

Fotoakustisches Absorptionsspektrometer

Von Karsten KÖNIG, Eberhard WELSCH und Heinz-Günter WALTER

projektor LP 150 eine gesteigerte und gleichmäßigere Ausleuchtung des endoskopischen Bildes erreicht.

Der Lichtprojektor LP 150 ist als Standardlichtquelle für visuelles Arbeiten konzipiert.

Er ist erfolgreich klinisch getestet.

Резюме

Описывается новый прибор, разработанный народным предприятием ФЭБ Медицинише Герэте Берлин световой прожектор LP 250. Он предназначен в качестве стандартного источника света для эндоскопических работ. Световая мощность — 150 Вт.

Summary

The paper describes a novel light projector LP 150 devised by VEB MLW Medizinische Geräte Berlin. It has been designed to serve as a standard source of light for all kinds of endoscopic work. It has a luminosity of 150 watts.

Anschrift des Verfassers:

Dipl.-Phys. Dieter HEINZE (KDT)
VEB MLW Medizinische Geräte Berlin
Segelfliegerdamm 67
Berlin, 1197

Buchtip:

Handbuch der Mikroskopie

Mit dem Handbuch der Mikroskopie bekommt der Leser einen modernen und anspruchsvollen Helfer. Die ersten beiden Auflagen waren bald nach ihrem Erscheinen vergriffen. Daraus läßt sich erkennen, daß ein echter Bedarf besteht und sowohl Inhalt als auch Gestaltung des Buches den Erwartungen entsprechen. Die bewährte Grundkonzeption wurde deshalb auch in der 3. Auflage beibehalten.

Das Buch vermittelt in erster Linie Grundkenntnisse über die vielfältigen Möglichkeiten und die Leistungsgrenzen der modernen Mikroskopie. Das Hauptgewicht liegt auf den verschiedenen Mikroskopierverfahren und ihren Anwendungen. Es ist als Nachschlagewerk verwendbar und versetzt den Leser in die Lage, die günstigste Ausrüstung auszuwählen und ihr Leistungsvermögen voll auszuschöpfen.

Handbuch der Mikroskopie von Dr.-Ing. Hermann Beyer und Dr. rer. nat. Horst Riesenberg, 3., stark bearbeitete Auflage, 488 Seiten, 410 Bilder, 30 Tafeln, 48,50 Mark, VEB Verlag Technik.

Aus der Sektion Physik der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Um Aussagen zu Ortsabhängigkeit, Konzentration und Diffusionsverhalten von Farbstoffen in Gewebe zu erhalten, bieten sich mit Vorteil fotoakustische Meßmethoden an. Bei diesen Methoden führt die Absorption von intensitätsmodulierter elektromagnetischer Strahlung zu lokalen, zeitabhängigen Temperaturschwankungen, die die Entstehung von Temperatur- und Schallwellen induzieren. Diese sind an der Probenoberfläche der Messung zugänglich /1/.

Steht das absorbierende Präparat mit einem Gasvolumen in thermischem Kontakt, so bewirken die induzierten Temperatur- und Schallwellen die Erzeugung von korrelierten Schwankungen des Gasdruckes, die mit empfindlichen Schallwellenempfängern nachgewiesen werden können. Dieses sogenannte Gaszelle-Mikrophon-Verfahren ermöglicht neben dem Nachweis geringer Mengen des Farbstoffes auch Aussagen zur lateralen und Tiefenverteilung innerhalb der thermischen Diffusionslänge μ_{th} des Stoffes im Gewebe. Dabei gilt

$$\mu_{th} = (2\beta/\omega)^{0,5},$$

wobei β die thermische Diffusionskonstante und α die Chopperkreisfrequenz sind.

Bevorzugt lassen sich Farbstofffilme (lokale Applikation) untersuchen. Dazu gehört das Eindringverhalten von Sonnenschutzcreme /2/ oder des Fotosensibili-

sators 8-MOP (PUVA-Therapie der Psoriasis).

In neuerer Zeit gewinnt auch die Untersuchung der tumorselektiven Anlagerung verschiedener fotodynamisch wirksamer Farbstoffe an Bedeutung /3/. Neben der Fluoreszenzspektroskopie bietet die Fotoakustik günstige Möglichkeiten der Messung des Konzentrationsgradienten des Farbstoffes im Tumorgewebe zu umgebenden Normalgewebe.

