

Reproduzierbarkeit nicht-invasiver Durchblutungsmessung mit der Laser-Doppler-Spektroskopie

M. Ghazanfari
L. Vogt
W. Banzer
U. Rhodius

Reproducibility of Non-Invasive Blood Flow Measurements Using Laser Doppler Spectroscopy

Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war die Überprüfung der Reproduzierbarkeit der mit Laser-Doppler-Spektroskopie (LDS) in der Mikrozirkulation nicht-invasiv erfassten mittleren Blutflusswerte in einem Test-retest-Design. **Methodik:** Der relative Blutfluss wurde in standardisierter Messposition am Unterarm in Ruhe bei 10 weiblichen und 10 männlichen ($n = 20$) gesunden Nichtrauchern im Alter von 22–39 Jahren ($28,4 \pm 4,67$) in drei unterschiedlichen Messtiefen erfasst. An aufeinander folgenden Untersuchungstagen fanden zwei Blutflussmessungen von jeweils 3 Minuten Dauer statt. Die Reproduzierbarkeit der erfassten Blutflusswerte und mögliche geschlechtsspezifische Einflüsse wurden unter Verwendung multivariater, zweifaktorieller Varianzanalysen mit Messwiederholung innerhalb einer und bei wiederholter Sondenapplikation überprüft. **Ergebnisse:** Die erfassten mittleren Blutflusswerte an aufeinander folgenden Messtagen sowie zwischen Messungen innerhalb einer Sondenklebung zeigten für alle Messtiefen hohe lineare Zusammenhänge ($r \geq 0,810$, $r \geq 0,828$, $p < 0,01$). Die Ergebnisse wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen mittleren Blutflusswerten sowohl innerhalb einer Sondenapplikation als auch bei erneuter Klebung der Messsonde am Retesttag auf. Die mittleren Durchblutungswerte der unterschiedlichen Messtiefen zeigten signifikante Unterschiede ($p < 0,05$), die anhand des Post-hoc-Tests auf einen erhöhten Blutfluss in größeren Messtiefen zurückzuführen sind. Die interindividuelle Variabilität (CV%) der erfassten Blutflusswerte lag für die beobachteten Messtiefen zwischen ca. 32% und 37%. Die errechnete intraindividuelle Streuung (CV%) des Blutflusses betrug für alle Messtiefen ca. 5%. **Schlussfolge-**

Abstract

The purpose of the present study was to examine the reproducibility of blood flow values measured in the microcirculation non-invasively using laser Doppler spectroscopy (LDS) in a test-retest design. **Method:** The blood flow was studied on 10 female and 10 male ($n = 20$) healthy non-smoking adults aged 22 to 39 years (28.4 ± 4.67). All subjects have been investigated at their forearm while resting in a standardized position. The blood flow has been recorded in three different depths of the tissue. Measurements were taken twice on each of two consecutive days for a duration of three minutes. ANOVA has been used to examine differences between test and retest as well as gender differences. **Results:** Average blood flow values on two consecutive days and between two recordings within days (same probe application) demonstrate high linear correlation for all tissue depths ($r \geq 0.810$, $r \geq 0.828$, $p < 0.01$). Multivariate analysis of variance for repeated measures didn't reveal significant differences in the mean blood flow values both within and between days. Significant differences between the mean blood flow values for the different tissue depths have been obtained ($p < 0.05$). Post-hoc-analysis revealed increasing blood flow values in the deeper depths. The inter-subject variability (CV%) of the recorded blood flow values in the observed depths differed between 32% and 37%. An average 5% intra-subject variability was calculated. **Conclusions:** The non-invasive LDS is apparently a reliable method for repeated recording of blood flow on two consecutive days (24 h) and within the same probe application during sufficient standardized test conditions. While the depth of penetration may vary due to intra-individual differences (kinds of tissue, epidermal thickness

Institutsangaben

Johann Wolfgang Goethe-Universität, Institut für Sportwissenschaften, Abteilung Sportmedizin
(Leiter: Prof. Dr. med. Dr. phil. Winfried Banzer)

Korrespondenzadresse

Marjan Ghazanfari · Ginnheimer Landstraße 39 · 60487 Frankfurt am Main
E-mail: Sarabi@sport.uni-frankfurt.de

Eingegangen: 20. September 2001 · **Angenommen:** 7. August 2002

Bibliografie

Phys Med Rehab Kuror 2002; 12: 330–336 © Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York · ISSN 0940-6689

rung: Die nicht-invasive LDS kann bei ausreichender Standardisierung als eine hinreichend reliable Methode zur wiederholten Blutflussmessung an zwei aufeinander folgenden Tagen (24 h) sowie innerhalb einer Sondenapplikation gelten. Wenngleich individuelle Haut- und Gewebetypen eine Bestimmung der Flusseigenschaften in speziellen Detektionstiefen erschweren, kann die Methode allgemein zur Verbesserung des Kenntnisstandes über die relative Durchblutung der Haut und der tieferen Gewebeschichten beitragen.

Schlüsselwörter

Blutfluss · Laser-Doppler-Spektroskopie · Reproduzierbarkeit · Mikrozirkulation

Einleitung

Anhand verschiedener Untersuchungen wurde gezeigt, dass Messungen der Hautdurchblutung ein wichtiges Hilfsmittel bei der Diagnose verschiedener Erkrankungen mit mikro- und makroangiopathischen Folgen wie z. B. Kollagenosen, arterieller Verschlusskrankheit, Diabetes mellitus, chronisch venöser Insuffizienz sein können [1–6].

