

- http://www.dlr.de/dlr/desktopdefault.aspx/tabid-10443/637_read-251
 Stand 26.07.11
- [2] http://www.dlr.de/dlr/desktopdefault.aspx/tabid-10258/314_read-220/ Stand 26.07.11
- [3] Schmidt, Thews, Lang; "Physiologie des Menschen"; Springer Verlag;
 Erscheinungsjahr 2000; 28. Auflage; ISBN: 3-540-66733-4
- [4] R.Klinke, S. Silbernagel; "Lehrbuch der Physiologie" Thieme Verlag;
 Erscheinungsjahr 2000; 2. überarbeitete Auflage; ISBN: 3-13-126072-6
- [5] Lubert Stryer; "Biochemie"; Spektrum Verlag; erschienen 1991;
 5. Übersetzung der 3. amerikanischen Auflage; ISBN: 3-86025-005-1
- [6] http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0f/Hematies_normales.jpg; Stand 11/201
- [7] de.wikipedia.org/wiki/Hämoglobin; Stand 09/2011
- [8] http://www.roche.de/lexikon/pics/a34182.000-1_big.gifStand 09/2011
- [9] Fransvan den Berg; "Angewandte Physiologie"; Thieme Verlag; Erscheinungsjahr 2000; ISBN: 3-13-117081-6
- [10] Linnemann, Kühl; "Biochemie für Mediziener"; Springer Verlag; 6. Auflage; Erscheinungsjahr 2003; ISBN:3-540-43673-1
- [11] http://www1.tu-darmstadt.de/fb/ch/akplenio/moproc/eisen/Haemoglobin/images/ /Haemo%201.gif; Stand: 16.09.11
- [12] http://skincare.dermis.net/content/e01aufbau/e660/e661/e700/ /013_haut_aufbau_ger.gif; Stand 05.09.11
- [13] Schiebler, Schmidt, Zilles; "Anatomie"; Springer Verlag; 8. Auflage Erscheinungsjahr 1999; ISBN: 3-540-65824
- [14] Claridg; "From colour to tissue histology: Physics-based interpretation of images of pigmented skin lesions"; Elsevier; 2003
- [15] http://www.vision-doctor.de/images/stories/beleuchtung/allgemein/ /lichtspektrum_voll.jpg; Stand: 04.01.12

[16]	Kohl-Bareis M.; "Biomedizinische Optik - Skript zur Vorlesung WS 2008/2009"; RheinAhrCamus Remagen; Erscheinungsjahr 2008
[17]	http://de.wikipedia.org/wiki/Lambert-Beersches_Gesetz; Stand 26.08.11
[18]	A. Illbruck; ""Experimentelle Vorbereitungen und Grundlagen für die Unter- suchung der Hämodynamik und Muskelaktivität im Bein in Abhängigkeit von Vibrationen" RheinAhrCampus Remagen; 11/2009
[19]	Hillman E. M. C.; "Experimental and theoretical investigations of near infrared tomographic imaging methods and clinical applications"; University College London; 2002
[20]	D. Geraskin; "Methodische Entwicklungen zur optischen Messung des Mus keloxygenierung"; RheinAhrCampus Remagen; Remagen 2005
[21]	M.Kohl, U.Lindauer, U.Dirnagl, A.Villringer; "Investigation of Cortical Spread- ing Depression in Rats by Near Infrared Spectroscopy: Scattering and oxygena tion changes" Department of Neurology, Charié, Humboldt University, Berlin, 1998
[22]	E, Witzleb; "Funktionen des Gefäßsystems" in Schmidt R. F., Thewes G. (Hrsg.): Einführung in die Physiologie des Menschen, 18. Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1976) S. 386 ff
[23]	Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie; Band 71, Heft 3, Seiten 193 – 199; ISSN (Online) 1437-4315, ISSN (Print) 0018-4888
[24]	http://de.wikipedia.org/wiki/Parenterale_Ern%C3%A4hrung; Stand 23.08.11
[25]	Vasilis Ntziachristosa, Matthias Kohl, Honyan Ma and Britton Chance; "Oximetry based on diffuse photon density wave differentials"
[26]	J.T. Allardice, A. Mutaz Abulafi, D.G. Webb, N.S. Williams "Standardization of Intralipid for Light Scattering in Clinical Photodynamic Therapy" Laser in Med- ical Science 1992, 7:461 ~ 465; London
[27]	http://www.bmo.uni-luebeck.de/pub/Praktika/praktikum_gewebeoptik.pdf; Stand 06.08.11
[28]	Herstellerangaben der Firma <i>Fibox</i> ; Stand: 06.08.11 http://www.conrad.de/ce/de/product/533230/ABS-GEHAeUSE-187X122X90- DECKEL-GRAU/SHOP_AREA_14740&promotionareaSearchDetail=005
[29]	Herstellerangaben der Firma <i>Ismatec</i> ; Stand: 04.04.11 http://www.ismatec.com/ch_d/schlaeuche/misc/ch_tygon_st.htm
[30]	ISMATEC; "Instruction Manual"; Stand: 1985

