

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

DISSERTATION

**Laser Speckle Imaging zur kontinuierlichen intraoperativen
Messung des zerebralen Blutflusses**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Marc Michael Müller

aus Berlin

Datum der Promotion: 22.06.2014

meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	3
1 Einleitung	5
1.1 Hirndurchblutung und Schlaganfall	5
1.1.1 Epidemiologie des Schlaganfalls.....	5
1.1.2 (Patho-) physiologie der Hirndurchblutung.....	5
1.1.3 Pathophysiologie des Schlaganfalls.....	6
1.1.4 Ätiologie des ischämischen Schlaganfalls.....	7
1.2 Maligner Mediainfarkt	8
1.3 Dekompressive Hemikraniektomie zur Therapie des malignen Mediainfarktes	9
1.4 Intraoperative Darstellung des zerebralen Blutflusses	10
1.4.1 Übersicht über die Methoden	10
1.4.2 Intraoperative Perfusionsdarstellung von Gefäßen.....	10
1.4.3 Intraoperative Perfusionsmessung der Hirndurchblutung	11
1.4.3.1 Laser Doppler Flowmetry.....	11
1.4.3.2 Laser Speckle Imaging	12
1.5 Zielsetzung der Arbeit	15
2 Methodik	16
2.1 Patientenkollektiv	16
2.2 Protokolle	17
2.2.1 Protokoll für intraoperatives Laser Speckle Imaging.....	17
2.2.2 Protokoll für postoperative Magnetresonanztomographie	18
2.3 Rekonstruktion der MRT-Bildgebung und Fusion mit Laser Speckle Imaging	20
2.3.1 Dreidimensionale Rekonstruktion der MRT-Sequenzen.....	20
2.3.2 Fusion von MRT-Rekonstruktion und Laser Speckle Imaging.....	22
2.3.3 Definition der Infarktgrenze im Laser Speckle Imaging	23
2.4 Validierung von Laser Speckle Imaging zur Beurteilung der relativen Blutflussgeschwindigkeit	25
2.4.1 Anordnung der Messareale und Fluxwertbestimmung.....	25
2.4.2 Normierung der Fluxwerte	27
2.4.3 Analyse der relativen Blutflussgeschwindigkeit	27
2.4.3.1 Globale Analyse der relativen Blutflussgeschwindigkeit.....	27
2.4.3.2 Selektive Analyse der relativen Blutflussgeschwindigkeit	27
2.4.3.3 Statistische Auswertung der relativen Blutflussgeschwindigkeit.....	28
2.5 Berechnung der Perfusionsschwellenwerte für Laser Speckle Imaging	29

3	Ergebnisse	32
3.1	Demographische Daten	32
3.2	Validierung von Laser Speckle Imaging zur Beurteilung der relativen Blutflussgeschwindigkeit.....	32
3.2.1	Normierung der Fluxwerte	32
3.2.2	Analyse der relativen Blutflussgeschwindigkeit auf der Hirnoberfläche	33
3.2.2.1	Globale Analyse der Perfusion	33
3.2.2.2	Selektive Analyse der Perfusion	35
3.3	Analyse der Schwellenwerte zur Perfusionsbeurteilung mit Laser Speckle Imaging.....	38
3.3.1	Berechnung der Schwellenwerte zur Perfusionsbeurteilung	38
3.3.2	Perfusionsbeurteilung der Hirnoberfläche	40
4	Diskussion	41
4.1	Intraoperatives Laser Speckle Imaging.....	41
4.2	Validierung von Laser Speckle Imaging zur Beurteilung der relativen Blutflussgeschwindigkeit.....	43
4.3	Berechnung der Schwellenwerte zur Perfusionsbeurteilung.....	44
4.3.1	Globale Analyse der Perfusion	44
4.3.2	Selektive Analyse der Perfusion	44
4.3.3	Perfusionsbeurteilung der Hirnoberfläche	45
4.4	Ausblick	46
4.5	Limitationen	48
5	Literaturverzeichnis.....	50
6	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	57
7	Abkürzungsverzeichnis.....	59
	Eidesstattliche Versicherung	60
	Lebenslauf.....	61
	Danksagung.....	62

Zusammenfassung

Die Darstellung der kortikalen Perfusion ist ein wichtiges Hilfsmittel bei neurochirurgischen Prozeduren beispielsweise im Rahmen von Gefäßeingriffen. Eine intraoperative Darstellung der Perfusion kann mit Verfahren wie Laser Doppler nur mit Einschränkung von räumlicher oder zeitlicher Auflösung durchgeführt werden. Laser Speckle Imaging ist ein optisches Verfahren ohne diese Einschränkungen, welches nicht-invasiv und kontinuierlich die relative Gewebepfusion darstellt. Ziel dieser Arbeit war die Validierung von Laser Speckle Imaging in der klinischen Anwendung zur Beurteilung der relativen kortikalen Perfusion.

Bei zweiundzwanzig Patienten mit malignem Mediainfarkt wurden intraoperativ Messungen mit Laser Speckle Imaging durchgeführt und diese Aufnahmen mit postoperativen magnetresonanztomographischen Rekonstruktionen der Infarktgrenzen fusioniert. Die mit Laser Speckle Imaging gemessene relative kortikale Perfusion (angegeben in der arbiträren Einheit Flux) wurde im nach Magnetresonanztomographie infarzierten und nicht-infarzierten Areal getrennt analysiert. Die Messwerte wurden auf den mittleren Flux im nicht-infarzierten Areal normiert und die Vorhersagewahrscheinlichkeiten für die jeweilig gemessenen Fluxwerte berechnet. Auf diese Weise wurden Fluxwerte ermittelt, bei welchen mit 95%iger Wahrscheinlichkeit von einem infarzierten beziehungsweise nicht-infarzierten Zustand des betrachteten Parenchyms ausgegangen werden kann.

Laser Speckle Imaging konnte bei allen untersuchten Patienten in Echtzeit mit hoher zeitlicher und räumlicher Auflösung die relative Perfusion darstellen. Bei Fluxwerten von $\leq 40\%$ konnte Laser Speckle Imaging infarziertes Gewebe identifizieren. Fluxwerte $\geq 110\%$ konnten Gewebe identifizieren, welches durch die Magnetresonanztomographie als nicht-infarziert definiert worden war. Mit diesen Grenzwerten war es somit möglich, nicht-infarziertes und infarziertes Parenchym zu unterscheiden. Von der intraoperativ exponierten kortikalen Oberfläche konnten damit im Mittel $61.7 \pm 24\%$ als infarziert ($\leq 40\%$ normierter Flux) und $11.2 \pm 9\%$ als nicht-infarziert ($\geq 110\%$ normierter Flux) definiert werden, wobei $27.2 \pm 16\%$ des Gewebes eine Perfusion zwischen 40 und 110% aufwiesen.

Laser Speckle Imaging konnte bei den untersuchten Patienten mit malignem Mediainfarkt unter Anwendung der ermittelten Fluxwerte infarziertes und nicht-infarziertes Parenchym mit großer Genauigkeit identifizieren. Ein Einsatz als Routineverfahren beispielsweise zur bereits intraoperativen Einschätzung einer potenziell schädlichen Hyper- oder Hypoperfusion oder zur Positionierung von multimodalen Sonden im Rahmen des perioperativen Monitorings erscheint sinnvoll möglich.

Abstract

Current intraoperative monitoring techniques of cortical perfusion like Laser Doppler are restricted in either spatial or temporal resolution. Laser Speckle Imaging is an optical method, which is already used in different clinical and research settings for non-invasive and direct assessment of cortical perfusion. The purpose of this study was to establish positive and negative prediction rates for specific perfusion thresholds of infarcted and non-infarcted tissue in the human brain.

In 22 patients undergoing decompressive craniectomy for treatment of malignant hemispheric stroke Laser Speckle measurements were performed and merged with a magnet resonance imaging reconstruction of the cortical surface including the infarcted cortical tissue. Laser Speckle Imaging-specific relative cortical perfusion was calculated within the infarcted and non-infarcted area defined through MRI. Laser Speckle Imaging-specific perfusion values (given in the arbitrary unit flux) were normalized to the mean flux in the non-infarcted area. Cumulative probability curves were computed and positive (at least 95% probability of infarction) and negative (at least 95% probability of non-infarction) prediction limits were determined.

Laser Speckle Imaging permitted immediate real-time visualization and measurement of relative cortical perfusion in excellent image quality and high spatial-temporal resolution in all patients. Positive and negative prediction limits of infarcted tissue were determined at 40% and 110% of baseline perfusion, respectively. Of the exposed cortical surface area across all patients, $61.7 \pm 24\%$ were determined as infarcted (below 40% normalized flux) compared to $11.2 \pm 9\%$ as non-infarcted (above 110% normalized flux) and $27.2 \pm 16\%$ as tissue with perfusion between the determined perfusion thresholds of 40 and 110% normalized flux.

Laser Speckle Imaging is a valuable tool to sensitively predict infarcted and non-infarcted tissue in patients undergoing neurosurgical procedures due to malignant hemispheric stroke. Laser Speckle Imaging provides excellent spatial resolution and could routinely be used for intraoperative evaluation of hyper- or hypoperfusion during vascular procedures or while positioning multimodal probes for perioperative monitoring.

1 Einleitung

1.1 Hirndurchblutung und Schlaganfall

1.1.1 Epidemiologie des Schlaganfalls

Der Schlaganfall ist eine der häufigsten Ursachen für Einbußen der Lebensqualität im Alter. Nach der koronaren Herzkrankheit und Malignomen ist der Schlaganfall die dritthäufigste Todesursache in Deutschland und hat eine Mortalität von bis zu fünfundzwanzig Prozent im ersten Jahr nach dem Ereignis (*Quelle: Statistisches Bundesamt 2006*). Dies erfordert eine umfassende Beschäftigung mit den verschiedenen Aspekten der Prävention, Diagnostik, Therapie und Rehabilitation.^{1,2} In dieser Arbeit stehen primär Durchblutungsstörungen und nicht Hirnblutungen als Ursache für einen Schlaganfall im Vordergrund.

1.1.2 (Patho-) physiologie der Hirndurchblutung

Der zerebrale Blutfluss (CBF = *engl.* cerebral blood flow) wird vom zerebralen Perfusionsdruck (CPP = *engl.* cerebral perfusion pressure) bestimmt, welcher sich aus der Differenz des mittleren arteriellen Drucks (MAP = *engl.* mean arterial pressure) und des entgegengesetzten intrakraniellen Drucks (ICP = *engl.* intracranial pressure) ergibt:

$$\text{CPP} = \text{MAP} - \text{ICP}.$$

Für eine adäquate metabolische Versorgung des Hirngewebes sollte der CPP über 50mmHg liegen.³

Bereits 1959 beschreiben Lassen et al. die zerebrale Autoregulation, welche unter physiologischen Bedingungen eine konstante Durchblutung des Gehirns ermöglicht.⁴ Die Autoregulation gewährleistet hierbei durch reflektorische Vasokonstriktion und -dilataion in Abhängigkeit des MAP einen konstanten CPP. Unter physiologischen Bedingungen ist über diesen Mechanismus ein konstanter CBF bei einem systemischen MAP von 50 bis 160 mmHg gewährleistet.³

Bei einem unter die Grenze von 50 mmHg sinkenden MAP sinkt der CBF proportional zum MAP. Hieraus kann eine Minderperfusion resultieren. Durch eine lokal erhöhte Sauerstoffausschöpfung kann die zerebrale Sauerstoffversorgung bis zu einem MAP von etwa 40mmHg weiter sichergestellt werden.^{5,6} Da unter diesem Wert eine ausreichende Versorgung nicht mehr gegeben ist, spricht man von kritisch perfundiertem Gewebe.

Erhöht sich der systemische mittlere arterielle Druck über 160mmHg, steigert sich der zerebrale Perfusionsdruck so stark, dass der CBF proportional ansteigt und über die

autoregulatorischen Grenzen hinausgeht. Als Folge kann auf Grund der Flüssigkeitsexsudation aus dem Kapillarbett ein vasogenes Hirnödem entstehen.⁷

Im Allgemeinen wird der lokale zerebrale Blutfluss in Milliliter pro 100 Gramm Hirngewebe pro Minute (ml/100g/min) angegeben und beträgt beim gesunden Menschen im Durchschnitt 55 - 60 ml/100g/min. In verschiedenen Studien wurden bei einem Blutfluss von unter 20ml/100g/min funktionelle und strukturelle Veränderungen festgestellt. Es konnte eine CBF-Schwelle von 8 - 10 ml/100g/min für den Infarktkern und von 20 - 25 ml/100g/min für eine kritische Perfusion gezeigt werden.⁸⁻¹⁰ Gewebe mit einem Blutfluss zwischen diesen Grenzen ist nach dem Konzept der Penumbra bereits geschädigt, weist aber noch einen zum Teil intakten Metabolismus auf und eine Wiederherstellung des physiologischen Zustandes ist möglich.^{10,11}

1.1.3 Pathophysiologie des Schlaganfalls

Der ischämische Schlaganfall ist nach der *Deutschen Gesellschaft für Neurologie* als „akut fokal neurologisches Defizit aufgrund einer umschriebenen Durchblutungsstörung des Gehirns“ definiert.¹ Dies beinhaltet sowohl Schlaganfälle auf Grund von Hirnblutungen und die in dieser Arbeit primär betrachteten Schlaganfälle auf der Basis von Durchblutungsstörungen. Nur zwanzig Prozent aller Schlaganfälle sind hämorrhagisch bedingt. Achtzig Prozent der Schlaganfälle sind ischämischen Ursprungs. Die Unterversorgung mit Substraten und Sauerstoff sowie der mangelhafte Abtransport von Metaboliten schädigen die Integrität und Funktionsfähigkeit des zerebralen Gewebes und führen zu irreversiblen Schäden.¹²

Diese sind je nach Dauer des ischämischen Intervalls, Grad der Perfusionsminderung, Größe des Infarktes und Grad der Kollateralisierung nur vorübergehend oder manifest.¹²⁻¹⁴ Dabei lässt sich die Schädigung im Rahmen eines Hirninfarktes in mehrere Phasen mit unterschiedlichen pathologischen Abläufen gliedern. Nach einer akuten Schädigung mit stark herabgesetztem CBF im Infarktkern und resultierendem Mangel an energieliefernden Metaboliten kann in der subakuten Phase im umliegenden Gewebe eine weitere Schädigung durch Hypotonie, toxisch-metabolische Ursachen und andere Mechanismen folgen. In diesem vorerst kritisch perfundierten, aber noch vitalen Gewebe kann nach dem Konzept der Penumbra eine Ausbreitung des Infarktes erfolgen.¹¹ In einer späteren, verzögerten Phase kann durch zusätzliche Veränderungen wie zytotoxische und vasogene Ödembildung eine weitere Schädigung von Hirngewebe entstehen.¹⁴⁻¹⁶ Das Therapieziel ist es, kritisch perfundiertes, aber noch nicht infarziertes Gewebe durch eine gezielte Reperfusion zu schützen und eine Vergrößerung des infarzierten Areals zu verhindern.^{14,17}

1.1.4 Ätiologie des ischämischen Schlaganfalls

Grundlegend lassen sich ischämische Schlaganfälle nach ihrer Ätiologie als mikroangiopathische Infarkte, makroangiopathische Infarkte, thromboembolische Infarkte und Infarkte anderer Genese unterscheiden.^{2,18,19} Typische Risikofaktoren für den ischämischen Schlaganfall stellen sich nach aktuellen Studien ähnlich wie bei ischämischen Vorgängen in anderen Organen dar. Arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Zigaretten- und Alkoholgenuss, abdominelles Übergewicht und kardiale Vorerkrankungen sind die zentralen prädisponierenden Faktoren für die Entstehung der unmittelbaren Ursachen eines Schlaganfalls in Form von Stenosen oder Embolien.²⁰⁻²²

Mikroangiopathische Infarkte auf Grund einer Pathologie kleiner Arterien oder Arteriolen, die meist ein lakunäres Infarktmuster in den Basalganglien oder dem Hirnstamm aufweisen, machen etwa zwanzig Prozent aller ischämischen Infarkte aus. Ihre Genese wird durch eine chronische Vorschädigung und hyaline Veränderung des Gefäßendothels in Sinne der Atherosklerose durch chronische Hypertonie maßgeblich befördert.^{19,20,23,24}

Makroangiopathisch hämodynamisch bedingte Infarkte sind mit etwa fünf Prozent aller ischämischen Infarkte eher selten. Sie äußern sich morphologisch in Form des Endstrominfarktes und werden in Hinblick auf ihr Infarktmuster und die Pathophysiologie Grenzzoneninfarkte genannt. Durch meist langsam progressive Steno-okklusion der hirnversorgenden Gefäße kommt es hierbei zu einer Hypoperfusion in Regionen, welche nicht ausreichend durch Kollateralgefäße versorgt sind. Typische Lokalisationen sind die Grenzzonen zwischen den großen intrazerebralen Arterien: Arteria cerebri anterior, Arteria cerebri media und Arteria cerebri posterior. Dieser Infarkttyp tritt im Einklang mit seiner Ätiologie gehäuft bei systemischer Hypotension auf.^{19,25-27}

Durchblutungsstörungen mit der Ursache einer arterio-arteriellen Thromboembolie sind mit fünfzig Prozent häufigste Ursache eines akuten ischämischen Schlaganfalls. Zweithäufigste Ursache sind kardiale Embolien meist in Folge einer Vorhoffarrhythmie mit einer Häufigkeit von etwa dreißig Prozent. Die Folge sind ausgeprägte Territorialinfarkte, die morphologisch das gesamte Versorgungsgebiet einer entsprechenden Arterie betreffen. Der Infarkt der Arteria cerebri media ist ein typisches Krankheitsbild für diese Form des ischämischen Schlaganfalls und kann sich im Falle einer vollständigen Hauptastokklusion zu einem lebensbedrohlichen malignen Mediainfarkt entwickeln.^{2,19,20,28}

1.2 Maligner Mediainfarkt

Ein proximaler Verschluss der Arteria cerebri media zieht meist einen großen ischämischen Infarkt nach sich und tritt bei bis zu 10 % aller ischämischen Schlaganfälle auf.²⁹ Für dieses Krankheitsbild wurde von Hacke et al. 1996 der Begriff des malignen Schlaganfalls der Arteria cerebri media geprägt.³⁰ Der maligne Mediainfarkt wird typischerweise klinisch durch ein eingetrübtes Bewusstsein, ausgeprägte neurologische Symptome wie ein senso-motorisches Hemisyndrom und einen multimodalen Neglect sowie bildmorphologisch durch eine große Infarktausdehnung (mehr als zwei Drittel des Arteria cerebri media Stromgebietes) charakterisiert.²⁸

In Folge des ausgedehnten Infarktes kommt es bei einem Teil der Patienten zwei bis fünf Tage nach dem Infarkt zu einem massiven unilateralen Hirnödem, welches den intrakraniellen Druck stark erhöht und unbehandelt durch Herniation zum Tode führen kann.²⁸ Das Hirnödem ist durch zytotoxische Effekte aufgrund der Veränderungen des Elektrolythaushalts und hypoxischer Depolarisationen bestimmt. Diese bedingen einen Verlust der Integrität der Blut-Hirnschranke bei Störung der tight junctions und Basalmembran. Der intrakranielle Druck wird durch das zusätzliche vasogene Ödem im Extrazellularraum verstärkt.¹⁴

Patienten mit einer massiven Hirngewebsschädigung können durch die weitreichende Veränderung der zellulären Integrität und Funktion im Zuge des Infarktes eine gestörte Autoregulation aufweisen. Die Änderung des CPP schlägt sich dann direkt in einer Veränderung des CBF nieder. Bereits bei einer leichten Erhöhung des CPP, welche unter physiologischen Bedingungen ohne Folgen wäre, steigt hierbei direkt der CBF und ein vasogenes Ödem kann entstehen. Eine Verringerung des CPP hingegen verstärkt durch die fehlende autoregulatorische Vasokonstriktion ein Ausbreitung der Ischämie im Periinfarktareal.³¹

1.3 Dekompressive Hemikraniektomie zur Therapie des malignen Mediainfarktes

Neben dem kausalen Ansatz der Lysetherapie ist beim malignen Mediainfarkt die symptomatische Therapie von großer Bedeutung. Der maligne Mediainfarkt weist bei rein konservativer Therapie sehr hohe Mortalitätsraten mit bis zu 80% nach 3 Monaten auf. Ein Gros der überlebenden Patienten muss mit massiven Behinderungen leben.^{28,30,32} Die konservativ intensivmedizinische Therapie durch Osmotherapie mit Glycerol oder Mannitol, 30°-Oberkörper-Hochlagerung, Sedation und Hyperventilation konnte keine deutliche Prognoseverbesserung zeigen.^{28,33,34}

Aus dieser Problematik heraus wurde schon in den 1970iger Jahren die Entfernung der Schädelkalotte zur Therapie des erhöhten Hirndrucks beschrieben.^{35,36} Die Druckentlastung mittels Hemikraniektomie innerhalb von 48 Stunden gekoppelt mit intensivmedizinischer Therapie zeigte in drei aktuellen, großen Studien DECIMAL³⁷, DESTINY³⁸ und HAMLET³⁹ eine deutliche Reduktion der Mortalität und eine Verringerung der Dauerfolgen des großen Infarktes gegenüber der alleinig konservativen Therapie bei Patienten bis zu 60 Jahren.³⁷⁻⁴¹

Bei der Hemikraniektomie wird ein möglichst großer Teil des supratentoriellen Hemikraniums ipsilateral zum Infarkt entfernt. Durch diese Dekompression soll Raum für die ödematöse Schwellung der infarzierten Hemisphäre geschaffen werden und eine letale Herniation am Tentorium verhindert werden. Die Normalisierung des intrakraniellen Druckes verbessert die zerebrale Perfusion und damit den Perfusionszustand des noch nicht infarzierten Hirngewebes. Die entfernte Kalotte kann nach Regression des Ödems nach etwa drei Monaten replantiert werden.⁴⁰⁻⁴⁴

1.4 Intraoperative Darstellung des zerebralen Blutflusses

Bei neurochirurgischen Prozeduren ist eine Visualisierung des Blutflusses ein essentieller Bestandteil. Zur intraoperativen Darstellung der Perfusion im Gefäßsystem und im Parenchym auf der Hirnoberfläche haben sich verschiedene Methoden mit ihren spezifischen Charakteristika bewährt. Diese werden beispielsweise bei Anlage eines Bypasses, bei der Versorgung von Aneurysmata oder arteriovenösen Malformationen verwendet.

