

Aus der Klinik für Neurologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Entwicklung eines bildgebenden optischen Spektroskopie-Systems
zur Darstellung funktioneller kortikaler Aktivierung**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Cathleen Buckow

aus Stralsund

Gutachter: 1. Prof. Dr. M. Kohl-Bareis
 2. Prof. Dr. A. J. Fallgatter
 3. Priv.-Doz. Dr. med. H. Obrig

Datum der Promotion: 16.06.2008

Inhaltsverzeichnis	
EINLEITUNG	4
ZIELSETZUNG UND GLIEDERUNG DER ARBEIT	8
GRUNDLAGEN DER NAHINFRAROT - SPEKTROSKOPIE	9
WARUM WIRD NAHINFRAROTES LICHT ZUR OPTISCHEN SPEKTROSKOPIE IN TIEFERE GEWEBESCHICHTEN GENUTZT?	9
DAS LAMBERT-BEER'SCHE GESETZ UND SEINE MODIFIKATION ZUR BESTIMMUNG VON KONZENTRATIONSÄNDERUNGEN IM STARK STREUENDEN MEDIUM	11
NAHINFRAROTSPEKTROSKOPIE UND „AKTIVIERUNG“	16
DIE „TYPISCHE“ NIRS-ANTWORT	17
VORBETRACHTUNGEN ZUM SYSTEMDESIGN	18
<i>Auswahl der besten Wellenlängenkombination</i>	19
<i>Der Weg des Lichtes – die Messanordnung der NIRS</i>	22
SPEZIELLE METHODIK – DAS MESSSYSTEM, DATENANALYSE, VERSUCHSAUFBAU	23
DAS MESSSYSTEM – DER IMAGER.....	23
<i>Die NIR-Lichtquellen</i>	24
<i>Das Layout der Messpositionen</i>	25
<i>Die Anbringung, die lichtleitenden Fasern</i>	26
<i>Der Detektor</i>	27
<i>Die Lasersteuerungs- und Datenakquisitionsoftware</i>	27
<i>Die Datenauswertung in MATLAB</i>	29
NEUROANATOMISCHE GRUNDLAGEN	34
<i>Der motorische Kortex</i>	34
<i>Über das Visuelle System</i>	35
DIE STIMULATIONSPARADIGMEN.....	36
<i>Oxygenierungsänderungen bei motorischer Stimulation</i>	36
<i>Oxygenierungsänderungen bei differentieller visueller Stimulation</i>	37
<i>ICG-Bolusinjektionen bei Schlaganfallpatienten</i>	38
ERGEBNISSE	39
OXYGENIERUNGSÄNDERUNGEN BEI MOTORISCHER STIMULATION	39
OXYGENIERUNGSÄNDERUNGEN BEI DIFFERENTIELLER VISUELLER STIMULATION	47
ICG-BOLUSINJEKTIONEN BEI SCHLAGANFALLPATIENTEN	49
DISKUSSION	51
BILDGEBENDE STUDIEN MIT DER NIRS	51
VALIDIERUNG DES HIER VORGESTELLTEN SYSTEMS	56
TECHNISCH METHODISCHE PERSPEKTIVEN	57
<i>Räumliche Auflösung</i>	58
<i>Tiefenauflösung</i>	59
<i>Bandbreite des Systems/Signal zu Rausch-Verhalten</i>	61
KLINISCHE PERSPEKTIVEN.....	62
ZUSAMMENFASSUNG	64
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	67
LITERATURVERZEICHNIS	68
ANHANG	73
ERKLÄRUNG AN EIDES STATT	96
DANKSAGUNG	97
LEBENS LAUF	98

Einleitung

Seit der Entwicklung nichtinvasiver bildgebender Verfahren ist die funktionelle topographische Kartierung des Gehirns zu einem wichtigen Pfeiler der Neurowissenschaften geworden. Hierzu hat insbesondere die Entwicklung von Verfahren wie der Positronen-Emissionstomographie (PET) und mehr noch der funktionellen Kernspintomographie (fMRI) beigetragen. Bei kontinuierlicher technischer Weiterentwicklung der Methoden ist eine Darstellung von Struktur und Funktion heute mit einer hohen räumlichen und guten zeitlichen Auflösung möglich. Neben der Fortentwicklung der einzelnen Methode hat aber insbesondere auch der Vergleich zwischen den Techniken die Basis geschaffen, funktionell anatomisches Wissen, wie es aus tierexperimentellen Arbeiten zum Teil gut bekannt ist, auf den Menschen zu übertragen. Die Perspektive der bildgebenden Verfahren ist einerseits die Darstellung funktioneller Zusammenhänge bei höheren kognitiven Funktionen des Menschen, etwa in der Sprachforschung. Andererseits wird durch den zunehmend höheren Signalkontrast eine Betrachtung der individuellen funktionellen Anatomie ermöglicht und bietet so die Voraussetzung, individuelle als auch pathophysiologische Veränderungen zu beschreiben.

Eine solche Betrachtungsweise lässt außer Acht, dass das Elektroenzephalogramm (EEG) über viele Jahrzehnte als nicht-invasive Methode zur Erfassung funktioneller Hirnaktivität auch in der klinischen Neurologie zur Verfügung steht. Diese Methode erlaubt es bereits seit den 20er Jahren des letzten Jahrhunderts, Hirnaktivität mit sehr hoher zeitlicher Auflösung sichtbar zu machen (Berger 1929). Der entscheidende Fortschritt in den „modernen“ funktionellen Methoden ist daher vor allem die topographische Zuordnung, die mit elektrophysiologischen Techniken nur im invasiven Ansatz oder mit relativ starken Annahmen zur Quellenlokalisierung gelingt (Koles and Soong 1998). Wenn heute die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und die funktionelle Kernspintomographie (fMRT) das Feld der Bildgebung dominieren und es erlauben, wiederholt funktionell-anatomische Topographie des individuellen menschlichen Kortex zu beschreiben, so darf nicht vergessen werden, dass die Grundlage dieser bildgebenden Techniken eine vermittelte Darstellung aufgrund der evozierten metabolischen oder vaskulären Antwort ist. Im Gegensatz zu den elektrophysiologischen Methoden (EEG, MEG) stellen diese Verfahren die Funktion also indirekt dar. Sie basieren auf der Hypothese, dass Änderungen der neuronalen Aktivität auch immer von Änderungen des metabolischen Zustandes des aktivierten

neuronalen Gewebes und schließlich der lokalen Hämodynamik begleitet sind. Es erscheint bemerkenswert, dass gleichzeitig eine immer größere Anzahl von Publikationen zunehmend komplexe Paradigmen mit der funktionellen Kernspintomographie untersucht und dabei die Frage nach der physiologischen Basis genau dieser bildgebenden Technik immer deutlicher ins Zentrum wissenschaftlichen Interesses rückt. Untersuchungen zur neurovaskulären Kopplung, also der Transformation einer neuronalen in eine vaskuläre Antwort, haben damit eine Bedeutung erlangt, die weit über physiologische Grundlagenforschung hinausgeht. Dies spielt besonders bei der Darstellung cerebraler Pathophysiologie oder gar im Hinblick auf Entscheidungshilfen für ein individuelles Therapieregime eine zunehmende Rolle. Bei einer vaskulären Erkrankung des Gehirnes, etwa der akuten zerebralen Ischämie, kann nicht davon ausgegangen werden, dass eine ungestörte neurovaskuläre Kopplung vorliegt.

Neben diesen grundlegenden Betrachtungen gibt es eine zusätzliche Limitation der modernen bildgebenden Verfahren. Apparativer und finanzieller Aufwand sind hoch, die Verfügbarkeit solcher Verfahren ist damit auf einige medizinische Zentren beschränkt. Auch ist bei der Größe der Apparaturen eine Untersuchung am Krankenbett derzeit nicht einfach möglich. Insgesamt ist eine breitere und klinische Anwendung daher nicht gegeben. Bei schwerstkranken Patienten muss auch das zusätzliche Risiko eines Transportes in eine diagnostische Einheit berücksichtigt werden und ein Monitoring kann bisher mit der Kernspintomographie oder der PET nur in vergleichsweise großen zeitlichen Abständen erfolgen. Für die PET stellt die Applikation von radioaktiv markierten Substanzen ein zusätzliches Gesundheitsrisiko dar. Diese Grenzen der Anwendbarkeit motivieren die Suche nach Alternativen.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit einem Verfahren, das aufgrund der relativ einfachen und kostengünstigen technischen Voraussetzungen potentiell eine Rolle beim neurologischen Monitoring, aber auch bei den oben skizzierten Untersuchungen zur neurovaskulären Kopplung spielt. Es handelt sich um die optische Methode der Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS), die lichtspektroskopisch Änderungen der zerebralen Oxygenierung darstellen kann. Ganz wie die PET und die fMRI basiert das Verfahren auf der Erfassung einer evozierten vaskulären Antwort. Anhand der Lichtabschwächung bei verschiedenen Wellenlängen wird berechnet, wie sich die Konzentration von Chromophoren im durchleuchteten Gewebe ändert. Die beiden wichtigsten Parameter sind hier die Konzentration des oxygenierten und des deoxygenierten Hämoglobins (oxy-Hb / deoxy-Hb).

Da die Konzentration des deoxy-Hb die wichtigste Größe für den BOLD-Kontrast der fMRI (blood oxygenation level dependent contrast) darstellt, ist die Methode geeignet, auch in der Kombination mit anderen Techniken angewandt zu werden. Dies bedeutet für einen klinischen Zusammenhang etwa, dass eine simultane Messung mit der Kernspintomographie einen initialen räumlich hochaufgelösten Ausgangszustand dokumentiert. Die NIRS könnte im neurologisch- intensivmedizinischen Zusammenhang dann in der Folge als Monitor für das kontinuierliche Erfassen von Oxygenierungs-Änderungen dienen. Im Hinblick auf die Grundlagen der Bildgebung bietet die NIRS den Vorteil, dass das Verfahren nicht mit elektrophysiologischen Verfahren interferiert. So konnte gezeigt werden, dass Studien zur neurovaskulären Kopplung sowohl in Kombination mit dem Oberflächen-EEG aber auch in der magnetisch abgeschirmten Kammer der Magnetenzephalographie (MEG) möglich sind (Mackert et al. 2004; Obrig et al. 2002).

Die NIRS wird bereits seit einigen Jahren in der funktionellen Darstellung von Hirnaktivität genutzt (Obrig and Villringer 2003). Der entscheidende Beitrag, den die vorliegende Arbeit dokumentiert, ist die Entwicklung eines bildgebenden Ansatzes. Der Schritt zur Bildgebung ist physiologisch zunächst nicht neu. Allerdings ist eine grobe Lokalisation der gemessenen Oxygenierungsänderungen die Voraussetzung, um lokale Prozesse von globalen zu trennen. Für die funktionellen Studien erhöht dies insbesondere die „Treffsicherheit“ und die Reliabilität bezüglich der interessierenden Areale. Für die Anwendung bei Patienten zur Darstellung pathophysiologischer Prozesse ist die räumliche Auflösung aus einem weiteren Grund von Bedeutung. Einerseits ist auch hier etwa die Differenzierung zwischen einem Infarktgebiet und dem umgebenden „gesunden“ Gewebe von hoher pathophysiologischer Bedeutung. Andererseits handelt es sich bei den interessierenden pathologischen Änderungen meist um einmalige oder seltene Ereignisse (z.B. Ischämie, epileptischer Anfall). Im Gegensatz zum experimentellen Design einer funktionellen Aktivierungsstudie lassen sich die statistische Reliabilität der gemessenen und gemittelten Daten nicht ohne weiteres beliebig oft wiederholen. Auch darum erscheint es wichtig, bei den gemessenen Ereignissen die Änderungen auf grobe anatomisch-topographische Areale beziehen zu können.

Die vorliegende Arbeit dokumentiert die Entwicklung und Validierung eines vollständig aus Ressourcen der Gruppe entwickelten bildgebenden NIRS-Systems. Dies dokumentiert auch die Tatsache, dass optische Monitore mit relativ geringem Aufwand hergestellt werden können. Ähnliche Prototypen wurden von anderen Gruppen vorgestellt und kommerzielle

Monitore sind inzwischen erhältlich. Die Entwicklung in einer wissenschaftlichen Arbeitsgruppe demonstriert die vergleichsweise einfachen und weniger aufwendigen technischen Voraussetzungen im Vergleich zu MRI und PET.

Zielsetzung und Gliederung der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit wird ein bildgebendes System vorgestellt, das in der Arbeitsgruppe „Optische Methoden“ des Berlin NeuroImaging Center an der Charité unter meiner Mitwirkung entwickelt und von mir mit ersten funktionellen Studien validiert wurde. Dabei war neben der aktiven Mitarbeit an den technischen Entwicklungsschritten mein Beitrag insbesondere die Entwicklung der Auswertesoftware und die experimentelle Validierung des Messsystems anhand grundlegender basaler Stimulationsparadigmen. Die Arbeit stellt die notwendigen Entwicklungsschritte dar.

Zunächst soll hier jedoch kurz auf die Grundlagen der Methode eingegangen werden. Die Frage nach den physiologischen Grundlagen der NIRS wird skizziert und die Messprinzipien zur Darstellung kortikaler Oxygenierung werden vorgestellt.

Der folgende Abschnitt widmet sich den technischen Schritten der Entwicklung des bildgebenden Systems. Zusätzlich wird hier die von mir entwickelte Auswertesoftware vorgestellt.

Die experimentelle Validierung nutzte verschiedene Stimulationsparadigmen. Es wurden Versuchsserien zu Oxygenierungsänderungen über der Zentralregion bei motorischer Stimulation und Änderungen der Oxygenierung über der Okzipitalregion bei visueller Stimulation durchgeführt. Für die visuelle Stimulation wurde weiterhin untersucht, ob sich bei differentieller Aktivierung des primären und des bewegungssensitiven Areals (V5 oder MT) auch räumlich differentielle Aktivierungsfoci nachweisen lassen. Perspektivisch wurden schließlich Messungen bei Patienten mit cerebraler Ischämie durchgeführt. Hier wurde ein Kontrastmittel (Indocyanin Grün, ICG) genutzt, um topographisch Unterschiede in der kortikalen Perfusion darzustellen. Die experimentellen Designs werden im Abschnitt „Spezielle Methodik“ dargestellt, die Ergebnisse der Experimentserien finden sich im darauf folgenden Abschnitt der Arbeit.

Die Diskussion der Arbeit fasst die Literatur zu ähnlichen Ansätzen der bildgebenden NIRS zusammen und versucht, die Perspektiven und auch Probleme des Ansatzes kritisch zu werten.

Grundlagen der Nahinfrarot - Spektroskopie

Warum wird nahinfrarotes Licht zur optischen Spektroskopie in tiefere Gewebeschichten genutzt?

Die NIRS bestimmt cerebrale Oxygenierungsänderungen, indem Licht zur spektroskopischen Differenzierung verschiedener Chromophore und ihrer Konzentrationsänderungen genutzt wird. Daher basiert die Methode im Wesentlichen auf zwei biophysikalischen Gegebenheiten:

Biologisches Gewebe ist für Licht aus dem nahinfraroten Wellenlängenbereich (ca. 650-1000 nm) relativ transparent. Dieser Spektralbereich wird deshalb auch als „optisches Fenster“ bezeichnet. Dies ist auf die vergleichsweise geringe Absorption von Wasser und Hämoglobin in diesem Spektralbereich zurückzuführen, was eine Gewebepenetration von bis zu 8 cm ermöglicht (Cope and Delpy 1988; Gratton et al. 1994) (siehe Abbildung 1). Jöbsis hat 1977 erstmalig Messungen am Gehirn durch den intakten Schädel durchgeführt und damit die cerebrale Nahinfrarotspektroskopie begründet (Jobsis 1977).

Um eine spektroskopische Bestimmung der Oxygenierung des Blutes im NIR-Spektralbereich zu erlauben, muss weiterhin eine Differenzierung der beiden Formen des Hämoglobins (oxy-Hb und deoxy-Hb) möglich sein. Tatsächlich hat im nahinfraroten Bereich das Hämoglobin abhängig vom Oxygenierungszustand unterschiedliche Extinktionsspektren. Die Konzentrationsänderungen des oxygenierten und deoxygenierten Hämoglobin ([oxy-Hb], [deoxy-Hb]) stellen damit die physiologischen Basisparameter der NIRS dar. Ihre Absorptionsspektren im nahinfraroten Bereich sind in Abbildung 1 dargestellt. Mit einem isobestischen Punkt bei ungefähr 805 nm und Extinktionskoeffizienten, die um etwa einen Faktor 40 kleiner sind als im sichtbaren Spektralbereich des Lichtes (linker Teil der Darstellung), erlaubt sich eine Spektroskopie in der Tiefe des biologischen Gewebes.

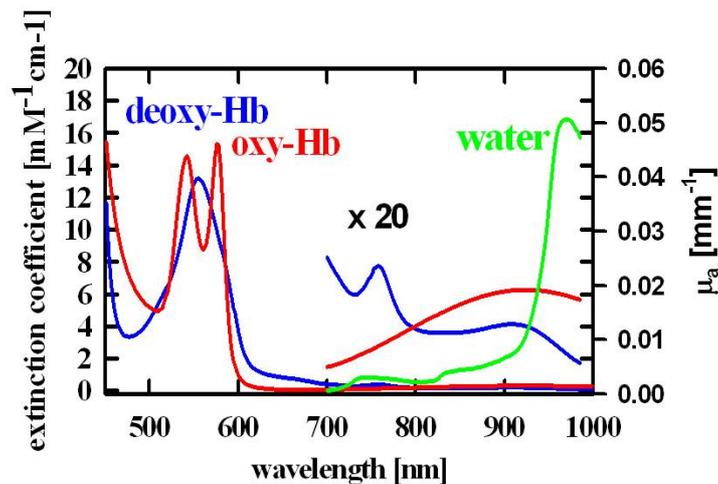


Abb.1: Extinktionskoeffizienten der Chromophore oxy-Hb, deoxy-Hb und Wasser im sichtbaren Wellenlängenbereich (ca. 450-650 nm) sowie im nahinfraroten Bereich. Die relativ niedrigen Extinktionskoeffizienten zwischen 650 nm und 950 nm bilden ein „optisches Fenster“ im Gewebe. In diesem Bereich ist es möglich, Änderungen des oxygenierten und deoxygenierten Hämoglobins tief im Gewebe, also auch nichtinvasiv am menschlichen Gehirn, zu bestimmen. Die Extinktionskoeffizienten bei Wellenlängen > 700 nm sind um den Faktor 20 vergrößert.

Um Änderungen der Konzentrationen von oxy-Hb und deoxy-Hb gleichzeitig zu bestimmen, muss bei mindestens zwei verschiedenen Wellenlängen die Änderung der Lichtabschwächung gemessen werden. Da die Cytochrom-c-Oxidase, das terminale Enzym der Atmungskette, ebenfalls ein differentielles Absorptionsspektrum abhängig vom Redoxstatus hat, kann eine Redoxverschiebung grundsätzlich auch mit der NIRS bestimmt werden. Damit stünde ein Marker der zellulären Oxygenierung zur Verfügung. In dieser Arbeit wird auf die Cytochromoxidase nicht näher eingegangen. Zum einen ist gezeigt worden, dass aufgrund der im Vergleich zum Hämoglobin sehr geringen Konzentration der Cytochromoxidase der Beitrag zur oxygenierungsabhängigen Absorptionsänderung gering ist. Unter anderem durch diesen Unterschied in der Konzentration wird eine Bestimmung des Redox-Zustandes potentiell sehr stark durch Fehler der Annahmen zum Lambert-Beer'schen Gesetz verzerrt. Damit ist es möglich, dass Änderungen der Konzentrationen in den Hämoglobinen zu einer „Änderung“ des Cytochrom-Redox-Zustandes führen, die einzig ein spektroskopisches Artefakt darstellen (Uludag et al. 2002; Uludag et al. 2004a).

Neben den „dynamischen“, also oxygenierungsabhängigen Chromophoren, gibt es im biologischen Gewebe auch die sogenannten „fixen“ Chromophore. So wird die Lichtabschwächung im Gewebe vor allem auch durch Wasser, Fett und Melanin beeinflusst.

Da ihre Konzentration über den Messzeitraum als konstant angenommen werden kann, spielen sie für die optischen Hintergrundeigenschaften im modifizierten Lambert-Beer'schen Gesetz nur als fixer Term eine Rolle. Die *Änderung* der Absorption wird von ihnen, unter dieser plausiblen Annahme, nicht beeinflusst.

Das Lambert-Beer'sche Gesetz und seine Modifikation zur Bestimmung von Konzentrationsänderungen im stark streuenden Medium

Das „optische Fenster“, begrenzt durch die Absorption der Hämoglobine im sichtbaren (< 650 nm) und durch Wasser im infraroten (>1000 nm) Spektralbereich, erlaubt eine ausreichende Eindringtiefe für Licht zur optischen Spektroskopie im cerebralen Kortex des Erwachsenen. Damit ergibt sich ein Messvolumen, auf das gemessene Änderungen der Lichtabschwächung bezogen werden können. Im folgenden Abschnitt wird hergeleitet, auf welche physikalischen Gesetze und welche Annahmen sich die Oxygenierungsbestimmung im Gewebe stützt.

Grundsätzlich bestimmen zwei Parameter die optischen Eigenschaften eines Mediums: (1) Absorption, beschrieben durch die Größe des Extinktionskoeffizienten μ_a und (2) Streuung, beschrieben durch den Streukoeffizienten μ_s . Bei NIRS-Messungen im biologischen Gewebe werden *Absorptionsänderungen* vorwiegend durch *Änderungen* der Hämoglobinkonzentration und geringer durch Redoxverschiebungen der Cytochrome bedingt. Neben den fixen Absorbern (Melanin, Fett, Wasser) muss allerdings die sehr hohe Streuung im Gewebe berücksichtigt werden, um spektroskopisch die Änderungen von μ_a zu bestimmen. Diese wird hauptsächlich durch Membranen und Zellorganellen sowie Grenzflächen zwischen Gewebeschichten verursacht. Eine sehr wichtige Annahme der NIRS im Gewebe ist, dass die Streuung zwar sehr hoch, aber über den Messzeitraum konstant ist (Delpy et al. 1988). Anders formuliert besteht die Annahme darin, dass es Hintergrundeigenschaften des Gewebes gibt (fixe Absorber und konstante Streueigenschaften) und nur Änderungen von μ_a durch die dynamischen Absorber im Messzeitraum auftreten. Unter dieser Annahme lassen sich nach dem modifizierten Lambert-Beer'schen Gesetz Konzentrationsänderungen bestimmen.

Das Lambert-Beer'sche Gesetz beschreibt im Küvettenmodell (siehe Abbildung 2) den Zusammenhang zwischen Konzentration eines Absorbers (c) und der Lichtabschwächung (A). Idealisiert wird dafür angenommen, dass nur eine minimale Substanzkonzentration vorhanden ist und somit keine Streuung stattfindet. Auch kann für eine „unendlich verdünnte“ Lösung angenommen werden, dass ein absorbierendes Partikel des Stoffes nicht im „Schatten“ eines

weiteren solchen Partikels liegt (Abbildung 2 – Photon 4). Wäre dies - etwa bei höheren Konzentrationen - der Fall, würde die Konzentration des Stoffes fälschlicherweise zu niedrig berechnet. Das Lambert-Beer'sche Gesetz für das Küvetten- Modell lautet:

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \alpha \cdot c \cdot d$$

mit **A**: Attenuation, also der Lichtabschwächung im Gewebe, **I₀**: eingestrahlte Lichtintensität und **I**: detektierte Lichtintensität, **c**: Konzentration des Absorbers, **α**: spezifischer Extinktionskoeffizient und **d**: geometrische Distanz (hier: Küvettenbreite).

Für höhere Konzentrationen und streuende Medien muss diese Formel nun modifiziert werden, um den längeren Weg und den Lichtverlust durch Streuung zu berücksichtigen. Daraus ergibt sich das Modifizierte Lambert-Beer'sche Gesetz für stark streuende Medien (Delpy et al. 1988):

$$A = \alpha \cdot c \cdot d \cdot DPF + G$$

Die Modifikation besteht aus einer Ergänzung um den Photonenverlust durch Streuung **G**. Auch wird die Tatsache berücksichtigt, dass durch multiple Streuereignisse der Weg der Photonen zwischen Sender und Detektor länger ist als der geometrische Quell-Detektor-Abstand. Dieser Faktor ist der **DPF** (Differential Pathlength Factor). Unter der Annahme, dass sich die Streuung über die Messperiode nicht ändert, werden **DPF** und **G** als konstant angenommen.

G ist unbekannt und abhängig von der Geometrie der Messung. Durch Differenzbildung über die Zeit ($\Delta A(t)$) lässt sich dieser Term eliminieren. Die NIRS kann folglich Konzentrationsänderungen der Chromophore Δc über die Zeit bestimmen und diese Änderungen unter Annahme eines DPF auch quantifizieren.

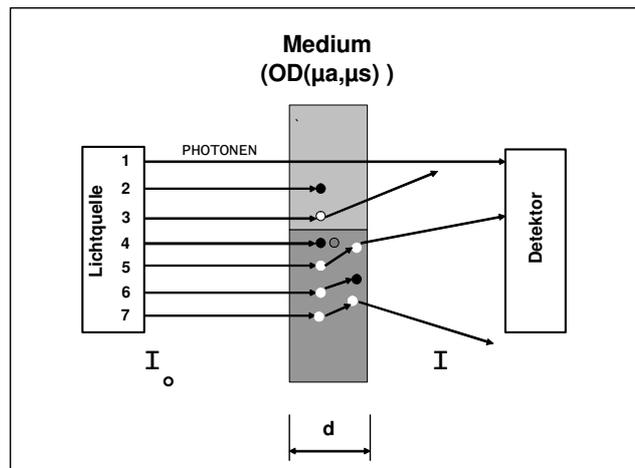


Abb.2: Absorption und Streuung im Küvettenmodell. Gemessen wird die Lichtabschwächung zwischen Lichtquelle (I_0) und Detektor (I) beim Durchtritt durch ein Medium der Schichtdicke d . Voraussetzung für die Anwendung des Lambert-Beer'schen Gesetzes ist die „unendliche Verdünnung“ der Lösung. Alle Photonen, die nicht den Detektor erreichen, sind absorbiert (Photon 2) oder gestreut (Photon 3) worden. Eine steigende Konzentration führt zu mehr Interaktionen der Photonen mit dem Medium, die Photonen 3-6 verdeutlichen die zusätzlich möglichen Ereignisse. Die Modifikationen des Lambert-Beerschen Gesetzes, die dennoch eine Konzentrationsberechnung ermöglichen, sind im Text hergeleitet.

Wenn verschiedene Chromophore zur Lichtabschwächung beitragen gilt, dass sich die Gesamtattenuation aus den Teilattenuationen der absorbierenden Chromophore zusammensetzt. Für eine bestimmte Wellenlänge (λ) lässt sich die Gleichung wie folgt formulieren:

$$\Delta A(\lambda) = \sum_i [\alpha_i(\lambda) \cdot \Delta c_i \cdot DPF(\lambda) \cdot d]$$

ΔA , α und DPF sind von der Wellenlänge λ abhängig, der Index i steht für die verschiedenen Chromophore.

Es folgt, dass bei Verwendung diskreter Wellenlängen die Anzahl der Wellenlängen der maximalen Zahl der zu differenzierenden Chromophore entspricht. Das in dieser Arbeit beschriebene Messsystem nutzt 2 Wellenlängen und erlaubt dementsprechend die Differenzierung von $\Delta[\text{oxy-Hb}]$ und $\Delta[\text{deoxy-Hb}]$. Zur Berechnung wurden die tabellierten Extinktionskoeffizienten $\alpha(\lambda)$ von oxy-Hb und deoxy-Hb aus dem Labor von Cope sowie die von Essenpreis publizierte Wellenlängenabhängigkeit der optischen Pfadlänge $DPF(\lambda)$ herangezogen (Cope and Delpy 1988; Essenpreis et al. 1993). Auf dem Boden der Verwendung einer normalisierten Wellenlängenabhängigkeit des DPF werden alle Einheiten

der Konzentrationsänderungen in units of mM mal der absoluten Pfadlänge angegeben ($\text{mM} \cdot \text{mm}$).

Die Änderungen der Lichtabschwächung lassen sich durch einen einfachen Vergleich zwischen der eingestrahnten und der reflektierten Lichtintensität bestimmen ($A = \log(I_0/I)$). Dies ist mit der **continuous-wave**-Methodik („cw“) der einzige physikalische Parameter, der sich ermitteln lässt. Licht wird kontinuierlich ins Gewebe eingestrahlt und kontinuierlich wird auch die reflektierte Lichtintensität gemessen. Nicht bestimmen lässt sich so die mittlere Weglänge, die Photonen bis zu ihrem Austritt aus dem Gewebe zurückgelegt haben. Das hier vorgestellte bildgebende System ist wie auch die von anderen Gruppen entwickelten bildgebenden NIRS-Systeme ein solches „cw-System“. Um die Änderungen von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] zu bestimmen, muss ein DPF (~ 6) angenommen werden, wie er in der Literatur angegeben wird (Duncan et al. 1996; Essenpreis et al. 1993).

Es gibt aber auch die Möglichkeit, die mittlere Verweildauer ($\langle t \rangle$) oder sogar die Laufzeitverteilung aller detektierten Photonen zu bestimmen. Diese **zeitaufgelösten** Messansätze erlauben neben einer individuellen mittleren Pfadlängenbestimmung auch eine grobe Tiefenauflösung. Anschaulich ist dies, bedenkt man, dass ein Photon, das einen langen Weg durch das Gewebe zurückgelegt hat, später den Detektor erreicht und mit einer größeren Wahrscheinlichkeit auch tiefere Gewebeschichten erreicht hat.

Für die **frequenzmodulierte** Technik wird das eingestrahlte Licht mit einer bestimmten Modulationsfrequenz (~ 100 MHz) moduliert. Daraus resultiert notwendigerweise eine Modulation der Intensität auch des reflektierten Lichtes mit derselben Frequenz. Bestimmt man nun die Phasenverschiebung ($\Delta\Phi$) zwischen der eingestrahnten Modulationswelle und der reflektierten Welle, so ist diese proportional zur mittleren Flugzeit der Photonen ($\Delta\Phi \sim \langle t \rangle$). Da die mittlere Laufzeit eine höhere Sensitivität für Änderungen in tiefen Gewebeschichten hat (Kohl-Bareis et al. 2002), lässt sich mit den beiden Parametern ΔI und $\Delta\langle t \rangle$ eine grobe Zwei-Schichten Trennung vornehmen.

