2 Wechselwirkung von Ultraschall und biologischem Gewebe

Ultraschallwellen unterliegen während ihrer Ausbreitung in biologischem Gewebe unterschiedlichen Wechselwirkungen mit dem Medium. Im Allgemeinen werden sie absorbiert, gestreut, gebrochen und reflektiert. Für eine Parameterbestimmung in Weichgewebe geht man von der Annahme aus, dass die Betrachtung Volumenbereiche betrifft, in denen die Schallgeschwindigkeit, die Absorption sowie die Art der Streuer und ihre Verteilung für das Medium charakteristisch und für makroskopische Volumenbereiche konstant sind. Die Analyse beschränkt sich demzufolge auf Organe oder Organbereiche, die diese Voraussetzung erfüllen und die über einen Volumenmittelwert der berechneten Parameter charakterisiert werden können. Diese Gewebe bezeichnet man häufig als homogen, wobei sich dieser Begriff auf das Erscheinungsbild im Ultraschallbild auf makroskopischer Ebene bezieht.

Mikroskopisch stellt biologisches Weichgewebe eine sehr komplexe Struktur aus Zellen verschiedener Größe und Zusammensetzung dar, die von Gefäßen der Blutversorgung durchsetzt ist. Der exakte Aufbau differiert für unterschiedliche Organe und Gewebezustände. Dominierend ist in der Mehrzahl eine räumlich zufällige Anordnung von Inhomogenitäten der Kompressibilität oder Dichte bezüglich der entsprechenden Parameter des Basismaterials. Daneben gibt es jedoch auch geordnete Strukturen von Streuern (Leber) und zum Teil ausgeprägte Anisotropie (Niere, Muskel). Entsprechend umfangreich ist die Gruppe der theoretischen Modelle zur Beschreibung der Wechselwirkung von Ultraschall mit diesen Medien. Die Weiterentwicklung dieser Modelle ist aktuelles Forschungsthema. Derzeit ist keine exakte Bestimmung der Gewebehistologie mit Ultraschallverfahren in vivo möglich. Trotzdem ermöglichen quantitativ bestimmte Volumenparameter eine Differenzierung von Gewebeveränderungen. Die zur Berechnung und Bewertung dieser Parameter notwendigen, grundlegenden Modellvorstellungen sollen im Folgenden erläutert werden.

Die Betrachtung makroskopisch homogener Organe beschränkt sich weitgehend auf die Streuung und die Absorption von Ultraschall im Gewebe. Es wird vorausgesetzt, dass in diesen Fällen die Echos vorwiegend durch Rückstreuung an kleinen Partikeln entstehen, nicht aber durch Reflexion. Nach Morse und Ingard [65] ist bekannt, dass die Frequenzabhängigkeit des Echospektrums prinzipiell durch die Größe, die Form und die elastischen Eigenschaften des streuenden Materials bestimmt wird. Die Amplitude hängt von der Größe und der Streustärke der Streuer (relativer Unterschied der akustischen Impedanz zwischen Streuer und Umgebungsmedium) sowie der Streueranzahl pro Volumen ab. Die Streuung kann sowohl als Rayleigh-Streuung für Partikel mit Abmessungen kleiner als die Wellenlänge, als auch bei Streuern in der Größenordnung der Wellenlänge als Mie-Streuung auftreten. Beide unterscheiden sich unter anderem wesentlich in der Frequenzabhängigkeit der Rückstreuung. Rayleigh-Streuung an punktförmigen Streuern ist gekennzeichnet durch eine Proportionalität der rückgestreuten Intensität zur vierten Potenz der Frequenz. Im Bereich der Mie-Streuung steigt der Anteil der in Richtung der einfallenden Welle gestreuten Energie mit wachsendem Streuerradius. Die Frequenzabhängigkeit entspricht einer komplizierten Abhängigkeit von Größe und Form der Streuer. Sie ist kleiner als die vierte Potenz und geht für Wellenlängen, die klein gegenüber den Streuobjekten sind, in die frequenzunabhängige Reflexion über. Bei zylindrischen Körpern mit einem Radius kleiner als die Wellenlänge kommt es zu einer Rückstreuung proportional zur dritten Potenz der Frequenz [62]. Die Frequenzabhängigkeit der Rückstreuung bei Frequenzen bis 10 MHz ist in biologischen Geweben mit Ausnahme von Messungen an Blut geringer als die vierte Potenz [12]. Trotzdem wird die Rayleigh-Streuung oft zum Ausgangspunkt der Modellierung genommen.