Verschiedene nicht-invasive Methoden haben sich zur quantitativen und qualitativen Bestimmung der kutanen Mikrozirkulation in der klinischen Diagnostik etabliert. Neben den konventionellen Verfahren wie z. B. Kapillarmikroskopie, Thermographie und transkutane Sauerstoffpartialdruckmessung stehen heute die Laser-Doppler-Techniken zunehmend im Vordergrund [1,6,7].

Sie ermöglichen die lokale Durchblutungssituation im Mikrogefäßsystem kontinuierlich ohne Schmerz und Infektionsrisiko zu erfassen. Unter ihnen ist die von der Firma LEA Medizintechnik® (Germany) entwickelte nicht-invasive Laser-Doppler-Spektroskopie (LDS) ein Verfahren, das aufgrund einer besonderen Sonden-geometrie eine größere Detektionstiefe aufweist. Im Vergleich zu anderen bereits validierten Laser-Doppler-Spektroskopen bzw. Flowmetrie-Messsystemen [8,9] ist es in der Lage, den relativen Blutfluss von der Hautoberfläche bis zu einer Gewebetiefe von ca. 8 mm zu bestimmen.

Mit diesem weiterentwickelten Laser-Doppler-System wurde demzufolge erstmals ein optisches Verfahren zur lokalen Tomographie der Durchblutungsgrößen mit der Zielsetzung einer belastungsfreien Diagnose vorgestellt.

Die Durchblutung der Haut unterliegt bereits in Ruhe und unter standardisierten Bedingungen hohen Schwankungen und ist bezüglich der Zeit und der verschiedenen Hautareale inhomogen [1,10–12]. Ebenfalls haben verschiedene Faktoren wie z. B. Alter, Geschlecht, psychischer Zustand, körperliche Aktivität und die Umgebungstemperatur einen großen Einfluss auf die Hautdurchblutung [1,7,5]. Daraus ergibt sich für die Anwendung eines neuen Messverfahrens zur Erfassung der Durchblutung in der Mikrozirkulation die Notwendigkeit zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit unter standardisierten Bedingungen.

etc.), the method can be used to explore the blood flow in the skin and the underlying tissue.

Key words

Blood flow · laser Doppler spectroscopy · reproducibility · micro-circulation

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, das Verfahren der LDS mit einer Detektionstiefe bis 8 mm hinsichtlich der Reproduzierbarkeit in einem Testretestdesign zu untersuchen. In diesem Sinne wurden in einer standardisierten Messposition Blutflusswerte in einem Zeitabstand von 24 Stunden erfasst. Zusätzlich zu geschlechtsspezifischen Einflüssen wurde die Reliabilität des Messinstruments innerhalb einer Messsondenapplikation überprüft.

Methodik

Stichprobe und Messverfahren

Untersucht wurde eine Probandenstichprobe (n = 20), bestehend aus 10 männlichen und 10 weiblichen Nichtrauchern [13,14] im Alter von 22–39 Jahren ($28,4 \pm 4,67$). Um mögliche Einflüsse auf die erfassten Blutflusswerte zu vermeiden, wurden Probanden mit Bluthochdruck, Diabetes mellitus, kardiovaskulären Störungen, Hauterkrankungen oder regelmäßiger Medikamenteneinnahme nicht in die Studie einbezogen [1,4,5,15].

Vorgaben bezüglich Nahrungsaufnahme und Flüssigkeitszufuhr im Untersuchungszeitraum gab es keine [1,12].

Bei dem untersuchten Messinstrument handelt es sich um ein Laser-Doppler-Spektroskop der Firma LEA Medizintechnik® (Germany). Das Prinzip der nicht-invasiven Blutflussmessung mittels LDS beruht auf der Registrierung von Erythrozytenbewegungen. Infrarotes Laserlicht der Wellenlänge 820 nm wird über die Illuminationsfaser der Blutflusssonde auf das zu untersuchende Gewebe aufgebracht. Das Photon des Laserlichtes dringt über die Haut in das Gewebe ein, wird an den sich bewegenden Erythrozyten gestreut und erfährt dabei auf der Basis des Doppler-Effekts eine Frequenzverschiebung, die sich proportional zur Geschwindigkeit und Anzahl der Erythrozyten im Beobachtungsareal verhält [5,16]. Photozellen in einem Abstand von jeweils 2 mm empfangen das frequenzverschobene zurückgestreute Licht aus unterschiedlichen Gewebetiefen, wodurch mit dem untersuchten Gerät die Darstellung des Blutflusses aus mehreren Messtiefen ermöglicht wird [1,5]. Die Tiefe, aus der die Laserstrahlen reflektiert werden, wird von der Geometrie der Messsonde sowie von verschiedenen Faktoren wie z. B. Messposition und Hauttyp beeinflusst [1]. Eine mathematisch exakte Bestimmung der einzelnen Detektionstiefen wird zusätzlich auf-

grund individueller Gewebezusammensetzungen erschwert. Werden diese Einflussfaktoren bei der Berechnung der Detektionstiefen vernachlässigt bzw. idealisiert, so erfolgten in der vorliegenden Untersuchung die Messungen laut Herstellerangaben theoretisch in ca. 2, 4 und max. 8 mm Gewebetiefe.