1.4.1 Übersicht über die Methoden

Grundsätzlich wird zwischen einer angiographischen Perfusionsdarstellung von Gefäßen und einer Perfusionsmessung im Gewebe unterschieden. Ersteres ist ein etabliertes invasives Verfahren, welches beispielsweise bei steno-okklusiven Gefäßerkrankungen in der interventionellen Radiologie weite Anwendung findet.⁴⁵ Die Perfusionsmessung im Gewebe erlaubt quantitative Aussagen, stellt aber immer einen Kompromiss aus räumlicher und zeitlicher Auflösung dar.⁴⁶

1.4.2 Intraoperative Perfusionsdarstellung von Gefäßen

Etablierte Methoden zur intraoperativen Visualisierung von Gefäßen und ihrer Perfusion sind die digitale Subtraktionsangiographie (DSA) und die Indocyanin-Grün-Angiographie (ICG-A).

Nach einer initialen Bildaufnahme wird bei der digitalen Subtraktionsangiographie Kontrastmittel über einen Katheter in das zu untersuchende Blutgefäß gespritzt und danach verschiedene Röntgenaufnahmen des zu untersuchenden Gebietes gemacht. Von diesen wird das vorher aufgenommene Bild digital abgezogen, so dass die Unterschiede, in diesem Fall die mit Kontrastmittel dargestellten Gefäße, sichtbar sind. Mit dieser Methodik können arteriovenöse Malformationen oder Aneurysmata gut dargestellt werden.⁴⁷⁻⁴⁹

Indocyanin-Grün (ICG = *engl.* indocyanine green) ist ein negativ geladener, wasserlöslicher, aber hydrophober Fluoreszenzfarbstoff mit einem Emissionsmaximum bei 822nm, welcher bei intravenöser Gabe fast ausschließlich an Serumproteine bindet und ausschließlich über die Galle ausgeschieden wird. Es kann leicht in ein Blutgefäß injiziert werden und hat sehr gute Fluoreszenzeigenschaften. Auf Grund dieser günstigen Merkmale findet ICG seit langem weite Anwendung in der Tumorchirurgie beispielsweise beim Auffinden von Sentinel-Lymphknoten oder Tumorgrenzen.⁵⁰ Seit einigen Jahren gibt es neue Konzepte, welche die Anwendung im neurochirurgischen Kontext zur Darstellung der Perfusion bei

Bypass-Operationen, Aneurysmachirurgie oder der Mikrogefäßversorgung eröffnen. Vorteile von ICG sind eine gute räumliche Auflösung, eine hohe Bildqualität und eine einfache Nutzung der Methodik bei der Integration in das Operationsmikroskop in Kombination mit Videoaufzeichnungen. ICG erlaubt eine Abschätzung der Gefäßdurchgängigkeit, aber keine direkte Perfusionmessung. Ebenso stellen die Substanzinjektion und die diskontinuierliche Messung Nachteile dar.⁵¹⁻⁵⁴

1.4.3 Intraoperative Perfusionmessung der Hirndurchblutung

Apparativ sehr aufwendige nicht-optische Untersuchungsmethoden wie Positronen-Emissions-Tomographie (PET), Einzelphotonen-Emissions-Tomographie (*engl.* single photon emission computed tomography, SPECT) oder Xenon-CT erlauben eine gute Visualisierung der Hämodynamik von Gewebe oder im speziellen des Hirngewebes prä- oder postoperativ.⁵⁵ Auf Grund des apparativen und logistischen Aufwandes sind diese Methoden jedoch nicht im intraoperativen Anwendungsbereich praktikabel. Optische Bildgebungsverfahren können sich hingegen für die Perfusionmessung während einer Operation eignen.

1.4.3.1 Laser Doppler Flowmetry

Intraoperative Perfusionmessungen im Gewebe sind mit der Laser Doppler Flußmessung (LDF = *engl.* laser doppler flowmetry) möglich. LDF macht sich den physikalischen Dopplereffekt zunutze, bei welchem sich die Wellenlänge einer Schall- oder auch elektromagnetischen Welle in Abhängigkeit der Bewegungsgeschwindigkeit des angestrahlten Teilchens oder Körpers verändert.⁴⁶ Mit Hilfe einer Glasfaserelektrode kann an einem gewählten Messpunkt der Blutfluss mit hoher zeitlicher Auflösung exakt gemessen werden.

Als Abtastverfahren auf Basis von LDF ist die Laser Doppler Bildgebung (LDI = *engl.* laser doppler imaging) ein Verfahren zur Betrachtung von Perfusionszuständen auf Oberflächen. Mit Hilfe eines entsprechenden Gerätes, das den Messstrahl über Spiegel in seiner Position verändert, können wie in einem Scanner größere Areale sequenziell betrachtet werden. Es ergibt sich die Möglichkeit, aus den nacheinander gemessenen Punkten eine entsprechende Perfusionskarte zu erstellen. Diese Erhöhung der räumlichen Auflösung vermindert jedoch die zeitliche Auflösung. Die Laser Doppler Verfahren sind somit Methoden, die eine Echtzeitmessung entweder nur mit hoher räumlicher oder nur mit hoher zeitlicher Auflösung gewährleisten.

1.4.3.2 Laser Speckle Imaging

Mit der Etablierung des Konzeptes der Laser Speckle Bildgebung (LSI = *engl.* laser speckle imaging) steht erstmals ein Verfahren mit hoher zeitlicher und räumlicher Auflösung zur Betrachtung der Gewebsperfusion zur Verfügung. LSI nutzt das Phänomen des Laser Speckle (*engl.* Fleck), welches physikalisch die Weiterentwicklung des Dopplereffektes ist. LSI betrachtet zusammengefasst die Unschärfe der Reflektionen eines mit Laserlicht beleuchteten Gewebes.

Durch Beleuchtung einer im Prinzip beliebig großen Gewebeoberfläche mit einem durch eine Linse gefächerten Laserlicht entsteht ein Interferenzeffekt durch die verschiedenen Reflektionen der Lichtwellen des Laserlichts. Dieses Reflektionsmuster wird durch eine Kamera aufgezeichnet und ähnelt einem Rauschen oder vielen verschiedenen Flecken. Dieser Effekt ändert sich durch verändertes Reflektionsverhalten in Bereichen, in denen sich Teilchen bewegen und diese Bereiche erscheinen durch die sich schnell ändernden Reflektionsmuster unschärfer. Dies kann zum Beispiel durch Bewegung der korpuskulären Bestandteile des Blutes bedingt sein.⁴⁶ Folglich ist die Unschärfe in Arealen mit verhältnismäßig viel Blutfluss hoch und in Gewebearealen mit relativ geringen Blutfluss niedrig. Der Aufbau einer LSI-Messeinheit ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

Dieses zweifarbige (schwarz/weiß) Unschärfebild kann auf verschiedene Weise ausgewertet werden. Beispielsweise ist es möglich, den Fluss mit Hilfe eines Computers als farbkodierte Echtzeitmatrix (rot = hoher Flux, blau = niedriger Flux), wie in Abbildung 2 dargestellt, abzubilden. Flux ist dabei die arbiträre Einheit für die relative Blutflussgeschwindigkeit über einem definierten Gewebeabschnitt und gibt die Änderung der Unschärfe an diesem Bildpunkt an. Die relative Blutflussgeschwindigkeit korreliert mit dem absoluten Blutfluss in der betrachteten Gewebeschicht.⁵⁶⁻⁵⁸

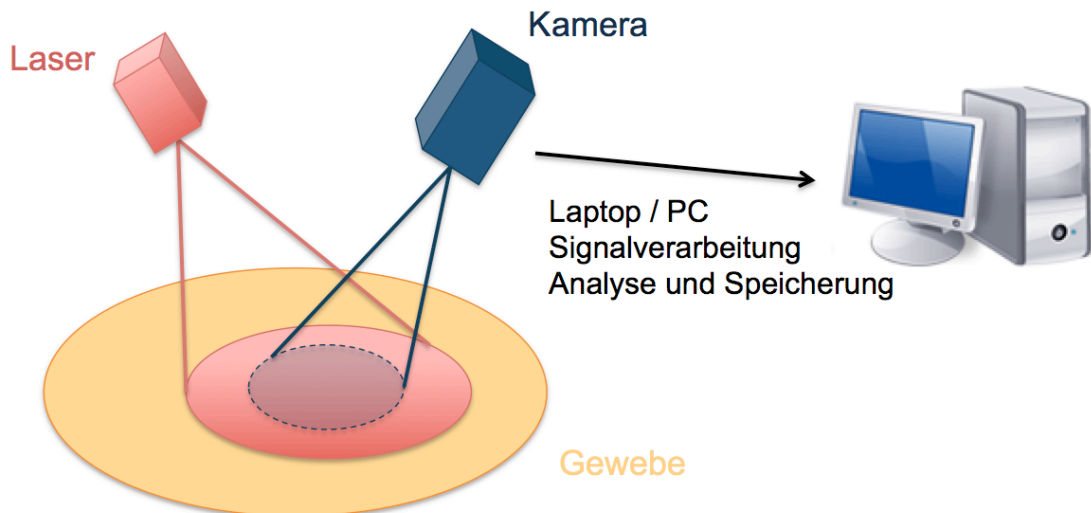


Abbildung 1: vereinfachte Darstellung der LSI-Technik: Ein Laser ($\lambda = 785\text{nm}$) erzeugt ein Interferenzphänomen auf der Gewebeoberfläche, welches mit einer Kamera aufgezeichnet wird. Diese ist an einen Laptop oder PC mit entsprechender Auswertungssoftware angeschlossen, welche eine Auswertung in Hinblick auf Veränderungen im aufgenommen Interferenzmuster ermöglicht.

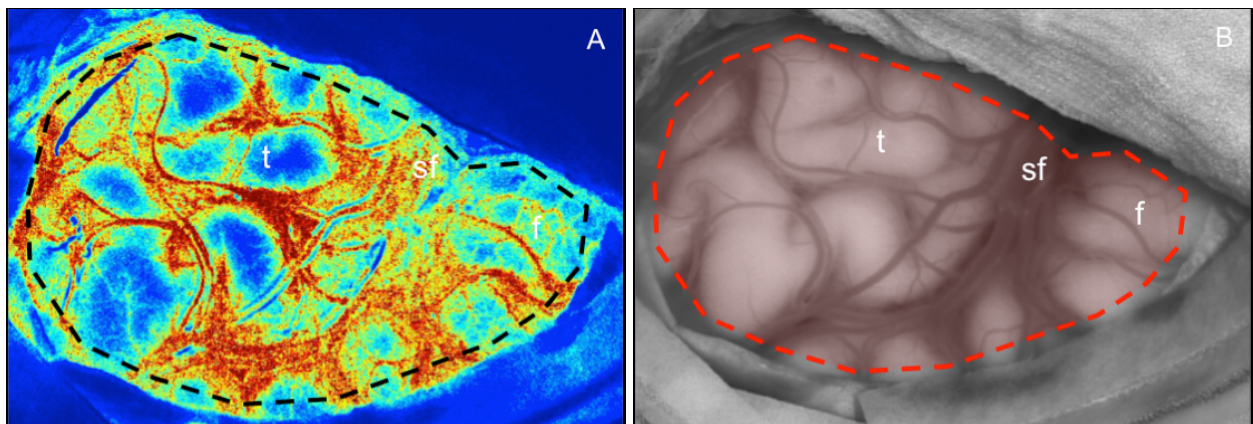


Abbildung 2A und B: (f = frontal, t = temporal, sf = Sylvische Fissur) Der linke Abbildungsteil (Abb. 2A) zeigt beispielhaft eine LSI-Messung der linken Hemisphäre. Dabei wurde das Fluxbild farbkodiert, wobei blau einem niedrigen Flux und rot einem hohen Flux entspricht. Rechts ist die korrespondierende Schwarz-Weiß Aufnahme (Abb. 2B) der linken Hemisphäre zu sehen, welche einer unbearbeiteten Fotografie entspricht. In der LSI-Messung erscheinen hohe relative Blutflussgeschwindigkeiten rötlich. Vergleichend erkennt man an Stellen mit hohem Flux im LSI-Bild (Abb. 2A) im Schwarz-Weiß-Bild (Abb. 2B) die Gefäßverläufe, die physiologisch relativ zum Parenchym einen hohen Blutfluss aufweisen.

Zusammenfassend ermöglicht LSI somit in Echtzeit eine direkte und kontinuierliche Blutflussmessung in hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung. Sie ist intraoperativ durch den technisch einfachen Aufbau praktikabel anwendbar und ist kosteneffizient. Limitiert ist die Methode durch ihren relativen Messcharakter. Typischerweise wird wie bei allen Dopplerverfahren die Perfusion über die Blutflussgeschwindigkeit ermittelt. Diese Geschwindigkeit wird wie oben beschrieben mit einer arbiträren Einheit, genannt Flux, ausgedrückt. Da die so ermittelten Fluxwerte/Perfusionswerte keine direkten Rückschlüsse auf die absolute Hirndurchblutung erlauben, spricht man von einem pseudo-quantitativen Messverfahren.

LSI konnte sowohl im Tierversuch,^{56,59} als auch in klinischen Studien zur Perfusionsbeurteilung von Hirnoberflächengewebe angewendet werden.⁶⁰⁻⁶² In Hinblick auf den pseudo-quantitativen Charakter der Methodik konnten bisher jedoch keine mit Laser Speckle Imaging gemessenen Perfusionsschwellen validiert werden, die es ermöglichen, auf einen infarzierten Zustand des Gewebes zu schließen.

1.5 Zielsetzung der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, spezifische Perfusionsschwellen für Laser Speckle Imaging im intraoperativen Gebrauch zur Differenzierung von infarziertem und nicht-infarziertem Hirngewebe anhand eines Patientenkollektivs mit malignem Mediainfarkt zu validieren. Perspektivisch kann dann mit Laser Speckle Imaging intraoperativ die kortikale Perfusion bei verschiedenen neurochirurgischen Prozeduren beurteilt werden.

2 Methodik

2.1 Patientenkollektiv

Patienten mit malignem Mediainfarkt, bei denen eine dekompressive Hemikraniektomie durchgeführt wird, sind für die Fragestellung dieser Arbeit aus verschiedenen Gründen ein geeignetes Patientenkollektiv. Während der dekompressiven Hemikraniektomie wird ein große Fläche Hirngewebe exponiert, sodass sich eine große Anzahl von Messwerten für eine valide Auswertung ergibt. Darüber hinaus kann die Perfusion mit der zu validierenden Methodik in nicht-infarzierten und infarzierten Arealen intraoperativ im gleichen Patienten gemessen und anschließend vergleichend ausgewertet werden.

Alle in der vorliegenden Arbeit eingeschlossenen Patienten sind Teil der COSBID-Studie (*Cooperative Study on Brain Injury Depolarisations*, www.cosbid.org, EA4/109/07) und wurden an der Charité Universitätsmedizin Berlin am Campus Virchow-Klinikum und Campus Benjamin Franklin behandelt.

Für die Fragestellung dieser Arbeit wurden zweiundzwanzig Patienten des COSBID-Kollektives, bei welchen ein maligner Mediainfarkt diagnostiziert wurde, ausgewählt. Alle Patienten oder deren Angehörigen haben eine schriftliche Einwilligung zur Studienteilnahme unterzeichnet. Aufgrund des malignen Mediainfarktes wurde bei Ihnen die Indikation zur dekompressiven Hemikraniektomie gestellt. Sie wurden nach aktueller Studienlage hemikraniektomiert³⁷⁻³⁹ und intraoperativ die LSI-Messungen für die vorliegende Arbeit getätigt. Postoperativ wurden die MRT-Aufnahmen durchgeführt.

2.2 Protokolle

2.2.1 Protokoll für intraoperatives Laser Speckle Imaging

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde eine durch eine Linse gefächerte Laserlichtquelle mit einer Wellenlänge von 785 nm über dem Operationssitus positioniert und das reflektierte Licht mit einer Kamera aufgenommen. Mit einem Stativ wurde das Aufnahmegerät (moorFLPI, Moor Instruments Ltd, Axminster, UK) während der Operation senkrecht über der freigelegten Hirnoberfläche positioniert. Als fest definierter Aufnahmeabstand zwischen Gehirnoberfläche und Kamera wurden 30 cm gewählt, woraus eine Aufnahmefläche der Hirnoberfläche von 13 x 24 cm resultierte. Während der Aufnahmedauer wurde die Operationsaalbeleuchtung minimiert, so dass die Hirnoberfläche ausschließlich durch das Laserlicht beleuchtet wurde. Ein Polarisationsfilter vor der Kameralinse minderte die Streulichteinflüsse zusätzlich.

Mit Hilfe eines Zeitfilters wurden 0,25 Hz als Abtastrate gewählt und ergab eine räumliche Auslösung von 760 x 568 Pixel. Eine geringe Aufnahmefrequenz verbessert durch Summationseffekte die räumliche Detailauflösung, verringert jedoch die zeitliche Auflösung. Auf der Basis von Vorversuchen stellte die Aufnahmefrequenz von 0,25 Hz den besten Kompromiss aus Detailauflösung und zeitlicher Auflösung dar. Acht Patienten wurden mit einer Belichtungsdauer von 4 ms gemessen und die vierzehn übrigen Patienten mit 8,3 ms. Da die Werte relativ zu einander betrachtet wurden, ist dieser Unterschied in der Aufnahmemodalität zu vernachlässigen.

Das für diese Arbeit verwendete Aufnahmegerät zeichnet gleichzeitig ein Schwarz-Weiß-Bild des Messareals und ein farbkodiertes Fluxbild auf. Ersteres erleichtert die exakte Orientierung bei der späteren Auswertung und die farbkodierte Aufnahme ermöglicht die eigentliche Oberflächenanalyse in Hinblick auf die Perfusion.

