

M. Hammer · D. Schweitzer · E. Königsdörffer · J. Strobel
Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Klinik für Augenheilkunde

Die Optik retinaler Blutgefäße und ihre Bedeutung für die Scanning-Laser-Doppler-Flowmetrie

Zusammenfassung

Die Scanning-Laser-Doppler-Flowmetrie (SLDF) entwickelt sich zu einer Standardmethode, die die Messung des retinalen Blutflusses ermöglicht. Die gemessenen Größen Flow, Volumen und Geschwindigkeit sind allerdings abhängig von der Richtung des Blutflusses und der der Lichtausbreitung. Die zugrunde liegende Theorie nimmt deshalb eine isotrope Beleuchtung des untersuchten Gefäßes an. In der vorliegenden Arbeit wird gezeigt, dass dies für retinale Gefäße nicht zutrifft. Weiterhin wird mit der Monte Carlo Simulation der Lichtausbreitung untersucht, welche Strahlungswege zum SLDF-Signal beitragen. Es konnte gezeigt werden, dass das auf einem 50 µm dicken Gefäß gemessene Licht überwiegend durch Rückstreuung aus der Blutsäule entsteht, während für Gefäße mit Durchmessern von 20 µm und weniger der durch das Gefäß transmittierte Anteil überwiegt.

Schlüsselwörter

Scanning-Laser-Doppler-Flowmetrie ·
Retinale Mikrozirkulation ·
Strahlungstransport · Monte-Carlo-Simulation

Die Laser-Doppler-Flowmetrie ermöglicht die nichtinvasive Messung von Parametern des retinalen Blutflusses aus der Dopplerverschiebung des an den bewegten Erythrozyten gestreuten Lichtes [1, 2, 8, 9]. Die Scanning-Laser-Doppler-Flowmetrie (SLDF) kombiniert diese Technik mit der Scanning-Laser-Ophthalmoskopie [6, 7, 12]. Das Prinzip des Verfahrens beruht darauf, dass das an den fließenden Erythrozyten gestreute Licht eine Dopplerverschiebung erfährt, die zu einer zeitlichen Fluktuation der gemessenen Intensität führt, der ein bestimmtes Frequenzspektrum entspricht. Als Momente des Frequenzspektrums ergeben sich die Größen Volume, Flow und Velocity [11]. Zur Dopplerverschiebung trägt jedoch nur die Bewegungskomponente des Blutflusses bei, die der Ausbreitungsrichtung des Lichtes parallel ist. Da aber die retinalen Kapillarnetze nahezu senkrecht zur Richtung der Beleuchtung durch die Pupille liegen, wird allgemein eine Ablenkung des Lichtes durch Streuung in der Netzhaut angenommen [11]. Die der Doppler-Flowmetrie zugrunde liegende Theorie von Bonner u. Nossal [1, 2] geht idealerweise von einer isotropen Beleuchtung des Gefäßes aus. Da die Netzhaut jedoch ein sehr transparentes Gewebe ist, welches das Licht nur schwach streut, die Gefäße aber andererseits in geringer Tiefe unterhalb der inneren Grenzmembran liegen, ist fraglich, ob diese Voraussetzung der Theorie der Doppler-Flowmetrie erfüllt ist. Diese Frage untersucht

die vorliegende Arbeit mithilfe der Monte-Carlo-Simulation der Lichtausbreitung am Augenhintergrund. Weiterhin wird der Frage nachgegangen, welche Beiträge zum dopplerverschobenen Signal das aus der Blutsäule in einem retinalen Gefäß sowie das hinter dem Gefäß reflektierte und dann durch das Gefäß transmittierte Licht liefern.

Methode

Die Monte-Carlo-Simulation ist ein statistisches Verfahren zur Beschreibung der Strahlungsausbreitung in streuenden und absorbierenden Medien. Es verfolgt den Weg sehr vieler Photonen durch die Probe, wobei bei jedem Zusammenstoß eines Photons mit einem Streuteilchen (Zelle, Zellorganelle, Membran) dessen Gewicht (ein Maß für die Intensität des Lichtes) und Richtung geändert werden. Zur Bestimmung der Winkelverteilung von Licht, das senkrecht auf eine Gewebeschicht einfällt und diese transmittiert bzw. aus dieser reflektiert wird, ist eine winkelaufgelöste Monte-Carlo-Simulation vorgenommen

Teile des Vortrags wurden auf der 98. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft gehalten.