Die Auswerteeinheit des Laser-Doppler-Spektroskops beinhaltet eine vierkanalige DSP-Karte (digital signal processing). Die empfangenen Lichtsignale werden zur Auswertung zuerst an einem Differenzverstärker verstärkt und anschließend mittels eines Hochpasses mit einer Eckfrequenz von 100 Hz und eines Tiefpasses mit einer Eckfrequenz von 20 kHz gefiltert, um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern. Danach wird das zeitliche Detektorsignal an einem Analog-Digitalwandler mit einer Wandlerate von 40 kHz bei 16 bit Datenbreite digitalisiert. Über die Fast-Fourier-Transformation (FFT) wird anschließend bei einer Blockgröße von 1024 Werten ein Leistungsdichtespektrum in Echtzeit berechnet. Bei dieser spektrometrischen Darstellung werden die Amplitudenwerte bzw. die Intensitäten in Dezibel (dB) gegen die Frequenz aufgetragen. Das erste Moment des FFT-ermittelten Leistungsdichtespektrums, welches als Maß für die Durchblutung zählt, wird in der Einheit kEPS (kilo Emphasis of Power Spectra) dargestellt. Die errechneten kEPS-Werte ergeben als Ausdruck für die Anzahl und Geschwindigkeit der Erythrozyten im beobachteten Gewebeareal ein relatives Maß für die Durchblutung [17]. Die mit der Blutflusssonde empfangenen Flusssignale aus unterschiedlichen Messtiefen werden zeitgleich (ca. 38 kEPS-Werte pro Sekunde und pro Messtiefe) registriert.

Versuchsaufbau und -durchführung

Zur Messung des Blutflusses wurde eine 10 mm breite und 2,4 mm dicke Messsonde (Abb. 1) über dem zu untersuchenden Körperareal appliziert (Abb. 2). Die Applikation erfolgte in Anlehnung an Arbeiten von De-Boer et al., Salerud et al. und Tenland et al. [7,11,12] an der Volarseite des rechten Unterarms in der Mitte der Verbindungslinie zwischen der distalen Handgelenksfalte und der Grube des Ellenbogens (Fossa cubiti). Hierbei wurde berücksichtigt, die Messsonde nicht direkt auf einer der sichtbar verlaufenden Venen am Unterarm zu applizieren. Aufgrund des individuell unterschiedlichen Gefäßverlaufs wurde die Messstelle radial und ulnar nicht abgegrenzt. Die Blutflusssonde wurde mit handelsüblichem Klebeflies auf der beschriebenen Messposition fixiert (Abb. 2) und während des Untersuchungszeitraums (ca. 25 Minuten) nicht entfernt. Die Glasfaserzuleitungen der Messsonde wurden nach proximal abgeführt und ebenfalls mit Klebeflies gegen Verrutschen gesichert (Abb. 2).

Die Messungen wurden an zwei aufeinander folgenden Tagen in einem Zeitabstand von ca. 24 Stunden anhand eines standardisierten Untersuchungsprotokolls durchgeführt. Der Untersuchungsverlauf an einem Messtag setzte sich aus fünf aufeinander folgenden Phasen zusammen: Akklimatisationsphase 1, Blutflussmessung A, Bewegungsphase, Akklimatisationsphase 2 und Blutflussmessung B (vgl. Abb. 3).

Alle Messungen wurden von derselben Person durchgeführt, um mögliche Untersuchereinflüsse auf die Messergebnisse zu vermeiden. Die Raumtemperatur wurde in einem Bereich von 21 – 23 °C konstant gehalten [9,12,18].

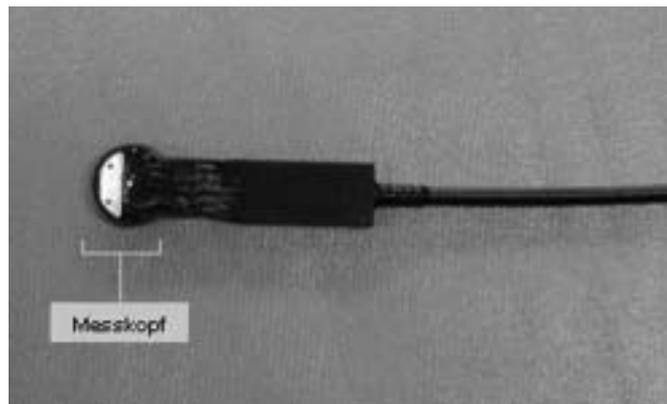


Abb. 1 Messsonde des Laser-Doppler-Spektroskops.

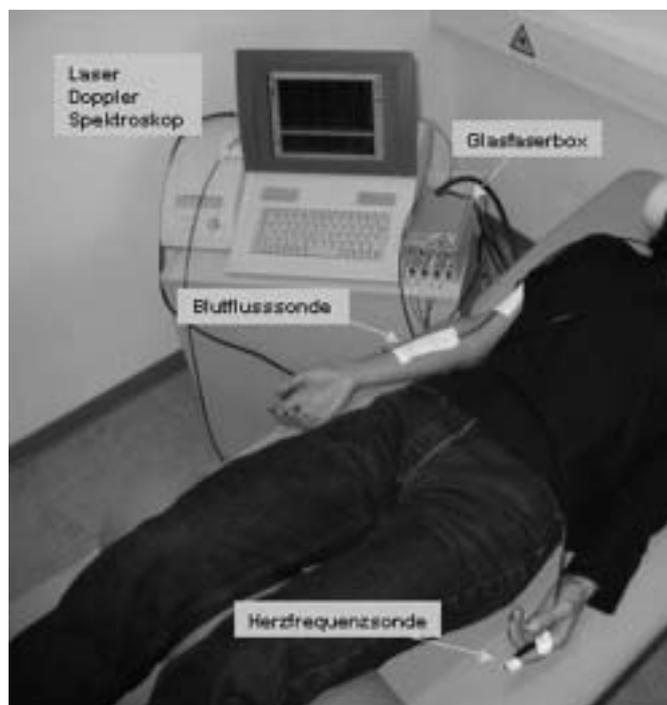


Abb. 2 Untersuchungsaufbau der Blutflussmessung am Unterarm mittels Laser-Doppler-Spektroskopie.