Intraoperativ wurden kontinuierliche Laser Speckle Aufnahmen mit einer Dauer von mindestens fünfzehn Minuten erzeugt. Simultan zu den LSI-Messungen wurde der arterielle Blutdruck protokolliert. Zu einer Auswertung der Fluxwerte der einzelnen Patienten wurde jeweils ein Versuchszeitpunkt mit möglichst standardisierten Bedingungen gewählt. Der MAP-Bereich von 80 – 90 mmHg wurde als Auswahlkriterium für die Analyse der relativen Blutflussgeschwindigkeit definiert, um eine gute Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Die Fluxwerte wurden darüber hinaus in einen Messzeitraum von einer Minute gemittelt.

Die Aufnahmen konnten während der Messung mit Hilfe von USB direkt auf einen Laptop oder PC übertragen und mit der LSI-Software moorFLPI (moor Full-Field Laser

Perfusion Imager measurement software, Version V3.0, Moor Instruments Ltd., Axminster, United Kingdom) verarbeitet werden.

LSI-Messungen können ausschließlich standardisiert verglichen werden. Anhand von Vorversuchen wurden daher die im Folgenden beschriebenen Einstellungen in der moorFLPI-Software gewählt. Die Farbpalette umfasste ein kontinuierliches Farbspektrum von 265 Farben von Blau bis Rot. Hierbei wurden niedrige Fluxwerte bläulichen Farben zugeordnet und Fluxwerte von 3500 als Maximum und damit rot definiert. Diese Farbpaletteneinstellung war für die visuelle Auswertung gut zu nutzen, da sie Perfusionsunterschiede gut abgrenzbar visualisiert.

Darüber hinaus wurde eine Einstellung gewählt (*Restrict DC on*), welche Bereiche mit starker Krümmung (z.B. am Bildrand) ausblendet und diese nicht in die Auswertung einfließen lässt. Diese Bereiche ergeben aufgrund ihrer Krümmung keine validen Messdaten, da das Messverfahren LSI nur valide Messungen von Oberflächen erlaubt, die senkrecht zum Laserstrahl verlaufen. Bei einer schrägen oder gekrümmten Fläche gelangt ein Teil des reflektierten Laserlichts nicht in die Messeinheit und die Messung wird hierdurch verfälscht.

2.2.2 Protokoll für postoperative Magnetresonanztomographie

Als am weitesten verfügbare und etablierte Methodik zur Charakterisierung in Bezug auf Infarktausdehnung beim ischämischen Schlaganfall wurde MRT als Vergleichsstandard für LSI in dieser Arbeit gewählt.⁶³⁻⁶⁶

Direkt nach der Operation wurden MRT-Aufnahmen durchgeführt. Angestrebt wurde eine möglichst zeitnahe Durchführung der MRT-Aufnahmen, um postoperative Infarktgrößenveränderungen in Bezug auf die vergleichende Auswertung von MRT und LSI zu minimieren.

Zur Darstellung der Infarktgröße und der Definition der Infarktgrenze auf dem Kortex wurde die DWI-Sequenz (*engl.* diffusion weighted imaging) herangezogen. In dieser Aufnahmemodalität wird der Wasserhaushalt im zerebralen Gewebe detektiert und Abweichungen vom physiologischen Zustand zum Beispiel in Folge zytotoxischer Ödembildung in infarziertem Gewebe werden visualisiert. Dabei macht die spezifische Anregung und Resonanz die Diffusionsstörung, welche in ischämischen Arealen vorhanden ist, sichtbar. Als etabliertes und klinisch bewährtes Verfahren erlaubt die DWI-Sequenz mit guter Sensitivität eine Einschätzung der Infarktgröße.^{66,67} Bereits zwei bis sechs Stunden nach Auftreten des neurologischen Defizits lässt sich anhand DWI-Sequenz beim Menschen beurteilen, ob ein ischämischer Infarkt vorliegt und wie groß dessen Ausdehnung ist.^{68,69}

Die MP-RAGE-Sequenz (*engl.* magnetization prepared rapid gradient echo) erlaubt mit hoher räumlicher Auflösung die genaue Adjustierung und Fusion der MRT- und LSI-Messungen. Die dünn-schichtigen Aufnahmen (1mm Schichtdicke) der MP-RAGE-Sequenz ergeben eine detaillierte Darstellung der Strukturen auf dem Kortex, da der dreidimensionale Bildpunkt (auch Voxel genannt) die Kantenlänge von 1mm in allen drei Raumrichtungen besitzt. In dickschichtig aufgenommenen Sequenzen sind die Voxel meist mehrere Millimeter hoch und daraus resultierend ist das dreidimensionale Bild weniger detailliert. Im nächsten methodischen Schritt, der Rekonstruktion der MRT-Bildgebung und Fusion mit LSI (Kapitel 2.3), war eine genaue Adjustierung der LSI-Messungen an die MRT-Aufnahmen mit Hilfe dieser detailreichen Sequenz möglich.

2.3 Rekonstruktion der MRT-Bildgebung und Fusion mit Laser Speckle Imaging

Um MRT- und Laser Speckle-Bildgebung miteinander vergleichen zu können, ist zuerst eine dreidimensionale Rekonstruktion der MRT-Aufnahmen (s. Kapitel 2.3.1) und darauf folgend die Fusion der MRT- und LSI-Messungen nötig (s. Kapitel 2.3.2). Dann kann die aus der MRT-Bildgebung definierte Infarktgrenze in die LSI-Messung übernommen werden (s. Kapitel 2.3.3) und dann LSI als Verfahren validiert werden (s. Kapitel 2.4).

2.3.1 Dreidimensionale Rekonstruktion der MRT-Sequenzen

Die postoperativ erstellten MRT-Aufnahmen wurden mit Hilfe der Software Visage 7 (Visage Imaging GmbH, Berlin, Deutschland; Version 7.0.11.827) bearbeitet. Hierbei wurde die Kortexoberfläche in der MP-RAGE-Sequenz manuell freigestellt, das heißt, dass die Kortexoberfläche mit Hilfe der Software in jeder axialen, koronaren und sagittalen Schicht manuell umfahren und auf diese Weise digital vom umgebenden Gewebe getrennt wurde. Die Bildpunkte innerhalb dieser Umrandung wurden auf diese Weise für die Rekonstruktion ausgewählt. Das Ergebnis war eine dreidimensionale Darstellung des Gehirns (Abbildung 3) ohne für die Auswertung störende Strukturen wie Kopfhaut, Muskel und Knochen.

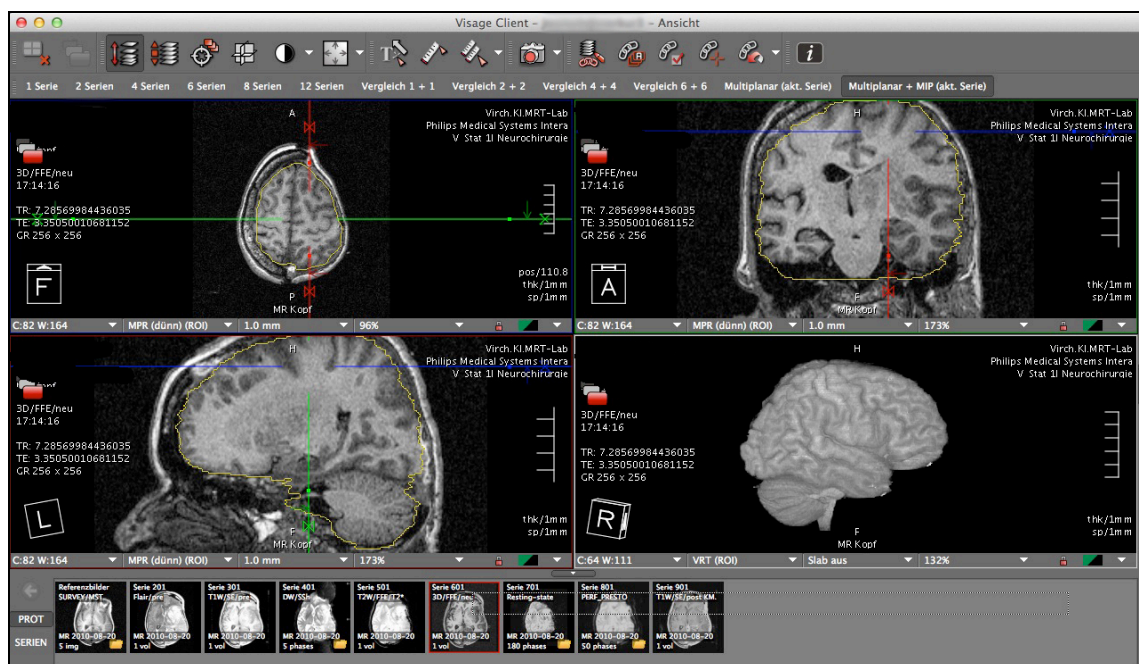


Abbildung 3: Die Abbildung zeigt die MP-RAGE-Sequenz mit Freistellung eines infarzierten und Gehirns nach Hemikraniektomie mit Hilfe von Visage 7 in jeweils einer axialen (oberer linker Quadrant), koronaren (oberer rechter Quadrant), sagittalen Schicht (unterer linker Quadrant). Die gelbe Linie stellt die manuelle Markierung der Hirnoberfläche dar, die dann die Rekonstruktion ermöglicht. In der Abbildung ist im unteren rechten Quadranten die durch dreidimensionale Rekonstruktion freigestellte MP-RAGE-Sequenz sichtbar. Sie ist in allen Raumrichtungen drehbar und für die weitere Verarbeitung vorbereitet.

Die Aufnahmen der DWI-Sequenz wurden analog zur MP-RAGE-Sequenz durch manuelles Freistellen bearbeitet und rekonstruiert. Durch diese beiden Arbeitsschritte ergab sich ein dreidimensionales Modell des Gehirns aus der MP-RAGE-Sequenz (Abb. 4A) und des Infarktes aus der DWI-Sequenz (Abb. 4B). Beide Rekonstruktionen wurden dann fusioniert, so dass die MP-RAGE-Rekonstruktion mit der hohen räumlichen Auflösung und die DWI-Sequenz mit der Infarkt Darstellung in einer gemeinsamen Rekonstruktion dargestellt werden konnten (Abb. 4C).

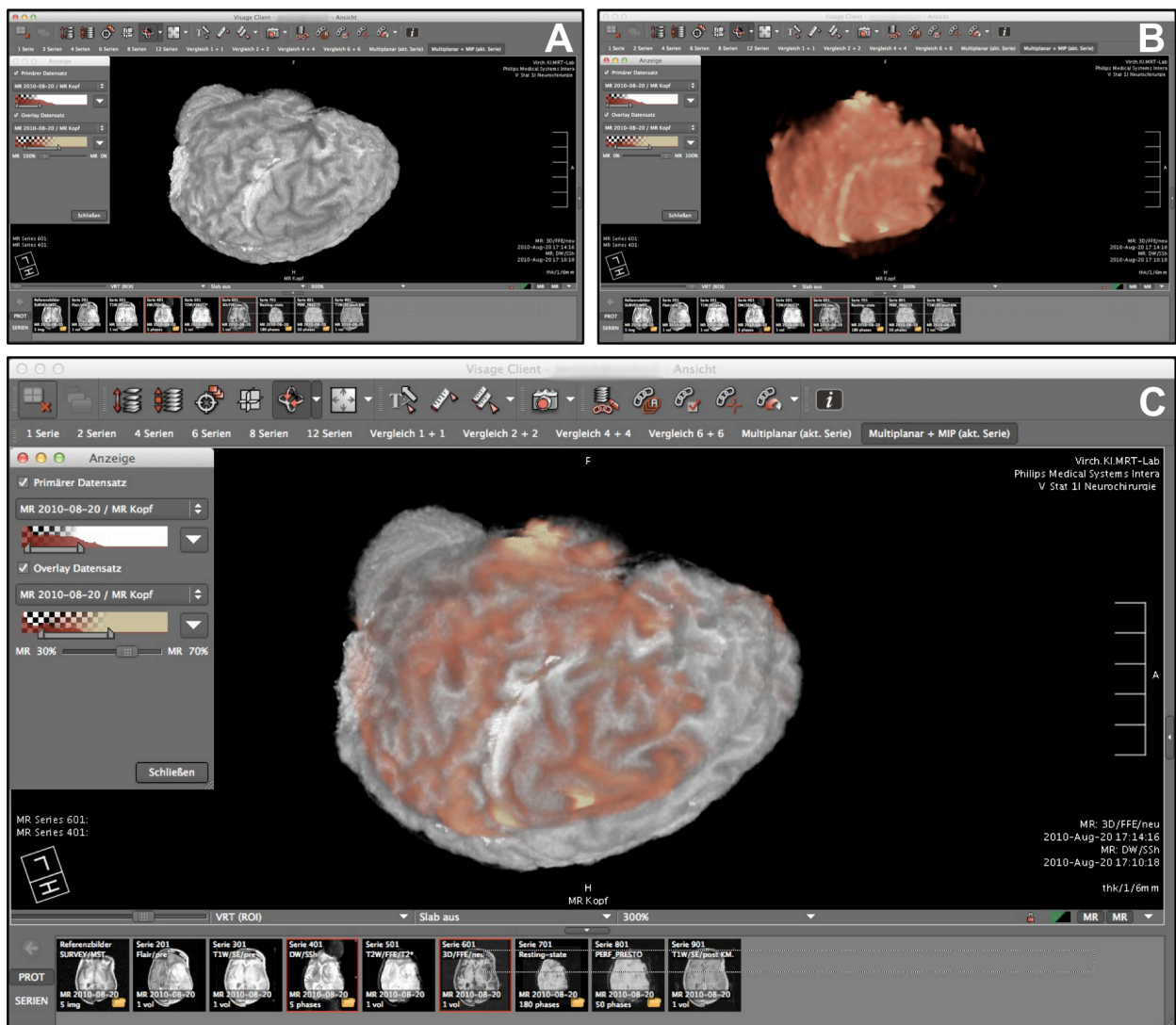


Abbildung 4: Diese Abbildung auf Grundlage der MRT-Daten stellt die Weiterverarbeitung und Überlagerung mit Visage 7 dar. In Abbildung 4A ist die dreidimensionale Rekonstruktion der freigestellten MP-RAGE-Sequenz dargestellt. Hierzu passend ist die dreidimensionale Rekonstruktion des Infarktes in der DWI-Sequenz in Abbildung 4B in Rot abgebildet. MP-RAGE- und DWI-Sequenz lassen sich, wie in Abbildung 4C gezeigt, über die Funktion „Anzeige“ und Auswahl beider Sequenzen fusionieren. Hierdurch sind eine Infarkt- und eine detaillierte Kortexdarstellung in einer Rekonstruktion möglich.

2.3.2 Fusion von MRT-Rekonstruktion und Laser Speckle Imaging

Zum Überlagern von zwei Aufnahmen der Hirnoberfläche aus verschiedenen Darstellungstechniken (hier MRT und LSI) sind klar identifizierbare Referenzpunkte nötig. Dies können charakteristische Sulci, Gyri, Gefäße oder andere anatomische Strukturen auf der Hirnoberfläche sein. Sowohl in den LSI-Messungen als auch in den aus der MP-RAGE-Sequenz errechneten Bildern (vgl. Abbildung 4A) lassen sich gut identifizierbare Orientierungspunkte darstellen. Anhand von Vorversuchen wurde folgendes Vorgehen gewählt.

Die intraoperative LSI-Messung ist ähnlich einem Foto zweidimensional. Um die errechnete, dreidimensionale MRT-Sequenz mit den LSI-Messungen in Deckung zu bringen, wurden die MRT-Aufnahmen entsprechend der intraoperativen Aufnahmeperspektive als zweidimensionales Bild aus Visage 7 exportiert. Mit Hilfe der Software Adobe Photoshop CS5 (Adobe Systems Incorporated, San Jose, CA, USA; Version 12.0.2) wurden dann die MRT-Rekonstruktion und die LSI-Messungen fusioniert.

Die Schwarz-Weiß-LSI-Messung (S/W-Bild) wurde mit Photoshop farblich invertiert, kontrastiert und rot eingefärbt. Mit aktivierter Transparenzfunktion wurde dieses Bild auf das MP-RAGE-Bild projiziert. Wie in Abbildung 5 veranschaulicht, wurde das MP-RAGE-Bild angepasst, so dass die Hirnoberflächenstrukturen beider Darstellungen in Deckung waren.

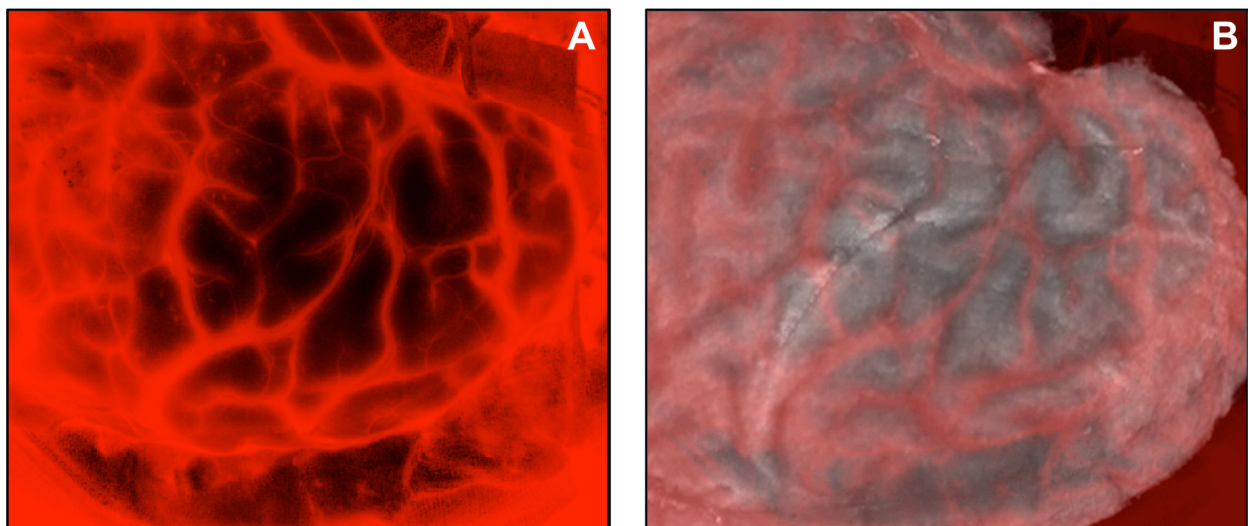


Abbildung 5: In Abbildung 5A ist das farblich invertierte und rot eingefärbte S/W-Bild gezeigt, welches mit der LSI-Kamera aufgenommen wurde. Dieses wird, wie in Abbildung 5B zu sehen, mit dem MP-RAGE-Bild transparent überlagert, so dass dieses angepasst werden kann und MRT-Rekonstruktion und LSI-Messung exakt fusioniert werden.

2.3.3 Definition der Infarktgrenze im Laser Speckle Imaging

Die mit der MP-RAGE-Sequenz überlagerte DWI-Sequenz (Abb. 4C) wurde analog wie die alleinige MP-RAGE-Sequenz (Abb. 4A) angepasst. Im überlagerten Bild (Abb. 4C und 6A) wurde die Infarktausdehnung definiert. Die Infarktgrenze wurde nach der Fusion mit Hilfe der Nutzung von verschiedenen Darstellungsebenen in Photoshop, wie in Abbildung 6 veranschaulicht, auf das LSI-Bild übertragen.

Nachdem die Infarktgrenze auf dem LSI-Bild festgelegt worden ist, konnte sie, wie in Abbildung 7 dargestellt, in der moorFLPI-Software markiert werden. Hierbei wurde ein polygonales Messfeld (*engl.* Region of Interest, ROI) mit dem gleichen Verlauf wie die Infarktgrenze erstellt. Diese ROI diente in der folgenden Auswertung in der moorFLPI-Software als Leitstruktur.

