

Martin Hammer · Dietrich Schweitzer · Achim Kölb · Eike Thamm · Jürgen Strobel
Klinik für Augenheilkunde der Friedrich Schiller-Universität Jena

Sauerstoffsättigung an retinalen Gefäßen

Untersuchungen zur Messung im polarisierten Licht*

Zusammenfassung

Hintergrund: Die Genauigkeit der spektrometrischen Messung der Sauerstoffsättigung in retinalen Gefäßen ist begrenzt durch das Signal-Rausch-Verhältnis. Eine Erhöhung der Reflexion durch die Verwendung polarisierten Lichtes könnte die Genauigkeit verbessern.

Material und Methode: In die Beleuchtungs- und in die Beobachtungsoptik des Jenaer Ophthalmospektrometers wurde je ein Polarisationsfilter eingefügt. So wurde eine mit einer Erythrozytensuspension durchströmte Küvette im Fokus eines Modellauges mit linear polarisiertem Licht beleuchtet. Die Reflexionsspektren der Erythrozyten wurden zweimal aufgenommen. Dabei waren die Polarisationsrichtungen der beiden Filter bei der ersten Messung parallel zueinander ausgerichtet, bei der zweiten Messung senkrecht. Ferner wurde der Polarisationsgrad des von retinalen Gefäßen in vivo reflektierten Lichtes bestimmt.

Ergebnisse: Das von Erythrozyten reflektierte Licht weist einen Polarisationsgrad von 0,6–0,8 auf. Die Polarisation des von einem als Referenz verwendeten Weißstandard reflektierten Lichtes ist dagegen auch bei linear polarisierter Beleuchtung isotrop.

Schlußfolgerung: Die Verwendung polarisierten Lichtes kann zu einer sichereren Messung der Sauerstoffsättigung in retinalen Gefäßen führen.

Schlüsselwörter

Sauerstoffsättigung · Retinale Gefäße · Messung · Polarisiertes Licht · Spektrometrie

Die Messung der Sauerstoffsättigung des Blutes in retinalen Gefäßen kann einen Beitrag zur Diagnostik okulärer Erkrankungen leisten [7, 8, 9]. Eine nichtinvasive Bestimmung der Sauerstoffsättigung ist aus den Reflexionsspektren der Netzhautgefäße möglich, die mit dem Jenaer Ophthalmospektrometer aufgezeichnet werden können [4]. Die für die Sauerstoffsättigung erreichbare Auflösung ist dabei begrenzt durch das Signal-Rausch-Verhältnis der spektralen Messung.

In einer 1989 veröffentlichten Arbeit haben Riva et al. [6] gezeigt, daß das an strömendem Blut gemessene Laser-Doppler-Signal entscheidend von der für die Beobachtung gewählten Polarisationsrichtung abhängt.

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, zu prüfen, ob sich die Reflexion von Blut bei der Verwendung polarisierten Lichtes ändert. Eine Erhöhung der Reflexion sollte zu einer sicheren Bestimmung der Sauerstoffsättigung aus der spektrometrischen Messung auf retinalen Gefäßen führen.

Material und Methode

Alle Untersuchungen wurden mit dem Jenaer Imaging Ophthalmospektrometer [4] ausgeführt, welches aus einer Funduskamera (RCM 250, Carl Zeiss, Jena) besteht, die mit einem Spektrographen (Jobin-Yvon) gekoppelt ist. Diese Anordnung ermöglicht es, Reflexionsspektren definierter Orte des Augenhintergrundes mit einem CCD-Detektor (Princeton Instruments) aufzuzeichnen.

Zur Untersuchung der Reflexion an Erythrozyten wurde vor die Kamera ein Modellauge gebracht, in dessen Fokalebene sich eine Küvette variabler Schichtdicke (Graseby-Specac) befand. Durch diese strömte eine Suspension vollständig mit Sauerstoff gesättigter Erythrozyten. Der Hämatokrit wurde auf 0,46 eingestellt, die Fließgeschwindigkeit auf 12,8 mm/s. In die Beleuchtungsoptik der Funduskamera wurde ein Polarisationsfilter eingesetzt, der eine Beleuchtung der Probe mit vollständig linear polarisiertem Licht bewirkte. Ein zweiter Polarisationsfilter wurde vor dem Detektor angeordnet. Durch Rotation dieses Filters konnte die Polarisationsrichtung des registrierten Lichtes geändert werden.