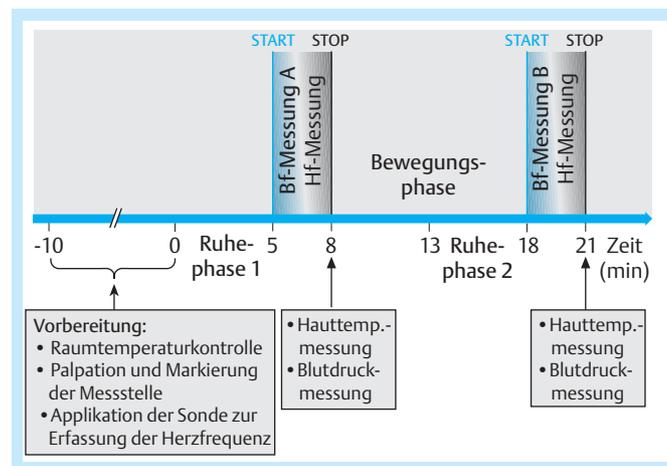


Abb. 3 Messprotokoll eines Untersuchungstages. Bf: Blutfluss, Bf-Messung A: Erste Messung eines Untersuchungstages, Bf-Messung B: Zweite Messung eines Untersuchungstages, Hf: Herzfrequenz, Raumtemp.: Raumtemperatur, Hauttemp.: Hauttemperatur.

Nach jeder Blutflussmessung wurden die physiologischen Größen Blutdruck, Herzfrequenz und Hauttemperatur protokolliert. Dadurch wurde versucht, möglicherweise auftretende untypische Schwankungen dieser Einflussfaktoren auf die Durchblutung auszuschließen. Der Blutdruck wurde mit einem konventionellen Sphygmomanometer und die Hauttemperatur des zu untersuchenden Messareals mittels CRT 2000® (Computer-Regulations-Thermographie) Oberflächenhautmessfühler gemessen. Mit der Applikation einer zweiten Blutflusssonde auf der linken Zeigefingerbeere konnte zeitgleich die Herzfrequenz registriert werden, ohne die eigentliche Durchblutungsmessung zu beeinflussen (vgl. Abb. 2).

Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit ermittelter Blutflusswerte innerhalb einer Sondenapplikation wurden an beiden Untersuchungstagen jeweils zwei Messungen durchgeführt, die wie in Abb. 3 dargestellt mit Bf-Messung A (Blutflussmessung A) und Bf-Messung B (Blutflussmessung B) gekennzeichnet sind. Jede der zwei Bf-Messungen eines Messtages dauerte ca. 3 Minuten [10]. Für den Zeitraum der Messung erhielten die Probanden die Anweisung, jegliche Bewegungen sowie das Reden und tiefes Ein- bzw. Ausatmen zu vermeiden, um durchblutungsverändernde Einflüsse weitestgehend auszuschließen. Zur Einstellung des Blutflusses auf die Ruhedurchblutung ging jeder Blutflussmessung eine Akklimatisationsphase bzw. Ruhephase von 5 Minuten voraus, die entsprechend mit Ruhephase 1 und Ruhephase 2 in Abb. 3 bezeichnet sind. Während dieser Ruhephasen nahmen die Probanden eine bequeme und entspannte Liegeposition in Rückenlage mit einer Unterstützungslagerung in der Kniekehle ein (Abb. 2) [11]. Vergleichbare körperliche Aktivitätszustände für die beiden Blutflussmessungen eines Messtages wurden erhalten, indem die Probanden aufgefordert waren, sich zwischen Bf-Messung A und Ruhephase 2 (s. Abb. 3) einer Messung für 5 Minuten frei zu bewegen.

Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit an aufeinander folgenden Messtagen wurde der skizzierte Untersuchungsverlauf nach erneuter Palpation und Klebung der Messsonde am zweiten Messtag in einem Zeitabstand von ca. 24 Stunden wiederholt.

Datenverarbeitung und -analyse

Zur Ermittlung der mittleren lokalen Perfusion wurden die aufgezeichneten Daten im Anschluss an die Messung einer gleitenden Mittelwertbildung unterzogen. Das mittlere Flusspektrum pro Messtiefe wurde dabei in Abhängigkeit der gewählten Aufzeichnungsrate über 200 Datenstützpunkte (5 s) errechnet (Abb. 4), woraus sich für jede Blutflussmessung von 3 Minuten Zeitdauer ca. 36 mittlere kEPS-Werte pro Messtiefe bestimmen lassen. Ziel dieses Verfahrens ist die Reduktion der Pulsatilität des Blutflusssignals [12]. Für die statistische Weiterverarbeitung der Daten wurde aus den bereits errechneten mittleren Flusswerten wiederum ein mittlerer kEPS-Wert pro Beobachtung und Messtiefe berechnet. Abb. 4 zeigt exemplarisch die in den einzelnen Messtiefen berechneten mittleren Blutflusswerte eines Probanden aufgetragen über die Zeit.