Aus der Literatur bekannte Modelle der räumlichen Anordnungen der Streuer entsprechen entweder einer kontinuierlichen oder einer diskreten Verteilung von Inhomogenitäten der Dichte oder Kompressibilität. Diese Verteilung ist im Wesentlichen räumlich zufällig, das heißt der Anteil von geordneten Strukturen an der Streuung ist gering. Weiterhin beziehen sich theoretische Herleitungen auf den Fall der Einfachstreuung und die Gültigkeit der Born-Näherung. Dabei kann in der theoretischen Betrachtung der Streuung das einfallende Feld als vom Streufeld ungestört betrachtet werden. Beide Annahmen widersprechen nicht den derzeit verfügbaren experimentellen Ergebnissen.
Neben der Streuung charakterisiert die Absorption des Ultraschalls das Gewebe. Die Absorption in biologischem Gewebe entsteht einerseits als klassische Absorption durch Viskosität und andererseits durch Relaxationsprozesse verschiedener Moleküle [85]. Da dieser Parameter in vivo experimentell nicht direkt zugänglich ist, beschränkt man sich auf die Messung der Dämpfung. Diese setzt sich aus der Absorption und einem durch die Streuung entstehenden Anteil zusammen. Aufgrund der geringen Streuung in biologischem Weichgewebe geht man davon aus, dass im Wesentlichen die Absorption für die Dämpfung verantwortlich ist. Der Anteil der Streuung an der Dämpfung ist frequenzabhängig, wird aber unterhalb von 10 MHz auf wenige Prozent geschätzt. Die Frequenzabhängigkeit des Dämpfungskoeffizienten in biologischem Weichgewebe beruht daher weitgehend auf Absorption und ist innerhalb der Bandbreite diagnostisch genutzter Ultraschallwandler annähernd linear [12, 85].

2.1 Streuung von ebenen Wellen in biologischem Weichgewebe

Aus diesem Modell leiten sich grundlegende Aussagen über die in Rückstreuspektren enthaltene, das streuende Medium betreffende Information ab. Insana hat aufbauend auf den grundlegenden theoretischen Betrachtungen in [65] analytische Lösungen für den Rückstreukoeffizienten σ_{bsc} verschiedener Gewebemodelle angegeben [36, 38]. Bei der Betrachtung eines kleinen streuenden Volumens sei die Signaländerung durch Dämpfung innerhalb dieses Volumens vernachlässigbar. Zudem beschränkt sich durch die Forderung ebener Wellen die Betrachtung zunächst auf die Fokuszone schwach fokussierender Wandler. Es wird eine ebene Welle betrachtet, die auf ein Streuvolumen V mit der Kompressibilität κ_0 und Dichte ϱ_0 trifft. Die Streuung erfolgt an Partikeln mit abweichender Kompressibilität oder Dichte, wobei der Begriff Partikel auch eine möglicherweise kontinuierliche Inhomogenitätsverteilung beschreibt. Ausgangspunkt ist die durch Streuterme ergänzte homogene Wellengleichung für den Druck p

$$\nabla^2 p - \frac{1}{c^2}\frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = \gamma_\kappa(\mathbf{r})\frac{1}{c^2}\frac{\partial^2 p}{\partial t^2} + \nabla\cdot[\gamma_\varrho(\mathbf{r})\nabla(p)] \ . \tag{2-1}$$

r bezeichnet die Ortskoordinaten. Die Funktionen

$$\gamma_\kappa(\mathbf{r}) = \frac{\kappa(\mathbf{r}) - \kappa_0}{\kappa_0} \quad \text{und} \quad \gamma_\varrho(\mathbf{r}) = \frac{\varrho(\mathbf{r}) - \varrho_0}{\varrho_0} \tag{2-2}$$

stehen für die Variationen der Kompressibilität und Dichte des Streuer bezogen auf die Mittelwerte des Mediums und c ist die Schallgeschwindigkeit

$$c^2 = \frac{1}{\varrho_0 \kappa_0} \ . \tag{2-3}$$

Da im Fall von biologischem Gewebe die Inhomogenitäten zeitlich stationär sind, kann eine zeitunabhängige Form der Wellengleichung für einzelne Frequenzen