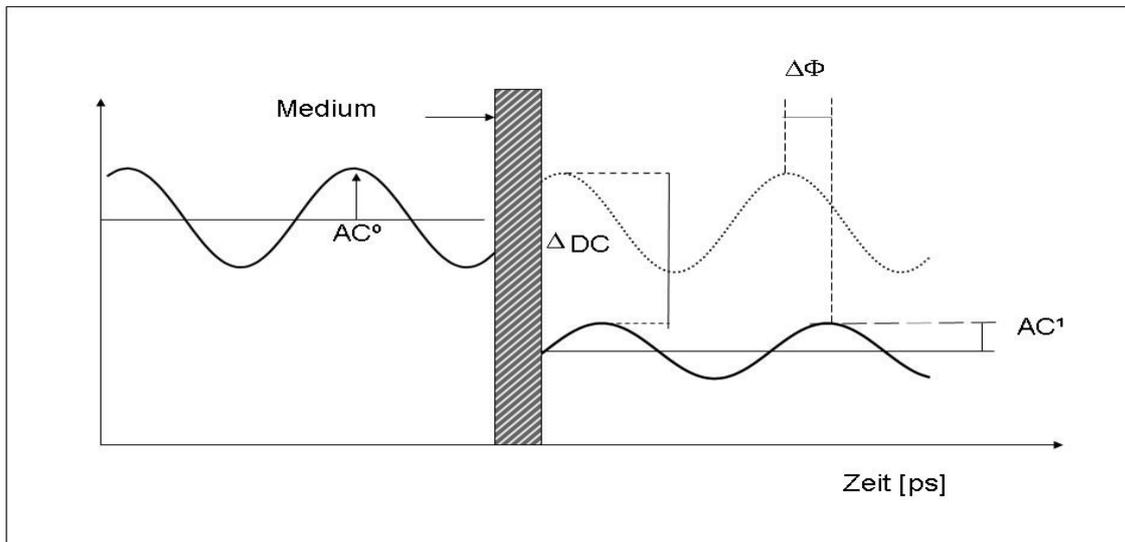
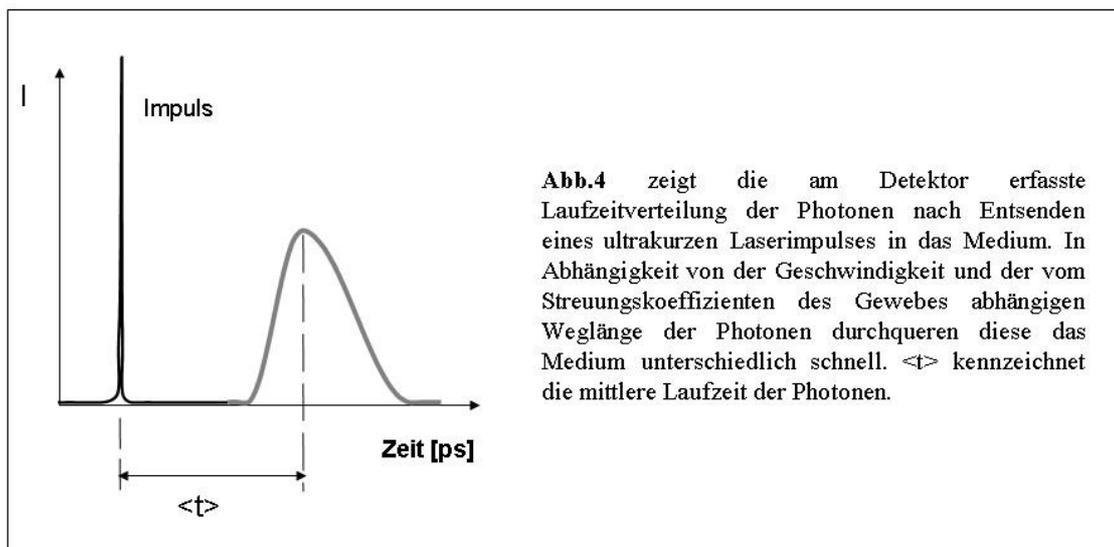


Abb.3: Intensitätsmodulierte Laserstrahlung vor und nach Durchtritt durch ein Medium. Beim Durchwandern verschiebt sich einerseits die Phase der Modulationswelle ($\Delta\Phi$). Die Amplitude AC_0 verringert sich, ΔDC entspricht der Lichtabschwächung A . Φ entspricht der zeitlichen Verzögerung der Photonen im Gewebe und gibt Auskunft über die Absorptions- und Lichtbrechungseigenschaften des Gewebes

Bei der **zeitkorrelierten Einzelphotonmessung** (time correlated single photon counting, TCSPC) wird ein ultrakurzer Lichtimpuls vom Laser ausgesandt, der in das Gewebe eingekoppelt wird. Die Photonen durchqueren das Gewebe in Abhängigkeit von der Anzahl der Streueignisse und damit der zurückgelegten Wegstrecke unterschiedlich schnell. Ein Detektorsystem registriert die reflektierte Intensität als Funktion der Zeit und damit die zeitliche Verteilung der Laufzeiten der einzelnen Photonen (=Laufzeitverteilung). Dieses Verfahren kann über die Unterscheidung verschiedener Laufzeiten mehrere Schichten auflösen.



Die beiden zeitaufgelösten Verfahren sind technisch weitaus aufwendiger als die cw-Methodik. Dennoch kann prinzipiell mit einer ähnlich transportablen Technik auch ein zeitaufgelöstes bildgebendes System für die NIRS hergestellt und unproblematisch auch am Krankenbett genutzt werden. Die nächste Generation der NIRS-Imager wird diesen Weg beschreiten und damit eine grob tiefenaufgelöste Bildgebung erlauben.

Nahinfrarotspektroskopie und „Aktivierung“

In den letzten Jahrzehnten haben verschiedene Arbeitsgruppen gezeigt, dass Änderungen der Hirnaktivität nichtinvasiv beim Erwachsenen mit der NIRS gemessen werden können (z.B. Sakai, Hashimoto, and Homae 2001; Schroeter et al. 2002; Tanosaki et al. 2003; Wenzel et al. 1996). Es wurden verschiedene Aktivierungsstudien durchgeführt und unter Anderem visuelle, auditive, motorische sowie kognitive Paradigmen untersucht. Als physiologische Grundlage dieser Aktivierungsstudien dient die Annahme der neurovaskulären Kopplung. Sie postuliert den engen zeitlichen und räumlichen Zusammenhang zwischen neuronaler Aktivität und der Änderungen der regionalen cerebralen Durchblutung (rCBF) des Gehirnes. Bei Zunahme der Aktivität der Nervenzellen kann ein gesteigerter Energiebedarf der Neuronen angenommen werden. Die Zunahme des regionalen cerebralen Blutflusses (rCBF) ist allerdings deutlich größer als die Zunahme der regionalen metabolischen Rate des Sauerstoffs (rCMRO₂). Aus diesem disproportional großen Blutflussanstieg resultiert eine fokale

Hyperoxygenierung im „aktivierten“ Areal (Fox and Raichle 1986). Da die Steigerung des regionalen Blutflusses sowohl über die Blutflussgeschwindigkeit (rCBFv) als auch durch eine Steigerung des Blutvolumens erreicht werden kann (rCBV), lassen sich verschiedene Szenarien für die Konzentrationsänderungen der NIRS-Parameter herleiten.

Die „typische“ NIRS-Antwort

Um die typische Antwort der NIRS- Parameter über einem aktivierten Areal zu verstehen, kann man zunächst nur die lokale Blutflusssteigerung betrachten. Dies lässt zunächst außer Acht, dass es freilich auch zu einer Erhöhung der O₂-Metabolismusrate kommt, worauf später eingegangen wird. Als **erstes** Szenario lässt sich der Anstieg des regionalen cerebralen Blutflusses durch eine lokale Volumenzunahme erreichen. Mehr arterielles Blut strömt in das aktivierte Areal und damit erhöht sich die lokale Oxygenierung. In diesem Fall ist ein Anstieg der Konzentration des Gesamthämoglobins zu erwarten. Die Summe von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] entspricht diesem korpuskulären lokalen Blutvolumen ($[oxy-Hb] + [deoxy-Hb] = [tot-Hb]$). Eine solche Änderung wird wirklich als Antwort auf die meisten Stimulationsparadigmen beobachtet und entspricht den in der PET dargestellten Anstiegen des regionalen Blutvolumens. Für die NIRS würde dies allerdings auch einen Anstieg des [deoxy-Hb] bedeuten, da bei fehlender Flussgeschwindigkeitserhöhung [deoxy-Hb] mit der gleichen Geschwindigkeit das gemessene Volumen verlässt wie zuvor. Da im arteriellen Blut auch ein geringer Anteil von [deoxy-Hb] enthalten ist, stiege dieser Parameter leicht an.

Als **zweites** Szenario lässt sich ein höherer regionaler Blutfluss durch eine Beschleunigung des Blutflusses erreichen (rCBFv). In diesem Fall kommt es durch den rascheren Ausstrom des venösen Blutes aus dem Messvolumen zu einer Abnahme des [deoxy-Hb] und einer Zunahme des [oxy-Hb]. Das [tot-Hb] bliebe in diesem Falle konstant. Der Abfall des [deoxy-Hb] ist in einer Anzahl von NIRS- Studien beschrieben worden. Dieser entspricht, wie in simultanen Messungen mit der BOLD-Kontrast gestützten fMRI belegt (Kleinschmidt et al. 1996; Mehagnoul-Schipper et al. 2002), einem Anstieg des BOLD-Kontrastes. Der lokale Abfall des [deoxy-Hb] ist damit die meistgenutzte physiologische Größe in der funktionellen Bildgebung beim Menschen. Der geringere Anstieg des Sauerstoffmetabolismus im aktivierten Areal führt sicherlich zu einer erhöhten Umwandlung von oxy-Hb in deoxy-Hb, dieser Effekt wird allerdings durch die Flussgeschwindigkeitserhöhung überkompensiert.

Zusammenfassend ist bei einer fokalen Aktivität von Nervenzellen eine Erhöhung des Blutflusses zu erwarten. Dies wird in den vaskulären Verfahren als ‚Aktivierung‘ operational definiert. In der NIRS kommt es zu einem Abfall des [deoxy-Hb] und einem meist größeren Anstieg des [oxy-Hb]. Daraus resultiert ein Anstieg des [tot-Hb], was dem korpuskulären Blutvolumen entspricht. Es muss darauf hingewiesen werden, dass ein Anstieg des [deoxy-Hb] in der BOLD-Kontrast fMRI einer „Deaktivierung“ entsprechen würde und daher auch, wenn [oxy-Hb] simultan ansteigt, nicht als typisches Aktivierungsmuster gewertet werden kann.

Die Dynamik der Antwort ist in verschiedenen vaskulären Techniken beschrieben worden. Nach Beginn der funktionellen Aktivierung eines Hirnareals durch Stimulation erreicht die vaskuläre Antwort nach 5-7 Sekunden ihr Maximum (Bandettini et al. 1992; Lindauer, Villringer, and Dirnagl 1993; Mayhew et al. 1998). Kontrovers ist bis heute, wie sich die vaskuläre Antwort in der ersten Sekunde nach Stimulationsbeginn und wie sie sich nach Stimulationsende darstellt. Auch existieren unterschiedliche Modelle zur Beantwortung der Frage, warum es zu einer um mehrere Sekunden verzögerten fokalen Hyperoxygenierung im aktivierten Areal kommt (Buxton and Frank 1997; Grinvald et al. 1988).

Vorbetrachtungen zum Systemdesign

Die Entwicklung einer neuen Messapparatur erfordert eine optimale Auswahl optischer und elektronischer Bestandteile vor dem Hintergrund der Anforderungen an das System. Der Entwurf stellt somit einen Kompromiss zwischen erhältlicher optischer Technologie, praktischen Aspekten und Sicherheitsbestimmungen dar. In der folgenden Abhandlung sollen einige Aspekte, die im Vorfeld des Aufbaus zu berücksichtigen waren, genauer betrachtet werden.

Das Entsenden von Licht in ein stark streuendes Medium bedingt eine sorgfältige Wahl von lichtemittierender und –detektierender Technik. Die Photonenausbeute am Detektor ist durch die Optimierung verschiedener technischer Faktoren zu maximieren: (i) Um die Zahl der den Detektor erreichenden Photonen zu erhöhen, sollte bei gleichzeitiger Berücksichtigung der in der Laserschutzverordnung definierten zulässigen Strahlungsleistung auf der Haut eine hohe Lichtintensität emittiert werden. Auch die Sensitivität des Detektorssystems spielt hierbei eine Rolle. (ii) Die Zahl der detektierten Photonen verhält sich zu Variablen wie Faserquerschnitt und –apertur, der Detektionsfläche und der Quantenausbeute proportional. Durch

Optimierung im technischen Aufbau lässt sich somit auch das Photonenrauschen als an die Zählrate des Detektors gekoppelter Störeinfluss minimieren, was zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses beiträgt. (iii) Eine effiziente Einkopplung des Lichtes in den Probandenkopf verlangt eine stabile und zugleich sich flexibel der Kopfform anpassende Fixierung der Lichtleiter.

Neben dem technischen Aufbau nehmen auch andere Faktoren Einfluss auf die Qualität der Erfassung von Konzentrationsänderungen:

- die Auswahl der Wellenlängenkombination
- die Messgeometrie der NIRS bzw. der Abstand zwischen den lichtleitenden Fasern (Interoptodenabstand)

Auswahl der besten Wellenlängenkombination

Das Imaging-System benötigt zur Differenzierung von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] bei Stimulationsexperimenten zwei Wellenlängen. Die Qualität der Erfassung von Konzentrationsänderungen hängt empfindlich von der verwendeten Wellenlängenkombination ab. Bei der Auswahl geeigneter Wellenlängen müssen zwei spektroskopische Effekte zueinander in Beziehung gesetzt werden: (i) Cross-talk und (ii) Separabilität. Daneben spielte auch (iii) die Verfügbarkeit entsprechender Laserdioden eine große Rolle.

Cross talk bezeichnet ein Differenzierungsproblem, bei dem mit einer bestimmten Wellenlänge erhobene Messparameter nur eine ungenaue spektrale Differenzierung der Chromophorenkonzentrationsänderung zulassen. Ein Chromophor ändert seine Konzentration in einer bestimmten Tiefe; durch Berechnungen unter falschen Annahmen ergibt sich jedoch zusätzlich eine Änderung in einem anderen Chromophor. Ursachen für Cross talk sind die falschen Annahmen einer *homogenen* Änderung in einem *homogenen* Messvolumen („partial volume effect“), resultierend in einer Differenz zwischen angenommener und realer Wellenlängenabhängigkeit der Pfadlänge der Photonen (Okada, Firbank, and Delpy 1995; Uludag et al. 2002; Uludag et al. 2004b).

Die ebenfalls von der Wahl der Wellenlängenkombination abhängige Separabilität bezeichnet ein Maß, wie stark sich physikalisches Rauschen (Geräterauschen, z.B. Photonenrauschen) auf die Qualität der Matrixinversion zur Transformierung der Intensitätsänderungen in Konzentrationsänderungen auswirkt (Uludag et al. 2004b). Sind die Extinktionskoeffizienten der verwendeten Wellenlängen nahezu identisch, wird das Gleichungssystem instabil (kollinear), resultierend in einer Amplifizierung des physikalischen Rauschens im Rahmen der Transformation der Intensitätsänderungen in Konzentrationsänderungen der Chromophore. Somit korrespondiert eine hohe Separabilität mit einem geringen Rauschniveau in den erfassten Konzentrationsänderungen. Als Maß für Separabilität wurde der analytische Ausdruck der Standardabweichung der mittleren Konzentrationsänderungen σ herangezogen.

Nach Durchführung von Monte Carlo Simulationen am Schichtmodell präsentieren Uludag et al. eine Tabelle der absoluten Werte für Cross talk sowie des Maßes für Separabilität für Wellenlängenkombinationen aus dem Spektralbereich zwischen 610 und 920 nm (Uludag et al. 2004b), (Abb. 5,6). In-vivo-Experimente validieren die theoretischen Ergebnisse. Bestätigt werden die Resultate durch experimentelle und theoretische Untersuchungen der Gruppen von Yamashita und Strangman, welche an einzelnen Wellenlängen die Abhängigkeit des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses von der Wellenlängenkombination aufzeigen (Strangman, Franceschini, and Boas 2003; Yamashita, Maki, and Koizumi 2001).

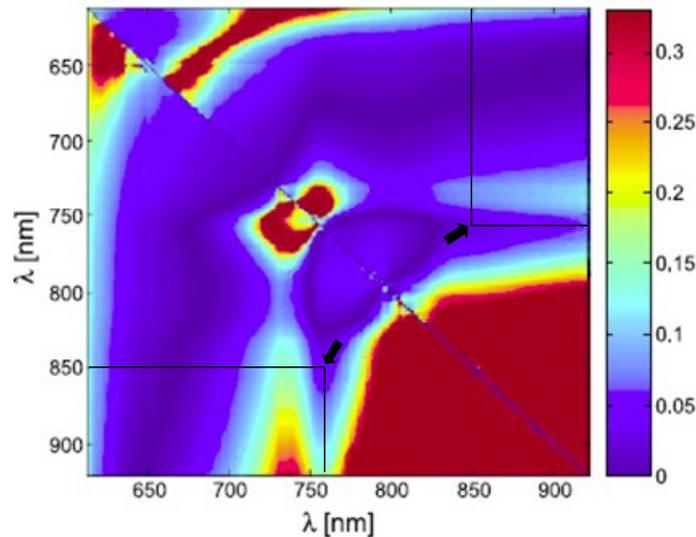


Abb.5: Absolute Werte für den Cross talk $_{[oxy-Hb]} \rightarrow [deoxy-Hb]$ für die Kombination zweier Wellenlängen zwischen 610 und 920 nm. Oberes Dreieck: Cross talk für die oberflächliche Schicht in der Tiefe 0-2 mm. Unteres Dreieck: Cross talk in der Schicht, welche der Tiefe des Kortex des Erwachsenen am Nächsten kommt (10-12 mm). Wellenlängenkombinationen mit einem geringen Cross talk werden in dunkelblau dargestellt (Uludag et al. 2004b). Die Pfeile markieren die Werte für den Cross talk der im Imaging device verwendeten Wellenlängen 760 und 850 nm.

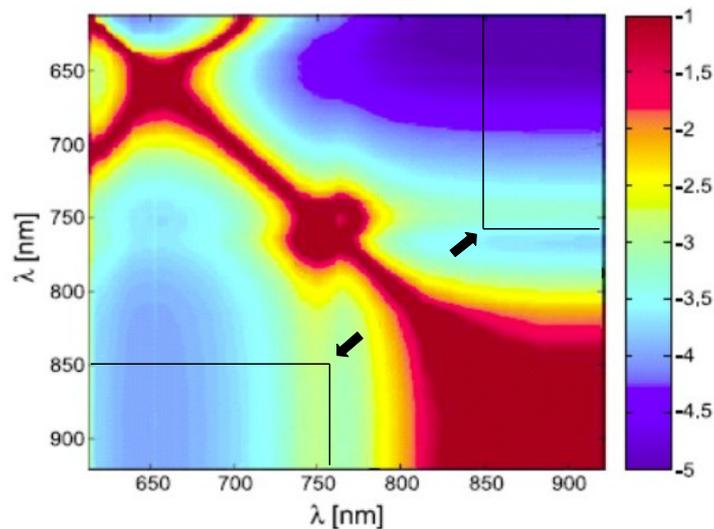


Abb. 6: zeigt die Standardabweichungen $\sigma_{(\Delta \text{ deoxy-Hb})}$ für dieselben zwei Schichten wie in Abb. 5 (oberes Dreieck: 0-2 mm, unteres Dreieck: 10-12 mm). Es wird eine logarithmische Skalierung (Basis e) genutzt, erneut werden Kombinationen aller Wellenlängen im Bereich zwischen 610 und 920 nm farbkodiert graphisch dargestellt (Uludag et al. 2004b). Die Pfeile markieren die im Aufbau des Imaging device verwendeten Wellenlängen 760 und 850 nm.

Die Ergebnisse von Uludag et al. machen deutlich, dass die optimalen Wellenlängenkombinationen jeweils für Cross talk und Separabilität differieren. Jedoch erlauben bestimmte Kombinationen eine Minimierung des Cross talk ohne einen übermäßigen Abfall der Separabilität. Die für die Konstruktion des Imaging-Systems gewählte Wellenlängenkombination (760 & 850 nm) zeichnet sich durch einen Fehler bis maximal 10% der Änderung durch Cross talk und einem vorteilhaft kleinen σ aus. Darüber hinaus waren die Laserdioden dieser Wellenlängen als handelsübliche Laserdioden problemlos zu erwerben.

Der Weg des Lichtes - die Messanordnung der NIRS

Bei nichtinvasiven spektroskopischen Messungen beim Menschen unterscheidet man prinzipiell die nur bei kleinen Kopfdurchmessern mögliche und bei Säuglingen angewendete Methode der Transillumination von der Reflektionsmethode beim Erwachsenen. Aufgrund der begrenzten Eindringtiefe des Lichtes werden die Emitter- und Detektorpaare am Kopf eines Erwachsenen in einigen Zentimetern Abstand nebeneinander angebracht. Gemessen wird reflektiertes Licht, welches seinen Weg durch das Messvolumen, bestehend aus den verschiedenen äußeren Schichten des Kopfes und dem Kortex, genommen hat. Die Annahme eines „bananenförmigen“ Messvolumens (Bonner et al. 1987) wurde vor allem durch Monte-Carlo-Simulationen am Schichtmodell des Kopfes modifiziert (Okada, Firbank, and Delpy 1995). Die Berechnungen weisen auf die Rolle des Liquorspaltes als „Lichttunnel“ hin, der in besonderem Maße zur Ausbreitung der Photonenwolke hin zum Kortex beiträgt. Von den ausgesendeten Photonen gelangt nur ein relativ kleiner Anteil an den Ort des Detektors. Wird der Abstand der Optoden oder ihre Lokalisation variiert, so verändert sich auch das Messvolumen. Der bei den in dieser Arbeit vorgestellten Untersuchungen verwendete Interoptodenabstand betrug 25 mm.

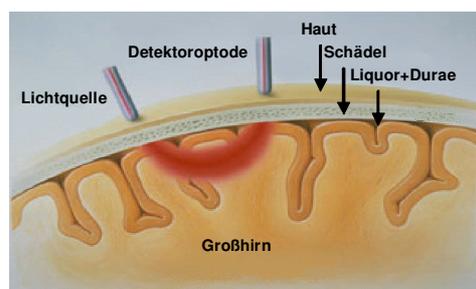


Abb.7: Das Prinzip der Reflexionsmethode

Spezielle Methodik - das Messsystem, Datenanalyse, Versuchsaufbau

Das folgende Kapitel hat die Beschreibung des Aufbaus des in unserer Gruppe entwickelten Messsystems einschließlich Illustration der Datenanalyse zum Schwerpunkt. Anschließend soll ein Überblick über die für die Untersuchungen relevanten neuroanatomischen Grundlagen gegeben werden; gefolgt von einer Beschreibung der Studien.

Das Messsystem - der Imager

Der Imager, das in unserer Gruppe entwickelte portable Continuous-wave-System, benötigt für seine Funktionsfähigkeit 4 Hauptkomponenten:

1. NIR-Lichtquellen
2. Detektoren
3. Hardware zur Gerätesteuerung
4. Software zur Datenakquisition und –auswertung

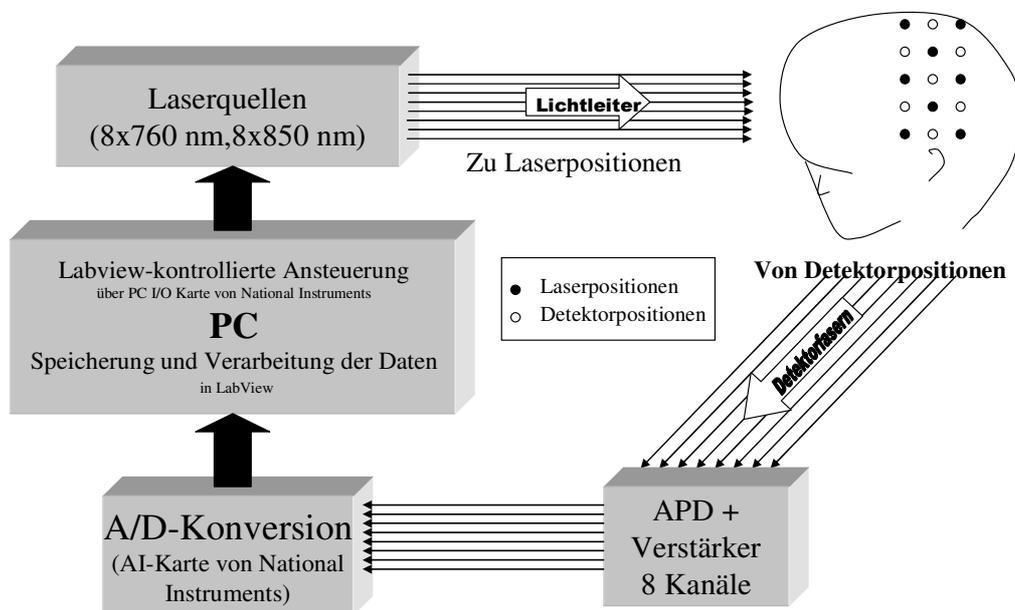


Abb.8 veranschaulicht die Systemkonfiguration des in unserer Gruppe entwickelten Imaging - device. Nähere Erläuterungen zu den einzelnen Komponenten finden sich im Text der

nächsten Seiten. Die Umsetzung in die Realität illustriert Abbildung 9. Dargestellt ist der Imager, versehen mit einer Legende der einzelnen Bestandteile.

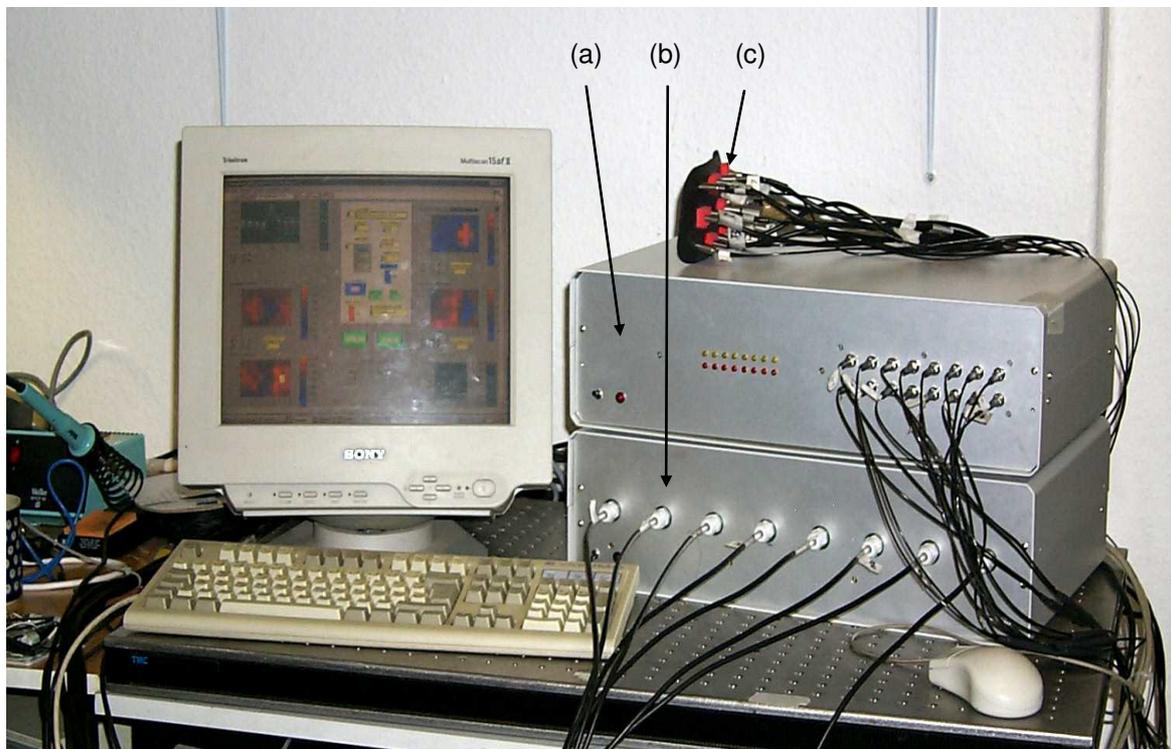


Abb. 9: Die Komponenten des Imagers. (a) die Laserkomponente als Reservoir für 24 Laserdioden. (b) die Detektoreinheit. (c) die lichtleitenden Quell- und Detektorfasern (Optoden), welche mit Hilfe der Halterung eng in Kontakt mit dem Probandenkopf gebracht werden.

Die NIR-Lichtquellen

Die im Bild mit (a) bezeichnete Komponente des Imaging device enthält insgesamt 24 low-power Laserdioden als Lichtquellen. Jeweils acht dieser Dioden emittieren identische Wellenlängen (850 nm, 785 nm, 760 nm). Durch einfaches Umstecken kann man die Wellenlängen dem Ziel der Experimentalsitzung anpassen:

- Für kortikale Aktivierungsstudien werden jeweils 8 Dioden der Wellenlängen 760 nm und 850 nm verwendet.
- Für Messungen mit dem optischen Kontrastmittel ICG werden die Dioden der Wellenlänge 785 nm verwendet, da dieses ein Absorptionsmaximum in diesem Spektralbereich aufweist (Landsman et al. 1976).

Wellenlänge der Laserdioden	Herstellende Firma, Produktname	Ausgangsleistung
760 nm	ROITHNER, RLT7605MG	5 mW (cw)
780 nm	MITSUBISHI, ML40123N	5 mW (cw)
850 nm	ROITHNER, RLT8505MG	5 mW (cw)

Die Ausgangsleistung der Laserdioden wurde auf 2 mW reguliert. Die Leistung des Lichtes an der Kopfhaut liegt mit $<1,8 \text{ mW/mm}^2$ Oberfläche im unbedenklichen Bereich.

Die Programmierung der Laserschaltung erfolgt in LabView (National Instruments GmbH). Die von diesem Programm ausgegebenen lasersteuernden Signale werden über Digitalkanäle einer DAQ-Karte (National Instruments, PCI-6503) an die Lasertreiber der Dioden (THORLABS, EK 1102) geleitet.

Das Layout der Messpositionen

Das Laserlicht wird über acht Glasfaserlichtleiter in den Probandenkopf eingekoppelt. Diese sind alternierend mit sieben Detektorfasern in einem $10 \times 5 \text{ cm}$ großem Messgitter angeordnet. Die Anordnung der Emitter- und Detektionspositionen ist in Abb. 10 dargestellt. Dieses Layout ermöglicht die Akquisition von 22 Messpositionen. Für die Messung mit 2 Wellenlängen gilt: Um diese Positionen zu differenzieren, wird das Messvolumen mit 8 sequentiell geschalteten Laserzyklen abgetastet (vier Zyklen pro Wellenlänge). Die jeweils aufeinander folgenden Laserzyklen haben dieselbe Laserschaltung, verwenden aber die jeweils andere Wellenlänge. Von den 16 vorhandenen Lasern werden in einem Laserzyklus jeweils 2 oder 3 simultan für etwa 40 ms angeschaltet. Ziel dieses Schaltplanes ist es zum einen, die Zeit für die Generation eines Gesamtimages (= Cycle Time) zu minimieren und zum anderen die eindeutige Zuordnung von empfangener Lichtleistung zur Quelle zu gewährleisten. Die Schaltzyklen ergeben sich aus der Notwendigkeit, dass maximal ein Emitter in der direkten Nachbarschaft des Detektors angeschaltet wird. Aufgrund der verwendeten Abtastrate beträgt die Zeit zur Erstellung eines gesamten Images etwa 300 ms (ca. 3 Hz). Diese Frequenz ist nach Nyquist geeignet, ein Aliasing durch pulssynchrone Schwankungen bei Herzraten bis etwa 80/min zu verhindern.