Die mittleren Durchblutungswerte der unterschiedlichen Messtiefen an zwei aufeinander folgenden Tagen sowie innerhalb einer Sondenklebung an einem Messtag wurden anhand der Pro-

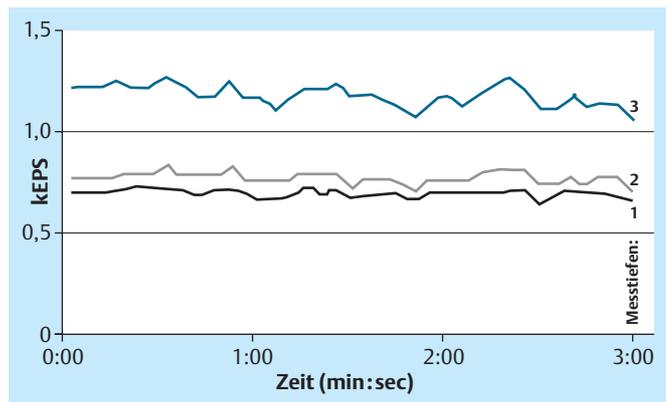


Abb. 4 Exemplarische Darstellung der Blutflusskurven für die oberflächlichste (1), mittlere (2) und maximale (3, ca. 8 mm) Messtiefe gemessen mit der Laser-Doppler-Spektroskopie. kEPS: kilo Emphasis of Power Spectra.

dukt-Moment-Korrelation nach Pearson auf lineare Zusammenhänge untersucht.

Zur Überprüfung der Testretestreliabilität der mit Hilfe der LDS ermittelten Blutflusswerte in Ruhe wurden die Daten des ersten und des zweiten Messtages unter Verwendung einer multivariaten, zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung auf signifikante Mittelwertsunterschiede überprüft. Mit analogem Vorgehen wurde die Reproduzierbarkeit der Blutflusswerte innerhalb einer Sondenapplikation untersucht. Es wurde die Auswirkung der Faktoren Zeit und Geschlecht mit jeweils zweifacher Abstufung auf die dreifach gestufte abhängige Variable Durchblutung in unterschiedlichen Messtiefen überprüft.

Die Streuung der erfassten mittleren Blutflusswerte innerhalb einer Person während eines Messzeitraums von ca. 25 Minuten sowie die mittlere Durchblutungsvariabilität zwischen Personen wurde anhand der Berechnung des Variationskoeffizienten in Prozent (CV%) ermittelt. Wenngleich die Pulsatilität unter Ruhebedingungen nur vergleichsweise geringe Einflüsse auf die Varianz der Blutflusssignale zeigt [12,19], sind diesbezügliche Einwirkungen auch unter Verwendung von Glättungsroutinen nicht vollständig auszuschließen.

Um ein relatives Maß für die prozentuale Blutflussänderung pro Messtiefe innerhalb eines Zeitraumes von ca. 10 Minuten (Zeitabstand zwischen der ersten und zweiten Messung eines Untersuchungstages) (vgl. Abb. 3) zu erhalten, wurde die mittlere relative Differenz für jede der unterschiedlichen Messtiefen bestimmt. Diese errechnet sich aus der Differenz der beiden Blutflusswerte eines Messtages, relativiert am Mittelwert beider Erhebungen in Prozent ausgedrückt (siehe Gleichung 1) [20].

$$\text{Mittlere relative Differenz} = \frac{\text{Messung A} - \text{Messung B}}{(\text{Messung A} + \text{Messung B})/2} \cdot 100$$

Gleichung 1 Berechnungsvorschrift zur Ermittlung der mittleren relativen Differenz. Messung A: Erste Messung eines Untersuchungstages. Messung B: Zweite Messung eines Untersuchungstages.

Ergebnisse

Die Produkt-Moment-Korrelationen nach Pearson zwischen den Blutflusswerten des ersten und des zweiten Messtages ($r \geq 0,810$, $p < 0,01$) sowie innerhalb einer Sondenapplikation an einem Messtag ($r \geq 0,828$, $p < 0,01$) ergaben für alle Messtiefen hohe lineare Zusammenhänge. Die Faktoren Zeit und Geschlecht zeigten keine signifikanten Einflüsse auf die Variable Durchblutung. Jedoch wiesen die Blutflusswerte signifikante Mittelwertsunterschiede zwischen den beobachteten Messtiefen auf ($p < 0,05$). Der signifikante Effekt kann laut Scheffé-Test durch die in der tiefsten Messtiefe im Vergleich zu den oberflächennäheren Schichten signifikant erhöhten Flusswerte erklärt werden ($F_{[2,57]} = 7,05$, $p < 0,05$).

Tab. 1 zeigt die mittleren Durchblutungswerte (MW), Standardabweichungen (SD) und Konfidenzintervalle für alle Messtiefen an beiden Messtagen.

Tab. 2 zeigt die mittlere relative Differenz (%) (vgl. Gleichung 1) und die Standardabweichung (SD) für beide Untersuchungstage und alle Messtiefen.

Die Zwischen-Personen-Streuung der errechneten Blutflusswerte sowie die durchschnittliche Blutflussvariabilität innerhalb von Personen ist in Tab. 3 anhand der inter- und intraindividuellen Variationskoeffizienten (CV%) am ersten Messtag und für alle Messtiefen dargestellt.

Diskussion

Die quantitative und qualitative Bestimmung der Hautdurchblutung sowie der Mikrozirkulation in tieferen Gewebeschichten gewinnen in der präventiven und rehabilitativen Diagnostik an Stellenwert. Insbesondere scheinen Erhebungen für die folgenden Anwendungsfelder und Themengebiete von Bedeutung zu sein:

- Messung der hyperämischen Reaktionen bei der klinischen Anwendung, wie z.B. Diagnose von Dermatosen,
- Hilfestellung beim Erkennen diabetischer Mikroangiopathien,
- Therapiekontrolle bei Medikamentenstudien,
- experimentelle Mikrozirkulationsforschung,
- Durchblutungskontrolle bei Transplantationen und plastisch-chirurgischen Eingriffen,
- Kontrolle der Einsetzbarkeit und Wirkungsweise verschiedener Therapiemaßnahmen wie Akupunktur, Magnetfeldtherapie, Lasertherapie etc.

