

Physikalische Prinzipien der Laser-Doppler-Flowspektrometrie – O₂ to See (O2S). Physical principles of laser Doppler flow spectrometry - O₂ to See (O2S).

Schedler, O.,

Abstrakt

Die Laserdopplerflowmetrie wird durch einen Diodenlaser von einer Halbleiterdiode mit 830 nm und einer Leistung von bis zu 30 mW im continuous wave Modus (CW) zur Generierung von Licht im Nahinfrarotbereich realisiert. Der Dopplereffekt beschreibt das Ausmaß der Frequenzverschiebung und hängt dabei von der Anzahl und Geschwindigkeit der das Laserlicht streuenden Körper ab. Die in Hertz (Hz) registrierte Frequenzänderung des Dopplersignals ist proportional zur Geschwindigkeit der strömenden Körper. Dabei wird die Anzahl der Körper und Geschwindigkeit der bewegten Körper registriert und der Fluss in der Mikrozirkulation berechnet. Der Flow ergibt sich aus der Geschwindigkeit (V) multipliziert mit der Anzahl der bewegten Körper mit deren Geschwindigkeit (N) über allen zu beobachtenden Körpergeschwindigkeiten (Σ). Die Weißlichtquelle wird von einer 20 Watt Halogenlampe mit einem Wellenbereich zwischen 450-1000 nm gebildet. Das Messprinzip beruht auf die gewebespezifische Absorption und Reflektion der emittierten Lichtquanten. Besonders die Streuung an der mitochondrialen Matrix bedingt eine veränderte Lichtausbreitung. Mithilfe der eindeutigen Farbkodierung des jeweiligen Oxygenierungszustandes kann von der detektierten Blutfarbe auf die Sauerstoffsättigung des Blutfarbstoffes geschlossen werden. Dies gelingt durch die Berechnung des Farbspektrums anhand der absorptionsbedingten Verschiebung in den einzelnen Wellenlängenbereichen des Lichts. Durch Abgleich der detektierten Hämoglobinspektren der Mikrozirkulation mit experimentell ermittelten Referenzwerten der verschiedenen Absorptionsbereiche kann die Sauerstoffsättigung in Prozent ermittelt werden.

Laser Doppler flowmetry is realised by a diode laser from a semiconductor diode with 830 nm and a power of up to 30 mW in continuous wave mode (CW) to generate light in the near-infrared range. The Doppler effect describes the extent of the frequency shift and depends on the number and speed of the bodies scattering the laser light. The frequency change of the Doppler signal registered in Hertz (Hz) is proportional to the speed of the flowing bodies. The number of bodies and speed of the moving bodies are registered and the flow in the microcirculation is calculated. The flow results from the velocity (V) multiplied by the number of moving bodies with their velocity (N) over all body velocities to be observed (Σ).

The white light source is formed by a 20 Watt halogen lamp with a wave range between 450-1000 nm. The measuring principle is based on the tissue-specific absorption and reflection of the emitted light quanta. Especially the scattering at the mitochondrial matrix causes an altered light propagation. With the help of the clear colour coding of the respective oxygenation state, the oxygen saturation of the blood pigment can be deduced from the detected blood colour. This is achieved by calculating the colour spectrum on the basis of the absorption-related shift in the individual wavelength ranges of the light. By comparing the detected haemoglobin spectra of the microcirculation with experimentally determined reference values of the different absorption ranges, the oxygen saturation can be determined in percent.

Keywords: Laserdopplerflowmetrie, Weißlichtgewebespektrometrie, Hämoglobinspektren, detektierten Blutfarbe, regionale absolute Sauerstoffgewebesättigung, Lokale relative Hämoglobinmenge, Mikrovaskulärer relativer Blutfluss, Blutflussgeschwindigkeit

Laser Doppler flowmetry, White light tissue spectrometry, Haemoglobin spectra, Detected blood colour, Regional absolute oxygen tissue saturation, Local relative haemoglobin amount, Microvascular relative blood flow, Blood flow velocity.