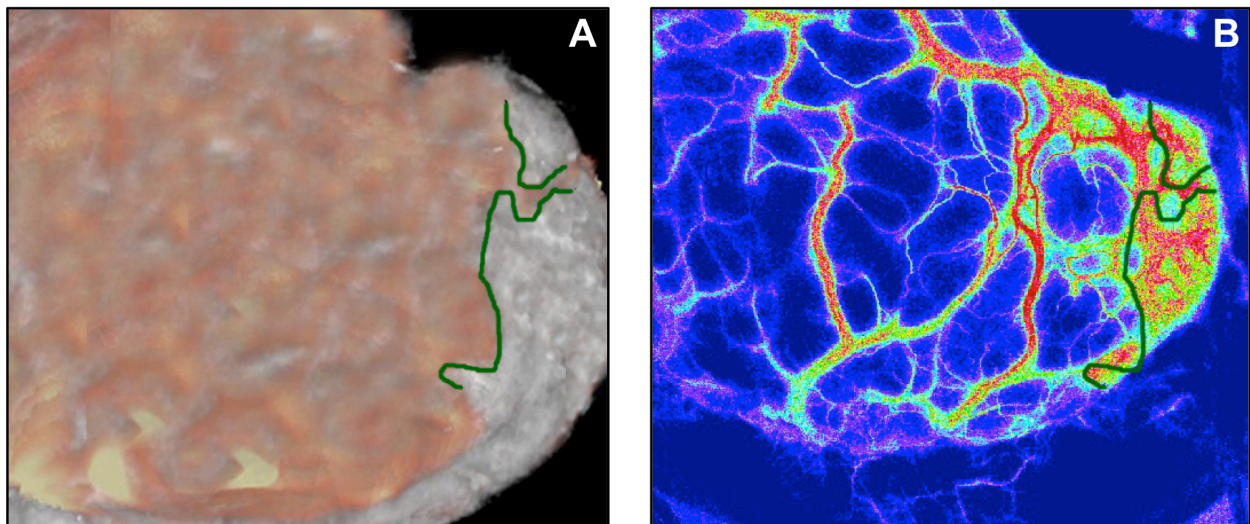


Abbildung 6: Dargestellt sind auf Abbildung 6A die überlagerte DWI-Sequenz mit als grüne Linie markierter Infarktgrenze und in Abbildung 6B das farbige Fluxbild mit der grün markierten Infarktgrenze. Nach der Fusion der MRT-Bildgebung und LSI-Messung, die in ihrem Ablauf in Kapitel 2.3.2 dargestellt wurde, kann die Infarktgrenze von den MRT-Sequenzen auf die LSI-Messungen übertragen werden. Hierzu wird in der überlagerten MRT-Sequenz (Abb. 6A) die Infarktgrenze markiert (grüne Linie), dann diese Sequenz ausgeblendet und diese Markierung ist dann im LSI-Bild sichtbar (Abbildung 6B). Dieses mit der Infarktgrenze markierte LSI-Bild wird dann weiter verwendet.

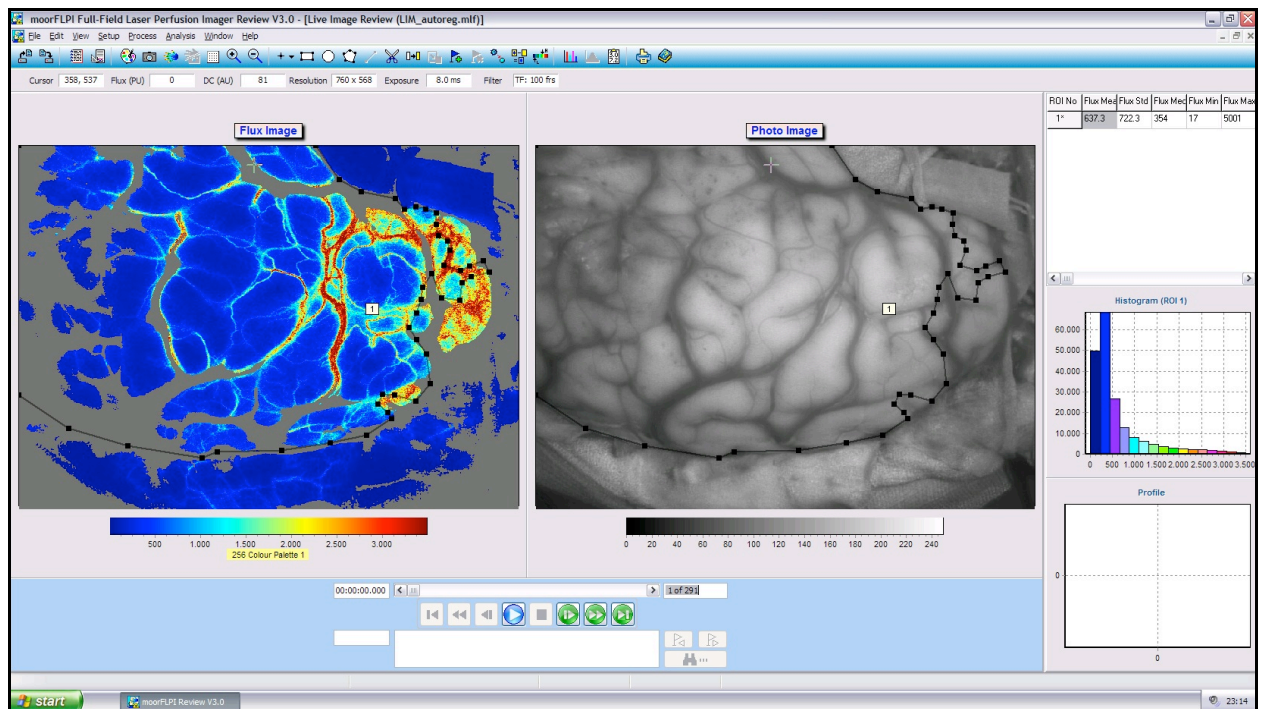


Abbildung 7: Darstellung der Infarktgrenze als polygonale ROI in der moorFLPI-Software. Bildschirmfoto der moorFLPI-Software, wobei in der linken Hälfte das farbkodierte Fluxbild und in der rechten Hälfte das S/W-Bild zu sehen ist. Die aus der DWI-Sequenz definierte Infarktgrenze ist als polygonale ROI (schwarze Linie über dem Kortex) in die moorFLPI-Software übernommen worden. Diese ROI ist dann für die weitere Arbeit in der moorFLPI-Software als Kennzeichnung der Infarktgrenze nutzbar.

2.4 Validierung von Laser Speckle Imaging zur Beurteilung der relativen Blutflussgeschwindigkeit

2.4.1 Anordnung der Messareale und Fluxwertbestimmung

Bezogen auf den Perfusionszustand des Gewebes in der DWI-Sequenz wurden zur Analyse der relativen Blutflussgeschwindigkeit auf der Hirnoberfläche, die durch die Fluxwerte angegeben wird, vier verschiedene Messareale definiert (Abbildung 8).

- I. Nicht-infarziertes Parenchym (im nicht-infarzierten Areal und >1cm von der Infarktgrenze entfernt)
- II. Infarziertes Parenchym (im infarzierten Hirnoberflächenareal und >1cm von der Infarktgrenze entfernt)
- III. Periinfarktareal zum nicht-infarzierten Parenchym (ca. 1cm breites Messareal im nicht-infarzierten Parenchym direkt an der Infarktgrenze)
- IV. Periinfarktareal zum infarzierten Parenchym (ca. 1cm breites Messareal im infarzierten Parenchym direkt an der Infarktgrenze)

In Areal I. wurde das Messareal III. (Periinfarktareal zum nicht-infarzierten Parenchym) eingeschlossen, wenn in diesem Bereich ein sicherer horizontaler und vertikaler anatomischer Orientierungspunkt vorlag. Ebenso wurde in Messareal II. das Messareal IV. (Periinfarktareal zum infarzierten Parenchym) eingeschlossen, wenn entsprechende sichere Orientierungspunkte vorlagen. Messareal III. und IV. entsprechen dem Periinfarktareal und wurden jeweils als ca. 1cm breites Areal an der Infarktgrenze definiert, wenn an diesen Stellen sicher ein horizontaler und vertikaler Orientierungspunkt auf der Kortexoberfläche zu identifizieren war.

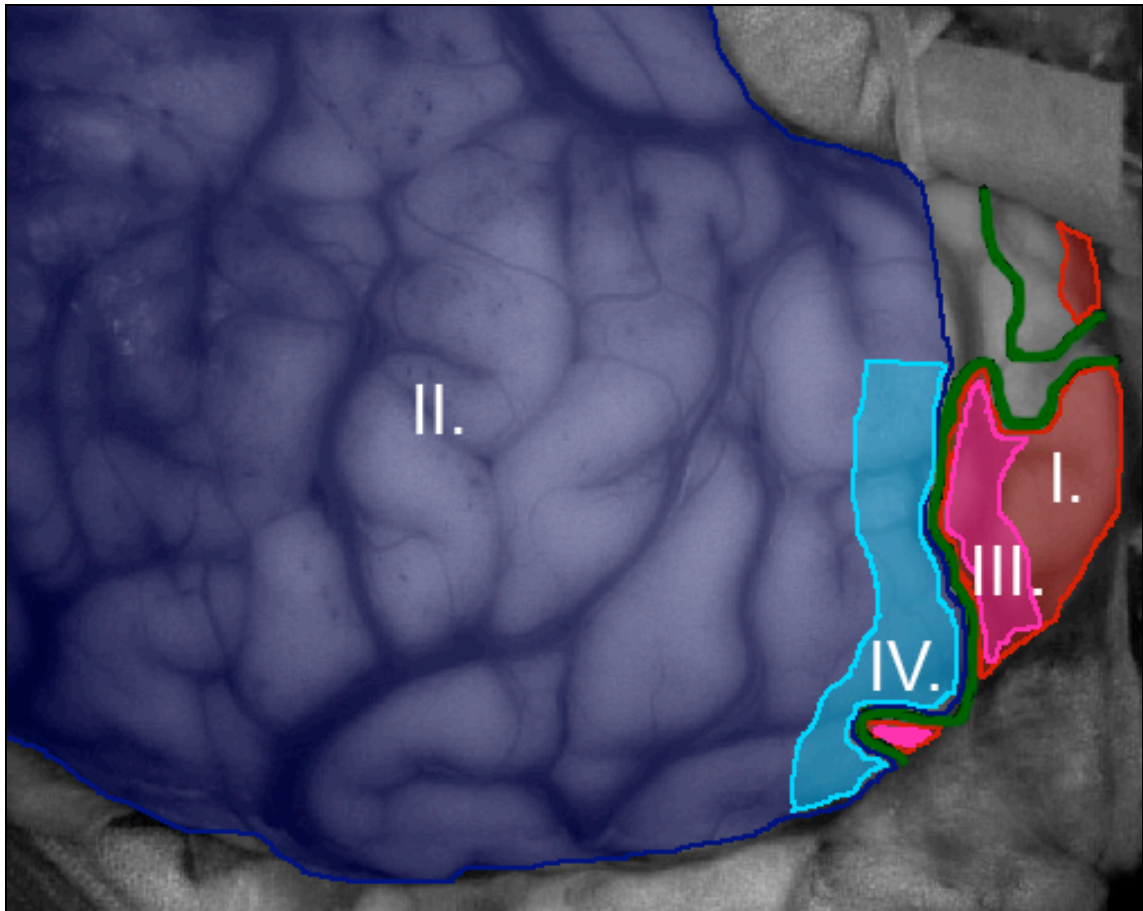


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Messareale nach Definition der Infarktgrenze (grüne Linie): Messareal I. Nicht-infarziertes Parenchym (rot), Messareal II. Infarziertes Parenchym (dunkelblau), Messareal III. Periinfarktareal zum nicht-infarzierten Parenchym (pink) und Messareal IV. Periinfarktareal zum infarzierten Parenchym (hellblau).

In der moorFLPI Software lässt sich ein beliebig großes Messfeld (*engl.* Region of Interest, ROI) definieren, für welches eine Fluxwertanalyse durchgeführt werden kann. Mit Hilfe dieser Messfelder konnte der Zustand der Durchblutung auf der Hirnoberfläche getrennt nach den oben beschriebenen Messarealen I. bis IV. ausgewertet werden. Die Fluxwerte wurden für jeden einzelnen Bildpunkt in einem betrachteten Messfeld bestimmt. Es wurden rechteckige Einzel-ROIs exportiert und mit diesen Einzel-ROIs wurden die Fluxwerte für jeden Bildpunkt im zuvor definierten Messareal bestimmt. Diese Fluxwerte wurden mit Software Microsoft Excel 2008 (Microsoft, Richmond, USA; Vers. 12.3.3 (120411)) kumuliert.

2.4.2 Normierung der Fluxwerte

Die moorFLPI Software wertet die absoluten Fluxwerte für die jeweils ausgewählten Bildpunkte aus. Zur besseren interindividuellen Vergleichbarkeit wurden die Fluxwerte innerhalb eines Patienten normiert. Dazu wurde der mittlere Flux des jeweiligen Patienten in Messareal I. (nicht-infarziertes Parenchym) als 100% definiert und die Fluxwerte wurden auf diesen Wert bezogen normiert. Die normierten Fluxwerte wurden dann einer zusammenfassenden Auswertung im Sinne einer Häufigkeitsverteilung der normierten Fluxwerte in Form von Frequenzhistogrammen unterzogen.

2.4.3 Analyse der relativen Blutflussgeschwindigkeit

2.4.3.1 Globale Analyse der relativen Blutflussgeschwindigkeit

Die globale Analyse umfasste die gesamte Hirnoberfläche. Wie in Kapitel 2.4.1 beschrieben wurden die relativen Blutflussgeschwindigkeiten in jedem Bildpunkt auf der durch die Hemikraniektomie freigelegten Hirnoberfläche getrennt nach den vier Messarealen bestimmt, normiert und in Hinblick auf die Häufigkeitsverteilung ausgewertet (siehe 2.4.2).

Die Häufigkeiten der Fluxwerte in den einzelnen Messarealen wurden von allen Patienten gemittelt und der weiteren Analyse in Hinblick auf die Vorhersagewahrscheinlichkeiten unterzogen (siehe 2.4.4). Auf diese Weise wurde Genauigkeit und Trennfähigkeit der Methode in der globalen Analyse ermittelt.

2.4.3.2 Selektive Analyse der relativen Blutflussgeschwindigkeit

In der selektiven Analyse wurde die Auswertung der relativen Blutflussgeschwindigkeit mit einer spezifischeren Betrachtungsweise durchgeführt. Es wurden ausschließlich die Fluxwerte im Parenchym in die Auswertung einbezogen, wobei die Auswertung ansonsten getrennt nach den Messarealen (siehe 2.4.1) und nach dem gleichen Schema wie die globale Analyse (siehe 2.4.3.1) verläuft. Durch genaue Beachtung der Gefäßverläufe wurden gezielt nur Abschnitte in Messarealen ausgewählt, die frei von oberflächlichen Gefäßen waren. Die im Vergleich zum umgebenen Parenchym hohen Fluxwerte der oberflächlichen Blutgefäße gingen somit nicht in die Auswertung für Häufigkeitsverteilung und Vorhersagewahrscheinlichkeiten ein. Ein Veränderung der Werte von Genauigkeit und Trennfähigkeit von Laser Speckle Imaging bei der Perfusionsbeurteilung ist hierbei anzunehmen.

2.4.3.3 Statistische Auswertung der relativen Blutflussgeschwindigkeit

Die relativen Blutflussgeschwindigkeiten wurden im Vergleich zwischen globaler und selektiver Analyse einer zweifachen Varianzanalyse (*engl.* two-way analysis of variance, ANOVA) mit nachfolgender Bonferroni-Korrektur für multiple Vergleiche unterzogen. $P < 0.01$ wurde dabei als statistisch signifikant angenommen. Die Ergebnisse wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben.

2.5 Berechnung der Perfusionsschwellenwerte für Laser Speckle Imaging

Um die Vorhersagewahrscheinlichkeit von LSI zur Identifikation von infarziertem oder nicht-infarziertem Hirngewebe ermitteln zu können, wurden die relativen Blutflussgeschwindigkeiten anhand des korrespondierenden MRT/DWI-Kriteriums von infarziertem oder nicht-infarziertem Hirngewebe gruppiert und in Anlehnung an einen von Heiss et al.⁷⁰ für eine andere Fragestellung vorgeschlagenen Algorithmus ausgewertet.

Die Auswertung erfolgte mit einer Vier-Felder-Tafel. a , b , c und d sind die beobachteten Häufigkeiten der Fluxwerte in Bezug auf den korrespondierenden Zustand des Parenchyms im MRT in den vier Quadranten der Vier-Felder-Tafel, wie in Abbildung 9 veranschaulicht.

Beispielsweise ist a die Summe der beobachteten Häufigkeiten, die unter der Berechnungsschwelle liegen und welche durch die magnetresonanztomographisch als infarziert definiert worden sind. Dies entspricht den richtig positiven Ergebnissen. Die Berechnungsschwelle ist ein beliebig gewählter Wert von normiertem Flux im Sinne eines Berechnungsparameters, der a , b , c und d definiert. Für diesen gewählten Berechnungsparameter wurden dann die positive und negative Vorhersagewahrscheinlichkeit berechnet.

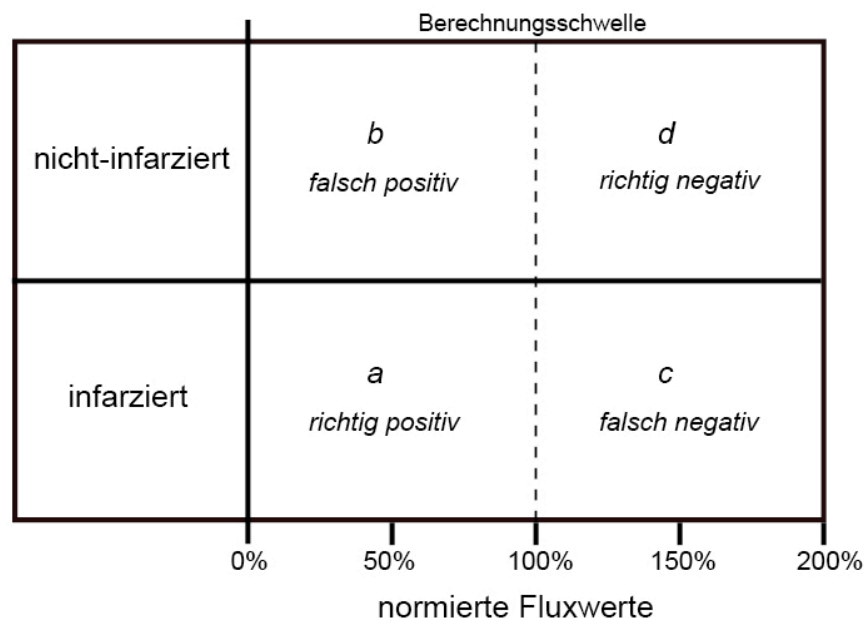


Abbildung 9: Beispielhafte Darstellung der Vier-Felder-Tafel modifiziert nach Heiss et al.⁷⁰ a , b , c und d sind die Summe der Häufigkeiten der normierten Fluxwerte unter- beziehungsweise oberhalb der beliebig gewählten Berechnungsschwelle. Jeder Fluxwert wurde magnetresonanztomographisch als infarziert oder nicht-infarziert definiert und lässt sich dann einem der vier Felder zuordnen. a entspricht in der dargestellten Vier-Felder-Tafel den summierten Häufigkeiten der Fluxwerte, die nach den MRT-Kriterien als infarziert definiert sind und unter der gewählten Berechnungsschwelle von 100% normiertem Flux liegen. Für die Berechnung der Vorhersagewahrscheinlichkeit repräsentiert dieser Quadrant die richtig positiven Fluxwerte in Bezug auf die gewählte Berechnungsschwelle.

Die vorliegenden Messerergebnisse wurden in Bezug auf die positive Vorhersagewahrscheinlichkeit (PPR, *engl.* positive prediction rate) und die negative Vorhersagewahrscheinlichkeit (NPR, *engl.* negative prediction rate) ausgewertet. Die PPR bezeichnet die Genauigkeit der betrachteten Methode und wird mit

$$PPR = \frac{a}{a+b}$$

berechnet. Sie gibt in diesem Fall an, wie sicher die Aussage getroffen werden kann, dass ein Areal infarziert ist, wenn der Flux geringer ist als die Berechnungsschwelle, die für diese Berechnung definiert wurde. Umgekehrt betrachtet die NPR die Trennfähigkeit der Methode und wird mit

$$NPR = \frac{d}{c+d}$$

berechnet und ermöglicht eine Aussage darüber, wie sicher man bei Werten, die größer als eine gewählte Berechnungsschwelle sind, sagen kann, dass in diesem Messareal nicht-infarziertes Parenchym vorliegt. Wie in Abbildung 10 dargestellt, wurde im Rahmen der statistischen Auswertung die positive und negative Vorhersagewahrscheinlichkeit bei verschiedenen Berechnungsschwellen mit bei folglich jeder gewählten Schwelle auch unterschiedlichen a , b , c und d berechnet. Die Berechnungsschwelle wurde in 5%-Schritten von den niedrigsten zu den höchsten Werten verschoben und PPR und NPR jeweils neu berechnet.