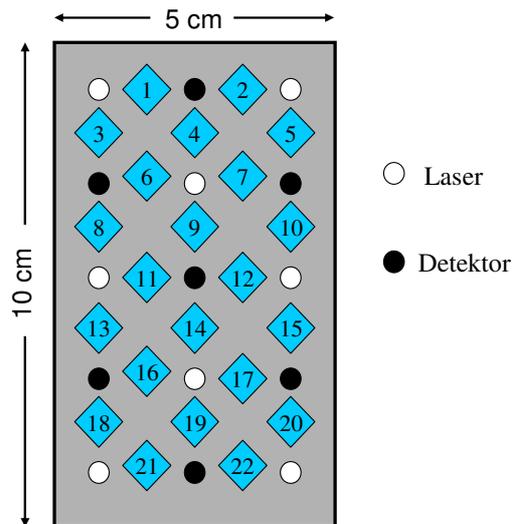


Abb.10 zeigt die Anordnung der 8 Laser und 7 Detektoren in einem Pad der Größe 10x5 cm. Der Abstand zwischen den lichtleitenden Fasern beträgt 25 mm. Die Datenakquisition von den 22 Messpositionen (mit Quadraten gekennzeichnet) wird durch Anschalten der Laser in 4 sequentiellen Laserzyklen erreicht.

Die Anbringung, die lichtleitenden Fasern

Um ein möglichst von Störfaktoren unbeeinflusstes Messsignal zu erhalten, galt es, eine Halterung für die Quell- und Detektorfasern zu entwerfen, die einen engen Kontakt der Fasern mit der Kopfhaut erlaubt und zugleich eine genügende Flexibilität bei Messungen über verschiedenen Regionen des Kopfes und unterschiedlichen Kopfumfängen gewährleisten kann. Dazu wurden die Fasern in einem Pad aus Gummi eingelassen. Die Penetrationstellen der Optoden durch das Gummi wurden mit Kunststoff verstärkt. Um eine feste Fixierung am Kopf des Probanden zu erreichen, wurde die Halterung mittels elastischer Bandagen am Kopf des Probanden befestigt.

Die Positionierung des Pads erfolgt nach dem internationalen 10-20-System (Steinmetz, Furst, and Meyer 1989). Die zuführenden Glasfaserlichtleiter (Loptec GmbH, Berlin) enthalten Faserbündel von 1 mm Durchmesser mit Einzelfasern des Durchmessers 50 μm . Diese Bündel haben eine y-Verzweigung, um das Einkoppeln zweier Laser zu ermöglichen. Dadurch wird eine effiziente Kopplung von zwei Laserquellen unterschiedlicher Wellenlänge

möglich. Das reflektierte Licht wird über Glasfaserbündel mit einem Querschnitt von 4 mm gesammelt und dem Detektor zugeleitet. Die Faserbündel besitzen eine Länge von 3 m.

Der Detektor

Um die Erfassung auch geringer Änderungen der Signalintensität zu erlauben, verwendeten wir für die Konstruktion der Detektoreinheit 8 besonders sensitive Avalanche-Photodioden-Detektor-Module (APD's) mit einem aktiven Durchmesser von 3 mm (C5460-01, Hamamatsu Photonics, Japan), welche mit selbstentwickelten gleichspannungsgekoppelten (DC-) Verstärkern mit einem Verstärkungspotential zwischen 1 und 15 verbunden sind. Die Photodioden erlauben eine Hochgeschwindigkeitslichtdetektion durch eine Zeitauflösung von wenigen ms mit hoher Sensitivität bei einem guten Preis-Leistungs-Verhältnis. Die Steuerung des Gerätes erfolgt durch in LabView programmierte Software, welche über eine 16-bit-A/D-Wandlerkarte (PCI-6034E, National Instruments) die verstärkten APD-Signale ausliest und digitalisiert speichert. Über weitere analoge input- und digitale in/output- Kanäle können z.B. Stimulussignale simultan aufgenommen werden.

Die Lasersteuerungs- und Datenakquisitionsoftware

Um das System bedienerfreundlich zu gestalten, erfolgt sowohl die Lasersteuerung als auch die Datenerfassung über ein in LabView generiertes Programm. Sowohl die Laser- als auch die Detektoreinheit sind vom Benutzer lediglich mit dem Rechner zu verbinden, mit Strom zu versorgen und einzuschalten; alle anderen Einstellungen werden in LabView vorgenommen. Abbildung 11 zeigt die Benutzeroberfläche des LabView-Programmes. Über die gelb unterlegten Felder werden die für eine Messung notwendigen Eingaben (Definition der verwendeten Kanäle, Angabe der Abtastrate und des Speicherpfades) getätigt. Bei allen in dieser Arbeit vorgestellten Messungen wurde für den Digitalisierungsprozess eine Abtastrate von 2 kHz gewählt. Die Daten werden dann LabView-gesteuert über die Zeit der Laserschaltsequenz (ca. 40-50 ms) gemittelt und gespeichert. Neben der offline-Datenauswertung in Matlab (siehe nächstes Kapitel) wird durch eine in das Programm integrierte Funktion zur Berechnung der Hämoglobinkonzentrationsänderungen eine Online-Betrachtung in farbkodierter Skalierung ermöglicht. Bei Bedarf kann ein zusätzliches

Markersignal mit in den Datensatz aufgenommen werden. Der Anwender hat des Weiteren die Möglichkeit, vor Beginn der Messung einen „Intensitäts-Test“ vorzunehmen und gegebenenfalls den Kontakt der Optoden zur Kopfhaut zu verbessern und die Anbringung des Pads zu optimieren.

Es lassen sich alternative Messgeometrien oder auch Messungen bei nur einer Wellenlänge (etwa bei Kontrastmittel-gestützten Perfusionsmessungen) unproblematisch durch Modifikation erstellen.

Das vollständige unter meiner Mitwirkung entwickelte Programm ist im Anhang aufgeführt. Der Quellcode ist auf der beiliegenden CD enthalten.

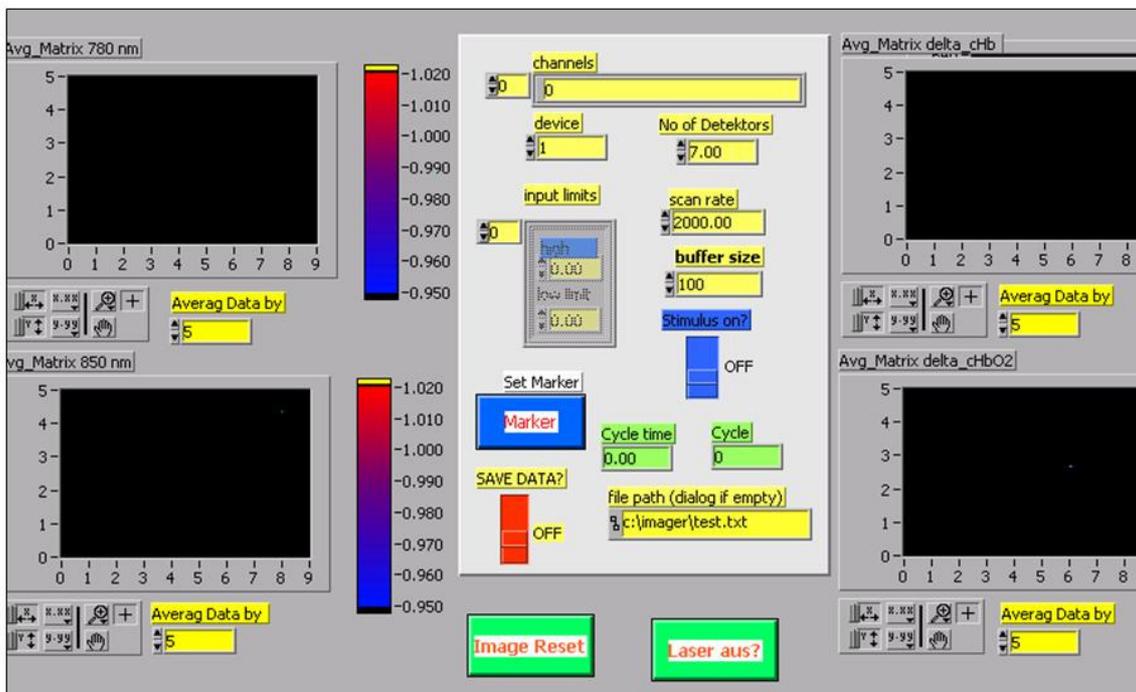


Abb. 11: Die Benutzeroberfläche des LabVIEW-Programmes zur Datenerfassung. Alle notwendigen Eingaben werden über die gelb unterlegten Felder getätigt. Über integrierte Algorithmen ist es möglich, während der Untersuchung sowohl die Intensitätsänderungen beider Wellenlängen (rechte „Boxen“, oben 760 nm, unten 850 nm) als auch die Konzentrationsänderungen des oxy- und deoxy-Hb (linke „Boxen“, oben [deoxy-Hb], unten [oxy-Hb]) online zu verfolgen. Dies geschieht farbkodiert nach Erstellung einer Matrix, in die die Daten nach dem Muster des Layouts der Messpositionen einsortiert werden.

Die Datenauswertung in MATLAB

Obgleich das Steuerungsprogramm des Systems die Hämoglobinkonzentrationsänderungen on-line berechnet, wurde eine weitere off-line Analysesoftware in Matlab (Mathworks GmbH) geschrieben, um eine valide statistische Analyse der Daten zu ermöglichen. In der Grundprozessierung sind folgende Algorithmen enthalten:

- I. Umgebungslichtsubtraktion. Durch Aufzeichnung von Intensitätswerten (5 Zyklen) bei abgeschalteten Laserquellen am Ende jeder Messung, Mittelung der Werte und Subtraktion von den bei angeschalteten Laserquellen erhobenen Intensitäten.
- II. Erstellung einer 10x5-Matrix in Analogie zur Messanordnung. Zur besseren Visualisierung werden die unten dargestellten Images durch bilineare Interpolation benachbarter Punkte und anschließende Vergrößerung um den Faktor 2 - 5 konstruiert.
- III. Driftreduktion durch Low-pass-Filterung (Polynom 1. - 3. Ordnung)
- IV. Glättung der Daten

Die gemessenen Attenuationsänderungen $\Delta A(\lambda)$ beider Wellenlängen werden unter Anwendung des modifizierten Lambert-Beer'schen Gesetzes (s.o.) in Änderungen der Hämoglobinkonzentration Δc_i konvertiert. Zur weiteren Datenprozessierung haben wir Analysekonzepte der funktionellen Kernspintomographie in die optische Topographie übertragen. Das Programm orientiert sich an den etablierten statistischen Methoden des Statistical Parametric Mapping (SPM 99, Wellcome Department of Imaging Neuroscience, London, England).

Aktivierungsmaps basierend auf der Größenordnung der Änderung der Chromophorenkonzentrationen

Die Änderungen der Chromophorenkonzentrationen werden über alle Stimulationszyklen gemittelt und als Funktion der Zeit nach Stimulationsbeginn farbcodiert dargestellt. Aus diesen Oxygenierungsbildern lassen sich die räumliche Ausdehnung der Konzentrationsänderungen sowie der Ort der maximalen Änderungen entnehmen. Über die Definition von regions of interest (ROI) durch Mausklick innerhalb der topographischen Abbildung lassen sich für jeden Punkt der Matrix die Zeitverläufe über alle Stimulationszyklen darstellen.

Aktivierungsmaps basierend auf Stimulus-Antwort-Korrelation

Wenn Δc_i für die Konzentrationsänderung an einer bestimmten Stelle steht und f_i entweder die Stimulusfunktion als Rechteck oder die hämodynamische Antwortfunktion beschreibt, ist der Pearson'sche Korrelationskoeffizient definiert als:

$$r = \frac{\sum_i (\Delta c_i - \overline{\Delta c}) \cdot (f_i - \overline{f})}{\left(\sum_i (\Delta c_i - \overline{\Delta c})^2 \right) \cdot \left(\sum_i (f_i - \overline{f})^2 \right)}$$

Wird die Rechteck-Stimulus-Funktion der Korrelationsanalyse zugrunde gelegt, muss bedacht werden, dass sich die vaskuläre Antwort nach Stimulationsbeginn und -ende um einige Sekunden verzögert. Dieser Tatsache wird Rechnung getragen, indem die Rechteck-Stimulus-Funktion um einige Sekunden „verschoben“ wird. Aus Abbildung 12 wird deutlich, dass eine „Verschiebung“ von 2-3 Sekunden in den besten Korrelationen resultiert. Für die Analyse wird ein Mittelwert über alle Stimulationszyklen i gebildet. Durch Berechnung von r für alle Punkte der Matrix lässt sich eine Topographie der Korrelationen erstellen.

In Analogie zu den Arbeiten von Boynton et al. (1996) für die fMRT und Wobst et al. (2001) für die NIRS lassen sich neben Korrelationsanalysen auf einen Rechteck-Stimulus auch Korrelationskoeffizienten unter der Annahme einer hämodynamischen Antwortfunktion errechnen (Boynton et al. 1996; Wobst et al. 2001). Wobst et al. zeigten, dass sich unter der Annahme eines linearen Transfermodells zwischen neuronaler Aktivität und vaskulärer Antwort durch eine Faltung der Boxcar-Stimulus-Funktion mit einer angenommenen hämodynamischen Antwortfunktion eine physiologisch realistischere Prädiktion für die Oxygenierungsänderungen ([deoxy-Hb]) bei visueller Stimulation für Stimulationsblöcke > 6 Sekunden ergibt. In Analogie zu Wobst et al. wählten wir als Impulsantwortfunktion $h(t)$ eine Modifikation der von Boynton et al. verwendeten Gammafunktion:

$$h(t) = \frac{(t/\tau)^2 \cdot e^{-(t/\tau)}}{\tau \cdot 2}$$

Die Zeit wird durch t repräsentiert, τ steht für die Zeitkonstante, welche Einfluss auf die Anstiegs- und Abfallszeit der Impulsantwortfunktion hat. Wir setzten $\tau=2$ s.

Die hämodynamische Antwortfunktion $y(t)$ wurde durch Faltung (Konvolution) von $h(t)$ und der Stimulus-Rechteck-Funktion $x(t)$ bestimmt (graphisch dargestellt in Abbildung 12):

$$y(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{t'^2 \cdot e^{-t'/\tau}}{2 \cdot \tau^3} \cdot x(t-t') \cdot dt'$$

Wie oben beschrieben wird anschließend eine Korrelationsanalyse zwischen der erhaltenen Funktion $y(t)$ und den Konzentrationsänderungen der Chromophore für alle Punkte der Matrix durchgeführt. Abbildung 12 zeigt, dass die Korrelation zwischen dem [deoxy-Hb]-Zeitverlauf und der hämodynamischen Antwortfunktion höher ist als die Korrelation zwischen dem [deoxy-Hb]-Zeitverlauf und der zeitverschobenen Boxcar-Funktion.

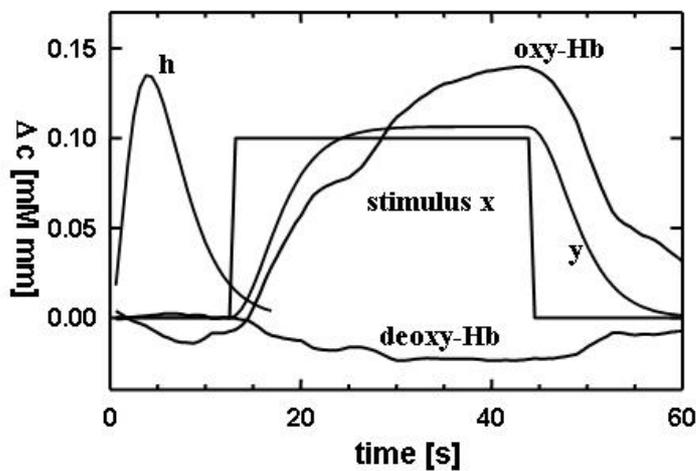


Abb. 12: Die über 7 Stimulationszyklen gemittelten Konzentrationsänderungen während eines Fingertappingexperimentes von 30 Sekunden Länge werden durch die Kurven des [oxy- und deoxy-Hb] präsentiert. X zeigt die Stimulus-Rechteck-Funktion, h die Impulsantwortfunktion und y die durch Faltung von x und h erhaltene hämodynamische Antwortfunktion.

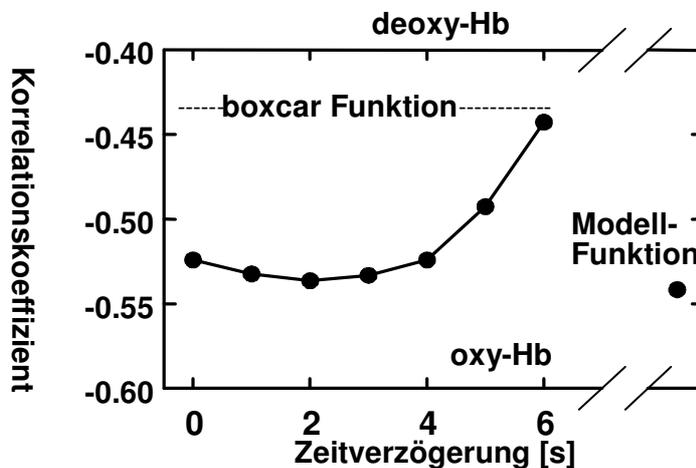


Abb.13: Die Korrelationskoeffizienten für den [deoxy-Hb]- Zeitverlauf aus Abbildung 12. Es wurden zum einen die Korrelationskoeffizienten auf die Boxcar-Funktion mit einer Zeitverzögerung von 0-6 Sekunden und zum anderen die Korrelationskoeffizienten auf die hämodynamische Antwortfunktion dargestellt.

Aktivierungsmaps basierend auf t-Test-Statistik

Durch die Prüfung der Signifikanzen der Konzentrationsänderungen der Chromophore werden die Daten einer weiteren statistischen Prüfung unterzogen. Der zweiseitige gepaarte t-Test soll prüfen, ob durch die Stimulation die Konzentration der Chromophore signifikant verändert wird. Durch Auswahl zweier Zeitfenster, von denen das eine aus dem Bereich der 10 sec vor Stimulationsbeginn und das zweite aus dem Stimulationszeitraum zu wählen ist, werden die zu vergleichenden Stichproben bestimmt. Die Mittelwerte der Konzentrationsänderungen innerhalb dieser Fenster werden für alle Stimulationszyklen bestimmt. Durch Ausführung des t-Testes an allen Messpositionen wird eine topographische Kartierung der Signifikanzen durch farbkodierte Darstellung des t-Wertes und der entsprechenden p-Werte erstellt. Eine zweite topographische Abbildung zeigt auf, an welchen Positionen des Messvolumens die Konzentrationsänderungen Signifikanzniveaus mit $p \leq \alpha^*$ erreichen.

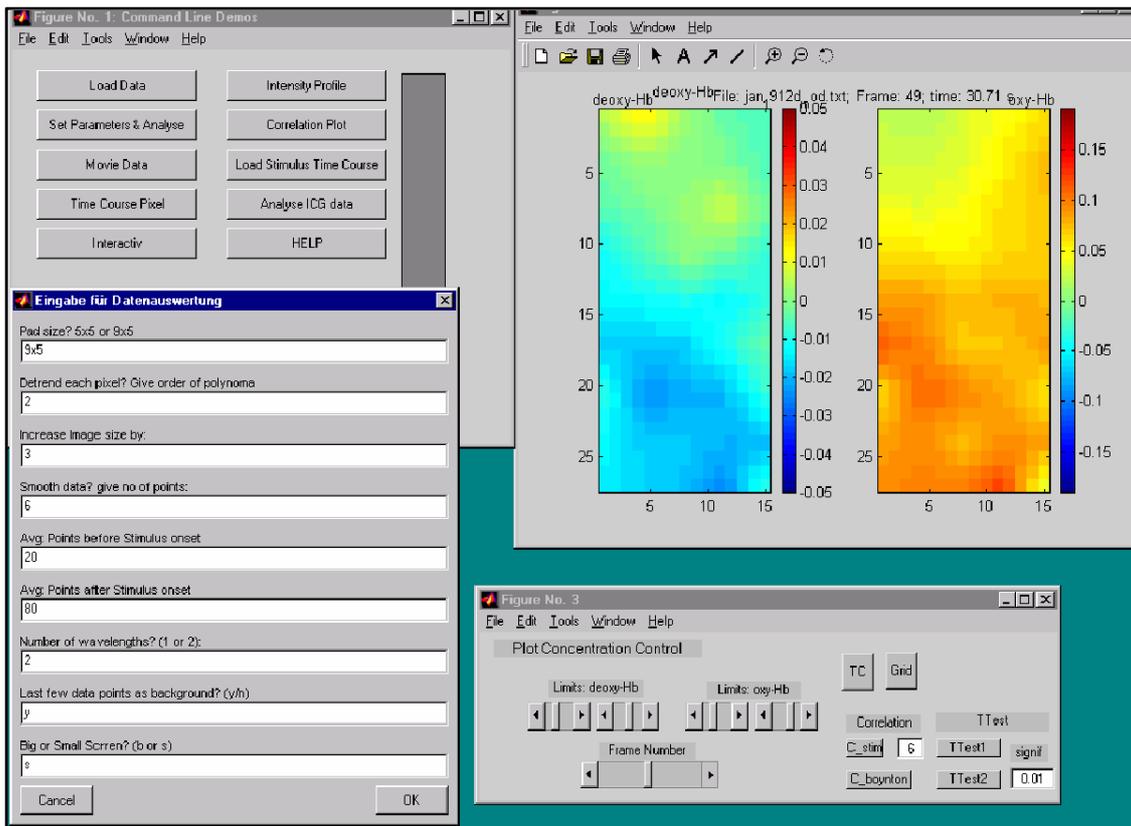


Abb.14: Die Benutzeroberfläche der in MatLab erstellten Auswertesoftware. Nach dem Laden des Datensatzes sind über das „Eingabefenster“ (links unten) die für die folgende Analyse notwendigen Parameter zu definieren. Dies sind zum Beispiel: Polynom zur Driftreduktion, Angabe der Anzahl der Datenpunkte, über die geglättet werden soll, die Anzahl der Datenpunkte, über die vor und nach Stimulusbeginn gemittelt werden soll. Es ist notwendig, die Anzahl der verwendeten Wellenlängen anzugeben und zu definieren, ob eine Umgebungslichtsubtraktion ausgeführt werden kann. Nach Analyse der Daten öffnet sich eine topographische Kartierung der Konzentrationsänderungen (rechts oben) und ein „Analysefenster“ (rechts unten), über das die Darstellung der Aktivierungstopographie für jeden Experimentalzyklus, die individuelle Auswahl eines Punktes innerhalb der Topographie zur Darstellung der Zeitverläufe und die statistische Auswertung gesteuert wird. Die Selektion der speziellen Auswertesoftware für die Analyse der ICG-Daten erfolgt über das „Eingabefenster“.

Neuroanatomische Grundlagen

Wir untersuchten zur Testung unseres bildgebenden NIRS-Gerätes basale Stimulations-Paradigmen, die zu einer Aktivierung des motorischen und des visuellen Kortex führen. Daher wird zunächst eine kurze Beschreibung der Topographie des motorischen und des visuellen Kortex gegeben.

Der motorische Kortex

Der somatotop organisierte primär motorische Kortex (M1, Brodmann Area 4) ist im Gyrus praecentralis des Frontallappens lokalisiert. Er steuert über die kortikospinalen und kortikonukleären Bahnen die Willkürmotorik. Der primär motorische Kortex erhält unter anderem Eingänge aus dem prämotorischen (Brodmann-Areale 6,8) und dem supplementären motorischen Kortex (SMA), welche für die Planung und Programmierung komplexer Bewegungen wichtig sind. Weitere Afferenzen stammen aus dem sensorischen und frontalen Kortex sowie dem limbischen System. Die Basalganglien und das Zerebellum optimieren Bewegungen, so dass sie sicher, schnell und koordiniert ausgeführt werden können. Die somatotope Organisation von M1 führt dazu, dass bei Bewegungen der Finger eine laterale, bei Bewegung der Beine aber eine mediale mantelkantennahe Aktivierung zu erwarten ist.

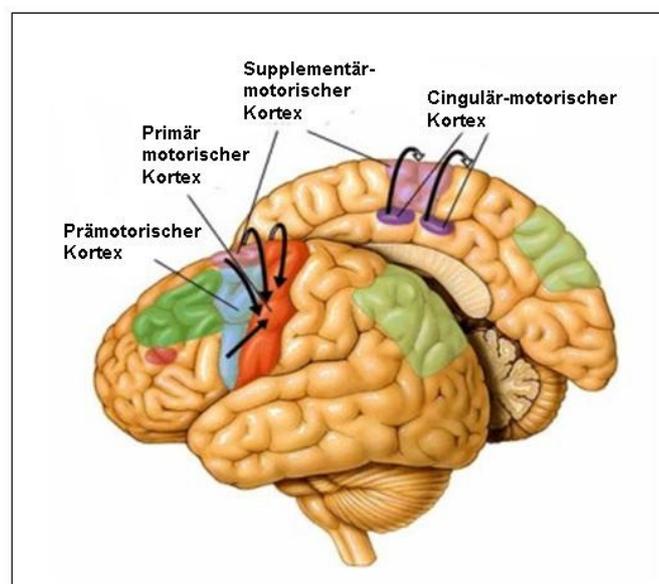


Abb.15: Anatomie und Verbindungen primär und sekundär motorischer Areale

Über das Visuelle System

Visuelle Informationen, die von einem Objekt innerhalb einer Gesichtsfeldhälfte stammen, werden über die Retina und den Nervus Opticus an das kontralaterale Corpus geniculatum laterale (CGL) des Thalamus weitergeleitet. Dort erfolgt die Umschaltung auf die die Sehstrahlung bildenden Neurone, welche in den primär visuellen Kortex projizieren (Brodmann-Areal 17, V1, Area striata). Dieser Teil des Kortex ist am posterioren Pol beider Großhirnhemisphären im medialen Teil des Okzipitallappens des Gehirns, ober- und unterhalb des Sulcus calcarinus, lokalisiert. In einer Dicke von etwa 3 mm liegen sechs Schichten, in denen visuelle Signale aufgenommen, intrakortikal verarbeitet und an die sekundären visuellen (extrastriären) Areale V2-V5 weitergegeben werden. In diesen Kortexfeldern werden Informationen zu Form, Farbe und Bewegung parallel verarbeitet. Es ist dabei nicht ein spezielles Areal auf eine einzige Funktion spezialisiert, vielmehr finden sich in den Arealen jeweils Zellen, die vorwiegend auf ein bestimmtes Reizmerkmal abgestimmt sind: z.B. in V4 insbesondere auf Farbe (Zeki et al. 1991). Das im Sulcus temporalis superior und damit deutlich lateral der anderen visuellen Areale gelegene Areal V5/MT enthält Neurone, die vorwiegend richtungsselektiv mit der Verarbeitung von bewegten Reizen beschäftigt sind (Watson et al. 1993).

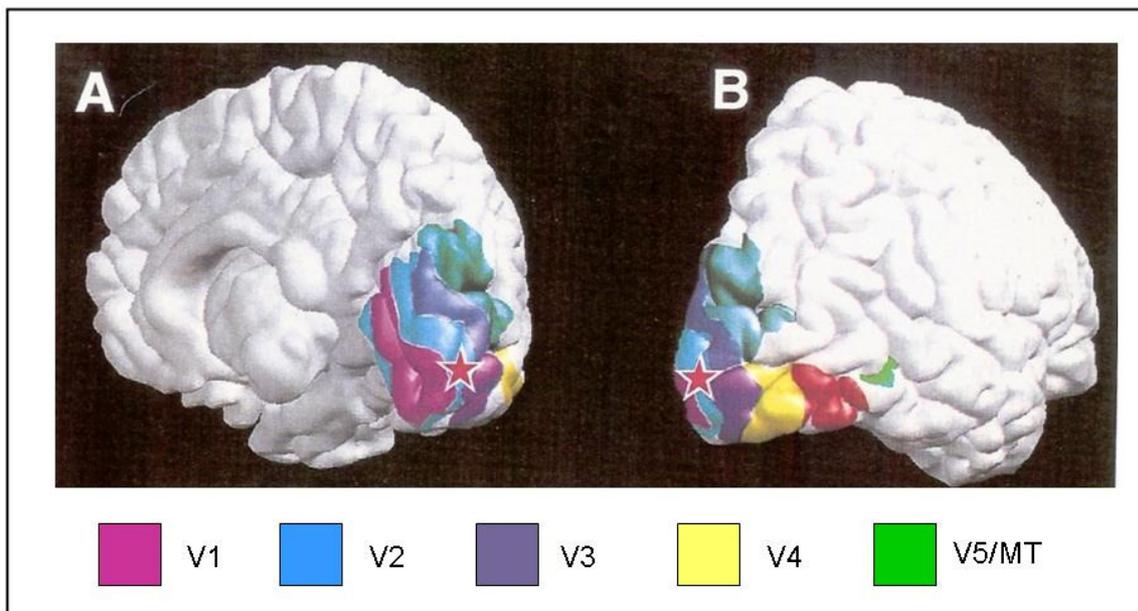


Abb.16: Anatomie ausgewählter visueller Areale (nach Tootell et al. 1996)

Die Stimulationsparadigmen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden motorische und visuelle Stimulationsexperimente durchgeführt. In insgesamt 16 Messungen wurden gesunde Probanden und Probandinnen (mittleres Alter 24 Jahre) in zwei experimentellen Designs untersucht. Die Probanden saßen während der Experimente in einem ruhigen, abgedunkelten Raum in einem bequemen Sessel. Vor Beginn des Experimentes erfolgte eine Aufklärung über die Methode, den Versuchsaufbau und die Durchführung. Alle Probanden gaben ihr Einverständnis und erhielten eine Aufwandsentschädigung.

In einer weiteren Studie wurde der Imager zu Bedside-Perfusionsmessungen mit dem optischen Kontrastmittel ICG (Indocyaningrün) verwendet. Es wurden 5 Schlaganfall - Patienten (3 männlich, 2 weiblich, mittleres Alter 78 Jahre) direkt am Krankenbett untersucht. Auch mit den Patienten erfolgte ein ausführliches Aufklärungsgespräch, sie erklärten sich einverstanden.

Für alle genannten Studien lag ein positives Votum der Ethikkommission der Charité vor.

Es sei betont, dass es sich um eine Arbeit zur Entwicklung und experimentellen Validierung eines Messsystems zum Erhalt topographischer Informationen von Oxygenierungsänderungen handelt. Die Ergebnisse der getesteten Paradigmen werden mit gut untersuchten Antwortmustern verglichen. Entsprechend werden im Ergebnisteil beispielhaft die Ergebnisse einzelner Probanden dargestellt. Auch wird in der vorliegenden Arbeit auf interindividuelle Vergleiche verzichtet, da es sich um eine Darstellung und prinzipielle Validierung des von uns entwickelten Gerätes handelt.