Medizintechnische Entwicklung des Verfahrens

Die Laserdopplerflowmetrie wurde erstmalig von Schawlow und Townes beschrieben wurde als Laser-Verfahren von Maiman im Jahr 1960 experimentell umgesetzt. [1,2] 1977 erfolgten durch Stern und Kollegen die ersten humanen Messungen [3]. Die Entwicklung des Gerätes lag im Erlanger Mikrolichtleiter-

Spektrophotometer (EMPHO I). In den Jahren von 1981 bis 1990 wurde es am Institut für Physiologie und Kardiologie der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg entworfen. Mit den Weißlichtemissionen und den registrierten Reflexionsspektren konnte die mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung bestimmt werden. Die Verwendung von hochflexiblen Mikrolichtleitern ermöglichte die Messung an Organen [4]. In Experimenten wurden die ersten Versuche an der menschlichen Haut und am menschlichen Herzen durchgeführt [5, 6]. In den folgenden Jahren wurde das Nachfolgegerät EMPHO II zur klinischen Forschung weiterentwickelt und

kam in der klinischen Messung zur peripheren Gewebedurchblutung zum Einsatz [7].

Als Weiterentwicklung des EMPHO II konstruierte die Firma LEA Medizintechnik das „AbTisSpec“ (Absorptions-Gewebe-Spektrometer) mit einer Erhöhung des detektierten Frequenzspektrums von sichtbaren bis zum Nah-Infrarot-Licht sowie einer Messung der relativen Hämoglobinkonzentration. Aus der Kombination des „AbTisSpec“ mit einer Laser-Doppler-Flowmetrie entstand das Mehrkanalsystem „Oxygen-to-see (O2S)“ zur Erfassung der neuen Parameter wie die kapillarvenöse Sauerstoffsättigung, die relative Hämoglobinmenge, der relativer Blutfluss und die Blutflussgeschwindigkeit mit Echtzeitmessungen in Messtiefen von 100 µm bis 20 mm [40].

Im Jahr 2002 kam es erstmalig zur experimentellen Verwendung für die Evaluierung des Verfahrens im klinischen Einsatz [8,9]. Es konnte gezeigt werden, dass eine zeitnahe hypoxiebedingte Komplikationen eines Schlaganfalls verhindert werden konnte [10]. Darüber hinaus wurden Erkenntnisse in den Bereichen der Neonatologie, im präklinischen Setting, bei traumatisierten Patienten, sowie bei perioperativen chirurgischer Interventionen gewonnen [10]. Weitere Untersuchungen in der Thorax- und Viszeralchirurgie, der Transplantationschirurgie, der Plastische Chirurgie sowie der Herzchirurgie sowie die Untersuchungen des Gastrointestinaltraktes und des Gehirns während chirurgischer Eingriffe, an der Brustwand und am Unterarm nach Entnahme von arteriellen Transplantaten für koronaren Bypass und am Fuß mit diabetischem Ulcus bestätigten den klinischen Einsatz [11-21]. Die erhobenen Parameter bewiesen eine gute Reliabilität und Reproduzierbarkeit und wurden in verschiedenen klinischen Settings zur Beurteilung der Mikrozirkulation unterschiedlicher Organe angewandt [22,23].

Der Hersteller führte die Einheit Arbitrary Units (AU) ein, um so die pseudoquantitative Wertigkeit der Parameter zu beschreiben. Die Bestimmung der absoluten Menge an

Hämoglobin sowie des absoluten Flusses und der Körpergeschwindigkeit war nicht möglich, da der Streukoeffizient bei diesem optischen Messverfahren nicht berechnet werden könnte. Temperaturabhängige Änderungen der optischen Eigenschaften der Glykolipide der Zellmembranen sowie die Inhomogenität des Protein- und Lipidanteils der Gewebe hatten unterschiedliche Auswirkungen auf den Streukoeffizienten und galten als Grund für die Inhomogenität der untersuchten Gewebeschichten [24]. Mit der Einführung der Bezeichnung AU wurde berücksichtigt, dass die gemessenen Parameter von elektrischen Einheiten ableitet wurden und das Internationale Einheitensystem für physikalische Größen hier nicht angewandt werden konnte. Bislang erfolgte eine Validierung in einem Experiment [8].