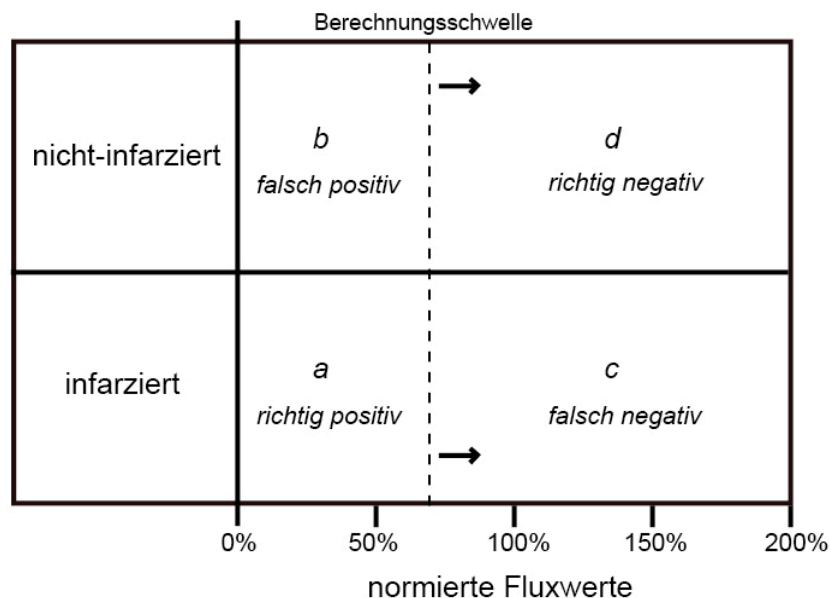


Abbildung 10: Modifizierte schematische Darstellung des Algorithmus nach Heiss et al.⁷⁰ Dabei wird die Berechnungsschwelle vom niedrigsten zum höchsten Fluxwert verschoben und bei jedem Schritt die Summe der Frequenz der Fluxwerte im jeweiligen Quadranten des Algorithmus berechnet und daraus die positive und die negative Vorhersagewahrscheinlichkeit kalkuliert. Die Pfeile stellen die Verschiebung der Berechnungsschwelle im Sinne einer sich wiederholenden Berechnung bei verschiedenen Werten dar.

Aus den Einzelwerten für die PPR und NPR pro definierter Berechnungsschwelle wurde jeweils ein Graph erstellt und das 95%ige positive sowie negative Vorhersagelimit der Fluxwerte berechnet. Das positive Vorhersagelimit gibt an, unterhalb welchem normierten Fluxwert, das heißt unter welcher Perfusionsschwelle, man mit 95%iger Wahrscheinlichkeit das Gewebe als infarziert annehmen kann. Entsprechend ist das negative Vorhersagelimit der normierte Fluxwert beziehungsweise der Schwellenwert der relativen Blutflussgeschwindigkeit, über welchem man mit Hilfe von LSI mit 95%iger Wahrscheinlichkeit einen Gewebeabschnitt nach MRT/DWI-Kriterien als nicht-infarziert klassifizieren kann.

3 Ergebnisse

3.1 Demographische Daten

Insgesamt wurden die Untersuchungsergebnisse von vierzehn männlichen und acht weiblichen Patienten im Alter von 29 bis 82 Jahren ausgewertet. Bei sechzehn Patienten war die rechte Hemisphäre betroffen und entsprechend waren sechs Patienten mit einem linkshemisphäriellen Mediainfarkt Gegenstand dieser Arbeit. Die mittlere Dauer von Symptombeginn des Infarktes bis zur Operation betrug 42 ± 34 Stunden und die postoperative MRT-Bildgebung erfolgte im Mittel nach 24 ± 11 Stunden.

3.2 Validierung von Laser Speckle Imaging zur Beurteilung der relativen Blutflussgeschwindigkeit

3.2.1 Normierung der Fluxwerte

Für alle Patienten wurden Frequenzhistogramme mit den Häufigkeiten der normierten Fluxwerte in den Bereichen I. bis IV. erstellt (Abbildung 11). Der mittlere Flux im nicht-infarzierten Parenchym stellt den 100% - Bezugspunkt der Normierung dar.

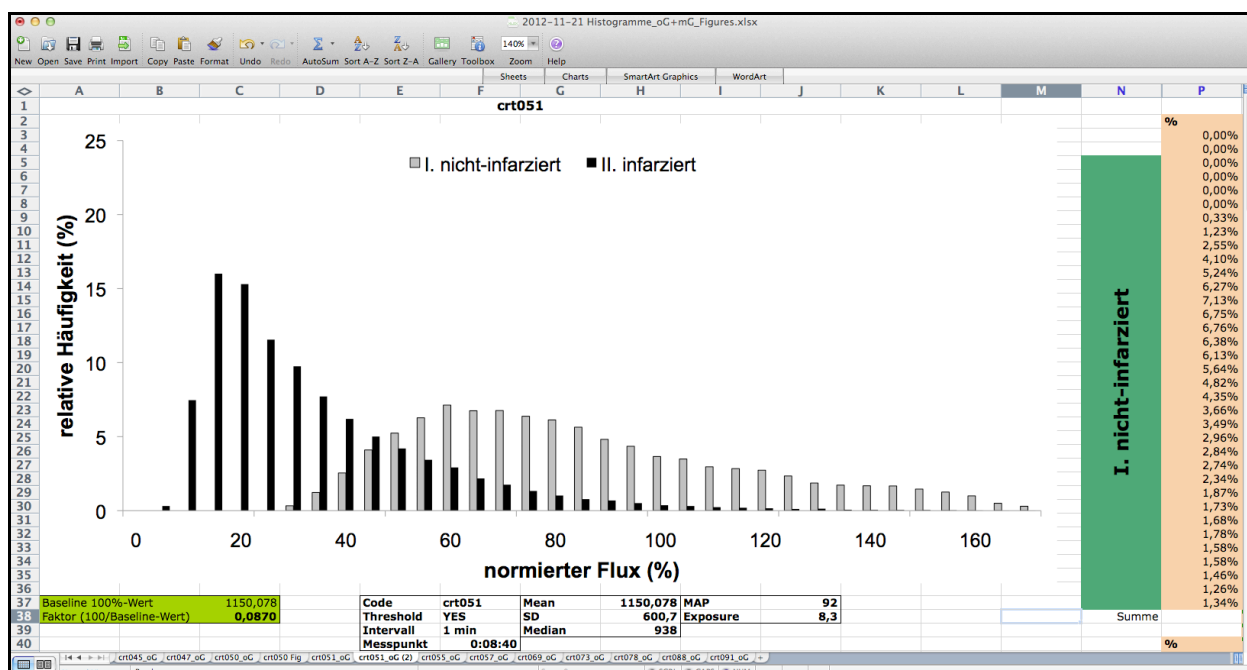


Abbildung 11: Bildschirmfoto aus der Software Microsoft Excel zur Veranschaulichung des Erstellens der Frequenzhistogramme. Hierzu wurden die absoluten Fluxwerte aus der moorFLPI-Software importiert, dann normiert und dann ihre relative Häufigkeit (rechter Bildrand) bestimmt. Diese lassen sich dann in Form eines Histogrammes (Bildmitte) darstellen.

3.2.2 Analyse der relativen Blutflussgeschwindigkeit auf der Hirnoberfläche

3.2.2.1 Globale Analyse der Perfusion

In Abbildung 12 und 13 sind die Häufigkeitsverteilungen der normierten Fluxwerte aller in die Untersuchung eingeschlossenen Patienten mit malignem Mediainfarkt für die Messareale I. (nicht-infarziertes Parenchym), II. (infarziertes Parenchym), III. (Periinfarktareal zum nicht-infarzierten Parenchym) und IV. (Periinfarktareal zum infarzierten Parenchym) in der globalen Analyse (siehe Methoden, Kapitel 2.4.1 und 2.4.3) gezeigt.

Die nach MRT-Kriterien definierten Messareale weisen Unterschiede in den relativen Blutflussgeschwindigkeiten auf. Im infarzierten Areal finden sich niedrigere relative Blutflussgeschwindigkeiten im Vergleich zum nicht-infarzierten Areal (Abbildung 13). Es zeigen sich ebenso Unterschiede in den Fluxwerthäufigkeiten zwischen dem Areal III., welches an der Infarktgrenze zum nicht-infarzierten Parenchym orientiert ist und dem Areal IV., welches zum infarzierten Parenchym orientiert ist (Abbildung 13).

Abbildung 14 und 15 zeigen den Vergleich zwischen den Arealen I. und II. und den jeweiligen korrespondierenden und in ihnen eingeschlossenen Periinfarktarealen III. und IV. Die normierten Fluxwerte zeigen in den Periinfarktarealen keine signifikante Differenz zum jeweiligen korrespondierenden Areal I. und II.

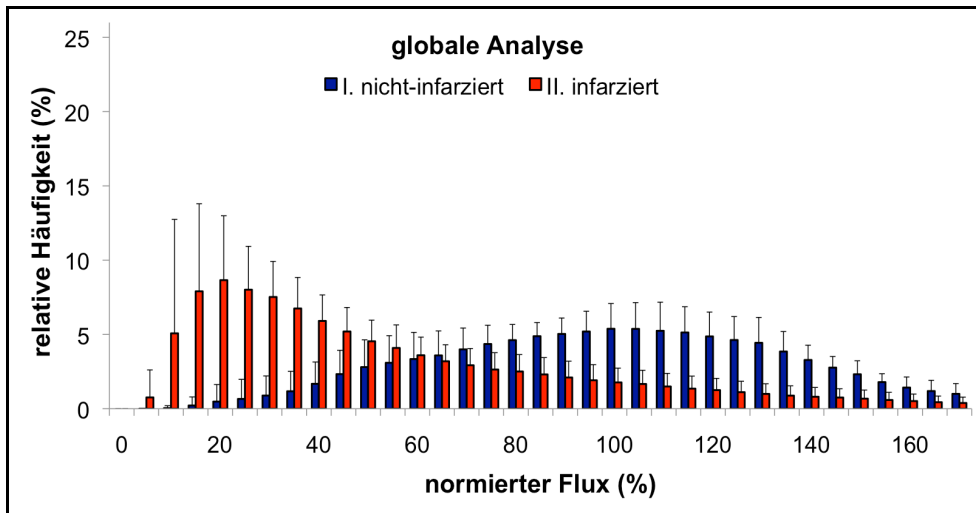


Abbildung 12: Häufigkeitsverteilung der normierten Fluxwerte aller Patienten (n=22) im nicht-infarzierten (Areal I.) und im infarzierten Hirnareal (Areal II.) auf der gesamten Kortexoberfläche im Rahmen der globalen Analyse. Die Werte sind auf den mittleren Flux \pm Standardabweichung im nicht-infarzierten Parenchym bezogen normiert.

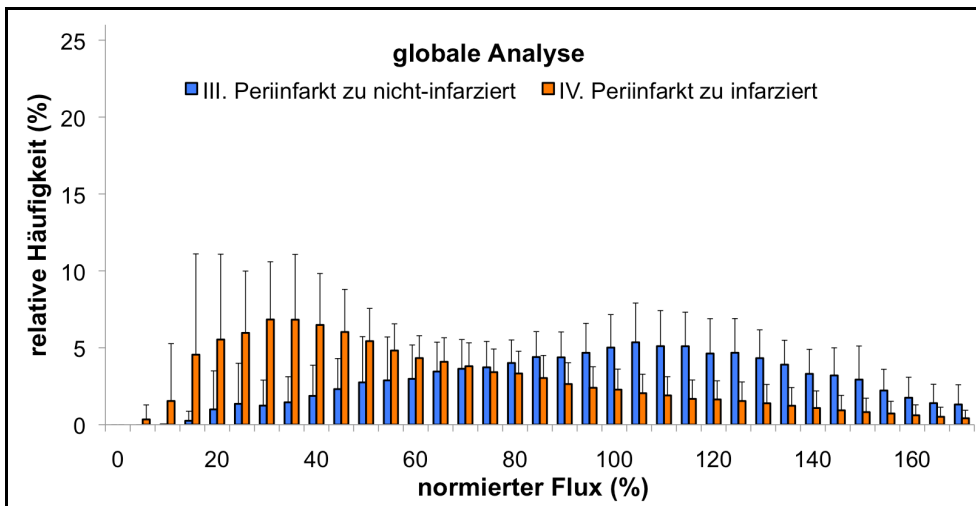


Abbildung 13: Frequenzhistogramm der Häufigkeiten der Fluxwerte aller Patienten (n=22) in den Messarealen III. und IV. im Periinfarkt an der Infarktgrenze in einer globalen Analyse. Die Werte sind auf den mittleren Flux im nicht-infarzierten Parenchym bezogen normiert und als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben.

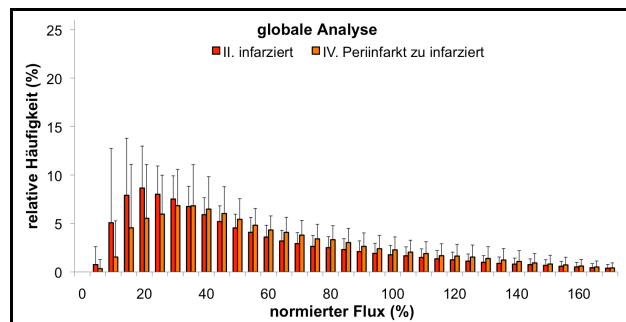
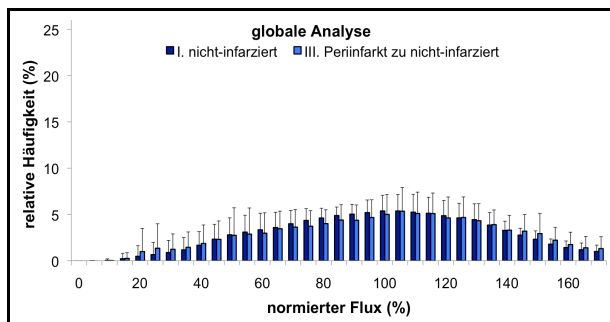


Abbildung 14 und 15: Frequenzhistogramme der Häufigkeiten der Fluxwerte aller Patienten (n=22) im Messareal I. in Bezug auf Messareal III. im Periinfarkt an der Infarktgrenze und Messareal II. in Bezug auf Messareal IV. in einer globalen Analyse. Die Werte sind auf den mittleren Flux im nicht-infarzierten Parenchym bezogen normiert und als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben.

3.2.2.2 Selektive Analyse der Perfusion

An die globale Analyse anschließend wurden Messareal I. und II. selektiv nach der in Kapitel 2.4.3.2 beschriebenen Methodik ausgewertet. Tabelle 1 stellt die Ergebnisse der Berechnung der relativen Häufigkeiten der globalen und relativen Analyse im Einzelnen dar. In der selektiven Analyse zeigen sich wie in der globalen Analyse (vgl. Abbildung 12) Unterschiede der relativen Blutflussgeschwindigkeiten zwischen dem infarzierten und nicht-infarzierten Areal. Diese weisen in der selektiven Analyse höhere Maxima auf. Abbildung 16 zeigt die Häufigkeitsverteilungen der relativen Blutflussgeschwindigkeiten im infarzierten und nicht-infarzierten Messareal in der selektiven Analyse.

Im infarzierten Messareal II. ergibt sich ein statistisch signifikanter Unterschied ($p < 0.01$) zwischen der globalen und selektiven Analyse (vgl. Tabelle 1 und Abbildung 17) bei einem normierten Flux von 10 bis 25%. Die selektive Analyseverfahren kann somit bei niedrigen normierten relativen Blutflussgeschwindigkeiten besser differenzieren als die globale Analyseverfahren. Ein Signifikanzunterschied zwischen den Analysemodalitäten ist im als nicht-infarziert definierten Areal I. für keinen der normierten Fluxwerte in der selektiven Analyse nachzuweisen (Daten nicht gezeigt).

normierter Flux (%)	I. nicht-infarziertes Parenchym		II. infarziertes Parenchym	
	Global	Selektiv	Global	Selektiv
0	0,00±0,0%	0,00±0,0%	0,00±0,0%	0,00±0,0%
5	0,00±0,0%	0,00±0,0%	0,76±1,9%	2,53±5,2%
10	0,04±0,2%	0,01±0,0%	5,08±7,7%	11,08±13,4% *
15	0,22±0,6%	0,17±0,5%	7,91±5,9%	15,16±10,0% *
20	0,48±1,1%	0,41±1,1%	8,66±4,3%	14,08±6,9% *
25	0,66±1,3%	0,52±1,3%	8,01±2,9%	11,47±4,4% *
30	0,89±1,3%	0,70±1,2%	7,52±2,4%	9,54±4,7%
35	1,18±1,3%	0,91±1,3%	6,75±2,1%	7,37±4,0%
40	1,68±1,5%	1,27±1,4%	5,91±1,7%	5,70±3,3%
45	2,33±1,6%	1,82±1,4%	5,20±1,6%	4,38±2,7%
50	2,80±1,8%	2,39±1,6%	4,54±1,4%	3,38±2,3%
55	3,09±1,8%	2,92±1,8%	4,09±1,5%	2,63±2,0%
60	3,34±1,8%	3,44±2,0%	3,60±1,2%	2,13±1,8%
65	3,59±1,6%	3,70±1,9%	3,20±1,1%	1,68±1,5%
70	4,00±1,4%	4,22±1,6%	2,93±1,1%	1,36±1,3%
75	4,36±1,3%	4,55±1,4%	2,64±1,1%	1,15±1,2%
80	4,62±1,1%	4,89±1,1%	2,51±1,1%	1,02±1,1%
85	4,88±0,9%	5,11±1,1%	2,31±1,1%	0,81±1,0%
90	5,04±1,1%	5,25±1,2%	2,10±1,1%	0,72±1,0%
95	5,20±1,4%	5,47±1,5%	1,92±1,1%	0,64±0,9%
100	5,38±1,7%	5,54±1,7%	1,77±1,0%	0,53±0,8%
105	5,38±1,8%	5,50±1,7%	1,67±0,9%	0,47±0,8%
110	5,25±1,9%	5,40±1,9%	1,50±0,9%	0,41±0,7%
115	5,13±1,7%	5,27±1,7%	1,35±0,8%	0,36±0,7%
120	4,87±1,6%	5,12±1,8%	1,25±0,8%	0,30±0,6%
125	4,63±1,6%	4,80±1,7%	1,12±0,7%	0,26±0,6%
130	4,44±1,7%	4,61±2,1%	1,00±0,7%	0,23±0,5%
135	3,85±1,3%	3,69±1,4%	0,88±0,7%	0,17±0,4%
140	3,28±1,0%	3,45±1,4%	0,81±0,6%	0,12±0,3%
145	2,77±0,7%	2,79±0,9%	0,75±0,6%	0,11±0,2%
150	2,32±0,9%	2,02±0,7%	0,68±0,6%	0,08±0,2%
155	1,79±0,6%	1,68±0,7%	0,59±0,5%	0,06±0,1%
160	1,43±0,7%	1,35±0,8%	0,52±0,5%	0,04±0,1%
165	1,19±0,7%	1,12±0,8%	0,44±0,4%	0,03±0,0%
170	1,00±0,7%	0,94±0,7%	0,39±0,4%	0,02±0,0%

Tabelle 1: Relative Häufigkeitsverteilungen des normierten Flux über der gesamten Hirnoberfläche und selektiv im Parenchym in Messareal I. (nicht-infarziert) und II. (infarziert). Im infarzierten Parenchym gab es signifikante Unterschiede zwischen der globalen und selektiven Analyse (*p<0.01). Die Maxima wurden jeweils fett markiert und alle Werte als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben.