Allerdings unterliegt die Hautdurchblutung als komplexes System den Einflüssen zahlreicher unterschiedlicher Faktoren, wie z.B. Hauttemperatur, Umgebungstemperatur, psychischer und körperlicher Zustand, zirkadianer Rhythmus, Alter und Geschlecht [1,10–12,21]. Diese in der Literatur beschriebene Unterschiedlichkeit der Hautdurchblutung bezüglich der bereits erwähnten Einflussfaktoren sowie hinsichtlich der Tageszeit und verschiedener Körperregionen ergibt die Notwendigkeit für die Entwicklung zuverlässiger Erhebungsverfahren.

Tab. 1 MW \pm SD und Konfidenzintervalle für die oberflächlichste (1), mittlere (2) und maximale (3, ca. 8 mm) Messtiefe an zwei aufeinander folgenden Tagen. KEPS: kilo Emphasis of Power Spectra. Alle Werte sind in KEPS-Einheiten ausgedrückt

Tiefe	Messung	Messtag			
		1 MW \pm SD	Konfidenzintervall	2 MW \pm SD	Konfidenzintervall
A					
1		0,88 \pm 0,38	0,65–1,12	0,88 \pm 0,29	0,70–1,06
2	n = 10 f	0,91 \pm 0,34	0,70–1,12	0,97 \pm 0,34	0,76–1,19
3		1,16 \pm 0,32	0,96–1,36	1,27 \pm 0,44	0,99–1,54
1		0,88 \pm 0,28	0,70–1,05	0,90 \pm 0,22	0,76–1,03
2	n = 10 m	0,99 \pm 0,26	0,83–1,16	0,95 \pm 0,24	0,81–1,10
3		1,31 \pm 0,46	1,02–1,60	1,22 \pm 0,34	1,01–1,43
B					
1		0,85 \pm 0,39	0,61–1,10	0,84 \pm 0,30	0,66–1,03
2	n = 10 f	0,86 \pm 0,35	0,64–1,08	0,88 \pm 0,32	0,68–1,07
3		1,06 \pm 0,32	0,86–1,26	1,07 \pm 0,39	0,83–1,31
1		0,88 \pm 0,23	0,74–1,02	0,89 \pm 0,34	0,68–1,11
2	n = 10 m	0,94 \pm 0,28	0,77–1,11	1,00 \pm 0,39	0,76–1,25
3		1,19 \pm 0,41	0,93–1,44	1,31 \pm 0,61	0,93–1,69

Tab. 2 MW \pm SD der relativen Differenz (%) der ersten und zweiten Blutflussmessung eines Messtages für die oberflächlichste (1), mittlere (2) und maximale (3, ca. 8 mm) Messtiefe

Tiefe	Messtag 1 relative Differenz % (MW \pm SD)	Messtag 2 relative Differenz % (MW \pm SD)
1	7,50 \pm 4,50	9,04 \pm 6,22
2	9,65 \pm 6,57	11,82 \pm 9,80
3	11,09 \pm 9,56	10,05 \pm 8,54

Tab. 3 Inter- und intraindividuelle Variationskoeffizienten (CV%) pro Messtiefe

Tiefe	Messtag 1	
	interindividuelle CV%	intraindividuelle CV%
1	36,75%	4,88%
2	31,30%	5,13%
3	32,07%	5,42%

Das Verfahren der hier untersuchten nicht-invasiven LDS bietet die Möglichkeit zur zeitgleichen und kontinuierlichen Durchblutungsmessung im Mikrogefäßsystem verschiedener Gewebeschichten, von der Hautoberfläche bis zu einer Gewebetiefe von ca. 8 mm.

Die vorliegende Studie untersuchte die Reproduzierbarkeit des mit LDS registrierten Blutflusses an zwei aufeinander folgenden Messtagen sowie an einem Messtag. Die erfassten Blutflusswerte zwischen Messtagen mit entsprechend erneuter Sondenapplikation am Retesttag sowie zwischen Messungen innerhalb einer

Sondenklebung an einem Messtag wiesen keine signifikanten Unterschiede der mittleren Blutflusswerte auf. Gleichzeitig konnten für alle Messtiefen hohe lineare Merkmalszusammenhänge zwischen Messterminen festgestellt werden. Demzufolge deuten die Ergebnisse der Wiederholungsmessung darauf hin, dass das Messsystem (Laser-Doppler-Spektroskop) bei ausreichender Standardisierung als ein hinreichend reliables Verfahren zur Erfassung der Durchblutung in der Mikrozirkulation der Haut und des Gewebes angesehen werden kann. Insgesamt erscheint im Zusammenhang mit den Ergebnissen von Validitätsstudien anderer Autoren [19] ein Einsatz der Methode in der klinischen Diagnostik und Therapieüberprüfung daher als zulässig.

In der vorliegenden Studie wurde des Weiteren eine Überprüfung geschlechtsspezifischer Einflüsse auf die Durchblutung im Mikrogefäßsystem vorgenommen. Mittels multivariater Varianzanalyse konnte kein signifikanter Einfluss des Faktors Geschlecht auf die Variable Durchblutung am Unterarm in Ruhe festgestellt werden. Die Untersuchungen von Bongard et al. [22] und De-Boer et al. [7], die auf niedrigere Blutflusswerte bei Frauen im Vergleich zu Männern hinweisen, konnten anhand der vorliegenden Ergebnisse sowie der Arbeit von Huether et al. [23] nicht bestätigt werden.