Mit der gleichen Filterkombination wurden die Reflexionsspektren je einer Astarterie und -vene an 3 gesunden Probanden aufgezeichnet. Die Untersuchung fand entsprechend den Richtlinien der Deklaration von Helsinki statt. Die Probanden wurden über Ziel und Ablauf des Versuches aufgeklärt und willigten in diesen ein.

* Vortrag gehalten auf der 96. Tagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft

M. Hammer
Universitäts-Augenklinik,
Bachstraße 18, D-07740 Jena

M. Hammer · D. Schweitzer · A. Kolb ·
E. Thamm · J. Strobel

Investigations on the measurement of oxygen saturation in retinal vessels using polarized light

Summary

The accuracy of the spectrometric measurement of the oxygen saturation in retinal vessels is limited by its signal-to-noise ratio. The aim of this study was to investigate the possibility of enhancement of the reflection signal by the use of polarized light.

Materials and method: The Jena ophthalmospectrometer was equipped with two polarizing filters: one in the illumination and the other in front of the detector. Reflection spectra of erythrocytes streaming through a cuvette in the focus of an artificial eye were recorded. The influence of the polarization on the reflection spectra was investigated by rotating the polarizer in front of the detector. Furthermore, the degree of polarization of the light reflected from retinal vessels in vivo was determined.

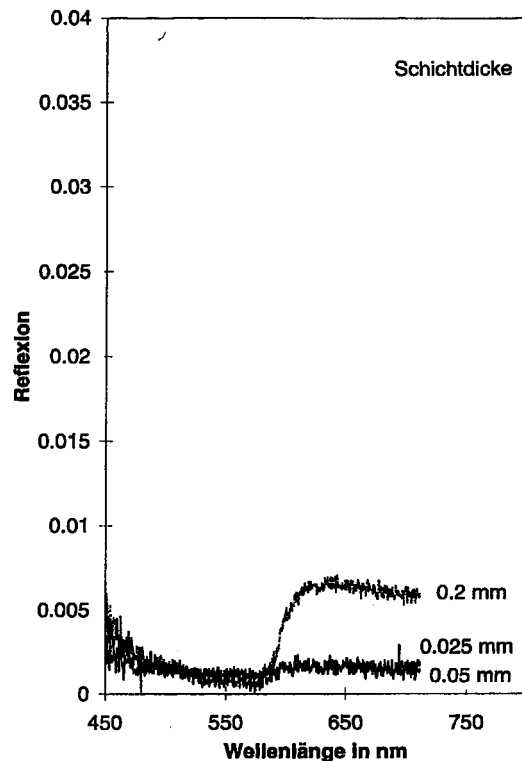
Results: The degree of polarization of the light reflected from the erythrocytes was 0.6–0.8, whereas the polarization of light reflected by a standard white reflectance target was virtually zero.

Conclusion: Polarized light can be used for the reduction of error in retinal vessel oximetry.

Key words

Oxygen saturation · Retinal vessels ·
Polarized light

Abb. 1 ► Reflexionsspektren
von Erythrozyten in vitro. Die Polarisationsrichtung der Beobachtung
steht senkrecht auf der Polarisationsrichtung der Beleuchtung



Ergebnisse

Die Reflexion der Erythrozyten zeigte im in-vitro-Experiment eine starke Abhängigkeit von dem Winkel, den die Polarisationsrichtung des Beleuchtungslichtes und die Polarisationsrichtung des Filters vor dem Detektor miteinander bildeten. Die Abb. 1 und 2 zeigen die Reflexionsspektren der Erythrozytensuspension für die Winkel 90° (Polarisationsrichtungen senkrecht) und 0° (Polarisationsrichtungen parallel). Die Ordinate gibt die relative Reflexion an, d.h. die von der Erythrozytensuspension reflektierte Strahlungsleistung bezogen auf die von einem ideal weißen Reflexionstarget, welches auch bei polarisierter Beleuchtung nahezu vollständig unpolarisiertes Licht zurückwirft. Die Messungen an der Probe und am Target sind jeweils mit der gleichen Kombination der Polarisationsfilter ausgeführt worden. Im Ergebnis zeigte sich, daß das von den roten Blutzellen reflektierte Licht einen erstaunlich hohen Polarisationsgrad von 0,6 bis 0,8 aufweist. Dieser ist wellenlängenunabhängig.