Dr. M. Hammer
Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena,
Klinik für Augenheilkunde,
Bachstraße 18, 07740 Jena,
E-Mail: Martin.Hammer@med.uni-jena.de

The optics of retinal blood vessels and their significance for scanning laser Doppler flowmetry

Abstract

Recently, the scanning laser Doppler flowmetry (SLDF) has been developed as a standard method for the quantification of retinal blood flow. However, the measured quantities flow, volume, and velocity depend on the angle between the direction of the blood flow and of the light. The underlying theory assumes isotropic illumination of the vessel. This assumption, however, is not valid for light back-scattered from retinal vessels. This paper investigates the contribution of different pathways of the light to the SLDF signal by a Monte Carlo simulation. It is shown that the light measured on a vessel having a thickness of $50\ \mu\text{m}$ is predominantly back-scattered from the blood inside the vessel, whereas the measurement on vessels $20\ \mu\text{m}$ in diameter or less also includes light transmitted through the vessel.

Keywords

Scanning laser Doppler flowmetry ·
Retinal microcirculation · Radiation transport ·
Monte Carlo simulation

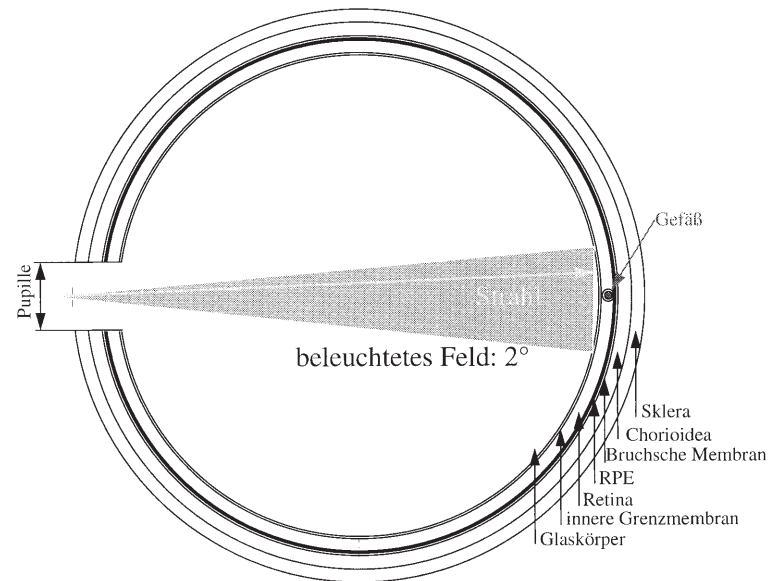


Abb. 1 ▲ Schema der Geometrie der Monte-Carlo-Simulation im Auge mit in die Netzhaut eingebettetem Gefäß

men worden [10]. Hierbei werden die Photonen in Abhängigkeit vom Winkel, unter dem sie die Probe verlassen, erfasst. Zur Untersuchung der Beiträge einzelner Strahlungsanteile zum dopplerverschobenen Licht, das auf einem retinalen Gefäß gemessen wird, ist eine Monte-Carlo-Simulation des Strahlungstransportes im Auge ausgeführt worden. Dabei wurde das Auge als Kugel aus sechs konzentrischen Schichten modelliert. Eine Pupille von $3\ \text{mm}$ Durchmesser in der Irisebene und ein Blutgefäß $80\ \mu\text{m}$ unterhalb der inneren Grenzmembran (Durchmesser: $10\ \mu\text{m}$ bis $50\ \mu\text{m}$) sind auf der optischen Achse angenommen worden (Abb. 1). Analog zur Abtastung des Fundus mit einem Laserstrahl im SLDF ist auch in der Simulation der einfallende Photonenstrom (Strahldurchmesser $<10\ \mu\text{m}$) repetierend über ein Fundusareal (Feldwinkel: 2°) geführt worden, in dessen Zentrum das Gefäß lag. Registriert wurden alle vom Fundus zurückgestreuten Photonen, die die innere Grenzmembran innerhalb einer Feldblende [Durchmesser entsprechend dem der konfokalen Blende des Heidelberg-Retina-Flowmeter (HRF): $15\ \mu\text{m}$] verließen und aus der Pupille austraten. Um verschiedene Wege des Lichtes zu unterscheiden, wurden Photonen, die das Gefäß nicht, einmal oder zweimal passiert haben, getrennt registriert. Um aus dem Gefäß zurückgestreute Photonen von solchen unter-

scheiden zu können, die hinter dem Gefäß reflektiert und dann durch das Gefäß transmittiert worden sind, wurde jede Simulation wiederholt, wobei alle Schichten hinter der Retina entfernt wurden. Die Vergleichbarkeit der Simulation mit in-vivo-Messungen wurde hergestellt, indem das Ergebnis auf die Reflexion eines ideal weißen Lambert-Strahlers normiert wurde. Die für die Monte-Carlo-Simulation erforderlichen Streu- und Absorptionskoeffizienten sowie die Streuanisotropien für Netzhaut, retinales Pigmentepithel, Aderhaut und Sklera bei der verwendeten Laserwellenlänge ($780\ \text{nm}$ für das HRF) wurden zuvor experimentell bestimmt [3]. Die Streu- und Absorptionseigenschaften von Blut und Gefäßwand sind der Literatur entnommen worden [4, 5].