Messprinzipien der Laser-Doppler-Flowmetrie

Die Laserdopplerflowmetrie wird durch einen Diodenlaser von einer Halbleiterdiode mit 830 nm und einer Leistung von bis zu 30 mW im continuous wave Modus (CW) zur Generierung von Licht im Nahinfrarotbereich realisiert und entspricht der Klasse 3B in der Einteilung von Lasergeräten. Das von bewegten Körpern reflektierte Signal unterliegt hierbei dem Doppler-Effekt. Dieser Dopplereffekt beschreibt die Stauchung oder Dehnung eines Signals, welches durch die Änderung des Abstands zwischen Sender und Empfänger über eine Zeitdauer entsteht [25]. Das Ausmaß der Frequenzverschiebung hängt dabei von der Anzahl und Geschwindigkeit der das Laserlicht streuenden Körper ab. Die in Hertz (Hz) registrierte Frequenzänderung des Dopplersignals ist proportional zur Geschwindigkeit der strömenden Körper [26]. Anhand dieses Dopplerphänomens kann durch Berechnungen die mittlere Geschwindigkeit der bewegten Körper (bspw. Erythrozyten) als relative Flussgeschwindigkeit dargestellt werden. Das zurückgeworfene Licht wird in einem Glasfaserkabel für die Umwandlung in ein elektrisches Signal zu einem Photodetektor geleitet. Bedingt durch die langsame Flussgeschwindigkeit im Kapillarbett ist die zu messende Dopplerverschiebung nur sehr gering. Für eine adäquate Messung ist daher

monochromatischen Laserlichts erforderlich. Das registrierte Dopplersignal wird verarbeitet um Abweichungen der Laserintensität und Störfaktoren während der Weiterleitung des Lichtsignals zu minimieren. Der Fluss in der Mikrozirkulation kann nach diesem Prinzip in einer lokalen Messung mit begrenztem Messvolumen, ohne vorheriges Aufsuchen von Gefäßen und ohne jeweilige Bestimmung der Gefäßquerschnitte berechnet werden. Weiterhin ermöglicht die Intensitätsänderung des zurückgeworfenen Lichts die Berechnung der relativen Anzahl an sich bewegenden Körper. In den Messungen werden die Anzahl der Körper und Geschwindigkeit der bewegten Körper registriert und der Fluss in der Mikrozirkulation berechnet [27-28].

$$Flow = \sum (V \times N)$$

Der Flow ergibt sich aus der Geschwindigkeit (V) multipliziert mit der Anzahl der bewegten Körper mit deren Geschwindigkeit (N) über allen zu beobachtenden Körpergeschwindigkeiten ($\sum$) und wird ebenfalls in Arbitrary Units (AU) angegeben.

Messgrundlagen der Weißlichtspektrometrie

Bei der integrierten Weißlichtgewebespektrometrie werden Lichtquanten einer Weißlichtquelle durch ein Glasfaserkabel zu einer Sonde geleitet, welche das Licht an das Gewebe abgibt. Die Weißlichtquelle wird von einer 20 Watt Halogenlampe mit einem Wellenbereich zwischen 450-1000 nm gebildet. Ideales Weißlicht setzt sich aus unterschiedlichen Wellenlängen mit gleicher Intensität zusammen. Da die Intensität der einzelnen Wellenlängen jedoch voneinander abweicht, besitzt das Gerät einen internen Weißlichtabgleich.