- [31] ManOxi197i Benutzerhandbuch des Oxi197i; Stand: 07/2009 (ba75335d04)
- [32] Man StirrOx®G Benutzerhandbuch des *StirrOx*® *G*; Stand: 04/2009 (ba25310defs06)
- [33] K. Theisen; "Entwicklung von Soft- und Hardware eines optischen Muskeloxygenierungsmonitors"; RheinAhrCampus Remagen; 2011
- [34] A. Illbruck; "Experimentelle Vorbereitungen und Grundlagen für die Untersuchung der Hämodynamik und Muskelaktivität im Bein in Abhängigkeit von Vibrationen" RheinAhrCampus Remagen; Remagen 11/2009
- [35] K. Theisen; "Evaluierung von Soft- und Hardware eines optischen Muskeloxygenierungsmonitors" RheinAhrCampus Remagen; Remagen 17.10.2011
- [36] C. Schmickler; "Validierung, Messung und Entwicklung im Bereich: Instrumentiertes Laufband (Untersuchung von Gangparametern)"; RheinAhrCampus Remagen; Sinzig, 20.08.08

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Diplomarbeit selbständig angefertigt habe. Es wurden nur die in der Arbeit ausdrücklich benannten Quellen und Hilfsmittel benutzt. Wörtlich oder sinngemäß übernommenes Gedankengut habe ich als solches kenntlich gemacht.

9 Anhang

9.1 Misserfolge

9.1.1 Triton X-100

Summenformel Triton X-100: (C₃₄H₆₂O₁₁)

Spezifikation: 646,85 g/mol, reizend, gesundheitsschädlich, Polyethylenglycol-mono-[p-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-phenyl]-ether

Um einer möglichen Sedimentation der Erythrozyten in der Messkammer vorzubeugen, wurde zunächst der Ansatz verfolg deren Membran aufzulösen, so dass nur noch das reine Hämoglobin in der Lösung vorhanden ist. Zu diesem Zweck wurde *Triton X-100* eingesetzt. Es handelt sich um ein Tensid das den osmotischen Druck in der Lösung verändert, was wiederum zu einer Änderung der Permeabilität der Zellwand der Erythrozyten führt und diese schließlich vollständig hämolysiert. Zunächst galt es die genaue *Triton X-100* Konzentration herauszufinden um eine vollständige Hämolyse zu erreichen, aber dennoch möglichst wenig Fremdstoffe in die Phantomlösung einbringen zu müssen. Da *Triton X-100* bei Raumtemperatur (25°C) dickflüssig und zäh ist, lässt es sich nur unzureichend genau dosieren. Deshalb wurde zunächst eine 10% ´íge Stammlösung hergestellt. Diese wurde auf zehn Blutproben (Vollblut mit Gerinnungshemmer) verteilt. Angefangen mit einer *Triton X-100* Konzentration von 0.1 % wurde die Dosis bei jeder Probe um 0.1 % erhöht. Der nächste Schritt bestand in der optischen Kontrolle per Mikroskop um die entsprechende *Triton X-100* Konzentration zu finden welche eine vollständige Auflösung der Erythrozyten gewährleistete (*Abb.9.1.1.1* bis 9.1.3.1).

Es stellte sich heraus, dass eine *Triton X-100* von 0.5 % als ausreichend angenommen werden konnte um sicherzustellen, dass alle Erythrozyten vollständig hämolysiert sind.



Abbildung 9.1.1.1: Erythrozyten ohne Zugabe von *Triton X-100*. Betrachtung unter einem Mikroskop in 200–facher Vergrößerung; Alle Erythrozyten sind intakt.



Abbildung 9.1.1.2: Erythrozyten bei einer 0.3 % 'ígen Konzentration *Triton X-100* im Blut; Betrachtung unter einem Mikroskop bei 200-facher Vergrößerung; Die teilweise Hämolyse der Erythrozyten ist im direkten Vergleich zu Abb. 9.1.1.1 deutlich zu erkennen.



Abbildung 9.1.1.3: Erythrozyten bei einer 0.5 % 'ígen Konzentration *Triton X-100* im Blut; Betrachtung unter einem Mikroskop bei 200-facher Vergrößerung; Die vollständige Hämolyse der Erythrozyten ist im direkten Vergleich zu Abb. 9.1.1.1 und 9.1.1.2 deutlich zu erkennen.