$$\nabla^2 p + k^2 p = k^2 \gamma_\kappa(\mathbf{r}) p + \nabla \cdot [\gamma_\varrho(\mathbf{r}) \nabla(p)] \ , \tag{2-4}$$

$$k = 2\pi / \lambda \tag{2-5}$$

mit k als Wellenzahl und λ als Wellenlänge verwendet werden. Gleichung (2-4) ist als Integralgleichung mit dem Ansatz einer Greenschen Funktion gelöst worden [65]. Für einen weit von V entfernten Punkt **r** ergibt sich das Streufeld eines einzelnen Partikels in der Form

$$p_s(\mathbf{r}) = \frac{e^{ikR}}{R} \Phi(\mathbf{K}), \qquad R = |\mathbf{r}| > 4a^2/\lambda \tag{2-6}$$

mit a als Dimension (Radius) des Partikels. Die komplexe Streuamplitude $\Phi(\mathbf{K})$ ist eine Funktion des Streuvektors **K**

$$\mathbf{K} = k(\hat{\imath} - \hat{o}) \ , \qquad |\mathbf{K}| = 2k \sin\theta/2 \ . \tag{2-7}$$

Dabei bezeichnet θ den Streuwinkel zwischen den Einheitsvektoren in Richtung der einfallenden Welle î und des Beobachters ô. Für den speziellen Fall der Rückstreuung folgt

$$\mathbf{K} = 2k\hat{\imath} \ . \tag{2-8}$$

Nach [65] gilt:

$$\Phi(\mathbf{K}) = \frac{k^2}{4\pi} \int_V \left(\gamma_\kappa(\mathbf{r}')p(\mathbf{r}') - i\gamma_\varrho(\mathbf{r}') \frac{\hat{o}}{k} \cdot \nabla' p(\mathbf{r}') \right) \times e^{-ik\cdot\mathbf{r}'} \, d^3r' \; . \tag{2-9}$$

p(**r**´) ist der Gesamtdruck als die Summe aus einfallendem und gestreutem Druck am Ort **r.** V ist das Volumen, in dem sich die Streuer befinden. Die Streuung wird demzufolge über eine Wechselwirkung zwischen Druck und Änderung der Kompressibilität sowie zwischen Druck und Änderung der Dichte beschrieben. Für biologisches Weichgewebe nimmt man die Gültigkeit der Born-Näherung an (der gestreute Druck ist deutlich kleiner als der Druck der einfallenden Welle) [36]. Daher lässt sich der Gesamtdruck durch den Druck der einfallenden ebenen Welle ersetzen [38]

$$\Phi(\mathbf{K}) = \frac{k^2}{4\pi} \int_V \gamma(\mathbf{r}') \, e^{i\mathbf{K}\cdot\mathbf{r}'} \, d^3r' \tag{2-10}$$

mit

$$\gamma(\mathbf{r}') = \gamma_\kappa(\mathbf{r}') + \gamma_\varrho(\mathbf{r}') \cos\theta \; . \tag{2-11}$$

Demzufolge können bei Messung der Rückstreuung, das heißt bei festem θ=180°, die einzelnen Beiträge der Inhomogenitäten nicht voneinander getrennt werden. Das Streufeld einer Ansammlung von Streuern mit zufälliger räumlicher Position besteht aus der Summe der Streufelder der Einzelstreuer

$$p_s(\mathbf{r}) = \frac{e^{ikR}}{R} \sum_{j=1}^{N} \Phi_j(\mathbf{K}) \, e^{i\mathbf{K}\cdot\mathbf{r}_j} \; . \tag{2-12}$$

$\mathbf{r}_j$ kennzeichnet die Position der einzelnen Partikel und N die Anzahl der Partikel im Volumen V. $p_s(\mathbf{r})$ lässt sich als Summe aus dem mittleren Streufeld $\langle p_s \rangle$ und seiner Fluktuation $p_s{}'(\mathbf{r})$ darstellen

$$p_s(\mathbf{r}) = \langle p_s(\mathbf{r}) \rangle + p_s{}'(\mathbf{r}) \; , \qquad \langle p_s{}'(\mathbf{r}) \rangle = 0 \; . \tag{2-13}$$