Ergebnisse

Zunächst ist untersucht worden, wie die Richtungsverteilung des Lichtes ist, das auf eine Schicht Netzhaut bzw. Blut senkrecht einfällt und diese durchstrahlt. Die Winkelverteilung der Transmission ist für eine $10\ \mu\text{m}$ und eine $100\ \mu\text{m}$ dicke Netzhautschicht sowie für eine $10\ \mu\text{m}$ dicke Blutschicht simuliert worden (Abb. 2). Die Dopplerverschiebung ist umso größer, je mehr Photonen große Winkelablenkungen erfahren. Die Ergebnisse in Abb. 2 zeigen, dass nach Transmission einer $10\ \mu\text{m}$ dicken Blut-

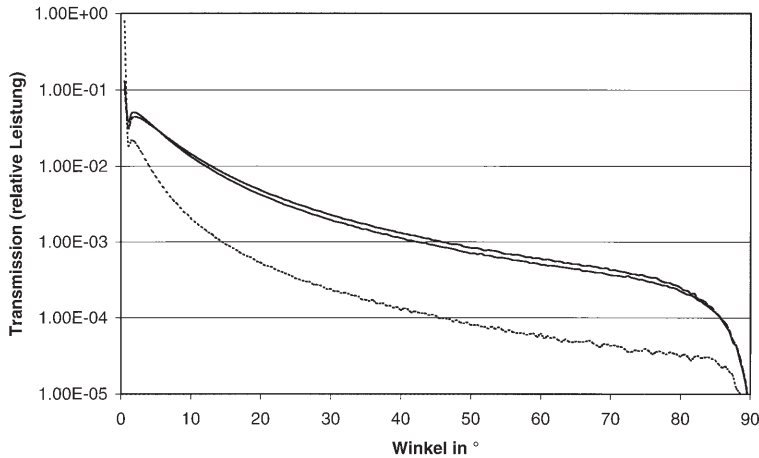


Abb. 2 ▲ Winkelverteilung des Lichtes nach einmaliger Transmission von 10 µm Blut (durchgezogene Linie), 10 µm Netzhaut (gepunktete Linie) und 100 µm Netzhaut (gestrichelte Linie)

schicht 32,8% des Lichtes um mehr als 10° aus der Einfallrichtung abgelenkt sind, während es nach Transmission von Netzhautgewebe gleicher Dicke nur 3,6% sind. Erst nach Transmission von 100 µm Netzhaut ist der Anteil der um mehr als 10° abgelenkten Photonen mit 28% dem von 10 µm Blut vergleichbar. Das heißt, erst für tief in der Netzhaut liegende Gefäße spielt die Ablenkung des Lichtes in der Netzhaut eine Rolle. Bei oberflächlich unter der inneren Grenzmembran liegenden Gefäßen geschieht die für die Dopplerverschiebung unerlässliche Richtungsänderung im Blut selbst.

Es ist deshalb untersucht worden, welcher Anteil des Lichtes in den der Beobachtung durch die Pupille zugänglichen Raumwinkel aus dem Blut zurückgestreut wird. Die Winkelverteilung der Rückstreuung aus dem Blut zeigt Abb. 3. Da die SLDF Aussagen insbesondere über den kapillären Blutfluss ermöglicht, ist wiederum von einer 10 µm dicken Blutschicht ausgegangen worden. Aus Abb. 3 geht hervor, dass bei geweiterter Pupille (Öffnungswinkel 8°) nur $1,75 \cdot 10^{-5}$ des einfallenden Lichtes nach Streuung im Blut aus dem Auge wieder austreten. Es stellt sich deshalb die Frage nach weiteren möglichen Beiträgen dopplerverschobenen Lichtes zum bei der SLDF gemessenen Signal, die nur durch die oben beschriebene ortsaufgelöste Monte-Carlo-Simulation der Lichtausbreitung im gesamten Auge beantwortet werden konnte. Abbildung 4 zeigt die Beiträge von aus dem Gefäß reflektiertem sowie von einmal bzw. zweimal

durch das Gefäß transmittiertem und hinter dem Gefäß reflektiertem Licht. Für ein 50 µm dickes Gefäß ergab sich dabei in der Tat eine Dominanz des aus dem Gefäß zurückgestreuten Lichtes. Für dünnere Gefäße ist jedoch auch das einmal oder zweimal durch das Gefäß transmittierte Licht von Bedeutung.