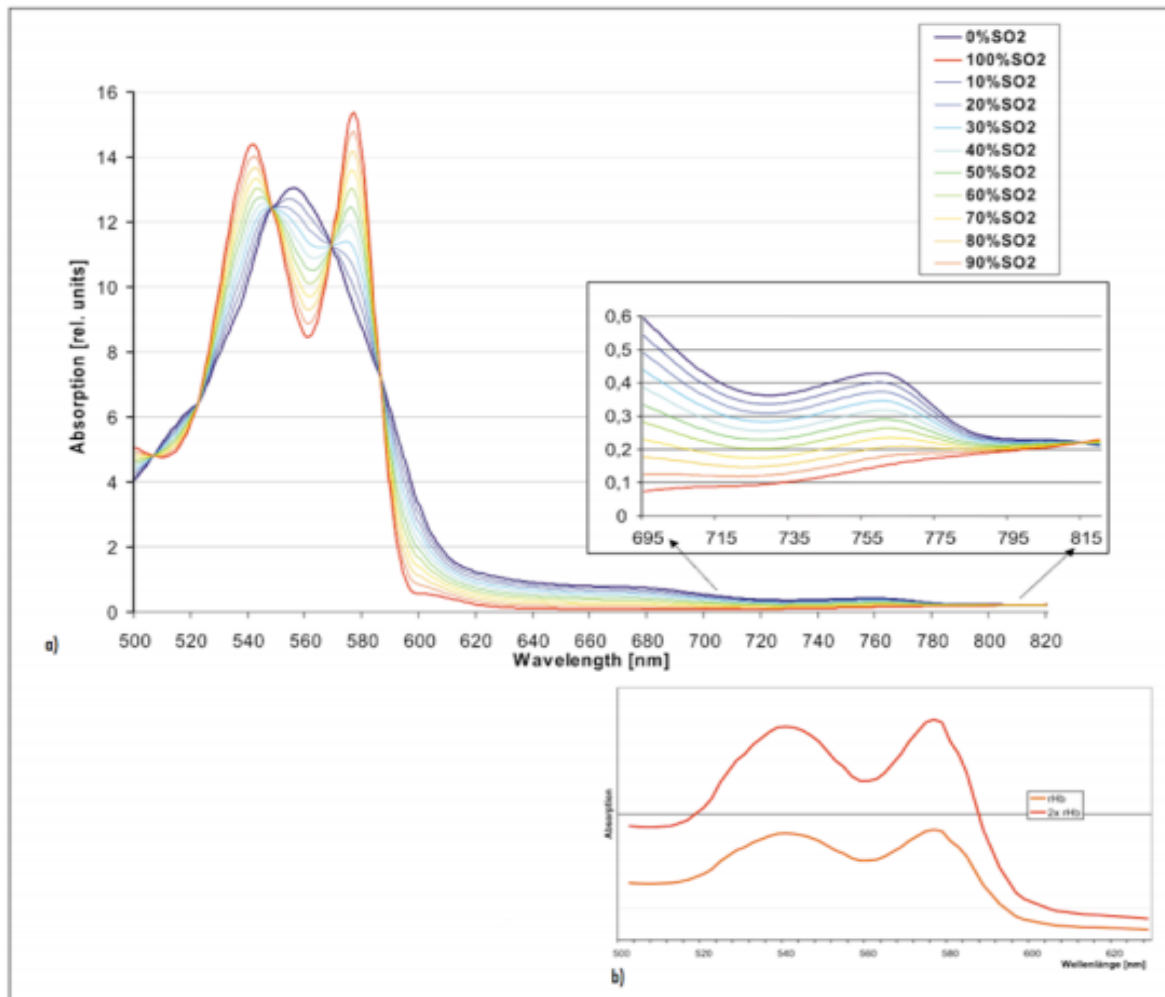
Das Messprinzip beruht auf die gewebespezifische Absorption und Reflektion der emittierten Lichtquanten. Besonders die Streuung an der mitochondrialen Matrix bedingt eine veränderte Lichtausbreitung [29]. Neben dem Streuungseffekt, der die Intensität

des zurückgeworfenen Lichts beeinflusst, existiert der Effekt der Absorption. Dieser beschreibt, dass Licht in seinen einzelnen Wellenlängenbereichen vom Blutfarbstoff unterschiedlich absorbiert wird. Dies geschieht in Abhängigkeit von der Oxygenierungsgrad des Blutfarbstoffes [30]. Das während der Gewebedurchdringungen durch unterschiedliche Farben und Intensitäten veränderte Licht wird an einer definierten Position registriert. Der als Separation bezeichnete räumliche Abstand zwischen Lichtemissionsquelle und Sensor bestimmt hierbei maßgeblich die Messtiefe des Spektrometers [31].