Oxygenierungsänderungen bei motorischer Stimulation

Diese Studie sollte in erster Linie der Validierung des Imaging-Systems dienen. Ziel war es, die Antwort auf eine einfache motorische Aufgabe zu untersuchen und mit den in früheren Ein- oder Zwei-Kanal-NIRS-Monitor-Studien erhaltenen Antwortmustern zu vergleichen (Obrig et al. 1996). Die motorische Aufgabe bestand in einer unilateralen Fingeropposition der rechten Hand (Opposition des Daumens mit den verbleibenden Fingern) mit einer Frequenz von etwa 4 Hz, welche über einen Zeitraum von 25 bzw. 30 Sekunden gefolgt von einer ebenso langen Ruheperiode durchgeführt wurde. Jeder Proband führte mindestens 5

Zyklen dieses Paradigmas aus. Das Imager-Pad wurde nach dem internationalen 10-20 System über einem Areal, welches C3 als Zentrum hatte, angebracht. Die Zielstruktur stellte die Handregion des linken primär-motorischen Kortex (M1) dar.

Oxygenierungsänderungen bei differentieller visueller Stimulation

Das Ziel dieser Studie war die Zuordnung unterschiedlicher funktioneller Areale bei differentieller Stimulation im visuellen System. Es sollte getestet werden, ob sich die visuellen Areale V1-V4 von dem bewegungssensitiven Areal V5, welches sich etwas lateraler an der rostralen Grenze des Okzipitallappens befindet, differenzieren lässt. Es wurden zwei Stimulationsparadigmen verwendet. Um vor allem in der Area Striata (V1) eine maximale Aktivierung zu erzielen, wählten wir ein alternierendes schwarz-weißes Schachbrettmuster mit einer Kontrastwechselfrequenz von 8 Hz (Kaufmann et al. 2001). Für die Aktivierung des Areals V5 schien ein von Tootell et al. entwickelter Stimulus mit kontrastarmen, langsam expandierenden und kontrahierenden konzentrischen Ringen am besten geeignet (Tootell et al. 1995a). Für diese Studie wurde das Pad über der linken Okzipitalregion des Probandenkopfes entsprechend Abbildung 17 lokalisiert. Der linke Rand des Pads bedeckte gerade die Mittellinie. Den Probanden wurden nach einer Dunkeladaptationszeit von einer Minute zunächst 10 Stimulationszyklen des Schachbrettmusters präsentiert. Ein Zyklus bestand jeweils aus 30 Sekunden Stimulation und 30 Sekunden Betrachten eines schwarzen Bildschirms (Ruhephase). Die Probanden wurden angehalten, das Schachbrett über den gesamten Messzeitraum zentral zu fixieren. Im Anschluss daran wurde den Probanden, ohne die Padposition verändert zu haben, der Ringstimulus nach demselben Paradigma (30 Sekunden Stimulation, 30 Sekunden Ruhe, 10 Zyklen) präsentiert.

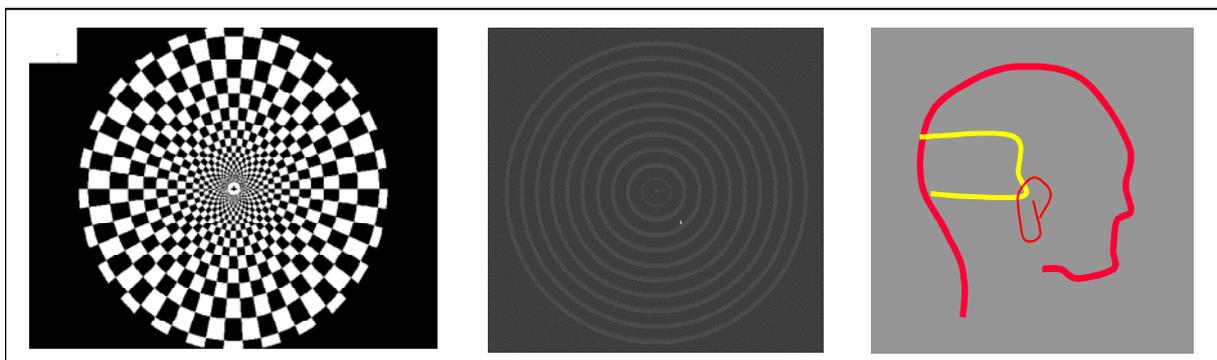


Abb.17: Links ist das schwarz-weiße Schachbrettmuster dargestellt, welches mit einer Kontrastwechselfrequenz von 8 Hz besonders den primär visuellen Kortex aktiviert. Mitte: Die kontrastarmen, langsam expandierenden und kontrahierenden konzentrischen Ringe als Stimulus für das visuelle Areal V5, das besonders auf bewegte Stimuli eine Antwort zeigt. Rechts: Die Lokalisation des Pads für diese Studie.

ICG-Bolusinjektionen bei Schlaganfallpatienten

Indocyaningrün (ICG, ICG-Pulsion®) ist ein optisches Kontrastmittel, das seit vielen Jahren in der ophthalmologischen Diagnostik eingesetzt wird. Da es im NIR-Spektralbereich ein Absorptionsmaximum zeigt, kann es auch für NIRS-Messungen genutzt werden. In Analogie zur Gadolinium-Bolus-Gabe zur Erstellung perfusionsgewichteter MR-Bilder (pWI, perfusion weighted imaging) wird mit diesem Ansatz die Transitzeit und Bolusform im Messvolumen der NIRS untersucht. Damit lässt sich ein Parameter ähnlich der MTT (mean transit time) bestimmen.

Alle untersuchten Patienten zeigten Symptome einer subakuten oder älteren Ischämie im Versorgungsbereich der A. cerebri media (rechts oder links), die sich durch eine cCT oder MRT bestätigen ließen. Anhand dieser Bilder erfolgte die Positionierung des Pads etwa zu gleichen Teilen über dem ischämischen Defektareal und dem angrenzenden Gewebe. Über einen peripher-venösen Zugang erfolgten jeweils 5-8 Injektionen von ICG (Pulsion®, 5 mg in 3 ml H₂O) während kontinuierlichem NIRS-Monitoring.

ERGEBNISSE

Oxygenierungsänderungen bei motorischer Stimulation

Ziel der ersten Experimentalreihe war es, über die Gewinnung topographischer Informationen lokalisierte Änderungen der cerebralen Oxygenierung nachzuweisen. Bei 10 von 12 untersuchten Probanden zeigte sich über dem aktivierten Areal ein [oxy-Hb]-Anstieg bei gleichzeitigem [deoxy-Hb]- Abfall gemäß dem typischen Antwortmuster bei funktioneller Stimulation. Bei 2 Probanden ließen sich keine statistisch signifikanten Konzentrationsänderungen detektieren. Die Abbildungen 18-20 zeigen die Ergebnisse eines Experimentes mit einer Stimulationsdauer von 30 Sekunden, die Abbildungen 21-22 illustrieren die Resultate eines Experimentes mit 25 Sekunden Stimulationszeit. Dem gegenübergestellt werden in den Abbildungen 23-24 Ergebnisse eines Experimentes ohne signifikante Änderung der Konzentration des [oxy-Hb] und [deoxy-Hb]. Wie am Beispiel der in Abbildung 18 und 21 gezeigten Oxygenierungs- Topographien dargestellt, zeigte sich der [deoxy-Hb]-Abfall besser lokalisiert, aber in grundsätzlich örtlicher Übereinstimmung mit dem maximalen [oxy-Hb]-Anstieg. Die Fokalität der Signalamplitudenmaxima war robust gegen die statistische Auswertung: Die Korrelationskoeffizienten für beide Chromophore ergaben Werte bis 0,7. Räumlich in Übereinstimmung mit dem maximalen [deoxy-Hb]-Abfall erreichte die Konzentrationsänderung des Chromophors infolge der Stimulation Signifikanzniveau ($p=0,01$).

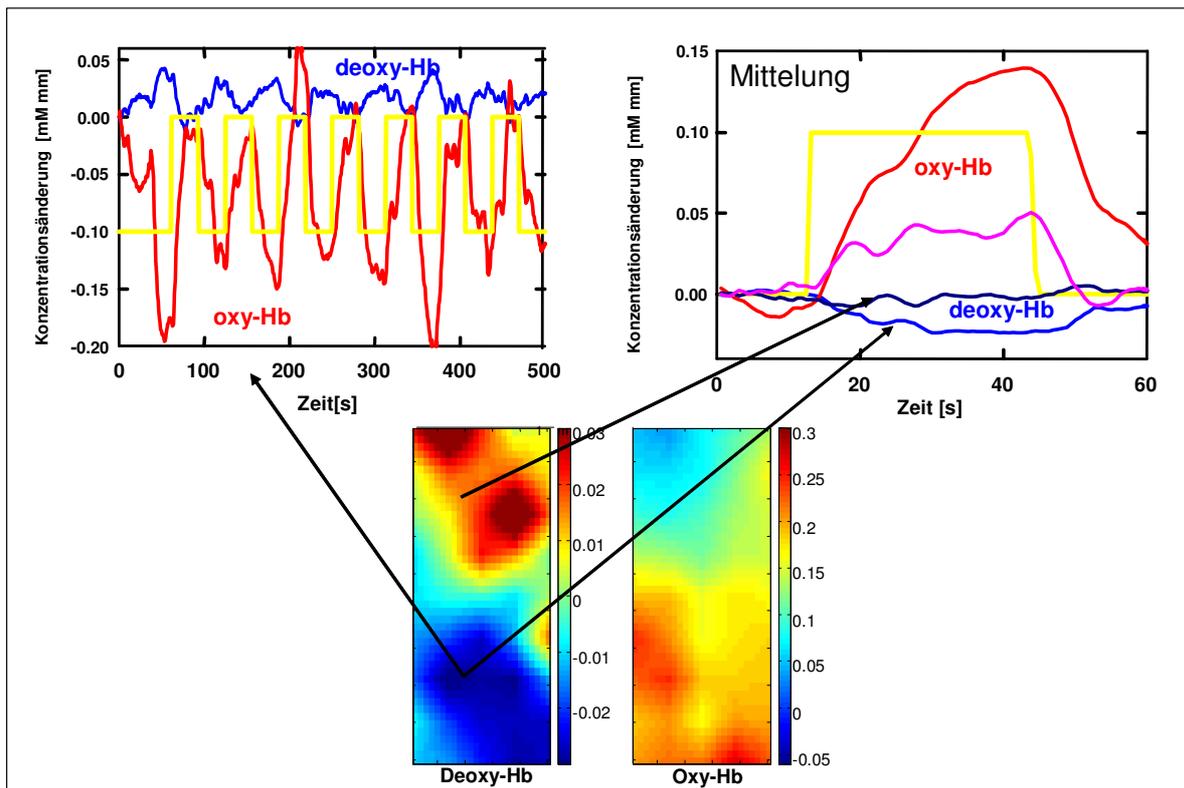


Abb.18: Unten dargestellt ist die Oxygenierungstopographie eines Probanden 20 Sekunden nach Beginn eines Fingertapping-Experimentes bei einer Stimulationszeit von 30 Sekunden. Die Einheiten der Konzentrationsänderungen werden in $\text{mM} \cdot \text{mm}$ angegeben (Erklärung im Kapitel „Grundlagen der Nahinfrarotspektroskopie“). Für einen Punkt des maximalen [oxy-Hb]-Anstieges und [deoxy-Hb]-Abfalls sind zum einen rechts der Zeitverlauf über alle Stimulationszyklen und links die Mittelung über alle Stimulationszyklen dargestellt. Mit eingefügt wurde der gemittelte Zeitverlauf eines Punktes fehlender Aktivierung. Zur besseren Visualisierung wurden die topographischen Kartierungen in dieser und in allen folgenden Abbildungen durch bilineare Interpolation um den Faktor 5 vergrößert.

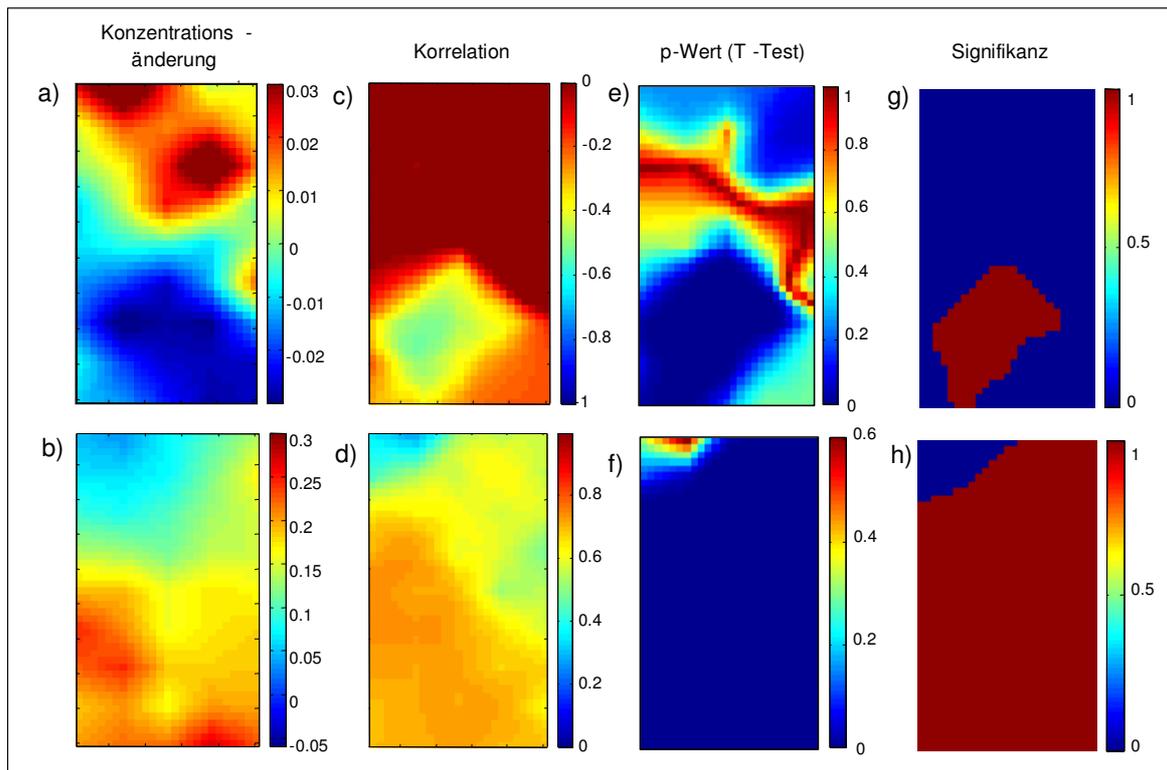


Abb.19: Oxygenierungsbild und Statistik des Fingertapping- Experimentes zum Vergleich aneinandergereiht. Obere Bilder: deoxy-Hb. Untere Bilder: oxy-Hb. Bild a und b: Farbkodierte Darstellung der Höhe der Konzentrationsänderung 20 Sekunden nach Stimulationsbeginn. Bild c und d: Korrelationskoeffizienten zwischen Konzentrationsänderung und der hämodynamischen Antwortfunktion. Bild e und f: p-Werte erhalten durch Durchführen des t-Testes. Bild g und h: Signifikanzen ($p < \alpha$ = rot = signifikant, $p > \alpha$ = blau = nicht signifikant für $p=0,01$).

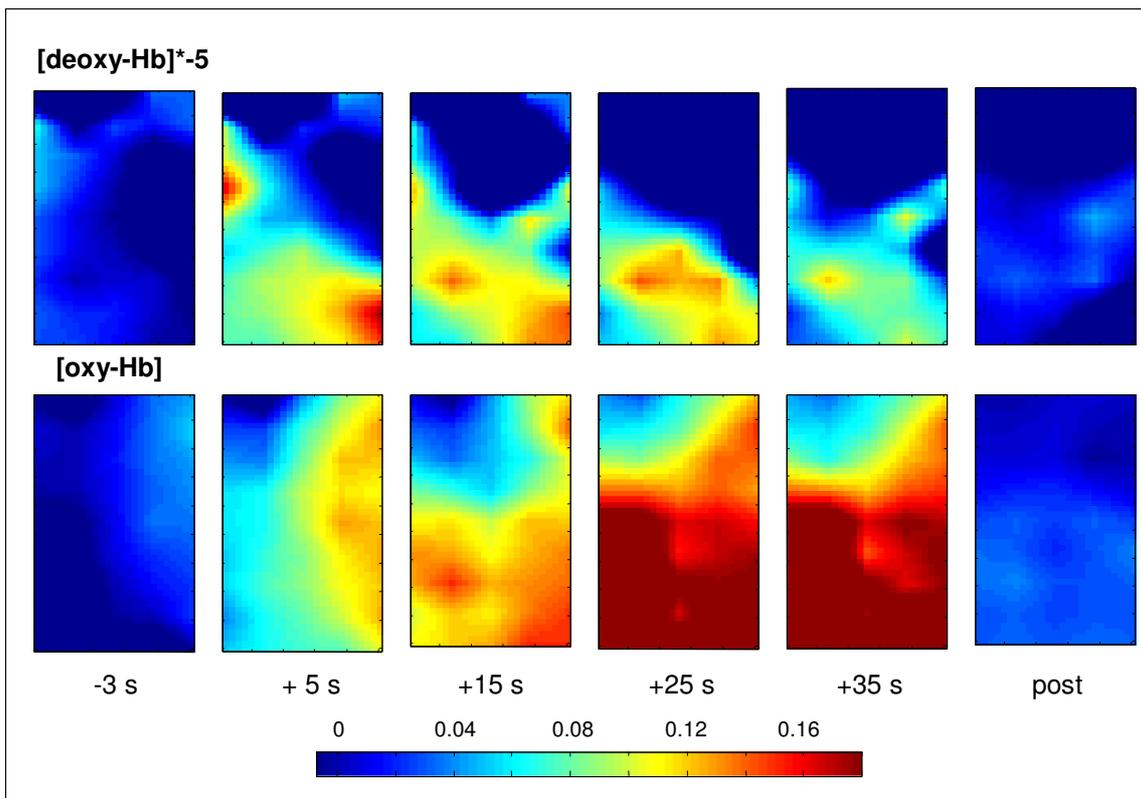


Abb.20 zeigt den zeitlichen Ablauf der Änderungen des [oxy-Hb] und des [deoxy-Hb] während einer 30 Sekunden dauernden Stimulationsperiode. Die Werte des [deoxy-Hb] wurden im Gegensatz zu den obigen Abbildungen mit -5 multipliziert, um die gleiche Falschfarbenskalierungen für beide Chromophore verwenden zu können. Rottöne zeigen somit einen Anstieg des [oxy-Hb] und einen Abfall des [deoxy-Hb] gemäß den zu erwartenden Änderungen über einem funktionell aktivierten Areal.

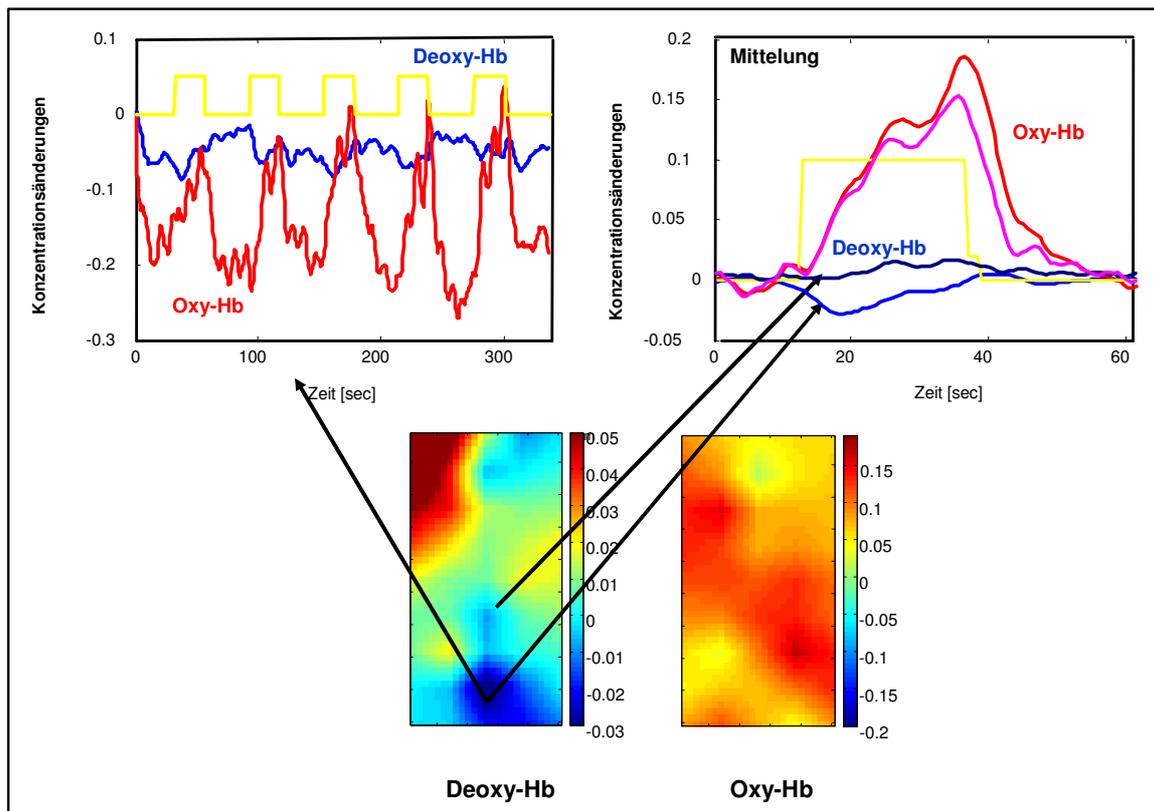


Abb.21: Analog zu Abbildung 18 werden hier die Ergebnisse eines zweiten Fingertapping - Experimentes, diesmal von 25 Sekunden Dauer, illustriert. Die untere Abbildung zeigt die Oxygenierungstopographie. Für einen Punkt der maximalen Konzentrationsänderungen wird links oben der Zeitverlauf über alle Stimulationszyklen dargestellt. Links oben die Mittelungen über alle Stimulationszyklen aus den mit Pfeilen gekennzeichneten Arealen der topographischen Karte; einmal ein Punkt maximaler Konzentrationsänderungen, einmal ein Punkt fehlender Aktivierung.

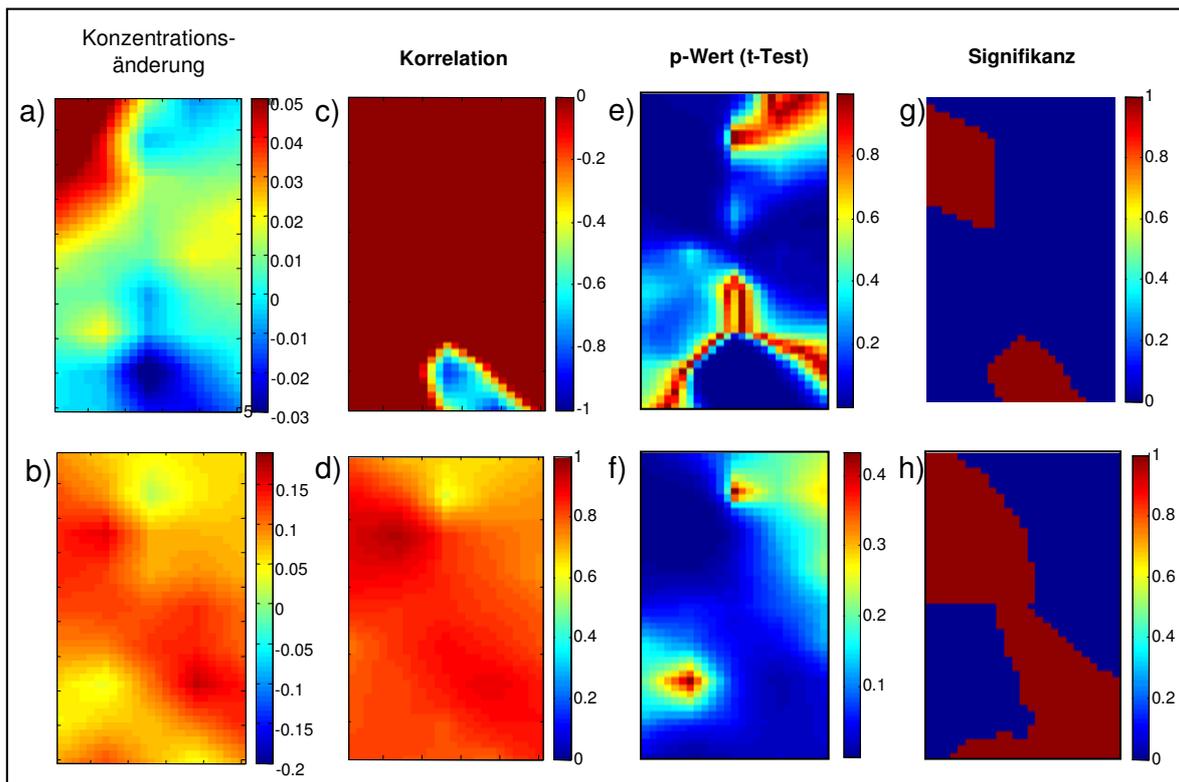


Abb. 22: Farbkodierte Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung. Obere Bilder: deoxy-Hb. Untere Bilder: oxy-Hb. Bild a und b: Oxygenierungstopographie 17 Sekunden nach Stimulationsbeginn. Bild c und d: Korrelationskoeffizienten zwischen Konzentrationsänderungen und der hämodynamischen Antwortfunktion. Bild e und f: p-Werte durch Durchführung des t-Testes. Bild g und h: Signifikanzen ($p < \alpha$ = rot = signifikant, $p > \alpha$ = blau = nicht signifikant, $p = 0,01$)

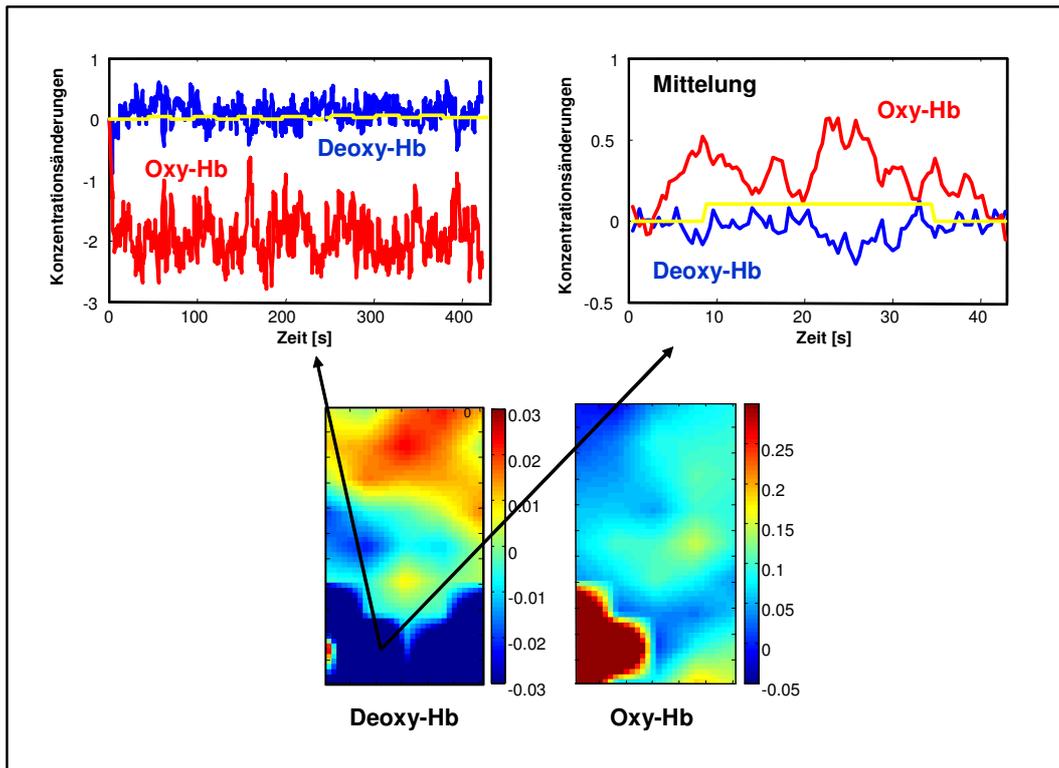


Abb.23: Anhand der im unteren Teil der Abbildung aufgeführten Topographie der Oxygenierungsänderungen würde man einen blau kodierten Abfall der Konzentration des [deoxy-Hb] und einen rot kodierten Anstieg der Konzentration des [oxy-Hb] erwarten. Die Darstellung aller Experimentalzyklen (links) und die Mittelung über alle Experimentalzyklen (rechts) an dem markierten Punkt vermeintlich großer Konzentrationsänderungen lassen vermuten, dass keine signifikanten Konzentrationsänderungen stattfinden. Bestätigt wird diese Vermutung durch die in der folgenden Abbildung dargestellte statistische Analyse.