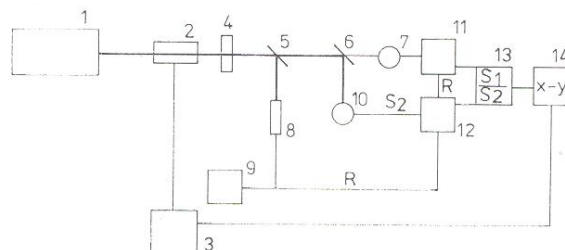
Darüber hinaus kann bei Variation der Anregungswellenlänge ein annähernd streufreies Extinktionsspektrum erhalten werden, das eine einfache Differenzierung von FS- und Gewebeabsorption und oftmals eine Konzentrationsbestimmung erlaubt. Zudem können Aussagen zur Bindungsfähigkeit des Farbstoffes mit Blutproteinen und die Gewebeanlagerung von Aggregaten im Vergleich zu Monomeren des Stoffes anhand der Spektrenverschiebung untersucht werden.

Im folgenden wird ein Gaszelle-Mikrophon-Meßplatz der Sektion Physik der Friedrich-Schiller-Universität Jena vorgestellt, und dessen Funktionsweise an Untersuchungen mit dem Fotosensibilisator Methylblau /4/ demonstriert.

Experimenteller Aufbau des Meßplatzes

Bild 1 zeigt den schematischen Aufbau des verwendeten fotoakustischen Absorptions(PAA)-meßplatzes. Als Laserlichtquelle dient ein Argonionenlaser (1) — gepumpter Farbstofflaser (2).

Bild 1: Prinzipskizze des fotoakustischen Absorptionsspektrometers



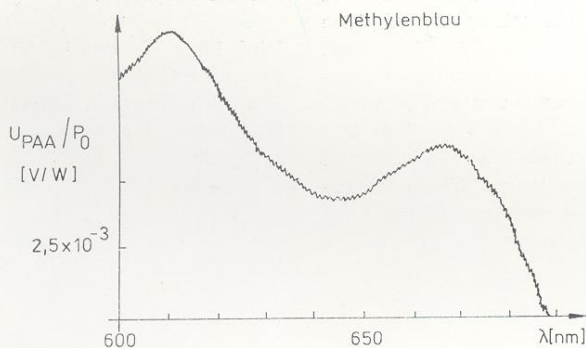


Bild 2: PAA-Spektrum des Fotosensibilisators Methylenblau (LM: NaCl, $c = 3 \times 10^{-4}$ M, $f = 31$ Hz)

Das aktive Medium DCM (LM: Ethylenglykol) gestattet die Durchstimmbarkeit im Wellenlängenbereich von 600 bis 700 nm. Als Durchstimmelement dient ein Lyotfilter, das von einem Schrittmotor angetrieben wird.

Die maximale Laserleistung beträgt 300 mW bei einer Wellenlänge von 630 nm und einem Wirkungsgrad von 15 bis 20 Prozent. Die Intensitätsmodulation der Strahlung erfolgt über einen spannungsregulierbaren Chopper (10 bis 1 000 Hz) (4).

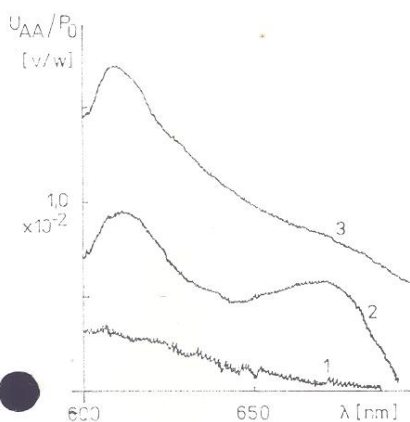


Bild 3: PAA-Spektren von Tumorgewebe (solides Ehrlichcarcinom) mit Methylenblauakkumulation ($f = 31$ Hz)
 1. Gewebe ohne Methylenblau
 2. Gewebe mit Methylenblaufilm
 3. Methylenblauanreicherung in Gewebe

Die schwingungsfrei aufgestellten PAA-Zellen (7) und (10) bestehen aus einem Aluminiumblock, der auch das Kondensatormikrophon MK 201/MV 201 (VEB Mikrophontechnik Gefell) aufnimmt.

Der Gasraum (Länge 2 oder 4 mm, Durchmesser 32 mm) wird durch das Eintrittsfenster und Probenhalterung fest verschlossen. Durch eine dünne

Bohrung von 1,5 mm Durchmesser und 8 mm Länge ist das Gasvolumen mit dem Mikrophon verbunden. Als Gas wird einfacherweise Luft verwendet.

