

Nahinfrarotspektroskopie des Gehirns

Habilitationsschrift

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach Neurologie.

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät

Charité

der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Herrn Dr. med. Hellmuth Obrig

* 29.11.1964 in Essen

Präsident: Prof. Dr. rer. nat. J. Mlynek

Dekan: Prof. Dr. Joachim W. Dudenhausen

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. C. Hock

2. Prof. Dr. med. O. W. Witte

Datum des öffentlich-wissenschaftlichen Vortrages: 03.12.2002

Inhaltsverzeichnis

Band I	1
Einleitung	3
Teil A	
Methodik und Validierung der Meßparameter	6
Methodische Grundlagen	6
Exkurs 1: Prinzipien und Methodik der NIRS	8
Modifikation des Lambert-Beer'schen Gesetzes	8
Quantifizierung der Meßparameter	11
Spektroskopische Differenzierung oxygenierungsabhängiger Chromophore	12
Zeitaufgelöste Messungen: TCSPC (time correlated single photon counting) und intensitätsmodulierter Ansatz (frequency domain).	16
Grundsätze der Meßanordnung	18
Zusammenfassung der methodischen Ansätze	20
<u>A.1.: Validierung der Cytochrom-oxidase</u>	<u>20</u>
A.1.1.: Bestimmung der individuellen Wellenlängenabhängigkeit des DPF aus pulskorrelierten Attenuationsänderungen	22
A.1.2.: Cross-talk im Schichtmodell (Monte Carlo Simulationen)	23
A.1.3.: Änderungen des Cytochrom-Oxidase Redoxzustandes bei visueller Stimulation des Erwachsenen.	26
A.1.4.: Differentielle Aktivierung der ‚blob-/interblob‘ Areale im visuellen Cortex des Erwachsenen.	27
<u>A.2.: Fast Optical Signals</u>	<u>28</u>
A.2.1.: Abschätzung der Effektgröße	32
A.2.2.: Parameter-Selektion: Intensität versus Phase	32
A.2.3.: Pulsschlagartefakte / Bewegungsartefakte	33
Zusammenfassung	33

<u>A.3.:</u>	<u>Tiefenauflösung</u>	<u>34</u>
A.3.1.:	Bestimmung der Absorptionsänderungen in einem Schichtmodell des Kopfes	34
A.3.2.:	Differenzierung des extra- und intracerebralen Blutflusses anhand eines Farbstoff- Bolus.	35
<u>A.4.:</u>	<u>Bildgebung</u>	<u>36</u>
	Methodik: Zusammenfassung und Ausblick	39
Teil B		
	Physiologie: Untersuchungen zur neuro-vaskulären Kopplung	41
	Exkurs 2: Neuro-vaskuläre Kopplung	45
	Phänomen: Hyperoxygenierung	48
	Substrat-Hypothese	49
	Diffusibilitäts-Hypothese	50
	Maß des neuronalen Inputs	52
	Exzitation, Inhibition und Deaktivierung	53
	Zeitgang der vaskulären Antwort	53
	Zusammenfassung	54
<u>B.1.:</u>	<u>Beschreibung der ‚typischen‘ NIRS Antwort über einem aktivierten cortikalen Areal</u>	<u>55</u>
B.1.1.:	Oxygenierungsänderungen bei motorischer Stimulation	55
B.1.2.:	Oxygenierungsänderungen bei visueller Stimulation	56
B.1.3.:	Weitere Stimulationsparadigmata	57
<u>B.2.:</u>	<u>Korrelation mit vaskulär-basierten funktionellen Methoden</u>	<u>60</u>
B.2.1.:	Simultane NIRS und BOLD-Kontrast fMRT Messungen	60
B.2.2.:	Simultane NIRS und H ₂ O-PET	63
B.2.3.:	Simultane NIRS und TCD	64

B.3.:	Oxygenierungsänderungen in Ruhe und bei ‚Deaktivierung‘	65
B.3.1.:	Spontane langsame Oszillationen der Hämodynamik und des Metabolismus über dem visuellen Cortex.	66
B.3.2.:	Fokale Hypoxygenierung bei sakkadischer Suppression des visuellen Cortex	67
B.4.:	Aspekte der Linearität	68
B.4.1.:	Modellierung der NIRS-Antwort als Impuls-Response Funktion	69
B.4.2.:	Antwortverhalten bei prolongierter funktioneller Stimulation	70
B.4.3.:	Habituationsverhalten der neuronalen und elektrophysiologischen Antwort	71
	Physiologie: Zusammenfassung und Ausblick	72
Teil C		
	Perspektive: Klinische Anwendung	74
	Akute cerebrale Ischämien	74
	Epilepsie	77
	Weitere Krankheitsbilder	78
	Zusammenfassung der klinischen Perspektiven	79
	Zusammenfassung	81
	Literaturangaben	82
	Danksagung	102

Band II

The image displays two pages of a musical score for a band. The left page shows the beginning of the score with staves for Flute (Fl.), Oboe (Ob.), Clarinet (Clar.), Bassoon (Fag.), Cor Anglais (Coral.), Clarinet in F (Clarin. in F), Trombone and Bassoon (Tromb. u. C. Fag.), Violin (Viol.), Viola (Vclla.), Cello (Vcllo), and Bass (Basso). The right page continues the score, featuring a section marked 'trio' and 'rit.' (ritardando), with dynamic markings such as *ff* (fortissimo) and *rit.* (ritardando). The score includes various musical notations, including notes, rests, and articulation marks.

(enthält eine Auswahl von Originalarbeiten die im vorliegenden Text gekennzeichnet und zum Teil zusammengefasst sind)

Nahinfrarotspektroskopie des Gehirns

Band I/II

Hellmuth Obrig

Der Band II enthält eine Auswahl von Originalarbeiten, die im vorliegenden Band mit * markiert sind.

für M.U.L. und V.A.L.

Nahinfrarotspektroskopie des Gehirns.

Einleitung

Änderungen des cerebralen Blutfluß begleiten Änderungen neuronaler Aktivität des Gehirns (Roy and Sherrington, 1890). Dieser Tatsache verdankt die Hirnforschung der letzten Jahrzehnte die Möglichkeit, funktionelle Aktivierung mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung darzustellen, um nicht-invasiv im Individuum die cerebrale Verarbeitung auch komplexer Paradigmen zu beschreiben. Abbildung 1 zeigt ein eindrucksvolles Beispiel. Mit der funktionellen Kernspintomographie (fMRT) sind bei einer Versuchsperson die ‚ocular dominance columns‘ aufgrund der lokalen Änderungen des BOLD-Kontrastes in der primären Sehrinde dargestellt (Abbildung 1a aus (Cheng et al. 2001)). Dies war beim Menschen bisher nur der postmortalen Analyse durch Färbungen zugänglich (Abb.1b aus (Horton and Hocking, 1998)). Damit ist die aus dem Makaken auch in der Einzelzellableitung bekannte, columnare Organisation des visuellen Cortex der individuellen Analyse zugänglich.

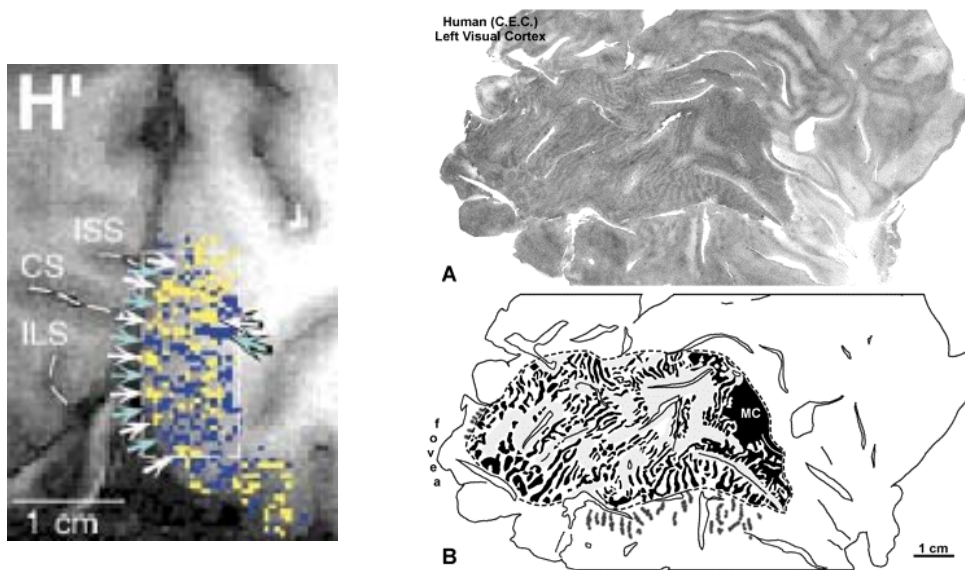


Abb. 1: Die linke Abbildung zeigt die Darstellung der ocular dominance columns (ODC) im Menschen, dargestellt mit der funktionellen Kernspintomographie. Die Zuordnung der Dominanz-Kolumnen erfolgt durch den differentiellen BOLD-Kontrast Anstieg bei Stimulation des rechten (blaue pixel) und linken (gelbe pixel) Auges (aus (Cheng et al. 2001)). Damit wird die Analyse der funktionellen Anatomie in vivo möglich, die zuvor nur der post-mortem Analyse zugänglich war, wie es in den rechten beiden Abbildungen dargestellt ist (amblyoper Patient, Cytochrom-oxidase Färbung aus (Horton and Hocking, 1998)).

Neben der Bestätigung der geforderten Analogie zwischen den nicht-invasiv im Menschen und den tierexperimentell erhobenen, funktionell anatomischen Daten erscheinen zwei Perspektiven von hervorragender Relevanz. Zum einen lassen sich kognitive Paradigmen untersuchen, die nicht oder nur schwer im Tierexperiment untersucht werden können. Zum anderen ist durch die nicht invasive Untersuchung im Individuum die Option gegeben, Varianz, Plastizität und auch pathologische Aberranz zu beschreiben.

Die beiden skizzierten Perspektiven führen allerdings auch zu der Notwendigkeit, die physiologischen Mechanismen und die Methodik kritisch zu prüfen, die den Bildern der Hirnfunktion zugrunde liegen. So vereinfacht sich die Hypothesenbildung einer funktionellen Bildgebungsstudie, wenn sie sich auf tierexperimentelle Daten stützt, die die neuronale Aktivierung anhand von Einzelzelleitungen oder die vaskuläre Antwort autoradiographisch hochauflösend dokumentiert. Um bei einem komplexen kognitiven Paradigma jedoch eine ähnliche funktionell-anatomische Aussage zu treffen, muß sichergestellt sein, daß die gemessene vaskuläre Antwort auch bei diesem Paradigma ein reliables Abbild der neuronalen Aktivität darstellt. Bezogen auf Verlaufsuntersuchungen etwa im Rahmen der Plastizitätsforschung oder gar der Untersuchung des pathologisch alterierten Gehirns multipliziert sich dieses Caveat. Wird nach einer Rehabilitationsphase bei einem Schlaganfallpatienten ein Paradigma erneut untersucht, kann nicht davon ausgegangen werden, daß der Vergleich der erhobenen Bilder einzig die Änderung der neuronalen Antwort, also neuronale Plastizität, widerspiegelt. Die Grundlage der Bildgebung, die neurovaskuläre Kopplung, ist im Akutstadium und im chronischen Stadium verschieden und im Vergleich zur physiologischen Norm verändert.

Die vorliegende Arbeit hat drei thematische Schwerpunkte. Neben der Validierung und Nutzung der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) in der Anwendung auf das Gehirn des Erwachsenen werden physiologische Grundlagen der cerebralen Bildgebung untersucht und die Perspektiven einer Anwendung auf pathophysiologische Fragestellungen skizziert. Die Gliederung in drei Teile folgt diesen Schwerpunkten. *Teil A* der Arbeit beschäftigt sich mit methodisch orientierten Fragestellungen als Grundlage der Nutzung der NIRS für funktionelle Aktivierungsstudien des Gehirns. Hier behandeln einige der vorgestellten Studien grundlegende biophysikalische Fragen bezüglich der Interaktion von Licht und Gewebe. Genauer sind dies Fragen nach der räumlichen Auflösung, theoretische Ansätze zur Trennung von Änderungen der optischen Eigenschaften in verschiedenen Gewebeschichten, Fragestellungen zur spektroskopischen Differenzierung unterschiedlicher Chromophore, aber auch die Weiterentwicklung der Methodik zum Zweck der optischen Bildgebung. Auch im Hinblick auf die Frage nach den physiologischen Grundlagen funktioneller Bildgebungstechniken, ist die Validierung zusätzlicher Meßparameter in diesem Teil der Arbeit ein Fokus. Neben der vaskulären Antwort erlaubt die Methode die gleichzeitige Darstellung eines zellulär-metabolischen Parameters und – bisher kontrovers – auch die Darstellung schneller optischer Signale, die im Tierexperiment die neuronale Antwort widerspiegeln. Für die Cytochrom-C-Oxidase, dem

terminalen Enzym der mitochondrialen Atmungskette, ließ sich bei spektroskopisch ausreichender Auflösung eine Änderung des Redox-Zustandes bei funktioneller Aktivierung nachweisen. Die in der Literatur auch nicht-invasiv beim Menschen beschriebene Darstellbarkeit schneller optischer Signale, die parallel zu den aus der Elektrophysiologie bekannten evozierten Potentialen auftreten, konnten wir nicht uneingeschränkt reproduzieren. Dennoch halten wir die Befunde zur potentiellen Nachweisbarkeit schneller optischer Signale für so relevant, daß die Ergebnisse der hierzu durchgeführten Studien auch in der vorliegenden Arbeit dargestellt sind. *Teil B* faßt die Studien zusammen, die sich auf die physiologische Begründung der Methodik richten. Ausgehend von der Beschreibung der typischen Antwort der gemessenen Parameter über einem funktionell aktivierten Hirnareal werden die Ergebnisse in das physiologische Modell der neuro-vaskulären Kopplung eingeordnet. Hier stehen simultane Untersuchungen mit verschiedenen vaskulär-basierten funktionellen Methoden (funktionelle MRT, Positronen-Emissions Tomographie (PET), transcranielle Doppler-Sonographie (TCD)) aber auch die simultane Registrierung mit elektroencephalographisch registrierten, evozierten Potentialen im Zentrum. In *Teil C* werden Anwendungen der NIRS auf pathophysiologische Fragestellungen skizziert. Diese Perspektive der Methode ist insbesondere dadurch begründet, daß mit der NIRS bed-side Untersuchungen ohne großen apparativen Aufwand und über längere Zeiträume möglich sind. Erste Befunde bei Patienten mit akuten cerebralen Ischämien, bei Absencen Epilepsie und zur Alteration der funktionell evozierten vaskulären Antwort bei Patienten mit M. Alzheimer werden in diesem letzten Abschnitt zusammengefaßt.

Die Trennung in drei Teile dient vor allem der übersichtlichen Darstellung. Unsere Arbeit verfolgt den Ansatz, physikalisch-technische Prinzipien an physiologischen Modellen zu erproben. Gegenläufig wird aus der physiologischen Fragestellung der methodische Zugriff entwickelt, wie es etwa die Entwicklung des bildgebenden Systems in unserer Gruppe demonstriert. Dabei ist Validierung der Methode für die Anwendung bei funktionellen Aktivierungsstudien beim Erwachsenen der grundsätzlicheren Frage nach Abbildungen der Hirnfunktion untergeordnet. Jenseits der Beschreibung einer weiteren Methode soll also geprüft werden, wie die Methodik das Bild schärfen kann, das durch die vaskulär-basierten bildgebenden Techniken entworfen wird. Es ist unsere Überzeugung, daß nur mit einem solchen methodenkritischen Ansatz der Einsatz vaskulär-basierter bildgebender Techniken bei komplexen kognitiven Paradigmen aber auch bei der Anwendung auf das pathologisch veränderte Gehirn sinnvolle Aussagen zu Funktion und Dysfunktion getroffen werden können.

Teil A

Methodik und Validierung der Meßparameter

Der erste Teil der Arbeit faßt Studien der Gruppe zusammen, die sich mit methodischen Grundlagen beschäftigen. Die übergeordnete Frage lautet ‚Wo und Was kann die Nahinfrarotspektroskopie messen?‘. Anhand einer sehr groben Einführung in die Grundlagen der NIRS werden vier Fragestellungen aufgezeigt. In den folgenden vier Abschnitten wird unsere Arbeit (1) zur Validität der Cytochrom-oxidase, (2) zur Nachweisbarkeit schneller optischer Signale, (3) zur Modellierung und Differenzierung oberflächlicher und tiefer Kompartimente und (4) die Entwicklung eines bildgebenden Monitors behandelt. Der eingeschobene Exkurs 1 zu den Grundlagen der NIRS bietet eine etwas detailliertere biophysikalische Propädeutik der Methodik.

Methodische Grundlagen

Die Nahinfrarot-Spektroskopie basiert auf drei biophysikalischen Gegebenheiten. (i) Biologisches Gewebe ist für Licht im Bereich von $\sim 600-1000$ nm relativ transparent, (ii) oxygeniertes und deoxygeniertes Hämoglobin (oxy-Hb, deoxy-Hb) haben in diesem Spektralbereich charakteristische Absorptionsspektren, die eine spektroskopische Differenzierung erlauben, und (iii) Zustandsänderungen des cerebralen Gewebes führen zu nur geringen Änderungen der Streueigenschaften. Aufbauend auf diesen Gegebenheiten lassen sich mit einer Modifikation des Lambert-Beer'schen Gesetzes Änderungen der Konzentration des oxygenierten und deoxygenierten Hämoglobin bestimmen (Jobsis, 1977; Cope and Delpy, 1988; Chance, 1991). Die Summe dieser Parameter, das Gesamt-Hämoglobin, kann als Maß des korpuskulären Blutvolumens berechnet werden ($[\text{oxy-Hb}] + [\text{deoxy-Hb}] = [\text{tot-Hb}]$). Aus unserer Arbeit bezüglich der Methodik sollen hier 4 Fragestellungen thematisiert werden:

(A.1.) Lassen sich Änderungen des Redoxzustandes des terminalen Enzyms der Atmungskette, der Cytochrom-oxidase ($[\text{Cyt-ox}]$), bestimmen? Diese Fragestellung ergibt sich aus dem Absorptionsspektrum des Enzyms, das im genutzten Spektralbereich ähnlich den Hämoglobinen ein redoxabhängiges differentielles Absorptionsverhalten aufweist (Wray et al. 1988a). Die potentielle Relevanz ist evident, bedenkt man, daß mit einem zellständigen Marker des Sauerstoffmetabolismus eine gleichzeitige Messung der vaskulären und der metabolischen Antwort auf physiologische Zustandsänderungen zur Verfügung stünden. Der Nachweis einer Störung des Sauerstofftransportes vom cerebralen Gefäß in die Zelle wäre pathophysiologisch, die physiologische Relation der vaskulären zur metabolischen Antwort ist für die Frage nach den Mechanismen der neuro-vaskulären Kopplung auch als Basis bildgebender Techniken von eminentem Interesse.

(A.2.) Ebenfalls auf der methodischen Ebene ergibt sich die Frage bezüglich eines weiteren Parameters der NIRS. In der Literatur wurde über ‚fast optical signals‘ (FOS), als Korrelat optischer Veränderungen, die fast zeitgleich (Salzberg, 1989) mit Potentialänderungen an der Membran isolierter Neurone auftreten, berichtet. Die Existenz und die enge zeitliche Korrelation zwischen elektrophysiologischen und optischen Änderungen ist am isolierten Neuron (Cohen et al. 1978; Stepanoski et al. 1991) und am freigelegten Cortex (Rector et al. 1997a) belegt. Unsere Fragestellung bezieht sich auf die nicht-invasive Nachweisbarkeit solcher optischer Signale beim Erwachsenen, wie sie in den letzten Jahren berichtet wurde (Gratton et al. 1995b). Unsere Gruppe konnte mit verschiedenen Techniken diese Signale nicht sicher reproduzieren. Wir erachten die Fragestellung dennoch für ausreichend relevant, um auch diese Studien in der vorliegenden Darstellung zusammenzufassen.

(A.3.) Eine grundlegende Fragestellung bezüglich der Methodik ist weiterhin die nach der Definition des Meßvolumens. Kritisch für die Relevanz aller dargestellten Änderungen der optischen Eigenschaften ist die Frage, ob sie auf Zustandsänderungen des cerebralen Cortex zu beziehen sind und wie groß der Beitrag des extracerebralen Gewebes ist. Zu dieser Fragestellung gibt es eine Reihe von Studien, die unterschiedliche Ansätze nutzen, um zwischen den Kompartimenten zu differenzieren (Kirkpatrick et al. 1998b; Okada et al. 1995; Steinbrink et al. 2001b)*. In einem zeitaufgelösten Ansatz wird in einer Arbeit unserer Gruppe eine genauere Tiefenauflösung in einem Schichtmodell des Kopfes modelliert (Steinbrink et al. 2001b)*. Eine ähnliche methodische Erweiterung, die neben der Abschwächung des Lichtes auch dessen mittlere Verweildauer im Gewebe mißt, wird in Kombination mit einem optischen Kontrastmittel genutzt. Anhand der Boluslatenz und –form wird untersucht, ob so ein einfacher Marker für die extra- und intracerebrale Perfusion beschrieben werden kann (Kohl et al. 2001).

(A.4.) Neben der Tiefenauflösung ist eine Zuordnung der gemessenen Parameter zu verschiedenen Arealen bei funktionellen Aktivierungsstudien aber auch bei fokalen pathologischen Prozessen wichtig. Die meisten der vorgestellten Studien nutzen zur Lokalisation externe Referenzsysteme. Einerseits wird das für das Oberflächen EEG beschriebene 10-20-System genutzt, zum Teil erfolgt eine anatomische Referenz durch den Vergleich zu simultan oder vor der NIRS Untersuchung erhobenen anatomischen MRT-Aufnahmen. Mit einem Array von Emitter-Detektor-Paaren lassen sich aber auch mit der NIRS Bilder der gemessenen Oxygenierungsänderungen erstellen, die einer groben Kartographie des cerebralen Cortex entsprechen. Methodisch ist dieser Ansatz vergleichsweise einfach. Er bietet jedoch die Möglichkeit, aufgrund der Fokalität einer Änderung, Aussagen über die Plausibilität eines cerebral-cortikalen Ursprungs zu erhalten. Bei pathophysiologischen Untersuchungen erlaubt der bildgebende Ansatz den Vergleich mit umgebendem, nicht pathologisch alteriertem Gewebe beim Patienten. Ergebnisse mit dem in unserer Gruppe entwickelten bildgebenden System werden demonstriert. (Eine Anwendung des bildgebenden Systems zur

kontrastmittelgestützten cerebralen Perfusionsmessung bei Schlaganfallpatienten findet sich im letzten Abschnitt der vorliegenden Arbeit).

Exkurs 1:

Prinzipien und Methodik der NIRS

Modifikation des Lambert-Beer'schen Gesetzes

Licht und biologisches Gewebe interagieren hauptsächlich¹ in zwei Formen. Absorption und Streuung führen zur Lichtabschwächung (A) bei Durchstrahlung von Gewebe, das optisch durch die Kenngrößen des Absorptionskoeffizienten (μ_a) und des Streukoeffizienten (μ_s) charakterisiert wird. Im idealisierten Küvettenmodell kann unter der Annahme, daß keine Streuung stattfindet, die Konzentration eines Stoffes über den Absorptionskoeffizienten bestimmt werden. Unter der Annahme fehlender Absorption läßt sich umgekehrt die Konzentration über den Streukoeffizienten bestimmen (Lambert-Beer'sches Gesetz). In biologischem Gewebe lassen sich jedoch Streuung und Absorption nicht einfach trennen. Um dennoch eine Konzentrationsbestimmung von Chromophoren durchzuführen, wird meist eine konstante Streuung angenommen (Cope and Delpy, 1988). Die Annahme einer konstanten Streuung ist nicht willkürlich, sondern basiert auf der Tatsache, daß Änderungen des cerebralen Blutflusses die Streuung (dominiert durch die Zelldichte) nur gering, die Absorption (dominiert durch die Konzentration von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb]) jedoch stark beeinflussen. Diese Annahme ist nur eine Näherung und ganz auf den Nachweis hämodynamischer und metabolischer Parameter gerichtet².

¹ Phänomene der Fluoreszenz und des Laser-Doppler-Shifts, wie sie für weitere optische Methoden in der neurophysiologischen Forschung genutzt werden, sind im Rahmen der hier vorgestellten Methodik nicht von Relevanz. Im Rahmen unserer Arbeit haben wir ein von Prof. Soelkner und Dr. Lohwasser entwickeltes Gerät zur nicht-invasiven Anwendung der Laser-Doppler Flußmessung beim Erwachsenen evaluiert. Die Ergebnisse ließen eine sichere Anwendbarkeit bei einem größeren Kollektiv von Probanden nicht zu. Für eine Darstellung des methodischen Ansatzes des Verfahrens sei deshalb auf die Promotionsarbeit von Herrn Dr. Lohwasser verwiesen.

² Das Streuverhalten des durchstrahlten Gewebes ist jedoch nicht nur zur Berechnung der mittleren Pfadlänge anhand des differentiellen Pfadlängenfaktors (DPF) zur Quantifizierung der Konzentrationsänderungen von Interesse. Es gibt eine Reihe

Die Herleitung der modifizierten Form des Lambert-Beer'schen Gesetzes als Grundlage der NIRS ist:

$$A = (\mu_a + \mu_s) * d$$

$$\text{mit: } \mu_a = c * \varepsilon \quad \text{und} \quad \mu_s = 0$$

$$A = c * \varepsilon * d \Rightarrow c = \frac{A}{\varepsilon * d}$$

$$\text{mit: } \mu_a = c * \varepsilon \quad \text{und} \quad \mu_s = \text{const.}$$

$$A = c * \varepsilon * DPF * d + G$$

$$\delta A = \delta c * \varepsilon * DPF \Rightarrow \delta c = \frac{\delta A}{\varepsilon * DPF * d}$$

(Gleichung 1)

mit: A, Lichtabschwächung; μ_a , Absorptionskoeffizient des Gewebes; μ_s , Streukoeffizient des Gewebes; d, geometrischer Abstand zwischen Quelle und Detektor; c, Konzentration eines Chromophors; ε , spezifischer Extinktionskoeffizient des Chromophors; ρ , Anzahl der streuenden Partikel; σ_s , Gesamtquerschnitt aller streuenden Partikel; G, Geometriefaktor und DPF, differentieller Pfadlängenfaktor.

Die Modifikation besteht in der Berücksichtigung einer konstant angenommenen Streuung. Photonen, die durch Streuung das Meßvolumen verlassen, werden durch den Term G berücksichtigt, während der Faktor DPF der Tatsache Rechnung trägt, daß durch multiple Streuereignisse der mittlere zurückgelegte Weg zwischen der Lichtquelle und dem Detektor größer als ihr geometrischer Abstand d ist. Ohne Kenntnis der Größe G ist eine absolute Quantifizierung der Konzentration eines Stoffes nicht möglich. Durch Differenzbildung über die Zeit, $\delta A(t)$, entfällt dieser Term. Ist der DPF bekannt, so kann die Konzentrationsänderung quantifiziert werden (Duncan et al. 1995).

physiologischer und pathophysiologischer Prozesse, die primär die Änderung des Streuverhaltens beeinflussen und damit potentiell auch zu detektieren sind. Hierzu gehören ödematöse Änderungen des Hirngewebes, Änderungen der Größe des Liquorraumes aber auch Refraktionsänderungen der Nervenzellmembranen, wie sie an isolierten Neuronen nahezu gleichzeitig mit Aktionspotentialen nachgewiesen wurden. Das physiologische Problem besteht darin, daß in vivo keine dieser Änderungen sicher isoliert auftritt, sondern fast immer mit einer Änderung auch der Hämodynamik oder des Metabolismus einhergeht. Das physikalische Problem besteht darin, daß schon im einfachen Küvettenmodell die Abschwächung aufgrund von Absorption und Streuung nur unter bestimmten Annahmen zu trennen sind.

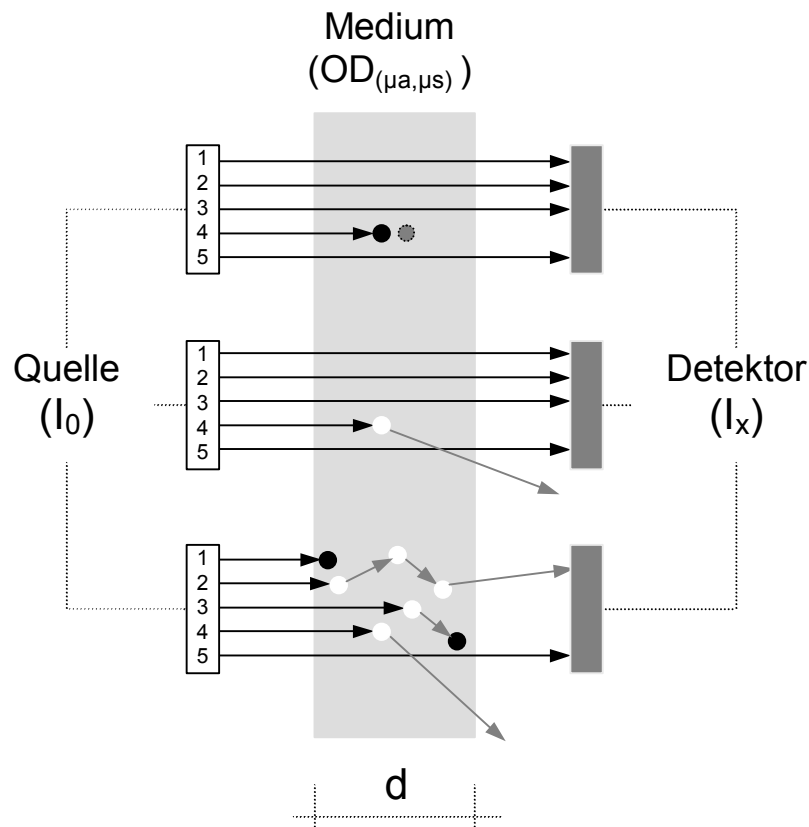


Abb. 2: Absorption und Streuung im Küvettenmodell. Gemessen wird die Abschwächung der Lichtintensität zwischen Quelle (I_0) und Detektor (I_x). Es resultiert die optische Dichte (OD) des Mediums, das durch μ_a und μ_s charakterisiert ist. Im obersten Szenario ist $\mu_s=0$, d.h. Photonen, die nicht den Detektor erreichen, sind absorbiert worden (Photon 4). Erhöht sich die Konzentration des gelösten Stoffes, so erreichen weniger Photonen den Detektor, die Konzentration des Absorbers läßt sich also aus der Lichtabschwächung bestimmen. Eine Voraussetzung des Lambert-Beer'schen Gesetzes ist ebenfalls skizziert: die Lösung muß unendlich verdünnt sein. Anderenfalls kann es sein, daß ein Absorber im ‚Schatten‘ eines anderen liegt (gestrichelter, grauer Partikel) und so die Konzentration des Stoffes zu niedrig bestimmt wird. Im zweiten Szenario ist $\mu_a=0$. Verluste können so ganz der Konzentration des streuenden, gelösten Stoffes zugeordnet werden. Die Voraussetzung der Verdünnung gilt hier genau wie oben. Im dritten Szenario sind im Medium streuende und absorbierende Stoffe gelöst. Am Detektor kann nicht differenziert werden, ob ein Photon nicht detektiert wird, weil es absorbiert (Photon 1), gestreut (Photon 4) oder beides wurde (Photon 3). Für die detektierten Photonen ist weiterhin am Detektor nicht ohne zusätzliche Information festzustellen, ob sie den direkten Weg (sogenanntes ‚ballistisches‘ Photon 5), oder einen längeren Weg (Photon 2) über multiple Streueignisse zurückgelegt haben. Das unterste Szenario entspricht biologischem Gewebe; die Modifikationen des Lambert-Beer'schen Gesetzes, die notwendig sind, um dennoch Konzentrationsbestimmungen in einem solchen Medium vorzunehmen, werden im Text hergeleitet.

Quantifizierung der Meßparameter

Für Anwendungen am adulten Kopf ist der Term G nicht exakt bestimmbar. Einerseits ist die Meßgeometrie komplex, andererseits gilt die Bestimmung der Streuung nach dem Koeffizienten μ_s nur bei einzelnen Streueignissen. Im Gewebe entspricht das eingestrahlte Licht bereits in geringer Tiefe eher einer diffusen Photonenwolke als einem Lichtstrahl. Die Lösungsansätze auf der Basis der Diffusionstheorie mit Hilfe stochastischer Verfahren (Hiraoka et al. 1993; Arridge et al. 1995) sind bezüglich der Abschätzung des Fehlers durch die Annahme eines über die Zeit konstanten Terms G hilfreich. Für eine Anwendung am Kopf des Erwachsenen sind jedoch derzeit absolute Quantifizierungen der Chromophorkonzentrationen wenig reliabel, so daß in der vorliegenden Arbeit nur über Änderungen der Chromophor-Konzentrationen berichtet wird ($\Delta[\text{oxy-Hb}]$, $\Delta[\text{deoxy-Hb}]$, $\Delta[\text{Cyt-ox}]^3$). Wenn in der Arbeit für die Studien, die mit nicht-zeitaufgelösten Verfahren durchgeführt wurden, die Änderungen in μM angegeben werden, so beruht diese Quantifizierung der Konzentrationsänderungen auf der Annahme eines DPF von 6,26 für den Kopf des Erwachsenen bei einem Probenabstand $>2,5$ cm nach Duncan und Mitarbeitern (Duncan et al. 1996). Wird die mittlere Flugzeit der Photonen in zeitaufgelösten Ansätzen bestimmt, so kann aus ihr der Faktor DPF berechnet werden. Der DPF errechnet sich nach:

$$DPF = \frac{DP}{d} \quad \text{mit} \quad DP = \frac{c^* \langle t \rangle}{n}$$

$$DPF = \frac{\delta A}{\delta \mu a} * d^{-1}$$

(Gleichung 2)

mit c , Lichtgeschwindigkeit; n , Brechungsindex des Gewebes; DP , Weglänge; $\langle t \rangle$, mittlere Laufzeit der Photonen.

Mit zeitaufgelösten Messungen läßt sich also die mittlere Laufzeit der Photonen durch das Gewebe bestimmen und unter Kenntnis der Lichtgeschwindigkeit im Gewebe daher auch der zurückgelegte

³ Die Angabe $\Delta[\text{Cyt-ox}]$ ist keine echte Angabe für die Änderung der Gesamtkonzentration des Enzyms, sondern bezieht sich auf eine Änderung des Redox-Zustandes des mitochondrialen Enzyms: $\Delta[\text{Cyt-ox}] = \Delta([\text{Cyt}_{\text{oxidiert}}] - [\text{Cyt}_{\text{reduziert}}])$. Dies beruht darauf, daß die Gesamtkonzentration des zellständigen Enzyms sich über den Meßzeitraum, im Gegensatz zu den Hämoglobinen, nicht ändert. Zur Berechnung des Parameters wird deshalb das Differenzspektrum zwischen der oxidierten und reduzierten Form des Enzyms genutzt. Die Analogie in der Bezeichnung zu den Änderungen der Hämoglobin-Konzentrationen unterstreicht den analogen spektroskopischen Ansatz.

mittlere Weg. Weiterhin wurde gezeigt, daß der Faktor proportional dem Verhältnis der Änderung der optischen Dichte (δA) und der Änderung des Absorptionskoeffizienten ($\delta \mu_a$) ist (Arridge et al. 1992). Dieser Ansatz wurde in einer unserer Studien zur Bestimmung der Wellenlängenabhängigkeit des DPF genutzt. Da die Wellenlängenabhängigkeit relevant ist für die Frage der spektroskopischen Bestimmung der Cytochrom-oxidase, wird die Studie unter A.1. dargestellt.