Zwischen dem Ort der Lichtemission und Lichtregistrierung bewegen sich die Photonen auf einer ellipsoiden Bahn. Mit steigendem Abstand des Detektors von der Lichtquelle erhöht sich die Eindringtiefe des Messsystems. Anhand der Kenntnis über die statistisch zu erwartende Streuung an mitochondrialen Strukturen und der Farbänderung des emittierten Lichts in Abhängigkeit vom Oxygenierungsgrad des Blutfarbstoffes können Rückschlüsse auf die Sauerstoffsättigung in der Mikrozirkulation gezogen werden [29, 30]. Je nach Oxygenierungsgrad des Blutfarbstoffes mit Sauerstoff kommt es zu einer farblichen Veränderung. Blut mit einem hohen prozentualen Anteil an oxygeniertem Hämoglobin zeigt sich hierbei hellrot. Mit zunehmender Entsättigung kommt es zu einer Verdunkelung der Blutfarbe [32]. Mithilfe der eindeutigen Farbkodierung des jeweiligen Oxygenierungszustandes kann von der detektierten Blutfarbe auf die Sauerstoffsättigung des Blutfarbstoffes geschlossen werden. Dies gelingt durch die Berechnung des Farbspektrums anhand der absorptionsbedingten Verschiebung in den einzelnen Wellenlängenbereichen des Lichts. Durch Abgleich der detektierten Hämoglobinspektren der Mikrozirkulation mit experimentell ermittelten Referenzwerten der verschiedenen Absorptionsbereiche kann die Sauerstoffsättigung in Prozent ermittelt werden [33].

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Hämoglobinspektren:

a) Absorption im sichtbaren und infrarotnahen Wellenlängenbereich mit Farbverlauf (Oxygenierung im Bereich von 0 bis 100 % variiert in Intervallen von 10 %); b) Bei unterschiedlicher Blutmenge im Gewebe.



Mit freundlicher Genehmigung von LEA Medizintechnik

Messparameter des Messverfahrens

Die regionale absolute Sauerstoffgewebesättigung (rSO₂)

Da sichtbares Licht in Gefäßen, die einen größeren Durchmesser als 100 µm aufweisen, vollständig absorbiert wird, erfasst die Weißlichtspektrometrie die Sauerstoffgewebesättigung ausschließlich im postkapillären venulären Stromgebiet [27, 34]. Dabei handelt es sich im mikrovaskulären Stromgebiet zu 75-85% um venöses Blut, sodass davon ausgegangen werden kann, dass man den Sauerstoffgewebesättigungswert am venulären Ende der Kapillaren misst. Eine

Änderung des rSO₂-Wertes kann eine Dysbalance zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffverbrauch widerspiegeln [35]. Die regionale absolute Sauerstoffsättigung gilt als Maß für die Sauerstoffausschöpfung im lokalen Gewebe und somit für den Funktionszustand der lokalen Mikrozirkulation und Marker für die lokale Gewebehypoxie.

Lokale relative Hämoglobinmenge (rHb)

Die relative Hämoglobinmenge im Gewebe ist anders als die systemische Hämoglobinmenge. Die relative Hämoglobinmenge gilt als ein Maß für die Menge an Blut im Mikrogefäßsystem und die dortige Gefäßdichte [27]. Da die Blutverteilung in den mikrovaskulären Gefäßen vor allem mit 85% venolärkapillär und nur 15% arteriell ist, stellt die relative Hämoglobinmenge ein sehr präzises Maß für den Füllungsstatus der Venolen dar [36]. Der

Anstieg der lokalen relativen Hämogloninmenge bedeutet einen erhöhten venulären Füllungszustand und kann als ein Indikator für die Feststellung eines venösen Staus im Gewebe sein. [34, 37]. Das Messverfahren trifft durch die Erfassung der Intensitätsänderung des zurückgeworfenen Lichts eine Aussage über die relative Hämoglobinmenge.

Mikrovaskulärer relativer Blutfluss (rFlow) und Blutflussgeschwindigkeit (rVelocity)

Der Flow ermittelt sich aus dem Produkt von Geschwindigkeit (*Velocity*, v) und Anzahl der

bewegten Körper dieser Geschwindigkeit (N) summiert über alle Körpergeschwindigkeiten (Σ) [27, 38, 39]. Der Flow wird in Arbitrary Units (AU) angezeigt und ist in diesem Fall dem gemessenen Partikelvolumenstrom gleichzusetzen. Um den Blutfluss in Fluss- oder Mengeneinheiten (ml/min) angeben zu können, müsste die Eichung für jedes Organ separat erfolgen. Die mit dem Weißlichtspektrometer gemessenen Werte beschreiben Blutflussparameter in der Mikrozirkulation, weil es in Gefäßen mit einem Durchmesser von mehr als 100 μm zu einer vollständigen Lichtabsorption kommt und die photometrische Analyse dadurch verhindert wird [27].