Den Polarisationsgrad einer Arterie und einer Vene (in vivo) zeigt Abb. 3.

Diskussion

Bei dem in Abb. 1 dargestellten Lichtanteil geht die Polarisation des Beleuchtungslichtes vollständig verloren. Dies ist eine Folge der Vielfachstreuung des Lichtes an den Erythrozyten, die als der vorherrschende Streumechanismus bei physiologischem Hämatokrit angenommen werden kann [5]. Der Anteil am reflektierten Licht, dessen Polarisationsrichtung erhalten bleibt, ist mit der Theorie der Mehrfachstreuung jedoch nicht zu erklären. Auch die von Sheng [10] theoretisch beschriebene und von Borovoi et al. [2] an Blut gemessene kohärente Rückstreuung kann diesen Effekt nicht erklären, da diese nur in einem sehr schmalen Raumwinkel um die Einfallrichtung zu beobachten ist. Dieser Winkel ist aber in unserem Experiment wegen der Aperturblendenteilung der Funduskamera gerade von der Messung ausgeschlossen.

Der hohe Polarisationsgrad ist nur zu erklären, wenn neben der Vielfachstreuung an den Erythrozyten ein zweiter Mechanismus der Reflexion des Lichtes angenommen wird, bei dem die Polarisation der einfallenden Strahlung erhalten bleibt. Riva et al. [6] nennen diesen Effekt „pseudo-first-order back-

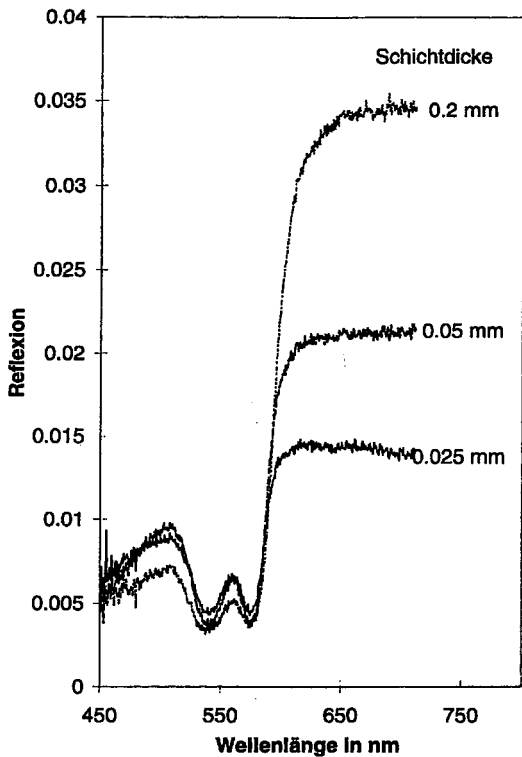


Abb. 2 ◀ Reflexionsspektren von Erythrozyten in vitro. Die Polarisationsrichtung der Beobachtung liegt parallel zur Polarisationsrichtung der Beleuchtung