In Zusammenfassung des bisher Erläuterten lassen sich Konzentrationsänderungen von Chromophoren unter Annahme einer konstanten Streuung in einem stark streuenden Medium nach dem modifizierten Lambert-Beer'schen Gesetz bestimmen. Bisher wurde die Wellenlängenabhängigkeit des Meßparameters, A , nicht berücksichtigt. Diese ist jedoch Grundlage der spektroskopischen Differenzierung unterschiedlicher Chromophore im biologischen Gewebe und wird in der Folge skizziert.

Spektroskopische Differenzierung oxygenierungsabhängiger Chromophore ⁴

Arteriell und venös Blut haben unterschiedliche Farben. Physikalisch beruht dies auf unterschiedlichen Absorptionsspektren von oxy-Hb und deoxy-Hb, also der Wellenlängenabhängigkeit des Extinktionskoeffizienten beider Stoffe (Cope, 1991). Für den nicht sichtbaren, nahinfraroten Wellenlängenbereich ist in Abb. 2 die ‚Farbe‘ einiger Stoffe dargestellt. Das spektrale Fenster, in dem Gewebespektroskopie auch in größerer Tiefe möglich ist, wird durch die hohe Absorption der Hämoglobine unterhalb ~ 600 nm und von Wasser oberhalb ~ 950 nm begrenzt. Zwei Ansätze werden im Rahmen dieser Arbeit genutzt. Die beiden kommerziellen Monitore⁵ nutzen 4 Laserdioden mit diskreten Wellenlängen und errechnen die Konzentrationsänderungen durch Lösung des resultierenden Gleichungssystems:

⁴ Grundsätzlich ist im Rahmen der Methodik zwischen fixen und dynamischen Absorbern zu unterscheiden. Fixe Absorber sind Stoffe, die zur Absorption (μ_a), nicht aber zu Absorptionsänderungen ($\delta \mu_a$) über die Zeit beitragen. Hierzu gehört etwa das Melanin der Haut. Als dynamische Absorber werden alle Stoffe verstanden, die über den Meßzeitraum ihre Konzentration oder/und ihre ‚Farbe‘ ändern. Neben den hier interessierenden Chromophoren Hämoglobin und Cytochrom-Oxidase sind dies auch die weiteren Cytochrome (Farbe) und in geringem Maße auch Wasser (Konzentration). Im gemessenen Spektralbereich sind die Änderungen jedoch vernachlässigbar.

⁵ NIRO-500, Hamamatsu, Germany: 775, 825, 850 und 904 nm (Cope and Delpy, 1988); ISS-Oxymeter, ISS Inc., USA: 750, 780, 810 und 830 nm (De Blasi et al. 1995).

$$\begin{aligned} \delta A(\lambda_1) &= [\delta c_1 * \varepsilon_1(\lambda_1) + \delta c_2 * \varepsilon_2(\lambda_1) + \dots + \delta c_i * \varepsilon_i(\lambda_1)] * d * DPF(\lambda_1) \\ \delta A(\lambda_2) &= [\delta c_1 * \varepsilon_1(\lambda_2) + \delta c_2 * \varepsilon_2(\lambda_2) + \dots + \delta c_i * \varepsilon_i(\lambda_2)] * d * DPF(\lambda_2) \\ &\dots \\ \delta A(\lambda_j) &= [\delta c_1 * \varepsilon_1(\lambda_j) + \delta c_2 * \varepsilon_2(\lambda_j) + \dots + \delta c_i * \varepsilon_i(\lambda_j)] * d * DPF(\lambda_j) \end{aligned}$$

(Gleichung 3)

mit Index 1 bis i für die unterschiedlichen Chromophorenkonzentrationen c und die jeweiligen spezifischen Extinktionskoeffizienten ε ; der Index 1 bis j steht für die unterschiedlichen Wellenlängen λ .

Es folgt, daß die maximale Zahl zu differenzierender Chromophore der Anzahl der diskreten Wellenlängen, bei denen gemessen wird, entspricht. Eine Überbestimmung (etwa 3 Chromophore bei 4 Wellenlängen) kann zur Korrektur genutzt werden. Der unter A.4. beschriebene, von unserer Gruppe entwickelte Monitor nutzt den gleichen Ansatz, mißt jedoch nur bei 2 Wellenlängen und erlaubt daher nur die Differenzierung von $\Delta[\text{oxy-Hb}]$ und $\Delta[\text{deoxy-Hb}]$ unter Vernachlässigung des Beitrages durch eine Redoxverschiebung der Cytochrom-Oxidase.

Eine höhere spektroskopische Auflösung wird durch die Registrierung des gesamten Spektralbereichs von 700-1000 nm möglich (Matcher et al. 1995). Als Lichtquelle dient eine Halogenlampe. Das reflektierte Licht wird in einem Gitter-Spektrographen, ähnlich einem Prisma, spektral aufgelöst und mit einer CCD-Kamera detektiert⁶. Die Konzentrationsänderungen der interessierenden Chromophore ermitteln sich als Multikomponenten-Regression (least square fitting) der bekannten Extinktionsspektren, $\varepsilon(\lambda_1-\lambda_2)$, auf die gemessenen Attenuationsspektren, $A(\lambda_1-\lambda_2)$. In den mit diesem Aufbau durchgeführten Experimenten wurde von uns typischerweise der Spektralbereich von 720-920 nm mit einer effektiven spektralen Auflösung von 20 nm (spektrale Verschmierungseffekte durch Blende und Digitalisierung der Kamera) analysiert (Kohl et al. 1997).

⁶ CCD-Kamera: Princeton Instruments, SI, Germany; Spektrograph: Acton-Research, SP-275.

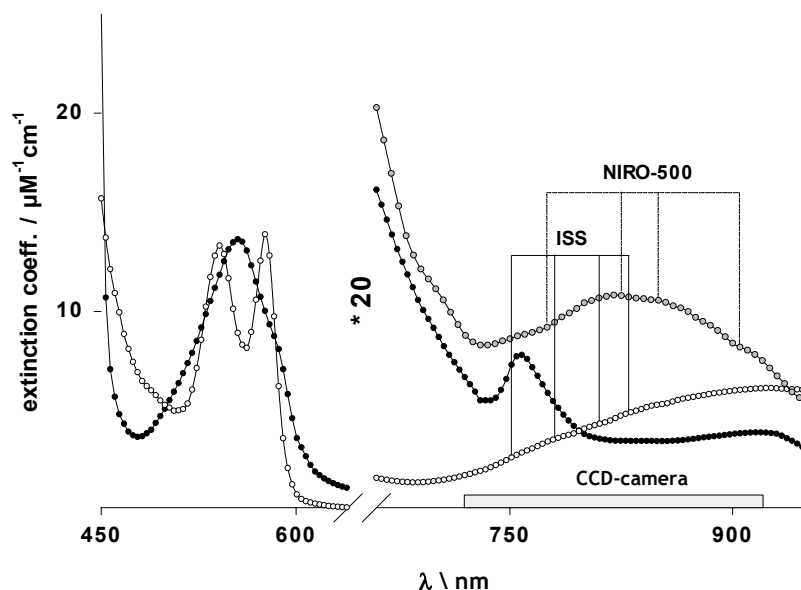


Abb. 3: Absorptionsspektren von oxy-Hb (offen), deoxy-Hb (gefüllt) und Cyt-ox (grau) im sichtbaren und im nahinfraroten Wellenlängenbereich. Im sichtbaren Bereich (linker Teil) ist die Absorption der Hämoglobine so hoch, daß Licht kaum ins Gewebe eindringt. Im Nahinfraroten ist die Gesamtabsorption um den Faktor 20 geringer (N.B.: andere Skalierung der Spektren ab 650 nm), so daß Gewebespektroskopie auch in der Tiefe möglich ist. Ab ~ 950 nm steigt die Absorption durch Wasser so deutlich an (nicht dargestellt), daß auch hier das Licht nicht ausreichend ins Gewebe eindringt. Die Stützwellenlängen für die genutzten kommerziellen Monitore (NIRO-500 und ISS-oxymeter) sowie das typischerweise genutzte Spektrum bei Nutzung des CCD-basierten Spektrometers sind dargestellt.

Bei den Messungen der Attenuationsänderungen über den Wellenlängenbereich von 720-920 nm lassen sich auch Änderungen der Streuung im Meßvolumen approximieren. Der Ansatz basiert auf der Wellenlängenabhängigkeit von μ_s . Wird bei der Multikomponenten-Regression neben den Extinktionsspektren von oxy-Hb, deoxy-Hb und Cyt-ox diese Wellenlängenabhängigkeit als vierte Komponente eingeführt, läßt sich $\delta \mu_s$ bestimmen. In einem tierexperimentellen Ansatz ließ sich so zeigen, daß μ_s Änderungen parallel zu den Änderungen des elektrischen Potentials im Rahmen einer Cortical Spreading Depression (CSD) auftreten (Kohl et al. 1997). Zur Differenzierung von dem Signalbeitrag durch die Redoxänderungen der Cytochrom-Oxidase ist allerdings ein Referenzwert notwendig. In den tierexperimentellen Daten diente die vollständige Reduktion des Enzyms bei Tod des Versuchstiers als Referenz. Für nicht-invasive Messungen beim Erwachsenen ist eine Trennung von Änderungen, die durch Cyt-ox Redoxverschiebungen und Änderungen von μ_s , die durch elektrische Potentialverschiebungen hervorgerufen werden, bisher nicht sicher gelungen.

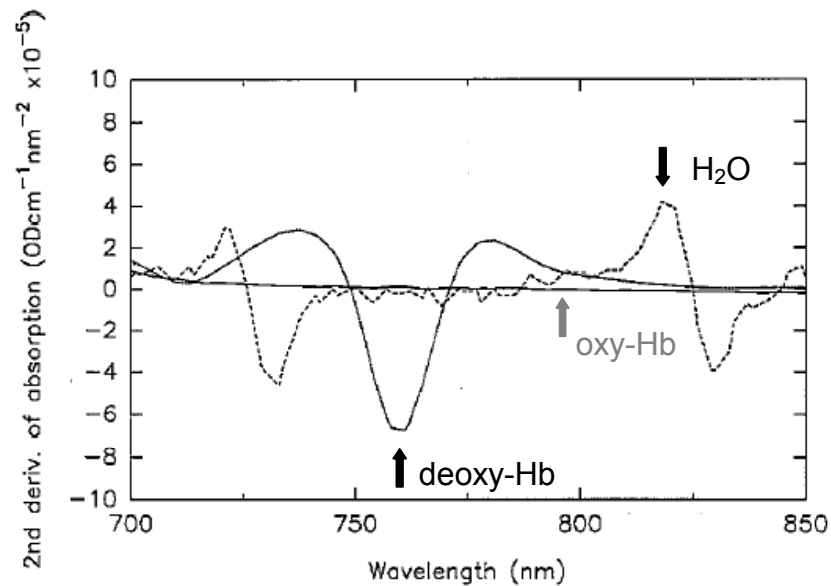


Abb. 4: Zweites Differential der Absorptionsspektren von oxy-Hb (40 μM), deoxy-Hb (20 μM) und Wasser (100%). Wasser (H_2O) und deoxy-Hb zeigen im NIR Bereich charakteristische Spitzen des zweiten Differentials, während das Spektrum des oxy-Hb flach ist. Aus dem Verhältnis der ‚peaks‘ kann bei Kenntnis (bzw. Annahme) des Wassergehaltes des Gewebes die absolute Konzentration des deoxy-Hb ermittelt werden. Abbildung modifiziert nach Matcher et al. (Matcher et al. 1994).

Ein weiterer Analyseansatz auf der Basis der nicht-zeitaufgelösten, kontinuierlichen Spektroskopie wurde von Matcher vorgeschlagen und beruht auf der Analyse des zweiten Differentials des gemessenen Absorptionsspektrums (Matcher et al. 1994). Eine zweifache Differentialbildung über das Spektrum zeigt nur noch für das Spektrum von deoxy-Hb und H_2O charakteristische Züge. Unter Annahme einer bestimmten, konstanten Wasserkonzentration des Gewebes kann durch das Verhältnis zwischen der Größe des zweiten Differentials bei 760 nm (deoxy-Hb) und bei 820 nm (H_2O) die Konzentration des deoxy-Hb quantifiziert werden. Umgekehrt lassen sich bei angenommener Konstanz der deoxy-Hb Konzentration die Änderungen der Wasserkonzentration (etwa im Rahmen ödematöser Prozesse) prinzipiell bestimmen.

Im bisher Dargestellten wurde die Abschwächung des Lichtes (A) als alleiniger Meßparameter vorgestellt. Im Zusammenhang mit der Bestimmung des DPF ist jedoch bereits darauf hingewiesen worden, daß auch die Verweildauer der Photonen im Gewebe mit bestimmten NIRS-Ansätzen gemessen werden kann. Hier werden zwei Ansätze kurz erläutert, die im Rahmen der zusammengefaßten Studien genutzt wurden.

Zeitaufgelöste Messungen: TCSPC (time correlated single photon counting) und intensitätsmodulierter Ansatz (frequency domain).

Wird ein sehr kurzer Lichtimpuls von wenigen Picosekunden Dauer ins Gewebe eingestrahlt, und die zeitliche Verteilung der reflektierten Photonen gemessen, läßt sich über die mittlere Laufzeit $\langle t \rangle$ der Photonen die mittlere Weglänge bestimmen (Gleichung 2). Der DPF kann damit individuell bestimmt werden. Die Laufzeitverteilung läßt aber noch eine weitere Differenzierung zu, die im Zusammenhang mit der Tiefenauflösung der NIRS steht. Dazu ist zu bedenken, daß in den bisher dargestellten Ansätzen immer eine Änderung der optischen Eigenschaften im gesamten, homogen absorbierenden und streuenden Meßvolumen angenommen wurde. Dies trifft für den Kopf des Erwachsenen nicht zu. Haut, Kalotte, Liquorraum, graue und weiße Substanz unterscheiden sich bezüglich ihrer optischen Eigenschaften erheblich. Auch sind bei verschiedenen physiologischen Prozessen verschiedene Änderungen der optischen Eigenschaften in unterschiedlichen Kompartimenten (Cortex, Kalotte, Haut) zu erwarten. Physikalisch entspricht diese Erweiterung einem Schichtmodell, bei dem Schichtdicke und –anzahl, sowie μ_a und μ_s der einzelnen Schicht variiert werden können. Dies ist hier von Relevanz, da die Laufzeitmessung eine grobe Differenzierung der Schichten, im Sinne einer Tiefenauflösung ermöglicht. Photonen mit einer kurzen Laufzeit und somit kurzem Weg können nur bis zu einer bestimmten Gewebetiefe eingedrungen sein ('frühe' Photonen). Umgekehrt haben 'späte' Photonen mit einer höheren Wahrscheinlichkeit tiefe Gewebsschichten erreicht und spiegeln so eher intracerebrale Prozesse wieder ⁷. Unter A.3. sind die Ergebnisse solcher zeitaufgelösten Messungen dargestellt.

Ein zweites Verfahren zur Messung der mittleren Laufzeit ist der intensitätsmodulierte Ansatz (frequency-domain). Für diesen Ansatz wird die Intensität des eingestrahlt Lichtes mit einer festen Frequenz, typischerweise um 100-150 MHz⁸, sinusförmig moduliert. Bei Durchwandern des Gewebes verschiebt sich einerseits die Phase ($\delta \Phi$) der Modulationswelle. Weitere Meßparameter sind die

⁷ Für die 'frühen' Photonen kann aufgrund der Meßgeometrie eine maximale Eindringtiefe angenommen werden. So kann etwa ein Photon, das nach der Zeit $t = c / n \cdot d$ den Detektor erreicht, nicht gestreut worden sein. Es kann in der gemessenen Zeit nur den direkten Weg d zwischen Lichtquelle und Detektor zurückgelegt haben (sogenannte ballistische Photonen). Ballistische Photonen stellen im biologischen Gewebe eine für die Messungen irrelevante Ausnahme dar. Während die maximale Eindringtiefe einen oberen Grenzwert darstellt, ist bei den 'späteren' Photonen nur die Wahrscheinlichkeit höher, daß sie auch tiefe Gewebsschichten erreicht haben. Multiple Streuereignisse in den oberen Gewebsschichten oder mehrfache Reflektionen an den makro-anatomischen Strukturen (zum Beispiel im Liquorspalt) können ebenfalls zu einer längeren Verweildauer im Gewebe führen.

⁸ Bei den im Text zusammengefaßten Studien wurde das ISS-Oxymeter (λ : 750, 780, 810 & 830 nm) mit einer Modulationsfrequenz von 110 MHz genutzt.

Änderung der Modulationstiefe (δAC) sowie auch die Gesamtintensität (δDC). Über die Phasenverschiebung läßt sich die mittlere Laufzeit $\langle t \rangle$ bestimmen, während der Parameter δDC der Abschwächung der Lichtintensität (A) entspricht.

$$\delta \langle t \rangle = \delta \Phi / (f_{\text{mod}} * 2\pi)$$

(Gleichung 4)

mit $\delta \Phi$, Phasenverschiebung; f_{mod} , Modulationsfrequenz.

Da nur die Änderung der mittleren Laufzeit ermittelt wird, können im Gegensatz zur TCSPC maximal zwei Schichten differenziert werden. Unter A.3.2. sind Ergebnisse zur Trennung der Transitzeit des Bolus eines optischen Kontrastmittels (ICG, Indocyanin-Grün, Pulsion[®]) durch ein oberflächliches und ein tiefes Kompartiment dargestellt (Kohl et al. 2002). Der Parameter der Modulationstiefe (δAC) beschreibt die ‚Abflachung‘ der Modulationswelle beim Durchwandern des Gewebes. Der Parameter wird in den in dieser Arbeit dargestellten Studien nicht zur weiteren Analyse genutzt.

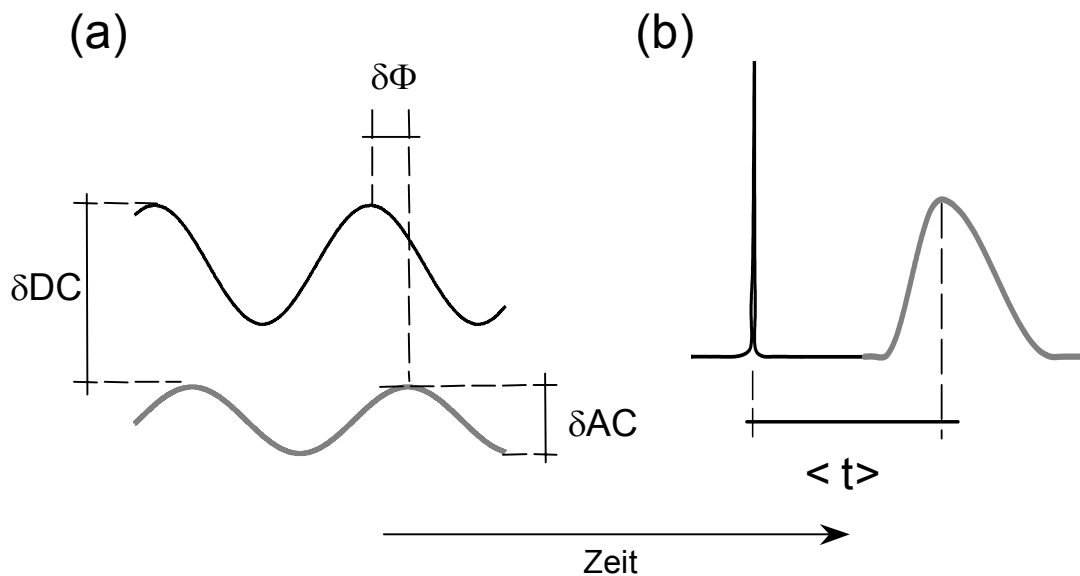


Abb. 5: (vorangehende Seite) Intensitätsmodulierter (a) und zeitaufgelöster Ansatz (b) zur Bestimmung der Verweildauer der Photonen im Gewebe. Für die Bestimmung der Phasenverschiebung ($\delta \Phi$), wird das eingestrahlte Licht mit einer bestimmten Frequenz intensitätsmoduliert. Das detektierte Licht zeigt dieselbe Modulation allerdings mit einer Phasenverschiebung ($\delta \Phi$), die der mittleren Laufzeit ($\langle t \rangle$) proportional ist. Weitere Meßparameter sind die Abflachung der Modulationswelle (δAC) und die Abschwächung der Gesamtintensität (δDC). Beim zeitaufgelösten TCSPC wird ein ultrakurzer Lichtimpuls (wenige ps) ins Gewebe eingestrahlt, die gemessene Verteilung der Laufzeit läßt die mittlere Laufzeit aber auch eine genauere Differenzierung ‚später‘ und ‚früher‘ Photonen zu. (schwarz = eingestrahktes, grau = detektiertes Licht)

Grundsätze der Meßanordnung

Prinzipiell werden die Transmissions- und die Reflektionsmethode unterschieden. Beim Erwachsenen ist die Transmissionsmethode aufgrund der geringen Photonenausbeute nicht durchführbar. Damit beschränkt sich die Darstellung tiefer gelegener Strukturen (Ventrikel) auf Anwendungen beim Neugeborenen, wobei auch in diesem Fall, die Meßzeit lang und die räumliche Auflösung sehr begrenzt ist. Ein bildgebendes System, das nach einem CT-basierten Ansatz tomographische Bilder der oberen Schichten generiert, wurde in einer der hier zusammengefaßten Arbeiten (Benaron et al. 2000) genutzt, um die hämodynamische Antwort bei motorischer Aktivierung beim Erwachsenen zu untersuchen. Die Meßzeiten lagen für eine solche Darstellung des gesamten Kopfumfanges bei mehr als 6 Stunden und erforderten mehrere experimentelle Durchgänge.

Mit der derzeitigen Technologie ist beim Erwachsenen eine Routineanwendung nur im Reflektionsmodus möglich und wird in allen hier dargestellten Studien genutzt. Bei diesem Ansatz wird das Meßvolumen sichelförmig angenommen. Diese Annahme läßt auch eine grobe Tiefendifferenzierung bei Messungen mit verschiedenen Sender-Detektor Abständen ohne zusätzliche Information zur Verweildauer der Photonen im Gewebe zu. Bei kleinen Abständen ist der Beitrag der oberflächlichen Schichten zur gemessenen Gesamtattenuation größer als dies bei größeren Abständen der Fall ist. Die Annahme eines sichelförmigen Meßvolumens wurde allerdings vor allem durch Simulationen im Schichtmodell des Kopfes modifiziert (Okada et al. 1995; Firbank et al. 1998). Das Meßvolumen hat nach den Ergebnissen dieser Studien eher eine flachovale Ausdehnung, bei dessen Geometrie der Liquorspalt als Inhomogenität des Meßvolumens und ‚Lichtkanal‘ für die translationale Ausbreitung der Photonenwolke ein hohe Bedeutung hat (s. Abb. 6). In den hier dargestellten Studien, die mit dem cw-Ansatz (continuous wave, also ohne Zeitauflösung) durchgeführt wurden, wurde ein Probenabstand von 2,5 bis 4 cm genutzt. Die gemessenen Änderungen werden auf den Mittelpunkt zwischen der Emitter und Detektor-Probe bezogen. Dies gilt auch für die Berechnung der Bilder des unter A.4. dargestellten bildgebenden Systems. Zur Frage, ob die Änderungen extra- oder intracerebral stattfinden werden auch physiologische Annahmen herangezogen.

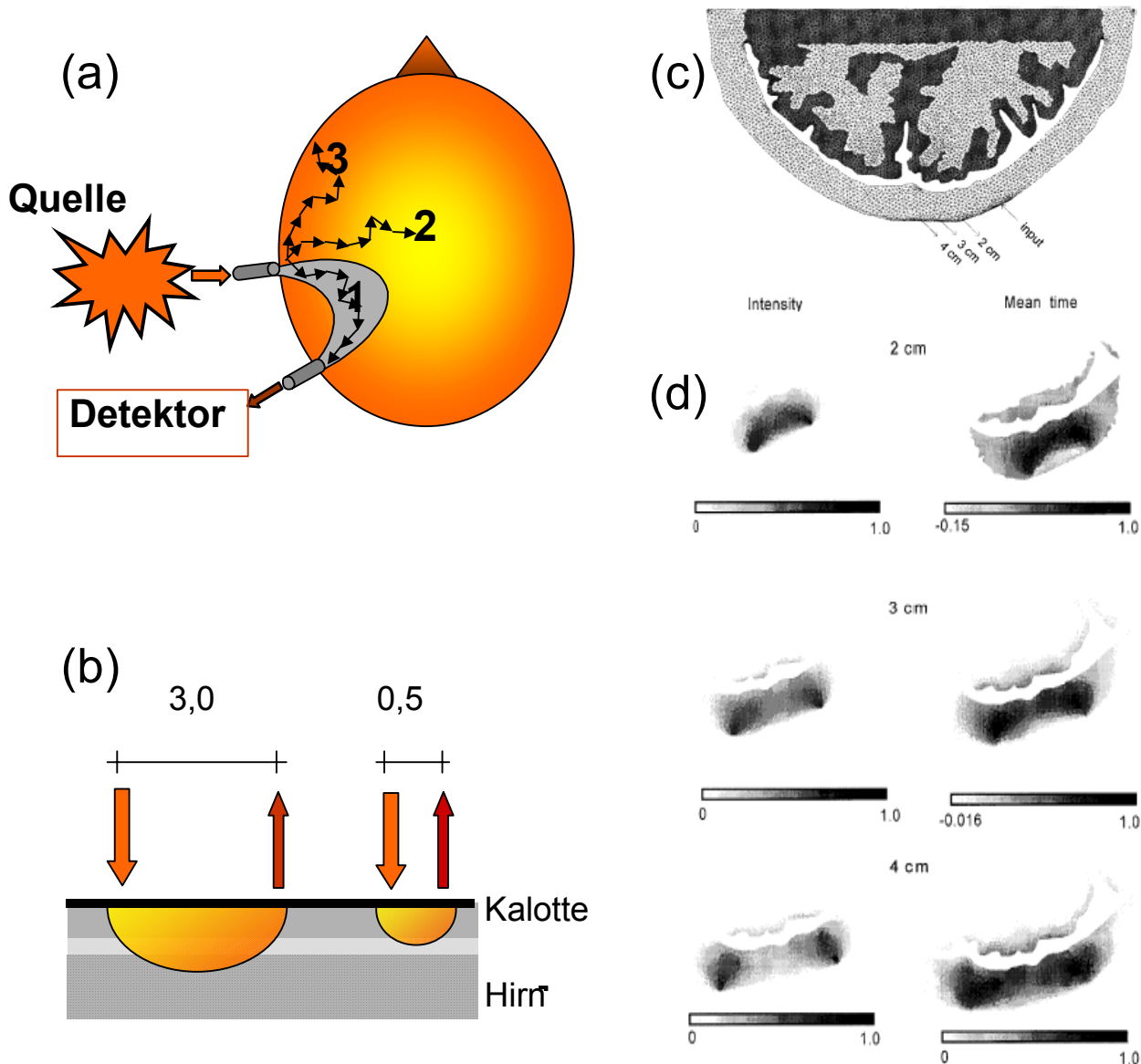


Abb. 6: (a) Skizze der Meßanordnung im Reflektionsmodus am Kopf des Erwachsenen. Das idealisierte Meßvolumen ist grau ‚bananenförmig‘ dargestellt. Die Wahrscheinlichkeit, daß ein detektiertes Photon (Photon 1) einen Weg durch dieses Volumen zurückgelegt hat, ist größer als andere Photonenpfade (Photon 2 oder 3). Die Abbildung (b) skizziert, daß aufgrund unterschiedlicher Abstände zwischen Quelle und Detektor, eine grobe Zuordnung zu verschiedenen Meßvolumina möglich ist. Bei einem kleinen Abstand (0,5 cm) dominieren die Veränderungen der oberflächlichen Schichten die gemessenen Änderungen der optischen Dichte, während bei einem größeren Abstand (2,5 cm und mehr) auch die tieferen Schichten zu den gemessenen Änderungen beitragen. Abbildung (c) zeigt ein realistischeres Kopfmodell mit unterschiedlichen Kompartimenten (Kalotte, Liquorspalt, graue und weiße Substanz). In diesem Modell wurden mit Monte-Carlo-Simulationen die Sensitivitäten für Intensitäts- und zeitaufgelöste Messungen ermittelt. Die Abbildung (d) zeigt die Änderungen der Parameter (Intensität links und $\langle t \rangle$ rechts) bei einem Anstieg von μ_a in verschiedenen Regionen des Meßvolumens. Schwarz bedeutet hohe, weiß geringe Sensitivität ((c) und (d) nach Firbank et al. (Firbank et al. 1998)).

Zusammenfassung der methodischen Ansätze

Mit der NIRS werden Änderungen der optischen Eigenschaften des Gewebes über die Zeit gemessen. Idealerweise ließen sich Streuung (μ_s) und Absorption (μ_a) in verschiedenen Schichten ermitteln. Da eine Trennung beider Parameter im biologischen Gewebe jedoch schwierig ist, basieren die unterschiedlichen Ansätze auf vereinfachenden Annahmen.

Der nicht-zeitaufgelöste Ansatz (continuous wave, cw) nimmt eine konstante Streuung an und bezieht die gemessenen Änderungen der Lichtabschwächung auf Konzentrationsänderungen der Chromophore oxy-Hb, deoxy-Hb und Redoxverschiebungen der Cyt-ox. Die so ermittelten Konzentrationsänderungen werden auf ein homogenes Meßvolumen bezogen, das durch die angenommene Eindringtiefe und die Position der Proben relativ unscharf begrenzt wird.

Die zeitaufgelösten Methoden (time-domain und frequency-domain) liefern neben der Lichtabschwächung Meßwerte zur Verweildauer des Lichtes im Gewebe. Diese wird ähnlich der Lichtabschwächung von Absorption und Streuung beeinflusst. Aufgrund der zusätzlichen Information lassen diese Ansätze aber eine grobe Tiefenauflösung in oberflächliche und tiefe Schichten zu.

Wird bei mehreren Wellenlängen gemessen, kann eine spektroskopische Differenzierung der verschiedenen Chromophore erfolgen. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Annahmen einer konstanten Streuung und eines homogenen Meßvolumens Fehler bezüglich der Quantifizierung der Konzentrationsänderungen und einen Cross-talk zwischen den einzelnen Chromophoren hervorrufen kann.

A.1.: Validierung der Cytochrom-oxidase

Spektroskopisch können Änderungen von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] als ‚robuste‘ Parameter eingeschätzt werden, deren Differenzierung bereits bei geeigneter Wahl zweier diskreter Wellenlängen mit einem geringen prozentualen Fehler gelingt (siehe auch Entwicklung des bildgebenden Systems unter A.4.). Der Nachweis von Änderungen des Redoxzustandes der Cytochrom-oxidase ist hingegen bis heute kontrovers (Cooper et al. 1997; Cooper et al. 1994; Skov and Greisen, 1994; Wickramasinghe et al. 1995). Dies hat eine Reihe von Gründen: (1) Das Differenzspektrum des Enzyms ist im NIR Spektralbereich in vivo im blutfreien Tier bestimmt worden. Trotz einer Ähnlichkeit der Spektren in verschiedenen Spezies (Wray et al. 1988b; Ferrari et al. 1995; Miyake et al. 1991) ist die Übertragung auf den Menschen zunächst hypothetisch. (2) Im NIR Bereich dominiert eines der 4 Redoxzentren des Enzyms, das CuA, die redoxabhängigen Absorptionsdifferenzen, während Redoxänderungen am zweiten Kupferzentrum CuB und an den Häm-a/a₃-Zentren nicht erfaßt werden (Boelens et al. 1982). (3) Die Konzentration des Enzyms ist im Gehirn um einen Faktor

10 geringer als die der Hämoglobine. (4) Als ‚Referenzverfahren‘ zur Plausibilisierung gefundener Redoxänderungen kann derzeit nur die NMR-Spektroskopie Aussagen zur ATP/Pi Relation als Maß für die Stöchiometrie der gesamten oxidativen Phosphorylierung geben (Tsuji et al. 1995; Delpy et al. 1987). (5) Sichere Änderungen des Redoxzustandes sind nur tierexperimentell für pathophysiologisch große Änderungen des O₂-Angebotes im Gewebe beschrieben worden (Springett et al. 2000). Bei physiologischer Aktivierung oder mäßiger pathologischer Alteration, wie sie im Rahmen neurologischer Erkrankungen⁹ zu erwarten ist, muß eher eine Änderung des elektrochemischen Potentials an der Mitochondrienmembran als Ursache der Redoxverschiebung angesehen werden (Brown, 1992; Balaban, 1990). Es liegen jedoch kaum Daten zu dieser Fragestellung vor (LaManna et al. 1987). Gegen diese Schwierigkeiten der sicheren Bestimmung steht der hohe Stellenwert, den ein Parameter des intrazellulären Energiemetabolismus für die Methodik¹⁰ und als Bindeglied zwischen elektrophysiologischer, neuronaler Aktivität und vaskulärer Antwort hat.

Aus den biophysikalischen Gegebenheiten ergibt sich bei der spektroskopischen Bestimmung die Möglichkeit des ‚cross-talks‘. Cross-talk bezeichnet die Tatsache, daß bei falschen Annahmen zur Wellenlängenabhängigkeit des DPF die Änderung in einem Chromophor eine Änderung in einem

⁹ Die Arbeiten bei cardialen Bypass-Operationen (Nollert et al. 2000) dokumentieren sicherlich auch Änderungen, die eine Redoxänderung aufgrund des vaskulären O₂-Angebotes plausibel machen. Die Studien zeigen allerdings, daß die Änderungen des Cyt-ox Redoxzustandes besser mit dem klinisch-neuropsychologischen Outcome der Patienten korrelieren als die vaskulären Parameter der NIRS. Dieses Ergebnis ist für eine potentielle Anwendung des metabolisch-zellulären Parameters von hoher Relevanz. Ohne die Studie in ihrer Wertigkeit zu mindern muß bezüglich der sicheren Zuordnung des Parameters zu den Redoxänderungen der Cyt-ox jedoch angemerkt werden, daß bei globalen Änderungen des Sauerstoffangebotes auch hämodynamische Änderungen auftreten, die das weiter unten thematisierte Phänomen des cross-talks nicht a priori ausschließen. Physikalisch ist weiterhin zu bedenken, daß bei hypoxischen Zuständen davon ausgegangen werden muß, daß die Annahme einer konstanten Streuung aufgrund des Ödems nicht mehr zutrifft. Die Zuordnung gemessener Cyt-Ox Änderungen zu allein zellulär-metabolischen Prozessen bedarf hier einer kritischen Prüfung. Die Studie ist aber ohne Zweifel mit Hinblick auf die potentielle Wertigkeit der Methode für anästhesiologisch-neurologische Fragen des Monitorings ein sehr gutes Beispiel für eine klinisch orientierte Anwendung.