Ausblick für die Praxis

Mit dem dargestellten medizintechnischen Verfahren zur Messung der Sauerstoffsättigung, der relativen Hämoglobinmenge sowie der Blutflussgeschwindigkeit und des Blutflusses kann eine Aussage zur Mikrozirkulation getroffen werden, welche einen entscheidenden diagnostischen und therapeutischen Wert innerhalb der sportmedizinischen Behandlungen sowie in der sportmedizinischen Leistungsdiagnostik haben kann. Es wird im Weiteren damit zu rechnen sein, dass mittels der Laser-Doppler-Flowmetrie sowie der Weißlichtspektrometrie in unterschiedlichen Gewebeschichten Aussagen über die Mikrozirkulation unter sportlicher Betätigung getroffen werden können. Dabei werden sowohl die hypoxischen-anaeroben Situationen als auch die hyperoxischen-katabolen metabolischen Zustandsbeschreibungen von besonderem Interesse sein.

Literatur

- [1] Schawlow, A.L. and C.H. Townes, Infrared and Optical Masers. *Physical Review*, 1958. 112(6): p. 1940-1949. DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRev.112.1940>.
- [2] Maiman, T.H., Stimulated Optical Radiation in Ruby. *Nature*, 1960. 187(4736): p. 493-494. DOI: 10.1038/187493a0.
- [3] Stern, M.D., D.L. Lappe, P.D. Bowen, J.E. Chimosky, G.A. Holloway, Jr., H.R. Keiser, and R.L. Bowman, Continuous measurement of tissue blood flow by laser-Doppler spectroscopy. *Am J Physiol*, 1977. 232(4): p. H441-8. DOI: 10.1152/ajpheart.1977.232.4.H441.
- [4] Frank, K.H., M. Kessler, K. Appelbaum, and W. Dümmler, The Erlangen micro-lightguide spectrophotometer EMPHO I. *Phys Med Biol*, 1989. 34(12): p. 1883-900. DOI: 10.1088/0031-9155/34/12/011.
- [5] Frank, K., R. Funk, M. Kessler, and J.W. Rohen, Spectrometric measurements in the anterior eye vasculature of the albino rabbit—a study with the EMPHO I. *Exp Eye Res*, 1991. 52(3): p. 301-9. DOI: 10.1016/0014-4835(91)90094-u.
- [6] Frank, K.H., M. Kessler, K. Appelbaum, W. Dümmler, J. Zundorf, J. Hoper, W.P. Klovekorn, and F. Sebening, Oxygen supply of the myocardium. *Adv Exp Med Biol*, 1989. 248: p. 561-6. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5643-1_62.
- [7] Meyer, B., C. Schaller, C. Frenkel, B. Ebeling, and J. Schramm, Distributions of local oxygen saturation and its response to changes of mean arterial blood pressure in the cerebral cortex adjacent to arteriovenous malformations. *Stroke*, 1999. 30(12): p. 2623-30. DOI: 10.1161/01.str.30.12.2623.
- [8] Walter, B., R. Bauer, A. Krug, T. Derfuss, F. Traichel, and N. Sommer, Simultaneous measurement of local cortical blood flow and tissue oxygen saturation by Near infra-red Laser Doppler flowmetry and remission spectroscopy in the pig brain. *Acta Neurochir Suppl*, 2002. 81: p. 197-9. DOI: 10.1007/978-3-7091-6738-0_51.
- [9] Klaessens, J.H., R.G. Kolkman, J.C. Hopman, E. Hondebrink, K.D. Liem, W. Steenbergen, F.F. de Mul, and J.M. Thijssen, Monitoring cerebral perfusion using near-infrared spectroscopy and laser Doppler flowmetry. *Physiol Meas*, 2003. 24(4): p. N35-40. DOI: 10.1088/0967-3334/24/4/n03.
- [10] Scheeren TWL, Schober P, Schwarte LA: Monitoring tissue oxygenation by near infrared spectroscopy (NIRS): background and current applications. *J Clin Monit Comput* (2012) 26: 279-287