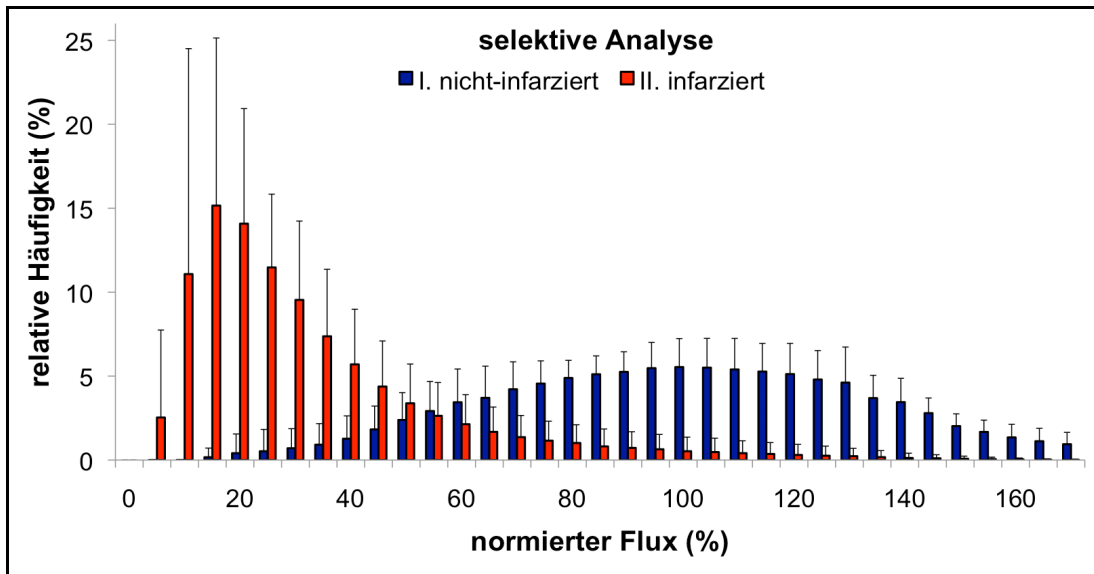


Abbildung 16: Häufigkeitsverteilung der normierten Fluxwerte aller Patienten (n=22) im als nicht-infarziert (Areal I.) und infarziert (Areal II.) definierten Areal im Rahmen der selektiven Analyse. Bei dieser Betrachtungsweise fließen hohe Fluxwerte der oberflächlichen Hirngefäße im ansonsten infarzierten Areal nicht in die Auswertung ein. Die Werte sind auf den mittleren Flux \pm Standardabweichung im nicht-infarzierten Parenchym bezogen normiert.

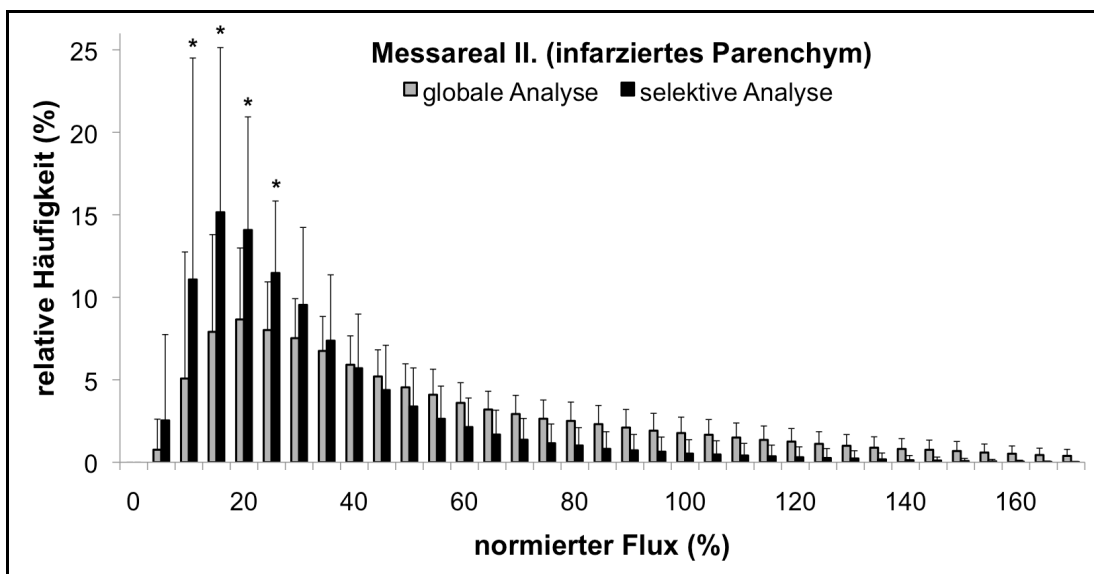


Abbildung 17: Häufigkeitsverteilung der normierten Fluxwerte vergleichend in globaler und selektiver Analyse im Messareal II. (infarziertes Parenchym). Der Unterschied war bei einem normierten Flux von 10 bis 25% statistisch signifikant (* $p < 0.01$).

3.3 Analyse der Schwellenwerte zur Perfusionsbeurteilung mit Laser Speckle Imaging

3.3.1 Berechnung der Schwellenwerte zur Perfusionsbeurteilung

Abbildung 18 und 19 zeigen als Graphen getrennt nach globaler und selektiver Analyse dargestellt die Vorhersagewahrscheinlichkeiten für die Identifikation von nicht-infarziertem oder infarziertem Hirngewebe mit Laser Speckle Imaging (vgl. Methoden, Kapitel 2.5) im betrachteten Patientenkollektiv von Patienten nach dekompressiver Hemikraniektomie bei malignem Mediainfarkt.

In der globalen Analyse befindet sich der Fluxwert mit 95%iger Vorhersagewahrscheinlichkeit des infarzierten Zustandes des Parenchyms (positive Vorhersagewahrscheinlichkeit) bei $\leq 30\%$ normiertem Flux (Abbildung 18) verglichen zu $\leq 40\%$ normiertem Flux in der selektiven Analyse (Abbildung 19).

Die Vorhersagewahrscheinlichkeit für magnetresonanztomographisch als nicht-infarziert definiertes Parenchym (negative Vorhersagewahrscheinlichkeit) mit Laser Speckle Imaging beträgt in der globalen Analyse maximal 79,05% bei einem normierten Flux von 125% (Abbildung 18). Folglich lässt sich in der globalen Analysemethodik (vgl. 2.4.3.1) mit LSI nur mit 79%iger Sicherheit eine Aussage über den nicht-infarzierten Zustand des Gewebes treffen. Mit der selektiven Analyse ist nicht-infarziertes Gewebe mit LSI valide zu identifizieren. Bei einem normierten Flux von $\geq 110\%$ lässt sich in der selektiven Analyse magnetresonanztomographisch als nicht-infarziert definiertes Parenchym mit 95%iger Wahrscheinlichkeit identifizieren (Abbildung 19).

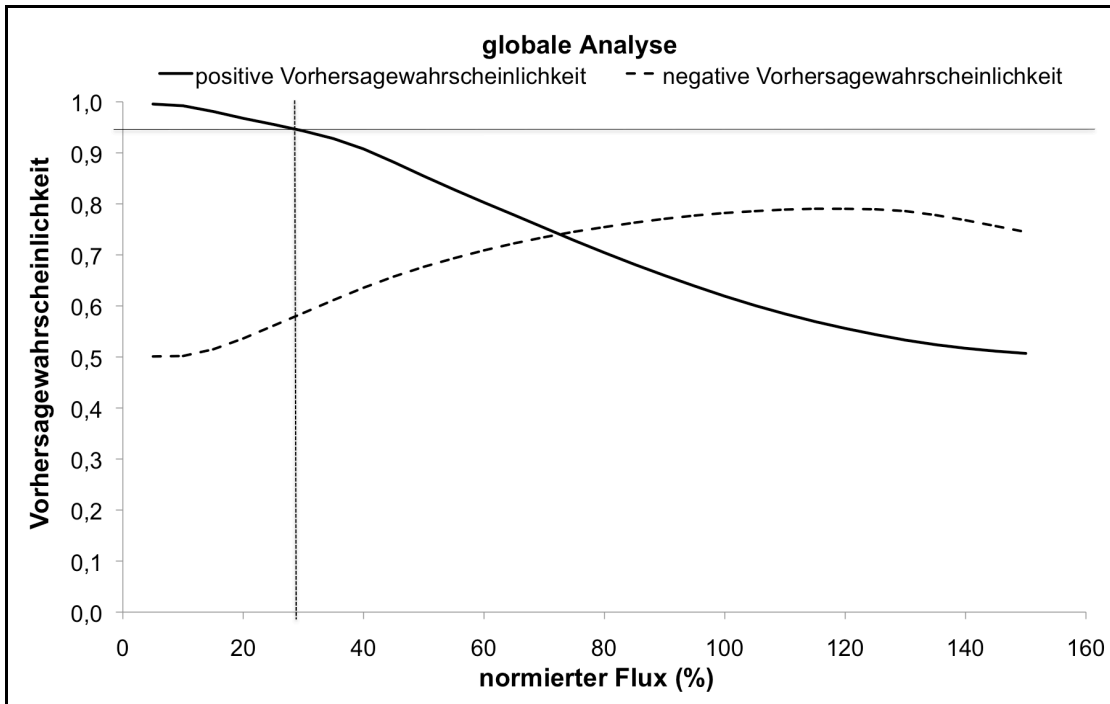


Abbildung 18: Graphische Darstellung der Wahrscheinlichkeiten in der globalen Analyse für alle Patienten (n=22) für die Vorhersage von infarziertem (positive Vorhersagewahrscheinlichkeit) und nicht-infarziertem (negative Vorhersagewahrscheinlichkeit) Parenchym. Horizontal markiert ist die Vorhersagewahrscheinlichkeit von 95% und vertikal die Vorhersagegrenze, welche den Perfusionszustand des betrachteten Punktes mit 95%iger Wahrscheinlichkeit als infarziert vorhersagt.

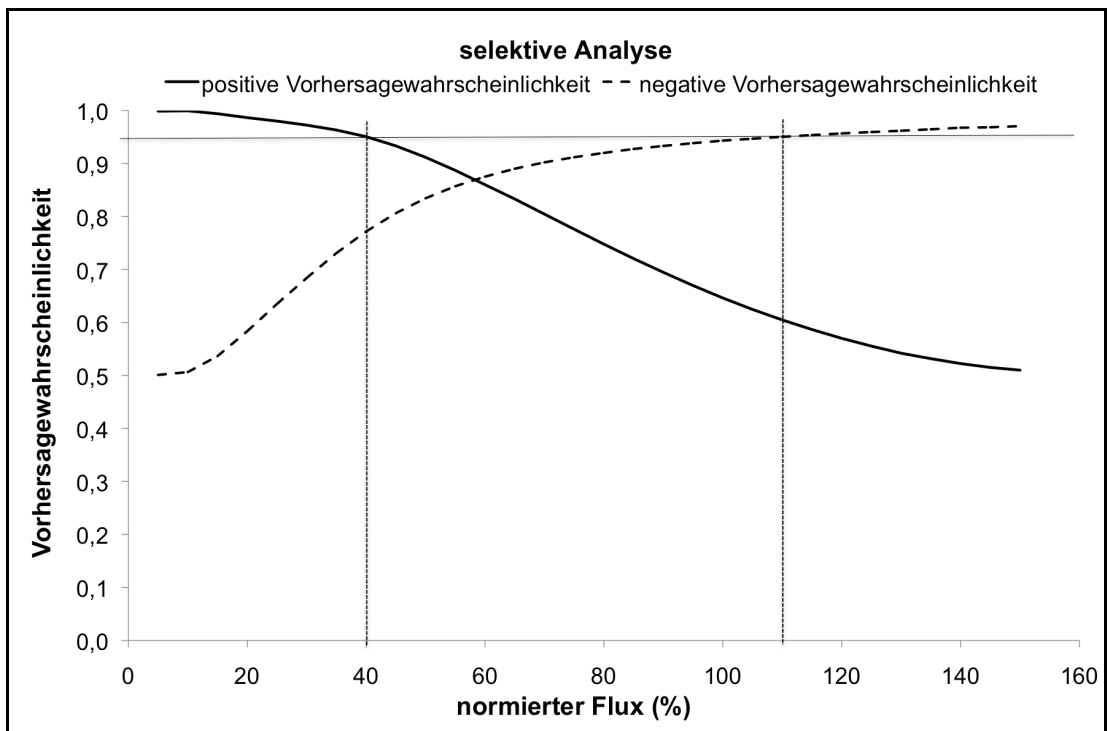


Abbildung 19: Graphische Darstellung der Vorhersagewahrscheinlichkeiten in der selektiven Analyse des Hirnoberflächenparenchyms für alle Patienten (n=22). Horizontal markiert ist die Vorhersagewahrscheinlichkeit von 95% und vertikal die Vorhersagegrenze, welche den Perfusionszustand des betrachteten Punktes mit 95%iger Wahrscheinlichkeit als infarziert oder nicht-infarziert vorhersagt.

3.3.2 Perfusionsbeurteilung der Hirnoberfläche

Eine Aussage über den Perfusionszustand der Hirnoberfläche im in dieser Arbeit betrachteten Patientenkollektiv ist in der globalen Analyse für einen normierten Flux $\leq 30\%$ möglich. Die selektive Analyse erlaubt eine weiter reichende Aussage in einem Bereich für normierte Fluxwerte $\leq 40\%$ und für normierte Fluxwerte $\geq 110\%$.

Unter Anwendung dieser Perfusionsschwellen ergibt sich in der selektiven Analyse, dass bei den betrachteten zweiundzwanzig Patienten mit malignem Mediainfarkt für 73% der exponierten ipsilateralen Hirnoberfläche eine Aussage getroffen werden kann, ob das Gewebe infarziert oder nicht-infarziert ist, da $61.7 \pm 24\%$ der betrachteten Bildpunkte unterhalb bzw. $11.2 \pm 9\%$ oberhalb der Perfusionsschwelle von 40% bzw. 110% normiertem Flux liegen (Abbildung 20). Nur $27.2 \pm 16\%$ der in der vorliegenden Untersuchung betrachteten Hirnoberfläche, konnte mit LSI nicht sicher ein Perfusionszustand zugeordnet, da dieser Teil eine Perfusion zwischen den ermittelten Fluxwerten von 40 und 110% aufwies.

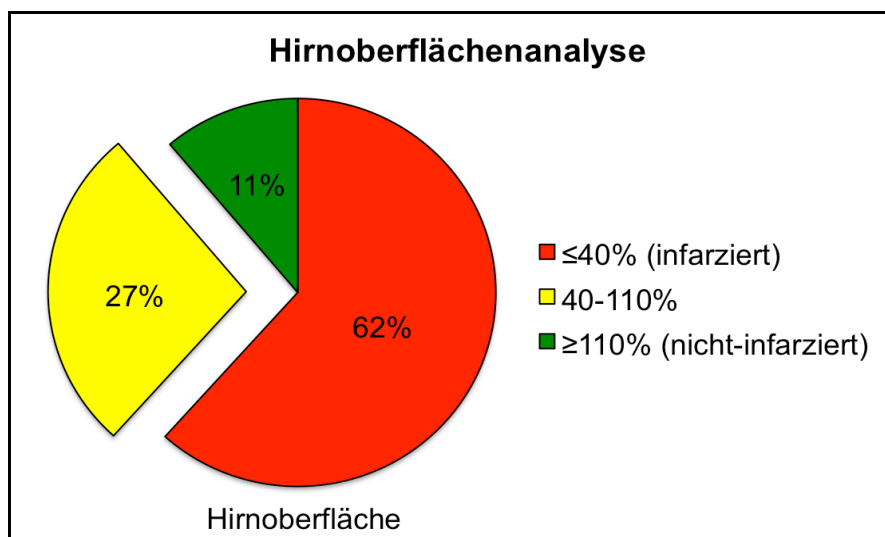


Abbildung 20: Graphische Darstellung der Anteile der Hirnoberfläche bei Patienten mit malignem Mediainfarkt, bei welchen unter Nutzung der ermittelten Perfusionsschwellengrenzen ($\leq 40\%$ und $\geq 110\%$ normierter Flux) in der spezifischen Analyse eine Aussage über den Perfusionszustand der betrachteten Hirnoberfläche (infarziert oder nicht infarziert) getroffen werden kann.

4 Diskussion

Die intraoperative Visualisierung von Perfusion auf der Hirnoberfläche ist ein wichtiges Hilfsmittel in der Neurochirurgie. Etablierte Methoden wie ICG-Angiographie und digitale Subtraktionsangiographie stellen die Gefäßperfusion dar, können aber keine genaue Aussage über den Perfusionszustand des Parenchyms treffen. Laser Doppler Techniken erlauben eine Messung mit entweder sehr hoher zeitlicher oder mit sehr hoher räumlicher Auflösung. Laser Speckle Imaging (LSI) ermöglicht als pseudo-quantitatives Verfahren eine Darstellung der relativen Blutflussgeschwindigkeit auf der Hirnoberfläche in Echtzeit mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung. Eine Routineanwendung von LSI im klinischen Kontext findet bis jetzt nicht statt. Die Etablierung von Schwellenwerten von LSI zur Perfusionsbeurteilung bei Patienten mit malignem Mediainfarkt war Ziel dieser Arbeit.

4.1 Intraoperatives Laser Speckle Imaging

Laser Speckle Imaging ist ein in der Forschung etabliertes Verfahren^{46,58}, welches intraoperativ angewendet werden kann. Eine systematische Untersuchung der klinischen Anwendbarkeit und eine Validierung der Methodik für den klinischen Kontext haben bis jetzt nur sehr begrenzt stattgefunden.^{60-62,71} LSI bietet viele Vorteile für die klinische Anwendung. Diese sind zum Beispiel die einfache Integration in den operativen Ablauf auf Grund des relativ geringen apparativen Aufwandes. Als nicht-invasives Messverfahren besteht zudem keine Belastung für den Patienten. LSI liefert kontinuierlich und in Echtzeit Informationen über die Perfusion. Limitierend wirkt in der Anwendung vor allem der pseudo-quantitative Charakter der Methodik mit Angabe einer relativen Blutflussgeschwindigkeit, welche keine Angabe eines absoluten CBF ermöglicht.

Es wurden bei allen untersuchten Patienten mit malignem Mediainfarkt intraoperative LSI-Messungen durchgeführt. LSI als Methode ließ sich mit geringem Zusatzaufwand in den Operationsablauf integrieren und konnte ihn sinnvoll ergänzen. Die Auswertung mit der LSI-Software kann direkt im Operationssaal während der Operation erfolgen und ermöglicht damit eine direkte Aussage über die relative Perfusion.

Für die Nutzung von Laser Speckle Imaging zur validen Messung der relativen Blutflussgeschwindigkeit ist ein standardisiertes Vorgehen essentiell, da es verschiedene Einflussfaktoren gibt, welche die Messung erheblich beeinflussen können. Abstand und Winkel zum Messfeld wurden in der vorliegenden Arbeit immer identisch gewählt werden, um eine exakte Vergleichbarkeit zu ermöglichen. Darüber hinaus wurde das Umgebungslicht minimiert,

da es mitunter starken Einfluss auf die Messergebnisse haben kann. Die Verwendung eines Polarisationsfilters ist zu empfehlen, da dieser die Streulichteinflüsse zusätzlich mindert. Die Belichtungszeit und Blendeneinstellung wurde bei allen Messungen gleich gewählt und Bewegungen der untersuchten Oberfläche wurden möglichst vermieden. Ebenso wurden Aufnahmen, die durch Bewegungen am Operationstisch verändert worden sind, nicht in die Auswertung einbezogen.

Die Belichtungszeit wurde technisch bedingt nach einem Teil der Messungen variiert. Da die Messergebnisse in der vorliegenden Arbeit immer relativ innerhalb eines Patienten normiert und ausgewertet wurden, ist der Einfluss dieser Veränderung als gering anzunehmen. Gegebenenfalls hat sich durch diese Modifikation die Sensitivität der gewählten Methodik verändert. Dies wäre in zukünftigen Untersuchungen zu prüfen.