Der Zusammenhang zur mittleren Streuintensität $\langle I \rangle$ ist gegeben durch

$$\varrho_0 c_0 \langle I \rangle = \langle |p_s|^2 \rangle = |\langle p_s \rangle|^2 + \langle |p_s{}'|^2 \rangle \; . \tag{2-14}$$

Aus der Intensität wird der mittlere differentielle Streuquerschnitt σ_d berechnet. Darunter versteht man das Verhältnis von mittlerer gestreuter Leistung und dem Produkt aus eingestrahlter Intensität und Streuvolumen. Aus der mittleren Streuintensität

$$\langle I \rangle = \frac{\langle |\Phi|^2 \rangle}{\varrho_0 c_0 R^2} \tag{2-15}$$

und der eingestrahlten Intensität einer ebenen Welle mit normierter Amplitude

$$I_0 = \frac{1}{\varrho_0 c_0} \tag{2-16}$$

folgt als Ausdruck für σ_d

$$\sigma_d = \frac{R^2}{V} \frac{\langle I \rangle}{I_0} = \frac{\langle |\,\Phi(\mathbf{K})|^2 \rangle}{V} \ . \tag{2-17}$$

Die Kombination von (2-10) mit (2-17) führt auf

$$\sigma_d = \frac{k^4}{16\pi^2 V} \left\langle \int_V \gamma(\mathbf{r_1})\, e^{-i\mathbf{K}\cdot\mathbf{r_1}} d^3\mathbf{r_1} \int_V \gamma(\mathbf{r_2})\, e^{-i\mathbf{K}\cdot\mathbf{r_2}} d^3\mathbf{r_2} \right\rangle . \tag{2-18}$$

Nach Einführung einer räumlichen Autokorrelationsfunktion $B_\gamma(\mathbf{\Delta r})$ für das Streumedium und von kombinierten Ortsvektoren

$$\mathbf{u} = (\mathbf{r_1}+\mathbf{r_2})/2 \ , \quad \mathbf{\Delta r} = \mathbf{r_1}-\mathbf{r_2} \tag{2-19}$$

geht (2-18) über in

$$\sigma_d = \frac{k^4}{16\pi^2} \int_V B_\gamma(\mathbf{\Delta r})\ e^{-i\mathbf{K}\cdot\mathbf{\Delta r}}\ d^3\Delta r \ . \tag{2-20}$$

$B_\gamma(\mathbf{\Delta r})$ kann formuliert werden als Summe aus dem Mittelwert und dem Produkt aus der Varianz und einem Autokorrelationskoeffizienten $b_\gamma(\mathbf{\Delta r})$ [38]

$$B_\gamma(\mathbf{\Delta r}) = |\langle \gamma \rangle|^2 + \langle |\,\gamma - \langle\gamma\rangle|^2 \rangle\ b_\gamma(\mathbf{\Delta r}) \quad , \quad \text{mit } b_\gamma(0) = 1 \text{ und } b_\gamma(\infty) = 0 \ . \tag{2-21}$$

Das führt zu dem folgenden Ausdruck für σ_d

$$\sigma_d = \frac{k^4}{16\pi^2} \left(\left| \langle\gamma\rangle \int_V e^{-i\mathbf{K}\cdot\mathbf{r}}\ d^3 r \right|^2 + \langle |\,\gamma - \langle\gamma\rangle|^2 \rangle \int_{-\infty}^{+\infty} b_\gamma(\mathbf{\Delta r})\, e^{-i\mathbf{K}\cdot\mathbf{\Delta r}}\ d^3\Delta r \right) . \tag{2-22}$$

Der erste Term beschreibt die kohärente Komponente des Streuquerschnitts und ist unter den Voraussetzungen eines isotropen Mediums mit zufälliger Anordnung der Streuer gegenüber dem zweiten Term, der dem inkohärenten Anteil der Streuung entspricht, zu vernachlässigen. Entsprechend bezieht sich die weitere Betrachtung nur auf den zweiten Ausdruck. Bei inkohärenter, das heißt unabhängiger Streuung der einzelnen Streuer im betrachteten Volumen, entspricht die Varianz in γ dem Produkt aus der mittleren quadratischen Abweichung γ_0^2 der akustischen Impedanz pro Partikel und dem Anteil der Streuer am Gesamtvolumen V. Mit der mittleren Anzahl $\bar{n}$ von Streuern pro Einheitsvolumen und einem mittleren Volumen V_s pro Streuer folgt schließlich