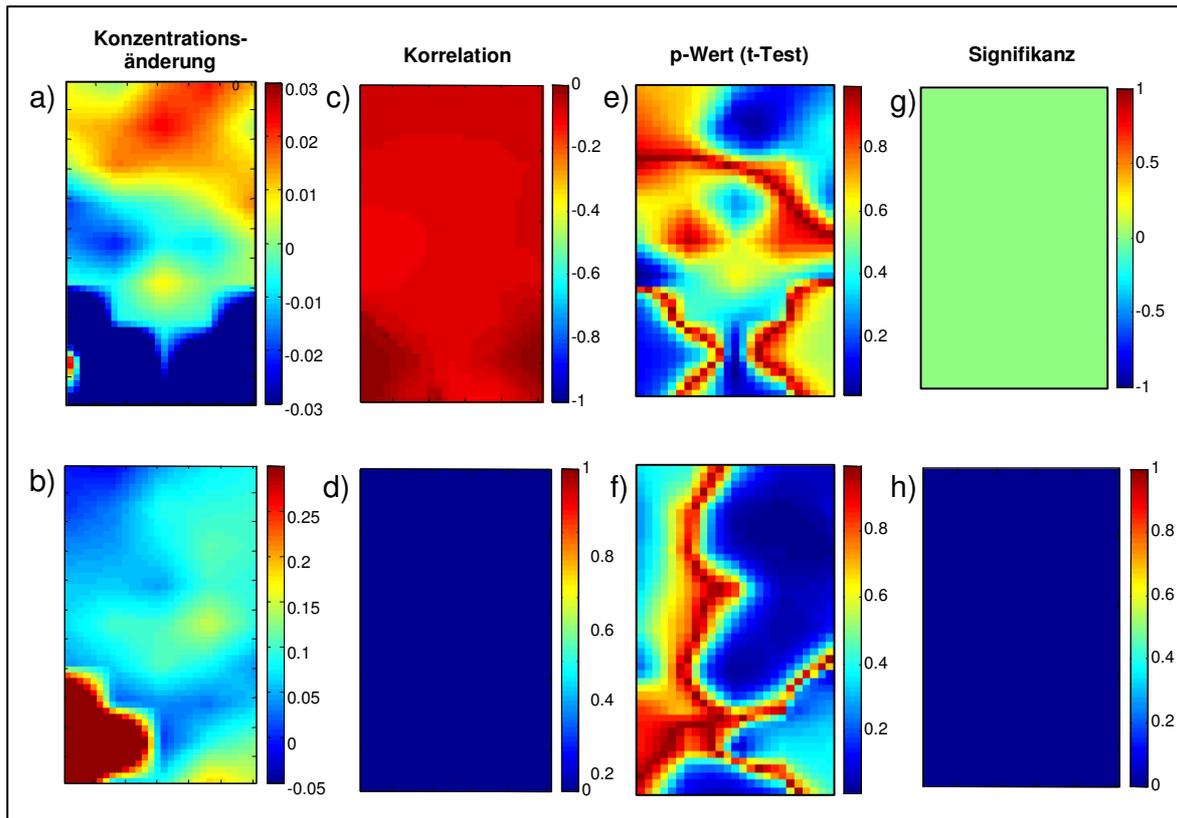


Abb.24: In Analogie zu den Abbildungen 19 und 22 werden hier die Ergebnisse der statistischen Auswertung neben einer Oxygenierungstopographie dargestellt. Es wird deutlich, dass an keinem Ort statistisch signifikante Änderungen des [oxy-Hb] und des [deoxy-Hb] detektiert wurden. Bild a und b: Oxygenierungstopographie 17 Sekunden nach Stimulationsbeginn. Bild c und d: Korrelationskoeffizienten zwischen Konzentrationsänderungen und der hämodynamischen Antwortfunktion. Bild e und f: p-Werte durch Durchführung des t-Testes. Bild g und h: Signifikanzen (Null, kodiert in den Farben grün und blau, steht für ein nicht erreichtes Signifikanzniveau, $p = 0,01$)

Oxygenierungsänderungen bei differentieller visueller Stimulation

Diese Studie hatte die topographische Differenzierung des primär visuellen Areal V1 von dem besonders auf Bewegung reagierenden Areal V5/MT durch differentielle Stimulation zum Ziel. Für 3 von 4 Probanden ist dies gelungen, ein Datensatz war aufgrund grober Bewegungsartefakte nicht auszuwerten. Die Abbildungen 25-27 zeigt anhand der Daten der Probanden eine grobe topographische Zuordnung zu dem mehr lateral gelegenen Maximum bei MT/V5-Stimulation und dem mehr medial gelegenen Aktivierungsmaximum durch Stimulation mit dem alternierenden Schachbrettmuster. Aufgrund der Ergebnisse der Korrelationsanalyse und des t-Testes lassen sich Artefakte als Ursache für die gefundene Konzentrationsänderung ausschließen. Ohne Anspruch auf allgemeine Gültigkeit ergibt sich anhand dieser Pilotexperimente ein interessanter zusätzlicher Befund: Es zeigt sich für alle Probanden und beide Experimente ein signifikanter Abfall des [deoxy-Hb], während der Anstieg des [oxy-Hb] nur teilweise das Signifikanzniveau erreicht. Eine mögliche Erklärung ist die stärkere Kontamination des [oxy-Hb]-Signals durch extracerebrale Änderungen der Oxygenierung (Boden et al. 2007).

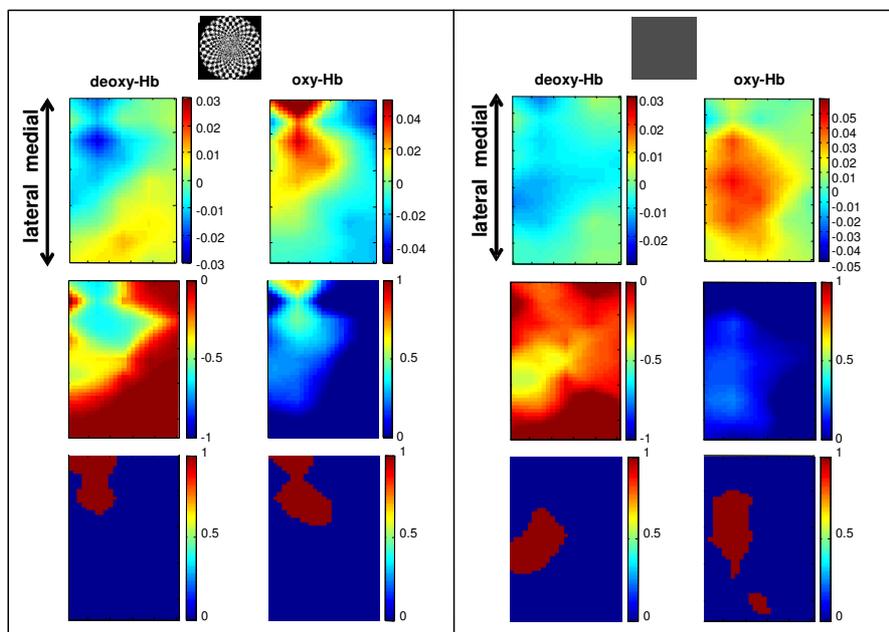


Abb. 25: Erklärung folgt

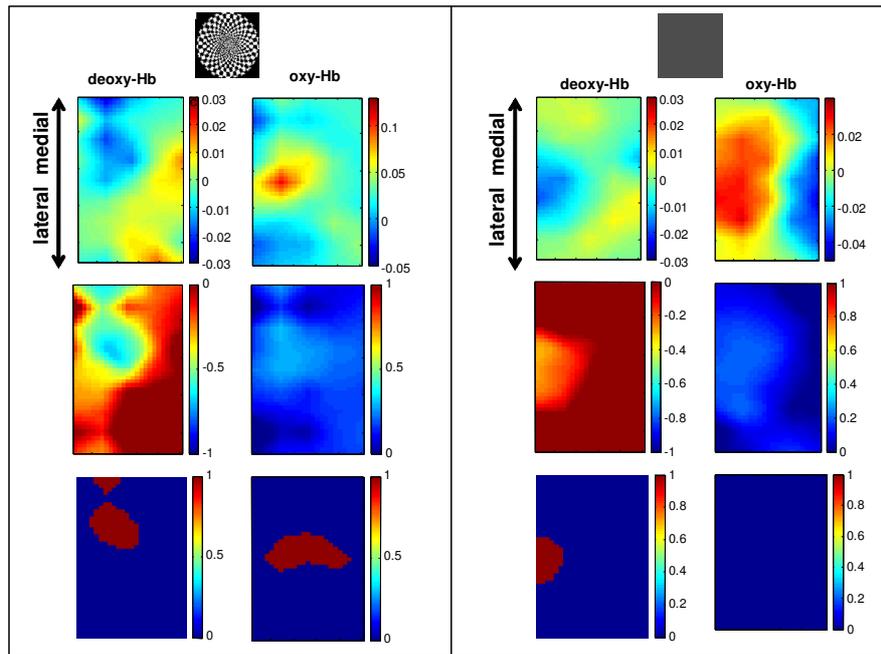


Abb. 26: Erklärung folgt

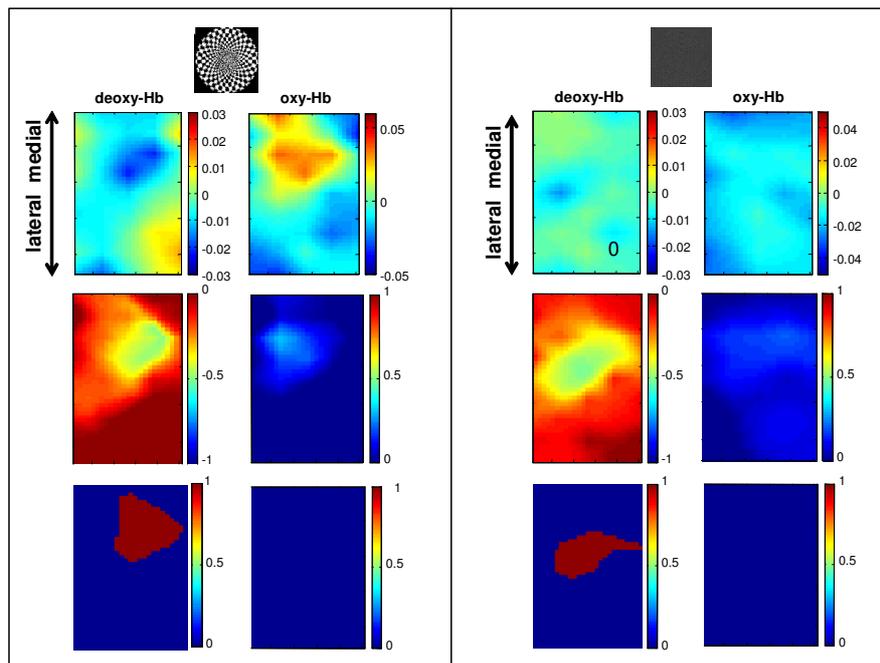


Abb.25-27 zeigen die topographischen Images und die entsprechenden Statistikbilder der Probanden für beide Stimulationsparadigmen nebeneinander. Links sind die Ergebnisse des V1-Stimulus, rechts des MT/V5-Stimulus dargestellt. Die **oberen** Images entsprechen jeweils **Oxygenierungsbildern** 10 Sekunden nach Stimulationsbeginn, die **mittleren** Images stellen die **Korrelationskoeffizienten** zwischen Konzentrationsänderung und hämodynamischer Antwortfunktion dar und die **unteren** Images zeigen die Topographie der **signifikanten Konzentrationsänderung** ($p=0,05$) auf. In den roten Arealen erreichen die Konzentrationsänderungen Signifikanzniveau.

ICG-Bolusinjektionen bei Schlaganfallpatienten

Ziel der dritten Pilot-Studie war es zu untersuchen, inwiefern eine Anwendung am Krankenbett möglich ist. Hierzu sollte untersucht werden, ob über einem ischämischen Defektareal eine verzögerte Boluslatenz des Kontrastmittels darstellbar ist. Bei 3 der 5 untersuchten Patienten mit Defekten nach zerebraler Ischämie im MCA-Gebiet gelang eine solche Darstellung der Boluslatenz, die einen ersten Machbarkeitsbeweis der Perfusionssmessung am Krankenbett mittels kontrastmittelgestützter NIRS darstellt. Bei nur eingeschränkt kooperativen Patienten war die Auswertung der durch Bewegungsartefakte stark kontaminierten Datensätze nicht möglich (2 von 5 Datensätzen). Abbildung 28 illustriert ein Beispiel einer Messung der Boluslatenz. Das cCT der 75-jährigen Patientin zeigt einen großen Substanzdefekt nach Ischämie im Versorgungsbereich der A. cerebri media links. Die Position des Imager-Pads ist rot markiert und im nebenstehenden Bild graphisch dargestellt. Die Analyse der gemittelten Bolussignale erfolgte durch Berechnung (i) der Latenz zwischen Bolusgabe und dem Erreichen von 90% der maximalen Änderung der gemessenen Intensität (Zeit der maximalen Steigung, time of maximal slope), (ii) der Zeit zwischen dem Erreichen von 10% und 90% der maximalen Änderung der Intensität (Anstiegszeit, rise time) und (iii) der Zeit bis zum Erreichen des Signalmaximums. In den rechten unteren Bildern ist die Boluslatenz für die Patientin farbkodiert dargestellt (Farbmaßstab in Sekunden). Die beiden Spuren in der linken unteren Abbildung zeigen Zeitverläufe der optischen Dichte (OD) in einem Areal über „gesundem“ Gewebe (blau) und im Randsaum des ischämischen Defektes (rot).

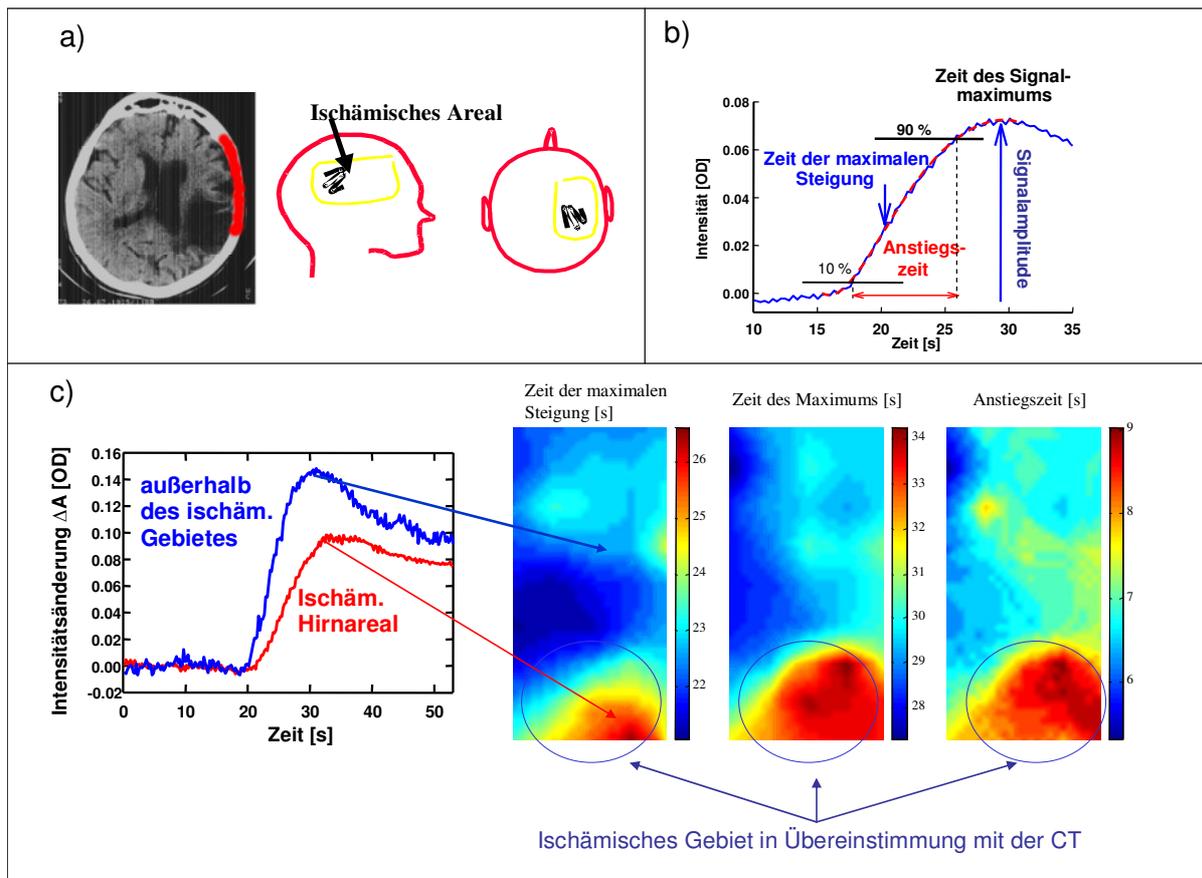


Abb.28: Beispiel einer Messung der Boluslatenz. a) cCT einer Patientin nach Ischämie im Mediastromgebiet links, rot=Position des Imager-Pads. Die Positionierung des Pads erfolgte über dem Defektareal und dem angrenzenden Gewebe. b) Illustration der Analyse der Boluskinetik (weitere Informationen im Text). c) links: Zeitverläufe der optischen Dichte über ischämischem Defektareal (rot) und angrenzendem gesunden Gewebe (blau). Rechts: Boluslatenzen farbkodiert dargestellt (Farbmaßstab in Sekunden).

Diskussion

In der vorliegenden Arbeit werden der Aufbau und die Validierung eines von uns entwickelten bildgebenden NIRS-Systems dokumentiert. In den letzten Jahren sind solche bildgebenden optischen Verfahren von einer Reihe von Gruppen genutzt worden. Daher wird im folgenden Abschnitt ein Überblick über die aktuellen bildgebenden NIRS-Studien gegeben. Nach einer Zusammenfassung der Ergebnisse dieser Arbeit werden Grenzen des Ansatzes erörtert und Lösungsansätze gegeben, die zur weiteren Verbesserung des technischen Aufbaus und damit der Anwendbarkeit der Methode im Rahmen grundlegender neurophysiologischer Studien zur nicht-invasiven Bildgebung, aber insbesondere auch für die klinisch-wissenschaftliche Anwendung dienen können.

Bildgebende Studien mit der NIRS

Tabelle 1 auf den Seiten 55/56 gibt einen Überblick über in den letzten Jahren vorgestellte bildgebende NIRS-Studien. Alle Arbeiten dokumentieren, dass die NIRS ein potentes Verfahren zur reliablen Darstellung cerebraler Oxygenierungsänderungen ist. Bezüglich der untersuchten Stimulationsparadigmen fällt auf, dass nur eine kleine Anzahl von Studien einfache motorische, sensorische oder visuelle Paradigmen untersucht. Dies ist kritisch, da eine Testung des jeweils angewandten Systems am besten durch Aktivierungsstudien erfolgen kann, die eine einfache Kontrolle (etwa ipsi- und kontralaterale motorische Stimulation) bezüglich der Validität der gemessenen Änderungen zulässt.

Die große Anzahl von Studien zur Untersuchung von Sprache (z.B. Sakai, Hashimoto, and Homae 2001) unterstreicht einen grundsätzlichen Vorteil der Methode im Vergleich zur fMRT bei der Darbietung akustischer Reize. Die NIRS ist im Gegensatz zur fMRT eine „leise“ Methode. In einer rezenten Studie wurde die Sprachlateralisierung bereits in den ersten Wochen nach der Geburt bei Neugeborenen untersucht (Pena et al. 2003). Auch speziellere Fragen zur Verarbeitung etwa prosodischen und semantischen Inhalten von Sprache wurden kürzlich vorgelegt (Homae et al. 2006; Wartenburger et al. 2007). Solche Studien zeigen, dass trotz der auch technisch limitierten räumlichen Auflösung der Methodik essentielle Fragen zur Lokalisierung kortikaler Aktivierung untersucht werden können, die in den „klassischen“

bildgebenden Verfahren wie etwa der fMRT oder der PET nicht oder nur sehr eingeschränkt möglich sind.

Neben dem Fokus der Untersuchung zu den neuronalen Grundlagen der Sprache fällt eine relativ große Anzahl von Studien auf, die komplexe kognitive Stimuli untersuchen. Ganz besonders wichtig ist der Vorteil der Methodik bei der Untersuchungen von Kindern und Neugeborenen (Baird et al. 2002; Homae et al. 2006; Pena et al. 2003; Wartenburger et al. 2007). Zwar sind in einzelnen Arbeitsgruppen auch fMRI-Studien bei Kleinkindern durchgeführt worden, doch ist neben der ethischen Dimension solcher Studien zu bedenken, dass gerade bei nicht kooperativen Probanden eine möglichst natürliche Umgebung bei der Messung enorme Vorteile bietet. So sind NIRS-Studien beim Kleinkind etwa gut durchzuführen, wenn das Kind auf dem Schoß der Mutter oder des Vaters sitzt. Neben dieser speziellen Probandengruppe gilt grundsätzlich, dass der geringe technische Aufwand der Methode im Vergleich zu der fMRT die Untersuchung im Sitzen, Stehen oder auch im Gehen möglich ist. Dieser Vorteil wurde u.a. auch bei der Untersuchung des Ganges genutzt (Miyai et al. 2001). Komplexe motorische (Okamoto et al. 2004) aber auch kognitive Aufgaben lassen sich daher gut mit der NIRS-Bildgebung untersuchen und erlauben im Gegensatz zur Elektroenzephalographie eine zwar grobe, aber grundsätzlich reliablere Lokalisation der kortikalen Aktivierung.

Diesen grundsätzlichen Vorteilen der NIRS-Bildgebung steht neben der geringeren räumlichen Auflösung im Vergleich zu fMRT und PET die Uneinigkeit gegenüber, mit der die gemessenen Signalveränderungen interpretiert werden. Dass die typische NIRS-Antwort über einem definierten kortikalen Areal aus einem Abfall des [deoxy-Hb] und einem meist größeren Anstieg des [oxy-Hb] besteht, kann aufgrund der großen experimentellen Evidenz als gesichert gelten. Die klare Definition der zu erwartenden Änderungen wird jedoch bei einer Reihe von Studien nicht berücksichtigt. So wird in einigen Veröffentlichungen über den Verlauf des [deoxy-Hb] nicht berichtet (z.B. Hoshi et al. 2003; Igawa et al. 2001; Noguchi, Takeuchi, and Sakai 2002; Watanabe et al. 2003).

Einige Autoren berichten von Übereinstimmungen ihrer Ergebnisse mit Messungen anderer vaskulär- basierter Methoden, etwa der fMRT. Umso verwunderlicher scheint es, dass dem Verlauf des [deoxy-Hb] häufig wenig Beachtung geschenkt wird (z.B. Kennan et al. 2002; Noguchi, Takeuchi, and Sakai 2002; Tanosaki et al. 2001). Lediglich dieser Parameter als Korrelat des BOLD-Kontrastes in der fMRT kann jedoch eine Verbindung dieser Studien zur

fMRT-Literatur herstellen (Huppert et al. 2006; Kleinschmidt et al. 1996; Toronov et al. 2003).

Seitdem die NIRS durch die Entwicklung kommerzieller Monitore auch einer breiteren klinischen Anwendung am Krankenbette zugänglich ist, sind eine Reihe von klinisch-pathophysiologisch orientierten Studien zu verschiedenen neurologischen und psychiatrischen Krankheitsbildern, etwa der akuten cerebralen Ischämie, der Epilepsie, der Depression und der Schizophrenie erschienen (Kato et al. 2002; Matsuo et al. 2005; Suto et al. 2004; Watanabe, Nagahori, and Mayanagi 2002). Jedoch besteht, mehr als bei funktionellen Aktivierungsstudien, eine Unsicherheit bezüglich der zu erwartenden vaskulären Antwort auf neuronale Aktivität des pathologisch alterierten Gehirns. Es muss kritisch angemerkt werden, dass Einflussfaktoren wie der strukturellen Alteration des Gehirns, der Begleitmedikation oder den Unterschieden in der Kooperation bei der Bewältigung insbesondere der kognitiven Paradigmen häufig zu wenig Beachtung geschenkt wird. Bei einem Vergleich mit gesunden Probanden der Kontrollgruppen kann nicht sicher davon ausgegangen werden, typische Differenzen zwischen physiologischen und krankheitstypischen Aktivierungsmustern darzustellen (Kato et al. 2002; Matsuo et al. 2005; Suto et al. 2004). Nur in Einzelfällen wird über die Koregistrierung von elektrophysiologischen Daten oder bildgebender Diagnostik berichtet, was jedoch bei der Beurteilung der Messergebnisse von enormer Relevanz wäre (Matsuo et al. 2005; Watanabe, Nagahori, and Mayanagi 2002).

Neben dem Studiendesign gibt es auch grundlegende Unterschiede in der Datenanalyse. Viele Studien nutzen sehr grobe oder gar keine statistischen Methoden, um die gefundenen ereigniskorrelierten Oxygenierungsänderungen auf ihre Reliabilität zu prüfen (Kennan et al. 2002). In anderen Studien werden nur die Positionen der Signalamplitudenmaxima oder nur die Veränderungen des oxygenierten Hämoglobins einer statistischen Prüfung unterzogen (Suto et al. 2004; Tanosaki et al. 2003; Watanabe, Nagahori, and Mayanagi 2002). Dies ist problematisch, da insbesondere bei komplexeren Untersuchungsparadigmen eine systemische hämodynamische Antwort (z.B. Blutdruckanstieg) nicht ausgeschlossen werden kann. Damit ist eine Differenzierung zwischen einem Bewegungsartefakt oder einer Kontamination durch extracerebrale Änderungen und dem cerebralen Signal nicht sicher gegeben. Die Anwendung von homogeneren Auswertalgorithmen mit einer statistischen Analyse sollte sich idealer Weise an etablierter Imaging-Software wie SPM orientieren. Dies würde insbesondere eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse von Studien ähnlicher Paradigmen aber unterschiedlicher bildgebender Verfahren ermöglichen.

Wie schon im Kapitel über die Grundlagen der NIRS erläutert, kann auch die Nutzung unvorteilhafter Wellenlängenkombinationen die Qualität der erhobenen Messergebnisse negativ beeinflussen. Jedoch werden häufig Laserdioden der Wellenlänge 780 nm in den Systemen eingesetzt, welche aber im Hinblick auf Cross Talk und Separabilität als unvorteilhaft einzustufen sind (z.B. Homae et al. 2006; Kennan et al. 2002; Noguchi, Takeuchi, and Sakai 2002; Taga et al. 2003).

	Erstautor+ Jahr	n	Stimulus	Oxy-Hb	Deox-Hb	Ergebnis	System	Bemerkungen
Sprache	Kennan et al. (2002)	6	Sätze: bezüglich Semantik / Syntax korrekt vs. falsch	Tot-Hb:▲		inferiorer frontaler Cortex (Broca): vergleichbarer Lateralitätsindex zwischen fMRT und OT	ETG-100 (Hitachi) 24 MP, 780&830 nm	Vergleich mit BOLD-contrast in der fMRT
	Homea et al. (2005)	21k	Präsentation von japanischen Sätzen normal intoniert und in abgeflachter Tonlage	▲		rechts temporoparietal: prominenterer Anstieg des [oxy-Hb] bei Präsentation normaler Sprache als bei Präsentation von Sprache mit abgeflachter Tonlage	ETG-100 (Hitachi) 24 MP, 780&830 nm	Untersuchung von 21 schlafenden Säuglingen, mittleres Alter 3 Monate
	Pena et al. (2003)	14k	Randomisierte Präsentation von Episoden von Vorwärtsprache, Rückwärtsprache und Ruhe	Tot-Hb:▲		temporale Areale der linken Hemisphäre werden bei der Exposition zu Vorwärtsprache mehr aktiviert als bei der Exposition zu Rückwärtsprache oder Ruhe	ETG-100 (Hitachi) 24 MP, 780&830 nm	Untersuchung von 14 schlafenden Neugeborenen
	Cannestra et al. (2003)	8	motorisch: Zungenbewegung, Fingeropposition Sprache: Objektbenennung (visuell präsentiert)	▲	▼	verschiedene Antwortmuster auf die Stimulationsparadigmen ermöglichen die Differenzierung kortikaler Areale (Broca von benachbarter Hand- und Zungenrepräsentation)	CCD-Kamera, Ganzspektrum 600-1100 nm, 2 Emittier und Detektoren	Überlappungen in den [oxy-Hb]-Antworten, lokalisierteres [deoxy-Hb]
	Noguchi et al. (2002)	8	Sätze: bezüglich Semantik / Syntax (in-/transitive Verben) korrekt vs. falsch	▲		linker inferiorer frontaler Gyrus: selektiver [oxy-Hb]-Anstieg bei syntaktisch inkorrekten Sätzen, jedoch nicht bei semantisch inkorrekten Sätzen	ETG-100, ETG-A1 (Hitachi) 2x22 MP, 780&830 nm	
Andere kognitive Studien	Baird et al. (2002)	12k	Tests zur Objektbeständigkeit	▲	(▼)	Korrelation zwischen Objektbeständigkeit und frontalem Anstieg des [oxy-Hb] und [Tot-Hb]. Alle 4 Detektorpositionen gemittelt.	MGH-NIRS, 4 MP, 785 & 830 nm	Kein klares Konzept von 'Aktivierung'
	Hoshi et al. (2003)	12	"N-back -Aufgaben" & Generierung von Zufallszahlen	▲		kein stereotypes anatom. Substrat für die central executive des Arbeitsgedächtnisses im präfrontalen Kortex	OMM-2000 (Shimadzu), 10 MP, 780, 805 & 830 nm	Erfassung des DPF an allen Messpositionen mit TRS-System
	Watanabe et al. (2003)	10	Ideenflüssigkeit aufgabe Wortflüssigkeit aufgabe Hyperventilation 3 min	▲		Frontal bilateral: Anstieg von [oxy-Hb] während der kognitiven Paradigmen, Abfall während Hyperventilation, [deoxy-Hb] zeigt keine Änderung	ETG-100 (Hitachi) 24 MP, 780&830 nm	
	Matsuo et al. (2003)	8p 26	Wortflüssigkeit aufgabe	▲	▼	präfrontal: kleinerer Anstieg des [oxy-Hb] und [Tot-Hb] bei Patienten mit Posttraumatic stress disorder bei fehlendem signifikanten Unterschied in der Durchführung	ETG-100 (Hitachi) 24 MP, 780&830 nm	[deoxy-Hb] wird mit erfasst, aber nicht middiskutiert
	Schröter et al. (2002)	14	Farb-Wort-Interferenz-Test (Stroop-Paradigma), event-related	▲	▼	unterschiedlich starke hämodynamische Antworten nach dem erwarteten Muster bei verschiedenen Konditionen innerhalb des Testes im lateralen präfrontalen Kortex	NIRO-300 (2 Kanäle); 12 Positionen in 6 Durchgängen	
motorisch/sensorisch/visuell	Tanosaki et al. (2003)	8	elektrische Medianusstimulation: 2,5,10,20 Hz (pseudorandomisiert), 0,2 s	▲	▼	liniare Erhöhung der Amplitude der "hämodynamischen Antwort" = [oxy-Hb] bei steigender Stimulationsfrequenz, [oxy-Hb]-Anstieg in S1 und S2, unterschiedliches zeitliches Muster in beiden Arealen, länger dauernd in S2	OMM2000 (Shimadzu), 16 MP, 780, 805, 830 nm	Analysen, Statistik, topographische Images nur von [oxy-Hb]. Erfassung des DPF an allen Messpositionen mit TRS-System
	Taga et al. (2003)	16k	Stroboskopisches Licht 14 Hz für 3 s (schlafende Probanden), event related	▲	(▼)	signifikante [oxy-Hb] Änderung bei 11 von 16 Neugeborenen frontal und occipital: 5 von 16 Neugeborenen occipital: 4 von 16 Neugeborenen	Hitachi, 24 MP, 780&830 nm	[deoxy-Hb] zeigte sich in der Richtung der Änderung nicht konsistent
	Kusaka et al. (2004)	5 5k	stroboskopisches Licht 8 Hz für je 15 s (schlafende Probanden)	▲	↔	Antwortmuster differieren zwischen Erwachsenen und Säuglingen (Alter 29-111 Tage)	OMM2000 (Shimadzu), 24 MP, 780, 805, 830 nm	
	Jasdzewski et al. (2003)	13	motorisch: Faustschluss visuell: alternierendes Schachbrett, Wechselfrequenz 2 Hz event related	▲	▼	Analyse des zeitlichen Profils der Antworten: in beide Paradigmen [oxy-Hb]-Anstieg vor [Deoxy]-Abfall, poststimulus - overshoot des [deoxy-Hb], poststimulus undershoot des [Tot-Hb], signifikanter "initial dip" in den visuellen, nicht aber den motorischen Daten	MGH-NIRS, 4 MP, 785 & 830 nm	"dip-Analyse" und Vergleich der Daten bei Berechnung mit verschiedenen DPF-Paaren
	Franceschini et al. (2003)	10	motorisch aktiv: Fingeropposition passiv - taktil: Berühren der ersten 3 Finger durch Untersucher elektrische Medianusstimulation: 4-5 Hz, 0,2 ms	▲	▼	typisches Aktivierungsmuster kontralateral zur Stimulation, dabei Antwort auf aktive Stimulation in Amplitude und Ausbreitung größer als bei passiven Paradigmen, ipsilateral kleinere Antworten, bei Medianusstimulation invers (oxy-Hb)-Abfall, [deoxy-Hb]-Anstieg	CW4-System (Prototype), 690&830 nm	
Pathologien	Kato et al. (2002)	6p & 5	Patienten: zurückliegende Ischämie im Bereich der rMCA -milde Hemiparese. Stimulus Greifbewegungen beider Hände, sequentiell	▲	▼	fMRT und NIRS -Topographie zeigen bei Bewegung der affektierten Hand eine erweiterte bilaterale Aktivierung des primär motorischen Kortex sowie der SMA	Hitachi, 24 MP, 780&830 nm	Vergleich mit (nicht simultan) erhobenen Ergebnissen der fMRT
	Suto et al. (2004)	23p & 16	Patienten: Depression (10), Schizophrenie (13) Kognitiv: Wortflüssigkeitstest motorisch: Fingeropposition rechts	▲	▼	dorsolateraler präfrontaler Kortex - Vergleich zu den Kontrollen: räumlich kleinerer Anstieg des [oxy-Hb] auf kleinere Amplitude bei depressiven Pat., bei schizophrenen Patienten zusätzlich Wiederanstieg in Poststimulusperiode. Motorisches Paradigma: weiter ausgebreiteter [oxy-Hb]-Anstieg bei den Patienten	2x Hitachi ETG-100, 2x24 MP, 760&840 nm	Diskutiert wird nur [oxy-Hb]
	Watanabe et al. (2003)	29p	Patienten: (therapieresistente) intractable Epilepsie, Induktion eines Anfalls mit Bernergride	HbT:▲		NIRS (iktal): Hyperperfusion in 96% der Fälle auf Fokussseite SPECT(iktal); Hyperperfusion in 69% der Fälle auf Fokussseite	NIRS 1010 (Hitachi), 24 MP, 780&830 nm	Information über Fokusseite (rechts/links) verlässlicher als topographische Information
	Matsuo et al. (2005)	10p & 10	Patienten: late onset Majordepression kognitiv: Wortflüssigkeitstest vasomotorische Reaktion: Inhalation von CO2	▲	▼	kognitiv: Aktivierung im Sinne von Anstieg des [oxy-Hb] und Abfall des [deoxy-Hb] kleiner als bei Kontrollen bilateral präfrontal Inhalation von CO2: kein signifikanter Unterschied für Δ[oxy-Hb] zwischen Kontrollen und Patienten, signifikant geringerer [deoxy-Hb]-Abfall bei Patienten mit Lateralisierung nach rechts präfrontal	ETG-100 (Hitachi) 24 MP, 780&830 nm	Vergleich des [oxy-Hb]-Anstieges mit periventrikulärer Hyperintensität mit sequentiell erstellten MRT-Images
	Terborg et al. (2004)	13p & 12	Patienten: akute Ischämie im Bereich der MCA r/l Bolus - ICG			Interhemisphärielle Differenzen in der ICG-Kintik detektieren Perfusionsreduktion bei akutem MCA-Infarkt	NIRO 300 bilateral temporal	