Das in dieser Arbeit dargestellte standardisierte Vorgehen erbrachte gute Ergebnisse in Hinblick auf Anwendbarkeit und Vergleichbarkeit der Messergebnisse mit Laser Speckle Imaging.

4.2 Validierung von Laser Speckle Imaging zur Beurteilung der relativen Blutflussgeschwindigkeit

Wie bereits in anderen Arbeiten gezeigt, wurde auch bei der in dieser Arbeit mit LSI durchgeführten Fluxwertmessung auf der Hirnoberfläche ein geringerer Flux im Infarktgebiet als im nicht-infarzierten Parenchym erwartet.^{59,72} Bei Patienten mit malignem Mediainfarkt konnte in der vorliegenden Arbeit mit LSI eine geringere relative Blutflussgeschwindigkeit im Infarktareal im Vergleich zum nach MRT-Kriterien als nicht-infarziert definierten Areal gezeigt werden (siehe 3.2.2). Die relativen Blutflussgeschwindigkeiten sind im mit Hilfe der DWI-Sequenz als infarziert definierten Areal II. zu einem Großteil kleiner als die Hälfte des mittleren Flusses im als nicht-infarziert klassifizierten Parenchym (Messareal I.). Nach den vorliegenden Ergebnissen bildet LSI somit großflächige Perfusionsunterschiede, die mit einer anderen bereits etablierten Methodik (in vorliegenden Fall MRT) gezeigt wurden, ab.

Dies gilt für die Betrachtung der gesamten Hirnoberfläche im Rahmen der globalen Analyse (siehe 2.4.3.1) und ebenso für die selektive Parenchymauswertung. Ein Unterscheidungsmerkmal zwischen den untersuchten Analysemodalitäten ist, dass die relative Blutflussgeschwindigkeit in der selektiven Analyse im infarzierten Areal signifikant geringere Werte im Vergleich zur globalen Analyse des gleichen Areals aufweist. Begründen lässt sich dies durch die großen Gefäße auf der Hirnoberfläche. Sie sind im Gegensatz zum umgebenden infarzierten Parenchym teilweise noch perfundiert. Somit sind in der globalen Auswertung die hohen Fluxwerte der Gefäße eingeschlossen und die Histogramme entsprechend verändert.

Im Periinfarktareal, welches in der vorliegenden Arbeit als 1cm um die Infarktgrenze definiert wurde, sind die Fluxwerthäufigkeitsunterschiede weniger stark ausgeprägt (3.2.2.1). Eine Tendenz zu niedrigen Fluxwerten im als infarziert klassifizierten Periinfarktareal IV. ist erkennbar. Das Histogramm der gemessenen Blutflussgeschwindigkeiten im Messareal III. (Periinfarkt zu nicht-infarziert) entspricht näherungsweise dem nicht-infarzierten Areal. Das lässt sich aus der Pathophysiologie begründen. In den Periinfarktarealen ist die Schädigung weniger weitreichend, beziehungsweise es erfolgt gegebenenfalls noch eine Restversorgung über kleine Gefäße aus dem Parenchym aus dem angrenzenden nicht-infarzierten Areal. Das hat zu Folge, dass der Fluxabfall geringer ausgeprägt ist, obwohl in diesen minderperfundierten Bereichen bereits eine Diffusionsstörung im Sinne einer Infarzierung in der MRT-Bildgebung detektiert werden konnte. Nach den vorliegenden Ergebnissen bei Patienten mit malignem Mediainfarkt besitzt Laser Speckle Imaging als Methode keine ausreichende Genauigkeit und Trennfähigkeit, um die Periinfarktareale klar voneinander abzugrenzen.

4.3 Berechnung der Schwellenwerte zur Perfusionsbeurteilung

4.3.1 Globale Analyse der Perfusion

Die Anwendung von Laser Speckle Imaging in Form der in dieser Arbeit beschriebenen Globalanalyse (vgl. 2.4.3.1) ist in der Durchführung schnell, sicher und damit praktikabel. Die überblicksartige Globalanalyse zur Validierung von LSI wurde gewählt, um eine größtmögliche Praktikabilität beziehungsweise Übertragbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. Mit dieser Vorgehensweise kann mit Hilfe von LSI die relative Blutflussgeschwindigkeit in einem beliebigen Hirngewebsabschnitt gemessen werden und eine orientierende Aussage über den Perfusionszustand bei Patienten mit malignem Mediainfarkt getroffen werden. Sie kann bei niedrigen relativen Blutflussgeschwindigkeiten ($\leq 30\%$) den Zustand des Gewebes als infarziert vorhersagen, enthält aber Störgrößen in Form der oberflächlichen Hirngefäße. Bei dieser überblicksartigen Analyse ist in dem untersuchten Patientenkollektiv auf Grund der Streuung der Fluxwerte keine weiterreichende, sichere Aussage möglich. Dies kann technische Gründe haben, als auch durch die Herangehensweise der Globalanalyse mit dem Einschluss der großen Hirnoberflächengefäße in die Messung. Eine Orientierung über den Perfusionszustand ist mit dieser Analysemethodik jedoch möglich.

4.3.2 Selektive Analyse der Perfusion

Aus den in 4.3.1 genannten Beschränkungen der globalen Analyse wurde eine spezifischere selektive Analyse durchgeführt. In Hinblick auf die selektiven Parenchymauswertung ist zu beachten, dass sich in den Messfeldern keine Hirnoberflächengefäße befinden (vgl. 2.4.3.2). Obwohl ein Gewebsabschnitt infarziert und die Perfusion gering ist, führen große oberflächliche Gefäße in diesen Gewebsabschnitten weiterhin Blut. Diese Gefäße besitzen im Verhältnis zum umgebenden Parenchym hohe relative Blutflussgeschwindigkeiten und beeinflussen auf diese Weise während der Auswertung das Histogramm des infarzierten Areals. In der selektiven Auswertung wurden daher nur die Fluxwerte des Hirnparenchyms gemessen.

Die selektive Betrachtung des Parenchyms ermöglicht eine genauere Abgrenzung von infarziertem und nicht-infarziertem Gewebe bei Patienten mit malignem Mediainfarkt und ist für eine differenzierte Betrachtung im Vergleich zur zuvor beschriebenen überblickartigen Globalauswertung geeignet. Für normierte Fluxwerte $\leq 40\%$ und $\geq 110\%$ lassen sich nach der vorliegenden Analyse valide Aussagen über den Perfusionszustand treffen (siehe 3.3.1). Laser Speckle Imaging konnte mit den ermittelten Fluxwerten sicher zwischen einem infarzierten und nicht-infarzierten Zustand des Gewebes unterscheiden.

Die Verbesserung im Vergleich zur globalen Analyse in Hinblick auf Genauigkeit und Trennfähigkeit der Methode lässt sich durch den fehlenden Störfaktor der hohen Fluxwerte in den Gefäßen begründen. Wenn der Zusatzaufwand es rechtfertigt, der alleinig in der Auswertung und nicht in der apparativen Messung liegt, sollte daher immer die selektive Auswertung für eine sichere Aussage gewählt werden.

4.3.3 Perfusionsbeurteilung der Hirnoberfläche

Mit Laser Speckle Imaging konnte für etwa dreiviertel der in der Untersuchung gemessenen normierten Fluxwerte ein der Magnetresonanztomographie entsprechender Perfusionszustand (infarziert/nicht-infarziert) definiert werden. Die im Rahmen dieser Arbeit ermittelten Vorhersagegrenzen von 40% bzw. 110% normierten Flux erlaubten intraoperativ eine Aussage über den Perfusionszustand bei den untersuchten Patienten mit malignem Mediainfarkt. Mit Laser Speckle Imaging konnte die Infarktgrenze bei deutlicher Perfusionsminderung (d.h. über diese Perfusionsschwellen hinaus) in Echtzeit für die weitere Verwendung während der Operation oder für verschiedenste Forschungsfragestellungen definiert werden.

Das Messverfahren Laser Speckle Imaging eignet somit sich für die intraoperative, nicht-invasive, kontinuierliche und pseudo-quantitative Perfusionsmessung bei Patienten mit malignem Mediainfarkt. LSI weist für die betrachteten Perfusionszustände in der selektiven Analyse eine sehr hohe Genauigkeit und Trennfähigkeit auf.

4.4 Ausblick

Laser Speckle Imaging ist eine vom Ablauf schnelle und apparativ verhältnismäßig wenig aufwendige Methode. LSI kann als neues und potenziell universell einsetzbares Hilfsmittel betrachtet werden, welches nicht-invasiv eine Information über den Perfusionszustand des oberflächlichen Gewebes bei malignem Mediainfarkt geben kann. Eine relative Perfusionsmessung im Gewebe ist dadurch möglich und eine Integration in das Operationsmikroskop als konkrete Eingliederung in den klinisch-operativen Ablauf gut vorstellbar. Diese Integration, die für andere Verfahren wie z.B. ICG-Angiographie schon besteht, würde die Anwendung von LSI weiter vereinfachen und den Einsatz vermehren. Eine Validierung in Zusammenhang mit anderen Krankheitsbildern und Applikationen sollte Ziel weiterer Untersuchungen sein, da in der vorliegenden Arbeit ausschließlich Patienten mit malignem Mediainfarkt betrachtet wurden.

Eine Anwendung wäre bei vielen neurochirurgischen Prozeduren denkbar. Insbesondere in Hinblick auf gefäßchirurgische Eingriffe erscheint LSI als ein geeignetes Verfahren, um direkt intraoperativ die Möglichkeit einer schädlichen Hyper- oder Hypoperfusion zu beurteilen und entsprechende perioperative Komplikationen zu verhindern. Auch für die Verlaufsbetrachtung der Parenchymperfusion und beispielsweise der Infarktprogression ist LSI auf Grund der hohen räumlichen und zeitlichen Auflösung gut geeignet.

Als weitere Anwendungsmöglichkeit wäre die suffiziente Platzierung von multimodalen Sonden an der Infarktgrenze zur perioperativen Überwachung von neurochirurgischen Intensivpatienten mit Unterstützung von Laser Speckle Imaging denkbar. Nach dekompressiver Hemikraniektomie sind im Rahmen des mittlerweile in Studien eingesetzten multimodalen Monitorings parenchymatöse Messsonden im Bereich der Infarktgrenze von großer Bedeutung.^{73,74} Sie erlauben eine Beurteilung der Infarktprogression und liefern Informationen über den lokalen Metabolismus, die Oxygenierung, den ICP, den CBF oder kortikale Depolarisationen und können wichtige Verlaufs- und Therapieoptimierungsparameter sein.⁷⁵⁻⁷⁷

Für die Positionierung dieser Sonden ist eine Visualisierung des Perfusionszustandes des Gewebes essentiell. Eine Darstellung der Infarktgrenze durch die hierfür etablierten Verfahren wie MRT, PET-CT oder andere radiologische Methoden lässt sich intraoperativ nicht routinemäßig realisieren. So müssten beispielsweise bei MRT-Anwendung der Operationssaal speziell abgeschirmt werden, alle metallischen Gegenstände wie Operationsbesteck für die Aufnahme entfernt werden und die MRT-Aufnahme benötigt je nach den gewählten Aufnahmesequenzen mehrere Minuten.

Im Operationssaal ist Laser Speckle Imaging als optisches Messverfahren direkt ohne weitere Vorbereitungen und etwaige Kontrastmittel anwendbar und kann ohne eine Verzögerung wie bei radiologischen Methoden Informationen zum oberflächlichen Gewebe liefern. LSI stellt kontinuierlich in Echtzeit die relative Blutflussgeschwindigkeit dar. Die nicht-invasive Messmethodik ohne Belastung für den Patienten ist ein weiterer Vorteil für die intraoperative Perfusionsdarstellung mit LSI. Eine Anwendung von Laser Speckle Imaging im Rahmen des zuvor beschriebenen multimodalen Monitorings bei dekompressiver Hemikraniektomie ist somit eine gute Perspektive, welche weiter validiert werden sollte. Auf Grundlage der vorliegenden Arbeit ist ein gewisser Abstand zur Infarktgrenze bei der Platzierung der Sonden zu empfehlen, da die Methodik mit dem beschriebenen Ablauf keine sichere Diskriminierung zwischen Infarkt und Periinfarktareal erlaubt.

Gegenstand von Untersuchungen sollte auch die weitere Verfeinerung der Berechnungsschwellen sein. Mit einer Erhöhung der Anzahl der untersuchten Patienten könnte eine Aussage über die Perfusion voraussichtlich noch genauer getroffen werden. Ebenso sollten die Bereiche im Periinfarktareal direkt an der Infarktgrenze in folgenden Untersuchungen genauer betrachtet werden. Sie sind in der Therapie wichtige Bereiche, da sie unter Umständen reversibel geschädigt sind und ein Gewebeerhalt potenziell möglich wäre.

4.5 Limitationen

Die vorliegende Arbeit wird durch verschiedene Aspekte limitiert. Laser Speckle Imaging ist ein Verfahren, welches die Perfusion mit wenigen Millimetern Eindringtiefe messen kann.^{56,78} Daraus folgt, dass ausschließlich eine Aussage über den Perfusionszustand von Gewebsoberflächen getroffen werden kann. Es bietet gute Anwendungsmöglichkeiten, wenn intra- oder postoperativ eine Aussage über die Infarktgrenze auf der Hirnoberfläche nötig ist (siehe 4.4).

Die postoperativ angefertigten MRT-Aufnahmen waren aus beiden Untersuchungsstandorten (Charité Campus Virchow Klinikum und Campus Benjamin Franklin) gut verwendbar. Die Definition der Infarktgrenze war zum Teil durch postoperative ödematöse Veränderungen erschwert. In solch einer Situation wurde bei der Auswertung der Fluxwerte ein Abstand von 1cm zur bestimmten Infarktgrenze gewählt, um eine falsche Zuordnung eines Hirnoberflächenabschnitts zu einem Messareal (siehe 2.4.1) auszuschließen.

Die DWI-Sequenz als Methode zur Infarktgrenzdefinition ist am weitesten verfügbar und hat klinisch eine hohe Relevanz. Apparativ aufwendigere bildgebende Verfahren wie zum Beispiel PET sind sensitiver und spezifischer in der Darstellung der Infarktausdehnung. Nach einigen Untersuchungen^{67,79,80} gibt es Anhalt dafür, dass die DWI-Sequenz die Infarktausdehnung mit einer gewissen Ungenauigkeit definiert. Bereiche, in denen bereits eine Ischämie besteht, aber noch keine Diffusionsrestriktion, definiert die DWI-Sequenz nach den für diese Untersuchung gewählten Kriterien als nicht-infarziert. In einer zukünftigen Untersuchung könnte LSI daher mit Hilfe von beispielsweise PET oder in Kombination mit anderen MRT-Aufnahmemodalitäten weitergehend validiert werden.

Ebenso besteht bei der in dieser Arbeit gewählten Auswertungsmethodik (vgl. 2.3) aus Mangel an automatisierten Methoden eine gewisse Untersucherabhängigkeit. Alle Aufnahmen wurden mehrmals mit zeitlicher Differenz ausgewertet und zueinander relativ und normiert betrachtet. Diese Ansätze haben diese Fehlerquelle minimiert.

Gekrümmte Oberflächen erlauben beim momentanen Stand der Technik keine valide Messung (vgl. 2.2.1). Diese Bereiche wurden ausgeblendet und es bleibt zu untersuchen, ob wiederholte Messungen mit verschiedenen Aufnahmewinkeln dieses Problem suffizient und intraoperativ effizient umgehen könnten und sich so auch eine valide Aussage über die Bildränder treffen lässt.

Weiterhin ist zu beachten, dass die LSI-Messungen zu unterschiedlichen Zeiten nach Symptombeginn (42±34 Stunden) durchgeführt wurden. Dies ist unter anderen in unterschiedlichen Operationsplanungen, klinischen Verläufen und aus akutmedizinischen

Problematiken heraus begründet. Im chronischen Verlauf wäre unter Umständen eine Veränderung der relativen Blutflussgeschwindigkeit zu unterschiedlichen Messzeitpunkten denkbar. Zwanzig der zweiundzwanzig Patienten dieser Untersuchung wurden mehr als 24 Stunden nach Symptombeginn gemessen, so dass die Unterschiede im Verlauf als gering anzunehmen sind. Ausschließen lässt sich eine Beeinflussung jedoch nicht. In zukünftigen Untersuchungen ist zu prüfen, ob relativen Blutflussgeschwindigkeiten und Perfusionsschwellen abhängig vom Messzeitpunkt nach Symptombeginn unterschiedliche Werte aufweisen.

Laser Speckle Imaging ist ein relatives Verfahren, dass auf Grund des physikalischen Phänomens nur relativ messen kann und wurde in der vorliegenden Arbeit für die Anwendung beim malignen Mediainfarkt validiert. Hierbei sind auf Basis der Pathophysiologie die Perfusionsunterschiede in den einzelnen gemessenen Arealen hoch. Eine Anwendbarkeit von LSI bei Situationen mit subtileren Perfusionsunterschieden bleibt zu untersuchen.

5 Literaturverzeichnis

1. Hacke W. Leitlinien der DGN - Akuttherapie des ischämischen Schlaganfalls. 2008. Available at: <http://dgn.org/inhalte-a-z/535-leitlinien-der-dgn-akuttherapie-des-ischamischen-schlaganfalls.html>. Accessed May 5, 2012.
2. Masuhr KF, Neumann M. Neurologie. 6., überarb. A. Thieme, Stuttgart; 2007.
3. White H, Venkatesh B. Cerebral Perfusion Pressure in Neurotrauma: A Review. *Anesth Analg.* 2008;107(3):979–988.
4. Lassen NA. Cerebral blood flow and oxygen consumption in man. *Physiol Rev.* 1959;39(2):183–238.
5. Derdeyn CP, Videen TO, Yundt KD, Fritsch SM, Carpenter DA, Grubb RL, Powers WJ. Variability of Cerebral Blood Volume and Oxygen Extraction: Stages of Cerebral Haemodynamic Impairment Revisited. *Brain.* 2002;125(3):595–607.
6. Powers WJ. Cerebral hemodynamics in ischemic cerebrovascular disease. *Annals of Neurology.* 1990;29(3):231–240.
7. Bershady E, Humphreys W, Suarez J. Intracranial Hypertension. *Seminars in Neurology.* 2008;28(05):690–702.
8. Marchal G, Beaudouin V, Rioux P, Sayette V de la, Doze FL, Viader F, Derlon JM, Baron JC. Prolonged Persistence of Substantial Volumes of Potentially Viable Brain Tissue After Stroke A Correlative PET-CT Study With Voxel-Based Data Analysis. *Stroke.* 1996;27(4):599–606.
9. Steiner LA, Andrews PJD. Monitoring the injured brain: ICP and CBF. *Br J Anaesth.* 2006;97(1):26–38.
10. Fisher M, Bastan B. Identifying and utilizing the ischemic penumbra. *Neurology.* 2012;79(13 Supplement 1):S79–S85.
11. Astrup J, Siesjö BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke.* 1981;12(6):723–725.
12. Astrup J, Symon L, Branston NM, Lassen NA. Cortical Evoked Potential and Extracellular K⁺ and H⁺ at Critical Levels of Brain Ischemia. *Stroke.* 1977;8(1):51–57.
13. Baron JC. Perfusion thresholds in human cerebral ischemia: historical perspective and therapeutic implications. *Cerebrovasc Dis.* 2001;11 Suppl 1:2–8.
14. Heiss W-D. The ischemic penumbra: how does tissue injury evolve? *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2012;1268(1):26–34.