Jedoch erwies sich die Hämolyse der Erythrozyten als nicht vorteilhaft. Die Erythrozyten bilden eine Art Schutz für das empfindliche Protein Hämoglobin. Ohne diesen Schutz fand eine rasche Oxydation des Proteins statt. Aus dem gewünschten Hämoglobin wurde so Methämoglobin, das sich aufgrund seiner Sauerstoffbindungseigenschaften nicht für die bevorstehenden Versuchsreihen eignete (siehe 2.1.4 Methämoglobin).

Ein weiteres Problem bestand in der Unverträglichkeit von *Triton X-100* und dem zur Streuung benötigten Intralipid *Lipovenös 20* in der Phantomlösung.

Die Versuchsreihen mit Triton X-100 mussten somit eingestellt werden.

Auch die Hämolyse der Erythrozyten durch einfrieren und späteres Auftauen des Vollblutes brachte nicht den erwünschten Erfolg. Zwar fiel hier die Unverträglichkeit mit dem Intralipid weg, jedoch bestand noch immer das Problem der raschen Methämoglobinbildung.

Von einer Hämolyse der Erythrozyten zum Betrieb des Gewebephantoms muss also aus den oben genannten Gründen abgeraten werden.

9.1.2 Cystein/Methämoglobinpulver

Summenformel Cystein: (C₃H₇NO₂S)

Spezifikation: 121,16 g/mol, reizend, gesundheitsschädlich, (R)-2-Amino-3-mercaptopropansäure

In den ersten Versuchen eine geeignete Lösung für das Gewebephantom herzustellen wurde statt auf Rindervollblut, auf dehydriertes Rinderhämoglobin in Pulverform zurückgegriffen. Zwar war der Preis hier deutlich höher, allerdings konnte durch dich genauere und ständig exakt gleiche Dosierung des Hb eine genauere Reproduzierbarkeit erreicht werden (im Rinderblut kann sich die Konzentration von Hb von Tier zu Tier unterscheiden; siehe *3.1 Blut*). Des Weiteren war die Gefahr von Verunreinigungen der Lösung durch das Laborprodukt deutlich geringer. Leider stand kein Fe²⁺ Hb zur Verfügung, es wurde auf Fe³⁺, also Methämoglobin zurück gegriffen. Da dies jedoch nicht die gewünschten Bindungseigenschaften aufwies, wurde versucht mit Hilfe von Cystein, eine Reduktion von Fe³⁺ nach Fe²⁺ zu realisieren (*Formel 9.1.2.1*). Es handelt sich dabei um eine proteinogene Aminosäure. Ihre SH-Gruppe wird durch die Fe³⁺ Ionen oxidiert und es entstehen Cystin und Fe²⁺ Ionen.

$$2 \text{ Fe}^{3+} + 2 \text{ Cys-SH} \longrightarrow 2 \text{ Fe}^{2+} + \text{ Cys-S-S-Cys} + 2 \text{ H}^+$$
 Formel 9.1.2.1

Leider konnte auch durch die Zuführung größerer Mengen keinerlei Effekt festgestellt werden. Während die Hämoglobinlösung eine hell- bis dunkelrote Färbung aufweist, zeigt sich die Methämoglobinlösung auch nach der Zugabe des Cysteins in einem trüben braun. Die Färbung ändert sich auch durch längere Begasung mit Gasmischung A nicht.

Auch bei den zuvor in 9.1.1 vorgestellten Hämolysemöglichkeiten (Zugabe von *Triton X-100* und das Einfrieren des Vollblutes) ließ sich das entstandene Methämoglobin durch die Zugabe von Cystein nicht wieder zu dem gewünschten Hämoglobin reduzieren.

Einer Verwendung von Cystein im hier beschriebenen Umfang in Verbindung mit dem Gewebephantom muss an dieser Stelle also abgeraten werden.



9.2 Bemaßungen der Mischkammer in Normalprojektion:

Abbildung 9.2.1: Mischkammer in Normalprojektion; Draufsicht; Bemaßung [mm]



Abbildung 9.2.2: Mischkammer in Normalprojektion; Vorderansicht; Bemaßung [mm] ∆y zeigt die Höhenverstellbarkeit Bodenplatte an.



Abbildung 9.3.2: Mischkammer in Normalprojektion; Seitenansicht; Bemaßung [mm] Δy zeigt die Höhenverstellbarkeit Bodenplatte an.

9.3 MatLab – Plots



Abbildung 9.3.1: Darstellung der NIRS Daten des gemessenen oxyHb und deoxyHb des gesamten Messverlaufs von *5.3 Variation der Eindringtiefe am Gewebephantom*.



Abbildung 9.3.2: Darstellung der NIRS Daten des gemessenen totHb des gesamten Messverlaufs von 5.3 Variation der Eindringtiefe am Gewebephantom.



Abbildung 9.3.3: Darstellung der NIRS Daten der gemessenen sO₂ des gesamten Messverlaufs von 5.3 Variation der Eindringtiefe am Gewebephantom.