Die Besonderheit der Laser-Doppler-spektroskopischen Durchblutungsmessung liegt vor allem darin, dass der physiologisch bedingte Blutflussunterschied in der Mikrozirkulation der Haut und der tieferen Gewebeschichten (bis ca. 8 mm) gleichzeitig erfasst und einander gegenübergestellt werden kann [17]. Der signifikante Unterschied der mittleren Blutflusswerte in den unterschiedlichen Messtiefen (Tab. 1) kann anhand des verwendeten Post-hoc-Tests auf einen höheren Blutfluss in der tiefsten Messtiefe im Vergleich zu oberflächennahen Gewebeschichten zurückgeführt werden. Die in tieferen Gewebeschichten gemessene Blutflusszunahme kann im Vergleich zur Haut bzw. hautnahen Schichten u. a. aufgrund größerer Kapillardichte sowie höherer Stoffwechselrate erklärt werden [24].

Die in der vorliegenden Studie beobachteten interindividuellen Streuungen der mittleren Blutflusswerte (Tab. 3) liegen für alle Messtiefen zwischen 32–37%. Diese Unterschiedlichkeit des gemessenen Blutflusses zwischen Personen spiegelt sich ebenfalls in der Spannweite der errechneten Konfidenzintervalle wider (Tab. 1). Die Zwischen-Personen-Variabilität, die in den Untersuchungen von Agner et al. [25] mit der Laser-Doppler-Flowmetry bei 50% lag, weist ebenfalls auf Unterschiede der Durchblutung im Mikrogefäßsystem zwischen verschiedenen Personen hin. In weiteren Studien wurde gezeigt, dass die Mikrozirkulation der Haut an benachbarten Stellen einer Region (Unterarm, proximal vs. distal) unterschiedlich sein kann [7,12]. Möglicherweise erklären die unterschiedliche personenspezifische Vaskularisation des Messareals, Abweichungen in der Lokalisation der Messsonde sowie der individuelle psychische und körperliche Zustand [1,12,21] die anhand von Laser-Doppler-Messungen beobachteten interindividuellen Streuungen des Blutflusses.

Im Vergleich zu den beobachteten hohen Streuungen zwischen Personen wird in der Literatur auf niedrigere intraindividuelle Streuungen des Blutflusses in der Mikrozirkulation hingewiesen. Untersuchungen von Agner et al. [25] und Tenland et al. [12]

zeigten, dass die Ergebnisse herkömmlicher Laser-Doppler-Messungen (Laser-Doppler-Flowmetry) eine mittlere Blutflussvariabilität von 25% innerhalb ein und derselben Person aufweisen. Dieses Maß an Blutflussvariabilität wurde mit den in dieser Studie errechneten Ergebnissen (s. Tab. 3) unterschritten. Die mit der LDS ermittelte intraindividuelle Blutflussvariabilität liegt mit relativen Streuungsmassen von ca. 5% in allen Messtiefen unter den von Agner et al. [25] und Tenland et al. [12]. Ursachen der vergleichsweise reduzierten intraindividuellen Streuungsmasse können in der vorliegenden Studie u. a. in der selektiven Probandenauswahl vermutet werden.

Um Aussagen über relative Durchblutungsänderungen bei verschiedenen Therapiemaßnahmen, Medikamentenstudien etc. treffen zu können, kann die Berechnung von Schwellenwerten, die ein relatives Maß für die natürliche prozentuale Blutflussänderung über die Zeit darstellen, von Bedeutung sein. Hintergrund dieser Überlegungen ist die Definition bestimmter Wertebereiche, ab denen Messwertveränderungen als interventionsbedingt und nicht als natürliche Blutflussveränderung über die Zeit erachtet werden können. Orientiert man sich an dem Mittelwert der relativen Differenzberechnung der vorliegenden Studie, so lässt sich beispielsweise bei Wiederholungsmessungen an derselben Person sowohl innerhalb als auch mit erneuter Sondenapplikation am Unterarm eine Interventionschwelle von ca. 10% festlegen. Dementsprechend ist eine Interventions- bzw. provokationsbedingte Blutflussänderung, die unterhalb dieser Schwelle liegt, nicht uneingeschränkt auf die entsprechende Maßnahme, sondern möglicherweise ebenfalls auf die natürliche Durchblutungsvariabilität im Mikrogefäßsystem zurückzuführen. Die Durchblutungsmessungen von Müller et al. mit der Laser-Doppler-Flowmetry am Unterarm wiesen auf relative intraindividuelle Streuungswerte von ca. 10% in Ruhe hin. Diese Ergebnisse scheinen die hier skizzierten Überlegungen zur Bestimmung von „Schwellenwerten“ zu unterstreichen [10].