¹⁰ Das Fehlen einer Referenzmethode ist also gleichzeitig eine Chance. Bei der Etablierung der NIRS in der neurophysiologischen Forschung muß methodenkritisch auch die Frage geäußert werden, welchen neuen, zusätzlichen Aspekt die Methode beleuchtet. Im Abschnitt ‚Physiologie‘ zeigen wir, daß eine Reihe essentieller Fragen der neurovaskulären Kopplung mit der Methode untersucht werden können, die der methodisch unabhängigen Prüfung physiologischer Modelle der vaskulär-basierten funktionellen Bildgebungstechniken dienen. Bezüglich funktionell anatomischer Fragestellungen ist die derzeitige räumliche Auflösung jedoch limitierend. Hinweise, daß frühe Komponenten der metabolisch-vaskulären Antwort auch eine lokalisiertere Antwort des Stimulus abbilden sind in der Literatur dargestellt worden (Vanzetta and Grinvald, 2001; Menon et al. 1995). Ähnliche Hinweise auf eine besser lokalisierende Cytochromoxidase Antwort im Vergleich zur vaskulären Antwort ([oxy-Hb] & [deoxyHb]) zeigten sich in einer unserer Studien mit dem mehrkanaligen CCD-Ansatz (Obrig et al. 2000b). Die Etablierung eines nur mit der NIRS darstellbaren, metabolischen Parameters ist also auch für eine Behauptung der Methode von hoher Relevanz.

anderen Chromophor vortäuschen kann. Für die Cytochrom-oxidase besteht also die Frage, ob Änderungen der oxy-Hb und deoxy-Hb Konzentrationen in der spektroskopischen Analyse fälschlich eine Änderung des Cyt-Ox Redoxzustandes als spektroskopischen Fehler hervorrufen (Matcher et al. 1995). Diese Frage ist essentiell mit der Bestimmung der Pfadlänge der Photonen im Gewebe verbunden. Der in der Modifikation des Lambert-Beer'schen Gesetzes eingeführte Faktor DPF ist wellenlängenabhängig (Essenpreis et al. 1993). Entspricht die zur Berechnung angenommene Größe des Faktors im gemessenen Spektralbereich nicht dem realen, individuell variablen DPF, so entsteht eine Verzerrung des bestimmten Attenuationsspektrums. Eine solche Verzerrung führt bei dem Chromophor mit der geringsten Konzentration zu dem größten Fehler. Da die Hypothese einer Änderung des Redoxzustandes der Cytochrom-Oxidase im Rahmen physiologischer Prozesse kontrovers ist, besteht die Möglichkeit, daß der Parameter ein spektroskopisches Artefakt darstellt.

Die ersten zwei dargestellten Studien stellen Advokaten des spektroskopischen Diabolus dar.

A.1.1.: Bestimmung der individuellen Wellenlängenabhängigkeit des DPF aus pulskorrelierten Attenuationsänderungen

(Kohl et al. 1998)*

Wie oben dargestellt, läßt sich der DPF individuell anhand zeitaufgelöster Messungen bestimmen (Duncan et al. 1995). Die zeitaufgelösten Verfahren sind allerdings technisch aufwendiger und erlauben insbesondere keine kontinuierliche Spektroskopie. In den meisten cw-Ansätzen wird daher ein Korrekturfaktor für die Wellenlängenabhängigkeit des DPF angenommen. Eine Differenz zwischen dem angenommenen und dem individuellen DPF bei einer bestimmten Wellenlänge führt zur spektroskopischen Verzerrung und damit potentiell einer Fehlbestimmung der Redoxänderungen der Cytochrom-Oxidase. Die Studie nutzt die durch den Pulsschlag hervorgerufenen Änderungen der Lichtabschwächung und berechnet das individuelle DPF-Spektrum anhand des auch analytisch hergeleiteten (Arridge et al. 1992) Verhältnisses zwischen δA und $\delta \mu_a$:

$$DPF = \frac{\delta A}{\delta \mu_a} * d^{-1}$$

$$DPF(\lambda) \approx \frac{\delta A_p(\lambda)}{\delta \mu_{a_p}(\lambda)} \cong \frac{\delta A_p(\lambda)}{\delta \mu_a(\lambda, S_a)}$$

(Gleichung 5)

mit Index p für die Puls-induzierten Änderungen und S_a als angenommener Sättigung des arteriellen Blutes.

Als physiologische Annahme basieren die Ergebnisse darauf, daß die Attenuationsänderungen im Puls durch den Zustrom arteriellen Blutes hervorgerufen werden. Weiter ist für die Ergebnisse relevant, daß der Pulsschlag keine Änderungen im Redoxstatus der Cyt-ox hervorrufen sollte. Unter diesen Annahmen wird gezeigt, daß (1) die Wellenlängenabhängigkeit des DPF individuell streut, (2) die Berechnung der Konzentrationsänderungen der Chromophore unter Berücksichtigung der individuell berechneten DPF-Abhängigkeit weniger von dem zur Berechnung gewählten Spektralbereich abhängt, (3) daß die berechneten pulskorrelierten Änderungen der Cytochrom-Oxidase unter Berücksichtigung des individuellen DPF-Spektrums kleiner sind als bei herkömmlichen Algorithmen.

Dieses Ergebnis ist für die Frage nach der Validität der [Cyt-ox]-Änderungen wichtig, da die Ergebnisse die Möglichkeit betonen, daß ein spektroskopischer Fehler [Cyt-ox]-Änderungen vortäuscht. Gleichzeitig wird eine Option aufgezeigt¹¹, diesen spektroskopischen Fehler zu minimieren. Bezüglich der physiologischen Annahmen muß die des rein arteriellen Beitrages zum Pulssignal kritisch gesehen werden. Jedoch wird demonstriert, daß in einem Wellenlängenbereich >790 nm die Annahme der Sättigung des einströmenden Blutes kaum Auswirkungen auf das DPF-Spektrum haben.

A.1.2.: Cross-talk im Schichtmodell (Monte Carlo Simulationen)

(Uludag et al. 2001)*

Neben der Wellenlängenabhängigkeit des DPF wurde in einer zweiten Studie eine weitere potentielle Ursache für cross-talk zwischen den Chromophoren untersucht. Die Problemstellung resultiert aus der unphysiologischen Annahme eines homogenen Meßvolumens. Eine solche homogene Änderung der Chromophorenkonzentrationen kann jedoch bestenfalls für systemische Änderungen der Sauerstoffsättigung angenommen werden. Im Rahmen physiologischer oder neurologisch-pathologischer Prozesse interessieren hingegen Änderungen der cerebralen Hämodynamik und des cerebralen Metabolismus. Der Beitrag extracerebraler Änderungen wird in den meisten Untersuchungen als Kontamination der interessierenden Parameter behandelt (siehe auch A.3. zum

¹¹ Eine andere Möglichkeit besteht über die Analyse des 2. Differentials wie sie von Matcher et al. (Cooper et al. 1996) vorgeschlagen wurde und in Exkurs 1 kurz skizziert ist. Um den Wasser- und den deoxy-Hb- ‚peak‘ im zweiten Differential des Spektrums gut beurteilen zu können, ist eine hohe spektroskopische Auflösung notwendig. Die effektive spektrale Auflösung von ~ 20 nm, die sich in unserem CCD-Ansatz als Kompromiß zwischen Signal-Rausch-Verhältnis und Blendenöffnung ergab, beeinträchtigt die Genauigkeit dieses Ansatzes.

Thema Tiefenauflösung). Die grob vereinfachende Annahme hat zwei Konsequenzen. Zum einen werden selektiv cerebrale Konzentrationsänderungen unterschätzt (partial-volume Effekt). Weitaus wichtiger für die Frage nach der Validität des Parameters $\Delta[\text{Cyt-ox}]$ ist jedoch das Phänomen des cross-talks.

Das Vorgehen der Studie bestand darin, zunächst in einer Monte Carlo Simulation die Abhängigkeit des partiellen Pfadlängenfaktors in unterschiedlich tiefen Schichten (bis 18 mm, Schichtdicke 2 mm) von μ_a zu berechnen. Im Schichtmodell wurden dann Änderungen von einzelnen Chromophoren in nur einer Schicht angenommen und mit den im Modell berechneten verglichen. Der so erhaltene cross-talk zwischen den verschiedenen Chromophoren kann prozentual zur induzierten Änderung angegeben werden. Die Studie untersucht verschiedene Modelle mit unterschiedlichen Annahmen zu den optischen Eigenschaften der verschiedenen Schichten. In der Zusammenschau der Ergebnisse resultiert als wichtigstes Ergebnis eine relative ‚Robustheit‘ der beiden vaskulären Parameter $\Delta[\text{oxy-Hb}]$ und $\Delta[\text{deoxy-Hb}]$ gegenüber potentiell cross-talk (bis maximal 10%). Für den Parameter $[\text{Cyt-ox}]$ jedoch lassen sich Änderungen durch cross-talk modellieren, die in der Größenordnung den aus experimentellen Daten beim Erwachsenen berechneten entsprechen. Es ist wichtig zu betonen, daß die Ergebnisse keinen Beweis für das Fehlen von Redox Änderungen des Enzyms bei physiologischen oder lokalisierten cerebralen Prozessen darstellen. Die Argumentation erlaubt nur unter der Annahme, daß physiologisch keine Änderungen auftreten, diese als cross-talk zu modellieren. Unter der Annahme einer real-existierenden Änderung sind die Modellierungen ein Hinweis auf einen Quantifizierungsfehler, der, in je unterschiedlichem Ausmaß, alle bestimmten Konzentrationsänderungen betrifft.

Die beiden vorangehend berichteten Studien zeigen, daß aus biophysikalischer Sicht ein spektroskopischer Fehler den Parameter $[\text{Cyt-ox}]$ potentiell als Auffangbecken der nicht erklärten residualen Lichtabschwächung im modifizierten Lambert-Beer Ansatz demaskiert, wenn eine homogene Änderung der optischen Parameter in einem semi-infiniten, homogenen Medium angenommen wird. Die Kontroverse bezüglich der Validität des NIRS Parameters ($[\text{Cyt-ox}]$) bezieht sich insbesondere auf die Frage, ob das Enzym bei kleinen Änderungen des Zellmetabolismus und der Hämodynamik bereits Redoxänderungen zeigt (Balaban, 1990; Cooper and Springett, 1997). Bezüglich großer Änderungen, etwa bei hypoxischen Zuständen, ist auch der Nachweis einer Korrelation zum ATP/Pi Metabolismus erbracht worden (Tsuiji et al. 1995). Die meisten dieser Studien zeigen also eine Reduktion des Enzyms aufgrund eines O_2 -Mangels im Gewebe. Es wurde argumentiert, daß unter physiologischen Umständen ein solcher O_2 -Mangel nicht auftritt und daher die Cyt-ox vollständig oxidiert sei. Andererseits wurde tierexperimentell nachgewiesen, daß ein Teil der Cytochrom-oxidase in reduzierter Form vorliegt (LaManna et al. 1987; Lockwood et al. 1984) und sich das Redox-Gleichgewicht unter elektrischer Stimulation zur Oxidierung hin verschiebt. Auch gibt es eine Reihe von Studien, die im Tier spontane Änderungen des Redoxverhältnisses von NADH

(Dora and Kovach, 1981; Mayevsky and Ziv, 1991) und Cytochrom-oxidase (Vern et al. 1998; Mayhew et al. 1999) untersuchen¹². Ohne den Beweis für eine Änderung des Redoxzustandes bei funktioneller Aktivierung zu erbringen, zeigen die Studien doch, daß auch unter physiologischen, nicht hypoxischen Bedingungen Änderungen im Redox Zustand des Enzyms plausibel sind. Unter Annahme eines ausreichenden O₂-Angebotes im Gewebe sind elektrochemische Potentialverschiebungen bei unterschiedlichen Aktivierungszuständen der Atmungskette als Ursache der Änderung des Redox-Zustandes am CuA Zentrum des Enzyms anzunehmen (Cooper et al. 1994).

Die beiden folgenden Studien untersuchen in zwei Ansätzen zur funktionellen Aktivierung des visuellen Cortex, die Frage nach dem potentiellen Beitrag der Cyt-ox zu den gemessenen Änderungen der optischen Eigenschaften im cerebralen Gewebe. Diese beiden Studien verfolgen damit einen umgekehrten Ansatz zu den vorangehend beschriebenen theoretischen Ansätzen. Zur Erklärung der bei funktioneller Aktivierung gemessenen Änderung der optischen Eigenschaften wird das Ergebnis der spektroskopischen Analyse unter Annahme einer Cytochrom-Oxidase Redoxänderung verglichen mit der Annahme, daß der Cytochrom-oxidase Redoxzustand nicht zu den gemessenen Änderungen beiträgt. Die zweite Studie vergleicht die unter der Annahme einer Cytochrom-Oxidase Redoxverschiebung berechneten Werte, mit den nach dem oben beschriebenen cross-talk Modell berechneten Werte als cross-talk durch Änderungen von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb]. Es ist erneut zu betonen, daß es sich nicht um einen Beweis handelt, da die jeweilige Modellierung der Antworten aus den Änderungen der gemessenen Parameter immer von einer Grundannahme ausgeht (Existenz / Nichtexistenz der Änderung). Eine Lösung der Kontroverse wird sich nicht allein auf die NIRS bei funktionellen Studien beim Menschen stützen. Invasive Ansätze im Tiermodell sind auch weiterhin notwendig, um spektroskopische Differenzierungen zu validieren.

¹² Diese Untersuchungen wurden mit ‚dual-wavelengths‘ Ansätzen durchgeführt, die im sichtbaren Bereich liegen und damit andere Redoxzentren des Enzyms untersuchen. Die spektroskopische Differenzierung der vaskulären und metabolischen Parameter ist auch in diesen Studien kontrovers.

A.1.3.: Änderungen des Cytochrom-Oxidase Redoxzustandes bei visueller Stimulation des Erwachsenen.

(Heekeren et al. 1999)*

In dieser Studie wurden Probanden mit einem Schachbrettmuster visuell stimuliert (10 Hz, rot-grünes Schachbrett, 10 s Stimulation alternierend mit 30 s Ruhe, 12-30 Durchgänge). Die mit der kontinuierlichen Spektroskopie aufgenommenen Spektren während der Stimulation und während der Ruhephasen wurden gemittelt. Die Differenz stellt die Änderungen der optischen Eigenschaften des Gewebes durch die Aktivierung des visuellen Cortex dar. Anhand des so erhaltenen Spektrums lassen sich nun die Hypothesen zur Frage einer Redoxverschiebung der Cyt-ox prüfen. Dazu wurden mit unterschiedlichen Algorithmen die Konzentrationsänderungen der Chromophore berechnet. Untersucht wurde der Einfluß einer Berücksichtigung verschiedener spektraler Fenster oder diskreter Wellenlängen, die zur Berechnung herangezogen wurden. Weiterhin wurden die unterschiedlichen Algorithmen jeweils unter Berücksichtigung allein der Hämoglobine (2-Komponenten fit) oder unter zusätzlicher Berücksichtigung des Cyt-ox Differenzspektrums (3-Komponenten fit) geprüft. Das wichtigste Ergebnis bezüglich der Validität der Cyt-ox ist, daß die Berücksichtigung des Differenzspektrums im 3-Komponenten fit zu einer deutlichen Reduktion der im 2-Komponenten fit nicht-erklärten, residualen Attenuationsänderungen führt. Da eine Verringerung des Residuals bei einer Erhöhung der Komponentenanzahl von 2 auf 3 mathematisch bedingt sein kann, ist weiterhin wichtig, daß beim 2-Komponenten fit das Residual spektral dem Cyt-ox Differenzspektrum ähnelt, während das Residual bei Berücksichtigung aller 3 Chromophore keine Charakteristika über das Spektrum aufweist. Weitere Argumente für die Zunahme der Oxidierung des Enzyms unter funktioneller Stimulation sind (1) die Tatsache, daß im 2-Komponenten fit bei Analyse des spektralen Fensters von 780-900 nm die deoxy-Hb Konzentration ansteigt, wie es im Rahmen einer funktionellen Stimulation nicht zu erwarten ist (siehe Teil B: Physiologie) (2) der Zeitverlauf der Cyt-ox Redoxänderungen sich von dem der Hämoglobine unterscheidet. Der zweite Punkt wird durch Beobachtungen im Rahmen der Studie zu Oszillationen der cerebralen Oxygenierung ((Obrig et al. 2000a)*, siehe B.3.1.) unterstützt, bei der die berechneten Cyt-ox Veränderungen ein sehr stabiles Baseline- und Antwortverhalten zeigten. Ohne einen letztendlichen Validitätsbeweis darzustellen, läßt sich diese Beobachtung gut mit einer gegenüber systemischen Änderungen der Blutflußparameter (arterieller Blutdruck / Atmung) und Drifts robusten, da konstanten Konzentration des Enzyms im Meßvolumen erklären.

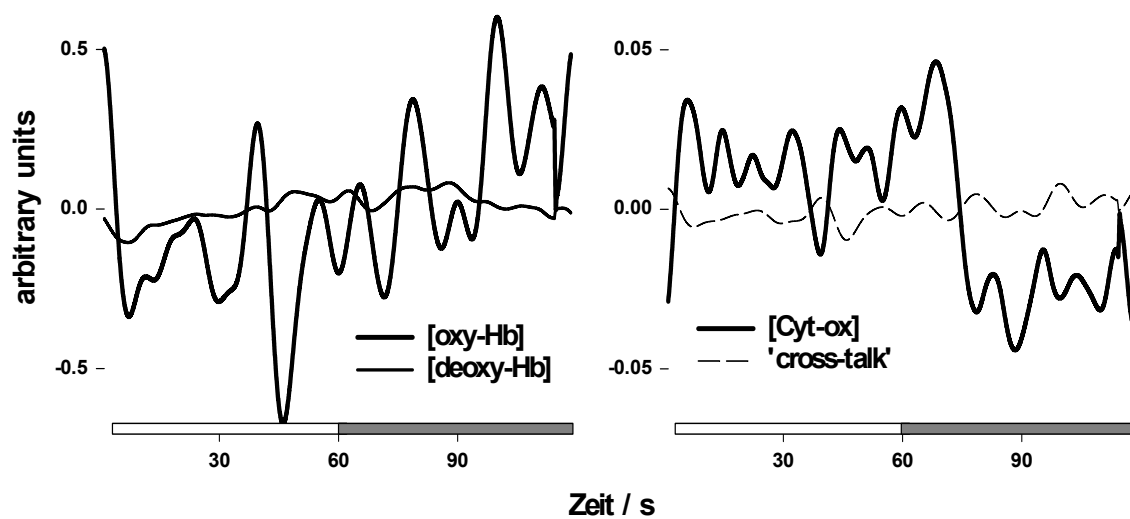


Abb. 7: Vergleich zwischen einem ‚blob‘ (weißer Balken) und ‚interblob‘ (grauer Balken) Stimulus. Während [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] keine klare Differenz zwischen den beiden Stimulusmodalitäten zeigen (links), ist die [Cyt-ox] bei Aktivierung durch den ‚blob‘-Stimulus stärker oxidiert. Dies kann nicht einem spektroskopischen ‚cross talk‘ entsprechen, der in der rechten Abbildung zum Vergleich dargestellt ist (gestrichelt). Skalierung für [Cyt-ox] und ‚cross-talk‘ um Faktor 10 vergrößert.

A.1.4.: Differentielle Aktivierung der ‚blob-/interblob‘ Areale im visuellen Cortex des Erwachsenen.

Zur Zeit führen wir eine weitere Studie zur Validierung des Parameters als Indikator funktionell evozierter Änderungen des mitochondrialen Energiemetabolismus durch. Dazu dient erneut ein physiologisches Modell, das auf der im Makaken beschriebenen Unterscheidung in Cytochrom-reiche ‚blobs‘ und Cytochrom-arme ‚interblobs‘ fußt (Livingstone and Hubel, 1984; Born and Tootell, 1991; Yabuta and Callaway, 1998). Es wurde gezeigt, daß in der Area striata die Cyt-ox-reichen blobs insbesondere Farbinformation (M- und P-pathway), die umgebenden Zellpopulationen (interblobs) jedoch stärker Information zur Form des Stimulus (hauptsächlicher input über den P-pathway) prozessieren. Unsere Hypothese ist, daß bei differentieller Aktivierung der blobs bzw. interblobs unterschiedlich starke Änderungen der Cyt-ox hervorgerufen werden können. Den Versuchspersonen wurden im Wechsel je 30s ein langsam rotierender Stimulus mit hohem Farb-, aber fehlendem Luminanz-Kontrast (blob-Stimulus) und ein schwarz-weißes Schachbrettmuster (interblob-Stimulus) präsentiert. Die bisherigen Ergebnisse lassen die Hypothese zu, daß es Antwortmuster der drei Parameter oxy-Hb, deoxy-Hb und Cyt-ox gibt, die mit einem reinen cross-talk als Ursache der Cyt-ox Änderungen nicht vereinbar sind. Die Abbildung 7 zeigt die beiden Stimuli und das Beispiel einer

Messung, bei der die vaskulären Parameter keine sichere Konzentrationsänderung zeigen, die Cytochrom-Oxidase aber unterschiedlich stark oxidiert ist. Derzeit untersuchen wir, inwiefern sich anhand der Daten und der Ergebnisse der Simulationen (vergleiche A.1.2.) Muster der realen Cytochrom-Oxidase Redoxverschiebungen von cross-talk induzierten Änderungen differenzieren lassen.

A.2.: Fast Optical Signals

Änderungen der optischen Eigenschaften im Gewebe umfassen neben dem Absorptionsverhalten der Chromophore auch Änderungen der Streuung. Solche Änderungen wurden in den bisherigen Ansätzen als Fehlerquelle betrachtet, da die spektroskopische Konzentrationsbestimmung von einer konstanten Streuung ausgeht. Wie bereits erwähnt, sind die Änderungen von μ_s bei einem Anstieg des lokalen Blutfluß wesentlich kleiner als die gleichzeitig auftretenden Änderungen von μ_a . Bei großen Änderungen der Streuung, wie im Rahmen einer ‚cortical spreading depression‘ (CSD) im Tierexperiment gezeigt, sind Attenuationsänderungen jedoch nur dann physiologisch sinnvoll zu erklären, wenn die Streuung berücksichtigt wird. Da μ_s wellenlängenabhängig ist, wurde die Streuung als viertes ‚Chromophor‘ in den Regressionsalgorithmus eingeführt. Das Ergebnis zeigt, daß die Streuänderungen parallel zu den elektrocutikalen Potentialverschiebungen (DC) auftreten (Kohl et al. 1997) (Abbildung 8). Es ist zu betonen, daß in diesem Ansatz nur dann eine verlässliche Zuordnung der Attenuationsänderungen zu Änderungen der Streueigenschaften gelingt, wenn die ‚Chromophore‘ anhand physiologischer Annahmen kalibriert werden (Tod des Versuchtiers im angegebenen Beispiel). Kleine Änderungen, wie sie in vivo beim Erwachsenen unter funktioneller Stimulation zu erwarten sind, potenzieren ähnlich wie im Abschnitt zur Validierung der Cytochrom-Oxidase erläutert das Problem des cross-talks, da nun zwei ‚Chromophore‘ niedriger Konzentration (Cyt-ox und Streuung) in den Algorithmus eingehen.

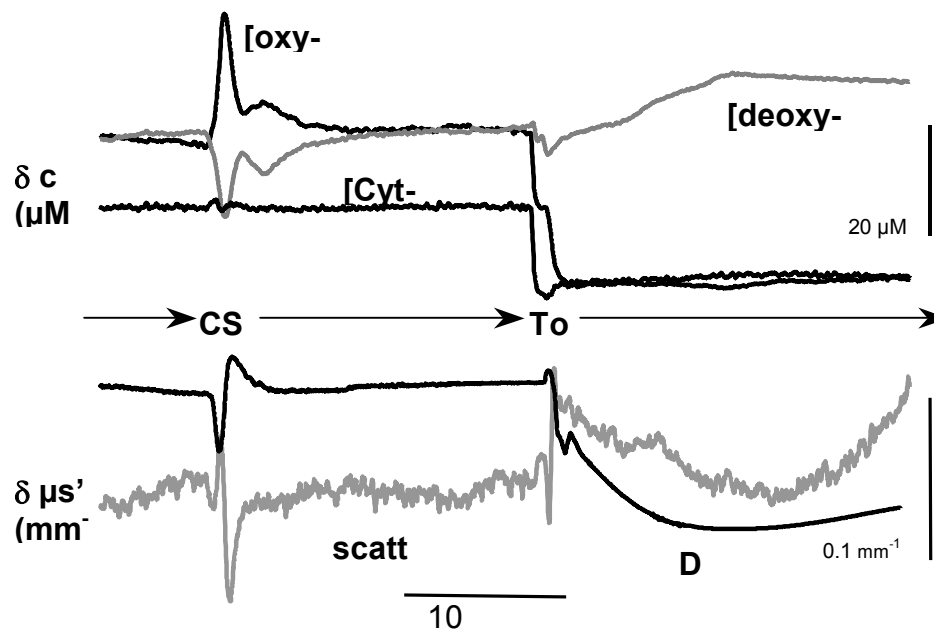


Abb. 8: Die Abbildung zeigt den parallelen Verlauf der Änderungen im Streuverhalten ($\mu s'$) und den gleichzeitig gemessenen DC-Potentialänderungen während einer Cortical Spreading Depression (unten). Die oberen Spuren geben den Verlauf der ‚üblichen‘ NIRS-Parameter wieder ([oxy-Hb], [deoxy-Hb] und [Cyt-ox]). Die Kalibrierung der Meßparameter erfolgt nach physiologischen Annahmen beim Tod des Versuchstiers. Ohne diese Kalibrierung lassen sich die Änderungen des Cyt-ox Redoxzustandes und den berechneten Änderungen von $\mu s'$ nicht sicher trennen. (Kraniales Fenster im Rattenmodell der cortical spreading depression (CSD) (Kohl et al. 1997))

Zur Differenzierung elektrophysiologisch und vaskulär induzierter optischer Änderungen kann jedoch die zeitliche Latenz zum Stimulus genutzt werden. Während die ersten Komponenten evozierter Potentiale Latenzen von 30-100 ms aufweisen, ist die vaskuläre Antwort träger¹³. Für optische Änderungen zeitgleich zu elektrischen Potentialverschiebungen gibt es in der Zelle (Stepnoski et al. 1991), im blutlosen ‚brain-slice‘ (MacVicar and Hochman, 1991) bis hin zur in vivo Darstellung (Rector et al. 1995; Rector et al. 1997b) Evidenz, die unzweifelhaft die Existenz solcher raschen optischen Signale belegt. In diesem Zusammenhang werden Fragen einerseits zum biophysikalischen Ursprung dieser Änderungen und auch zur Differenzierung der in Folge auftretenden Komponenten

¹³ Die Frage nach der Latenz der frühesten Komponenten der metabolisch-vaskulären Antwort wird in der Literatur unter dem Stichwort ‚initial dip‘ diskutiert. Initiale Anstiege der deoxy-Hb Konzentration werden von der Arbeitsgruppe um A. Grinvald (Vanzetta and Grinvald, 2001) berichtet. Eine initiale hochlokalisierte ‚Sauerstoffschuld‘ im aktivierten Areal vor Beginn der hämodynamischen Reaktion, anders formuliert, ein kurzzeitiger ‚mismatch‘ zwischen der Latenz des metabolischen O_2 -Bedarfs und der folgenden, überschießenden Hyperoxygenierung, werden postuliert. In unserer Arbeitsgruppe konnten die Ergebnisse zumindest im Modell der somatosensorischen Stimulation der Ratte nicht reproduziert werden (Kohl et al. 2000). Die Crux steckt erneut in der Spektroskopie und der Frage nach dem DPF bzw. Streuänderungen kurz nach Beginn der Stimulation. Interessanterweise gibt es auch in der Literatur zu frühen Änderungen des BOLD-Kontrastes kontroverse Befunde, hier werden zum Teil ebenfalls ein früher Abfall des BOLD-Kontrastes - entsprechend einem transienten Anstieg des [deoxy-Hb] - berichtet (Duong et al. 2000; Rother et al. 2002; Norris, 2001).

diskutiert. So wurden in einer jüngst erschienenen Studie am Hirnstamm der Ratte bildgebend optische Signale (780 nm in Reflektion) unterschieden: (1) zwei schnelle Komponenten, die zeitlich parallel zum gleichzeitig erhobenen event related potential (ERP) auftreten, (2) eine langsamere, nicht ERP korrelierte Komponente entsprechend der frühen metabolisch-vaskulären Antwort („dip“) oder der langsamen Streuänderung („intrinsic optical signal“) (3) eine tonische, spät auftretende Komponente, die der fokalen Hyperoxygenierung als Basis der Parameter von funktioneller MRT und PET entspricht (Rector et al. 2001).

Das Interesse an den „fast optical signals“ bezüglich nicht-invasiver NIRS Ansätze beim Erwachsenen wurde jedoch durch eine Arbeit der Arbeitsgruppe um G. Gratton geweckt, die die Nachweisbarkeit der event related optical signals (EROS) beim Erwachsenen durch die intakte Kalotte 1995 erstmals beschrieb (Gratton et al. 1995b). Unsere Arbeitsgruppe begleitete die Reihe der aus dieser Arbeitsgruppe folgenden Publikationen (letzte Publikation: (Gratton and Fabiani, 2001)) mit einer Reihe von Versuchen, die diese Ergebnisse reproduzieren sollten. Dies ist bisher mit unterschiedlichsten Ansätzen inklusive des von Gratton und Mitarbeitern genutzten nicht gelungen. In den folgenden Abschnitten werden statt der – negativen – Ergebnisse der physiologisch basalen Stimulationsmodelle (visuell und somatosensorisch evozierte Potentiale) die potentiellen Gründe für die fehlende Bestätigung der EROS durch unsere, und andere Gruppen dargestellt. Es ist erneut zu betonen, daß dies eine Diskussion des Signal-Rausch-Verhältnisses ist und nicht die Existenz rascher optischer Veränderungen parallel zu elektrophysiologischen Potentialverschiebungen im neuronalen Gewebe tangiert.

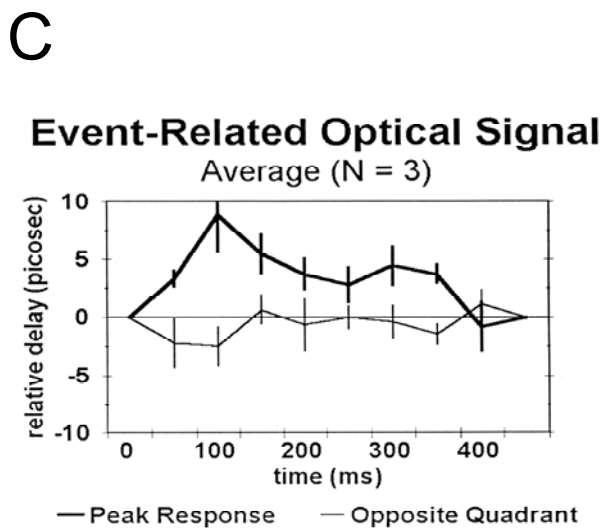
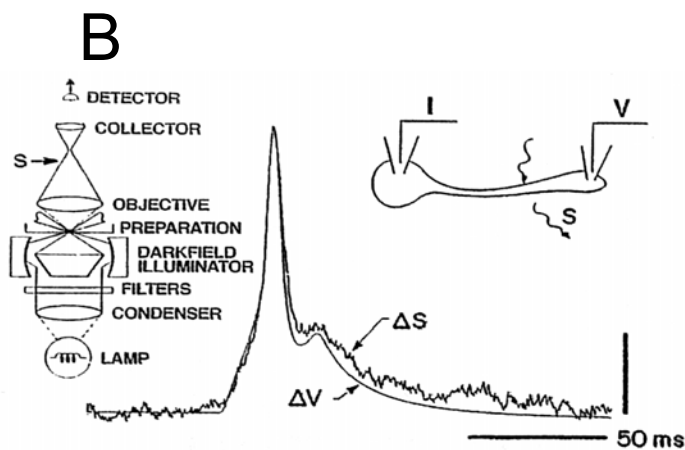
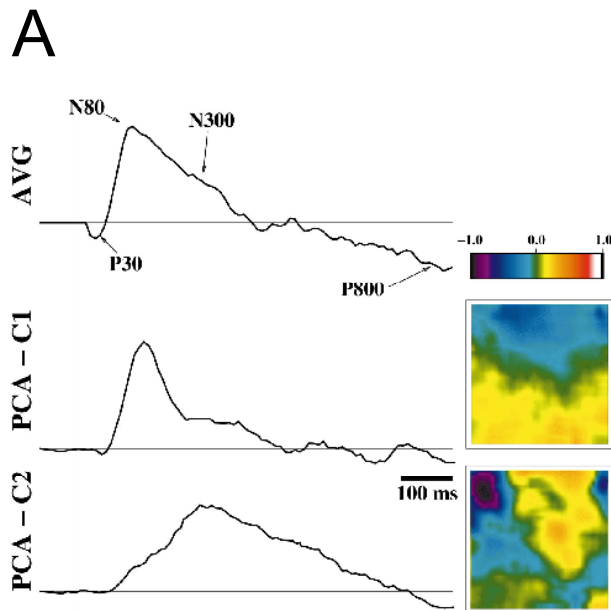


Abb. 9a Rector und Ko-Autoren (Rector et al. 2001) demonstrieren in einem rezenten Papier eindrucksvoll die Lokalisation und Differenzierung unterschiedlicher früher Komponenten der optischen Änderungen in einem stimulierten Areal (Auflicht, 780nm, CCD-Kamera. Dargestellt ist der Tractus solitarius im Hirnstamm der Ratte bei N. vagus-Stimulation). Im Average (AVG) zeigen sich unterschiedliche Komponenten, die in einer Principal Component Analyse (PCA) in Komponenten der mutmaßlich neuronalen (C1=N80) und mutmaßlich vaskulär-metabolischen (C2=N300) Antwort auch räumlich getrennt werden konnten. Die späteste Deflektion im AVG (P800) entspricht dem Beginn der ‚klassischen‘ vaskulären Hyperoxygenierung.

Abb.9b: Daß die frühen optischen Signale im eröffneten Cortex Änderungen der elektrophysiologischen Änderungen entsprechen, gründet sich auch auf die Untersuchungen am isolierten Neuron. Stepnoski und Ko-Autoren beschreiben solche Änderungen am isolierten Neuron der Meeresschnecke Aplysia (Stepnoski et al. 1991). (Dunkelfeldmikroskopie; ΔV , Änderung des Potentials; ΔS , Änderung der Streueigenschaften, Skizze oben zeigt die Messung der elektrophysiologischen und optischen Änderungen)

Abb.9c: Schnelles optisches Signal, nicht-invasiv beim Erwachsenen gemessen (Gratton et al. 1995b). Die gemessene Änderung der Phasenverschiebung wurde in die mittlere Laufzeit der Photonen in ps umgerechnet. Bei visueller Quadranten-Stimulation zeigen sich über dem contralateralen Occipitalpol Änderungen von $\langle \tau \rangle$, die in der Latenz, denen des VEP entsprechen (P100-Komponente).

A.2.1.: Abschätzung der Effektgröße

(Syré et al. 2000)

Ausgehend von den in einer Publikation von Rector et al. (Rector et al. 1997a) beschriebenen Änderungen der Reflektion wurde in einer Monte Carlo Simulation die korrespondierende Änderung von μ_s approximiert. Aus dieser Abschätzung resultiert eine Änderung von 0,1 % im neuronal aktivierten Areal. Der so erhaltene Wert diente als Annahme für eine weitere MC-Simulation im Schichtmodell des Kopfes nach Okada et al. (Okada et al. 1997). Bei Annahme einer Änderung von μ_s um 0,1% im Cortex und einem Probenabstand von 3 cm an der Kopfoberfläche, resultiert eine Änderung der mittleren Photonenlaufzeit von 0,01 ps. In der Simulation läßt sich neben der Änderung der mittleren Laufzeit ($\delta \langle t \rangle$) auch die erwartete Änderung der Intensität abschätzen, die für die genannten Annahmen bei 0,02 % resultiert. Damit liegen die aus der Approximation erwarteten Werte der mittleren Laufzeitänderung um 3 Größenordnungen unter den in den ersten Publikationen von Gratton et al. angegebenen (Gratton et al. 1995), in denen Änderungen von 10 ps berichtet werden. Auch liegen sie unterhalb der Sensitivität des genutzten Gerätes und erklären damit potentiell, warum der Nachweis im analogen Aufbau nicht gelang.