- [11] Holzle, F., A. Rau, D.J. Loeffelbein, T. Mucke, M.R. Kesting, and K.D. Wolff, Results of monitoring fasciocutaneous, myocutaneous, osteocutaneous and perforator flaps: 4-year experience with 166 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2010. 39(1): p. 21-8. DOI: 10.1016/j.ijom.2009.10.012
- [12] Fechner, G., J. von Pezold, O. Luzar, S. Hauser, R.H. Tolba, and S.C. Muller, Modified spectrometry (O2C device) of intraoperative microperfusion predicts organ function after kidney transplantation: a pilot study. *Transplant Proc*, 2009. 41(9): p. 3575-9. DOI: 10.1016/j.transproceed.2009.06.234
- [13] Ladurner, R., M. Feilitzsch, W. Steurer, S. Coerper, A. Konigsrainer, and S. Beckert, The impact of a micro-lightguide spectrophotometer on the intraoperative assessment of hepatic microcirculation: a pilot study. *Microvasc Res*, 2009. 77(3): p. 387-8. DOI: 10.1016/j.mvr.2009.01.008.
- [14] Knobloch, K., A. Lichtenberg, M. Pichlmaier, H. Mertsching, A. Krug, U. Klima, and A. Haverich, Microcirculation of the sternum following harvesting of the left internal mammary artery. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2003. 51(5): p. 255-9. DOI: 10.1055/s-2003-430839.
- [15] Albuszies G, Radermacher P, Vogt J, Wachter U, Weber S, Schoaff M, Georgieff M, Barth E (2005) Effect of increased cardiac output on hepatic and intestinal microcirculatory blood flow, oxygenation, and metabolism in hyperdynamic murine septic shock. *Crit Care Med*; 33: 2332–2338.
- [16] Fournell A, Scheeren TW, La Schwarte (2003) Simultaneous assessment of microvascular oxygen saturation and laser-Doppler flow in gastric mucosa. *Adv Exp Med Biol*; 540: 47–53.
- [17] Schwarte LA, Fournell A, van Bommel J, Ince C (2005) Redistribution of intestinal microcirculatory oxygenation during acute hemodilution in pigs. *J Appl Physiol* (1985); 98: 1070–1075.
- [18] Klein KU, Glaser M, Reisch R, Tresch A, Werner C, Engelhard K (2009) The effects of arterial carbon dioxide partial pressure and sevoflurane on capillary venous cerebral blood flow and oxygen saturation during craniotomy. *Anesth Analg* (Anesthesia and analgesia); 109: 199–204.
- [19] Klein KU, Schramm P, Glaser M, Reisch R, Tresch A, Werner C, Engelhard K (2010) Intraoperative Monitoring of Cerebral Microcirculation and Oxygenation—A Feasibility Study Using a Novel Photo-Spectrometric Laser-Doppler Flowmetry. *J Neurosurg Anesthesiol*; 22: 38–45.
- [20] Knobloch K, Lichtenberg A, Pichlmaier M, Mertsching H, Krug A, Klima U, Haverich A (2003) Microcirculation of the sternum following harvesting of the left internal mammary artery. *Thorac Cardiovasc Surg*; 51: 255–259.
- [21] Beckert S, Witte MB, Konigsrainer A, Coerper S (2004) The impact of the Micro-Lightguide O2C for the quantification of tissue ischemia in diabetic foot ulcers. *Diabetes Care*; 27: 2863–2867.
- [22] Walter B, Bauer R, Krug A, Derfuss T, Traichel F, Sommer N (2002) Simultaneous measurement of local cortical blood flow and tissue oxygen saturation by Near infra-red Laser Doppler flowmetry and remission spectroscopy in the pig brain. *Acta Neurochir Suppl*; 81: 197–199.
- [23] Ghazanfari M, Vogt L, Banzer W, Rhodius U (2002) Reproduzierbarkeit nicht-invasiver Durchblutungsmessung mit der Laser-DopplerSpektroskopie. *Phys Med Rehab Kuror*; 12: 330–336.
- [24] V., T.V., *Tissue Optics, Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnostics*, Third Edition. Vol. PM166. 2007: SPIE Press, Bellingham Washington, 442-445.
- [25] Franklin, D.L., W. Schlegel, and R.F. Rushmer, Blood flow measured by Doppler frequency shift of back-scattered ultrasound. *Science*, 1961. 134(3478): p. 564-5. DOI: 10.1126/science.134.3478.564.
- [26] Bonner, R. and R. Nossal, Principles of Laser-Doppler Flowmetry, in *Laser-Doppler Blood Flowmetry*, A.P. Shepherd and P.Å. Öberg, Editors. 1990, Springer US. p. 17-45. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2083-9_2.
- [27] Krug, A., CME: Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes - Methode des so genannten O2C (oxygen to see). *Phlebologie*, 2006. 35(6): p. 300-312. DOI: 10.1055/s-0037-1622158.
- [28] Rajan, V., B. Varghese, T.G. van Leeuwen, and W. Steenbergen, Review of methodological developments in laser Doppler flowmetry. *Lasers Med Sci*, 2009. 24(2): p. 269-283. DOI: 10.1007/s10103-007-0524-0
- [29] Beauvoit, B., S.M. Evans, T.W. Jenkins, E.E. Miller, and B. Chance, Correlation between the light scattering and the mitochondrial content of normal tissues and transplantable rodent tumors. *Anal Biochem*, 1995. 226(1): p. 167-74. DOI: 10.1006/abio.1995.1205.
- [30] Mook, G.A., O.W. van Assendelft, and W.G. Zijlstra, Wavelength dependency of the spectrophotometric determination of blood oxygen saturation. *Clin Chim Acta*, 1969. 26(1): p. 170-3. DOI: 10.1016/0009-8981(69)90304-0.
- [31] Jakobsson, A. and G.E. Nilsson, Prediction of sampling depth and photon pathlength in laser Doppler flowmetry. *Med Biol Eng Comput*, 1993. 31(3): p. 301-7. DOI: 10.1007/BF02458050.
- [32] Kuchenreuther, S., J. Adler, W. Schutz, O. Eichelbronner, and M. Georgieff, The Erlanger Microlightguide Photometer: a new concept for monitoring intracapillary oxygen supply of tissue--first results and a review of the physiological basis. *J Clin Monit*, 1996. 12(3): p. 211-24. DOI: 10.1007/BF00857642.
- [33] Zijlstra, W.G., A. Buursma, and W.P. Meeuwse-van der Roest, Absorption spectra of human fetal and adult oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, carboxyhemoglobin, and methemoglobin. *Clin Chem*, 1991. 37(9): p. 1633-8. PMID: 1716537
- [34] Gandjbakhche AH, Bonner RF, Arai AE, Balaban RS. Visible-light photon migration through myocardium in vivo. *Am J Physiol*. 1999;277(2 Pt 2):H698-704.