15. Hossmann K-A. Pathophysiology and Therapy of Experimental Stroke. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 2006;26(7):1055–1081.
16. Woitzik J, Back T, Thome C. Flow-dependent versus spreading-like impairment of brain tissue integrity during focal cerebral ischemia and its consequences for neuroprotective strategies. *Front Biosci*. 2008;13:1500–1506.
17. Heiss WD. Experimental evidence of ischemic thresholds and functional recovery. *Stroke*. 1992;23(11):1668–1672.
18. Woitzik J. Untersuchungen zur vaskulären Pathophysiologie bei cerebraler Ischämie. 2008. Available at: http://www.diss.fu-berlin.de/diss/receive/FUDISS_thesis_000000005797. Accessed May 6, 2012.
19. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. 1993;24(1):35–41.
20. O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L, Zhang H, Chin SL, Rao-Melacini P, Rangarajan S, Islam S, Pais P, McQueen MJ, Mondo C, Damasceno A, Lopez-Jaramillo P, Hankey GJ, Dans AL, Yusuf S, Truelsen T, Diener H-C, Sacco RL, Ryglewicz D, Czlonkowska A, Weimar C, Wang X, Yusuf S. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *The Lancet*. 10;376(9735):112–123.
21. Yusuf S, Hawken S, Ôunpuu S, Dans T, Avezum A, Lanans F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *The Lancet*. 11;364(9438):937–952.
22. Tu JV. Reducing the global burden of stroke: INTERSTROKE. *The Lancet*. 10;376(9735):74–75.
23. Lawes CMM, Bennett DA, Feigin VL, Rodgers A. Blood pressure and stroke: an overview of published reviews. *Stroke*. 2004;35(4):1024.
24. Lodder J, Bamford JM, Sandercock PA, Jones LN, Warlow CP. Are Hypertension or Cardiac Embolism Likely Causes of Lacunar Infarction? *Stroke*. 1990;21(3):375–381.
25. Klijn CJ, Kappelle LJ. Haemodynamic stroke: clinical features, prognosis, and management. *The Lancet Neurology*. 2010;9(10):1008–1017.
26. Mangla R, Kolar B, Almast J, Ekholm SE. Border Zone Infarcts: Pathophysiologic and Imaging Characteristics. *Radiographics*. 2011;31(5):1201–1214.

27. Mull M. Hemodynamically caused cerebral infarctions. Clinical importance of infarct pattern and angiomorphology. *Der Radiologe*. 1997;37(11):871–877.
28. Flechsenhar J, Woitzik J, Zweckberger K, Amiri H, Hacke W, Jüttler E. Hemicraniectomy in the management of space-occupying ischemic stroke. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2013;20(1):6–12.
29. Heinsius T, Bogousslavsky J, Van Melle G. Large infarcts in the middle cerebral artery territory. Etiology and outcome patterns. *Neurology*. 1998;50(2):341–350.
30. Hacke W, Schwab S, Horn M, Spranger M, De Georgia M, von Kummer R. “Malignant” Middle Cerebral Artery Territory Infarction: Clinical Course and Prognostic Signs. *Archives of Neurology*. 1996;53(4):309.
31. Dohmen C, Bosche B, Graf R, Reithmeier T, Ernestus R-I, Brinker G, Sobesky J, Heiss W-D. Identification and Clinical Impact of Impaired Cerebrovascular Autoregulation in Patients With Malignant Middle Cerebral Artery Infarction. *Stroke*. 2007;38(1):56–61.
32. Berrouschot J, Sterker M, Bettin S, Köster J, Schneider D. Mortality of space-occupying (“malignant”) middle cerebral artery infarction under conservative intensive care. *Intensive Care Medicine*. 1998;24(6):620–623.
33. Hofmeijer J, van der Worp HB, Kappelle LJ. Treatment of space-occupying cerebral infarction*. *Critical Care Medicine*. 2003;31(2):617–625.
34. Bardutzky J, Schwab S. Antiedema Therapy in Ischemic Stroke. *Stroke*. 2007;38(11):3084–3094.
35. Kjellberg RN, Prieto A Jr. Bifrontal decompressive craniotomy for massive cerebral edema. *J Neurosurg*. 1971;34(4):488–493.
36. Ivamoto HS, Numoto M, Peardon Donaghy RM. Surgical Decompression for Cerebral and Cerebellar Infarcts. *Stroke*. 1974;5(3):365–370.
37. Vahedi K, Vicaut E, Mateo J, Kurtz A, Orabi M, Guichard J-P, Boutron C, Couvreur G, Rouanet F, Touzé E, Guillon B, Carpentier A, Yelnik A, George B, Payen D, Bousser M-G. Sequential-design, multicenter, randomized, controlled trial of early decompressive craniectomy in malignant middle cerebral artery infarction (DECIMAL Trial). *Stroke*. 2007;38(9):2506–2517.
38. Jüttler E, Schwab S, Schmiedek P, Unterberg A, Hennerici M, Woitzik J, Witte S, Jenetzky E, Hacke W. Decompressive Surgery for the Treatment of Malignant Infarction of the Middle Cerebral Artery (DESTINY): a randomized, controlled trial. *Stroke*. 2007;38(9):2518–2525.

39. Hofmeijer J, Kappelle LJ, Algra A, Amelink GJ, van Gijn J, van der Worp HB. Surgical decompression for space-occupying cerebral infarction (the Hemicraniectomy After Middle Cerebral Artery infarction with Life-threatening Edema Trial [HAMLET]): a multicentre, open, randomised trial. *Lancet Neurol.* 2009;8(4):326–333.
40. Huttner HB, Schwab S. Malignant middle cerebral artery infarction: clinical characteristics, treatment strategies, and future perspectives. *The Lancet Neurology.* 2009;8(10):949–958.
41. Arnaout OM, Aoun SG, Batjer HH, Bendok BR. Decompressive hemicraniectomy after malignant middle cerebral artery infarction: rationale and controversies. *Neurosurg Focus.* 2011;30(6):E18.
42. Jüttler E, Bösel J, Amiri H, Schiller P, Limprecht R, Hacke W, Unterberg A. DESTINY II: DEcompressive Surgery for the Treatment of malignant INfarction of the middle cerebral arterY II. *Int J Stroke.* 2011;6(1):79–86.
43. Zhao J, Su Y, Zhang Y, Zhang Y, Zhao R, Wang L, Gao R, Chen W, Gao D. Decompressive Hemicraniectomy in Malignant Middle Cerebral Artery Infarct: A Randomized Controlled Trial Enrolling Patients up to 80 Years Old. *Neurocritical Care.* 1–11.
44. Staykov D, Gupta R. Hemicraniectomy in Malignant Middle Cerebral Artery Infarction. *Stroke.* 2011;42(2):513–516.
45. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FGR. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *Journal of Vascular Surgery.* 2007;45(1, Supplement):S5–S67.
46. Briers JD. Laser Doppler, speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging. *Physiol Meas.* 2001;22(4):R35–66.
47. Nederkoorn PJ, van der Graaf Y, Hunink MGM. Duplex ultrasound and magnetic resonance angiography compared with digital subtraction angiography in carotid artery stenosis: a systematic review. *Stroke.* 2003;34(5):1324–1332.
48. Hadizadeh DR, Kukuk GM, Steck DT, Gieseke J, Urbach H, Tschampa HJ, Greschus S, Kovács A, Möhlenbruch M, Bostroem A, Schild HH, Willinek WA. Noninvasive Evaluation of Cerebral Arteriovenous Malformations by 4D-MRA for Preoperative Planning and Postoperative Follow-Up in 56 Patients: Comparison with DSA and Intraoperative Findings. *AJNR American journal of neuroradiology.* 2012. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22300925>. Accessed May 8, 2012.
49. Machet A, Portefaix C, Kadziolka K, Robin G, Lanoix O, Pierot L. Brain arteriovenous malformation diagnosis: value of time-resolved contrast-enhanced MR angiography at 3.0T compared to DSA. *Neuroradiology.* 1–10.

50. Schaafsma BE, Mieog JSD, Hutteman M, van der Vorst JR, Kuppen PJK, Löwik CWGM, Frangioni JV, van de Velde CJH, Vahrmeijer AL. The clinical use of indocyanine green as a near-infrared fluorescent contrast agent for image-guided oncologic surgery. *Journal of Surgical Oncology*. 2011;104(3):323–332.
51. Raabe A, Beck J, Gerlach R, Zimmermann M, Seifert V. Near-infrared indocyanine green video angiography: a new method for intraoperative assessment of vascular flow. *Neurosurgery*. 2003;52(1):132–139; discussion 139.
52. Woitzik J, Horn P, Vajkoczy P, Schmiedek P. Intraoperative control of extracranial-intracranial bypass patency by near-infrared indocyanine green videoangiography. *J Neurosurg*. 2005;102(4):692–698.
53. Woitzik J, Peña-Tapia PG, Schneider UC, Vajkoczy P, Thomé C. Cortical Perfusion Measurement by Indocyanine-Green Videoangiography in Patients Undergoing Hemispherectomy for Malignant Stroke. *Stroke*. 2006;37(6):1549–1551.
54. Dashti R, Laakso A, Niemelä M, Porras M, Hernesniemi J. Microscope-integrated near-infrared indocyanine green videoangiography during surgery of intracranial aneurysms: the Helsinki experience. *Surgical Neurology*. 2009;71(5):543–550.
55. Wintermark M, Sesay M, Barbier E, Borbély K, Dillon WP, Eastwood JD, Glenn TC, Grandin CB, Pedraza S, Soustiel J-F, Nariai T, Zaharchuk G, Caillé J-M, Dousset V, Yonas H. Comparative Overview of Brain Perfusion Imaging Techniques. *Stroke*. 2005;36(9):e83–e99.
56. Dunn AK, Bolay H, Moskowitz MA, Boas DA. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2001;21(3):195–201.
57. Royl G, Leithner C, Sellien H, Müller JP, Megow D, Offenhauser N, Steinbrink J, Kohl-Bareis M, Dirnagl U, Lindauer U. Functional imaging with laser speckle contrast analysis: vascular compartment analysis and correlation with laser Doppler flowmetry and somatosensory evoked potentials. *Brain Res*. 2006;1121(1):95–103.
58. Boas DA, Dunn AK. Laser speckle contrast imaging in biomedical optics. *J Biomed Opt*. 2010;15(1):011109.
59. Parthasarathy AB, Kazmi SMS, Dunn AK. Quantitative imaging of ischemic stroke through thinned skull in mice with Multi Exposure Speckle Imaging. *Biomed Opt Express*. 2010;1(1):246–259.
60. Parthasarathy AB, Weber EL, Richards LM, Fox DJ, Dunn AK. Laser speckle contrast imaging of cerebral blood flow in humans during neurosurgery: a pilot clinical study. *J Biomed Opt*. 2010;15(6):066030.

61. Hecht N, Woitzik J, Dreier JP, Vajkoczy P. Intraoperative monitoring of cerebral blood flow by laser speckle contrast analysis. *Neurosurg Focus*. 2009;27(4):E11.
62. Hecht N, Woitzik J, König S, Horn P, Vajkoczy P. Laser speckle imaging allows real-time intraoperative blood flow assessment during neurosurgical procedures. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2013.
63. Schlaug G, Benfield A, Baird AE, Siewert B, Lövblad KO, Parker RA, Edelman RR, Warach S. The ischemic penumbra Operationally defined by diffusion and perfusion MRI. *Neurology*. 1999;53(7):1528–1528.
64. Mullins ME, Schaefer PW, Sorensen AG, Halpern EF, Ay H, He J, Koroshetz WJ, Gonzalez RG. CT and Conventional and Diffusion-weighted MR Imaging in Acute Stroke: Study in 691 Patients at Presentation to the Emergency Department1. *Radiology*. 2002;224(2):353–360.
65. Chalela JA, Kidwell CS, Nentwich LM, Luby M, Butman JA, Demchuk AM, Hill MD, Patronas N, Latour L, Warach S. Magnetic resonance imaging and computed tomography in emergency assessment of patients with suspected acute stroke: a prospective comparison. *The Lancet*. 2007;369(9558):293–298.
66. Schaefer PW, Hunter GJ, He J, Hamberg LM, Sorensen AG, Schwamm LH, Koroshetz WJ, Gonzalez RG. Predicting Cerebral Ischemic Infarct Volume with Diffusion and Perfusion MR Imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2002;23(10):1785–1794.
67. Heiss W-D, Sobesky J, Smekal U v, Kracht LW, Lehnhardt F-G, Thiel A, Jacobs AH, Lackner K. Probability of Cortical Infarction Predicted by Flumazenil Binding and Diffusion-Weighted Imaging Signal Intensity A Comparative Positron Emission Tomography/Magnetic Resonance Imaging Study in Early Ischemic Stroke. *Stroke*. 2004;35(8):1892–1898.
68. Perkins CJ, Kahya E, Roque CT, Roche PE, Newman GC. Fluid-Attenuated Inversion Recovery and Diffusion- and Perfusion-Weighted MRI Abnormalities in 117 Consecutive Patients With Stroke Symptoms. *Stroke*. 2001;32(12):2774–2781.
69. Everdingen KJ van, Grond J van der, Kappelle LJ, Ramos LMP, Mali WPTM. Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging in Acute Stroke. *Stroke*. 1998;29(9):1783–1790.
70. Heiss WD, Kracht LW, Thiel A, Grond M, Pawlik G. Penumbra probability thresholds of cortical flumazenil binding and blood flow predicting tissue outcome in patients with cerebral ischaemia. *Brain*. 2001;124(Pt 1):20–29.

71. Dunn AK. Laser Speckle Contrast Imaging of Cerebral Blood Flow. *Ann Biomed Eng.* 2011. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22109805>. Accessed December 19, 2011.
72. Paul JS, Luft AR, Yew E, Sheu F-S. Imaging the development of an ischemic core following photochemically induced cortical infarction in rats using Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA). *Neuroimage.* 2006;29(1):38–45.
73. Dohmen C, Sakowitz PDOW. Multimodales Monitoring in der Neurointensivmedizin. *Nervenarzt.* 2012;83(12):1559–1568.
74. Bardt TF, Unterberg AW, Kiening KL, Schneider G-H, Lanksch WR. Multimodal Cerebral Monitoring in Comatose Head-Injured Patients. *Acta Neurochir (Wien).* 1998;140(4):357–365.
75. Dreier JP, Woitzik J, Fabricius M, Bhatia R, Major S, Drenckhahn C, Lehmann T-N, Sarrafzadeh A, Willumsen L, Hartings JA, Sakowitz OW, Seemann JH, Thieme A, Lauritzen M, Strong AJ. Delayed ischaemic neurological deficits after subarachnoid haemorrhage are associated with clusters of spreading depolarizations. *Brain.* 2006;129(12):3224–3237.
76. Woitzik J, Dreier JP, Hecht N, Fiss I, Sandow N, Major S, Winkler M, Dahlem YA, Manville J, Diepers M, Muench E, Kasuya H, Schmiedek P, Vajkoczy P. Delayed cerebral ischemia and spreading depolarization in absence of angiographic vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.* 2012;32(2):203–212.
77. Woitzik J, Hecht N, Pinczolits A, Sandow N, Major S, Winkler MKL, Weber-Carstens S, Dohmen C, Graf R, Strong AJ, Dreier JP, Vajkoczy P. Propagation of cortical spreading depolarization in the human cortex after malignant stroke. *Neurology.* 2013;80(12):1095–1102.
78. Jakobsson A, Nilsson GE. Prediction of sampling depth and photon pathlength in laser Doppler flowmetry. *Med Biol Eng Comput.* 1993;31(3):301–307.
79. Heiss W-D, Sobesky J. Comparison of PET and DW/PW-MRI in acute ischemic stroke. *Keio J Med.* 2008;57(3):125–131.
80. Guadagno JV, Warburton EA, Jones PS, Fryer TD, Day DJ, Gillard JH, Carpenter TA, Aigbirhio FI, Price CJ, Baron J-C. The Diffusion-Weighted Lesion in Acute Stroke: Heterogeneous Patterns of Flow/Metabolism Uncoupling as Assessed by Quantitative Positron Emission Tomography. *Cerebrovascular Diseases.* 2005;19(4):239–246.

6 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

- Abb. 1** Vereinfachte Darstellung der LSI-Technik
- Abb. 2** Beispielhafte LSI-Messung und korrespondierende schwarz-weiß Aufnahme
- Abb. 3** MP-RAGE-Sequenz mit Freistellung eines infarzierten Gehirns nach Hemikraniektomie
- Abb. 4** Abbildung auf Grundlage der MRT-Daten mit Weiterverarbeitung und Überlagerung
- Abb. 5** Fusion der MRT-Bildgebung und LSI-Messung
- Abb. 6** Übertragung der Infarktgrenze auf das LSI-Bild
- Abb. 7** Darstellung der Infarktgrenze als polygonale ROI in der moorFLPI-Software
- Abb. 8** Schematische Darstellung der Messareale nach Definition der Infarktgrenze
- Abb. 9** Beispielhafte Darstellung der Vier-Felder-Tafel modifiziert nach Heiss et al.⁷⁰
- Abb. 10** Modifizierte schematische Darstellung des Algorithmus nach Heiss et al.⁷⁰
- Abb. 11** Bildschirmfoto aus der Software Microsoft Excel zur Veranschaulichung des Erstellens der Frequenzhistogramme
- Abb. 12** Frequenzhistogramm der Häufigkeiten der Fluxwerte aller Patienten im nicht-infarzierten Areal I. und im infarzierten Hirnareal II. in der globalen Analyse
- Abb. 13** Frequenzhistogramm der Häufigkeiten der Fluxwerte aller Patienten im Periinfarktareal III. und IV. in der globalen Analyse
- Abb. 14** Frequenzhistogramm der Häufigkeiten der im nicht-infarzierten Messareal I. in Bezug auf Messareal III. im Periinfarkt in der globalen Analyse
- Abb. 15** Frequenzhistogramm der Häufigkeiten der Fluxwerte im infarzierten Messareal II. in Bezug auf Messareal IV. im Periinfarkt in der globalen Analyse
- Abb. 16** Frequenzhistogramm der Häufigkeiten der Fluxwerte im als nicht-infarziert und infarziert definierten Areal im Rahmen der selektiven Analyse
- Abb. 17** Frequenzhistogramm der Häufigkeiten der Fluxwerte vergleichend in globaler und selektiver Analyse im Messareal II. (infarziertes Parenchym)
- Abb. 18** Graphische Darstellung der Wahrscheinlichkeiten für die Vorhersage von infarziertem und nicht-infarziertem Parenchym in der globalen Analyse
- Abb. 19** Graphische Darstellung der Wahrscheinlichkeiten für die Vorhersage von infarziertem und nicht-infarziertem Parenchym in der selektiven Analyse

Abb. 20 Graphische Darstellung der Anteile der Hirnoberfläche, bei welchen eine Aussage über die Perfusion getroffen werden kann.

Tabelle 1 Relative Häufigkeitsverteilungen des normierten Flux über der gesamten Hirnoberfläche und selektiv im Parenchym in Messareal I. (nicht-infarziert) und II. (infarziert)

7 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
CBF	<i>engl.</i> cerebral blood flow
cm	Zentimeter
CPP	<i>engl.</i> cerebral perfusion pressure
CT	Computertomographie
DSA	Digitale Subtraktionsangiographie
DWI	<i>engl.</i> diffusion weighted imaging
ICG	<i>engl.</i> indocyanine green
ICG-A	Indocyanin-Grün-Angiographie
ICP	<i>engl.</i> intracranial pressure
Hz	Hertz
LDF	<i>engl.</i> laser doppler flowmetry
LDI	<i>engl.</i> laser doppler imaging
LSI	<i>engl.</i> laser speckle imaging
MAP	<i>engl.</i> mean arterial pressure
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilber
MP-RAGE	<i>engl.</i> magnetization prepared rapid gradient echo
ms	Millisekunde
MRT	Magnetresonanztomographie
nm	Nanometer
NPR	<i>engl.</i> negative prediction rate
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PPR	<i>engl.</i> positive prediction rate
ROI	<i>engl.</i> region of interest
s.	siehe
SPECT	<i>engl.</i> single photon emission computed tomography
S/W	schwarz-weiß
vgl.	vergleiche
z.B.	zum Beispiel

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Marc Michael Müller, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *Laser Speckle Imaging zur kontinuierlichen intraoperativen Messung des zerebralen Blutflusses* selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater Herrn PD Dr. Johannes Woitzik für die Überlassung des Themas und die tatkräftige Unterstützung in allen Schlüsselmomenten dieser Promotion. Ebenso möchte ich meinem Betreuer Dr. Nils Hecht für die kontinuierliche, intensive Betreuung bei jedem Teil der Arbeit, die kritischen Diskussionen und für die vielen kleinen und großen Hinweise, Hilfestellungen und Anregungen danken.

Meiner Familie und insbesondere meinen Eltern und meiner Frau Agnes danke ich von ganzem Herzen für ihre immerwährende liebevolle Unterstützung, den Ansporn, das Verständnis und den Rückhalt bei der Erstellung dieser Arbeit.