A.2.2.: Parameter-Selektion: Intensität versus Phase

(Steinbrink et al. 2001a)*

Die Publikationen aus der Gruppe von G. Gratton beschreiben die Änderungen allein in der mittleren Laufzeit bzw. Phase (konvertierbar nach Gleichung 4) (Gratton et al. 1995b; Gratton and Fabiani, 2001; Gratton et al. 1997a; Gratton et al. 1997b; Gratton et al. 1997c; Gratton et al. 1995; Gratton et al. 1994; Gratton et al. 2000). Eine Änderung von μ_s in einer tieferen Schicht führt jedoch auch zu einer Änderung der an der Kopfoberfläche gemessenen Intensität (siehe auch Abbildung 6c & 6d). Bei der oben beschriebenen Simulation ergab sich eine erwartete Änderung um 0,02 % der Gesamtintensität unter Annahme einer μ_s -Änderung von 0,1% im Cortex. Die Frage, welcher der beiden Parameter sensitiver ist, muß berücksichtigen, daß die Laufzeit sensitiver für Änderungen in tieferen Gewebeschichten ist (Abb. 6c & 6d) (Firbank et al. 1998). Andererseits ist das technisch bedingte Rauschen für den Parameter $\delta \langle t \rangle$ höher. Schließlich läßt sich für eine nicht intensitätsmodulierte Lichtquelle das Signal-Rausch-Verhältnis relativ gut durch eine höhere eingestrahlte Intensität steigern. Für eine Abschätzung sind auch physiologische Rauschquellen zu berücksichtigen, da sowohl Puls-korrelierte Änderungen als auch Bewegungsartefakte, jeweils unterschiedlich stark, die beiden Parameter beeinflussen. Ein Modell zur Abschätzung dieser Einflußgrößen muß sehr viele Annahmen machen, daher wurde von unserer Gruppe ein set-up

experimentell geprüft, das eine sehr starke Lichtquelle im cw-Modus nutzt, um Änderungen der Intensität bei sehr geringem technisch bedingten Rauschen zu untersuchen. Die Ergebnisse zeigten bei somatosensorischer Stimulation (analog zur klinischen Routine der Medianus SSEPs) eine Änderung der Intensität um 0,07 % mit Latenzen von 40-160 ms nach dem Reiz. Diese Antwort ließ sich lokalisiert und reproduzierbar über der Zentralregion (C3 nach dem 10-20 System) in 6 Probanden nachweisen. Ein Nachweis über der Occipitalregion bei visueller Stimulation (analog zum klinisch bekannten VEP) gelang nicht.

A.2.3.: Pulsschlagartefakte / Bewegungsartefakte

In der Folge entwickelten wir eine Reihe unterschiedlicher methodischer Aufbauten, die auf diesen Ergebnissen basieren, hohe Intensitäten und zum Teil mehrere Detektoren nutzen, und wandten sie bei verschiedenen Stimulationsmodellen an. Ziel war es, ein lokalisiertes Signal mit kurzer Latenz zum Stimulus darzustellen, das nach physiologischen Kriterien sicher von Bewegungsartefakten und Pulsartefakten zu trennen ist. Bezüglich der somatosensorischen Stimulation ergab sich hierbei eine Skepsis bezüglich der oben geschilderten positiven Ergebnisse, da bei vergleichender ipsi- und contralateraler Reizung keine sichere Differenz über der lateralen Zentralregion gefunden werden konnte, und die Stimulation einzelner Finger zu keiner reproduzierbaren Antwort führte. Ein Bewegungsartefakt kann somit in einem Teil der Messungen nicht sicher ausgeschlossen werden. Bei visueller Stimulation ließen sich in einigen Probanden Änderungen mit der erwarteten Latenz nachweisen, die jedoch entweder auch während der Ruhephasen, teils aber auch unter allen Detektoren mit gleicher Größe zu detektieren waren. Bei Analyse des Frequenzspektrums der gemessenen Daten zeigt sich, daß der Puls bis zur 4. Harmonischen (um 4Hz) deutlich das Signal beeinflusst. Ein Pulsartefakt ist so eine plausible Erklärung für die gefundenen ‚Antworten‘, die einer kritischen Prüfung anhand physiologischer Plausibilität nicht standhalten. Die Reduktion des Pulssignals durch Filter in Analogie zu dem durch Gratton und Corballis (Gratton and Corballis, 1995a) vorgeschlagenen und Erweiterungen dieses Ansatzes führten ebenfalls nicht zu einer verlässlichen Detektion einer Signaländerung, die als ereignis- und potential-korreliertes, schnelles optisches Signal gewertet werden kann.

Zusammenfassung

Unsere derzeitige Einschätzung bezüglich der Validität nicht-invasiv gemessener ereignis- und potential-korrelierter, schneller optischer Signale ist, daß allenfalls bei deutlicher Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses ein solches ‚fast optical signal‘ nachgewiesen werden kann. Bei bisher fehlender Reproduktion der Ergebnisse, die von der Gruppe um G. Gratton publiziert wurden, durch unsere und auch durch andere Gruppen, resultiert eine deutliche Skepsis. Es sollte betont werden, daß nicht die Existenz der ‚fast optical signals‘, sondern allein deren transkranielle Nachweisbarkeit beim

Erwachsenen mit den derzeitigen Verfahren bezweifelt wird. Aufgrund der Befunde mit den verschiedenen methodischen Ansätze halten wir einen entscheidenden Schritt in der technologischen Weiterentwicklung für die wichtigste Voraussetzung, um die schnellen optischen Signale auch für die nicht invasive NIRS reliabel und in einem relevanten Anteil der untersuchten Probanden zugänglich zu machen. Derzeit erscheint uns zur Untersuchung der neurovaskulären Kopplung der unten beschriebene Ansatz mit einer Kombination von NIRS und EEG der sinnvollere Ansatz.

A.3.: Tiefenauflösung

Wie bereits mehrfach erwähnt, ist bei der Anwendung der NIRS am adulten Kopf die Frage nach der Differenzierung extra- und intrakranieller Beiträge zu den gemessenen optischen Änderungen von essentieller Bedeutung. Es liegen eine Reihe theoretischer Approximationen der Eindringtiefe, sowie Abschätzungen der Sensitivität für verschiedene Kompartimente vor (Firbank et al. 1998; Okada et al. 1995; Okada et al. 1997; Liu et al. 1995). Während die Ergebnisse der Studien zeigen, daß bei genügend großem Probenabstand cerebrale Änderungen der optischen Eigenschaften detektiert werden, kann der umgekehrte Schluß, daß alle gemessenen Änderungen cerebralen Ursprungs sind, nicht gezogen werden. Stimulationskorrelierte Änderungen der systemischen Hämodynamik (Puls / Blutdruck) bilden sich in der NIRS ab, ohne daß eine Zuordnung zum extra- bzw. intracerebralen Anteil des Meßvolumens a priori möglich ist. In Teil B der vorliegenden Arbeit wird geschildert, wie das experimentelle Protokoll und die gefundenen Muster der Oxygenierungsänderungen zu einer Zuordnung zu lokalen kortikalen Blutflußänderungen beitragen. In den folgenden zwei Studien wird gezeigt, wie eine Tiefenauflösung mit zeitaufgelösten Verfahren erreicht werden kann und so eine grobe Trennung der intra- und extracerebralen hämodynamischen Änderungen erlaubt.

A.3.1.: Bestimmung der Absorptionsänderungen in einem Schichtmodell des Kopfes

(Steinbrink et al. 2001b)*

Photonen mit sehr kurzer Flugzeit zwischen Lichtquelle und Detektor können maximal bis in eine bestimmte Tiefe vorgedrungen sein, während für ‚späte Photonen‘ die Wahrscheinlichkeit steigt, einen Teil des Pfades in tieferen Schichten des Gewebes zurückgelegt zu haben. Aus dieser Gegebenheit leitet sich die Frage ab, inwiefern zeitaufgelöste Messungen (TCSPC, siehe Exkurs 1) die Differenzierung kleiner Absorptionsänderungen in oberflächlichen und tieferen Schichten zulassen. Ausgehend vom Konzept einer zeitabhängigen mittleren partiellen Pfadlänge (TMPP) wurden in einer Monte Carlo Simulation diese Werte für ein Schichtmodell berechnet. Es zeigt sich, daß Änderungen der Absorption in oberflächlichen Schichten zu keiner wesentlichen Änderung des TMPP für ‚frühe‘

und ‚späte‘ Photonen führt. Findet die Änderung jedoch in tiefen Schichten statt, so werden die späten Photonen deutlicher attenuiert als die frühen, was in einer Zunahme des TMPP für die späten Photonen resultiert. Im Phantom ließ sich zeigen, daß bei Änderung von μ_a in der unteren Schicht mit diesem Modell die Stärke der oberen Schicht bestimmt werden kann. Werden 3 Schichten angenommen, lassen sich im Modell nur dann μ_a Änderungen berechnen, wenn die Stärken der Schichten bekannt sind. Zur Frage der Anwendung am Kopf des Erwachsenen wurden Messungen über der lateralen Zentralregion bei contralateraler motorischer Stimulation mit Messungen bei einem Valsalva-Manöver verglichen. Die Änderungen durch das Valsalva-Manöver lassen sich im Modell auf die Änderungen in oberflächlichen Schichten beziehen, während für die Änderungen im Rahmen der motorischen Stimulation in einer Schicht von etwa 10 mm Tiefe am größten sind. Diese Zuordnung entspricht den in den beiden physiologischen Modellen erwarteten Änderungen und liefert die Validierung der theoretisch hergeleiteten Tiefenauflösung. Da bei 805 nm, nahe dem isobestischen Punkt der Hämoglobine, gemessen wurde, läßt sich die Gesamt-Hämoglobin Konzentrationsänderung quantifizieren. Diese berechnet sich in der Schicht der größten Veränderung zu 1,1 μM , während unter Annahme einer homogenen Änderung ein $\Delta[\text{tot-Hb}]$ von 0,46 μM resultiert. Dies illustriert den ‚partial volume effect‘ bei Messungen ohne Tiefenauflösung.

A.3.2.: Differenzierung des extra- und intracerebralen Blutflusses anhand eines Farbstoff- Bolus.

(Kohl et al. 2002)

Wie in der vorangehenden Untersuchung gezeigt, erlauben zeitaufgelöste Messungen eine grobe Tiefenauflösung. Nachteile sind die aufwendige Technik, die zwar grundsätzlich in portablem Format herstellbar ist, aber technisch aufgrund der Laserinstabilität relativ stör anfällig ist. Eine einfache, kommerziell erhältliche Alternative bietet der intensitätsmodulierte Ansatz, der neben der Attenuation (δDC entsprechend δOD) über die Phasenverschiebung der Modulationswelle ($\delta \Phi$) auch einen Meßwert für die mittlere Laufzeit $\langle t \rangle$ liefert (siehe Exkurs 1). Analog zum zeitaufgelösten Ansatz erfolgt die Differenzierung in eine oberflächliche und eine tiefere Schicht über die unterschiedliche Tiefensensitivität der Intensitäts- und der Phasenänderungen im Schichtmodell. Unter Annahme unterschiedlicher Sensitivitätsfaktoren für die obere (l_{up} , m_{up}) und die tiefere Schicht (l_{low} , m_{low}) bezüglich der beiden Meßparameter läßt sich das Gleichungssystem:

$$\begin{aligned}\delta A &= l_{low} * \delta \mu_{a,low} + l_{up} * \delta \mu_{a,up} \\ \delta \langle t \rangle &= m_{low} * \delta \mu_{a,low} + m_{up} * \delta \mu_{a,up}\end{aligned}$$

(Gleichung 6)

nach Absorptionsänderungen in der oberen ($\delta \mu_{a,up}$) und tieferen Schicht ($\delta \mu_{a,low}$) lösen. Die Sensitivitätsprofile lassen sich in einer MC-Simulation (siehe A.1.2. zum Thema cross-talk) für verschiedene Schichtdicken der oberen Schicht berechnen. Wird nun ein Bolus des NIRS-Kontrastmittels IndoCyaninGrün (ICG, Pulsion®) gegeben, so läßt sich die Passage des Bolus durch ein oberes und ein unteres Kompartiment modellieren. Die Latenz und Form der Boli sind vom extra- und intracerebralen Blutfluß abhängig. Im Experiment konnte gezeigt werden, daß (1) die Variation der angenommenen oberflächlichen Schichtdicke quantitativ, nicht aber qualitativ die Ergebnisse beeinflusst; (2) der intracerebrale Bolus früher das Meßvolumen erreicht und rascher ausgewaschen wird; (3) diese Unterschiede in der Form des Bolus gut mit dem Durchgang eines Gadolinium-Bolus in der MRT korrelieren, wenn cerebrale und extracerebrale Pixel im Zeitverlauf dargestellt werden.

Die Ergebnisse zeigen, daß mit der NIRS mit einem kommerziell erhältlichen Monitor am Krankenbett ein der MTT (mean transit time) vergleichbarer Parameter erhoben werden kann. Die Latenz des extracerebralen Bolus kann hier als Referenz bei Alterationen der cerebralen Durchblutung genutzt werden. Im letzten Abschnitt der vorliegenden Arbeit wird eine potentielle klinische Anwendung des ICG-Bolus-Ansatzes bei Patienten mit einer cerebralen Ischämie skizziert, der statt des frequency-domain monitors das in der Gruppe entwickelte bildgebende System nutzt. Da sich eine Korrelation mit einer – etwa bei Aufnahme eines Patienten durchgeführten - Perfusionssmessung in der MRT erlaubt, kann die NIRS den Stellenwert eines kontinuierlichen follow-up Monitorings am Krankenbett erlangen. Dies erscheint eine aussichtsreiche Anwendung im Rahmen akuter cerebraler Ischämien.

A.4.: Bildgebung

Soll die cerebrale vaskulär-metabolische Antwort auf eine funktionelle Stimulation dargestellt werden, ist neben der Differenzierung intra- und extracerebraler Änderungen der gemessenen Parameter eine lokalisierte Antwort zu erwarten. Physiologisch ist die hohe räumliche Korrelation zwischen der neuronalen und vaskulären Antwort als ein Aspekt der neuro-vaskulären Kopplung die Basis aller vaskulär-basierten, funktionell bildgebenden Techniken. In den vorangehend dargestellten Studien bezogen wir uns jedoch meist auf Messungen der optischen Parameter im Meßvolumen zwischen nur einer Quell- und einer Detektor-Probe. Um auch mit der NIRS kortikal topographische Information über die Lokalisation der gemessenen Änderungen zu erzielen, läßt sich dieser Ansatz multiplizieren. Im Rahmen des CCD-Ansatzes werden in den in Teil B dargestellten physiologischen Experimenten bis zu vier Kanäle gleichzeitig genutzt (Obrig et al. 2000b)*. Der Schritt zur ‚Bildgebung‘ ist analog zum Oberflächen-EEG zunächst ein quantitativer. Durch entsprechende Wahl des Proben-Arrays und bei geeigneter Datenanalyse lassen sich Bilder potentiell der gesamten Kopfoberfläche generieren. Jedoch sind auch die Erweiterungen der Technologie (frequency-domain oder time-domain), aber auch

komplexere Bildrekonstruktionsalgorithmen anwendbar. Spektrale Auflösung, Anzahl der Proben, die Registrierung zusätzlicher Laufzeit-Parameter, sowie die Intensität der Quellen und Sensitivität der Detektoren bestimmen die Qualität eines bildgebenden Systems (Watanabe et al. 1998; Nioka et al. 1997; Miyai et al. 2001; Hintz et al. 2001). Sollen in einem Auswertalgorithmus mehr als die Informationen aus einfach benachbarten Quell-Detektorpaaren eingehen, erhöht sich auch die Meßzeit, um ein ausreichendes Signal-Rausch Verhältnis zu erreichen (Benaron et al. 2000). Alternativen zum modifizierten Lambert-Beer Ansatz wurden vorgeschlagen, die auf der Grundlage von komplexeren Rekonstruktionsalgorithmen Änderungen der kortikalen Oxygenierung darstellen (Boas et al. 2001). Die erste Generation der Systeme hat bewiesen, daß mit der topographischen Information lokalisierte Änderungen der kortikalen Oxygenierung in primären und sekundären kortikalen Arealen verschiedener funktioneller Systeme nachgewiesen werden können. Auch bietet bei der Anwendung bei Patienten die Fokalität einer pathologischen Alteration der Parameter die Möglichkeit, diese mit erhobenen morphologischen Veränderungen im cCT oder der cMRT grob zu korrelieren. Bei ausreichendem finanziellem und technischem Aufwand ist es realistisch, in den nächsten Jahren portable Systeme zu erwarten, die ein Bild der kortikalen Oxygenierungsänderungen mit einer groben Tiefenauflösung (extra- vs. intrakraniell) liefern.

Das in unserer Gruppe entwickelte System besteht aus 8 Quell- und 7 Detektor-Proben. Zur Differenzierung der zwei Wellenlängen und der unterschiedlichen Meßpositionen werden die einzelnen Quellpositionen und die beiden Wellenlängen nacheinander geschaltet. Die maximale Sampling-Frequenz (f) errechnet sich daher aus der Anzahl der Quellen (n_Q) und Wellenlängen (n_λ) sowie der Anschaltzeit der Quellen (T):

$$f = (n_Q * n_\lambda * T)^{-1}$$

(Gleichung 7)

Die Frequenz kann erhöht werden, wenn davon ausgegangen wird, daß ein Detektor, der mehr als den doppelten Abstand (also 5 cm bei einem Probenabstand von 2,5 cm) zu einer Quelle hat, kaum Photonen von dieser Quelle detektiert. Das System läßt sich über die Steuerungs-Software flexibel verschiedenen Meßanordnungen anpassen. Eine typische Meßanordnung über einem 5 x 10 cm großen Areal zeigt die Abbildung 10. Die Auswertung erfolgt nach dem modifizierten Lambert-Beer Ansatz, zur weiteren Daten-Analyse wurden verschiedene statistische Verfahren in einem Auswertepaket zusammengestellt. Abb. 10 zeigt auch die Ergebnisse bei einer contralateralen motorischen Stimulation (Opposition des Daumens mit den anderen Fingern der Hand). Das Bild demonstriert die Fokalität der Antwort, während der Zeitverlauf im Fokus einen Anstieg des [oxy-Hb] bei gleichzeitigem Abfall des [deoxy-Hb] zeigt. Wie in Teil B der vorliegenden Arbeit hergeleitet wird, ist dies das typische Muster der NIRS-Parameter als Korrelat einer kortikalen vaskulären Antwort. Bisher

wurden visuelle und motorische Paradigmen untersucht. Zur Perfusionsmessung bei akuten Ischämie-Patienten wurde das bildgebende System weiterhin bei Gabe eines Kontrastmittel-Bolus (ICG-Pulsion[®]) angewandt. Die räumliche Auflösung erlaubt eine grobe topographische Differenzierung der Perfusion: unter der Annahme einer relativ homogenen Perfusion des extracerebralen Gewebes können fokale Differenzen der Bolus-Form und Bolus-Latenz auf fokale Differenzen der cerebralen Perfusion bezogen werden. (In Analogie zu dem unter A.3.2. dargestellten Ansatz dient hier der Vergleich unterschiedlicher Areale als Referenz, während der oben geschilderte Ansatz die oberflächlichen Schichten als Referenz nutzen kann. Eine Kombination des intensitätsmodulierten und bildgebenden Ansatzes wird angestrebt.)

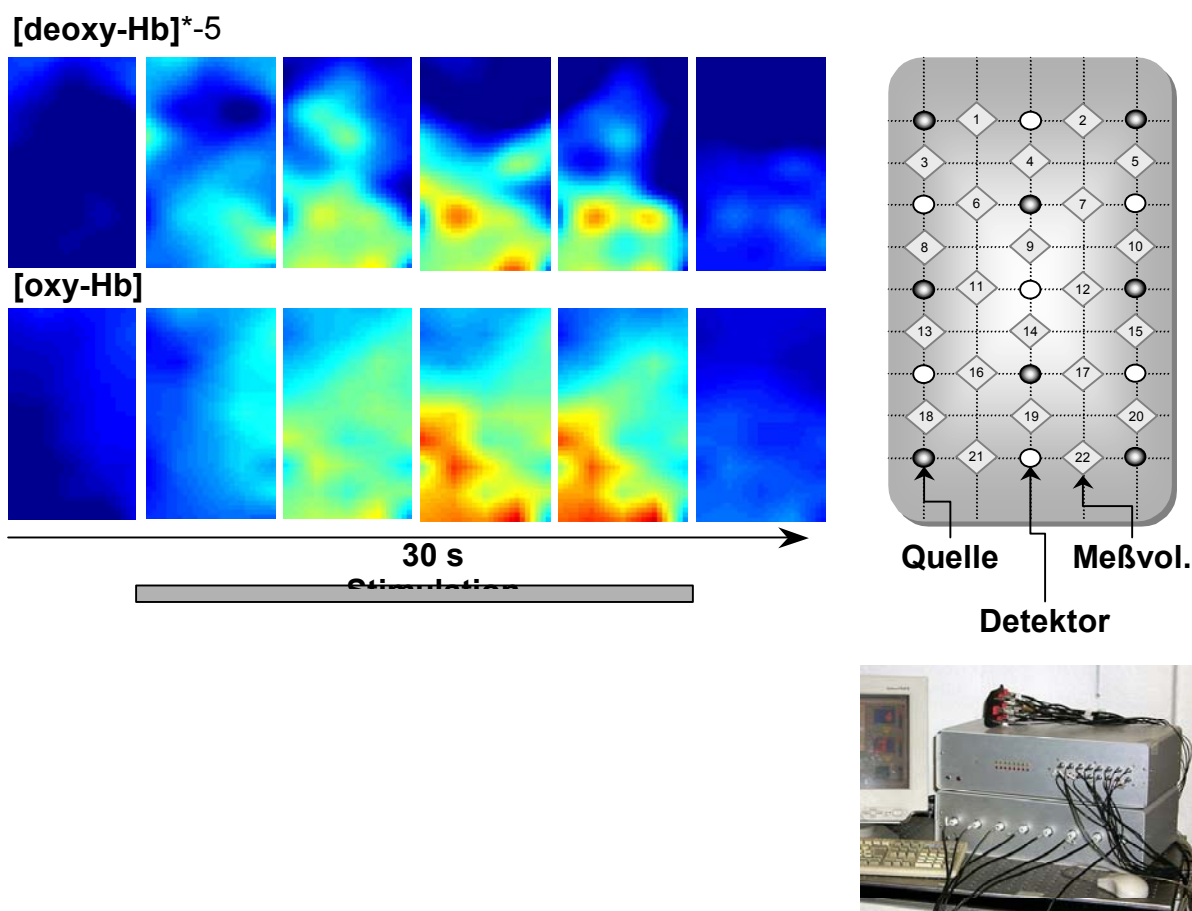


Abb. 10: Bildgebendes cw-System, das in unserer Arbeitsgruppe entwickelt wurde. Unten rechts: Abbildung der Sender und Detektor-Module sowie des Probenkopfes. Die Schaltung und Anordnung der 8 Quell- und 7 Detektor Proben ist flexibel. Eine Anordnung in einem 5*10 cm großen Pad ist oben rechts dargestellt; es ergeben sich 22 mögliche Quell-Detektor-Kombinationen, denen je ein Meßvolumen zugeordnet ist. Die farbige Darstellung zeigt die Änderungen des [deoxy-Hb] und [oxy-Hb] im Verlauf einer 30 s dauernden Fingeroppositionsaufgabe. Das Pad wurde über der contralateralen Zentralregion angebracht. Die [deoxy-Hb] Werte wurden mit -5 multipliziert, Rottöne zeigen somit einen Anstieg des [oxy-Hb] und einen Abfall des [deoxy-Hb], entsprechend der erwarteten Antwort über einem funktionell aktivierten corticalen Areal.

Methodik: Zusammenfassung und Ausblick

Seit 1949 (Hill and Keynes, 1949) ist bekannt, daß Änderungen der optischen Eigenschaften im cerebralen Gewebe physiologische Prozesse der cerebralen Funktion reflektieren. 50 Jahre später erlauben optische Methoden mit exzellenter räumlicher und zeitlicher Auflösung die Darstellung und Differenzierung elektrophysiologischer, metabolischer und vaskulärer Prozesse am freigelegten cerebralen Cortex. Die nicht-invasive Anwendung ist im nahinfraroten spektralen Fenster möglich und wurde Ende der 70er Jahre erstmalig von Jöbsis beschrieben (Jobsis, 1977). Ende der 80er Jahre wurden die ersten kommerziellen Monitore entwickelt (Cope and Delpy, 1988), während in den letzten Jahren nicht-invasive optische Bildgebung und die Entwicklung zeitaufgelöster Systeme, die zusätzliche Information zur Tiefenauflösung und Quantifizierung der gemessenen Änderungen erlauben, den Fokus der technologischen Entwicklung darstellen. Die Frage, inwiefern die Methodik in den nächsten Jahren den Platz in neurophysiologischer Forschung und in der Anwendung in der Neurologie behaupten wird, hängt nach unserer Einschätzung auf methodischer Ebene von 3 Faktoren ab.

Lassen sich zusätzlich zu vaskulären auch metabolische und gegebenenfalls sogar elektrophysiologische Prozesse nicht-invasiv darstellen? Unsere bisherige Arbeit hat hier einen Beitrag zur kritischen Validierung des Meßparameters [Cyt-ox] als Maß für den zellulären Energiemetabolismus geleistet. Für den nicht-invasiven Nachweis schneller potential-korrelierter Signale folgt aus unserer Arbeit eine deutliche Skepsis bezüglich der bisher beschriebenen Ansätze. Hier erscheint uns ein fundamental technologischer Schritt zur deutlichen Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnis notwendig, um diesen Parameter zuverlässig als Meßparameter der neuronalen Antwort auch den nicht-invasiven optischen Verfahren zugänglich zu machen. Nicht bezweifeln wir die eminente Signifikanz oder auch die grundsätzliche Möglichkeit der Darstellbarkeit. Mit der ICG-Bolus Technik konnten wir zeigen, daß ein Parameter der cerebralen Perfusion mit geringem technischen Aufwand mit der NIRS am Krankenbett darstellbar ist.

Läßt die Bildgebung eine topographische, lassen zeitaufgelöste oder Multidistanz-Ansätze eine Tiefenauflösung zu; erlangen also zukünftige Ansätze eine deutliche Verbesserung der Definition des Volumens auf das die gemessenen Änderungen zu beziehen sind? Hiermit eng verknüpft ist die Frage nach der Quantifizierung der Änderungen und eventuell der absoluten Quantifizierung der Parameter. Der Beitrag unserer Gruppe lag in der Entwicklung und Prüfung von Lösungsansätzen zu jeweils unterschiedlichen Problemstellungen der räumlichen Auflösung. Aufgabe ist es nun, die Ergebnisse in einem theoretischen und technischen Modell zu kombinieren, um etwa spektroskopisch mit einer groben Tiefenauflösung zu messen (Kombination der zeitaufgelösten mit den bildgebenden Ansätzen).

Bleibt bei der Weiterentwicklung der portable und in der Bedienung einfache Charakter der Methode erhalten? Dieser Faktor wird insbesondere bestimmen, ob sich die NIRS zum diagnostischen Instrument in der Neurologie und der Intensivmedizin entwickeln wird. Die bisher vorgestellten kommerziellen Monitore und auch bildgebenden Systeme haben diese Perspektive der Methodik verfolgt. Die Entwicklung eines bildgebenden Systems in unserer und auch in anderen Gruppen zeigt andererseits, daß portable ‚state-of-the-art‘ Geräte auch ohne den finanziellen und personellen Reichtum großer medizintechnischer Unternehmen verfügbar sind. Kritisch für die Methode erscheint uns jedoch der drohende Trend, daß kommerziell angebotene Monitore zum Teil eine Validität von Oxygenierungs-Parametern vortäuschen, ohne die spezifischen Begrenzungen der Methodik bezüglich der spatialen Auflösung und der Quantifizierung ausreichend zu berücksichtigen. Andererseits besteht die Gefahr, daß grundlagenorientierte Gruppen sich in Modellierungen verschlungener Photonenpfade im Phantom verlieren.

Die Literatur der letzten Jahre zeigt, daß es eine Reihe von klinischen Ansätzen gibt, die valide Aussagen zur cerebralen Hämoglobinoxygenierung bei den untersuchten Krankheitsbildern machen (Nollert et al. 2000; Nollert et al. 1999; Smielewski et al. 1998; Adelson et al. 1999; Kirkpatrick et al. 1998a). Eine klinische Validierung, die der NIRS einen Platz in der Diagnostik neurologischer Erkrankungen und anästhesiologischen Monitorings sichert, steht bisher jedoch aus. Die engere Kooperation zwischen den grundlagenorientierten Gruppen und den klinisch orientierten Anwendern scheint für dieses Ziel in Zukunft wünschenswert.

Neben diesen Fragen nach den methodischen Perspektiven der Nahinfrarotspektroskopie belegen die im ersten Abschnitt zusammengefaßten Studien, daß die NIRS cortikale Oxygenierungsänderungen nachweisen kann. Im folgenden Abschnitt wird nun dargestellt, wie der methodische Zugriff genutzt werden kann, um physiologische Fragen und die Grundlagen der vaskulär-basierten Bildgebung zu untersuchen. In diesem Teil soll gezeigt werden, daß die NIRS nicht allein eine weitere Methode darstellt, die ein weiteres ‚Bild‘ cerebraler Aktivierungsmuster hervorbringt. Ziel ist es vielmehr, die Ergebnisse in ein Modell der neurovaskulären Kopplung einzuordnen. Die Relevanz für die anderen bildgebenden Verfahren besteht darin, daß die neurovaskuläre Kopplung die gemeinsame Basis der vaskulär bildgebenden Techniken darstellt. Neben den Fragen zur Signalphysiologie ist die Erforschung der neuro-vaskulären Kopplung aber auch grundlegend für das Verständnis der Hirnphysiologie und schließlich für das Verständnis pathophysiologischer Alterationen insbesondere im Rahmen cerebrovaskulärer Erkrankungen (Teil C).

Teil B

Physiologie: Untersuchungen zur neuro-vaskulären Kopplung

Die cerebrale hämodynamisch-metabolische Antwort auf einen Stimulus wird in den letzten Jahren für die bildgebenden Techniken des Gehirns zunehmend mit dem Begriff ‚Aktivierung‘ gleichgesetzt. Dabei wird der Anstieg des regionalen cerebralen Blutfluß (rCBF) oder des regionalen Metabolismus als Ausdruck gesteigerter neuronaler Aktivität gewertet. Physiologisch steht hinter dieser operationalen Definition der Aktivierung das Konzept der neuro-vaskulären Kopplung. Grundsätzlich besteht Konsens über die Tatsache, daß Änderungen der neuronalen Aktivität von räumlich und zeitlich sehr gut korrelierten hämodynamischen und metabolischen Prozessen begleitet werden. Allerdings sollte nicht vergessen werden, daß der nicht-invasive Zugriff auf die Funktion des menschlichen Gehirns lange allein elektrophysiologischen Untersuchungen zugänglich war, die ‚Aktivierung‘ oder neuronale ‚Aktivität‘ aufgrund der oberflächlich abgeleiteten elektrischen Potentiale oder der elektromagnetischen Felder definieren. Die Frage, ob elektrophysiologische Verfahren oder vaskulär-metabolisch basierte Techniken der Bildgebung einen direkteren, primären Zugriff auf die Hirnfunktionen erlauben, ist müßig: ist die zeitliche Auflösung der elektrophysiologischen Verfahren exzellent, so ist erst mit den vaskulär-metabolisch basierten bildgebenden Techniken ein detaillierter Zugriff auf die funktionelle Anatomie beim Menschen nicht-invasiv möglich geworden. Unsere Arbeit mit der NIRS zielt daher nicht auf die Etablierung einer Methode, die ein ‚besseres‘ Bild der Hirnfunktion ermöglicht. Unser Anliegen ist es vielmehr, die verschiedenen Abbilder der Hirnfunktion besser zu verstehen und dazu beizutragen, ein vielschichtigeres und damit realistischeres Gesamtbild zu erhalten.

Die methodisch technologischen Voraussetzungen der NIRS wurden im ersten Teil der Arbeit dargestellt. Es zeigt sich, daß neben den relativ robusten Bestimmungen der Konzentrationsänderungen des oxygenierten und deoxygenierten Hämoglobins ein Parameter der metabolischen Antwort und potentiell ein Parameter der neuronalen Antwort dargestellt werden können. Die bessere Definition des Meßvolumens muß als die größte Herausforderung bezüglich weiterer methodischer Entwicklungen eingeschätzt werden. Zu dieser Frage nach der räumlichen Auflösung zeigt Abbildung 11 (aus (Hubener et al. 1997)), daß Änderungen der optischen Eigenschaften cerebralen Gewebes prinzipiell ein sehr detailliertes Bild der funktionellen Anatomie zeigen können. Wie in Abbildung 1 (Seite 3) mit der fMRT beim Menschen sind die ‚ocular dominance columns‘ hier am freigelegten visuellen Cortex der Katze dargestellt (schwarz-weiß

Darstellung, unteres Bild). Gemessen wurden Reflektionsänderungen roten Lichtes (um 707 nm), mit dem der freigelegte Cortex beleuchtet wurde. Diese ‚intrinsic optical signals‘ (IOS) wurden dann mit den verschiedenen Stimulusmodalitäten korreliert und so die ‚ocular dominance columns‘ (ODC) kartographiert.

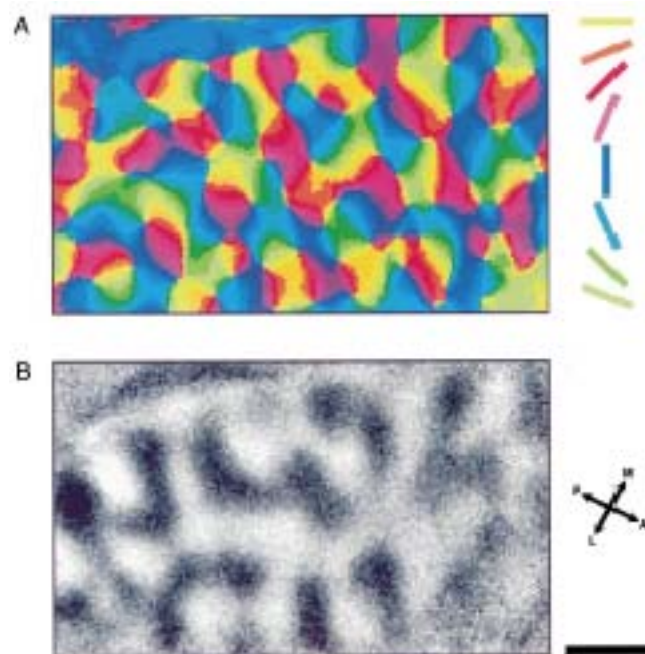


Abb. 11: Darstellung der Orientierungspräferenz (A) und der okulären Dominanz (B) in einem Ausschnitt des visuellen Cortex der Katze (Maßstab=1mm). Gemessen wurde die Reflektion bei Beleuchtung mit rotem Licht (Maximum 707 nm). Die erhaltenen intrinsic optical signals lassen eine räumlich sehr hochauflöste Differenzierung funktionell-anatomisch unterschiedlicher Eigenschaften des visuellen Systems zu. Die Farbkodierung der oberen Darstellung entspricht der Orientierungspräferenz für die neben der Abbildung gleichfarbig kodierten Winkel. In der unteren Karte des gleichen kortikalen Areals zeigt schwarz präferenzuelle Aktivierung durch das contralaterale, weiß durch das ipsilaterale Auge. (Abbildung aus (Hubener et al. 1997))

In der gleichen Studie wurde zusätzlich die Orientierungspräferenz der Neurone im gleichen visuellen Areal untersucht, die im oberen, farbkodierten Bild dargestellt sind. Die exquisite räumliche Auflösung dieses invasiven Ansatzes wird trotz der in Teil A beschriebenen Ansätze zur Bildgebung und Tiefenauflösung der nicht-invasiven Anwendung der NIRS beim Menschen nicht zugänglich sein. Es sollte aber darauf hingewiesen werden, daß sowohl der Meßparameter des BOLD-Kontrastes in der fMRT Studie (Abb. 1, Seite 3) als auch die ‚intrinsic optical signals‘ (IOS) als Parameter der invasiven Studie an der Katze (Abb. 11), mit den in der NIRS gemessenen Parametern korrelieren. Fragen zum physiologischen Ursprung und damit der Bedeutung beider Signale (BOLD-Kontrast und IOS) sind kontrovers. Im Rahmen der im folgenden Kapitel behandelten physiologischen Fragestellungen stehen daher grundlegende Fragen zur neuro-vaskulären Kopplung und Fragen zur Physiologie der bildgebenden Verfahren im Vordergrund. Untersucht wird, wie die mit verschiedenen Methoden generierten Bilder miteinander im Verhältnis stehen und welchen Beitrag die NIRS zu einer

Zusammenschau der methodisch verschiedenen Bilder beitragen kann. Die Studien ordnen die gefundenen Änderungen der mit der NIRS gemessenen Parameter zunächst in ein Konzept der vaskulären Antwort auf eine physiologische Aktivierung des cerebralen Cortex ein. In weiteren Studien wird untersucht, in welchem Verhältnis die Meßparameter der mit unterschiedlichen vaskulär-basierten Verfahren gemessenen Antworten stehen, und in welcher Art sich die neuronale in der gemessenen vaskulären Antwort abbildet. Hinter diesen Arbeiten steht die Überzeugung, daß nur mit einem besseren Verständnis des Zusammenspiels neuronaler, metabolischer und vaskulärer Mechanismen ein realistisches Bild der Hirnaktivierung bei funktioneller Stimulation erreicht werden kann. Die in Teil B der vorliegenden Arbeit zusammengefaßten Studien sind in vier Gruppen gegliedert:

(B.1.) In einem ersten Schritt werden etablierte einfache Stimmulationsmodelle genutzt, um das charakteristische Antwortmuster der NIRS-Parameter über einem aktivierten Hirnareal zu beschreiben. Einfache Paradigmen werden genutzt, da die cortikale Repräsentation dieser Stimuli durch Studien mit verschiedenen funktionellen Verfahren gut belegt ist. In diesem Abschnitt sind die Ergebnisse bei motorischer und visueller Stimulation zusammengefaßt und das typische Muster eines Anstiegs der oxy-Hb bei Abfall der deoxy-Hb Konzentration wird beschrieben. Für das visuelle System ließ sich auch die grobe spatiale Differenzierung sekundärer visueller Areale, für das motorische System im Rahmen einer komplexeren Go/NoGo-Aufgabe auch eine differentielle Aktivierung primär- und prä-motorischer Areale zeigen. Ansätze mit komplexen Paradigmen, deren funktionell-anatomische topographische Zuordnung variabel oder unscharf ist, werden im Anschluß hieran kritisch diskutiert.