Diskussion

Grundlage der Berechnung der vom SLDF bestimmten Größen Bloodflow, Volume und Velocity ist die Theorie von Bonner u. Nossal [1, 2]. Voraussetzung dieser Theorie ist jedoch ein isotropes Strahlungsfeld im Gewebe und damit eine Gleichverteilung des Winkels zwischen der Flussrichtung der Erythrozyten und der Ausbreitungsrichtung des Lichtes. Bonner und Nossal konnten die

Gültigkeit dieser Voraussetzung für menschliche Haut zeigen [2]. Die Netzhaut des Auges ist jedoch sehr viel transparenter als die Haut, d. h., es wird weniger Licht gestreut. Wie die Ergebnisse unserer Untersuchung zeigen, erfahren lediglich 28% aller Photonen nach Penetration von 100 µm Netzhaut eine Ablenkung von 10° oder mehr aus der Einfallrichtung senkrecht zur inneren Grenzmembran und den retinalen Gefäßen. Da also die Mehrzahl der Photonen nahezu senkrecht auf die Gefäße trifft, die Dopplerverschiebung durch Streuung an den fließenden Erythrozyten aber proportional dem Cosinus des Winkels zwischen der Einfallrichtung des Lichtes und der Strömungsrichtung der Blutzellen ist, wäre danach nur mit kleinen Dopplerverschiebungen zu rechnen. Obwohl also offenbar die Voraussetzungen der Theorie nicht erfüllt sind, werden bei der SLDF doch deutliche Frequenzverschiebungen beobachtet. Dass sich aus diesen Flowwerte ergeben, die den experimentell realisierten Fließgeschwindigkeiten von Blut in einer Kapillare proportional sind, konnten Michelson et al. [6] zeigen. Allerdings ist bei dem Kaliber der von diesen Autoren benutzten Kapillare (400 µm) von einer Gleichverteilung der Ausbreitungsrichtungen der Photonen durch Streuung im Blut auszugehen. Andererseits zeigen aber SLDF – Aufnahmen vom menschlichen Fundus in vivo deutlich den Blutfluss in den Netzhautkapillaren [6, 7]. Dies ist nach den hier vorgelegten Simulationen nicht zu erklären, wenn man nur das aus den Gefäßen zurückgestreute Licht betrachtet. Wird dagegen auch