Das fotoakustische Signal hängt von den thermischen und optischen Parametern der untersuchten Probe sowie von der Chopperfrequenz und der Phasenverschiebung zur modulierten eingestrahlten Lichtwelle ab $1/\lambda$, wobei der zu messende Absorptionskoeffizient linear eingeht.

Die Zelle (10) dient als Referenzzelle. Sie enthält ein Präparat hoher Absorption (optische Wellenlänge $\mu a = 1/a < \mu_{th}$, α -Absorptionskoeffizient), arbeitet somit im Sättigungsbereich und weist damit eine der Eingangsleistung proportionale Signalamplitude S_z auf. S_z dient der Leistungsmessung und erlaubt durch Quotientenbildung (13) der mit den Lock-in-Nanovoltmetern (UNIPAN, VRP) (10) und (12) aufbereiteten Mikrophonausgangssignale die Bereitstellung von korrigierten PAA-Spektren, die mit dem xy-Schreiber (14) registriert werden. Die Probendicke d kann größer als die optische Weglänge μa sein.

Die Fotodiode SP 103 (8) dient der Bereitstellung der lock-in-Referenzspan-

nung und der Messung der Arbeitsfrequenz (9).

Ergebnisse

Die Anlage wird zur Lokalisation und zur Konzentrationsbestimmung von Fotosensibilisatoren in Tumorgewebe genutzt. Bild 2 zeigt ein PAA-Spektrum des Fotosensibilisators Methylenblau, der in wässriger Lösung als konzentrationsabhängiges Monomer-Dimer-Gemisch vorliegt. Sowohl aus der Intensität als auch aus dem Spektrenverlauf (Bandenmaximum der Monomere: 667 nm, Maximum der Dimere: 612 nm) kann auf die Sensibilisatorkonzentration geschlossen werden.

Die Nachweisgrenze liegt bei $c = 5 \times 10^{-6}$ M bei einer thermischen Diffusionslänge von 30 μ m. Das entspricht einer nachgewiesenen Absorption von etwa 9×10^{-4} .

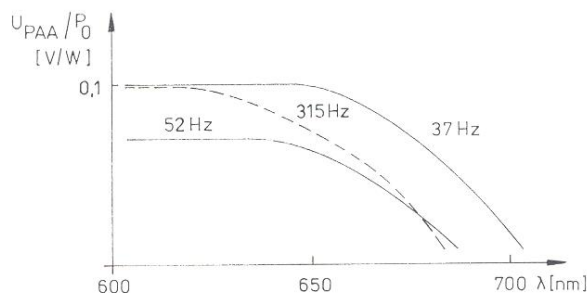
Bild 3 zeigt PAA-Spektren von Tumorgewebe des soliden Ehrlichcarcinoms der Maus. Für den Fall des unmarkierten Präparates (Kurve 1) kann die erwartete Verringerung der Gewebeextinktion in Richtung zunehmender Wellenlänge gezeigt werden.

Liegt Methylenblau als Flüssigkeitsfilm mit einer Dicke größer der thermischen Diffusionslänge (Kurve 2) auf dem Gewebe, werden dem Bild 1 ähnliche Spektren erhalten. Die Gewebeabsorption trägt dann nicht zum Signal bei, jedoch führt die Rückstreuung des Gewebes (etwa 30 Prozent im roten Spektralbereich bei den verwendeten Präparaten) zu einer Signalerhöhung.

Kurve 3 zeigt methylenblauhaltiges Gewebe (Konzentration der Injektionslösung: $1,7 \times 10^{-4}$ M. Die Spektren- und Intensitätsänderung deutet auf eine Konzentrationszunahme innerhalb der obersten Gewebeschicht hin.

Ein weiteres Untersuchungsobjekt ist die Anlagerung des Fotosensibilisators an Tumore der humanen Harnblase nach dreißigminütiger Instillation einer

Bild 4: PAA-Spektrum eines methylenblaugefärbten Harnblasentumors. Für den kurzwelligen roten Spektralbereich tritt infolge einer hohen Farbstoffkonzentration Sättigung ein. (— — — normiert auf Maximum der 37-Hz-Kurve)



hochprozentigen Methylenblaulösung und anschließender aqua-dest-Spülung. Eine japanische Arbeitsgruppe [5] fand nach einer derartigen Methylenblau-Applikation bei Patienten eine Korrelation der Färbung der Tumore und dem Grading, so daß auf eine konzentrationsabhängige Anlagerung geschlußfolgert werden kann.