(B.2.) Auf der Basis dieser Studien galt ein nächster Schritt dem Vergleich des beschriebenen Antwortmusters mit den Parametern anderer Verfahren, die die cerebrovaskuläre Antwort auf einen Stimulus abbilden. An erster Stelle ist dies die funktionelle Kernspintomographie, deren ‚blood oxygenation level dependent‘, kurz BOLD-Kontrast, heute den meist genutzten Parameter für nicht-invasive funktionelle Stimmulationsstudien beim Menschen darstellt (vergleiche Abb. 1, S. 3). Bereits früh wurden Suszeptibilitätsänderungen aufgrund von Änderungen der lokalen Konzentration des deoxy-Hb als wichtige physiologische Variable für den BOLD-Kontrast angenommen (Ogawa and Lee, 1990). In der hier dargestellten Studie wurden simultan mit der NIRS Änderungen der Oxygenierungsparameter ([oxy-Hb], [deoxy-Hb]) und in der fMRT BOLD-Kontrast Änderungen gemessen. Sie stellt den ersten methodisch unabhängigen Nachweis der physiologischen Grundlage des BOLD-Kontrastes dar. Im Rahmen simultaner Messungen mit der PET, in H₂O-Bolus Technik, erlaubt sich ein Vergleich zwischen einem Meßparameter des regionalen cerebralen Blutfluß (rCBF) und den Oxygenierungsparametern der NIRS. Dies wurde in einer Studie bei kognitiver Stimulation untersucht. Weiterhin wurde bei einem einfachen motorischen Paradigma untersucht, wie sich die Blutflußgeschwindigkeit in der MCA (arteria cerebri media) im Vergleich zu den gemessenen

Oxygenierungsänderungen verhält. Dazu wurden NIRS Messungen simultan mit kontinuierlicher transkranieller Dopplersonographie durchgeführt.

Aus den ersten beiden Schritten ergibt sich auch eine physiologische Validierung der mit der NIRS gemessenen Konzentrationsänderungen des oxy-Hb und deoxy-Hb ¹⁴. In den folgenden beiden Abschnitten werden spezifische Fragestellungen zur Physiologie der bildgebenden Verfahren und eng damit verknüpft der neuro-vaskulären Kopplung thematisiert. Hier zeigt sich, daß mit der Nahinfrarotspektroskopie ein Verfahren zur Verfügung steht, das zu einem besseren Verständnis des Begriffs ‚Aktivierung‘ bei funktioneller Stimulation des Gehirns beim Menschen beiträgt.

(B.3.) Funktionelle Studien identifizieren cortikale Areale aufgrund ihres Antwortverhaltens auf einen Stimulus. In den meisten Fällen werden hierzu die Meßparameter während der Stimulations- und Ruheperioden verglichen. Die Annahme des ‚ruhenden Gehirns‘ ist allerdings ein Konstrukt, so daß gewöhnlich angenommen wird, daß spontane, stimulationsunabhängige Parameterschwankungen in der Mittelung unterdrückt werden. Damit wird eine weitere Annahme bezüglich der identischen Wiederholbarkeit einer Antwort auf den Stimulus gemacht. Schließlich wird oft nur die Änderung der Parameter in eine Richtung (Anstieg des BOLD-Kontrastes, Abfall der deoxy-Hb Konzentration) berücksichtigt und als ‚Aktivierung‘ terminologisch gefaßt. Solche Vereinfachungen sind zur grundsätzlichen Darstellung funktionell relevanter Areale hilfreich, jedoch sind alle Annahmen nur bedingt richtig. Insbesondere wenn kleine Änderungen oder kurze Änderungen der Meßparameter, etwa im Rahmen eines ‚event-related‘-Designs, untersucht werden sollen, ist es relevant, spontane Oszillationen der Meßparameter zu berücksichtigen, die zum Teil größere Amplituden aufweisen als die stimulus-evozierten Antworten. Auch ist der Begriff der ‚Aktivierung‘ genauer zu fassen. Es ist zu fragen, ob Aktivierung die neuronalen Prozesse oder deren vaskuläre Antwort meint. Weiterhin wird bei Kenntnis inhibitorischer und exzitatorischer neuronaler Prozesse die Frage wichtig, inwiefern diese sich in je unterschiedlicher Art in der vaskulären Antwort abbilden.

(B.4.) Neben den grundsätzlichen Fragen zur cerebralen Hämodynamik sind bezüglich der Signalphysiologie insbesondere Fragen zur Linearität des Antwortverhaltens von Bedeutung. Der Versuch die Translation des Stimulus über eine neuronale cortikale Aktivierung in eine vaskuläre Antwort zu beschreiben, aber auch das Verhältnis dieser hämodynamischen Antwort zu den einzelnen

¹⁴ Die Relevanz und biophysikalische aber auch potentielle physiologische Validität der [Cyt-ox] und weiterer Parameter wurde bereits in Teil A der vorliegenden Arbeit diskutiert. Bei den meisten der in Teil B zusammengefaßten Studien, die spektroskopisch eine Differenzierung der drei Chromophore erlauben, sahen wir einen Anstieg der Oxidierung des Enzyms. Auch die weiter unten aufgeführte Studie zu Aspekten der Linearität analysiert diesen Parameter. Die spektroskopische Möglichkeit des cross-talks muß allerdings bei der Einordnung der Ergebnisse bezüglich ihrer physiologischen Relevanz berücksichtigt werden.

Meßparametern sind essentiell zum Vergleich unterschiedlicher Studien, unterschiedlicher methodischer Ansätze aber auch zum Verständnis der zugrundeliegenden physiologischen Prozesse. In den Studien des Abschnitts B.4. werden diese Fragestellungen thematisiert.

Die Studien des Kapitels bearbeiten verschiedene physiologische Fragestellungen, die jedoch alle mit dem eingangs erwähnten Modell der neuro-vaskulären Kopplung in Zusammenhang stehen. Deshalb gibt der folgende Exkurs eine orientierende Einführung in das Modell der neuro-vaskulären Kopplung unter besonderer Berücksichtigung der Aspekte, die für die Physiologie der vaskulär-basierten funktionellen Bildgebung wichtig sind.

Exkurs 2:

Neuro-vaskuläre Kopplung

(Villringer and Dirnagl, 1995)

Ein funktionelles Paradigma kann psychophysisch betrachtet werden. Auch wenn die neurophysiologischen Vorgänge nicht apparativ untersucht werden, lassen sich anhand etwa von Reaktionszeiten plausible Modelle der cerebralen Verarbeitung erstellen¹⁵. Dabei kann nicht sicher zwischen den Einflüssen der rezeptiven, prozessiven und exekutiven oder neurophysiologisch zwischen peripher afferenten / efferenten und zentral connectiven Prozessen unterschieden werden (horizontale Achse der Abb. 12). Funktionelle Methoden zur Untersuchung cerebraler Prozesse können andererseits zwar mehr oder minder genaue Aussagen zum Ort und zum zeitlichen Ablauf der Prozesse treffen, allerdings ist anhand einer einzelnen Methode nur die Änderung eines *Meßparameters* in Abhängigkeit von einem Paradigma sicher zu beschreiben. Die meisten Studien

¹⁵ Als ein solches Modell kann auch das Resultat einer klinisch-neurologischen Untersuchung, aber auch das Beschwerdebild des Patienten gewertet werden. Daß apparative Untersuchungen nur einen Teil der hier gefundenen oder berichteten Alterationen sicher abbilden können, ist die Erfahrung jedes klinisch tätigen Neurologen und das Leid einer großen Zahl neurologisch Kranker, die die fehlende apparative ‚Objektivierung‘ ihrer Beschwerden als fehlende Kompetenz oder Empathie des Untersuchers werten.

gehen daher von einem psychophysischen Modell aus und versuchen, die gemessenen Parameter bestimmten Schritten der cerebralen Verarbeitung zuzuordnen. Es muß hierbei berücksichtigt werden, daß bei Anwendung einer einzelnen Methode nicht sicher differenziert werden kann, zwischen der Übersetzung des Paradigmas in einen cerebralen Prozeß, dessen Übersetzung in einen biologischen Parameter (Aktionspotential des Neurons, synaptische Aktivität, lokaler Blutfluß, lokale Sauerstoffsättigung) und der jeweiligen Abbildung in den gemessenen Parameter. Diese methodisch bedingte Transformation ist jedoch erheblich. Als Beispiel aus der Elektrophysiologie mögen visuell evozierte Potentiale (VEP) dienen, deren neurophysiologische Wertigkeit auch klinisch unzweifelhaft ist, ohne daß eine sichere Zuordnung der Potentialkomponenten zu einzelnen neuronalen Generatoren bisher gelungen ist. Für die vaskulären Methoden ist in der Abbildung 13 skizziert, daß die lokale Konzentration des deoxy-Hb, als wichtigste biologische Einflußgröße auf den BOLD-Kontrast, von verschiedenen biologischen Parametern abhängt, die wiederum in zum Teil unbekanntem Maße direkt den Meßparameter BOLD-Kontrast beeinflussen.

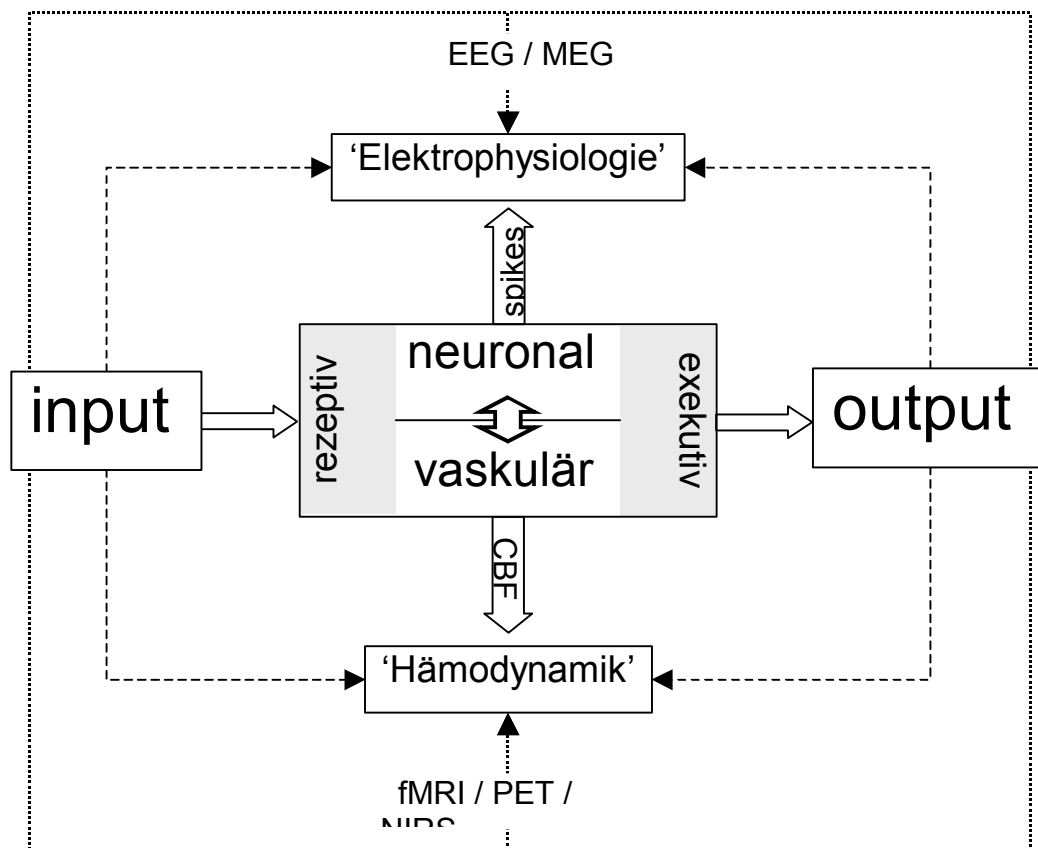


Abb. 12: Im Diagramm sind verschiedene ‚Achsen‘ zu physiologischen Untersuchungen der Hirnfunktion dargestellt. Entlang der Horizontalen ergibt sich die psychophysische Betrachtungsweise, die einem definierten input einen gemessenen output (etwa die Reaktionszeit bei einem forced choice Paradigma) gegenüberstellt. Die aus solchen Ergebnissen hergeleiteten Modelle können nur sehr allgemeine Zuordnungen zu verschiedenen möglichen rezeptiven, exekutiven und vor allem auch cerebral verarbeitenden Schritten treffen. Entlang der vertikalen Achse der Darstellung sind apparative Zugriffe auf cerebrale Prozesse skizziert. Hier können zwar Aussagen zu Lokalisation und Dynamik der Verarbeitung getroffen werden, jedoch stellen die Meßergebnisse eine Faltung der physiologischen Prozesse mit einer neuronalen, vaskulären oder metabolischen Antwortfunktion dar. Weiterhin ist zu berücksichtigen, daß der jeweilige Meßparameter eine Transformation vom physiologischen zum physikalisch gemessenen Parameter erfährt. Die gleichzeitige Registrierung unterschiedlicher Antworten erlaubt eine Approximierung der Transformationen. Damit können Aussagen zur neuro-metabolisch-vaskulären Kopplung (Zentrum der Skizze) getroffen werden.

Die Begeisterung der neurophysiologischen Forschung der letzten Jahre, das methodische Arsenal zu erweitern, leitet sich daher aus der Hoffnung ab, im Vergleich der Ergebnisse ein weniger methodenabhängiges Bild der cerebralen Prozesse zu erstellen. Aus diesen Überlegungen folgt auch, daß nicht *eine* ideale Methode ausreichen kann, sondern daß eine Anzahl geeigneter komplementärer Methoden diesem Ziel dienen. Aus den zahlreichen Studien mit unterschiedlichen methodischen Ansätzen läßt sich ein Modell erstellen, das unter dem Begriff neuro-vaskuläre Kopplung gefaßt werden kann. Dieses wird in der Folge kurz skizziert und bezüglich aktueller Fragestellungen im Zusammenhang mit funktioneller Bildgebung des Gehirnes problematisiert.

Das Konzept der neuro-vaskulären Kopplung besagt, daß eine Änderung der neuronalen Aktivität von einer vaskulären Antwort mit hoher zeitlicher und räumlicher Korrelation begleitet wird. Ursächlich wird ein gesteigerter Energiebedarf der Nervenzellen bei Zunahme der neuronalen Aktivität angenommen. Als Bindeglied zwischen der neuronalen und der vaskulären Antwort wird teils noch die metabolische Antwort differenziert, die neben dem Metabolismus des Sauerstoffs auch den der Glucose als Hauptsubstrat cerebraler Energiegewinnung berücksichtigt. Die Grundhypothese einer neuro-vaskulären Kopplung kann bei der enormen Evidenz mit unterschiedlichsten Methoden und in den unterschiedlichsten Stimulationsmodellen in zahlreichen Tiermodellen, aber auch beim Menschen als gesichert gelten. Hier endet die Übersichtlichkeit des Modells. Zu den Fragen, wie stark der metabolische Bedarf der Nervenzelle unter Stimulation ansteigt (Attwell and Laughlin, 2001), welches Substrat des Metabolismus (O_2 , Glucose/Lactat) (Mintun et al. 2001; Gjedde and Marrett, 2001; Buxton and Frank, 1997) die Regelgröße darstellt, welche Mediatoren die Kopplung steuern (NO, pH, Adenosin, vasale Neurone), wie die Latenz der vaskulären Antwort zu erklären ist, ob es eine frühe Hypoxygenierung gibt ('initial dip') (Lindauer et al. 2001; Vanzetta and Grinvald, 2001; Ernst and Hennig, 1994), wie sich die vaskuläre Antwort bei prolongierter Stimulation darstellt (Bandettini et al. 1997; Frahm et al. 1996) und ob die neuro-vaskuläre Kopplung ein homogenes Phänomen in unterschiedlichen Arealen darstellt, gibt es eine große Anzahl von Studien jedoch kein einheitlich konsensfähiges Ergebnis.

Phänomen: Hyperoxygenierung

In einer Studie mit der Positronen Emissionstomographie (PET) stellten Fox und Raichle 1986 dar, daß die Sauerstoffaufnahme ($rCMRO_2$) im somatosensorischen Cortex bei Stimulation um $\sim 5\%$ ansteigt, während der lokale Blutfluß ($rCBF$) um $\sim 30\%$ ansteigt (Fox and Raichle, 1986). Diese Studie stellte das contra-intuitive Ergebnis einer lokalen Hyperoxygenierung in einem aktivierten kortikalen Areal vor. Es wurde gezeigt, daß es also trotz der angenommenen Zunahme des Energiebedarfs zu einer überschießenden Versorgung mit Sauerstoff kommt. Etwas ungünstig wurde das Phänomen als 'focal uncoupling' bezeichnet, stellt aber die eigentliche Basis der auf der neuro-vaskulären Kopplung basierenden funktionellen Bildgebung dar. Während die PET auch die metabolische Antwort messen kann, ist für den BOLD-Kontrast die Hyperoxygenierung konstitutiv, die sich aus einem disproportional großem Abtransport bei nur geringer lokaler Entstehung von [deoxy-Hb] durch den erhöhten Sauerstoffbedarf herleitet. Zur Erklärung des Phänomens wurden zwei Theorien vorgeschlagen. Die eine Theorie postuliert, daß nicht der Sauerstoff, sondern das Substrat des Energiemetabolismus die Regelgröße der Kopplung darstellt. Die andere erklärt die Hyperoxygenierung aus der Differenz zwischen dem Anstieg der Oxygenierung im Gefäß und dem Anstieg des O_2 -Partialdruckes im Gewebe. Aktuell kann keine der beiden Hypothesen die gemessenen Änderungen des Sauerstoffangebots und der Sauerstoffaufnahme oder des Glucose / Laktat - Metabolismus vollständig erklären, so daß eine Kombination beider Hypothesen notwendig erscheint

(Gjedde and Marrett, 2001). Beide Hypothesen werden zum besseren Verständnis in der Folge dennoch separat dargestellt.

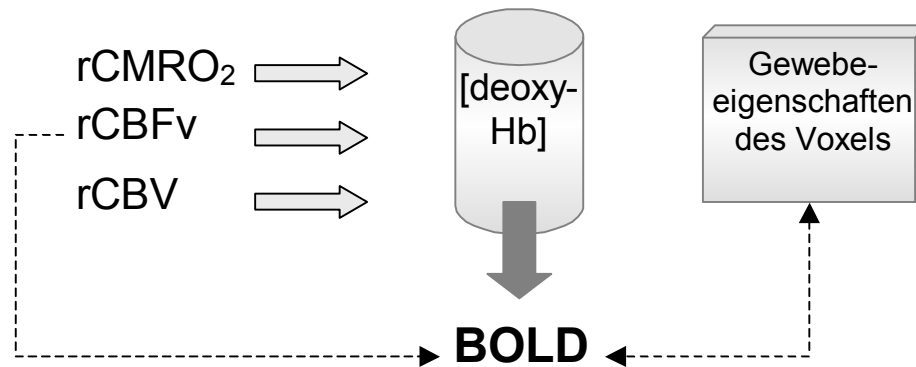


Abb. 13: In der Skizze sind die verschiedenen Einflussgrößen auf den ‚blood oxygenation level dependent‘ Kontrast (BOLD) der fMRT dargestellt. Der Meßparameter wird am deutlichsten durch die lokale Konzentration des paramagnetischen deoxy-Hb beeinflusst. Diese Konzentration hängt wiederum von einer Reihe physiologischer Variablen, dem regionalen Blutfluß (rCBFv und rCBFv) und dem lokalen Sauerstoff Verbrauch (rCMRO₂) ab.

Substrat-Hypothese

Magistretti und Mitarbeiter fanden einen Laktat-Shuttle zwischen den Neuronen und den Astrocyten, der zusammen mit dem Anstieg der Laktat-Produktion bei funktioneller Stimulation die Basis der Substrat-Hypothese bildet (Magistretti et al. 1999). Hierbei wird postuliert, daß in einem aktivierten Areal der Bedarf an ATP zunächst zur Glykolyse in den Astrozyten führt. Ein Teil des so entstandenen Laktats wird im weiteren von den Neuronen aufgenommen und dort über die oxidative Phosphorylierung metabolisiert. Die stöchiometrisch geringe ATP Ausbeute bei der Glykolyse würde einen initial überproportionalen Glukosebedarf bei funktioneller Aktivierung der Neuronenpopulation erklären und so das Substrat mehr als den Sauerstoffbedarf als Motor des lokalen Blutflußanstieges identifizieren. Für diese Hypothese sprechen Befunde aus der Arbeitsgruppe von Magistretti, die die zellulären Mechanismen der neuro-metabolischen Kopplung im Zusammenspiel der synaptisch freigesetzten Neuro-Transmitter der Natrium-Kalium Pumpe und des Laktat-Shuttles belegen (Magistretti, 2000). Es bot sich daher an, die Ergebnisse der funktionell bildgebenden Techniken auch beim Menschen in diesem Sinne zu interpretieren. Einerseits gibt es Arbeiten, die einen Laktat Anstieg zu Beginn einer funktionellen Aktivierung durch visuelle Stimulation belegen, der sich im Laufe einer prolongierten Stimulation zurückbildet (Sapèy-Marinièr et al. 1992; Frahm et al. 1996). Andererseits wurde aufgrund des in einer Reihe von Arbeiten gesehenen Abfalls des BOLD-Kontrastes bei prolongierter Stimulation eine metabolische Umstellung im Verlauf der Stimulationsperiode angenommen. Der Begriff des ‚recoupling‘ bei länger andauernder Stimulation interpretiert den Abfall des BOLD-Kontrastes (parallel zum Abfall der lokalen Laktat Konzentration) als eine Umstellung auf oxidative Phosphorylierung im Verlauf der Stimulationsperiode (Frahm et al. 1996). Der bei einigen

Stimulationsmodalitäten gesehene ‚post-stimulus-undershoot‘, der einem Anstieg der lokalen deoxy-Hb Konzentration entspricht, wird in diesem Modell ebenfalls mit der Trägheit der Umstellung zu einem neuen Gleichgewicht zwischen oxidativer Phosphorylierung und Glykolyse interpretiert.

Die Substrat-Hypothese kann nicht als einzig konstitutiver Faktor für die lokale Blutflußsteigerung mit resultierender lokaler Hyperoxygenierung gehalten werden. In der ausgiebig geführten Kontroverse zwischen verschiedenen fMRT-Gruppen gibt es inzwischen eine Reihe von Studien, die für eine Konstanz des BOLD-Kontrastes auch bei prolongierter Stimulation sprechen (Bandettini et al. 1997; Howseman et al. 1998; Kruger et al. 1999). Eine Attenuierung der BOLD-Antwort muß nach derzeitigem Stand der Forschung auch eine Attenuierung der fokalen neuronalen Aktivität bei prolongierter Stimulation berücksichtigen (siehe auch Studie B.4.3. der vorliegenden Arbeit). Die Kontroverse hat neben weiteren Ergebnissen auch aus der tierexperimentellen Forschung dazu beigetragen, das relativ einfache, mechanistische Bild einer Übertragung des Stimulus in eine vaskuläre Antwort durch die Sicht abzulösen, daß eine Interaktion der neuronalen, metabolischen und vaskulären Änderungen bei funktioneller Stimulation besteht (Shulman et al. 2001). Die differenziertere Sichtweise ist vor allem hilfreich, um Differenzen zwischen unterschiedlichen Stimulusmodalitäten zu verstehen (Vafae et al. 1998). Auch sind interindividuelle Unterschiede und Änderungen der metabolischen Antwort bei pathologischen Alterationen (Chiappa et al. 1999; Hill et al. 1999; Ueki et al. 1988; Lauritzen, 1994) zu berücksichtigen, wenn anhand einer vaskulären Methode Aussagen zur cerebralen Aktivierung getroffen werden.

Diffusibilitäts-Hypothese

Eine andere Erklärung zur fokalen Hyperoxygenierung bei funktioneller Stimulation leitet sich von der Differenz der in den meisten Verfahren gemessenen vaskulären Oxygenierung (also dem an Hämoglobin gebundenen O₂) und dem O₂-Partialdruck im Gewebe ab. Gjedde und Ko-Autoren haben früh darauf hingewiesen, daß ein Gradient zwischen der Sauerstoffspannung im Gefäß und im Gewebe besteht (Kuwabara et al. 1992). Um im Gewebe einen nur geringen Anstieg des Sauerstoffbedarfes zu bedienen, muß der Blutfluß disproportional stark ansteigen. Verschiedene Modellierungen wurden vorgeschlagen (Buxton and Frank, 1997; Vafae and Gjedde, 1999). Konstitutiv ist hier die grundsätzliche Hypothese, daß der Blutfluß letztendlich sehr genau den Bedarf an Sauerstoff am Ort des metabolischen Bedarfes, also am Mitochondrium im neuronalen Gewebe, bedient. Auch konnten Gjedde und Mitarbeiter im Gegensatz zu den Studien von Fox und Raichle zeigen, daß durchaus eine Zunahme des oxidativen Metabolismus in den aktivierten Neuronen statthat (Vafae et al. 1998). Dies widerspricht der Vorstellung eines metabolischen ‚Umschaltens‘ der cerebralen Energiegewinnung bei funktioneller Aktivierung. Zusammen mit der primär physikalischen Änderung der Diffusionskapazität bei Zunahme des Gefäßdurchschnitts (rCBV \uparrow) und gleichzeitiger Zunahme der

Flußgeschwindigkeit ($rCBFv \uparrow$) ist die für den BOLD-Kontrast konstitutive Hyperoxygenierung damit ohne ein Umschalten des Metabolismus von oxidativer Phosphorylierung zur Glykolyse erklärbar.

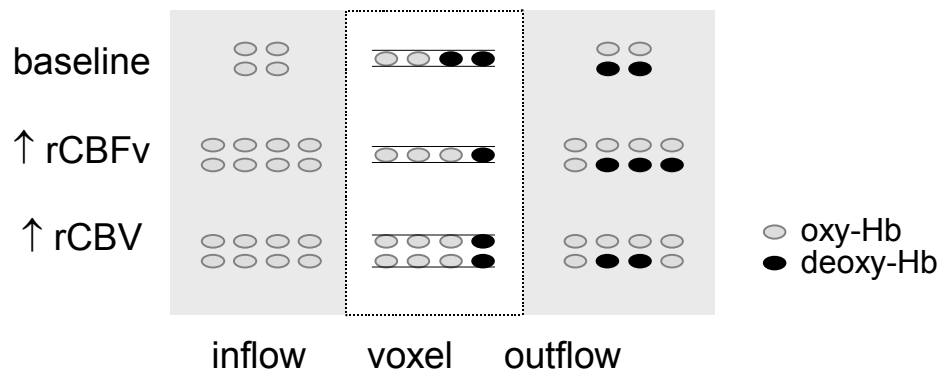


Abb. 14: Die Abbildung leitet den fokalen Abfall der deoxy-Hb Konzentration in einem Meßvolumen (Voxel) aus den Größen Blutflußgeschwindigkeit ($rCBFv$) und Blutvolumen ($rCBV$) her. Angenommen wird ein konstanter O_2 -Verbrauch (mit resultierender Entstehung von deoxy-Hb) im Voxel. Zur Erhöhung der Konzentration des [oxy-Hb] im Voxel, kann das Volumen ($rCBV$, im Beispiel durch Erhöhung des Kapillardurchmessers) erhöht werden. Dabei ändert sich im Modell die absolute Konzentration des deoxy-Hb jedoch nicht. Nur wenn die Flußgeschwindigkeit ($rCBFv$) des Blutes ansteigt (also das entstehende deoxy-Hb rascher aus dem Voxel ausgewaschen wird) fällt die lokale Konzentration des deoxy-Hb im Vergleich zur ‚baseline‘ ab. Bei funktioneller Stimulation ist von einem Anstieg sowohl der Flußgeschwindigkeit als auch des Volumens auszugehen. Der – in der Darstellung nicht berücksichtigte – Anstieg des Sauerstoffverbrauches wird durch den Anstieg der Flußgeschwindigkeit überkompensiert. Für die NIRS leitet sich aus dem Szenario ein Anstieg des [tot-Hb] und [oxy-Hb] bei gleichzeitigem Abfall des lokalen [deoxy-Hb] im Meßvolumen (= Voxel) ab, der in einer Reihe von funktionellen Aktivierungsstudien bestätigt wurde. (modifiziert nach (Villringer and Dirnagl, 1995))

Die Differenzen der Hypothesen gründen sich auf zum Teil widersprüchliche Ergebnisse der zugrundeliegenden Studien. Sie sind jedoch prinzipiell nicht unvereinbar, da auch die Studien zur Unterstützung letzterer Theorie Verschiebungen des Glucose-Laktat-Pyruvat Verhältnisses konstatieren. So prädiziert Gjedde etwa (Gjedde and Marrett, 2001), daß bestimmte Stimuli einen raschen Abfall des BOLD Kontrastes im ‚aktivierten‘ Areal hervorrufen können, sobald die lokale Zunahme des O_2 -Metabolismus den Anstieg des lokalen Blutfluß erreicht. Gleichzeitig wird der Begriff des adäquaten Stimulus eingeführt, der meint, daß unterschiedliche Stimulusmodalitäten in unterschiedlichen Arealen, verschiedene Muster der Oxygenierung und des Metabolismus hervorrufen. Die derzeit relevanten Fragen richten sich daher nicht auf den Beweis der jeweiligen Theorie, sondern müssen einerseits auf zellulärer Ebene verlässliche Daten zum Metabolismus bei Änderung der neuronalen Aktivität erbringen und andererseits die neuronale Antwort registrieren, um Änderungen des neuronalen Inputs nicht fälschlich als Änderungen der Kopplung zu interpretieren.

Maß des neuronalen Inputs

Jenseits der Hypothesen zur Erklärung der fokalen Hyperoxygenierung und der metabolischen Prozesse besteht Einigkeit über die Zunahme des Energiebedarfs bei funktioneller Stimulation im neuronal aktivierten Gewebe. Dabei muß berücksichtigt werden, daß ein Anstieg des Energiebedarfs an verschiedenen Teilen des Neurons aber auch in der umgebenden Glia möglich sind (Attwell and Laughlin, 2001). Jueptner und Weiller kommen 1995 in einer Literaturübersicht zum Schluß, daß die synaptische Aktivität, genauer die präsynaptischen Axon-Endigungen, wichtigster Konsument der metabolisierten Glucose sind (Jueptner and Weiller, 1995). In dem in der Gruppe von Lauritzen genutzten Kleinhirnmodell bestehen jedoch abhängig von der Stimulationsart und -frequenz Korrelationen zwischen prä- und postsynaptischer Aktivität mit dem rCBF. Bei prolongierter Stimulation (>60 s) zerfällt die Korrelation zwischen beiden Größen (Mathiesen et al. 2000). Diese ultrastrukturellen Zuordnungen erscheinen von geringer Relevanz, wird mit weitaus geringer auflösenden bildgebenden Techniken beim Menschen gemessen. Das Konzept, ‚hot spots‘ vaskulär-metabolisch-neuronaler Aktivität zu identifizieren und diese bestimmten cerebralen Prozessen zuzuordnen, ist aber in seiner Wertigkeit sehr wohl abhängig davon, ob ‚Aktivierung‘ auf neuronaler Ebene synaptischen Transfer, lokale Feldpotentiale (LFP) oder Spike-Aktivität meint (Lauritzen, 2001). Die Frage nach der Korrelation des BOLD-Kontrastes zu elektrophysiologisch gemessenen Größen ist so auch in rezenten Arbeiten thematisiert worden. Das Verhältnis zwischen Änderungen der Spike-Rate und BOLD-Kontrast ergab für unterschiedliche Areale im visuellen Cortex bei ähnlicher dynamischer Spreizung der Stimulusintensität Werte, die um den Faktor 20 variieren, so daß die einfache Korrelation zwischen Spike-Rate und BOLD-Kontrast Änderungen nicht plausibel erscheint (Heeger et al. 2000; Rees et al. 2000). Auch konnte in einer Arbeit, in der gleichzeitig Spike-Aktivität, LFPs und Änderungen des BOLD-Kontrasts gemessen wurden, eine bessere Korrelation zwischen den LFPs und der vaskulären Antwort nachgewiesen werden (Logothetis et al. 2001). Die Differenz zwischen der Spike-Aktivität einzelner richtungs-selektiver Neurone und der integrierten Aktivität einer Neuronenpopulation in V5 wird in einer Studie illustriert, die zeigt, daß die Spike-Rate einzelner Neurone deutlich von der Orientierung des Stimulus, die integrierte Aktivität jedoch stark von der Modulation der baseline-Aktivität (Aufmerksamkeit etc.) abhängt (Scannell and Young, 1999). Es besteht also eine grundsätzliche Konvergenz der Studien, elektrophysiologische single-unit Aktivität als einen schlechten Prädiktor der evozierten metabolisch-vaskulären Antwort anzunehmen. Umgekehrt ist die Frage, ob LFPs oder die nicht-invasiv gemessenen Analoga in Form der evozierten Potentiale einen guten Prädiktor darstellen, bisher offen. Hinweise hierfür stellen Studien zu somatosensorisch evozierten Potentialen im Tiermodell (Ngai et al. 1999) aber auch beim Menschen dar (Arthurs et al. 2000).