$$\sigma_d = 4\pi^4 k^4 \bar{n}\, \Gamma^2(\mathbf{K}) \ . \tag{2-23}$$

$\Gamma^2(\mathbf{K})$ ist die spektrale Leistungsdichtefunktion der Fluktuation γ des Mediums [65], welche die strukturellen Eigenschaften des Streumediums (Partikelgröße, -form, -anzahl und Streustärke pro Partikel) beschreibt

$$\Gamma^2(\mathbf{K}) = \frac{\gamma_0^2 V_s}{(2\pi)^6} \int_{-\infty}^{+\infty} b_\gamma(\Delta\mathbf{r})\ e^{-i\mathbf{K}\cdot\Delta\mathbf{r}}\ d^3\Delta r \ . \tag{2-24}$$

Aus (2-23) und (2-24) kann der experimentell zugängliche differentielle Streuquerschnitt der Rückstreuung σ_{bsc}, auch Rückstreukoeffizient genannt, für einfache Korrelationskoeffizienten $b_\gamma(\Delta r)$ berechnet werden [36]. Das Modell diskreter, kugelförmiger, flüssiger Streuer

$$b_\gamma(\Delta r) = 1 - \frac{3\Delta r}{4a} + \frac{(\Delta r)^3}{16a^3} \ , \qquad 0 \le \Delta r \le 2a \tag{2-25}$$

führt zu

$$\sigma_{bsc,K} = \frac{\bar{n} V_s^2 \gamma_0^2 k^4}{16\pi^2} \left(\frac{3}{2ka} J_1(2ka) \right)^2 \ . \tag{2-26}$$

J_1 ist die Besselfunktion erster Ordnung, erster Art. Beispiele für kontinuierliche Inhomogenitätsverteilungen sind ein gaußförmiger Korrelationskoeffizient mit der charakteristischen Dimension d:

$$b_\gamma(\Delta r) = e^{-\Delta r^2/2d^2} \tag{2-27}$$

$$\sigma_{bsc,G} = \frac{\bar{n} V_s^2 \gamma_0^2 k^4}{16\pi^2}\ e^{-2k^2 d^2} \tag{2-28}$$

und ein exponentieller Korrelationskoeffizient:

$$b_\gamma(\Delta r) = e^{-\Delta r/d} \tag{2-29}$$

$$\sigma_{bsc,E} = \frac{\bar{n} V_s^2 \gamma_0^2 k^4}{16\pi^2} \frac{1}{(1 + 4k^2 d^2)^2} . \tag{2-30}$$

Im Grenzübergang kleiner Streuerabmessung ($ka \to 0$) gehen diese drei Modelle, bis auf unterschiedliche Vorfaktoren bei der Berechnung von V_s^2 aus der sechsten Potenz der charakteristischen Dimension, in die Rayleigh-Streuung über:

$$\sigma_{bsc,0} \approx \frac{\bar{n} V_s^2 \gamma_0^2 k^4}{16\pi^2} = \frac{1}{9} \bar{n} k^4 a^6 \gamma_0^2 . \tag{2-31}$$

Der Rückstreukoeffizient ist demzufolge für diese Modelle proportional zur vierten Potenz der Frequenz und zur sechsten Potenz des Streuerradius. Eine direkte Proportionalität besteht weiterhin zur Zahl der Streuer pro Einheitsvolumen und zum Quadrat der Streustärke.