Bild 4 zeigt das PAA-Spektrum eines Methylenblau gefärbten Harnblasentumors eines sechzigjährigen Patienten. Die Farbstoffkonzentration ist so hoch ($c > 10^{-3} \text{ M}$), daß für den kurzwelligen Teil des roten Spektralbereiches Sättigung eintritt. Der Sättigungsbereich ($\mu_a < \mu_{th}$) kann durch die Wahl geringer thermischer Diffusionslängen (höhere Chopperfrequenz) eingeengt werden.

Literatur

- /1/ Rosencwaig, A., und Gersho, A.: Theory of the photoacoustic effect with solids. *Journal of Applied Physics* 1 (1976), S. 64–69
- /2/ Giese, K.; Nicolaus, A.; Sennheim, B., und Kölmel, K.: Photoacoustic in vivo study of the penetration of sunsreen into human skin. *Can. J. Phys.* 6 (1986), S. 1139
- /3/ Doiron, D. R., und Gomer, C. J.: Porphyrin Localization and treatment of tumors. *Liss. N. Y.*, 1983
- /4/ König, K.; Bockhorn, V.; Dietel, W., und Schubert, H.: Photochemotherapy of animal tumors with the photosensitizer Methylene Blue using a krypton laser. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 113 (1987), S. 301–303
- /5/ Fukui, I.; Yokokawa, M.; Mitani, G.; Ohwada, F.; Wakui, M.; Washizuka, M.; Tohma, T.; Igarashi, K., und Yamada, T.: In vivo staining test with Methylene Blue for Bladder Cancer. *J. Urol.* 130 (1983), S. 252–255

Резюме

Описано измерительное устройство, которое позволяет регистрацию спектров поглощения с применением фотоакустической техники «газовая ячейка» — «микрофон». Использовано устройство продемонстрировано на примере присоединения фотосенсибилизатора «метиленовый синий» к опухолевой ткани. Показана возможность определения местоположения и концентрации лекарств на оптически толстой ткани (пленка красителя) и внутри нее в пределах длины тепловой диффузии. В настоящее время ведутся исследования по опухоли-селективному присоединению дальнейших фотосенсибилизаторов.

Summary

A measuring arrangement is described which allows to record absorption spectra, using the photoacoustic gas cell — microphone technique. Its applica-

tion is demonstrated on the example of adding the photosensitizer "methylene blue" to tumour tissues. It is shown that it is possible to determine the position and the concentration of phar-maca on (film of methylene blue) and inside optically thick tissues within the thermal diffusion length. The possibility of a tumour-selective addition of further photosensitizers is at present examined.

Für die Verfasser:

Dipl.-Phys. Karsten KÖNIG
Sektion Physik
Friedrich-Schiller-Universität
Max-Wien-Platz
Jena, 6900

Aus der Praxis · Für die Praxis

DUOTESTER — ein Gerät zur Plazierung von Dünndarmsonden

Von Arthur KÖNIG, Hermann LUBENOW, Barbara GRIEFAHN, Wolfgang KLINGNER, und Klaus JÄHRIG

Dünndarmfunktionsstörungen sind oft der Grund für das Einbringen einer Biopsiesonde über den Magen in den Dünndarm. Die momentane Sondenposition ist dabei oft nur schwer feststellbar. Für die bei funktionsdiagnostischen Untersuchungen unerläßliche genaue Lokalisation der Sondenspitze (-öffnung) ist daher gewöhnlich eine Röntgenkontrolle erforderlich. Das gilt vor allem im Kindesalter. Die röntgenologische Positionskontrolle ist aber mit

einer einmaligen oder bei mehrmaligen Untersuchungen mit einer wiederholten Röntgenbelastung verbunden. Die Röntgenbelastung der Patienten ist vermeidbar, wenn die Sondenpositionierung durch gleichzeitige Messung der transmuralen elektrischen Potentialdifferenz (tPD) vorgenommen wird [1–4]. Dabei wird die unterschiedliche Höhe der tPD zwischen den einzelnen Abschnitten des Magen-Darm-Traktes ausgenutzt. Ein für diesen Zweck entwick-

Bild 1: Die transmurale Potentialdifferenz in Abhängigkeit von der Sondenposition im Magen und Dünndarm (männl. Proband, Alter 1½, Malabsorptionssyndrom). Die Entfernung zwischen zwei Meßpunkten beträgt etwa 1,5–2 cm. Die Meßzeit während einer Sondenplazierung beträgt 3 min. Es wurde alle 15 s ein Meßwert registriert.