Exzitation, Inhibition und Deaktivierung

Im Zusammenhang mit der neuro-vaskulären Kopplung ist auf eine weitere Problemstellung hinzuweisen, die bei der Übertragung gemessener vaskulärer Antworten in eine zugrundeliegende neuronale Antwort berücksichtigt werden muß. Die Terminologie der ‚Aktivierung‘ scheint exzitatorische neuronale Aktivität zu implizieren. Daß inhibitorische Prozesse durchaus relevant bei der Ausführung komplexer Paradigmen sind, ist andererseits bekannt (Nyberg et al. 1996). Auch ist dargestellt worden, daß die Aktivität inhibitorischer Neurone ebenfalls zu lokaler Glucose-Aufnahme führt (Ackermann et al. 1984; Nudo and Masterton, 1986). Damit wird deutlich, daß prinzipiell eine Zunahme des lokalen Blutflusses auch einen aktiv inhibitorischen Prozeß darstellen kann. Davon zu trennen ist die Frage, wie und ob ein Areal, das eine Reduktion des exzitatorischen Input im Rahmen eines Stimulationsparadigmas erfährt, sich in einem vaskulär-basierten bildgebenden Verfahren darstellt. Hierfür wird in einigen Arbeiten der Begriff der ‚Deaktivierung‘ der ‚aktiven Inhibition‘ gegenübergestellt. In den meisten bildgebenden Studien besteht das Ergebnis in einer Topographie von fokalen Zu- und Abnahmen des rCBF oder abhängiger Meßparameter. Lauritzen formuliert die Zuordnung zu den zugrundeliegenden neuronalen Vorgängen in Analogie zur Elektrophysiologie als ‚inverses Problem‘ (Lauritzen, 2001). Zwar stellen Waldvogel und Ko-Autoren Daten vor, bei denen die Inhibition des motorischen Cortex im Rahmen einer Go/NoGo-Aufgabe als Modell für cortikale Inhibition genutzt wird, und folgern aus den Ergebnissen, daß inhibitorische Prozesse keine Änderungen des BOLD-Kontrastes hervorrufen (Waldvogel et al. 2000). Die Verallgemeinerung, daß dieses Modell die grundsätzliche Zuordnung einer Zunahme des BOLD-Kontrastes zu exzitatorischen neuronalen Prozessen erlaubt, bleibt dennoch zu bezweifeln. Es erscheint daher sinnvoll, bei der Beurteilung gemessener Änderungen blutflußabhängiger Meßparameter zunächst nicht die neuronale Exzitation oder Inhibition anzunehmen, sondern diese anhand zusätzlicher Meßparameter nachzuweisen oder im Rahmen von Hypothesen der Konnektivität zu deduzieren (Nyberg et al. 1996).

Zeitgang der vaskulären Antwort

Schließlich sind Latenz und Zeitverlauf der vaskulären Antwort zwar in den verschiedensten Techniken dargestellt worden, jedoch bestehen auch hier erhebliche Kontroversen bezüglich der Zuordnung und Existenz von nicht linearem Verhalten insbesondere zu Beginn und nach Beendigung des Stimulus (Friston et al. 2000; Mechelli et al. 2001). Eine grundsätzliche Einigkeit besteht, auch im Vergleich unterschiedlicher methodischer Ansätze, ob der relativen Trägheit der vaskulären Antwort, die ein Maximum etwa 5-7 s nach Beginn der Stimulation erreicht (Frahm et al. 1992; Bandettini et al. 1992; Newell et al. 1992; Aaslid, 1987; Mayhew et al. 1998; Lindauer et al. 1993). Die Definition des Beginns der vaskulären Antwort ist jedoch kontrovers, zumal Uneinigkeit über die Frage besteht, ob es zu Beginn eine transiente Hypoxygenierung gibt („initial dip“). Ein solcher kurzzeitiger Anstieg der [deoxy-Hb] Konzentration (mit folgendem trägerem Abfall) wird von der Gruppe um Grinvald

berichtet (Malonek et al. 1997),(Vanzetta and Grinvald, 2001) konnte jedoch nicht einheitlich (Mayhew et al. 1998) oder nicht (Lindauer et al. 2001) reproduziert werden. Neben der kurzen Latenz des kontroversen ‚dips‘ bezogen auf den Beginn der Stimulation wird in den optischen Studien an der Katze weiterhin gezeigt, daß diese ‚frühe‘¹⁶ Antwort, für die ein kurzfristiger mismatch zwischen dem gesteigerten metabolischen O₂-Bedarf und der trägeren vaskulären Antwort angenommen wird, auch schärfer lokalisiert ist als die folgende Hyperoxygenierung. Damit ist die Existenz einer solchen frühen Hypoxygenierung auch für die BOLD-Kontrast basierte fMRT (Duong et al. 2000) von großer Relevanz, da die kurze Latenz und die höhere Fokalität dieser initialen Hypoxygenierung eine Verbesserung der zeitlichen und räumlichen Auflösung der Bildgebung verspricht (Hu et al. 1997; Menon et al. 1995). Diese Ergebnisse sind aber ebenfalls nicht einheitlich reproduziert worden (Marota et al. 1999; Fransson et al. 1998).

Zusammenfassung

Unter Berücksichtigung der oben beschriebenen Problemstellungen mag es überraschend erscheinen, daß die vaskuläre Antwort als Prädiktor neuronaler Aktivität genutzt wird. Während also eine große Anzahl funktioneller Aktivierungsstudien die Existenz eines relativ einfachen Verhältnisses zwischen der zugrundeliegenden neuronalen Antwort und der evozierten vaskulären Antwort annimmt, ist es in der Tat unsere Absicht eine produktive Skepsis hervorzurufen, die die Notwendigkeit unterstreicht, physiologische Grundlagen funktioneller Bildgebung genauer zu verstehen. Hier, so sind wir überzeugt, hat die NIRS insbesondere bei Vergleich mit den Ergebnissen simultan angewandter weiterer methodischer Ansätze einen hohen Stellenwert. Die in den folgenden Abschnitten dargestellten Studien sind unseres Erachtens Evidenz für eine Relevanz der Methodik jenseits der schlichten methodischen Vielfalt.

¹⁶ ‚Frühe Hypoxygenierung‘ oder ‚initial dip‘ bezeichnen Phänomene, die der metabolisch-vaskulären Antwort zugerechnet werden. Diese sind zu trennen von den oben beschriebenen ‚fast optical signals‘, die als Ausdruck optischer Änderungen im Rahmen der elektrophysiologischen, neuronalen Aktivität auftreten. Am eröffneten Cortex im Tier werden Wellenlängen im sichtbaren Spektrum genutzt, die geringe Eindringtiefe erlaubt eine weitaus genauere Definition des Meßvolumens. Dennoch spielt in der Kontroverse um die Existenz des Phänomens die Frage nach einem spektroskopischen Fehler eine wichtige Rolle. Ähnlich der bezüglich der Validität der Cytochrom-oxidase geführten Diskussion des cross-talks läßt sich der ‚dip‘ auch als spektroskopisches Artefakt modellieren. Die NIRS bietet sich an, die Frage nach dem ‚initial dip‘ auch nicht-invasiv am Menschen zu untersuchen. Eine Reihe von Untersuchungen hierzu durch unsere Gruppe zeigten jedoch kein eindeutiges Ergebnis. Bei bereits unter den wesentlich definierten Bedingungen am freigelegten Cortex kontroversen Ergebnissen überrascht dieses negative Resultat wenig.

B.1.: Beschreibung der ‚typischen‘ NIRS Antwort über einem aktivierten cortikalen Areal

B.1.1.: Oxygenierungsänderungen bei motorischer Stimulation

(Obrig et al. 1996)*

Als erstes physiologisches Modell zur Beschreibung der typischen NIRS Antwort über einem funktionell aktivierten Areal wurde die Antwort auf eine einfache Fingeroppositionsaufgabe untersucht. Die NIRS Proben des einkanaligen cw-Monitors (NIRO-500, Hamamatsu, Germany) wurden nach der 10-20 Methode über C3 oder C4 angebracht. Die Zielstruktur stellte die Handregion des primär motorischen Cortex (M1) dar. Alternierend führten die Probanden eine Opposition des Daumens mit den restlichen Fingern der Hand jeweils ipsi- und contralateral zur Probenlokalisation durch. Die Ergebnisse zeigen einen Anstieg der oxy-Hb bei gleichzeitigem Abfall der deoxy-Hb Konzentration. Diese Änderungen sind bei contralateraler motorischer Aktivierung größer und zeigen eine Abhängigkeit von der Frequenz der Fingeropposition. Die Lateralisation und Frequenzabhängigkeit der Antwort stellen eine physiologische Validierung des cortikalen Beitrages zu den gemessenen Änderungen dar. Unterschiede bestehen bezüglich der Zeitverläufe des [oxy-Hb] und [deoxy-Hb]. Zeigt das deoxy-Hb einen monophasischen Verlauf, treten beim oxy-Hb ein initialer ‚overshoot‘ und ein deutlicher ‚undershoot‘ nach Ende der Stimulation auf. Verschiedene Interpretationen sind möglich: (1) die systemischen hämodynamischen Änderungen (Blutdruck) zeigen zu Beginn der Stimulation eine Änderung, die sich stärker im [oxy-Hb] widerspiegelt. Dies sollte allerdings keine Lateralisierung hervorrufen. (2) Blutflußgeschwindigkeit (rCBFv) und -volumen (rCBV) folgen unterschiedlicher Dynamik, wie es für die Erklärung des post-Stimulus ‚undershoot‘ beim BOLD-Kontrast vorgeschlagen wurde (Mandeville et al. 1999). Bei dieser Interpretation ist allerdings auch im [deoxy-Hb] ein Anstieg nach der Stimulation zu erwarten. (3) Langsame spontane Oszillationen von $\sim 0,1$ Hz sind im [oxy-Hb] prominenter als im [deoxy-Hb] und ‚überstehen‘ so die Mittelung über die Versuchsdurchgänge (Obrig et al. 2000a)*. Eine Synchronisierung der Oszillationen auf den Beginn der Stimulation (entrainment) könnte die große Amplitude der over-/undershoot Phänomene erklären (Mayhew et al. 1996). Diese erste funktionelle Studie läßt eine sichere Zuordnung zu den einzelnen vorgeschlagenen Erklärungen nicht zu, jedoch werden unten einzelne Aspekte der Hypothesen in weiteren Studien thematisiert. Ein Zusammenspiel verschiedener Faktoren ist wahrscheinlich

B.1.2.: Oxygenierungsänderungen bei visueller Stimulation

(Wenzel et al. 1996)

Liegen die motorischen und somatosensiblen primären Cortices an der Hirnoberfläche, ist der Sulcus calcarinus am Übergang zwischen dem Okzipitallappen und dem Interhemisphärenspalt lokalisiert. Die ersten visuellen Stimulationsexperimente nutzten daher komplexe, farbige und bewegte Stimuli, um auch extrastriäre (V2 –V4) Areale zu stimulieren. Auch wurden bei den ersten Studien zur besseren Lokalisation die Proben zum Teil individuell aufgrund eines anatomischen MRTs positioniert (höhere Variabilität des sulcus calcarinus in Bezug auf das 10-20 System im Vergleich zum sulcus centralis (Steinmetz et al. 1989)). Die Ergebnisse zeigen ein qualitativ gleiches Antwortmuster, wie es bei der motorischen Stimulation über der Zentralregion gesehen wurde. Die Charakteristika des Zeitverlaufes des [oxy-Hb] zu Beginn und nach Ende der Stimulation sind jedoch nicht vorhanden. Im Vergleich mit der Studie zur motorischen Stimulation lassen sich diese Unterschiede hypothetisch durch die geringere systemische RR-Antwort bei dem rezeptiven Paradigma, aber auch durch das differente Stimulationsprotokoll (30s Stimulus / 30s Ruhe) erklären. Schließlich ist bei der engen anatomischen Nachbarschaft zum Sinus sagittalis auch dessen Einfluß auf gemessene Oxygenierungsänderungen zu berücksichtigen. Eine Zunahme des Blutvolumens (CBV) im Sinus ist bei funktioneller Stimulation nicht zu erwarten. Hypothetisch lassen sich so die geringeren Änderungen des [tot-Hb] (= [oxy-Hb] + [deoxy-Hb]) im Vergleich zum motorischen Paradigma auch durch eine relative Konstanz des Blutvolumens (CBV) erklären.

In späteren Studien wurden auch verschiedene Schachbrettmuster als visuelle Paradigmata etabliert. Im Rahmen der Beschreibung der typischen NIRS-Antwort über einem funktionell aktivierten cortikalen Areal ist eine spätere Studie mit einem Zweikanal-Monitor ¹⁷ zu erwähnen, bei der alternierend das linke und rechte Halbfeld stimuliert wurden. Die gemessenen Änderungen über den beiden Occipitalpolen entspricht der erwarteten Projektion nach contralateral (Colier et al. 2001). In Analogie zum motorischen Paradigma wurde so auch für diesen Stimulus eine physiologische Validierung des cortikalen Ursprungs der gemessenen Oxygenierungsänderungen erbracht.

¹⁷ Das genutzte Gerät, OXYMON, wurde von Colier und Oeseburg an der Universität Nijmegen entwickelt und arbeitet bei den Wellenlängen 775, 848 und 901 nm (Colier et al. 2001).

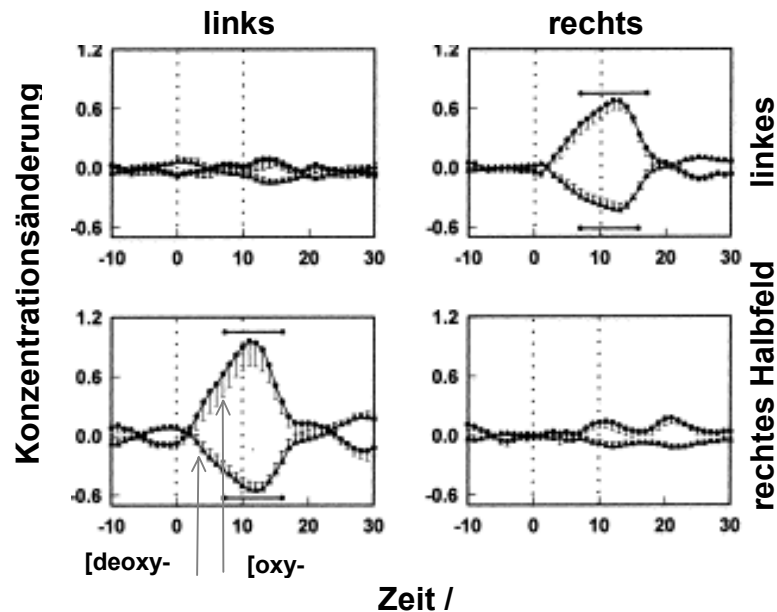


Abb. 15: Ergebnisse mit einem Zweikanalmonitor bei visueller Halbfeldstimulation (Colier et al. 2001). Es wurden alternierend das linke (oben) und rechte Halbfeld (unten) mit einem Schachbrettmuster stimuliert. Die typische NIRS Antwort, bestehend aus einem Anstieg des [oxy-Hb] und einem Abfall des [deoxy-Hb], zeigen sich jeweils unter dem Probenpaar, das über der contralateralen Occipitalregion angebracht ist. (nach Colier et al. (Colier et al. 2001))

B.1.3.: Weitere Stimulationsparadigmata

(Obrig et al. 2000b*; Ruben et al. 1997)

Eine Zuordnung unterschiedlicher funktioneller Areale bei differentieller Stimulation gelang im visuellen System für das Areal V5, das insbesondere auf bewegte Stimuli eine Antwort zeigt (analog zu MT, wie im Tiermodell am Makaken gut belegt (Tootell et al. 1995)). Da die anatomische Lokalisation deutlich lateral von den anderen visuellen Arealen anzunehmen ist, ließ sich mit dem einkanalen System bei alternierender Stimulation durch stationäre und bewegte Objekte eine differentielle Antwort auf die beiden Stimulusmodalitäten auch mit diesem einfachen NIRS-Ansatz darstellen (Ruben et al. 1997). Eine grobe Lokalisation mit dem oben vorgestellten, bildgebenden System gelang kürzlich. Bei diesem Experiment wurde der MT/V5-spezifische Stimulus, bestehend aus kontrastarmen, langsam expandierenden und kontrahierenden konzentrischen Ringen, einem anulären, alternierenden Schachbrettmuster gegenübergestellt. Die Abbildung 16 zeigt eine sehr grobe topographische Zuordnung zu dem lateral gelegenen Maximum bei MT/V5 Stimulation und den mehr medial gelegenen Maxima bei Stimulation durch das Schachbrettmuster.

Für das motorische System wurde ebenfalls ein komplexer Stimulus untersucht. Bei einem klassischen Go/NoGo-Paradigma mit motorischer Antwort wurden mit dem Mehr-Kanal Ansatz (CCD, Ganzspektrum Aufbau, s.o.) die Oxygenierungsänderungen simultan über C4 und F4/Fp4 gemessen.

Die Ergebnisse lassen eine grobe Differenzierung in die primär und prämotorische Antwort zu. Über dem prämotorischen Areal ließ sich eine Oxygenierungsänderung analog zur elektrophysiologisch gut etablierten CNV (contingent negative variation) nachweisen (Brunia and van Boxtel, 2001). Auch zeigte dieses Experiment, daß eine motorisch evozierte NIRS-Antwort bereits auf eine einmalige Fingerflexion gut nachzuweisen ist und eine Lateralisierung analog zu dem oben beschriebenen Block-Design zeigt (Obrig et al. 2000b)*.

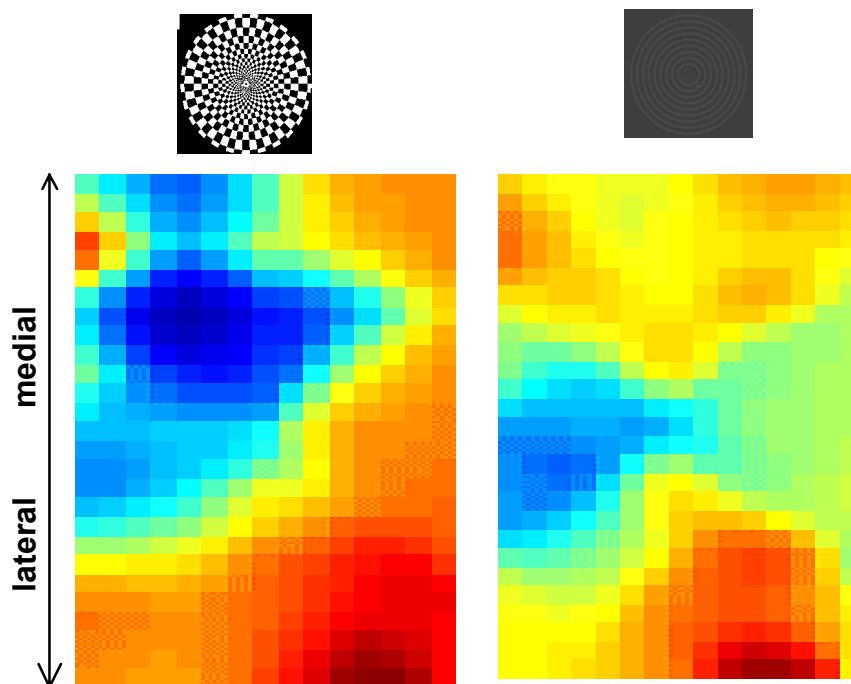


Abb. 16: zeigt die Änderungen des [deoxy-Hb] während eines Schachbrettstimulus (links) und einem Stimulus, der V5 aktiviert (rechts). Das 10*5 cm große Imager-Pad wurde über der linken Occipitalregion angebracht. Der Abfall des [deoxy-Hb] ist blau dargestellt. Eine Verschiebung der Antwortmaxima von medial nach lateral ist zu erkennen.

Weitere komplexe Stimuli wie Wortgenerations-Aufgaben, Rechenaufgaben und Stroop-Paradigmata wurden initial von unserer Gruppe genutzt (Villringer et al. 1993), da die erwarteten Aktivierungen im frontalen Cortex eine Positionierung der Optoden über der – haarlosen - Stirn und damit einen größeren Probenabstand zulassen. Die Rationale bei diesen initialen Studien war, durch einen möglichst großen Probenabstand einen intracerebralen Signalbeitrag sicherzustellen. Das typische Antwortverhalten eines [deoxy-Hb] Abfalls und eines Anstieges des [oxy-Hb] konnte auch für diese Paradigmen gezeigt werden. Es muß allerdings kritisch angemerkt werden, daß bei der schlecht definierten Fokalität der erwarteten neuronalen Antwort und insbesondere bei fehlender Kontrollbedingung (entsprechend etwa der Lateralisierung bei den motorischen und visuellen Stimuli) die Wertigkeit der Ergebnisse bezüglich der Beschreibung eines typischen cortikalen NIRS-Antwortmusters begrenzt ist. Bei komplexeren kognitiven Paradigmen ist mit großer Wahrscheinlichkeit von einer systemischen, vegetativen Reaktion auszugehen. Der Vergleich

zwischen Stimulation und Ruhe kann daher nicht den sicheren Nachweis eines cerebralen Beitrags zu den gemessenen Änderungen erbringen.

Aus den Ergebnissen der vorangehend dargestellten Studien folgt, daß die typische NIRS-Antwort über einem aktivierten kortikalen Areal aus einem Abfall des [deoxy-Hb] und einem meist größeren Anstieg des [oxy-Hb] besteht. Es resultiert damit in den meisten Fällen ein Anstieg des [tot-Hb], das ein Maß für das korpuskuläre Blutvolumen darstellt. Das hier beschriebene Antwortmuster ist im Einklang mit dem Modell der neuro-vaskulären Kopplung, nach dem ein räumlich und zeitlich gut korrelierter Anstieg des rCBF in einem funktionell aktivierten Areal zu erwarten ist. Der Abfall des [deoxy-Hb] wird durch eine Zunahme der regionalen Flußgeschwindigkeit (rCBFv) erklärt, die tierexperimentell mit der Laser Doppler Flowmetry bei funktioneller Stimulation nachgewiesen wurde (Lindauer et al. 1993). Auch entspricht der Abfall der deoxy-Hb Konzentration dem physiologischen Ursprung eines lokalisierten Anstiegs des BOLD-Kontrast (Ogawa and Lee, 1990; Kleinschmidt et al. 1996)* (vergl. auch B.2.1.). Die Zunahme des regionalen Blutfluß und Blutvolumens ist schließlich in Einklang mit den Ergebnissen der Butanol- und $H_2^{15}O$ PET, die Anstiege des rCBF zum Teil auch quantitativ für funktionelle Aktivierung in zahlreichen Studien nachgewiesen haben (Grafton et al. 1993; Grafton et al. 1991; Quarles et al. 1993).

Es sollte an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß einer Reihe von Studien in der Literatur keine klare Definition des erwarteten Antwortverhaltens der NIRS Parameter über einem funktionell aktivierten Areal zugrunde liegen. Teils werden nur die Anstiege des [oxy-Hb] berichtet oder auch Anstiege des [deoxy-Hb] als Zeichen funktioneller Aktivierung des untersuchten Areals gewertet. Wir halten es für notwendig, solche Antwortmuster, die nicht mit dem Konzept eines lokalen Anstiegs des rCBF und einer resultierenden Hyperoxygenierung in Einklang sind, physiologisch zu begründen, da sie im Gegensatz zu der Evidenz zahlreicher funktioneller Studien mit der BOLD-Kontrast fMRT und der PET stehen. In Neugeborenen und Kleinkindern wurden fokale Abfälle des BOLD-Kontrast bei funktioneller Stimulation in der fMRT berichtet (Yamada et al. 1997; Born et al. 2000; Martin and Marcar, 2001). Diese Ergebnisse mögen darauf hinweisen, daß es auch physiologische Abweichungen von dem beschriebenen Antwortverhalten gibt. Bei der NIRS ist jedoch, solange keine sichere Definition des Meßvolumens vorliegt, bei der Interpretation der Ergebnisse zu bedenken, daß Änderungen der systemischen (Blutdruck) oder der extracerebralen Hämodynamik durchaus zu einer Änderung der gemessenen [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] Konzentrationen führen. Die sichere Zuordnung zu cerebralen Prozessen gelingt daher nur, wenn ein physiologisches Modell (wie etwa der Vergleich zwischen ipsi- und kontralateraler motorischer Stimulation), ein Ansatz zur Tiefenauflösung (siehe A.3.) oder eine physiologische Plausibilisierung aufgrund der Fokalität der gemessenen Änderungen (siehe ‚Bildgebung‘, Kapitel A.4.) vorliegen. Diese Forderung erscheint insbesondere dann relevant, wenn Muster der NIRS-Antwort gefunden werden, die nicht aus dem oben beschriebenen Modell der neurovaskulären Kopplung folgen.

Die von uns beschriebene ‚typische Antwort‘ über einem aktivierten cortikalen Areal, bestehend aus einem Anstieg des [oxy-Hb] und einem Abfall des [deoxy-Hb], ist mit dem physiologischen Modell der neurovaskulären Kopplung konsistent, wie sie in einer Reihe anderer Verfahren und auch im Tiermodell gut belegt ist. Im folgenden Abschnitt werden die Studien berichtet, die unsere Gruppe zur Validierung des Antwortverhaltens im Methodenvergleich durchführte.

B.2.: Korrelation mit vaskulär-basierten funktionellen Methoden

B.2.1.: Simultane NIRS und BOLD-Kontrast fMRT Messungen

(Kleinschmidt et al. 1996)*

BOLD-Kontrast Änderungen in funktionell aktivierten cerebralen Arealen stellen derzeit den wohl relevantesten Parameter zur nicht-invasiven Darstellung funktioneller Anatomie am Menschen dar. Zwei unserer Studien untersuchten die Korrelation zwischen BOLD-Kontrast Änderungen und den simultan gemessenen NIRS Parametern. Die erste Studie nutzte das oben beschriebene motorische Paradigma in einem Blockdesign (Blöcke von 18 s kontinuierlicher Fingeropposition, die alternierend ipsi- und contralateral zur Positionierung der NIRS-Proben über der linken Zentralregion ausgeführt wurden; 36 s Ruhe zwischen den Stimulationsblöcken). Die Proben wurden über C3 lokalisiert und teils aufgrund des anatomischen MR repositioniert. Das Ergebnis ist eine gute Korrelation des [deoxy-Hb] Abfalls mit dem BOLD-Kontrast Anstieg. Bei Fehlpositionierung der NIRS-Proben, wurde kein stimulus-korrelierter [deoxy-Hb] Abfall gesehen. Die Änderungen des [oxy-Hb] korrelierten weniger gut mit den Änderungen des BOLD-Kontrastes. In einer weiteren Studie wurde ein single-trial Design untersucht. Außerdem wurde bei den Versuchspersonen in einem Vorexperiment nicht-invasiv der Blutdruck gleichzeitig zu den Oxygenierungsänderungen aufgezeichnet. Bezüglich der Korrelation zwischen BOLD-Kontrast Änderungen und dem Abfall des [deoxy-Hb], gemessenen mit der NIRS, ergaben sich ähnliche Ergebnisse. Auch in diesem single-trial Ansatz waren die stimulations-korrelierten [deoxy-Hb]-Abfälle dann am deutlichsten, wenn die Proben über dem Areal des maximalen cerebralen BOLD-Kontrast Anstieges lokalisiert waren. Bei ipsilateraler motorischer Aktivierung ergaben sich in beiden Verfahren geringere Änderungen der Parameter. In diesem Zusammenhang sind die Ergebnisse der Vorstudie mit simultaner kontinuierlicher RR-Messung bemerkenswert.

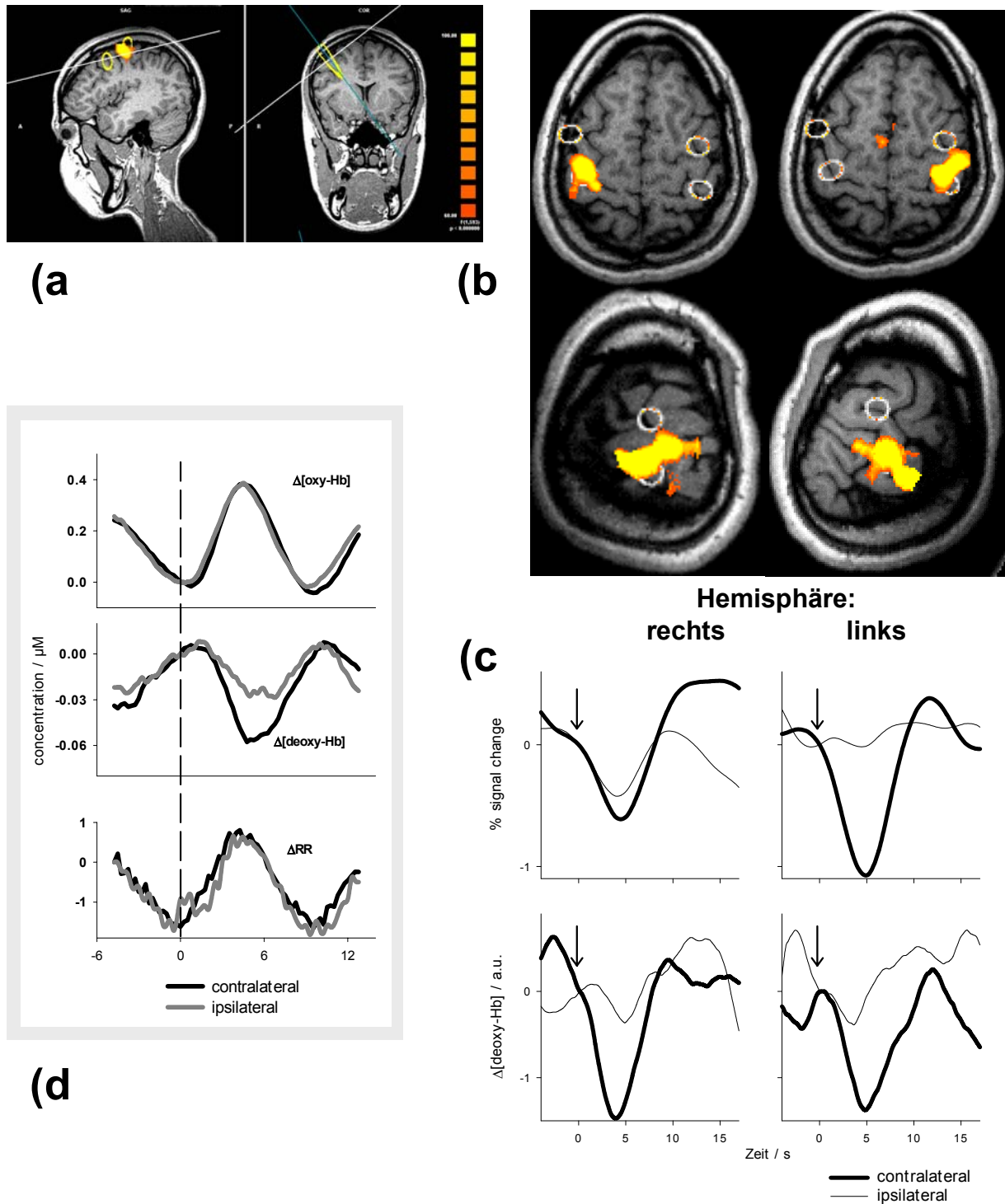


Abb. 17: Single-trial Studie bei motorischer Stimulation (einfache Fingerextension und -flexion). Änderungen des BOLD-Kontrastes und Änderungen der Oxygenierung wurden mit fMRT und einem Zweikanal-NIRS Ansatz simultan registriert. Die NIRS Probenpaare waren über den beiden Zentralregionen im Bereich der motorischen Repräsentanz der Finger angebracht (C3' und C4' nach dem 10-20-System). **(a)** zeigt die dreidimensionale Rekonstruktion des Meßvolumens der NIRS. In **(b)** sind neben den sagittalen Schichten auch die tangentialen (rekonstruierten) Schichten bei Stimulation der linken und rechten Hand dargestellt. Damit lassen sich die NIRS-Proben (weiße Kreise) direkt auf die gemessenen BOLD-Kontrast Änderungen projizieren. **(c)** zeigt die Verläufe des $[\text{deoxy-Hb}]$ bei Durchführung der Fingerbewegung in der ipsilateralen (dünne Spur) und contralateralen (dicke Spur) Hand und die entsprechenden Verläufe des BOLD-Kontrastes (invertiert dargestellt, zur besseren Vergleichbarkeit). In **(d)** sind

die Ergebnisse des Vorexperimentes dargestellt. Hier zeigt sich, daß die Änderungen des systemischen Blutdrucks, gemessen mit einer nicht invasiven kontinuierlichen plethysmographischen Methode (Finapres, Ohmeda), im Zeitgang den gemessenen Änderungen der hämodynamischen Parameter ähneln. Die Lateralisierung der [deoxy-Hb] Antwort ist aber ein sicheres Indiz für den kortikalen Ursprung der gemessenen Antwort. Analog zu den Ergebnissen im Blockdesign (Kleinschmidt et al. 1996)* zeigte sich eine gute Korrelation zwischen den BOLD-Kontrast Änderungen und den Änderungen des [deoxy-Hb] bei Lokalisation der NIRS Proben über dem Maximum der BOLD-Änderung.

Wie Abb. 15 zeigt, folgen die RR-Änderungen in diesem single-trial design einer ähnlichen Dynamik wie die NIRS-Parameter. Die [deoxy-Hb] Änderungen sind allerdings klar lateralisiert, während die [oxy-Hb] Änderungen bei dieser kurzen Stimulation keine sichere Lateralisierung aufweisen. Die fehlende Lateralisierung der [oxy-Hb] deutet darauf hin, daß dieser Parameter stärker auch systemische Änderungen des Blutfluß abbildet, die wahrscheinlich auch einen Anteil am initialen ‚overshoot‘ des Parameters im motorischen Block-Design Experiment unter B.1.1. ausmachen.

Biophysikalisch wurde bereits früh die Konzentrationsänderung des paramagnetischen deoxy-Hb im Sinne eines ‚endogenen Kontrastmittels‘ als wichtigste Einflußgröße postuliert (Ogawa and Lee, 1990). Physiologische Modelle wurden beschrieben, die den Abfall der lokalen deoxy-Hb Konzentration aus dem Zusammenspiel der Änderungen des regionalen cerebralen Blutflusses (rCBF) und den fokalen Änderungen des Sauerstoffmetabolismus (rCMRO₂) entwickeln (Villringer and Dirnagl, 1995) (s. Abb. 12). Die grundsätzliche Annahme eines lokalen Abfalles des [deoxy-Hb] bei funktioneller Aktivierung kann aufgrund der großen experimentellen Evidenz als gesichert gelten. Jedoch sind neben den alle vaskulären Methoden betreffenden Fragen zur neuro-vaskulären Kopplung auch die Fragen zur Linearität des BOLD-Kontrast fokussiert worden (Boynton et al. 1996). Die Erforschung der Physiologie des BOLD Kontrastes muß also zwei Relationen berücksichtigen. Zum einen die Interaktion weiterer vaskulärer Parameter (rCBF, rCBFv, rCBV, rCMRO₂ und O₂-uptake) mit der deoxy-Hb Konzentration; weiterhin ist aber auch zu fragen, ob das Verhältnis zwischen der deoxy-Hb Konzentration und dem BOLD-Kontrast linear ist (vergl. Abb. 13). Schließlich ist die Quantifizierung der [deoxy-Hb]-Konzentration und ihrer Änderungen bisher anhand des gemessenen BOLD-Kontrastes nicht möglich. Hier werden diese Fragestellungen erwähnt, da die Studien zur simultanen NIRS-fMRT-Messung nicht allein der methodischen Validierung der NIRS dienen, sondern umgekehrt die NIRS auch ein unabhängiges Meßverfahren zur [deoxy-Hb] Bestimmung mit der Option einer Quantifizierung der Änderungen darstellt. In der Zusammenschau der Ergebnisse besteht zwischen dem durch die NIRS gemessenen [deoxy-Hb] Abfall und dem Anstieg des BOLD-Kontrastes in einem aktivierten kortikalen Areal eine Korrelation. Diese Korrelation bedeutet für die MRT eine methodisch unabhängige Bestätigung der wichtigsten physiologischen Einflußgröße des BOLD-Kontrastes. Für die NIRS folgt, daß ein [deoxy-Hb] Abfall über einem aktivierten Areal zu erwarten ist. Die grundsätzliche Korrelation zwischen den beiden Meßparametern begründet auch die

Wertigkeit von NIRS-Studien zur Frage nach linearen und nicht linearen Aspekten des BOLD-Kontrastes und seiner physiologischen Konstituenten. Dies wird im Abschnitt B.4. weiter thematisiert.