Obwohl durch diese Modelle die konkreten Beziehungen zwischen dem Rückstreukoeffizienten und den einzelnen Materialeigenschaften theoretisch beschrieben werden, genügt diese Darstellung nicht für die praktische Arbeit mit einem Puls-Echo-System.
Einerseits kann das akustische Verhalten von biologischem Weichgewebe in der Regel nicht vollständig über eine einzelne charakteristische geometrische Dimension der Inhomogenitäten charakterisiert werden, und es sind stets auch Streuung sowie diffuse Reflexion an Partikeln größer oder gleich der Wellenlänge zu erwarten. In speziellen Anwendungsgebieten kann man verschiedene Korrelationsfunktionen kombinieren. Nicholas gibt eine Anpassung für Messungen an der Leber mit einer Kombination zweier kugelförmiger Inhomogenitätsverteilungen, deren Radien geordneten histologischen Strukturen in diesem Organ entsprechen, an. Obwohl damit die Frequenzabhängigkeit des in vitro gemessenen Rückstreukoeffizienten gut angenähert werden kann, ist die Anpassung nicht eindeutig, da auch eine Anpassung mit drei Verteilungen diese Forderung erfüllt [66]. Insana kombiniert drei Modelle für zylindrische, kugelförmige und dicht gepackte, kugelförmige Verteilungen zur Beschreibung der anisotropen Verhältnisse in der Nierenrinde [35] und kann damit die Winkelabhängigkeit der Rückstreuung an diesem Organ nachweisen. Diese beiden Beispiele sind als Modell für Organe zu verstehen, bei denen Zellgruppen geordnete Überstrukturen aufweisen. Ein vollständige Beschreibung im Sinne einer Histologie ist auch damit in vivo nicht möglich.
Andererseits stellt die Charakterisierung des realen Abbildungssystems ein Problem dar. Die Idealbedingungen einer monochromatischen ebenen Welle, die auf ein isoliertes Streuvolumen trifft, sind in der Praxis nicht erfüllt.

2.2 Streuung in einem realen Puls-Echo-System

Real durchdringt der Breitbandpuls einer fokussierenden Schallquelle einen ausgedehnten, streuenden Körper. Die entstehenden Echos registriert ein Empfänger mit endlicher Fläche. Demzufolge müssen sowohl das einfallende Feld p_i als auch das registrierte Signal genauer spezifiziert werden. Ein Ansatz für das einfallende Feld $p_{\omega i}$ einem Geschwindigkeitspotenzial $U(\omega)\, e^{-i\omega t}\, A(\mathbf{r},k)$ ist

$$p_{\omega i} = i\,\varrho_0\, c_0\, k\, A(\mathbf{r},k)\, U(\omega)\, e^{-i\omega t} \; . \tag{2-32}$$

$U(\omega)\, e^{-i\omega t}$ ist die Schnelle, mit der sich die Oberfläche S_0 des Senders gleichförmig bewegt, und $A(\mathbf{r},k)$ stellt die Richtcharakteristik dar [38]:

$$A(\mathbf{r},k) = \frac{1}{2\pi} \int_{A_0} \frac{e^{ik|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}\, dS_0 \; . \tag{2-33}$$

Das Empfangssignal erhält man durch die Integration des Streufeldes über die Empfängerfläche und die Multiplikation mit dem elektroakustischen Übertragungsverhalten des Wandlers. In der Literatur finden sich analytische Näherungen nur für spezielle Situationen, insbesondere für geometrisch einfach geformte Wandlerflächen (kreisförmig, rechteckig), die Beschränkung der Lage des untersuchten Volumens auf den Fokusbereich (ebene Wellen) oder das Fernfeld (Kugelwellen) und die Annahme, dass Sender und Empfänger identisch sind. So ist beispielsweise für Einzelelementwandler mit kreisförmigem, unfokussiertem oder schwach fokussierendem Schwinger das Schallfeld in der Fokuszone bekannt. Die Schallwellen können in diesem Bereich als annähernd eben und senkrecht zum Schallstrahl angenommen werden mit der Darstellung für $A(\mathbf{r},k)$:

$$A(\mathbf{r},k) = \frac{S_0}{2\pi r}\; e^{ikr}\, \frac{2J_1(k a_0 \sin\theta)}{k a_0 \sin\theta} \; . \tag{2-34}$$

a_0 ist der Wandlerradius und J_1 eine Besselfunktion. r und θ beschreiben die Position bezüglich des Mittelpunktes des Wandlers [38].