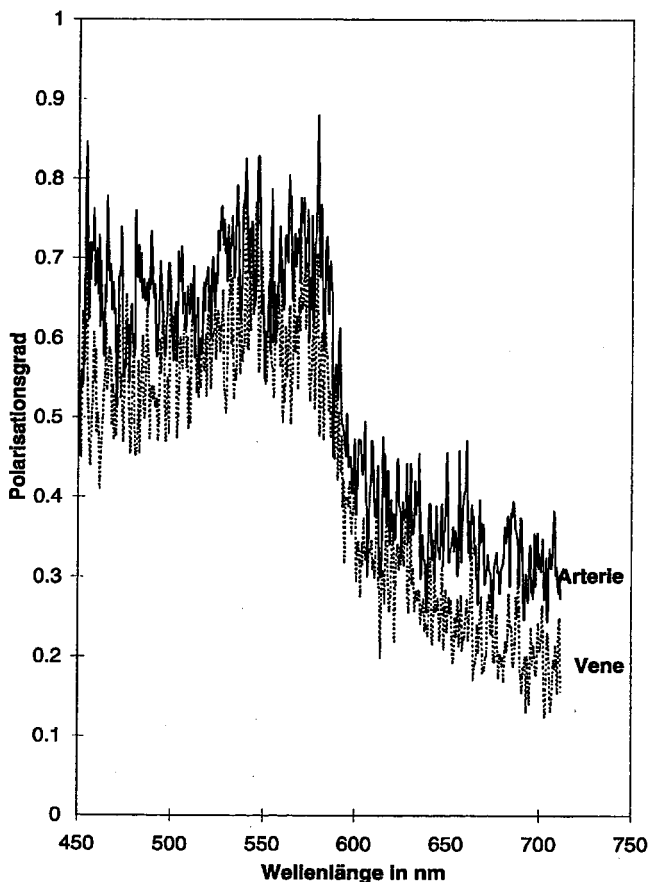


Abb. 3 ▲ Polarisationsgrad der Reflexion einer retinalen Arterie und einer Vene bei Beleuchtung mit linear polarisiertem Licht

scattering“. Wenn diese zusätzlich zur Mehrfachstreuung vorliegt, läßt sich zeigen, daß die halbe Summe der mit parallel und senkrecht zueinander stehenden Polarisatoren gemessene Strahlungsleistung gleich der Leistung sein muß, die ohne Berücksichtigung der Polarisationsrichtung gemessen wird. Dies ließ sich durch eine Reflexionsmessung ohne Polarisatoren nachweisen (Abb. 4).

Des weiteren zeigt der Vergleich der Abb. 1 und 2, daß die für die Bestimmung der Sauerstoffsättigung interessanten Absorptionsbanden des Hämoglobins nur in dem Strahlungsanteil deutlich zu erkennen sind, dessen Polarisation erhalten geblieben ist. Dies legt die Vermutung nahe, daß die Genauigkeit der Bestimmung der Sauerstoffsättigung in retinalen Gefäßen aus deren Reflexionsspektren erhöht werden kann, wenn nur das Licht zur Messung zugelassen wird, welches seine Polarisationsrichtung nicht geändert hat.

Hierbei ist jedoch zu bedenken, daß die Kornea wie ein doppelbrechender Kristall wirkt. Das heißt, wenn das Auge mit linear polarisiertem Licht beleuchtet wird, entsteht daraus im Auge elliptisch polarisiertes Licht. Dieses wird bei der Reflexion an Augenhintergrund teilweise depolarisiert. Der weiterhin polarisierte Anteil kann durch die Formdoppelbrechung der Nervenfasern in seinem Polarisationszustand geändert werden. Dieser Effekt wird bei der ellipsometrischen Messung der Dicke der Nervenfaserschicht ausgenutzt [3], spielt aber für die Oxymetrie keine Rolle, sofern die zu untersuchenden Blutgefäße vor den Nervenfasern liegen.

Eine weitere Änderung des Polarisationszustandes erfolgt bei Austritt des Lichtes aus dem Auge wiederum in der Kornea. Nach Untersuchungen von van Blokland [1] steigt jedoch die Doppelbrechung der Kornea zu größeren Wellenlängen hin an. Dies könnte die Ursache dafür sein, daß bei spektralen Messungen in vivo ein Abfall des Polarisationsgrades mit der Wellenlänge beobachtet wurde (Abb. 3). In dem für die oxymetrische Messung interessanten Spektralbereich (520–590 nm) ist jedoch der Polarisationsgrad noch annähernd so hoch wie bei den in-vitro-Untersuchungen an Erythrozytensuspensionen, was wiederum die Messung der