B.2.2.: Simultane NIRS und H₂O-PET

(Villringer et al. 1997)

Mit markiertem Wasser (H₂¹⁵O) läßt sich in der PET regionaler Blutfluß (rCBV) darstellen. Im Gegensatz zum BOLD-Kontrast ist die Parameter-Spezifität hoch. Nachteile der PET sind im Vergleich zur fMRT die geringere räumliche Auflösung. Weiterhin ist die Erhebung repetitiver Aktivierungen in einer Versuchsperson durch den Strahlenschutz limitiert, so daß häufig Gruppenanalysen notwendig und intraindividuelle Vergleiche nicht möglich sind. Auch im Vergleich zur NIRS ist die zeitliche Auflösung sehr begrenzt, da nur ein Differenzbild zwischen einem Ruhe- und einem Aktivierungszustand darstellbar ist, der Zeitverlauf der vaskulären Antwort jedoch nicht untersucht werden kann. Bei kognitiven Aufgaben (Stroop-Paradigma und Rechenaufgaben) untersuchten wir die Korrelation zwischen den Parametern der NIRS und dem rCBV, gemessen mit der PET. Es ergab sich eine gute Korrelation zwischen rCBV und dem [tot-Hb]. Anhand einer groben Modellierung des Meßvolumens erlaubte sich weiterhin eine Abschätzung der Eindringtiefe des Lichtes ins Gewebe. Die Korrelation zwischen den Parametern war am besten, wenn von einem halbkugelförmigen kortikalem Meßvolumen von 0,9 cm Radius ausgegangen wurde.

Das Experiment bestätigt die Validität des oben beschriebenen Antwortmusters bei kortikalen Änderungen der Hämodynamik und zeigt die grundsätzliche Übereinstimmung der hämodynamischen Änderungen in einem aktivierten kortikalen Areal zwischen den beiden verschiedenen ‚vaskulären‘ Methoden. Die NIRS kann im Gegensatz zur PET Aussagen über den Zeitverlauf der Blutflußänderungen machen und bietet sich daher als zusätzliche Methode im Rahmen von PET Untersuchungen an. Die Anwendung im Rahmen funktioneller Untersuchungen wird durch die relative Invasivität der PET spezifischen Fragestellungen vorbehalten bleiben. Eine relevante Option ergibt sich hier aus der Möglichkeit der absoluten Quantifizierung des rCBF in der PET¹⁸.

¹⁸ Es ist zu betonen, daß regionaler cerebraler Blutfluß einen vergleichsweise basalen physiologischen Parameter darstellt, und die Stärke der PET, diesen Parameter quantitativ und relativ direkt zu bestimmen, nicht unterschätzt werden darf. Die Differenzierung von Änderungen der Flußgeschwindigkeit (rCBFv) und des Blutvolumens (rCBV) oder gar die aus beiden resultierende lokale Konzentration des [deoxy-Hb] setzen physiologisch deutlich komplexere Modelle voraus. Wenn in der Literatur von der ‚vaskulären Antwort‘ die Rede ist, ist zumeist der rCBF gemeint.

B.2.3.: Simultane NIRS und TCD

(Hirth et al. 1997)

Ähnlich der NIRS stellt die transcranielle Dopplersonographie (TCD) ein bed-side Verfahren dar, das jedoch seit längerer Zeit den Stellenwert einer klinische Routineanwendung erreicht hat. Da die TCD die Hämodynamik der großen Gefäße, die NIRS hingegen vor allem die Hämoglobinoxygenierung des kapillären cortikalen Bettes abbildet, erscheint auch klinisch die Kombination beider Methoden sinnvoll. Im Rahmen der Reservekapazitäts-Untersuchungen bei Stenosen der hirnversorgenden Arterien, könnte eine Änderung der cortikalen Oxygenierung zusätzliche relevante Information liefern. In der Literatur liegen Studien zur Carotisstenose (Kirkpatrick et al. 1998a; Kirkpatrick et al. 1995; Smielewski et al. 1998; Smielewski et al. 1997) aber auch zu anderen Anwendungen bei cerebrovaskulären Erkrankungen (Vernieri et al. 1999) vor. In der hier dargestellten Studie untersuchten wir die Korrelation zwischen der MCA-Flußgeschwindigkeit und den Änderungen der NIRS-Meßparameter bei einem motorischen Paradigma, analog zu den oben beschriebenen Studien (unilaterale Fingeroppositionsaufgabe im Block-Design). Es korrelierten die Änderungen der MCA-CBFv mit den Änderungen der oxy-Hb-Konzentration im abhängigen cortikalen Areal. Dieses Ergebnis unterstützt die These, daß die [oxy-Hb] Änderungen vom arteriellen input deutlicher beeinflusst werden als die weiteren Parameter der NIRS. Der initiale ‚overshoot‘, der bei den NIRS-Studien im [oxy-Hb] gesehen wurde, zeigte sich bei der kombinierten Studie auch in den Flußgeschwindigkeiten der versorgenden MCA.

Zur Zeit untersuchen wir ein visuelles Paradigma zur Frage nach der Frequenzabhängigkeit der Flußgeschwindigkeitsänderung in der PCA (A. cerebri posterior), gemessen mit der TCD, in Kombination mit dem bildgebenden NIRS System (Halbfeldstimulation bei 3, 5 und 8 Hz). Das Interesse gilt vor allem auch dem Verhalten der hämodynamischen Parameter nach Beendigung der funktionellen Stimulation, da in der TCD zum Teil kurzzeitige Anstiege der flow velocity in der post-Stimulationsphase gesehen wurden.

Die Studien im Methodenvergleich konsolidieren die vorangehend beschriebene ‚typische Antwort‘ über einem funktionell aktivierten cortikalen Areal. Die wichtigste Analogie besteht zwischen dem BOLD-Kontrast der fMRT und den Änderungen der deoxy-Hb Konzentration. Die Parameter-Spezifität aber auch die Möglichkeit, Änderungen der Oxygenierung zu quantifizieren, stellen in diesem Zusammenhang klare Vorteile der NIRS dar. Die rCBF Messungen der PET und die CBFv Messungen der großen cerebralen Gefäße mit der TCD demonstrieren weiterhin die Option, mit der NIRS, bei funktionellen Studien cortikale Änderungen der Hämoglobinoxygenierung zu untersuchen. Dabei sind die zeitliche Auflösung der NIRS einerseits, andererseits die Beschreibung der

hämodynamischen Änderungen im kortikalen Kapillarbett Beiträge der NIRS bei gleichzeitiger Anwendung. In der Zusammenfassung sollte weiterhin betont werden, daß die relativ einfache Anwendung der NIRS in Kombination mit den apparativ aufwendigeren Methoden (MRI / PET) die Möglichkeit eröffnet, nach einer initialen, simultanen Untersuchung, regelmäßige Verlaufs-Untersuchungen am Krankenbett durchzuführen. Neben dieser klinischen Perspektive ist im Rahmen der Untersuchung der Physiologie der vaskulär-basierten bildgebenden Verfahren die Möglichkeit der simultanen Messungen auch von hoher Relevanz. Indem die NIRS mit der PET und der fMRT, relativ einfach aber auch mit elektrophysiologischen Methoden zu kombinieren ist (siehe B.3.), kann sie einen Beitrag dazu liefern, die methodisch verschiedenen Abbilder der Hirnfunktion zu einem realistischeren Gesamtbild zusammenzufügen.

B.3.: Oxygenierungsänderungen in Ruhe und bei ‚Deaktivierung‘

Bei funktionellen Studien wird meist ein Ruhezustand des Gehirns einem aktivierten gegenübergestellt. Die Differenz zwischen den beiden Zuständen wird als ‚Aktivierung‘ beschrieben und ggf. kartographiert. Beide ‚Zustände‘ sind jedoch grobe Vereinfachungen. Das ‚ruhende Gehirn‘ ist ein Konstrukt, dessen Schwäche bereits deutlich wird, wenn ohne Bezug auf apparative Verfahren, rein psychophysisch ein solcher Zustand beschrieben werden soll. Bei der apparativen Untersuchung der Hirnfunktion werden nicht allein im Hinblick auf die vaskulär-basierten Meßverfahren (Biswal et al. 1996) spontane oder nicht ereigniskorrelierte Änderungen der Parameter meist als ‚biologisches‘ Rauschen verstanden. Bei der Darstellung evozierter visueller Potentiale etwa liegen die interessierenden Potentiale unterhalb der Größenordnung der Frequenzbänder, etwa des α -Rhythmus, die im spontanen EEG abgeleitet werden und lassen sich erst durch multiple Mittelungen darstellen. Das ‚biologische Rauschen‘ überlagert stimulationsbedingte Änderungen der Meßparameter, ungünstiger noch kann es sich in Amplitude, Frequenz und Phase aufgrund der Stimulation verändern, so daß die Stimulus-korrelierten und die spontanen Änderungen teils schwer getrennt werden können. Die ‚Aktivierung‘ stellt damit ebenso keinen stabilen Zustand des Gehirns dar. Für die vaskulären Verfahren sind Puls und die Atmung notwendige Überlagerungen der stimulationskorrelierten Änderungen. Elektrophysiologisch sind Habituationsphänomene des Antwortverhaltens beschrieben worden (Wastell and Kleinman, 1980) und den exzitatorischen stehen inhibitorische Vorgänge gegenüber, die ebenfalls für die korrekte Ausführung des Paradigmas relevant sind (etwa die Unterdrückung von ‚Spiegelbewegungen‘ bei unilateraler Fingerbewegung (Shaffer, 1982; Leinsinger et al. 1997)).

In den folgenden Abschnitten werden Studien zusammengefaßt, die sich mit spontanen Oszillationen der cerebralen Hämoglobinoxxygenierung und mit dem Phänomen der ‚Deaktivierung‘ beschäftigen. Eine Studie zu Fragen der Habituation wird im folgenden Abschnitt behandelt.

B.3.1.: Spontane langsame Oszillationen der Hämodynamik und des Metabolismus über dem visuellen Cortex.

(Obrig et al. 2000a)*

Langsame spontane Oszillationen der cerebralen Hämodynamik und des cerebralen Metabolismus sind in mehreren Spezies mit unterschiedlichen Methoden gut untersucht (Giller et al. 1993; Hudetz et al. 1998; Mayhew et al. 1996). Charakterisiert werden sie durch die Spontanität, die Unabhängigkeit von Atmung und Herzschlag, sowie durch ihre Modulierbarkeit parallel zu Änderungen verschiedener physiologischer Parameter. Die Ergebnisse der Studien sind jedoch heterogen bezüglich der genauen Frequenz, der Modulierbarkeit und auch des physiologischen Ursprungs der Oszillationen. Das Interesse an diesen Oszillationen für funktionelle Studien leitet sich zunächst aus ihrem Beitrag zum physiologischen Rauschen ab. Da die Oszillationen ein Frequenzband um 0,1 Hz aufweisen (LFO, low frequency oscillations), ist dies insbesondere für Studien mit sehr kurzen Einzelstimuli (single-trial oder event-related design) relevant, da die erwartete Antwortfunktion im gleichen Frequenzbereich liegt. Andererseits ist in den letzten Jahren mit der funktionellen Kernspintomographie gezeigt worden, daß anhand spontaner Oszillationen cerebrale Konnektivität (etwa zwischen den motorischen Cortices) in Ruhemessungen dargestellt werden kann (Biswal et al. 1995). Schließlich liefert eine tierexperimentelle Studie Hinweise dafür, daß im Rahmen cerebraler Ischämien die Oszillationen moduliert werden (Mayevsky and Ziv, 1991), so daß ein weiteres Interesse für die potentielle Anwendung bei der Überwachung von Ischämiepatienten besteht. Unsere Studie zielt auf die systematische Untersuchung der Oszillationen, die in allen genannten funktionellen Studien mit der NIRS in den Rohdaten gesehen wurden. Wir konnten zeigen, daß die Oszillationen über dem occipitalen Cortex mit der NIRS dargestellt werden können und daß das Verhältnis der Amplitude der spontanen Oszillationen zu der Amplitude der Antwort für die einzelnen Parameter unterschiedlich ist ([oxy-Hb] >> [deoxy-Hb]). Auch besteht eine Phasenverschiebung zwischen den verschiedenen berechneten NIRS-Parametern ([oxy-Hb], [deoxy-Hb] und [Cyt-ox]). Schließlich zeigt sich, daß Amplitude und Phasenverschiebung durch funktionelle Stimulation des visuellen Cortex Areals moduliert werden (Schachbrettstimulation bei 8Hz über 2 min, alternierend mit 2 min langen Ruhephasen). Unsere Ergebnisse liefern bezüglich der Anwendung der NIRS für funktionelle Studien wichtige Ergebnisse insbesondere für die Frage nach dem Signal-Rausch-Verhältnis in den unterschiedlichen Parametern. Die geringe Lateralisierung der [oxy-Hb]-Antwort bei der unter B.2.1. dargestellten Studie mit einem motorischen single-trial Paradigma ist unter Berücksichtigung der Ergebnisse teils auch mit der Dominanz der Oszillationen im [oxy-Hb] zu erklären. In diesem Parameter war die Amplitude der LFO (0,1 Hz) in einigen Versuchspersonen deutlich größer als die stimulusinduzierte Konzentrationsänderung des Parameters. Die Modulierbarkeit der Oszillationen durch Hyperkapnie (Biswal et al. 1997) und auch durch die funktionelle cerebrale Aktivierung zeigt

einen Zusammenhang der Oszillationen mit der Regulation der cerebralen Hämodynamik, der im Rahmen pathologischer Alterationen von Interesse ist. Bezüglich der Nutzung zur Darstellung funktioneller Konnektivität ist vor kurzem in unserer Gruppe die Darstellung für die fMRT etabliert worden. Ein kombinierter Ansatz (NIRS-fMRT) ist bereits in Pilotexperimenten getestet worden. In diesem Experiment zeigt sich, daß durch die Darstellung verschiedener Parameter der vaskulär – metabolischen Antwort ([oxy-Hb] [deoxy-Hb] und [Cyt-ox]) physiologische Mechanismen untersucht werden können, die etwa der fMRT nicht zugänglich sind. Die Phasen und Amplitudendifferenz zwischen den Parametern erlaubt es, Thesen zum Zusammenspiel zwischen Blutvolumen und – flußgeschwindigkeit zu prüfen. Hier sehen wir auch zukünftig ein Potential der Methode im Zusammenhang mit grundlegenden physiologischen Fragestellungen der vaskulären Verfahren.

B.3.2.: Fokale Hypoxygenierung bei sakkadischer Suppression des visuellen Cortex

(Wenzel et al. 2000)*

Wie im Exkurs ‚Neuro-vaskuläre Kopplung‘ skizziert stellen die bildgebenden Verfahren ein indirektes Abbild cerebraler Prozesse dar. Vereinfachend werden Areale als ‚aktiviert‘ bezeichnet, die einen Anstieg des regionalen Blutflusses (rCBF) oder des regionalen Metabolismus zeigen. Der Abfall des [deoxy-Hb] wird dabei verstanden als Ausdruck eines disproportional großen Anstiegs des lokalen Blutfluß (rCBF) bei nur geringem Anstieg des lokalen Sauerstoffverbrauches (rCMRO₂) (Fox and Raichle, 1986). Ein solcher [deoxy-Hb]-Abfall wurde oben als typische NIRS-Antwort über einem ‚aktivierten‘ kortikalen Areal beschrieben, auch wurde die Korrelation zur BOLD-Kontrast gestützten fMRT gezeigt. Aus neurophysiologischen Untersuchungen im Tiermodell ist andererseits bekannt, daß Neuronen auf bestimmte Stimuli mit einer Abnahme der Spike-Frequenz reagieren (Duffy and Burchfiel, 1975). In Analogie zur ‚Aktivierung‘ wurde daher der Begriff der ‚Deaktivierung‘ geprägt, der jedoch auf physiologischer Ebene ein nicht einheitlich gefaßtes Phänomen darstellt (siehe Exkurs 1). Hierfür wird angenommen, daß eine geringere Spikefrequenz zu einem geringeren metabolischen Bedarfs an Sauerstoff und Glucose führt. Intuitiv erscheint der Abfall des lokalen Blutfluß plausibel, allerdings ist für einen lokalen BOLD-Abfall zu fordern, daß es zu einem lokalen Anstieg des [deoxy-Hb] kommt. Dieser ist nur dann zu erklären, wenn der Abfall des lokalen Blutflusses größer ist als der Abfall des lokalen Sauerstoffbedarfs. Dies erscheint intuitiv physiologisch unplausibel, da eine fokale Hypoxygenierung resultiert. Das Phänomen des negativen BOLD-Kontrastes wurde zuvor beschrieben (Fransson et al. 1999a), in der vorliegenden Studie war das Ziel, anhand eines physiologischen Modells die Änderungen der Oxygenierung mit der NIRS zu untersuchen, um die Hypothese zu prüfen, ob die hämodynamische Antwort auf eine Abnahme der kortikalen Aktivität mit inversen Änderungen von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] einhergeht. Für das visuelle System ist

psychophysiologisch eine sakkadische Suppression bereits lange bekannt. Sie besagt, daß während einer Sakkade ein visueller Stimulus schlechter oder nicht wahrgenommen wird. Neuronal ließ sich im Makaken der Abfall der Spikerate nachweisen (Duffy and Burchfiel, 1975). Für den Menschen zeigt eine rezenter PET Studie einen Abfall des rCBF in striären und extrastriären visuellen Arealen, der mit der Sakkadenfrequenz korreliert (Paus et al. 1995). Im vorliegenden Experiment wurden Probanden mit der BOLD-Kontrast fMRT und mit der NIRS untersucht, während sie Sakkaden unterschiedlicher Frequenz ausführten. Die Sakkaden waren akustisch getriggert und wurden in Dunkelheit ausgeführt, um einen visuellen Input zu verhindern. Im Vergleich zum ‚Ruhezustand‘ zeigte sich ein Abfall des BOLD-Kontrastes in der fMRT. Mit der NIRS sahen wir einen Anstieg der deoxy-Hb- bei gleichzeitigem Abfall der oxy-Hb-Konzentration. Die so nachgewiesene Hypoxygenierung zeigte weiterhin eine Abhängigkeit von der Sakkadenfrequenz. Das Experiment ist relevant für das Verständnis der Signalphysiologie des BOLD-Kontrastes. Der Ruhezustand bei Aktivierungsstudien muß auch für die vaskulären Verfahren besser als regionaler hämodynamisch-metabolischer Zustand verstanden werden, der abhängig vom wechselnden metabolischen Bedarf hinauf- oder herabreguliert wird. Zu- und Abnahmen der Spikefrequenz in bestimmten corticalen Arealen auf geeignete Stimuli spiegeln sich in Änderungen des regionalen Blutfluß wider, die sich als relative Hyper- oder Hypoxygenierung darstellen können.

B.4.: Aspekte der Linearität

Wie oben beschrieben wird in funktionellen Untersuchungen des Gehirns ein Stimulationsparadigma in Relation zu einem gemessenen Parameter gesetzt. Ziel ist es, diese Korrelation möglichst allgemeingültig zu beschreiben. Für die vaskulär-basierten Methoden ist zu berücksichtigen, daß sich die Übersetzung des Stimulus in die gemessene Änderung eines Parameters unterteilen läßt in die Transformation (1) des Stimulus in eine neuronale Antwort, (2) die neuro-vaskuläre Übersetzung und schließlich (3) die Transformation des physiologischen Parameters der vaskulären Antwort (rCBF, rCBFv, rCBV) in den jeweiligen Meßparameter. Werden Intensität und Dauer des Stimulus variiert, so läßt sich aus dem respektiven Antwortverhalten näherungsweise die Natur der jeweiligen Transformation beschreiben. Hierbei bieten sich lineare Aspekte des Antwortverhaltens naturgemäß dem Ziel der Verallgemeinerung an. In der Literatur zur Physiologie des BOLD-Kontrastes liegen aus den letzten Jahren eine Reihe von Arbeiten zu linearen und nicht-linearen Aspekten des Antwortverhaltens vor, die so die zum Teil groben Vereinfachungen initialer funktioneller Studien einer differenzierteren Sicht zugänglich machen (Boynton et al. 1996). (Siehe auch Exkurs 2: ‚Neuro-vaskuläre Kopplung‘). Es ist aber zu berücksichtigen, daß die Transformation der hämodynamischen Antwort in die gemessene BOLD-Antwort diesen Untersuchungen nicht zugänglich ist, und physiologische Modelle oder Annahmen bemüht werden müssen, um Aussagen zu treffen. Gleiches gilt für die Parameter der NIRS. Aus dem dargestellten, engen Verhältnis der [deoxy-Hb]- zu den

BOLD-Kontrast-Änderungen und der hohen Parameter-Spezifität sowie der physikalisch begründeten, einfacheren relativen Quantifizierung der NIRS-Parameter ergibt sich jedoch die Möglichkeit, die für den BOLD-Kontrast getroffenen Aussagen mit der NIRS prüfen. Es zu betonen, daß diese Untersuchungen keinesfalls allein die Funktion der Wiederholung mit einem weniger etablierten Verfahren darstellen, sondern im Gegenteil eine hohe Relevanz für die Physiologie der fMRT haben. Die erste der hier zusammengefaßten Studien bestätigt Ergebnisse zur Anwendung des linearen Transfer Modell. In einer zweiten Studie wird untersucht, inwiefern prolongierte Stimulation zu einer Attenuierung der hämodynamischen Antwort führt. Diese Frage wurde in der Literatur zur BOLD-Physiologie kontrovers diskutiert und gründete sich zum Teil auf die Annahme einer metabolischen Adaptation während solcher prolongierter, funktioneller kortikaler Aktivierung (siehe auch Exkurs 2). Die dritte Studie stellt einen anderen Ansatz dar. Hier wurde simultan zu den Änderungen der kortikalen Oxygenierung die Amplitude der VEP-Komponenten registriert. Aus dem Vergleich des Habitationsverhaltens in den hämodynamischen und neurophysiologischen Parametern werden Rückschlüsse auf die neuro-vaskuläre Kopplung gezogen.

B.4.1.: Modellierung der NIRS-Antwort als Impuls-Response

Funktion

(Wobst et al. 2001)*

In Anlehnung an Studien zum BOLD Kontrast (Boynton et al. 1996; Vazquez and Noll, 1998; Miller et al. 2001) wurden Aspekte der Linearität der NIRS-Antwort bezüglich der Prädiktion längerer aus kurzen Stimulationsantworten untersucht. Dazu wurde Probanden ein Schachbrett Stimulus von 3 s, 6s, 12 s und 24 s Dauer in randomisierter Folge präsentiert. Die Wechselfrequenz des Schachbretts betrug 8 Hz. Anhand der Ergebnisse ließ sich nun überprüfen, ob sich durch lineare Superposition die Ergebnisse der längeren aus den kürzeren Stimulationsantworten prädizieren lassen. Bei relativ guter Prädiktion der 6 - 24 s langen Stimulationsepochen für die Parameter [deoxy-Hb] und [Cyt-ox] wurde in einem nächsten Schritt ein parametrisches Modell für die Impuls-Response Funktion bestimmt. Für Änderungen der deoxy-Hb Konzentrationen ergeben sich in dieser Modellierung Werte, die den für den BOLD-Kontrast berichteten entsprechen. Das Experiment bestätigt einerseits erneut die enge Beziehung des BOLD-Kontrastes zur lokalen Konzentration des deoxy-Hb. Von Interesse ist weiterhin die Anwendbarkeit auf den metabolischen Parameter [Cyt-ox] und die geringe Prädiktibilität für [oxy-Hb] und [tot-Hb]. Die gute zeitliche Auflösung der NIRS läßt auch die Untersuchung der hämodynamischen Antwort auf sehr kurze Stimuli zu, für die ein nicht-lineares Verhalten beschrieben wurde (Liu and Gao, 2000).

B.4.2.: Antwortverhalten bei prolongierter funktioneller Stimulation

(Heekeren et al. 1997)

Die Grundlage des BOLD-Kontrast Anstieges in einem ‚aktivierten‘, cortikalen Areal ist eine lokale Hyperoxygenierung. Wie in Kapitel B.3.2. gezeigt, kann ein Abfall des BOLD-Kontrastes eine Deaktivierung des cortikalen Areals widerspiegeln. Andererseits wurde in einigen Studien eine Attenuierung des BOLD-Kontrastes bei prolongierter Stimulation beschrieben, so daß die Frage besteht, ob der Abfall des BOLD-Kontrastes bei prolongierter Stimulation Zeichen einer stimulus-unabhängigen ‚vaskulären Habituation‘ verstanden werden kann und damit ein nicht-lineares Verhalten der neurovaskulären Kopplung bei prolongierter Stimulation besteht. Die Differenz zwischen dem überproportionalen Anstieg des lokalen Blutflusses (rCBF) und dem geringeren Anstieg des Sauerstoffverbrauchs (rCMRO₂) wurde bereits 1986 von Fox und Raichle mit der PET beschrieben (Fox and Raichle, 1986). Zur Erklärung des Phänomens bestehen jedoch unterschiedliche Theorien, die im Exkurs 2 kurz skizziert sind. Die vorliegende Studie untersuchte die Dynamik der oxy- und deoxy-Hb Änderungen bei visueller Stimulation mit einem stationären farbigen Stimulus. Dieser wurde über 5 min präsentiert und 8 Stimulationsphasen wechselten mit Ruhephasen (grauer Bildschirm) von 3 min Dauer. Das Interesse richtete sich auf die Veränderung der deoxy-Hb Konzentration über die Dauer der 5-minütigen Stimulationsphasen. Es ergab sich ein klarer Unterschied zwischen den [oxy-Hb] und den [deoxy-Hb] Änderungen. Die Konzentration des oxy-Hb erreicht nach ~ 20s ein Plateau, das bis zum Ende der Stimulation relativ stabil bleibt. Im [deoxy-Hb] ergibt sich ein initiales Minimum nach ~ 15 s, das bei einer Rückbildungstendenz über ~15 s nach 40 s ein neues Plateau erreicht. Nach Beendigung der Stimulation zeigt sich ein deutliches overshoot-Phänomen (Anstieg des [deoxy-Hb], entsprechend einem ‚undershoot‘ wie er für den BOLD-Kontrast bei fMRT Studien beschrieben wurde). Die Ergebnisse lassen sich unterschiedlich interpretieren. Eine einfache, aufmerksamkeitsbedingte Attenuierung der [deoxy-Hb] Antwort ist aufgrund der konstanten [oxy-Hb] Antwort unwahrscheinlich. Daher wurden die Ergebnisse im Sinne der von Frahm vorgeschlagenen Theorie des partiellen ‚recoupling‘ interpretiert (Frahm et al. 1996). Ebenfalls im Sinne dieser Theorie ließ sich zeigen, daß die Größe des initialen ‚undershoot‘- und post-Stimulus ‚overshoot‘ Phänomens korrelierten.

Berücksichtigt man die Arbeiten der letzten Jahre insbesondere auch zum BOLD-Kontrast der fMRT, so ist die Theorie des metabolischen ‚Umschaltens‘ (oxidativ zu nicht-oxidativ) nicht als einzige Erklärung für die fokale Hyperoxygenierung zu halten. Die Differenzen zwischen den Studien und die unterschiedlichen Ergebnisse bezüglich einer Attenuierung der vaskulären Antwort müssen vor allem auch den Einfluß unterschiedlicher Stimulusmodalitäten sowie neuronaler Habituation berücksichtigen (siehe auch folgende Studie). Bei einem Teil der Probanden führten wir in der Folge das hier

beschriebene Protokoll mit einem Schachbrettmuster-Stimulus durch. Die Attenuierung der [deoxy-Hb] Antwort wurde hier nicht gesehen.

B.4.3.: Habituationsverhalten der neuronalen und elektrophysiologischen Antwort

(Obrig et al. 2002)

Die Ergebnisse der vorangehenden Studie zeigen eine Attenuierung der [deoxy-Hb] Antwort bei prolongierter Stimulation, abhängig vom Stimulationsparameter, so daß auch unter Berücksichtigung der Ergebnisse der rezenten Studien zum BOLD-Kontrast (Howseman et al. 1998; Fransson et al. 1999b) die Hypothese einer Attenuierung auch der neuronalen Antwort plausibler erscheint als die einer rein vaskulären Habituation. Diese Hypothese ist auch für die Frage nach der Linearität der vaskulären Antwort von Bedeutung. Eine Attenuierung der vaskulären Antwort bei fehlender Habituation der neuronalen Antwort impliziert ein nicht-lineares Verhalten der neuro-vaskulären Kopplung. In der vorliegenden Studie wurde daher die Korrelation zwischen einem elektrophysiologischen und den Parametern der NIRS im Verlauf einer Stimulationsperiode untersucht. Verglichen wurde die Amplitude des visuell evozierten Potentials (VEP) und die Änderungen von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] während Stimulationsperioden von ~1 min Dauer, die aus 180 Wechseln eines kreisförmigen Schachbrettmusters bestanden (gleiche Länge der Ruhephasen). Das Ergebnis zeigt eine gute Korrelation zwischen den Oxygenierungsänderungen und der P100N135 Komponente des VEP. Dabei ergaben sich bei Berechnung des Verhältnisses zwischen den [deoxy-Hb] Änderungen pro μV Änderung der VEP-Amplitude gleiche Werte, sowohl wenn der Unterschied zwischen Ruhe und Stimulationsepoche aber auch wenn die Habituationseffekte, also die Attenuation der [deoxy-Hb]-Antwort und der VEP-Amplitude über den Verlauf der Stimulationsepoche, als Grundlage der Berechnung herangezogen wurden. Dies deutet auf lineare Aspekte im Verhältnis der beiden Antwortparameter hin. Auf dieser Basis und mit Bezug auf die Literatur, in der lokale Feldpotentiale und evozierte Potentiale als relativ guten Prädiktor für die vaskuläre Antwort postuliert werden (Logothetis et al. 2001), wurde ein ‚Coupling Index‘ berechnet, der die Änderungen der deoxy-Hb Konzentration, in μM , bezogen auf die Amplitude der VEP-Komponente in μV angibt. Kritisch für eine solche Angabe ist die Frage inwiefern die Meßvolumina beider Methoden ungefähr kongruent sind. Daher untersuchen wir derzeit mit dem bildgebenden NIRS System und einem Array von Elektroden die Frage, ob eine zweidimensionale räumliche Differenzierung möglich ist. Eine weitere Option ist eine grobe Tiefenauflösung der gemessenen NIRS-Parameter, die eine Verringerung des partial volume Effektes ermöglicht.

Physiologie: Zusammenfassung und Ausblick

Im vorangehenden Kapitel wurden die Studien zusammengefaßt, die sich mit Fragen zur neuro-vaskulären Kopplung beschäftigen. Wir konnten zeigen, daß über einem funktionell aktivierten, kortikalen Areal die NIRS-Parameter einem typischen Muster folgen, das aus einem Anstieg der oxy-Hb- bei gleichzeitigem Abfall der deoxy-Hb-Konzentration besteht. Dieses Ergebnis ist vereinbar mit dem Modell eines fokalen Anstiegs des cerebralen Blutfluß (rCBF) und einer daraus resultierenden lokalen Hyperoxygenierung, die die Grundlagen der vaskulär-basierten bildgebenden Verfahren darstellen. Der Vergleich des Antwortverhaltens in simultanen Messungen mit der fMRT, der PET und der TCD belegt, daß die Verfahren unterschiedliche Aspekte der gleichen vaskulären Antwort auf eine neuronale Aktivierung abbilden. Für die fMRT ergab sich eine erste methodenunabhängige Bestätigung dafür, daß die lokale Konzentrationsänderungen des [deoxy-Hb] die wichtigste Einflußgröße für den BOLD-Kontrast darstellt. In einer weiteren Studie untersuchten wir ein Modell der Habituation bei visueller Stimulation und registrierten gleichzeitig die evozierten Potentiale und die cerebrale Hämoglobinoxygenierung. Damit steht ein Ansatz zur Verfügung, der einen methodisch einfachen Zugriff auf die nicht-invasive Untersuchung der neuro-vaskulären Kopplung beim Menschen erlaubt.

Wie bereits in der Zusammenfassung des ersten Teils der Arbeit erwähnt, ist die räumliche Zuordnung der gemessenen Änderungen auf ein dreidimensional definiertes Meßvolumen eine methodische Limitation. Daher halten wir es für notwendig bei der Untersuchung physiologischer Fragestellungen Modelle zu nutzen, die es erlauben, aufgrund einfacher Studiendesigns eine Validierung der Annahmen zur räumlichen Auflösung möglich zu machen. Die in Teil B dargestellten Studien verfolgen diesen Ansatz. Die in Teil A dargestellten Möglichkeiten der optischen Bildgebung und der Tiefenauflösung stellen auch für physiologische Fragestellungen zur neuro-vaskulären Kopplung eine wichtige Perspektive dar. Es ist davon auszugehen, daß die Methode ein dem EEG vergleichbares Potential zur topographischen Differenzierung der Hirnoberfläche erlangt.

Die Quantifizierung der gemessenen Änderungen ist zur Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Probandenkollektiven, mehr noch bei einem Vergleich zwischen pathologischem und physiologischem Antwortverhalten wünschenswert. Dies ist eng mit der Definition des Meßvolumens verknüpft. Es ist allerdings zu berücksichtigen, daß die NIRS im Vergleich zum BOLD-Kontrast signalphysiologisch spezifischere Daten liefert und die Approximationen einer absoluten Quantifizierung hier im Vergleich einen Vorteil der Methode darstellen. Sollen absolute Werte des regionalen Blutfluß nicht-invasiv im Menschen bestimmt werden, ist derzeit weiterhin die PET als führendes, wenn auch aufwendiges und partiell-invasives Verfahren einzuschätzen.

Die zeitliche Auflösung der NIRS ist einer der großen Vorteile der Methode, die insbesondere für Fragen zur Kopplung eine wertvolle Ergänzung zu den bildgebenden vaskulären Methoden darstellt. Die in den Studien dargestellte einfache Durchführbarkeit kombinierter Ansätze eröffnet so die Perspektive, spatiale Information etwa in der PET, die temporale Auflösung jedoch über die NIRS zu erhalten.

Eine relevante Stärke der Methode, insbesondere bei Fragen zum Verständnis der physiologischen Grundlagen vaskulär-basierter bildgebender Techniken, ist die hohe Parameterspezifität und die Option, einen metabolischen Parameter ([Cyt-ox]) simultan zu registrieren. Sollte die technische Weiterentwicklung einen relevanten Schritt zur Verbesserung des Signal-zu-Rausch-Verhältnis leisten, wäre eine simultane Registrierung des neuronalen, metabolischen und vaskulären Antwortverhaltens möglich (siehe ‚fast optical signals‘, A.2.).

Es ist in den hier zusammengefaßten Studien gezeigt worden, daß sich die NIRS in Studien zur Physiologie der bildgebenden Techniken besonders gut als Verfahren eignet, das mit weiteren Verfahren kombiniert werden kann. Multimodale Ansätze sind im Rahmen der meisten in Exkurs 2 thematisierten Fragestellungen zur neuro-vaskulären Kopplung essentiell. Wie bereits oben erwähnt, dient der multimodale Ansatz dem Bestreben, nicht verschiedene Abbilder, sondern *ein* auf signalphysiologischem Verständnis beruhendes Bild der Hirnfunktion zu erhalten.

In diesem Zusammenhang ist auch die relativ einfache Anwendung der Methode hervorzuheben, die Studien-Designs erlaubt, die im Magneten oder PET-Scanner nur schwerlich durchzuführen sind (z.B. Untersuchung des Ganges (Miyai et al. 2001)). Die Ko-Registrierung weiterer physiologischer Variablen (RR, Puls, EKG) aber auch die unaufwendige Kontrolle der psychophysischen Parameter stellt einen großen Vorteil der Methode auch bei Messungen zu physiologischen Fragestellungen dar.