	Erstautor+ Jahr	n	Stimulus	Oxy-Hb	Deox-Hb	Ergebnis	System	Bemerkungen
Diverses	Kusaka et al. (2001)	15 _k & 2 _{kP}	Bolus- ICG-Gaben			rCBF bedside-Schätzung: 14.5ml/100mg/min	Hitachi (24 MP)	
	Igawa et al. (2001)	4	REM vs. non-REM-Schlaf	▲		während REM-Schlaf räumlich größerer Anstieg des [oxy-Hb] als bei visueller Stimulation und inverse Korrelation zur Alpha-Band-Aktivität	Hitachi (24 MP)	
	Miyai et al. (2002)	6	assistiertes Gehen auf Laufband, Pat. mit stattgehabtem Stroke	▲		asymmetrische Aktivierung vom primär mot. Kotex, SMA, präSMA und sensomot. Kortex in Abhängigkeit von Seite der Läsion	Shimadzu (30 MP)	
	Okamoto et al. (2003)	2 & 4 & 12	1) real Apfel schälen - Ganzkopf-NIRS 2) Nachahmung Apfel schälen (NIRS und fMRI simultan) 3) Apfel schälen real und Nachahmung Apfel schälen - NIRS präfrontal	▲	(▼)	1) Aktivierung präfrontal, über den primär motorischen, prämotorischen, supplementmotorischen, anterior parietalen, sensorischen und visuellen Arealen 2) Aktivierung über die motorischen, prämotorischen und supplementmotorischen Areale hinausgehend, aber nicht über dem präfrontalen Kortex 3) Aktivierung von Teilen der dorsolateralen, frontoparen und ventrolateralen Areale des präfrontalen Cortex	OMM-2000 (Shimadzu), bis max. 174 MP in 6 sequentiellen Messungen ; 780, 805 & 830 nm	NIRS-fMRT Messungen simultan, Δ[deoxy-Hb] mit erfasst, bessere Korrelation zwischen Δ[oxy-Hb] und ΔBOLD wird angegeben

Tabelle 1: Überblick über in den letzten Jahren vorgestellte bildgebende NIRS-Studien

Validierung des hier vorgestellten Systems

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung und Validierung eines bildgebenden optischen Spektroskopie-Systems.

Nach Planung einer geeigneten Systemstruktur und Realisierung des technischen Aufbaus wurden im Rahmen der Validierung einfache motorische und visuelle Paradigmen untersucht. Wir wählten solche einfachen und etablierten Designs, um die gefundenen Antwortmuster mit publizierten Ergebnissen zu vergleichen und so eine einfache Kontrolle bezüglich der Validität der gemessenen Änderungen zu erlauben.

Folgende Ergebnisse lassen sich aus unseren Studien zusammenfassen:

- (1) Die Oxygenierungsbilder lassen es zu, die Fokalität der Antwort darzustellen. Die Zeitverläufe in einzelnen Pixeln entsprechen dabei dem erwarteten Antwortmuster der zeitlich und räumlich gut definierten fokalen Hyperoxygenierung auf funktionelle Stimulation.
- (2) Durch die Gewinnung topographischer Informationen ließ sich für das visuelle System eine grobe spatiale Differenzierung eines sekundär visuellen Areals von V1 verwirklichen. Durch den topographischen Ansatz konnten wir eine räumliche Unterscheidung im visuellen System zwischen einem sekundär visuellen und den primär visuellen Arealen darstellen.
- (3) Die kontrastmittelgestützten Perfusionsmessungen bei Patienten mit einer akuten Ischämie erlauben durch die räumliche Auflösung Rückschlüsse auf Defizite der cerebralen Perfusion: Unter der Annahme einer relativ homogenen Perfusion des extracerebralen Gewebes können

durch Analyse der Bolusform und –latenz an allen Messpositionen Rückschlüsse auf fokale Differenzen der cerebralen Durchblutung gezogen werden.

Die Resultate der Validierungsexperimente zeigen eine gute Übereinstimmung mit den in anderen Gruppen gewonnen Ergebnissen früher Ein-Kanal-Monitor-Studien und späterer optisch bildgebender Studien. So ließen sich in der Untersuchung weiterer motorischer Paradigmen (Cannestra et al. 2003; Obrig et al. 1996; Watanabe et al. 1996) und visueller Paradigmen (Colier et al. 2001; Jaszewski et al. 2003; Wenzel et al. 1996); mit auditiven (Minagawa-Kawai et al.; Sato, Takeuchi, and Sakai 1999) und somatosensorischen Stimulationsparadigmen (Franceschini et al. 2003; Tanosaki et al. 2003) qualitativ gleiche Antwortmuster eruieren.

Insbesondere der Vergleich mit dem BOLD-Kontrast als dem derzeit wohl relevantesten Parameter der nichtinvasiven Darstellung funktioneller Anatomie validierte die gemessenen Änderungen als kortikalen Ursprungs (Kleinschmidt et al. 1996; Toronov et al. 2003).

Im visuellen System gelang die Zuordnung unterschiedlicher funktioneller Areale für das Areal V5 als deutlich lateral von anderen visuell gelegenen Arealen erstmals 1997 mit einem einkanaligen NIRS-Monitor (Ruben et al. 1997). In Übereinstimmung mit früheren fMRT-Studien (Tootell et al. 1995b; Tootell et al. 1996) konnte mit dem in dieser Arbeit vorgestellten System erstmals eine grobe Lokalisierung erreicht werden.

Die in der ersten klinischen Anwendung des Imaging-Systems erläuterte ICG-Bolustechnik wurde auch von den Gruppen um Terborg und Liebert erfolgreich zur Darstellung unterschiedlicher Bolustransitzeiten im Rahmen eines lokalen Perfusionsdefizites bei Patienten mit einer akuten cerebralen Ischämie genutzt (Liebert et al. 2005; Terborg et al. 2004).

Technisch methodische Perspektiven

Der in unserer Gruppe aufgebaute NIRS-Imager hat bewiesen, dass mit ihm lokalisierte Änderungen cerebraler Oxygenierung in primären und sekundären Arealen nachgewiesen werden können. Statistische Analysen integriert in die Auswertelgorithmen erlauben in einer einfachen Off-line Auswertung die Ergebnisse in einzelnen Messungen bezüglich ihrer statistischen Reliabilität zu prüfen. Im Folgenden sollen jedoch die Grenzen des Ansatzes aufgezeigt und in Zusammenschau mit Lösungsansätzen im Detail diskutiert werden. Zwei Probleme sind von besonderem Interesse:

- Schlechte zweidimensional- räumliche Auflösung
- Fehlende Tiefenauflösung

Räumliche Auflösung

Die räumliche Auflösung des hier vorgestellten Ansatzes ist begrenzt. Dies bezieht sich einerseits auf das erfasste Areal; andererseits ist die latitudinale Auflösung relativ schlecht. Für beide Limitationen ergeben sich Perspektiven, die aufgrund der theoretischen Studien insbesondere von der notwendigen Entwicklungsarbeit und damit auch von dem Finanzvolumen abhängen, die in eine solche Entwicklung investiert werden. Der einfachste Schritt ist die Erhöhung der Anzahl der Sender-Detektor-Paare. Damit ist es möglich, ganz in Analogie zur EEG eine Ganzkopf-Darstellung zu erzielen. Kommerzielle Monitore (Hitachi Corporation, Japan) haben genau diesen Weg beschritten und bieten inzwischen Systeme mit mehr als 50 Messkanälen an. Auch kann durch überlappende Anordnung der Proben die Zahl der Messpositionen im jeweiligen Areal mehr als verdoppelt werden. Ein mögliches Beispiel für eine Modifikation der Messanordnung, welche mit nur gering erhöhten räumlichen Dimensionen als die in der Arbeit verwendete 10x5 cm Messanordnung fast doppelt so viele Messpositionen erfassen kann, ist in Abb. 29 dargestellt. Hierbei ist der Fokus die bessere räumliche Auflösung in einem bestimmten Messareal. Physikalisch ist durch die Anwendung der Spektroskopie im stark streuenden Medium einer Erhöhung der räumlichen Auflösung eine Grenze gesetzt, allerdings lässt sich allein durch die Erhöhung der Optodendichte eine relevante Besserung der effektiven Auflösung erzielen. Auch dieser Schritt entspricht ungefähr der Methodik der EEG, für bestimmte Fragestellungen fokal höhere Elektrodendichten zu nutzen. Eine Anordnung mit sehr nah beieinander liegenden Proben macht die Verwendung der Lock-in-Technik sinnvoll, die weiter unten näher erläutert wird.

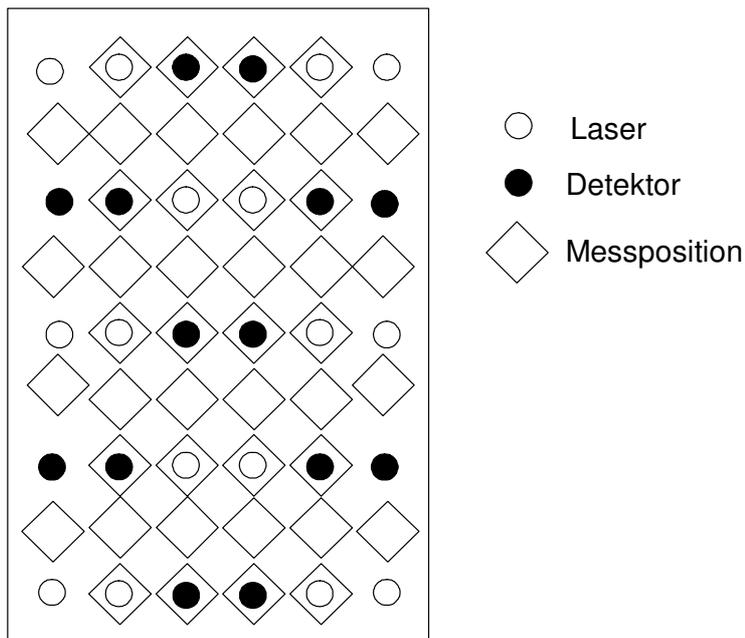


Abb. 29 zeigt ein mögliches Beispiel einer modifizierten Messanordnung. Durch Verdoppelung der Sender- und Detektorpaare ließen sich, verglichen mit der in dieser Arbeit verwendeten Messanordnung, fast doppelt so viele Messpositionen bei nur gering vergrößerter Dimension des Messareals erfassen.

Tiefenauflösung

Die Ergebnisse der vorgestellten Studien in Zusammenschau mit Abschätzungen am theoretischen Modell zur Eindringtiefe der Photonen zeigen, dass mit einem genügend großen Interroptodenabstand von $>2,5$ cm Änderungen cerebralen Ursprungs detektiert werden. Jedoch kann der umgekehrte Schluss, dass alle gemessenen Änderungen cerebralen Ursprungs sind, nicht gezogen werden. Im NIRS-Signal bilden sich neben der cerebralen Antwort auch systemische hämodynamische Änderungen wie Herzschlag- und atmungskorrelierte Absorptionsänderungen inklusive Änderungen der Perfusion extrakranieller Gewebeabschnitte ab. Durch die Möglichkeit der Differenzierung extra- und intrakranieller Beiträge zu den erfassten Änderungen würde die Qualität des bildgebenden Systems enorm verbessert. Im Folgenden wird ein Ansatz zur Tiefenauflösung erläutert:

Zeitaufgelöste und frequenzmodulierte Systeme liefern über die gemessenen Laufzeitverteilungen und Phasenverschiebungen zusätzliche Informationen über die Verweildauer der Photonen im Gewebe. Unter der Annahme, dass Photonen mit längerer

Flugzeit mit einer höheren Wahrscheinlichkeit einen Teil des Weges in tieferen Schichten zurückgelegt haben, erlauben diese Methoden eine grobe Tiefendifferenzierung. Anhand der unterschiedlichen Tiefensensibilität der unterschiedlichen Laufzeitpopulationen ergibt sich also die Option der Unterscheidung verschiedener Schichten.

Zwei Studien unserer Gruppe belegen diese Annahme: Durch Simulation von Absorptionsänderungen im Schichtmodell ließ sich zeigen, dass die mittlere Laufzeit der Photonen ($\Delta\langle t \rangle$) sensitiver für Änderungen in tieferen Schichten ist als die Änderung der Intensität ΔA . Vergleichende zeitaufgelöste Messungen während motorischer Stimulation und Valsalva-Manöver validieren die theoretischen hergeleiteten Ergebnisse. Die während der funktionellen Stimulation induzierten Änderungen ließen sich im Modell der tiefen Schicht zuordnen, während die Änderungen durch das Valsalva-Manöver in den oberflächlichen Schichten maximal sind (Steinbrink et al. 2001). Auch die Studie von Liebert et al. konnte eine robuste tiefenaufgelöste Analyse von Absorptionsänderungen nach Applikation eines ICG-Bolus bei einem gesunden Erwachsenen mit einem zeitaufgelösten System liefern (Liebert et al. 2005).

Einen ähnlichen Ansatz nutzen Messungen in der Frequenzdomäne in Kombination mit Kontrastmittelgaben. Analog zum zeitaufgelösten Ansatz erfolgt die Differenzierung in eine oberflächliche und eine tiefe Schicht über die unterschiedliche Tiefensensitivität der Intensitäts- und Phasenänderung. Die Phasenänderung ist dabei proportional zur mittleren Laufzeit. Somit lässt sich über die unterschiedliche Transitzeit des Bolus durch die obere und die tiefere Schicht ein Marker für die extra- und intracerebrale Perfusion beschreiben (Kohl-Bareis et al. 2002).

Perspektivisch ist frequenzmodulierte oder zeitaufgelöste Bildgebung technisch realisierbar. Eine Implementierung der Monte- Carlo- basierten Modelle auf die Messungen würde ein zweidimensionales Image mit grober Tiefenauflösung ergeben. Die Relevanz einer solchen Trennung besteht darin, dass die Definition des Messvolumens es erlaubt, das cerebrale Messvolumen besser zu bestimmen. Dies ist elementar für die Möglichkeit der Quantifizierung der gemessenen Änderungen bei funktionellen Aktivierungsstudien. Von noch höherer Relevanz erscheint diese Perspektive für Anwendungen am pathologisch alterierten Gehirn. So erlaubt etwa die Möglichkeit der Separation der extra- und intracerebralen Kontrastmittelboli Perfusionmessungen, die zwischen einer interessierenden

intracerebralen Änderung der Perfusion und der potentiellen extracerebralen Kontamination unterscheiden kann.

Eng in Zusammenhang mit der Verwendung frequenzmodulierter oder zeitaufgelöster Bildgebung steht auch die Quantifizierbarkeit der Konzentrationsänderungen durch Erfassung des individuellen DPF, was eine bessere intra- und interindividuelle Vergleichbarkeit der Ergebnisse ermöglichen würde.

Bandbreite des Systems/Signal zu Rausch-Verhalten

Das beschriebene System verwendet eine sequentielle Laserschaltung, um zu verhindern, dass ein Detektor Licht mehrerer Quellen erhält. Dadurch schränkt sich die Bandbreite des Systems bei 3Hz ein. Ebenso gehen Signale netzbetriebener Lichtquellen sowie das 1/f-Rauschen technischer Komponenten nahezu ungedämpft in den Messwert ein. Eine Erhöhung der Bandbreite sowie Minderung des Einflusses der Rauschquellen wäre durch Konstruktion eines Systems in Lock-In- Technik mit Quellenkodierung realisierbar. Das Prinzip schildert sich wie folgt: Eine Quelle arbeitet mit dem ihr zugehörigen Lock-In- Verstärker auf einer bestimmten Frequenz. Das Betreiben der Quellen sowie der zugehörigen Verstärker mit jeweils verschiedenen Frequenzen lässt entweder eine simultane Messung mit verschiedenen Wellenlängen oder eine Ortsauflösung auch beim Schalten benachbarter Quellen zu. Beide Prinzipien verringern die Messzeit bzw. verbessern das Signal-Rausch-Verhältnis. Die Entwicklung und erfolgreiche Testung eines 2-Kanal-Lock-In-Systems in unserer Gruppe dient als Basis für die Erweiterung des Ansatzes auf ein Multikanal-System. Es sei betont, dass diese Art der Frequenzmodulation sich von den Messungen in der Frequenzdomäne mit Erfassung der Phasenverschiebung unterscheidet. Die Modulationsfrequenzen der Lock-In-Systeme betragen 1-10 kHz, während Frequenz-Domäne- Systeme das zu emittierende Licht mit einer Frequenz um 100 MHz modulieren.

Zusammenfassend lassen sich die Perspektiven für eine technische Weiterentwicklung der optischen Bildgebung wie folgt skizzieren:

1. Erhöhung der Messpositionen – Ausdehnung des Messareales über den gesamten Kopf

2. Räumlich dichtere Verteilung der Messpositionen, Region of Interest (ROI) Optimierung
3. Tiefenauflösung anhand zeitaufgelöster Methoden
4. Erhöhung der Bandbreite des Systems.

Klinische Perspektiven

Unsere Arbeit zur klinischen Anwendung beinhaltet eine Studie, welche mittels Applikation des Kontrastmittels Indocyaningrün Perfusionsunterschiede bei akuter cerebraler Ischämie messen konnte. Verwandte Arbeiten wurde von den Gruppen um Terborg und Liebert vorgestellt, welche interhemisphärische ICG-Kinetik – Unterschiede bei Patienten mit einer akuten cerebralen Ischämie reliabel detektierten (Terborg et al. 2004, Liebert et al. 2005). Erstere verwendeten einen Zwei- Kanal– Monitor (NIRO 300, Hamamatsu), während Liebert et al. durch Verwendung eines zeitaufgelösten 4- Kanal- Systems erstmals die Tiefenauflösung in das experimentelle Set-up implementiert. Deutlich wird, dass nach Primärdiagnostik durch Erfassung eines der mean transit time in der MRT vergleichbaren Parameter in der NIRS durch die ICG-Bolus-Methode eine einfache und wiederholte Bestimmung des lokalen Perfusionsdefizites bei kortikalen Infarkten möglich ist. Klinisch relevant ist der Ansatz von Liebert et al. aufgrund der Durchführung von Verlaufsmessungen. Der signifikante Unterschied in der Bolustransitzeit bei dem von einer cerebralen Ischämie betroffenen Patienten war einen Tag nach Thrombolyse nicht mehr nachweisbar.

Im Rahmen der chirurgischen Therapie der Epilepsie ist die genaue Lokalisierung der epileptogenen Foci besonders relevant. Neben der Kombination anderer vaskulär bildgebender Verfahren mit dem EEG konnten auch erste kombinierte Messungen mit der NIRS und dem EEG vielversprechende Ergebnisse liefern (Watanabe, Nagahori, and Mayanagi 2002). Insbesondere der Bed- side- Charakter der Methode sowie die Möglichkeit, im Rahmen einer Telemetrie über Stunden oder gar Tage zu messen und gemessene Änderungen grob zu lokalisieren, bieten klinische Perspektiven, um invasivere Verfahren zur Fokusdiagnose bei einem Teil der Patienten zu ergänzen.

Weitere potentielle klinische Anwendungen sind in der Überwachung cerebraler Perfusion in der Intensivmedizin und im OP-Monitoring während spezieller kardiochirurgischer und

neurochirurgischer Eingriffe zu sehen (Bozkurt et al. 2005; Nollert, Jonas, and Reichart 2000).

Im vorangegangenen Kapitel wurden erste Ergebnisse von Untersuchungen zu psychiatrischen Krankheitsbildern, welche besonders häufig kognitive Stimuli einsetzen, kritisch gewertet (z.B. Matsuo et al. 2005; Suto et al. 2004). Durch die Koregistrierung elektrophysiologischer Daten oder die simultane Bildgebung durch Verfahren mit hoher räumlicher Auflösung könnte die NIRS eine wertvolle Ergänzung in der Erforschung und Diagnostik psychiatrischer Krankheitsbilder werden.

Zusammenfassung:

Die hohe Parameterspezifität, die hohe zeitliche Auflösung und die einfache Applikation auch in Kombination mit anderen Methoden sind relevante Stärken der Methode. Es gilt nun, durch technische und methodische Verbesserungen das Potenzial der Methode NIRS als Instrument zur Erforschung der Signalphysiologie weiter auszubauen. Dabei kommt klinischen Anwendungen, speziell bei cerebrovaskulären Erkrankungen, aber auch bei Erkrankungen mit einer primär neuronalen Pathologie, eine besondere perspektivische Relevanz zu.

Zusammenfassung

Motivation:

Seit der vor 29 Jahren von Jöbssis geleisteten Pionierarbeit haben zahlreiche Studien das Potential der nicht- invasiven Nahinfrarot-Spektroskopie zur Detektion von Änderungen der cerebralen Oxygenierung bei funktioneller Aktivierung belegt. Die ständige technische Weiterentwicklung der Methode und das Verlangen, im Rahmen physiologischer sowie pathophysiologischer Fragestellungen Aussagen über ein größeres Messvolumen treffen zu können, führte zur Entwicklung erster Mehrkanal- NIRS- Monitore. In der vorliegenden Arbeit wird ein bildgebendes System vorgestellt, das in der Arbeitsgruppe „Optische Methoden“ an der Charité unter meiner Mitwirkung entwickelt und von mir mit ersten funktionellen Studien validiert wurde.

Prinzip:

Nahinfrarotes Licht (700-900 nm) dringt aufgrund seiner geringen Absorption durch die Haut, den Schädel und den Liquor bis zum Kortex vor und gelangt - bedingt durch die starke Streuung - einige Zentimeter von der Lichtquelle entfernt wieder an die Kopfoberfläche. Blutflussänderungen führen zu einer Oxygenierungsänderung des Blutes und lassen sich spektroskopisch anhand der Lichtabschwächung bei verschiedenen Wellenlängen mit der NIRS messen. Dass die NIRS Änderungen des cerebralen Blutflusses bei funktioneller Aktivierung, aber auch im Rahmen pathologischer Prozesse darstellen kann, ist erwiesen. Ziel der bildgebenden Erweiterung des Ansatzes ist es, eine bessere Zuordnung hämodynamischer Prozesse zu fokalen Aktivierungen oder auch fokalen pathologischen Prozessen zu erreichen. Wir haben ein System entwickelt, das Änderungen der Hämoglobin-Konzentration ([oxy-Hb] und [deoxy-Hb]) über einem Areal von 10 cm x 5 cm auf dem Kopf des Erwachsenen misst. Neben der Arbeit zur Entwicklung des technischen Aufbaus und der Anwendersoftware wurden Versuchsserien zur Validierung anhand einfacher Stimulationsparadigmen und erste Messungen bei Patienten mit einer cerebralen Ischämie durchgeführt.

Aufbau des Systems:

Es handelt sich um ein portables Continuous -wave-System, welches 24 Lichtquellen in Form von Laserdioden (8x760 nm, 8x850 nm, 8x780 nm) und 8 APD – Detektoren enthält. Die lichtscheidenden und –detektierenden Fasern (Abstand 2,5 cm) sind in einem Gitter angeordnet, welches in einem Areal von 10x5 cm die Erfassung von 22 unabhängigen

Messpositionen zulässt. Um diese Positionen zu differenzieren, wird das Messvolumen mit 8 sequentiell geschalteten Laserzyklen abgetastet. Aufgrund der verwendeten Abtastrate führt dies zu einer Messzeit von ca. 300 ms pro Gesamtbild. Modifikationen in der Messanordnung sind über die Steuerungs-Software einfach zu realisieren.

Auswerteprinzipien:

Zur Auswertung der Daten haben wir ein Software-Paket zusammengestellt, das eine einfache Auswertung der Daten in MatLab ermöglicht. Das Programm orientiert sich an den statistischen Methoden des statistical parametric mapping (SPM 99). Die Basis der Auswertung stellt die Berechnung der Konzentrationsänderungen der beiden Oxygenierungsformen unter Anwendung des modifizierten Lambert-Beer'schen Gesetzes aus den Änderungen der Lichtabschwächung dar.

Validierung:

Bei funktioneller Stimulation wird die regionale neuronale Aktivität von einer Steigerung des regionalen cerebralen Blutflusses mit hoher zeitlicher und räumlicher Kohärenz begleitet. Dies führt zu einer fokalen Hyperoxygenierung, die sich in den Parametern der NIRS als Abfall des [deoxy-Hb] und einem Anstieg des [oxy-Hb] darstellt. Zur Validierung des Systems wurden motorische und visuelle Paradigmen untersucht.

Für das motorische Paradigma hatten die Probanden Stimulationsexperimente in Form von Fingeropposition im Blockdesign durchzuführen. Erwartungsgemäß zeigte sich über dem aktivierten Areal das typische Antwortmuster. Der [deoxy-Hb]-Abfall zeigte sich besser lokalisiert und örtlich in Übereinstimmung mit dem maximalen [oxy-Hb]-Anstieg. Die Fokalität der Signalamplitudenmaxima war robust gegen die statistische Auswertung.

Als visuelle Stimuli wurden zwei Paradigmen verwendet, die verschiedene Areale des visuellen Kortex aktivieren. Den Probanden wurde sequentiell der MT/V5 spezifische Stimulus, bestehend aus kontrastarmen, langsam expandierenden und kontrahierenden konzentrischen Ringen und ein anuläres alternierendes Schachbrettmuster präsentiert. Die Ergebnisse des Experimentes zeigen, dass eine klare Zuordnung unterschiedlicher funktioneller Areale bei differentieller Stimulation möglich ist.

Erste klinische Studie:

In einer ersten klinischen Anwendung wurde das bildgebende System mittels Bolusinjektionen des optischen Kontrastmittels ICG bei Patienten mit einer akuten Ischämie im Bereich des Mediapfstromgebietes angewandt. Eine grobe topographische Differenzierung der cerebralen Perfusion ergibt sich durch die Unterschiede in der Boluslatenz und –form über ischämischem und nicht-ischämischem Gebiet.

Mit diesen ersten Anwendungen des NIRS-Monitors in Zusammenschau mit der zunehmenden Anzahl kommerziell hergestellter Monitore hat sich die funktionelle Methode NIRS zur funktionell-*bildgebenden* Methode NIRS weiterentwickelt. Besondere perspektivische Relevanz erhält die Methode durch die Einfachheit, Portabilität und damit potentiellen Anwendung im Rahmen von follow-up-Messungen am Krankenbett.