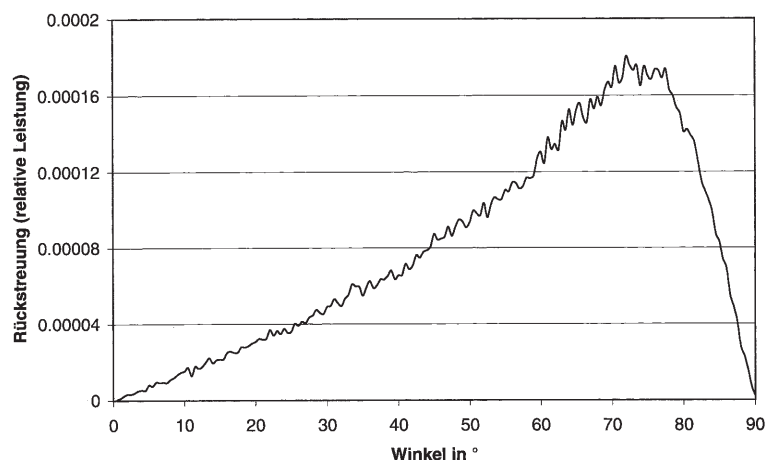


Abb. 3 ▲ Winkelverteilung des aus 10 µm Blut zurückgestreuten Lichtes

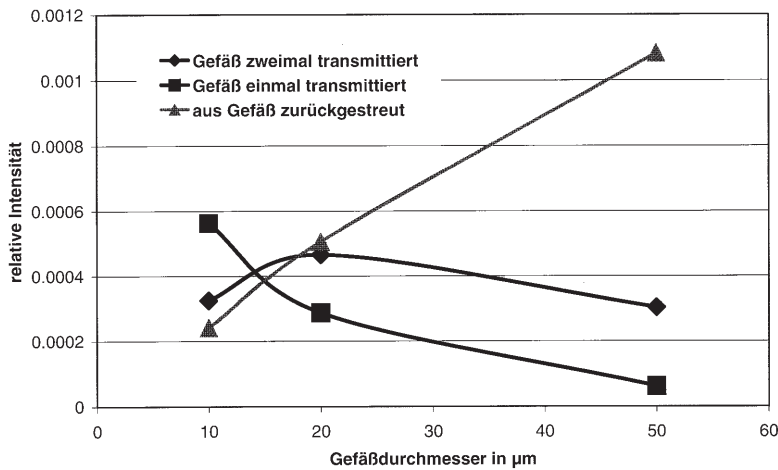


Abb. 4 ▲ Beitrag aus dem Gefäß reflektierten sowie von einmal bzw. zweimal durch das Gefäß transmittierten und hinter dem Gefäß reflektierten Lichtes zum SLDF-Signal

das transmittierte Licht berücksichtigt, so wird klar, dass die Beleuchtung der Gefäße nicht nur durch die Pupille, sondern auch „von hinten“ durch aus dem retinalen Pigmentepithel und der Aderhaut diffus reflektiertes Licht erfolgt. Die Ausbreitungsrichtung dieses Lichtes kann durchaus einen kleineren Winkel mit der Flussrichtung der Erythrozyten bilden und damit zu größeren Dopplerverschiebungen führen.

Diese Erkenntnis wirft nun allerdings neue Fragen auf: Welche Frequenzspektren sind von den einzelnen Strahlungswegen zu erwarten? Welchen Einfluss hat die bei der Transmission auftretende Mehrfachstreuung auf das Spektrum? Wie wirkt die chorioidale Mikrozirkulation auf die Messergebnisse des SLDF? Die Beantwortung dieser Fragen wird uns eine größere Sicherheit in der Interpretation der SLDF-Messungen geben.

Fazit für die Praxis

Die Scanning-Laser-Doppler-Flowmetrie ermöglicht eine zweidimensional orts aufgelöste Beobachtung der Mikrozirkulation der Netzhaut und der Papille. Da aber die Voraussetzungen der dem Verfahren zugrunde liegenden Theorie für retinale Gefäße nicht vollkommen zu erfüllen sind, sollte bei der quantitativen Interpretation der gemessenen Werte Vorsicht walten. Größere Sicherheit für die klinische Aussage der SLDF ist von einer weiteren Aufklärung der genauen Mechanismen des Strahlungstransportes zu erwarten.

Literatur

1. Bonner R, Nossal R (1981) Model for laser Doppler measurements of blood flow in tissue. *Appl Opt* 20:2097–2107
2. Bonner R, Nossal R (1990) Principles of laser Doppler flowmetry. In: Shepherd AP, Öberg PA (eds) *Laser Doppler flowmetry*. Kluwer Academic Publisher, Boston, pp 17–45
3. Hammer M, Roggan A, Schweitzer D, Müller G (1995) Optical properties of ocular fundus tissues – an in vitro study using the double-integrating-sphere technique and inverse Monte Carlo Simulation. *Phys Med Biol* 40:963–978
4. Hammer M, Schweitzer D, Michel B, Thamm E, Kolb A (1998) Single scattering by red blood cells. *Appl Opt* 37:7410–7418
5. Keijzer M, Jacques SL, Prahl SA (1989) Light distribution in artery tissue: Monte Carlo simulation for finite-diameter laser beams. *Laser Surg Med* 9:148–154
6. Michelson G, Schmauss G (1995) Two dimensional imaging of the perfusion of the retina and the optic nerve head. *Br J Ophthalmol* 79:1126–1132
7. Michelson G, Schmauss G, Langhans MJ, Harazny J, Groh MJM (1996) Principle, validity, and reliability of scanning laser Doppler flowmetry. *J Glaucoma* 5:99–105
8. Riva CE, Grunwald JE, Petrig BL (1985) Laser Doppler measurement of retinal blood velocity: validation of single scattering model. *Appl Opt* 24:605–611
9. Riva CE, Ross B, Benedek GB (1972) Laser Doppler measurements of blood flow in capillary tubes and retinal arteries. *Invest Ophthalmol* 11:936–944
10. Wang LH, Jacques SL (1992) Monte Carlo modelling of light transport in multi-layered tissues in standard C. The University of Texas, M.D. Anderson Cancer Center, Houston
11. Zinser G (1999) Scanning laser Doppler flowmetry: principle and technique. In: Pillunat LE, Harris A, Anderson DR, Greve EL (eds) *Current concepts on ocular blood flow in glaucoma*. Kugler Publications, the Hague, pp 197–204
12. Zinser G, Michelson G, Schmauss G (1997) Method and apparatus for measuring flow rate, particularly of blood. U.S. Patent 5,620,000