Schlussfolgerung

Aufgrund der ermittelten Ergebnisse kann das in der vorliegenden Studie untersuchte Laser-Doppler-Spektroskop als ein hinreichend reliables System zur Durchblutungsmessung innerhalb und bei erneuter Applikation der Messsonde gelten. Die Laser-Doppler-Spektroskopie ist bei ausreichender Standardisierung in der Lage, Veränderungen im Ausmaß der Durchblutung in unterschiedlichen Messtiefen zu erfassen. Das Verfahren scheint damit in der Lage, ein aus physiologischer Sicht plausibles Bild des mikrozirkulatorischen Blutflusses der Hautoberfläche und der darunter liegenden Gewebeschichten (bis zu 8 mm) zu liefern. Vorteile dieses Messverfahrens liegen darin, dass die Durchblutungsmessungen in einem kurzen Zeitraum, nicht belastend und mit wenig Personal durchführbar sind. Die Zuverlässigkeit und Einsetzbarkeit der Laser-Doppler-Spektroskopie lässt eine weitere Verbreitung zur nichtinvasiven Durchblutungsmessung in Prävention und Rehabilitation als wünschenswert erscheinen.

- ¹ Altmeyer P, Hoffmann K, Stücker M. Kutane Mikrozirkulation. Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 1997
- ² Belcaro G, Vasdekis S, Rulo A, Nicolades AN. Evaluation of skin blood flow and venoarteriolar response in patients with diabetes and peripheral vascular disease by laser Doppler flowmetry. *Angiology* 1989; 40: 953–957
- ³ Bongard O, Bounameaux H. Clinical investigation of skin microcirculation. *Dermatology* 1993; 186: 6–11
- ⁴ Creutzig A, Caspary L, Hertel RF, Alexander K. Temperature-dependent Laser Doppler fluxmetry in healthy and patients with peripheral arterial occlusive disease. *Int J Microcirc Clin Exp* 1987; 6: 381–390
- ⁵ Eun HC. Evaluation of skin blood flow by Laser Doppler flowmetry. *Clin Derm* 1995; 13: 337–347
- ⁶ Yoshimasa A, Toshihiko I, Yoshihiro T. Evaluation of skin vasomotor reflexes in response to deep inspiration in diabetic patients by Laser Doppler flowmetry. *Diabetes Care* 1997; 20 (9): 1324–1328
- ⁷ De-Boer EM, Bezemer PD, Bruynzeel DP. A standard method for repeated recording of skin blood flow using Laser Doppler flowmetry. *Derm Beruf Umwelt* 1989; 37: 58–62
- ⁸ Holloway GA, Watkins DW. Laser Doppler measurement of cutaneous blood flow. *J Invest Dermatol* 1977; 69: 306–309
- ⁹ Stern MD, Lappe DL, Bowen PD, Chimosky JE, Holloway GA, Keiser HR, Bowman RL. Continuous measurement of tissue blood flow by laser Doppler spectroscopy. *Am J Physiol* 1977; 232 (4): H441–448
- ¹⁰ Müller P, Keller R, Imhof P. Laser Doppler flowmetry, a reliable technique for measuring pharmacologically induced changes in cutaneous blood flow? *Meth and Find Exptl Clin Pharmacol* 1987; 9 (6): 409–420
- ¹¹ Salerud EG, Tenland T, Nilsson GE, Öberg PA. Rhythmical variations in human skin flow. *Int J Microcirc Clin Exp* 1983; 2: 91–102
- ¹² Tenland T, Salerud EG, Oeberg PA. Spatial and temporal variations in human skin blood flow. *Int J Microcirc Clin Exp* 1983; 2: 81–90
- ¹³ Tur E, Yosipovitch G, Oren VS. Chronic and acute effects of cigarette smoking on skin blood flow. *Angiology* 1992; 43: 328–335
- ¹⁴ Van Adrichem LN, Hovius SE, van Strik R, van der Meulen JC. Acute effects of cigarette smoking on microcirculation of the thumb. *Br J Plast Surg* 1992; 45: 9–11
- ¹⁵ Tur E, Tur M, Maibach HI, Guy RH. Basal perfusion of the cutaneous microcirculation: Measurements as a function of anatomic position. *J Invest Dermatol* 1983; 81: 442–446
- ¹⁶ Obeid AN, Barnett NJ, Dougherty G, Ward G. A critical review of laser Doppler flowmetry. *J Med Eng Technol* 1990; 14: 178–181
- ¹⁷ LEA-Medizintechnik. *Technisches Handbuch*. Gießen, Germany: 1999
- ¹⁸ Tooke JE, Oestergren J, Fagrell B. Synchronous assessment of human skin microcirculation by Laser Doppler flowmetry and dynamic capillaroscopy. *International Journal of Microcirculation Clin and Exp* 1983; 2: 277–284
- ¹⁹ Horstick G, Krug A, Ott L, Kempski O. Tiefenselektive Laser-Doppler-Messungen der lokalen Durchblutung und der Myokardkontraktion am offenliegenden Schweineherzen. *Universitätsklinik Mainz: Unveröffentlichter Forschungsbericht*. LEA Medizintechnik GmbH, 1998
- ²⁰ Bernhardt M, Banzer W. Beurteilung der klinischen Einsetzbarkeit der Ultraschalltopometrie. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 1998; (49) 1: 198–202
- ²¹ Wilkin JK, Trotter K. Cognitive activity and cutaneous blood flow. *Arch Dermatol* 1987; 123: 1503–1506
- ²² Bongard O, Fagrell B. Variations in laser Doppler flux and flow motion patterns in the dorsal skin of human foot. *Microvasc Res* 1990; 39: 212–222
- ²³ Huether SE, Jacobs MK. Determination of normal variation in skin blood flow velocity in healthy adults. *Nursing Res* 1986; 35: 162–165
- ²⁴ Schmidt RF. *Physiologie des Menschen*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 1987
- ²⁵ Agner T, Serup J. Individual and instrumental variations in irritant patch test reactions: Clinical evaluation and quantitation by bioengineering methods. *Clin Exp Dermatol* 1990; 15: 39–47