- [35] Edmonds HL, Jr. Detection and treatment of cerebral hypoxia key to avoiding intraoperative brain injuries. *J Clin Monit Comput.* 2000;16(1):69-74.
- [36] AC, B., Resistance to flow in vascular beds. *Nature*, 1958. 182: p. 1456-7.
- [37] Hölzle F, Loeffelbein DJ, Nolte D, Wolff KD. Free flap monitoring using simultaneous non-invasive laser Doppler flowmetry and tissue spectrophotometry. *J Craniomaxillofac Surg.* 2006;34(1):25-33.
- [38] Sandner K. Zerebrale Weißlichtspektrometrie und Laser-Doppler Spektroskopie zur prä- und postoperativen Bestimmung der lokalen Sauerstoffsättigung, des relativen Blutflusses und der relativen Hämoglobinmenge im Gehirn von Säuglingen mit angeborenen Herzfehlern. 2016.
- [39] Schöne MP. Postoperativer Sauerstoffmetabolismus, Mikrozirkulation und Makrozirkulation im Versorgungsgebiet der Arteria cerebri anterior bei Säuglingen mit angeborenen Herzfehlern. Tübingen; 2019
- [49] Rajan V, Varghese B, van Leeuwen TG, Steenbergen W. Review of methodological developments in laser Doppler flowmetry. *Lasers in medical science.* 2009;24(2):269-83.