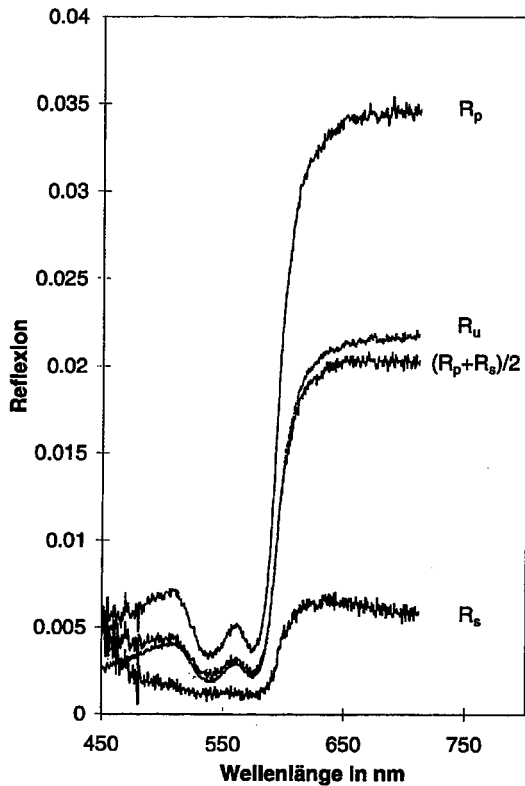


Abb. 4 ◀ Reflexionsspektren von Erythrozyten in vitro. R_p : Die Polarisationsrichtung der Beobachtung liegt parallel zur Polarisationsrichtung der Beleuchtung. R_s : Die Polarisationsrichtung der Beobachtung steht senkrecht auf der Polarisationsrichtung der Beleuchtung. R_u : Beleuchtung mit unpolarisiertem Licht

Sauerstoffsättigung im polarisierten Licht als aussichtsreich erscheinen läßt.

Ein entscheidender Nachteil der Verwendung polarisierten Lichtes ist jedoch, daß sich das Signal-Rausch-Verhältnis durch die Verwendung von zwei Polarisationsfiltern und die selektive Messung ausschließlich des polarisierten Lichtes deutlich verringert. Das könnte jedoch durch eine Erhöhung der Bestrahlungsstärke und die Optimierung der Optik der Funduskamera ausgeglichen werden. Gelingt dies, so sollte die Erhöhung der Reflexion bei der Verwendung polarisierten Lichtes eine genauere Bestimmung der Sauerstoffsättigung aus den Reflexionsspektren retinaler Gefäße ermöglichen.

Fazit für die Praxis

Eine nichtinvasive Bestimmung der Sauerstoffsättigung des Blutes retinaler Gefäße, mit deren Hilfe Hinweise in der Diagnostik okulärer Erkrankungen gewonnen werden können, ist aus den mit dem Jenaer Ophthalmospektrometer aufgezeichneten Reflexionsspektren der Netzhautgefäße möglich. Die Verwendung von polarisiertem Licht kann dabei zu genaueren Ergebnissen führen.

Diese Arbeit wurde unterstützt durch das Thüringer Ministerium für Wissenschaft und Kunst (Förderkennzeichen B 301-95059).

Literatur

1. Blokland GJ van (1986) **The optics of the human eye with respect to polarized light.** Dissertation, Utrecht
2. Borovoi AG, Wagin NI, Selivanova GA (1995) **Measurement of blood parameters in multiple scattering.** Proceedings of Photonics West, Biomedical Optics, San Jose
3. Dreher AW, Reiter K, Weinreb RN (1992) **Spatially resolved birefringence of the retinal nerve fiber layer assessed with a retinal laser ellipsometer.** Appl Opt 31: 3730–3735
4. Hammer M, Schweitzer D, Leistritz L, Scibor M, Donnerhacke KH, Strobel J (1997) **Imaging spectroscopy of the human ocular fundus in vivo.** J Biomed Opt 2: 418–425
5. Hammer M, Schweitzer D, Michel B, Zhamm E, Kolb A (1998) **Single scattering by red blood cells.** Appl Opt 37: 7410–7418
6. Riva CE, Petrig BL, Shonat RD, Poumaras CJ (1989) **Scattering process in LDV from retinal vessels.** Appl Opt 28: 1078–1083
7. Schweitzer D, Hammer M (1995) **Limits for the measurement of oxygen saturation by the imaging spectroscopy.** Invest Ophthalmol 36: 105
8. Schweitzer D, Leistritz L, Hammer M, Scibor M, Bartsch U, Strobel J (1995) **Calibration-free measurement of the oxygen saturation in retinal vessels of men.** Proceedings of the "Symposium on Biomedical Optics 1995" San Jose. SPIE Series 2393: 210–218
9. Schweitzer D, Leistritz L, Hammer M, Bartsch U, Scibor M, Kraft J, Münch C, Vilser W, Bareshova E, Putsche P (1996) **Simultaneous measurement of oxygen saturation and vessel diameter by imaging spectrometry.** Progress in Biomedical Optics. SPIE Series 2930: 112–118
10. Sheng P (ed) (1990) **Scattering and localisation of classical waves in random media.** World Scientific, Singapore