Da für die Bestimmung des Absolutwertes des Rückstreukoeffizienten weiterhin eine Information über die Transformation elektrischer Energie in mechanische beim Senden und die Umwandlung der Schallwellen in elektrische Signale beim Empfang notwendig ist, hat sich für die experimentelle Arbeit die spektrale Normierung als Standardverfahren etabliert. Prinzipiell wird dabei mit dem Mess-System das Spektrum des Echos eines Referenzkörpers im Fokus [56] oder im Fernfeld [86] aufgenommen. Dividiert man alle Messungen im zu untersuchenden Medium durch dieses Referenzspektrum, so erreicht man eine Eliminierung der geräteabhängigen Anteile des Empfangssignals wie Pulsspektrum und elektroakustisches Übertragungsverhalten. Die Signale erfahren in diesem Fall noch eine Dämpfungskorrektur, die unterschiedliche Dämpfungskoeffizienten im Medium zwischen Wandler und Streuvolumen im Vergleich zur Referenzmessung berücksichtigt. Der Ansatz für die Dämpfung erfolgt dabei als separate Übertragungsfunktion des Mediums:

$$p(\omega,s) = p_0 e^{-\alpha(\omega)s} \quad . \qquad (2\text{-}35)$$

Ein häufig verwendeter Probekörper ist ein ebener Reflektor senkrecht zur Strahlachse. Hier ist zu berücksichtigen, dass die Richtfunktion des reflektierten Schallfeldes nicht identisch zu der des Streufeldes im Medium ist. Nach (2-34) kann jedoch eine Näherungslösung angegeben werden, wenn man von der plausiblen Annahme ausgeht, dass sich die Autokorrelationsfunktion des Gewebes deutlich schneller ändert als die der Richtfunktion des Wandlers und die des zur Selektion des Streuvolumens eingesetzten Zeittores [38, 94-96]. Der Mittelwert über die Powerspektren mehrerer unabhängiger Echos ist unter diesen Annahmen direkt zum Rückstreukoeffizienten σ_{bsc} proportional. Das heißt, die Frequenzabhängigkeit des normierten Powerspektrums hängt nur von der des Rückstreukoeffizienten ab [38].
Soll neben der Rückstreuung auch die Dämpfung im Medium im Puls-Echo-Verfahren bestimmt werden, so sind tiefenabhängige Messungen der Echos notwendig. Eine Beschränkung auf den Fokusbereich genügt diesen Anforderungen nicht. Zudem ist die Richtcharakteristik moderner Wandler nicht mehr mit (2-34) zu erfassen, da sie elektronisch fokussieren und sich die Fokussierung für Sende- und Empfangsbetrieb unterscheidet (Abschnitt 3.1). Die Annahme ebener Wellen ist in diesen Fällen nicht mehr zulässig. Daher erfolgt bei der in vivo Bestimmung akustischer Parameter aus Ultraschallechos häufig eine formale Beschreibung der elektrischen Signale A(ω,r) mit einer Signalkette in der Form [9, 33, 83, 99]:

$$A^2(\omega,r) = F^2_{ea\ddot{U},S}(\omega)\ F^2_{R,S}(\omega,r)\ F^2_{\alpha}(\omega)\ F_s(\omega)\ F^2_{ea\ddot{U},E}(\omega)\ F^2_{R,E}(\omega,r) \quad . \qquad (2\text{-}36)$$

$F^2_{ea\ddot{U}}$ steht für das elektroakustische Übertragungsverhalten und F^2_R für die Richtfunktion des Wandlers, jeweils unterschieden für Senden (S) und Empfang (E). F^2_α beschreibt die Dämpfung im Gewebe und F_S die Rückstreuung.
Ist eine analytische Formulierung für die Schallfeldfunktion nicht möglich, finden experimentelle Methoden zur Korrektur der Tiefenabhängigkeit Anwendung (Abschnitt 3.3). Allgemein geht man davon aus, dass die Bestimmung der Frequenzabhängigkeit der Rückstreuung über eine Korrektur des Schallfeldes und eine spektrale Normierung gelingt, auch wenn der Absolutwert des Rückstreukoeffizienten σ_{bsc} aufgrund unbekannter Normierungsfaktoren nicht zugänglich ist. Da zusätzlich in der Modellierung des Gewebes über eine bestimmte, einfache Korrelationsfunktion eine stark vereinfachende Näherung zu sehen ist, verwenden aktuelle Verfahren zur Gewebecharakterisierung häufig die relative Änderung von Gewebeparametern bezüglich der Messung an gesundem Normalgewebe, ohne die exakte Verbindung zu Veränderungen auf zellulärer Ebene herzustellen. Dieses Vorgehen kann zu leistungsfähigen Verfahren in der Diagnostik führen, wenn es gelingt, die gerätebedingten Signaleinflüsse zu korrigieren und damit die Parameteränderung quantitativ zu bestimmen.