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
fMRT	Funktionelle Kernspintomographie
NIRS	Nahinfrarot-Spektroskopie
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
EEG	Elektroenzephalographie
MEG	Magnetenzephalographie
Oxy-Hb	Oxygeniertes Hämoglobin
Deoxy-Hb	Deoxygeniertes Hämoglobin
Tot-Hb	Gesamthämoglobin
BOLD-Kontrast	blood oxygen level dependent contrast
ICG	Indocyaningrün
μa	Absorptionskoeffizient
μs	Streuungskoeffizient
A	Attenuation, Lichtabschwächung
c	Konzentration eines Stoffes
I_0	eingestrahlte Lichtmenge
I	detektierte Lichtmenge
α	spezifischer Absorptionskoeffizient
α^*	Ereigniswahrscheinlichkeit
d	geometrische Distanz
G	Maß für den Photonenverlust durch Streuung
$\Delta\Phi$	Phasenverschiebung
σ	Standardabweichung der mittleren Konzentrationsänderungen
r	Pearson'sche Korrelationskoeffizient
ROI	regions of interest
DPF	differential pathlength factor, differentieller Pfadlängenfaktor
cw	continuous wave
Hz	Hertz
MHz	Megahertz
TCSPC	time correlated single photon counting
rCBF	regional cerebral blood flow, regionaler kortikaler Blutfluss
rCMRO ₂	Regional cerebral metabolic rate O ₂ , regionale metabolische Rate des Sauerstoffs
rCBF _v	Regionale Blutflussgeschwindigkeit
rCBV	Regionales Blutvolumen
cCT	cerebrale Computertomographie
pWI	Perfusion weighted imaging
SPM	Statistical Parametric Mapping
CT	Computertomographie
s.o.	siehe oben
z.B.	zum Beispiel
mm	Millimeter
ms	Millisekunden
ca.	circa

Literaturverzeichnis

- Baird AA, Kagan J, Gaudette T, Walz KA, Hershlag N, and Boas DA (2002) Frontal lobe activation during object permanence: data from near-infrared spectroscopy. *Neuroimage.*, **16**: 1120-1125.
- Bandettini PA, Wong EC, Hinks RS, Tikofsky RS, and Hyde JS (1992) Time course EPI of human brain function during task activation. *Magn Reson.Med.*, **25**: 390-397.
- Berger H (1929) Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Arch.Psychiatr.Nervenkr.*, 527-570.
- Boden S, Obrig H, Kohncke C, Benav H, Koch SP, and Steinbrink J (2007) The oxygenation response to functional stimulation: is there a physiological meaning to the lag between parameters? *Neuroimage*,-7.
- Bonner RF, Nossal R, Havlin S, and Weiss GH Model for photon migration in turbid biological media. *J Opt Soc Am A* 1987 Mar;4(3):423-32.,-32.
- Boynton GM, Engel SA, Glover GH, and Heeger DJ (1996) Linear systems analysis of functional magnetic resonance imaging in human V1. *J.Neurosci.*, **16**: 4207-4221.
- Bozkurt A, Rosen A, Rosen H, and Onaral B (2005) A portable near infrared spectroscopy system for bedside monitoring of newborn brain
630. *Biomed Eng Online*,
- Buxton RB and Frank LR (1997) A model for the coupling between cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural stimulation. *J.Cereb.Blood Flow Metab*, **17**: 64-72.
- Cannestra AF, Wartenburger I, Obrig H, Villringer A, and Toga AW (2003) Functional assessment of Broca's area using near infrared spectroscopy in humans. *Neuroreport*, **14**: 1961-1965.
- Colier WN, Quaresima V, Wenzel R, van der Sluijs MC, Oeseburg B, Ferrari M, and Villringer A (2001) Simultaneous near-infrared spectroscopy monitoring of left and right occipital areas reveals contra-lateral hemodynamic changes upon hemi-field paradigm. *Vision Res*,-102.
- Cope M and Delpy DT (1988) System for long-term measurement of cerebral blood and tissue oxygenation on newborn infants by near infra-red transillumination. *Med.Biol.Eng Comput.*, **26**: 289-294.
- Delpy DT, Cope M, van der ZP, Arridge S, Wray S, and Wyatt J (1988) Estimation of optical pathlength through tissue from direct time of flight measurement. *Phys.Med.Biol.*, **33**: 1433-1442.
- Duncan A, Meek JH, Clemence M, Elwell CE, Fallon P, Tyszczuk L, Cope M, and Delpy DT (1996) Measurement of cranial optical path length as a function of age using phase resolved near infrared spectroscopy. *Pediatr Res*,-94.
- Essenpreis M, Cope M, Elwell CE, Arridge SR, van der ZP, and Delpy DT (1993) Wavelength dependence of the differential pathlength factor and the log slope in time-resolved tissue spectroscopy. *Adv.Exp.Med.Biol.*, **333**: 9-20.
- Fox PT and Raichle ME (1986) Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A*,-4.
- Franceschini MA, Fantini S, Thompson JH, Culver JP, and Boas DA (2003) Hemodynamic evoked response of the sensorimotor cortex measured noninvasively with near-infrared optical

- imaging
569. *Psychophysiology*, **40**: 548-560.
- Gratton G, Maier JS, Fabiani M, Mantulin WW, and Gratton E (1994) Feasibility of intracranial near-infrared optical scanning. *Psychophysiology*, **31**: 211-215.
- Grinvald A, Frostig RD, Lieke E, and Hildesheim R (1988) Optical imaging of neuronal activity. *Physiol Rev*,-366.
- Homae F, Watanabe H, Nakano T, Asakawa K, and Taga G (2006) The right hemisphere of sleeping infant perceives sentential prosody. *Neurosci Res*,-80.
- Hoshi Y, Tsou BH, Billock VA, Tanosaki M, Iguchi Y, Shimada M, Shinba T, Yamada Y, and Oda I (2003) Spatiotemporal characteristics of hemodynamic changes in the human lateral prefrontal cortex during working memory tasks. *Neuroimage*,-504.
- Huppert TJ, Hoge RD, Diamond SG, Franceschini MA, and Boas DA (2006) A temporal comparison of BOLD, ASL, and NIRS hemodynamic responses to motor stimuli in adult humans. *Neuroimage*,-82.
- Igawa M, Atsumi Y, Takahashi K, Shiotsuka S, Hirasawa H, Yamamoto R, Maki A, Yamashita Y, and Koizumi H (2001) Activation of visual cortex in REM sleep measured by 24-channel NIRS imaging
593
604
615. *Psychiatry Clin.Neurosci.*, **55**: 187-188.
- Jasdzewski G, Strangman G, Wagner J, Kwong KK, Poldrack RA, and Boas DA (2003) Differences in the hemodynamic response to event-related motor and visual paradigms as measured by near-infrared spectroscopy. *Neuroimage.*, **20**: 479-488.
- Jobsis FF (1977) Noninvasive infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science*, **198**: 1264-1267.
- Kato H, Izumiyama M, Koizumi H, Takahashi A, and Itoyama Y (2002) Near-infrared spectroscopic topography as a tool to monitor motor reorganization after hemiparetic stroke: a comparison with functional MRI. *Stroke*, **33**: 2032-2036.
- Kaufmann C, Elbel GK, Gossel C, Putz B, and Auer DP (2001) Frequency dependence and gender effects in visual cortical regions involved in temporal frequency dependent pattern processing. *Hum Brain Mapp*,-38.
- Kennan RP, Kim D, Maki A, Koizumi H, and Constable RT (2002) Non-invasive assessment of language lateralization by transcranial near infrared optical topography and functional MRI
594
607. *Hum.Brain Mapp.*, **16**: 183-189.
- Kleinschmidt A, Obrig H, Requardt M, Merboldt KD, Dirnagl U, Villringer A, and Frahm J (1996) Simultaneous recording of cerebral blood oxygenation changes during human brain activation by magnetic resonance imaging and near-infrared spectroscopy. *J.Cereb.Blood Flow Metab*, **16**: 817-826.
- Kohl-Bareis M, Obrig H, Steinbrink J, Malak J, Uludag K, and Villringer A (2002) Noninvasive monitoring of cerebral blood flow by a dye bolus method: separation of brain from skin and skull signals. *J.Biomed.Opt.*, **7**: 464-470.
- Koles ZJ and Soong AC (1998) EEG source localization: implementing the spatio-temporal decomposition approach. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*,-52.

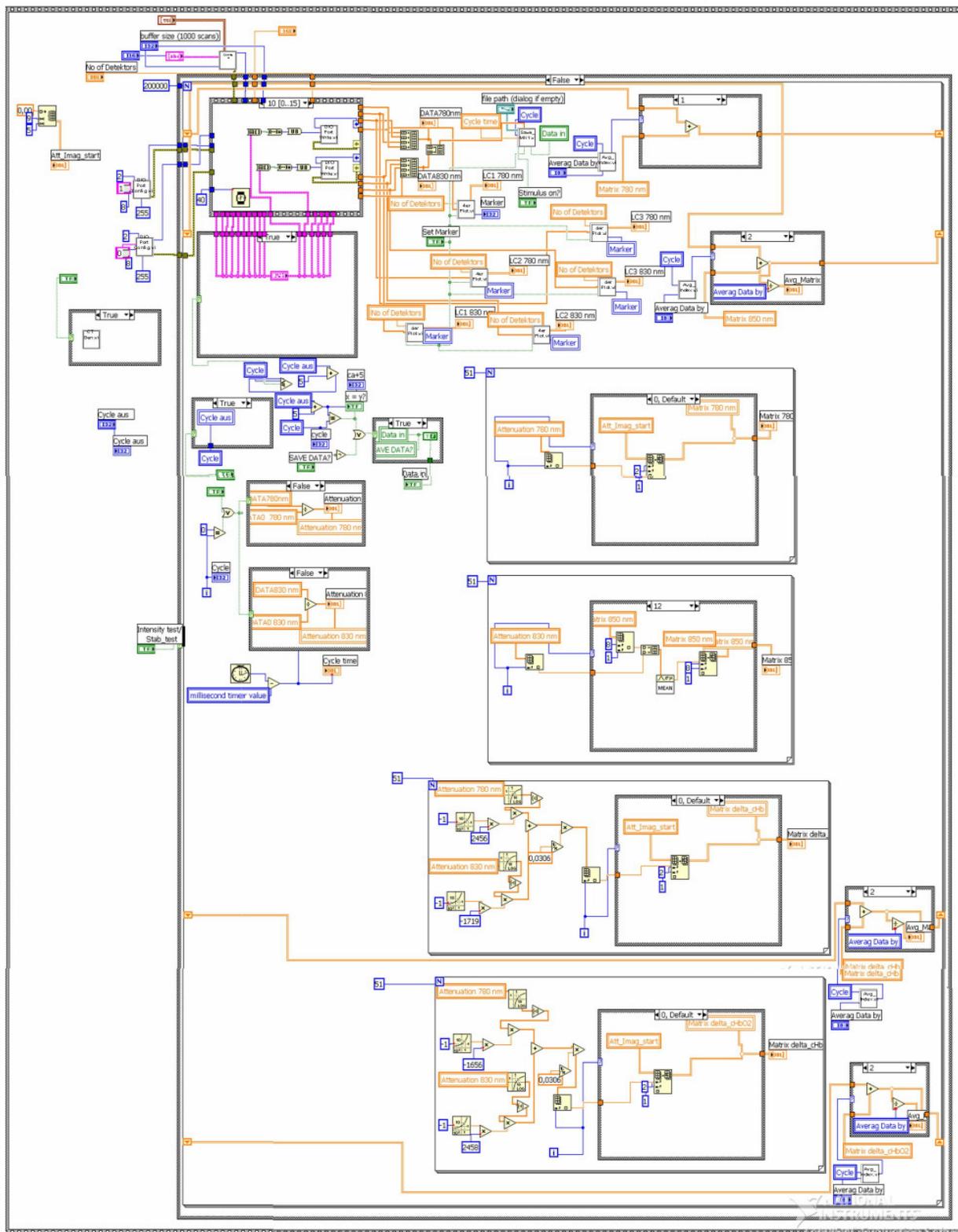
- Landsman ML, Kwant G, Mook GA, and Zijlstra WG (1976) Light-absorbing properties, stability, and spectral stabilization of indocyanine green. *J Appl Physiol*,-83.
- Liebert A, Wabnitz H, Steinbrink J, Moller M, Macdonald R, Rinneberg H, Villringer A, and Obrig H (2005) Bed-side assessment of cerebral perfusion in stroke patients based on optical monitoring of a dye bolus by time-resolved diffuse reflectance. *Neuroimage*,-35.
- Lindauer U, Villringer A, and Dirnagl U (1993) Characterization of CBF response to somatosensory stimulation: model and influence of anesthetics. *Am.J.Physiol*, **264**: H1223-H1228.
- Mackert BM, Wubbeler G, Leistner S, Uludag K, Obrig H, Villringer A, Trahms L, and Curio G (2004) Neurovascular coupling analyzed non-invasively in the human brain. *Neuroreport* 2004 Jan 19;15(1):63-6.,-6.
- Matsuo K, Onodera Y, Hamamoto T, Muraki K, Kato N, and Kato T (2005) Hypofrontality and microvascular dysregulation in remitted late-onset depression assessed by functional near-infrared spectroscopy. *Neuroimage*,-42.
- Mayhew J, Zhao L, Hou Y, Berwick J, Askew S, Zheng Y, and Coffey P (1998) Spectroscopic investigation of reflectance changes in the barrel cortex following whisker stimulation. *Adv.Exp.Med.Biol.*, **454**: 139-148.
- Mehagnoul-Schipper DJ, van der Kallen BF, Colier WN, van der Sluijs MC, van Erning LJ, Thijssen HO, Oeseburg B, Hoefnagels WH, and Jansen RW (2002) Simultaneous measurements of cerebral oxygenation changes during brain activation by near-infrared spectroscopy and functional magnetic resonance imaging in healthy young and elderly subjects. *Hum Brain Mapp*,-23.
- Minagawa-Kawai Y, Mori K, Sato Y, and Koizumi T (2004) Differential cortical responses in second language learners to different vowel contrasts. *Neuroreport* 2004 Apr 9;15(5):899-903.,-903.
- Miyai I, Tanabe HC, Sase I, Eda H, Oda I, Konishi I, Tsunazawa Y, Suzuki T, Yanagida T, and Kubota K (2001) Cortical mapping of gait in humans: a near-infrared spectroscopic topography study. *Neuroimage*, -92.
- Noguchi Y, Takeuchi T, and Sakai KL (2002) Lateralized activation in the inferior frontal cortex during syntactic processing: event-related optical topography study 559. *Hum.Brain Mapp.*, **17**: 89-99.
- Nollert G, Jonas RA, and Reichart B (2000) Optimizing cerebral oxygenation during cardiac surgery: a review of experimental and clinical investigations with near infrared spectrophotometry. *Thorac Cardiovasc Surg*,-53.
- Obrig H, Hirth C, Junge-Hulsing JG, Doge C, Wolf T, Dirnagl U, and Villringer A (1996) Cerebral oxygenation changes in response to motor stimulation. *J.Appl.Physiol*, **81**: 1174-1183.
- Obrig H, Israel H, Kohl-Bareis M, Uludag K, Wenzel R, Muller B, Arnold G, and Villringer A (2002) Habituation of the visually evoked potential and its vascular response: implications for neurovascular coupling in the healthy adult. *Neuroimage* 2002 Sep;17(1):1-18.,-18.
- Obrig H and Villringer A (2003) Beyond the visible--imaging the human brain with light. *J.Cereb.Blood Flow Metab*, **23**: 1-18.
- Okada E, Firbank M, and Delpy DT (1995) The effect of overlying tissue on the spatial sensitivity profile of near-infrared spectroscopy. *Phys.Med.Biol.*, **40**: 2093-2108.
- Okamoto M, Dan H, Shimizu K, Takeo K, Amita T, Oda I, Konishi I, Sakamoto K, Isobe S, Suzuki T, Kohyama K, and Dan I (2004) Multimodal assessment of cortical activation during apple peeling by NIRS and fMRI. *Neuroimage*,-88.

- Pena M, Maki A, Kovacic D, Dehaene-Lambertz G, Koizumi H, Bouquet F, and Mehler J (2003) Sounds and silence: an optical topography study of language recognition at birth. *Proc Natl Acad Sci U S A*,-5.
- Ruben J, Wenzel R, Obrig H, Villringer K, Bernarding J, Hirth C, Heekeren H, Dirnagl U, and Villringer A (1997) Haemoglobin oxygenation changes during visual stimulation in the occipital cortex. *Adv Exp Med Biol*,-7.
- Sakai KL, Hashimoto R, and Homae F (2001) Sentence processing in the cerebral cortex. *Neurosci Res*,-10.
- Sato H, Takeuchi T, and Sakai KL (1999) Temporal cortex activation during speech recognition: an optical topography study. *Cognition*,-66.
- Schroeter ML, Zysset S, Kupka T, Kruggel F, and Yves vC (2002) Near-infrared spectroscopy can detect brain activity during a color-word matching Stroop task in an event-related design. *Hum.Brain Mapp.*, **17**: 61-71.
- Steinbrink J, Wabnitz H, Obrig H, Villringer A, and Rinneberg H (2001) Determining changes in NIR absorption using a layered model of the human head
608. *Phys Med Biol*,-96.
- Steinmetz H, Furst G, and Meyer BU (1989) Craniocerebral topography within the international 10-20 system. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*,-506.
- Strangman G, Franceschini MA, and Boas DA (2003) Factors affecting the accuracy of near-infrared spectroscopy concentration calculations for focal changes in oxygenation parameters. *Neuroimage.*, **18**: 865-879.
- Suto T, Fukuda M, Ito M, Uehara T, and Mikuni M (2004) Multichannel near-infrared spectroscopy in depression and schizophrenia: cognitive brain activation study
593. *Biol.Psychiatry*, **55**: 501-511.
- Taga G, Asakawa K, Hirasawa K, and Konishi Y (2003) Hemodynamic responses to visual stimulation in occipital and frontal cortex of newborn infants: a near-infrared optical topography study
610. *Early Hum.Dev.*, **75 Suppl**: S203-S210.
- Tanosaki M, Hoshi Y, Iguchi Y, Oikawa Y, Oda I, and Oda M (2001) Variation of temporal characteristics in human cerebral hemodynamic responses to electric median nerve stimulation: a near-infrared spectroscopic study. *Neurosci Lett*,-8.
- Tanosaki M, Sato C, Shimada M, Iguchi Y, and Hoshi Y (2003) Effect of stimulus frequency on human cerebral hemodynamic responses to electric median nerve stimulation: a near-infrared spectroscopic study. *Neurosci.Lett.*, **352**: 1-4.
- Terborg C, Bramer S, Harscher S, Simon M, and Witte OW (2004) Bedside assessment of cerebral perfusion reductions in patients with acute ischaemic stroke by near-infrared spectroscopy and indocyanine green. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry*, **75**: 38-42.
- Tootell RB, Dale AM, Sereno MI, and Malach R (1996) New images from human visual cortex. *Trends Neurosci*,-9.
- Tootell RB, Reppas JB, Dale AM, Look RB, Sereno MI, Malach R, Brady TJ, and Rosen BR (1995a) Visual motion aftereffect in human cortical area MT revealed by functional magnetic resonance imaging. *Nature*, **375**: 139-141.

- Tootell RB, Reppas JB, Kwong KK, Malach R, Born RT, Brady TJ, Rosen BR, and Belliveau JW (1995b) Functional analysis of human MT and related visual cortical areas using magnetic resonance imaging. *J.Neurosci.*, **15**: 3215-3230.
- Toronov V, Walker S, Gupta R, Choi JH, Gratton E, Hueber D, and Webb A (2003) The roles of changes in deoxyhemoglobin concentration and regional cerebral blood volume in the fMRI BOLD signal. *Neuroimage*, -31.
- Uludag K, Kohl M, Steinbrink J, Obrig H, and Villringer A (2002) Cross talk in the Lambert-Beer calculation for near-infrared wavelengths estimated by Monte Carlo simulations. *J.Biomed.Opt.*, **7**: 51-59.
- Uludag K, Steinbrink J, Kohl-Bareis M, Wenzel R, Villringer A, and Obrig H (2004a) Cytochrome-c-oxidase redox changes during visual stimulation measured by near-infrared spectroscopy cannot be explained by a mere cross talk artefact. *Neuroimage.*, **22**: 109-119.
- Uludag K, Steinbrink J, Villringer A, and Obrig H (2004b) Separability and cross talk: optimizing dual wavelength combinations for near-infrared spectroscopy of the adult head. *Neuroimage*, -9.
- Wartenburger I, Steinbrink J, Telkemeyer S, Friedrich M, Friederici AD, and Obrig H (2007) The processing of prosody: Evidence of interhemispheric specialization at the age of four. *Neuroimage*, -25.
- Watanabe A, Matsuo K, Kato N, and Kato T (2003) Cerebrovascular response to cognitive tasks and hyperventilation measured by multi-channel near-infrared spectroscopy. *J.Neuropsychiatry Clin.Neurosci.*, **15**: 442-449.
- Watanabe E, Nagahori Y, and Mayanagi Y (2002) Focus diagnosis of epilepsy using near-infrared spectroscopy
609
613. *Epilepsia*, **43 Suppl 9**: 50-55.
- Watanabe E, Yamashita Y, Maki A, Ito Y, and Koizumi H (1996) Non-invasive functional mapping with multi-channel near infra-red spectroscopic topography in humans. *Neurosci Lett*, -4.
- Watson JD, Myers R, Frackowiak RS, Hajnal JV, Woods RP, Mazziotta JC, Shipp S, and Zeki S (1993) Area V5 of the human brain: evidence from a combined study using positron emission tomography and magnetic resonance imaging. *Cereb.Cortex*, **3**: 79-94.
- Wenzel R, Obrig H, Ruben J, Villringer K, Thiel A, Bernarding J, Dirnagl U, and Villringer A (1996) Cerebral blood oxygenation changes induced by visual stimulation in humans. *J.Biomed.Opt.*, **1**: 399-404.
- Wobst P, Wenzel R, Kohl M, Obrig H, and Villringer A (2001) Linear aspects of changes in deoxygenated hemoglobin concentration and cytochrome oxidase oxidation during brain activation. *Neuroimage.*, **13**: 520-530.
- Yamashita Y, Maki A, and Koizumi H (2001) Wavelength dependence of the precision of noninvasive optical measurement of oxy-, deoxy-, and total-hemoglobin concentration. *Med Phys*, -14.
- Zeki S, Watson JD, Lueck CJ, Friston KJ, Kennard C, and Frackowiak RS (1991) A direct demonstration of functional specialization in human visual cortex. *J.Neurosci.*, **11**: 641-649.

Anhang

Blockdiagramm des Datenerfassungsprogrammes in LabView



Programme zur Datenauswertung in Matlab**Imager_Start.m**

```

function imager_start

global labelList nameList
global s1 s2 s3 pixel num_of_files num_of_layers Input_path

labelList=str2mat( ...
    'Load Data', ...
    'Set Parameters & Analyse', ...
    'Movie Data', ...
    'Time Course Pixel', ...
    'Interactiv', ...
    'Intensity Profile', ...
    'Correlation Plot', ...
    'Average Selected Stimuli', ...
    'Analyse ICG data', ...
    'HELP');

nameList=str2mat( ...
    'Imager_loaddata', ...
    'Imager_set_parameters', ...
    'Imager_movie', ...
    'Imager_tc_calc', ...
    'Imager_interactive', ...
    'Imager_profile', ...
    'Imager_correlation', ...
    'Imager_select_stimulus', ...
    'Imager_icg_calc', ...
    'imager_help');

%*****
%load readdata.mat

line0=' Input';line0(end+1:80)=' ';
line1=' '; line1(end+1:end+6)='path:
';line1(end+1:end+size(Input_path,2))=Input_path ;line1(end+1:80)=' ';
line2=' '; line2(end+1:end+7)='pixel:
';line2(end+1:end+size(mat2str(pixel),2))=mat2str(pixel); line2(end+1:end+3)=' ';
line2(end+1:end+14)='num_of_files:
';line2(end+1:end+size(mat2str(num_of_files),2))=mat2str(num_of_files) ;
line2(end+1:80)=' ';
line3=' '; line3(end+1:80)=' ';
line4=' s1 = ';
line4(end+1:end+size(mat2str(s1),2))=mat2str(s1);line4(end+1:end+5)='
';line4(end+1:end+6)=' s2 = '; line4(end+1:end+size(mat2str(s2),2))=mat2str(s2);
line4(end+1:end+5)=' ';line4(end+1:end+6)=' s2 = ';line4(end+1:end+3)='
';line4(end+1:end+size(mat2str(s3),2))=mat2str(s3);line4(end+1:80)=' ';

```

```

oldFigNumber=watchon;

if nargin<3,
    figureFlagList=ones(size(labelList,1),1);
end

% Now initialize the whole figure...
figNumber=figure( ...
    'Name','Command Line Demos', ...
    'NumberTitle','on');
% 'NextPlot','New', ...
set(gcf,'Position',[330 200 450 350])

axes('Visible','off','HandleVisibility','callback')
% 'NextPlot','new')

%=====
% Set up the Comment Window
top=0.30;
left=0.05;
right=0.75;
bottom=0.05;
labelHt=0.05;
spacing=0.005;
promptStr= ...
    [ 'Good Luck with the Data'];

% First, the Comment Window frame
frmBorder=0.02;
frmPos=[left-frmBorder bottom-frmBorder ...
    (right-left)+2*frmBorder (top-bottom)+2*frmBorder];
uicontrol( ...
    'Style','frame', ...
    'Units','normalized', ...
    'Position',frmPos, ...
    'BackgroundColor',[0.50 0.50 0.50]);
% Then the text label
labelPos=[left top-labelHt (right-left) labelHt];
uicontrol( ...
    'Style','text', ...
    'Units','normalized', ...
    'Position',labelPos, ...
    'BackgroundColor',[0.50 0.50 0.50], ...
    'ForegroundColor',[1 1 1], ...
    'String','Comment Window');
% Then the editable text field
txtPos=[left bottom (right-left) top-bottom-labelHt-spacing];
txtHndl=uicontrol( ...
    'Style','edit', ...

```

```
'HorizontalAlignment','left', ...
'Units','normalized', ...
'Max',10, ...
'BackgroundColor',[1 1 1], ...
'Position',txtPos, ...
'String',promptStr);
```

```
%=====
```

```
% Information for all buttons
```

```
labelColor=[0.8 0.8 0.8];
```

```
yInitPos=0.90;
```

```
top=0.95;
```

```
bottom=0.05;
```

```
left=0.80;
```

```
btnWid=0.05;
```

```
btnHt=0.050;
```

```
% Spacing between the button and the next command's label
```

```
spacing=0.04;
```

```
%=====
```

```
% The CONSOLE frame
```

```
frmBorder=0.02;
```

```
yPos=0.02-frmBorder;
```

```
frmPos=[left-frmBorder yPos btnWid+2*frmBorder 0.9+2*frmBorder];
```

```
h=uicontrol( ...
```

```
  'Style','frame', ...
```

```
  'Units','normalized', ...
```

```
  'Position',frmPos, ...
```

```
  'BackgroundColor',[0.5 0.5 0.5]);
```

```
%=====
```

```
% The INFO button
```

```
labelStr='Info';
```

```
callbackStr=['helpwin ' mfilename];
```

```
infoHndl=uicontrol( ...
```

```
  'Style','pushbutton', ...
```

```
  'Units','normalized', ...
```

```
  'Position',[left bottom+btnHt+spacing btnWid btnHt], ...
```

```
  'String',labelStr, ...
```

```
  'Callback',callbackStr);
```

```
%=====
```

```
% The CLOSE button
```

```
labelStr='Close';
```

```
callbackStr='close(gcf)';
```

```
closeHndl=uicontrol( ...
```

```
  'Style','pushbutton', ...
```

```
  'Units','normalized', ...
```

```
  'Position',[left bottom btnWid btnHt], ...
```

```

'String',labelStr, ...
'Callback',callbackStr);

%=====
% Information for demo buttons
labelColor=[0.8 0.8 0.8];
btnWid=0.32;
btnHt=0.08;
top=0.95;
bottom=0.35;
right=0.75;
leftCol1=0.05;
leftCol2=right-btnWid;
% Spacing between the buttons
spacing=0.02;
%spacing=(top-bottom-4*btnHt)/3;

numButtons=size(labelList,1);
col1Count=fix(numButtons/2)+rem(numButtons,2);
col2Count=fix(numButtons/2);

% Lay out the buttons in two columns
for count=1:col1Count,

    btnNumber=count;
    yPos=top-(btnNumber-1)*(btnHt+spacing);
    labelStr=deblank(labelList(count,:));
    callbackStr='eval(get(gco,"UserData"))';
    cmdStr=['figureNeededFlag=',num2str(figureFlagList(count))',';', ...
        'cmdlnbgn; ' nameList(count,:) '; cmdlnend;'];

% Generic button information
    btnPos=[leftCol1 yPos-btnHt btnWid btnHt];
    startHndl=uicontrol( ...
        'Style','pushbutton', ...
        'Units','normalized', ...
        'Position',btnPos, ...
        'String',labelStr, ...
        'UserData',cmdStr, ...
        'Callback',callbackStr);
end;

for count=1:col2Count,
    btnNumber=count;
    yPos=top-(btnNumber-1)*(btnHt+spacing);
    labelStr=deblank(labelList(count+col1Count,:));
    callbackStr='eval(get(gco,"UserData"))';
    cmdStr=['figureNeededFlag=',num2str(figureFlagList(count+col1Count))',';', ...
        'cmdlnbgn; ' nameList(count+col1Count,:) '; cmdlnend;'];

```

```

% Generic button information
btnPos=[leftCol2 yPos-btnHt btnWid btnHt];
startHndl=uicontrol( ...
    'Style','pushbutton', ...
    'Units','normalized', ...
    'Position',btnPos, ...
    'String',labelStr, ...
    'UserData',cmdStr, ...
    'Callback',callbackStr);

end;
pause
watchoff(oldFigNumber);
fprintf('hi')

set(figNumber,'HandleVisibility','callback')

Imager_set_parameters.m
prompt = {'Pad size? 5x5 or 9x5','Detrend each pixel? Give order of
polynoma','Increase Image size by: ','Smooth data? give no of points:','Avg: Points
before Stimulus onset', 'Avg: Points after Stimulus onset','Number of wavelengths?
(1 or 2):','Wavelength choice? (760 & 850; 790 & 850)','Last few data points as
background? (y/n)','Frequency filter? (y/n)','Big or Small Screen? (b or s)','keyboard?
y or n'};
input_title = 'Eingabe für Datenauswertung';
lines= 1;
answer = {'9x5','2','3','6','20','80','2','760 & 850','y','n','s','y'};
%load answer -mat
answer = inputdlg(prompt,input_title,lines,answer);
save answer answer -mat

pad_size=answer{1};
bilder_order_of_polynoma=str2num(answer{2});

shift_time=0; %str2num(answer{3});

increase_size=str2num(answer{3});
smooth_over_points=str2num(answer{4});
%bin_over_points=str2num(answer{5});
points_before_marker=str2num(answer{5});
points_after_marker=str2num(answer{6});
number_of_wavelengths=str2num(answer{7});
wavelength_choice = answer{8};
background_subtraction =answer{9};
filter_data =answer{10};
screen_size=answer{11};
keyboard=answer{12};

```

```

ttest_significance_level=0.01;

stimulus_not_to_average=[];
%##### now analyse the data
imager_analysedata

Imager_analysedata.m
%### Define the size of the 'Image'
if (pad_size == '5x5')
    x_size=5;
    y_size=5;
    no_of_detectors=4;
    no_of_laser_cycles=3;

end
if (pad_size == '9x5')
    x_size=9;
    y_size=5;
    no_of_detectors=8;
    no_of_laser_cycles=4;
end

%***** Background Subtraction *****
if background_subtraction == 'y'
    for i = 5:size(data,2)
        background(i)=mean(data(end-4:end-1,i));
        data(1:end-5,i)=data(1:end-5,i)-background(i);
    end
end

data=data(1:end-5,:);

delta_time=data(:,2);
stimulus=data(:,3);
marker=data(:,4);

if (keyboard == 'n')
    stimulus=data(:,3); %data(:,3)
end

%if (keyboard == 'y')
% stimre=data(:,62);
% stimli=data(:,61);
%Imager_stimmot
%stimulus=(stimrechts);
%end

%##### Time #####
time=cumsum(delta_time)/1000;

```

```
time(1)=time(2)-mean(diff(time));
time=time-time(1);

% **** Frequency Filter ****+
if filter_data == 'y'
    imager_filter_rawdata
end

%time=(time-time(1))/1000; %### Time in sec
%time(1)=time(2)-mean(diff(time));

%##### Sortiere die Daten in eine 5x5 oder 9x5 Matrix #####
%bilder=zeros(max(size(data)),x_size,y_size);

if (pad_size == '5x5')
    imager_sort_matrix_5x5
end

if (number_of_wavelengths==1)

[bilder]=imager_fct_build_bilder(time,data(:,5:32),smooth_over_points,bilder_order_of_polynoma,increase_size);
end

if (number_of_wavelengths==2)

[bilder_780]=imager_fct_build_bilder(time,data(:,5:32),smooth_over_points,bilder_order_of_polynoma,increase_size);
    %in_data=data(:,33:60);

[bilder_850]=imager_fct_build_bilder(time,data(:,33:60),smooth_over_points,bilder_order_of_polynoma,increase_size);
end

%##### Average auf Marker Signale

if (number_of_wavelengths==1)

[Avg_bilder,avg_time]=imager_fct_avg(time,bilder,stimulus,points_before_marker,points_after_marker);
end

if (number_of_wavelengths==2)

[Avg_bilder_780,avg_time]=imager_fct_avg(time,bilder_780,stimulus,points_before_marker,points_after_marker);

[Avg_bilder_850,avg_time]=imager_fct_avg(time,bilder_850,stimulus,points_before_marker,points_after_marker);
```

```

    avg_stimulus
=imager_fct_avg(time,stimulus+1,stimulus,points_before_marker,points_after_
marker)-1;

```

```

    imager_calc_haemoglobin
end

```

Imager_fct_avg.m

```

function
[Avg_bilder,avg_time]=imager_fct_avg(time,bilder,stimulus,points_before_
marker,points_after_marker,stimulus_not_to_average);

```

```

%##### Avgerage auf Marker
%m=find(marker==1);
m=find(diff(stimulus) == 1)
if nargin==6
    m(stimulus_not_to_average)=0
    m=m(find(m~=0))
end

```

```

Avg_bilder=zeros(points_before_marker+points_after_marker+1,size(bilder,2),size(
bilder,3));

```

```

for i = 1:1:size(m,1)
    for j=1:points_before_marker+points_after_marker+1
        Avg_bilder(j,,:)=Avg_bilder(j,,:)+bilder(m(i)+j-
points_before_marker,,:);;
    end
end

```

```

%##### Normalise Avg_bilder
Avg_bilder_norm=mean(Avg_bilder(2:3, :, :),1);
for i = 1:size(Avg_bilder,1)
    Avg_bilder(i,,:)=Avg_bilder(i,,:)/Avg_bilder_norm;
end

```

```

avg_time=[1:(points_before_marker+points_after_marker+1)]*mean(diff(time));

```

Imager_fct_sort_matrix_9x5.m

```

%### Cycle 1
function [bilder]=imager_fct_sort_matrix_9x5(data)
bilder=ones([size(data,1),9,5]);

```

```

bilder(:,3,2)=data(:,1);
bilder(:,4,3)=data(:,2);
bilder(:,2,3)=data(:,3);
bilder(:,3,4)=data(:,4);
bilder(:,8,1)=data(:,5);
bilder(:,9,2)=data(:,6);

```

```

rest_c1=data(:,7);

##### Cycle 2
bilder(:,2,1)=data(:,8);
bilder(:,5,4)=data(:,9);
bilder(:,1,2)=data(:,10);
bilder(:,4,5)=data(:,11);
bilder(:,8,1)=(bilder(:,8,1)+data(:,12))/2;
bilder(:,9,2)=(bilder(:,9,2)+data(:,13))/2;
bilder(:,6,5)=data(:,14);

##### Cycle 3
bilder(:,4,1)=data(:,15);
bilder(:,5,2)=data(:,16);
bilder(:,1,4)=data(:,17);
bilder(:,2,5)=data(:,18);
bilder(:,6,1)=data(:,19);
bilder(:,9,4)=data(:,20);
bilder(:,8,5)=data(:,21);

##### Cycle 4
rest_c4=data(:,22);
bilder(:,6,3)=data(:,23);
bilder(:,1,4)=(bilder(:,1,4)+data(:,24))/2;
bilder(:,2,5)=(bilder(:,2,5)+data(:,25))/2;
bilder(:,7,2)=data(:,26);
bilder(:,8,3)=data(:,27);
bilder(:,7,4)=data(:,28);

Imager_mean_intensity
detectors=([1 3;3 1; 3 5;5 3; 7 1; 7 5; 9 3]);
lasers=([1 1;3 3;1 5; 5 1;5 5; 7 3; 9 1; 9 5]);
measurement_position=([1 2;1 4; 2 1;2 3;2 5;3 2;3 4;4 1;4 3;4 5;5 2;5 4;6 1;6 3;6 5;7
2;7 4;8 1;8 3;8 5; 9 2; 9 4]);

text(detectors(:,2),detectors(:,1),'D')
text(lasers(:,2),lasers(:,1),'L')
text(measurement_position(:,2),measurement_position(:,1),'M')

% Try out to normaised first
%size(bilder)

norm_bild=mean(bilder(1:10, :, :),1);
for i = 1:max(size(bilder))
    bilder(i, :, :)=bilder(i, :, :)/norm_bild;
end

##### Fill in the rest #####
bilder(:,1,5)=(bilder(:,1,4)+bilder(:,2,5))/2;

```

```

bilder(:,1,1)=(bilder(:,2,1)+bilder(:,1,2))/2;
bilder(:,9,1)=(bilder(:,8,1)+bilder(:,9,2))/2;
bilder(:,9,5)=(bilder(:,9,4)+bilder(:,8,5))/2;

```

```

bilder(:,1,3)=(bilder(:,1,2)+bilder(:,1,4)+bilder(:,2,3))/3;
bilder(:,3,1)=(bilder(:,2,1)+bilder(:,4,1)+bilder(:,3,2))/3;
bilder(:,9,3)=(bilder(:,9,2)+bilder(:,9,4)+bilder(:,8,3))/3;
bilder(:,3,5)=(bilder(:,2,5)+bilder(:,4,5)+bilder(:,3,4))/3;
bilder(:,5,5)=(bilder(:,5,4)+bilder(:,6,5)+bilder(:,4,5))/3;
bilder(:,5,1)=(bilder(:,4,1)+bilder(:,6,1)+bilder(:,5,2))/3;
bilder(:,7,1)=(bilder(:,6,1)+bilder(:,8,1)+bilder(:,7,2))/3;
bilder(:,7,5)=(bilder(:,6,5)+bilder(:,8,5)+bilder(:,7,4))/3;

```

```

bilder(:,2,2)=(bilder(:,2,1)+bilder(:,1,2)+bilder(:,3,2)+bilder(:,2,3))/4;
bilder(:,4,2)=(bilder(:,4,1)+bilder(:,5,2)+bilder(:,4,3)+bilder(:,3,2))/4;
bilder(:,4,4)=(bilder(:,4,3)+bilder(:,5,4)+bilder(:,4,5)+bilder(:,3,4))/4;
bilder(:,2,4)=(bilder(:,3,4)+bilder(:,1,4)+bilder(:,2,5)+bilder(:,2,3))/4;
bilder(:,3,3)=(bilder(:,3,2)+bilder(:,2,3)+bilder(:,4,3)+bilder(:,3,4))/4;

```

```

bilder(:,5,3)=(bilder(:,5,2)+bilder(:,4,3)+bilder(:,6,3)+bilder(:,5,4))/4;
bilder(:,6,2)=(bilder(:,6,1)+bilder(:,6,3)+bilder(:,5,2)+bilder(:,7,2))/4;
bilder(:,6,4)=(bilder(:,6,3)+bilder(:,6,5)+bilder(:,5,4)+bilder(:,7,4))/4;
bilder(:,7,3)=(bilder(:,7,2)+bilder(:,7,4)+bilder(:,6,3)+bilder(:,8,3))/4;
bilder(:,8,2)=(bilder(:,8,1)+bilder(:,8,3)+bilder(:,7,2)+bilder(:,9,2))/4;
bilder(:,8,4)=(bilder(:,8,3)+bilder(:,8,5)+bilder(:,7,4)+bilder(:,9,4))/4;

```

Imager_fct_build_bilder.m

function

```
[bilder]=imager_fct_build_bilder(time,data,smooth_over_points,bilder_order_of_polynoma,increase_size);
```

```
[bilder]=imager_fct_sort_matrix_9x5(data);
%imager_mean_intensity
```

```
%##### Smooth data
```

```
if smooth_over_points > 1
```

```
    [bilder]=imager_fct_smooth(bilder,smooth_over_points);
```

```
end
```

```
%##### Detrend each Pixel #####
```

```
if (bilder_order_of_polynoma>0)
```

```
    [bilder]=imager_fct_subtract_polynoma(time,bilder,bilder_order_of_polynoma);
```

```
end
```

```
%##### Normalise bilder & Increase size
```

```
[bilder]=imager_fct_norm_increase_size(bilder,increase_size);
```

Imager_fct_norm_increase_size.m

```
function [bilder]=imager_fct_norm_increase_size(bilder,increase_size);
```

```

norm_bild=mean(bilder(1:10, :, :), 1);
bilder_neu=zeros([size(bilder,1),size(bilder,2)*increase_size,size(bilder,3)*increase_size]);

for i = 1:max(size(bilder))
    bilder(i, :, :)=bilder(i, :, :)/norm_bild;
    bilder_neu(i, :, :)=imresize(squeeze(bilder(i, :, :)),increase_size,'bilinear');
end
bilder=bilder_neu;

```

Imager_fct_smooth.m

```

function [bilder]=imager_fct_smooth(bilder,smooth_over_points)

x_size=size(bilder,2);
y_size=size(bilder,3);
for i = 1:x_size
    for j= 1:y_size
        bilder(:,i,j)=smooth_data(bilder(:,i,j),smooth_over_points);
    end
end

```

Imager_fct_subtract_polynoma.m

```

function [bilder]=imager_fct_subtract_polynoma(time,bilder,order);

if order > 0
    for i = 1:size(bilder,2)
        for j = 1: size(bilder,3)
            p=polyfit(time,squeeze(bilder(:,i,j)),order);
            bilder(:,i,j)=bilder(:,i,j)-polyval(p,time)+mean(bilder(:,i,j),1);
        end
    end
end
end

```

Imager_loaddata.m

```

clear all

[Filename, F] = uigetfile('*.*', 'Load Data File');
F(end+1:end+size(Filename,2))=Filename;
data=load(F);

```

Imager_mean_intensity.m

```

for i = 1:size(bilder,2)
    for j = 1: size(bilder,3)
        mean_intensity_bilder(i,j)=mean(bilder(:,i,j),1);
    end
end
end

```

figure

```
imagesc(mean_intensity_bilder), colormap jet, colorbar
```

Imager_smooth_data.m

```
function [data_smooth]=smooth_data(data,smooth)
s=size(data);
length=max(s);
row=min(s);
if s(1) > s(2)
    data=data';
end
data_smooth=data;
sm=ones(1,smooth)/smooth;

for i =1:min(s)
    data_filter(i,:)=filter(sm,1,data(i,:));
end

off_set=fix(smooth/2);

for i =1:min(s)
    data_smooth(i,1+off_set:end-off_set)=data_filter(i,1+2*off_set:end);
end

if s(1) > s(2)
    data_smooth=data_smooth';
end
```

Imager_calc_haemoglobin.m

```
%*** Extinction coefficients in units of mua (ln(I0/I)/mm/mM) *****
epsilon=[ 2.458e-001 1.719e-001;.... %780 nm, deoxy-Hb, oxy-Hb
         1.812e-001 2.68e-001] ; %850 nm, deoxy-Hb, oxy-Hb

epsilon=[ 2.2463e-001 1.885e-001;.... %790 nm, deoxy-Hb, oxy-Hb
         1.728e-001 2.64e-001] ; %850 nm, deoxy-Hb, oxy-Hb

% Extinction coefficients in units of log10/cm/mM (from Cope thesis)
epsilon=[0.9264 .7941;.... %790 nm, deoxy-Hb, oxy-Hb
        0.7861 1.1596]; %850 nm, deoxy-Hb, oxy-Hb

DPF=[1; .90]; % Value from UCL-DPF for 790 and 850 nm
DPF=[1; .92]; % Value from UCL-DPF for 790 and 850 nm

if wavelength_choice == '760 & 850'
    epsilon=[1.675 .6095;.... %760 nm, deoxy-Hb, oxy-Hb
            0.7861 1.1596]; %850 nm, deoxy-Hb, oxy-Hb
    DPF=[0.94; .90]; % Value from UCL-DPF for 760 and 850 nm
end
```

```

% log10 /mm/mM
epsilon=epsilon/10;

e(:,1)=epsilon(:,1).*DPF;
e(:,2)=epsilon(:,2).*DPF;
inv_e=inv(e);

s1=size(bilder_780,1);
s2=size(bilder_780,2);
s3=size(bilder_780,3);

for i=1:s2
    for j=1:s3
        Att_780(:,i,j)=bilder_780(:,i,j)/bilder_780(1,i,j);
        Att_850(:,i,j)=bilder_850(:,i,j)/bilder_850(1,i,j);
    end
end
Att_780=real(-log10(Att_780));
Att_850=real(-log10(Att_850));

%DELTA=DPF(1)*epsilon(1,1)*DPF(2)*epsilon(2,2)-
DPF(2)*epsilon(1,2)*DPF(1)*epsilon(2,1);
%bilder_deoxy_hb = (Att_780*(DPF(2)*epsilon(2,2)) -
Att_850*(DPF(1)*epsilon(1,2)))/DELTA;
%bilder_oxy_hb = -(Att_780*(DPF(2)*epsilon(2,1)) -
Att_850*(DPF(1)*epsilon(1,1)))/DELTA;

A(:,1)=reshape(Att_780,s1*s2*s3,1,1);
A(:,2)=reshape(Att_850,s1*s2*s3,1,1);

c=inv(e)*A';
c=c';

bilder_deoxy=reshape(c(:,1),s1,s2,s3);
bilder_oxy =reshape(c(:,2),s1,s2,s3);

clear A c;

[Avg_bilder_deoxy,avg_time]=imager_fct_haemoglobin_avg(time,bilder_deoxy,sti
mulus,points_before_marker,points_after_marker,stimulus_not_to_average);
[Avg_bilder_oxy,avg_time] =imager_fct_haemoglobin_avg(time,bilder_oxy
,stimulus,points_before_marker,points_after_marker,stimulus_not_to_average);

Imager_fct_haemoglobin_avg.m
Function[Avg_bilder,avg_time]=imager_fct_haemoglobin_avg(time,bilder,stimulus,
points_before_marker,points_after_marker,stimulus_not_to_average);

```

```

%##### Average auf Marker
%m=find(marker==1);
m=find(diff(stimulus) == 1);
if nargin==6
    m(stimulus_not_to_average)=0
    m=m(find(m~=0))
end

Avg_bilder=zeros(points_before_marker+points_after_marker+1,size(bilder,2),size(
bilder,3));

for i = 1:1:size(m,1)
    for j=1:points_before_marker+points_after_marker+1
        Avg_bilder(j,:)=Avg_bilder(j,:)+bilder(m(i)+j-
points_before_marker,:);
    end
end
Avg_bilder=Avg_bilder/size(m,1);

%##### Normalise Avg_bilder
Avg_bilder_norm=mean(Avg_bilder(1:5,:,:),1);
for i = 1:size(Avg_bilder,1)
    Avg_bilder(i,:)=Avg_bilder(i,:)-Avg_bilder_norm;
end

avg_time=[1:(points_before_marker+points_after_marker+1)]*mean(diff(time));

```

Imager_interactive.m

```

if number_of_wavelengths ==1
    imager_fig3
end
number_of_wavelengths
if number_of_wavelengths ==2
    frame_number=1;
    conc_min_deoxy=-0.03
    conc_max_deoxy=.03;
    conc_min_oxy=-0.05
    conc_max_oxy=.3;
    imager_fig6
end

```

Imager_plot_conc.m

```

figure(10)
frame_number
subplot(1,2,1)
imagesc(squeeze(Avg_bilder_deoxy(frame_number,:,:)));caxis([conc_min_deoxy
conc_max_deoxy]);colorbar
title('deoxy-Hb')

```

```
s=sprintf('File: %3.20s; Frame: %2.2s; time: %2.5s
s',eval('Filename'),num2str(frame_number),num2str(avg_time(frame_number)));
text(size(Avg_bilder_deoxy,3)*0.7,-.1,s)
text(0,-.1,'deoxy-Hb')
```

```
subplot(1,2,2)
imagesc(squeeze(Avg_bilder_oxy(frame_number,:,:)));caxis([conc_min_oxy
conc_max_oxy]),colorbar
```

```
text(size(Avg_bilder_deoxy,3)*0.8,-.1,'oxy-Hb')
```

Imager_fct_tc_conc.m

```
clear tc_roi
global tc_roi
```

```
imager_plot_conc
% imagesc(squeeze(Avg_bilder_850(55,:,:))), colormap jet,colorbar
```

```
[a,r]=imcrop;
koordinaten=round(r);
tc_roi_780=squeeze(bilder_780(:,koordinaten(2),koordinaten(1)));
avg_tc_roi_780=squeeze(Avg_bilder_780(:,koordinaten(2),koordinaten(1)));
tc_roi_850=squeeze(bilder_850(:,koordinaten(2),koordinaten(1)));
avg_tc_roi_850=squeeze(Avg_bilder_850(:,koordinaten(2),koordinaten(1)));
```

```
tc_roi_oxy=squeeze(bilder_oxy(:,koordinaten(2),koordinaten(1)));
avg_tc_roi_oxy=squeeze(Avg_bilder_oxy(:,koordinaten(2),koordinaten(1)));
tc_roi_deoxy=squeeze(bilder_deoxy(:,koordinaten(2),koordinaten(1)));
avg_tc_roi_deoxy=squeeze(Avg_bilder_deoxy(:,koordinaten(2),koordinaten(1)));
```

```
figure
set(gcf,'Position',[300 50 400 350])
```

```
subplot(2,2,1)
plot(time(1:end-7),tc_roi_780(1:end-7))
hold on
plot(time(1:end-7),tc_roi_850(1:end-7),'r')
xlabel('time [sec]')
ylabel('Change in Intensity')
s=sprintf('In: %3.20s ROI: blue: 780 nm, red: 850 nm; coord: %2.2s
%2.2s',eval('Filename'),num2str(koordinaten(1)),num2str(koordinaten(2)));title(s)
title(s)
plot(time,stimulus*0.05+1,'g')
```

```
subplot(2,2,2)
plot(avg_time,avg_tc_roi_780(1:end))
hold on
plot(avg_time,avg_tc_roi_850(1:end),'r')
xlabel('time [sec]')
```

```

ylabel('Change in Intensity')
plot(avg_time,-avg_stimulus/100+1,'g')

subplot(2,2,3)
plot(time(1:end-7),tc_roi_deoxy(1:end-7))
hold on
plot(time(1:end-7),tc_roi_oxy(1:end-7),'r')
xlabel('time [sec]')
ylabel('Change in Concentration')
s=sprintf('In: %3.20s ROI: blue: deoxy, red: oxy; coord: %2.2s
%2.2s',eval('Filename'),num2str(coordinaten(1)),num2str(coordinaten(2)));title(s)
title(s)
plot(time(1:end-5),stimulus(1:end-5)*0.05,'g')

subplot(2,2,4)
plot(avg_time,avg_tc_roi_deoxy(1:end))
hold on
plot(avg_time,avg_tc_roi_oxy(1:end),'r')
xlabel('time [sec]')
ylabel('Change in Concentration')
plot(avg_time,avg_stimulus/10,'g')
zoom on

```

Imager_plot_laserdet_positions.m

```

detectors=([1 3;3 1; 3 5;5 3; 7 1; 7 5; 9 3])-.5;
lasers=([1 1;3 3;1 5; 5 1;5 5; 7 3; 9 1; 9 5])-.5;
measurement_position=([1 2;1 4; 2 1;2 3;2 5;3 2;3 4;4 1;4 3;4 5;5 2;5 4;6 1;6 3;6 5;7
2;7 4;8 1;8 3;8 5; 9 2; 9 4])-.5;

```

```

text(detectors(:,2)*increase_size,detectors(:,1)*increase_size,'D')
text(lasers(:,2)*increase_size,lasers(:,1)*increase_size,'L')
text(measurement_position(:,2)*increase_size,measurement_position(:,1)*increase_size,'M')

```

Imager_calc_correlation.m

```

if use_boynton == 'y'
    delay=0;
    boynton_function
    stimulus_corr=conv(boynton,stimulus);
    stimulus_corr=stimulus_corr(1:length(stimulus));
    avg_stimulus_corr=conv(boynton,avg_stimulus);
    avg_stimulus_corr=avg_stimulus_corr(1:length(avg_stimulus));
else
    delay=delay_time;
    stimulus_corr=stimulus;
    avg_stimulus_corr=avg_stimulus;
end

```

```
[avg_bild_correlation_deoxy]=imager_fct_correlation(avg_time',Avg_bilder_deoxy,  
avg_stimulus_corr,delay);  
[avg_bild_correlation_oxy]=imager_fct_correlation(avg_time',Avg_bilder_oxy,  
avg_stimulus_corr,delay);  
[avg_bild_correlation_780]=imager_fct_correlation(avg_time',Avg_bilder_780,  
avg_stimulus_corr,delay);  
[avg_bild_correlation_850]=imager_fct_correlation(avg_time',Avg_bilder_850,  
avg_stimulus_corr,delay);
```

```
[bild_correlation_deoxy]=imager_fct_correlation(time',bilder_deoxy,stimulus_corr,d  
elay);  
[bild_correlation_oxy]=imager_fct_correlation(time',bilder_oxy,stimulus_corr,delay;  
[bild_correlation_780]=imager_fct_correlation(time',bilder_780,stimulus_corr,delay;  
[bild_correlation_850]=imager_fct_correlation(time',bilder_850,stimulus_corr,delay;
```

```
if use_boynton=='n'  
    figure(11)  
else  
    figure(13)  
end  
subplot(2,2,1)  
imagesc(bild_correlation_780),  
title('Correlation 790 nm - non averaged')  
caxis([-1. -.0]),colorbar  
%grid on
```

```
subplot(2,2,2)  
imagesc(bild_correlation_850)  
title('Correlation 850 nm - non averaged')  
caxis([-1. -.0]),colorbar  
%grid on
```

```
subplot(2,2,3)  
imagesc(bild_correlation_deoxy)  
title('Correlation deoxy - non averaged')  
caxis([-1. -.0]),colorbar  
colorbar  
%grid on
```

```
subplot(2,2,4)  
imagesc(bild_correlation_oxy)  
title('Correlation oxy - non averaged')  
colorbar  
caxis([.0 1.0]),colorbar  
%grid on
```

```
if use_boynton=='n'  
    figure(12)  
else
```

```

figure(14)
end

subplot(2,2,1)
imagesc(avg_bild_correlation_780),
title('Correlation 790 nm - averaged')
caxis([-1 0]),colorbar

subplot(2,2,2)
imagesc(avg_bild_correlation_850)
caxis([-1. -.0]),colorbar
title('Correlation 850 nm - averaged')
caxis([-1 0]),colorbar

subplot(2,2,3)
imagesc(avg_bild_correlation_deoxy)
caxis([-1 0]),colorbar
title('Correlation deoxy - averaged')
colorbar

subplot(2,2,4)
imagesc(avg_bild_correlation_oxy)
caxis([-0 1]),colorbar
title('Correlation oxy - averaged')
colorbar

```

Imager_boynton_function.m

```

a=0.15;
b=1.;
t=[1:25]*mean(diff(time));
boynton=a*(t.^2).*exp(-b*t);
figure(15)

```

```

plot(boynton,'r')
%hold on

```

Imager_fct_correlation

```

function [bild_correlation]=imager_fct_correlation(time,bilder,stimulus,delay_time);

stimulus_shifted=zeros(size(stimulus));
shift=round(delay_time/mean(diff(time(5:end)))));

if shift >=0, stimulus_shifted(1+shift:end)=stimulus(1:end-shift); end
if shift < 0, stimulus_shifted(1:end+shift)=stimulus(1-shift:end); end

for i = 1:size(bilder,2)
for j= 1:size(bilder,3)
x=corrcoef(stimulus_shifted,bilder(:,i,j));
bild_correlation(i,j)=x(1,2);

```

```

end
end

```

Imager_calc_ttest

```

figure
plot(avg_time,avg_stimulus)
axis([min(avg_time) max(avg_time) min(avg_stimulus)-.1 max(avg_stimulus)+.3])

[x,y]=ginput(4);

% Time relative to stimulus onset
avg_window=zeros(size(avg_time));

x=x - avg_time(find(diff(avg_stimulus)==1));
diff_time=mean(diff(time));
window=round(x/diff_time);

stimulus_begin=find(diff(stimulus) == 1);
windows_out=zeros(size(time));
windows_in =zeros(size(time));

for i =1:size(stimulus_begin)
    windows_out(stimulus_begin(i)+window(1):stimulus_begin(i)+window(2))=1;
    windows_in (stimulus_begin(i)+window(3):stimulus_begin(i)+window(4))=1;
end

plot(time,stimulus)
hold on
plot(time,windows_out*.9,'g')
plot(time,windows_in*.9,'r')
axis([0 stimulus_begin(2)*diff_time -.1 1.1])
xlabel('time [sec]');
hold off
title('T-Test: Blue: stimulus, Green: window outside, Red: window inside')
pause(.2)
%data_to_evaluate=data(:, 5);
% ##### Calculate t-test statistics #####
[bilder_deoxy_H,bilder_deoxy_significance]=imager_fct_ttest(bilder_deoxy,stimulus_begin,window,calc_ttest,ttest_significance_level);
[bilder_oxy_H, bilder_oxy_significance]
=imager_fct_ttest(bilder_oxy,stimulus_begin,window,calc_ttest,ttest_significance_level);

figure(15)
subplot(2,2,1)
imagesc(bilder_deoxy_H),colorbar
title('Deoxy-Hb H')
axis off
s=sprintf('Signif.: %0.8s',num2str(ttest_significance_level));

```

```

text(0,size(bilder_deoxy,2)*1.1,s)

subplot(2,2,2)
imagesc(bilder_oxy_H),colorbar
title('Oxy-Hb H')
%axis off
caxis([.0 1.0]),colorbar

subplot(2,2,3)
imagesc(bilder_deoxy_significance),colorbar
title('Significance')
axis off
s=sprintf('Time window: Out: %2.6s - %2.6s sec, In: %2.6s - %2.6s
sec',num2str(window(1)*diff_time),num2str(window(2)*diff_time),num2str(window
(3)*diff_time),num2str(window(4)*diff_time));
text(0,size(bilder_deoxy,2)*1.2,s)

subplot(2,2,4)
imagesc(bilder_oxy_significance),colorbar
title('Significance')
axis off

Iager_fct_ttest.m
function
[bilder_H,bilder_significance]=iager_fct_ttest(bilder,stimulus_begin>window,calc_
ttest,ttest_significance_level);

for k =1:size(stimulus_begin)
    data_outside(k,:)=squeeze(mean(bilder(stimulus_begin(k)+window(1):stimulus_
begin(k)+window(2),:,:)));

    data_inside(k,:)=squeeze(mean(bilder(stimulus_begin(k)+window(3):stimulus_begi
n(k)+window(4),:,:)));
end

for i = 1:size(bilder,2)
    for j = 1:size(bilder,3)
        data_to_evaluate=bilder(:,i,j);

        % for k =1:size(stimulus_begin)

            %data_outside(k)=mean(data_to_evaluate(stimulus_begin(k)+window(1):sti
mulus_begin(k)+window(2)));
            %data_inside(k)
=mean(data_to_evaluate(stimulus_begin(k)+window(3):stimulus_begin(k)+window(
4)));
        %end
        if calc_ttest=='ttest2'

```

```
[bilder_H(i,j),bilder_significance(i,j)]=ttest2(data_outside(:,i,j),data_inside(:,i,j),ttest
_significance_level);
    end
    if calc_ttest=='ttest1'
        [bilder_H(i,j),bilder_significance(i,j)]=ttest(data_outside(:,i,j)-
data_inside(:,i,j),0,ttest_significance_level);
    end
end
end
```

Imager_select_stimulus.m

```
% ##### Imager_set_parameters #####
```

```
prompt = {'do not average over the following stimuli (format: x,y,z)'};
input_title = 'Eingabe für Datenauswertung';
lines= 1;
answer = {' '};
answer = inputdlg(prompt,input_title,lines,answer);
stimulus_not_to_average=str2num(answer{1});
```

```
%##### Average auf Marker Signale
```

```
if (number_of_wavelengths==1)
```

```
[Avg_bilder,avg_time]=imager_fct_avg(time,bilder,stimulus,points_before_marker,p
oints_after_marker,stimulus_not_to_average);
end
```

```
if (number_of_wavelengths==2)
```

```
[Avg_bilder_780,avg_time]=imager_fct_avg(time,bilder_780,stimulus,points_before
_marker,points_after_marker,stimulus_not_to_average);
```

```
[Avg_bilder_850,avg_time]=imager_fct_avg(time,bilder_850,stimulus,points_before
_marker,points_after_marker,stimulus_not_to_average);
```

```
    avg_stimulus
    =imager_fct_avg(time,stimulus+1,stimulus,points_before_marker,points_after_mar
ker,stimulus_not_to_average)-1;
```

```
    imager_calc_haemoglobin
end
```

Imager_icg.m

```
for i = 1: size(Avg_bilder,2)
    for j = 1:size(Avg_bilder,3)
```

```
        min_icg(i,j)=find(Avg_bilder(:,i,j)==min(Avg_bilder(:,i,j)));
```

```
        max_slope_icg(i,j)=find(diff(Avg_bilder(:,i,j))==min(diff(Avg_bilder(:,i,j))));
```

```
end
end

min_icg=(min_icg-20)*mean(diff(avg_time));
max_slope_icg=(max_slope_icg-20)*mean(diff(avg_time));

figure
subplot(1,2,1)
imagesc(min_icg),caxis([21,35]),colorbar
title('time of minimum in s')
axis off

subplot(1,2,2)
imagesc(max_slope_icg),caxis([13 22]),colorbar
title('time of max slope in s')
axis off
```

Erklärung an Eides Statt

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, dass die vorgelegte Dissertation von mir selbst und ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst wurde, auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig angegeben sind. Die Dissertation wird erstmalig und nur an der Humboldt-Universität zu Berlin eingereicht.

Berlin, den 16.06.2008

(Cathleen Buckow)

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Obrig nicht nur für die Überlassung des Themas, sondern insbesondere für die zuverlässige, konstruktive, motivierende und kreative Betreuung der Arbeit und die freundschaftliche Unterstützung.

Auch Herrn Dr. rer.nat. Matthias Kohl möchte ich für die ausgezeichnete Betreuung, die fortwährende Unterstützung und all die motivierenden und lehrreichen Momente und die Geduld bei der Beantwortung vieler Fragen ganz besonders danken. Die Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Obrig und Herrn Dr. Kohl hat nicht nur meinen „wissenschaftlichen Horizont“ erweitert, sondern auch sehr viel Spass gemacht.

Mein Dank gilt auch Herrn Dipl. Ing. Harald Zank, der mit der technischen Entwicklung des Messsystems diese Arbeit erst möglich gemacht hat.

Ferner danke ich der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die diese Arbeit durch ein Stipendium im Rahmen des Graduiertenkollegs „Klinische und kognitive Neurowissenschaften“ gefördert hat.

Bei den ehemaligen und aktuellen Kolleginnen und Kollegen der NIRS-Arbeitsgruppe, insbesondere bei Frau Dr. H. Israel, Herrn Dr. rer. nat. J. Steinbrink und Dr. rer. medic. K. Uludag möchte ich mich das kameradschaftliche, hilfsbereite und freundliche Arbeitsklima bedanken.

Einen grossen Anteil an der Entstehung dieser Arbeit haben weiterhin die Probanden, ohne deren bereitwillige Mithilfe diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Nicht zuletzt möchte ich S.Kölbel und M.Kunze für viel Geduld und fortwährende Unterstützung danken.

Der größte Dank kommt allerdings meinen Eltern zu, ohne deren Unterstützung das Studium und damit diese Arbeit nicht möglich gewesen wären und denen diese Arbeit gewidmet ist.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.