In diesem Kapitel wurde gezeigt, daß die NIRS Beiträge zur Erforschung der neuro-vaskulären Kopplung und zu den Grundlagen der bildgebenden, vaskulär-basierten Verfahren liefert und hier für bestimmte Fragestellungen einen konkurrenzlosen Pfeiler darstellt. Neben der Anwendung auf physiologische Fragestellungen bietet sich die Methode aufgrund des portablen Charakters aber auch für bed-side Messungen und damit für die Anwendung auf pathophysiologische Fragestellungen an. Diese weitere Perspektive wird im folgenden Teil C der Arbeit skizziert.

Teil C

Perspektive: Klinische Anwendung

Unsere in den ersten beiden Kapiteln zusammengefaßte Arbeit verfolgt das Ziel, methodisch und physiologisch die Nahinfrarotspektroskopie zur Anwendung bei funktionellen Aktivierungsstudien zu validieren, um auf dieser Basis Fragen zur neuro-vaskulären Kopplung und den Grundlagen der neueren bildgebenden Techniken zu beantworten. Wir haben dargestellt, daß die NIRS fokale Oxygenierungsänderungen nachweist, die im Einklang mit dem Modell einer zeitlich und räumlich gut definierten vaskulären Antwort auf eine neuronale Aktivitätsänderung stehen. Die hohe Parameterspezifität bezüglich der gemessenen Änderungen der Hämoglobinkonzentrationen, die potentielle Relevanz des zusätzlichen metabolischen Parameters der Cytochrom-c-oxidase und die exzellente zeitliche Auflösung sind Stärken der Methode, die damit nach unserer Einschätzung auch in der Zukunft ein wertvolles Instrument zur Erforschung der Mechanismen der neuro-vaskulären Kopplung und der Signalphysiologie bildgebender Techniken darstellen wird. Die auch technologisch-physikalisch begrenzte räumliche Auflösung verschiebt hierbei den Fokus von funktionell-anatomischen auf funktionell-physiologische Fragestellungen. Die Entwicklung der bildgebenden NIRS-Systeme, wie sie exemplarisch in der Arbeit dargestellt ist, wird in naher Zukunft die Darstellung der gesamten Hirnoberfläche mit einer Auflösung vergleichbar dem Oberflächen-EEG erlauben. Kontrovers, jedoch perspektivisch von großem Interesse, ist die Frage, ob bei technologisch deutlicher Verbesserung der Sensitivität, schnelle optische Signale mit der nicht-invasiven optischen Spektroskopie sicher dargestellt werden können. Damit stünde eine Methode zur Verfügung, die simultan beide Seiten der neurovaskulären Kopplung darstellen könnte. Die Alternative einer unproblematischen Koregistrierung der Elektrophysiologie wurde in der Arbeit ebenfalls dargestellt.

Ein weiterer Vorteil der Methode, die einfache Applikation und Portabilität, eröffnen aber auch die Perspektive einer Anwendung auf pathophysiologische und klinische Fragestellungen: die Methode kann unproblematisch als Monitor am Krankenbette angewandt werden. Unsere Arbeit zu klinischen Anwendungen bezog sich auf (1) die cerebrale Ischämie, (2) epileptische Anfälle und in einer frühen Studie auf Änderungen des Antwortverhaltens bei (3) Patienten mit M. Alzheimer. Exemplarisch sind hier einige Ergebnisse dieser Studien dargestellt.

Akute cerebrale Ischämien

Wir untersuchten Patienten mit akuter Ischämie im Versorgungsgebiet der A. cerebri media. Dabei galt unser Interesse dem Nachweis vaskulärer Änderungen bei Periinfarktdepolarisationen (PID) und ‚Cortical Spreading Depressions‘ (CSD), deren Relevanz für die Infarktdynamik der akuten fokalen

Ischämie in tierexperimentellen Arbeiten gut belegt ist (Gorji, 2001; Mies et al. 1993; Back et al. 2000). In einer Studie mit dem einkanalen NIRO-500 Monitor ließen sich in ~ 15 % der untersuchten Patienten Änderungen der Hämoglobin-Oxygenierung darstellen, die in Größe und Latenz PIDs und CSDs entsprechen könnten. Es ist jedoch zu betonen, daß bei einem einkanalen, nicht spatial aufgelösten Ansatz ohne elektrophysiologische Referenz eine verlässliche Trennung von systemischen Änderungen der Hämodynamik nicht möglich ist. Die Zuordnung zu hämodynamischen Veränderungen im Rahmen von PIDs oder CSDs stützt sich daher auf die Beschreibung der typischen [deoxy-Hb] und [oxy-Hb] Änderungen, wie sie mit dem gleichen technischen Ansatz (NIRO-500) bei simultaner DC-Koregistrierung in der Ratte gelang (Wolf et al. 1997) (vergleiche auch Abb.8). In einem mehrkanaligen Ansatz mit dem oben beschriebenen Ganzspektrum-Ansatz ließ sich bei der Untersuchung von 25 weiteren Patienten mit einer akuten cerebralen Ischämie einerseits eine grobe Fokalität ähnlicher Oxygenierungsänderungen nachweisen. Andererseits erlaubte die gleichzeitige Registrierung des nicht-invasiv gemessenen Blutdrucks (aBP, gemessen mit Finapres; vergl. auch Abb. 15) eine Zuordnung eines Teils der gesehenen Änderungen zu Änderungen des systemischen aBP. Aufgrund dieser beiden Studien halten wir es für notwendig, bildgebende optische Verfahren einzusetzen, um die Fokalität und Ausbreitungsgeschwindigkeit der Oxygenierungsänderungen bestimmen zu können, wie sie aus den tierexperimentellen Ansätzen bekannt sind. Die gleichzeitige Darstellung der elektrophysiologischen Potentialänderungen (DC-EEG) ist im Menschen auch aufgrund der notwendigen Dauer der Registrierung technisch limitiert. Trotz der bisher nicht eindeutigen Ergebnisse unserer Studien, halten wir den Versuch des nicht-invasiven Nachweises von CSDs und PIDs mit der NIRS für eine relevante Perspektive. So wird in einer Arbeit zu ADC-Änderungen (apparent diffusion coefficient, gemessen mit DWI-fMRI) im Rahmen akuter Ischämien der fehlende Nachweis von PIDs oder CSDs auch potentiell auf die limitierte Dauer der Registrierung (15 min) zurückgeführt (Back et al. 2000). In einer Studie mit einer multiparametrischen invasiven Probe bei traumatisierten Patienten gelang zwar der positive Nachweis einer CSD im Menschen, jedoch wird auch deutlich, daß es sich im Vergleich zu tierexperimentellen Modellstudien beim Menschen um seltene Phänomene handelt (Mayevsky et al. 1996). Die NIRS bietet sich hier als Verfahren an, das vergleichsweise leicht über lange Perioden das Monitoring von akuten Ischämiepatienten erlaubt.

Einen anderen Ansatz verfolgen wir mit der Kombination der in Teil A beschriebenen ICG-Bolus Technik und dem in unserer Gruppe entwickelten bildgebenden System. Wie unter A.3.2. (Kohl et al. 2002) beschrieben, lassen sich bei Gabe eines Kontrastmittelbolus (ICG, Pulsion®) mit einem zeitaufgelösten System die extra- und intracerebrale Boluspassage durch das Meßvolumen trennen. Änderungen der cerebralen Perfusion im Rahmen einer cerebralen Ischämie lassen eine Verschiebung der beiden Boluslatenzen erwarten. Bei Anwendung des bildgebenden Systems können unter der Annahme einer homogenen extracerebralen Perfusion Differenzen der Bolus-Latenz auf fokale

Differenzen der corticalen Perfusion bezogen werden. Perspektivisch ist eine Kombination beider Ansätze (frequenzmodulierte oder zeitaufgelöste Bildgebung) technisch machbar und wird eine grobe dreidimensionale Darstellung des Perfusionsdefizits zulassen (zweidimensionale Bildgebung mit Tiefenauflösung). Zur Validierung des Ansatzes mit dem bildgebenden System führten wir bei Patienten mit älteren ischämischen Defekten Messungen bei Applikation eines 5 mg ICG Bolus durch. Die Abbildung 18 zeigt bei einem Schlaganfallpatienten die langsamere Boluspassage im Randsaum des Defektes. Zur Zeit führen wir Messungen bei akuten Ischämiepatienten durch. Für diesen Ansatz ergibt sich für die klinische Anwendung die Perspektive einer Kombination mit dem im Rahmen unserer Gruppe durchgeführten Perfusions- und Diffusions-gewichteten fMRI Messungen bei akuten Ischämien. Die fMRI Untersuchungen lassen eine gute Lokalisation des Perfusionsdefizits anhand der Änderungen der mean transit time eines Gadolinium Bolus zu. Die NIRS könnte bei corticalen Infarkten eine regelmäßige Bestimmung des lokalen Perfusionsdefizits anhand der ICG-Bolus Methode liefern.

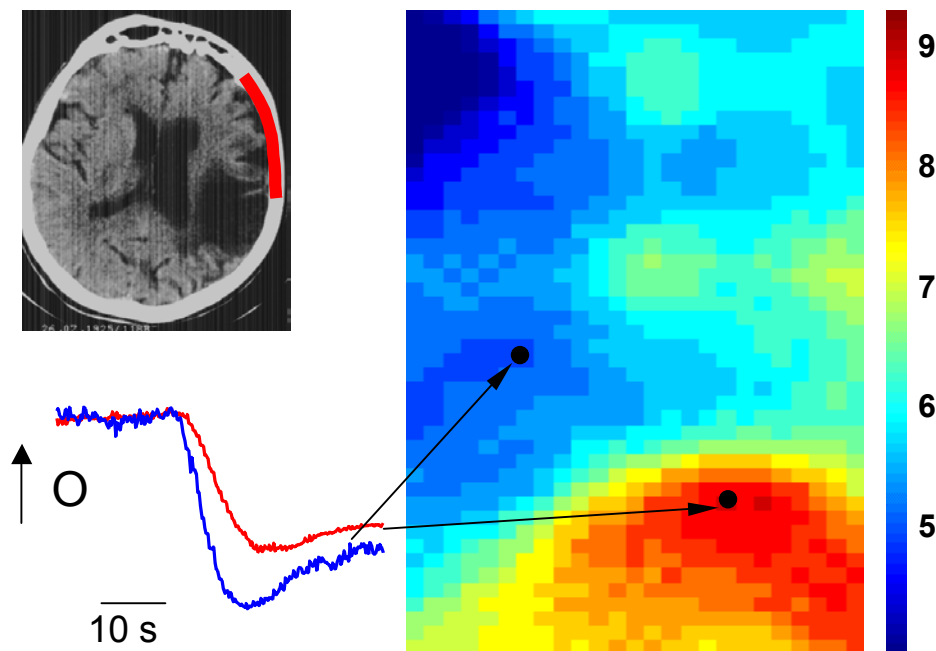


Abb. 18: Beispiel einer Messung der Boluslatenz (5mg ICG, Pulsion® i.v.) mit dem in unserer Gruppe entwickelten bildgebenden System. Das cCT zeigt einen großen Substanzdefekt nach Ischämie im Versorgungsgebiet der A. cerebri media links. Die Position des Imager-pads ist rot markiert. In der rechten Abbildung ist die Boluslatenz dargestellt. Die Farbkodierung entspricht der Latenz zwischen Bolusbeginn und dem Erreichen von 90% der maximalen Änderung der gemessenen Intensität (Farbmaßstab in Sekunden). Die beiden Spuren (linke untere Abbildung) zeigen Zeitverläufe der optischen Dichte (OD) in einem Areal über ‚gesundem‘ Gewebe (blau) und im Randsaum des ischämischen Defektes (rot).

Epilepsie

Die Lokalisation epileptogener Foci ist klinisch insbesondere in der prächirurgischen Evaluierung relevant. In rezenten Arbeiten wurden in diesem Zusammenhang kombinierte fMRT und EEG Messungen durchgeführt. Aufgrund der vaskulär-basierten Bildgebung soll es möglich werden, die Lokalisation der elektrophysiologisch im EEG definierten, pathologischen Aktivität exakt zu bestimmen (Lemieux et al. 2001). Der Erfolg solcher kombinierten Untersuchungen könnte aufwendigere, invasive Techniken der präoperativen Fokussuche in einem Teil der Patienten ablösen. Die NIRS hat nach unserer Einschätzung auch in diesem klinischen Zusammenhang zwei wichtige Perspektiven. (i) Klinisch ist aufgrund des bed-side Charakters die Erfassung bei selteneren epileptischen Ereignissen einfacher. Ähnlich der oben besprochenen Anwendung der Methode bei akuten cerebralen Ischämien ist etwa im Rahmen einer Telemetrie ein Monitoring auch über mehrere Stunden oder Tage im Gegensatz zur fMRT zumutbar. (ii) Andererseits besteht, im Gegensatz zu physiologischen Aktivierungsstudien, eine fundamentale Unsicherheit bezüglich der erwarteten vaskulären Antwort auf *pathologische* neuronale Aktivität. Da die Lokalisation der Foci im fMRT auf dieser vaskulären Antwort beruht, ist aber ein besseres Verständnis der neurovaskulären Kopplung bei pathologischer neuronaler Aktivität Voraussetzung für eine Interpretation der erhobenen Daten. In einer Studie untersuchten wir neben Patienten mit fokalen Epilepsien Patienten mit Absencen. Wir fanden bei letzteren ein klar von der typischen Oxygenierungsantwort auf physiologische cortikale Aktivierung abweichendes Muster. Der Abfall der Konzentration des oxy-Hb bei gleichzeitigem Anstieg der deoxy-Hb Konzentration entspricht dem Muster, das wir für eine fokale Deaktivierung des visuellen Cortex im Rahmen der sakkadischen Suppression unter B.3.2. dargestellt haben. Es werden ähnliche Ergebnisse einer frontalen Deaktivierung bei Absencen von einer Gruppe berichtet, die einen Abfall des BOLD-Kontrasts im Rahmen der Absencen findet (R.Turner, London, persönliche Mitteilung). In Abbildung 19 ist ein Beispiel unserer NIRS-Messungen bei einer Absence gezeigt, die nach dem simultanen abgeleiteten EEG definiert wurde.

Bei den fokalen epileptischen Anfällen, ergaben sich unterschiedliche Antwortmuster, die zum Teil dem physiologischen Antwortverhalten entsprachen. Da ein einkanaliges NIRS-System eingesetzt wurde, ist bei dieser Anfallssemiologie nicht auszuschließen, daß die unterschiedlichen Antwortmuster auch durch eine ‚Fehlpositionierung‘ der optischen Proben in Bezug auf den Fokus beruhen. Perspektivisch sind also auch bei dieser klinischen Anwendung bildgebende und tiefenauflösende Ansätze notwendig.

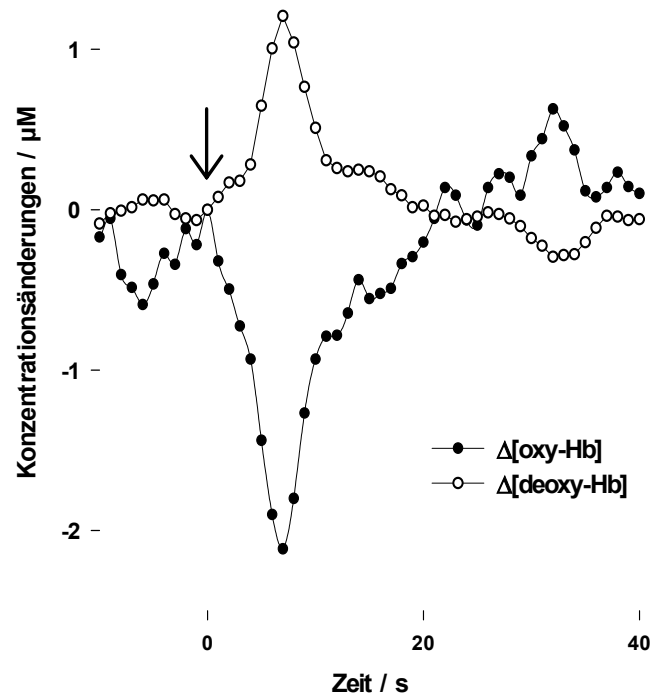


Abb. 19: Mittel über 3 konsekutive Absencen bei einem Epilepsie-Patienten. Der nach dem simultanen EEG definierte Beginn der Absencen ist durch einen Pfeil markiert. Gemessen wurde parieto-frontal mit dem einkanaligen NIRO-500 Monitor. Das Antwortmuster ($[\text{oxy-Hb}] \downarrow$ und $[\text{deoxy-Hb}] \uparrow$) ist invertiert gegenüber dem Muster bei erhöhter neuronaler Aktivität bei funktioneller Stimulation und entspricht dem unter B.3.2. beschriebenen Muster bei fokaler Deaktivierung bei sakkadischer Suppression des visuellen Cortex (Wenzel et al. 2000)*.

In der Zusammenfassung ergeben sich nach unserer Einschätzung für die klinische Anwendung bei Epilepsien zwei wichtige Perspektiven: (i) Die relativ grobe Lokalisation der Foci wird insbesondere für Semiologien, die sich einer fMRT Untersuchung entziehen und für geringe Anfallsfrequenzen von Bedeutung sein. (ii) Zum essentiell notwendigen, besseren Verständnis der neurovaskulären Kopplung unter pathophysiologischen Bedingungen erachten wir bereits unsere präliminären Befunde als einen wichtigen Beitrag.

Weitere Krankheitsbilder

Unsere Gruppe führte eine Studie an Patienten mit M. Alzheimer durch (Hock et al. 1997). Bei einem Vergleich der mit dem NIRO-500 gemessenen Änderungen der corticalen Hämoglobinoxygenierung zeigte sich ein Unterschied des Antwortmusters zwischen gesunden älteren Personen und Patienten mit klinisch wahrscheinlichem, moderatem M. Alzheimer. Bei einer Wortflüssigkeitsaufgabe ergab sich für die Patienten in einer simultanen Messung (2 NIRO-500 Monitore) über der Frontal- und der Parietalregion eine Differenz zwischen dem ‚regulären‘ Antwortmuster frontal ($[\text{oxy-Hb}] \uparrow$ bei $[\text{deoxy-Hb}] \downarrow$) und einem atypischen Muster parietal ($[\text{oxy-Hb}] \downarrow$ und $[\text{deoxy-Hb}] \downarrow$). Weiterhin ließ sich dieser Befund bei ausgewählten Patienten mit rCBF-Änderungen, gemessen mit der H_2^{15}O -PET, korrelieren (vergl. auch B2.2.). Die Studie zeigt, daß insbesondere bei Patienten, die mit den vaskulär-

bildgebenden Verfahren aufgrund der schwierigen Kooperation nur eingeschränkt untersucht werden können, die NIRS Aussagen zu einem alterierten Muster der kortikalen Aktivierung liefern kann. Es ist allerdings bei dieser Studie zu berücksichtigen, daß ein relativ schlecht lokalisierendes Paradigma genutzt wurde und die individuelle Varianz (fokale Atrophie, Medikation, Ko-morbidität mit vaskulären Erkrankungen) relativ groß ist. Dies schränkt die Interpretation der gefundenen Änderung des Antwortmusters bezüglich der sicheren Zuordnung zu einer fokalen kortikalen, pathologischen Abweichung ein.

Seitdem die NIRS durch die Entwicklung kommerzieller Monitore einer breiteren klinischen Anwendung verfügbar ist, sind eine Reihe von Studien zu den unterschiedlichsten neurologisch und psychiatrischen Erkrankungen erschienen (Okada et al. 1994; Fallgatter and Strik, 2000; Matsuo et al. 2000; Okada et al. 1996). Dem begrüßenswerten Interesse an der neuen Methodik muß bei der Beurteilung der Perspektiven kritisch gegenübergestellt werden, daß in einer Reihe von Arbeiten schwer zu unterscheiden, ist inwiefern die Differenzen zwischen den Patienten- und Kontrollgruppen sicher eine Differenz zwischen krankheitstypischen und physiologischen kortikalen Oxygenierungsmustern darstellen. Medikationen, die die cerebrovaskuläre Antwort beeinflussen (Bruhn et al. 2001), atrophische Veränderungen, die Annahmen über einen ähnlichen Schichtaufbau des Meßvolumens verletzen (Okada et al. 1995), aber auch generelle Fragen nach vergleichbarer task-performance zwischen den Kollektiven und Strategie-Differenzen bei der Bewältigung komplexer, kognitiver Paradigmen sind von eminenter Relevanz, gerade wenn mit einer räumlich schlecht auflösenden Methodik gearbeitet wird.

Zusammenfassung der klinischen Perspektiven

Da die NIRS am Krankenbett und mit geringer Belastung für den Patienten auch für längere Untersuchungen angewandt werden kann, ergibt sich eine klinische Perspektive. Für cerebrovaskuläre Erkrankungen (Vernieri et al. 1999; Kirkpatrick et al. 1998a) und in der neurologisch-anästhesiologischen (Nollert et al. 2000) Intensivmedizin aber auch bei Erkrankungen, bei denen eine primär neuronale Pathologie vorliegt (Beispiel: Epilepsie (Watanabe et al. 2000; Adelson et al. 1999; Sokol et al. 2000)) halten wir die klinische Anwendung der Methode für perspektivisch relevant. Es sollte nach unserer Einschätzung jedoch nicht vergessen werden, daß die Methode allein keine Aussage darüber macht, ob die Befunde durch eine Alteration der neuronalen oder der vaskulären Antwort oder gar von einer gestörten neuro-vaskulären Kopplung herrühren. Der in den beiden ersten Hauptteilen der Arbeit verfolgte methodenkritische Ansatz, der auch die physikalisch-technischen Voraussetzungen der Methodik berücksichtigt, erscheint insbesondere bei klinisch-pathophysiologisch orientierten Studien von eminenter Relevanz. Sinnvoll erscheint hier auch die Kombination mit den weiteren funktionellen Methoden wie sie in Teil B für physiologische Fragestellungen demonstriert wurde. So kann bei der akuten Ischämie die Diffusions- und Perfusionsbildgebung der MRT eine

genaue Lokalisation der Defekte liefern, während die NIRS im weiteren Verlauf ein regelmäßiges bedside Monitoring erlaubt. Für die Epilepsie gibt es die Option, die NIRS im Rahmen telemetrischer Untersuchungen für eine grobe Lokalisation zu nutzen. Weiterhin können mit der Methode auch typische Änderungen des vaskulären Antwortverhaltens bei funktioneller Stimulation und ggf. Störungen der neurovaskulären Kopplung nachgewiesen werden (Israel et al. 2000).

Zusammenfassung

Wir haben in der vorliegenden Arbeit dargestellt, daß die Nahinfrarotspektroskopie Änderungen der fokalen cerebralen Hämoglobinoxygenierung und des Metabolismus beim Erwachsenen darstellen kann. In *Teil A* der Arbeit wurde dargestellt, daß neben den Parametern der vaskulären Oxygenierung ([oxy-Hb] und [deoxy-Hb]) ein Parameter des cellulären Metabolismus, der Redoxzustand der Cytochrom-Oxidase, der spektroskopischen Analyse zugänglich ist. Ein Marker der neuronalen Aktivität, die ‚schnellen optischen Signale‘, wie sie am eröffneten Gehirn nachgewiesen wurden, ist bei dem derzeitigen Signal-Rausch-Verhältnis nicht sicher für den transcraniellen Ansatz beim Erwachsenen darzustellen. Die hohe Spezifität bezüglich der gemessenen Oxygenierungsänderungen und der zusätzliche Parameter des zellulären Metabolismus begründen den Wert der Methode für die Erforschung der neurovaskulären Kopplung und damit auch grundlegender Fragen zur Signalphysiologie der bildgebenden vaskulär-basierten Techniken wie der funktionellen Kernspintomographie und der Positronen-Emissions-Tomographie. Im *Teil B* der Arbeit wurde gezeigt, welche typischen Änderungen der Hämoglobinoxygenierung über einem aktivierten corticalen Areal zu erwarten sind. Die Ergebnisse wurden auch anhand simultaner Messungen mit anderen funktionell bildgebenden Verfahren in das Modell einer neurovaskulären Kopplung bei funktioneller Aktivierung eingeordnet. Es wurde gezeigt, daß die Methode relevante Beiträge zu Fragen der Deaktivierung und zur Linearität der vaskulär-metabolischen Antwort leisten kann. Schließlich wurde ein Ansatz vorgestellt der in Kombination mit einem elektrophysiologischen Verfahren die nicht-invasive Untersuchung beider Seiten der neurovaskulären Kopplung erlaubt. Durch den portablen Charakter der Methode und bei einfacher Anwendung auch für längere Untersuchungszeiträume ergibt sich die Perspektive einer Anwendung auf klinische Fragestellungen. Hierfür wurden erste Ansätze der Anwendung bei akuten cerebralen Ischämien und bei epileptischen Anfällen im *Teil C* der Arbeit skizziert. Neben primär neurologischen Anwendungsperspektiven ergibt sich hier insbesondere auch in der anästhesiologisch-intensivmedizinischen Anwendung die Option der Überwachung der cerebralen Durchblutung und Funktion (Nollert et al. 2000).

Die in dieser Arbeit erfolgte Trennung in drei Schwerpunkte (Methodik-Physiologie-Anwendung) dient der übersichtlicheren Darstellung. In unserer Arbeit verfolgen wir jedoch den Ansatz, daß die physikalisch-theoretische Begründung, die physiologische Validierung und die physiologisch und klinische Anwendung nicht getrennt erfolgen sollen. Die sinnvolle Anwendung der Methodik zu Fragen der Hirnfunktion setzt nach unserer Ansicht diesen methodenkritischen Ansatz voraus.

Literaturangaben

- AASLID, R. (1987) Visually evoked dynamic blood flow response of the human cerebral circulation. *Stroke* **18**, 771-775.
- ACKERMANN, R.F., FINCH, D.M., BABB, T.L. AND ENGEL, J.J. (1984) Increased glucose metabolism during long-duration recurrent inhibition of hippocampal pyramidal cells. *J.Neurosci.* **4**, 251-264.
- ADELSON, P.D., NEMOTO, E., SCHEUER, M., PAINTER, M., MORGAN, J. AND YONAS, H. (1999) Noninvasive continuous monitoring of cerebral oxygenation periictally using near-infrared spectroscopy: a preliminary report. *Epilepsia* **40**, 1484-1489.
- ARRIDGE, S.R., COPE, M. AND DELPY, D.T. (1992) The theoretical basis for the determination of optical pathlengths in tissue: temporal and frequency analysis. *Phys.Med.Biol.* **37**, 1531-1560.
- ARRIDGE, S.R., HIRAOKA, M. AND SCHWEIGER, M. (1995) Statistical basis for the determination of optical pathlength in tissue. *Phys.Med.Biol.* **40**, 1539-1558.
- ARTHURS, O.J., WILLIAMS, E.J., CARPENTER, T.A., PICKARD, J.D. AND BONIFACE, S.J. (2000) Linear coupling between functional magnetic resonance imaging and evoked potential amplitude in human somatosensory cortex. *Neuroscience* **101**, 803-806.
- ATTWELL, D. AND LAUGHLIN, S.B. (2001) An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **21**, 1133-1145.
- BACK, T., HIRSCH, J.G., SZABO, K. AND GASS, A. (2000) Failure to demonstrate peri-infarct depolarizations by repetitive MR diffusion imaging in acute human stroke. *Stroke* **31**, 2901-2906.
- BALABAN, R.S. (1990) Regulation of oxidative phosphorylation in the mammalian cell. *Am.J.Physiol.* **258**, C377-C389
- BANDETTINI, P.A., KWONG, K.K., DAVIS, T.L., TOOTELL, R.B., WONG, E.C., FOX, P.T., BELLIVEAU, J.W., WEISSKOFF, R.M. AND ROSEN, B.R. (1997) Characterization of cerebral blood oxygenation and flow changes during prolonged brain activation. *Hum.Brain Mapp.* **5**, 93-109.

-
- BANDETTINI, P.A., WONG, E.C., HINKS, R.S., TIKOFSKY, R.S. AND HYDE, J.S. (1992) Time course EPI of human brain function during task activation. *Magn.Reson.Med.* **25**, 390-397.
- BENARON, D.A., HINTZ, S.R., VILLRINGER, A., BOAS, D., KLEINSCHMIDT, A., FRAHM, J., HIRTH, C., OBRIG, H., VAN, H.J., KERMIT, E.L., CHEONG, W.F. AND STEVENSON, D.K. (2000) Noninvasive functional imaging of human brain using light. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **20**, 469-477.
- BISWAL, B., DEYOE, A.E. AND HYDE, J.S. (1996) Reduction of physiological fluctuations in fMRI using digital filters. *Magn.Reson.Med.* **35**, 107-113.
- BISWAL, B., HUDETZ, A.G., YETKIN, F.Z., HAUGHTON, V.M. AND HYDE, J.S. (1997) Hypercapnia reversibly suppresses low-frequency fluctuations in the human motor cortex during rest using echo-planar MRI. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **17**, 301-308.
- BISWAL, B., YETKIN, F.Z., HAUGHTON, V.M. AND HYDE, J.S. (1995) Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn.Reson.Med.* **34**, 537-541.
- BOAS, D.A., GAUDETTE, T., STRANGMAN, G., CHENG, X., MAROTA, J.J. AND MANDEVILLE, J.B. (2001) The accuracy of near infrared spectroscopy and imaging during focal changes in cerebral hemodynamics. *Neuroimage* **13**, 76-90.
- BOELEN, R., WEVER, R. AND VAN, G.B. (1982) Electron transfer after flash photolysis of mixed-valence carboxycytochrome c oxidase. *Biochim.Biophys.Acta* **682**, 264-272.
- BORN, A.P., MIRANDA, M.J., ROSTRUP, E., TOFT, P.B., PEITERSEN, B., LARSSON, H.B. AND LOU, H.C. (2000) Functional magnetic resonance imaging of the normal and abnormal visual system in early life. *Neuropediatrics* **31**, 24-32.
- BORN, R.T. AND TOOTELL, R.B. (1991) Spatial frequency tuning of single units in macaque supragranular striate cortex. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* **88**, 7066-7070.
- BOYNTON, G.M., ENGEL, S.A., GLOVER, G.H. AND HEEGER, D.J. (1996) Linear systems analysis of functional magnetic resonance imaging in human V1. *J.Neurosci.* **16**, 4207-4221.
- BROWN, G.C. (1992) Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells. *Biochem.J.* **284**, 1-13.

-
- BRUHN, H., FRANSSON, P. AND FRAHM, J. (2001) Modulation of cerebral blood oxygenation by indomethacin: MRI at rest and functional brain activation. *J.Magn.Reson.Imaging* **13**, 325-334.
- BRUNIA, C.H. AND VAN BOXTEL, G. (2001) Wait and see. *Int.J.Psychophysiol.* **43**, 59-75.
- BUXTON, R.B. AND FRANK, L.R. (1997) A model for the coupling between cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural stimulation. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **17**, 64-72.
- CHANCE, B. (1991) Optical method. *Annu.Rev.Biophys.Biophys.Chem.* **20**, 1-28.
- CHENG, K., WAGGONER, R.A. AND TANAKA, K. (2001) Human ocular dominance columns as revealed by high-field functional magnetic resonance imaging. *Neuron* **32**, 359-374.
- CHIAPPA, K.H., HILL, R.A., HUANG-HELLINGER, F. AND JENKINS, B.G. (1999) Photosensitive epilepsy studied by functional magnetic resonance imaging and magnetic resonance spectroscopy. *Epilepsia* **40 Suppl 4**, 3-7.
- COHEN, L.B., SALZBERG, B.M. AND GRINVALD, A. (1978) Optical methods for monitoring neuron activity. *Annu.Rev.Neurosci.* **1**, 171-182.
- COLIER, W.N., QUARESIMA, V., WENZEL, R., VAN DER SLUIJS MC, OESEBURG, B., FERRARI, M. AND VILLRINGER, A. (2001) Simultaneous near-infrared spectroscopy monitoring of left and right occipital areas reveals contra-lateral hemodynamic changes upon hemi-field paradigm. *Vision Res.* **41**, 97-102.
- COOPER, C.E., COPE, M., QUARESIMA, V., FERRARI, M., NEMOTO, E., SPRINGETT, R., MATCHER, S., AMESS, P., PENRICE, J., TYSZCZUK, L., WYATT, J. AND DELPY, D.T. (1997) Measurement of cytochrome oxidase redox state by near infrared spectroscopy. *Adv.Exp.Med.Biol.* **413**, 63-73.
- COOPER, C.E., ELWELL, C.E., MEEK, J.H., MATCHER, S.J., WYATT, J.S., COPE, M. AND DELPY, D.T. (1996) The noninvasive measurement of absolute cerebral deoxyhemoglobin concentration and mean optical path length in the neonatal brain by second derivative near infrared spectroscopy. *Pediatr.Res.* **39**, 32-38.
- COOPER, C.E., MATCHER, S.J., WYATT, J.S., COPE, M., BROWN, G.C., NEMOTO, E.M. AND DELPY, D.T. (1994) Near-infrared spectroscopy of the brain: relevance to cytochrome oxidase bioenergetics. *Biochem.Soc.Trans.* **22**, 974-980.

-
- COOPER, C.E. AND SPRINGETT, R. (1997) Measurement of cytochrome oxidase and mitochondrial energetics by near-infrared spectroscopy. *Philos.Trans.R.Soc.Lond.B.Biol.Sci.* **352**, 669-676.
- COPE, M. (1991) The development of a near infrared spectroscopy system and its application for non-invasive monitoring of cerebral blood and tissue oxygenation in the newborn infant. University of London.
- COPE, M. AND DELPY, D.T. (1988) System for long-term measurement of cerebral blood and tissue oxygenation on newborn infants by near infra-red transillumination. *Med.Biol.Eng.Comput.* **26**, 289-294.
- DE BLASI, R., FANTINI, S., FRANCESCHINI, M.A., FERRARI, M. AND GRATTON, E. (1995) Cerebral and muscle oxygen saturation measurement by frequency-domain near-infra-red spectrometer. *Med.Biol.Eng.Comput.* **33**, 228-230.
- DELPY, D.T., COPE, M.C., CADY, E.B., WYATT, J.S., HAMILTON, P.A., HOPE, P.L., WRAY, S. AND REYNOLDS, E.O. (1987) Cerebral monitoring in newborn infants by magnetic resonance and near infrared spectroscopy. *Scand.J.Clin.Lab.Invest.Suppl.* **188**, 9-17.
- DORA, E. AND KOVACH, A.G. (1981) Metabolic and vascular volume oscillations in the cat brain cortex. *Acta Physiol.Acad.Sci.Hung.* **57**, 261-275.
- DUFFY, F.H. AND BURCHFIEL, J.L. (1975) Eye movement-related inhibition of primate visual neurons. *Brain Res.* **89**, 121-132.
- DUNCAN, A., MEEK, J.H., CLEMENCE, M., ELWELL, C.E., FALLON, P., TYSZCZUK, L., COPE, M. AND DELPY, D.T. (1996) Measurement of cranial optical path length as a function of age using phase resolved near infrared spectroscopy. *Pediatr.Res.* **39**, 889-894.
- DUNCAN, A., MEEK, J.H., CLEMENCE, M., ELWELL, C.E., TYSZCZUK, L., COPE, M. AND DELPY, D.T. (1995) Optical pathlength measurements on adult head, calf and forearm and the head of the newborn infant using phase resolved optical spectroscopy. *Phys.Med.Biol.* **40**, 295-304.
- DUONG, T.Q., KIM, D.S., UGURBIL, K. AND KIM, S.G. (2000) Spatiotemporal dynamics of the BOLD fMRI signals: toward mapping submillimeter cortical columns using the early negative response. *Magn.Reson.Med.* **44**, 231-242.
- ERNST, T. AND HENNIG, J. (1994) Observation of a fast response in functional MR. *Magn.Reson.Med.* **32**, 146-149.

-
- ESSENPREIS, M., COPE, M., ELWELL, C.E., ARRIDGE, S.R., VAN, D.Z. AND DELPY, D.T. (1993) Wavelength dependence of the differential pathlength factor and the log slope in time-resolved tissue spectroscopy. *Adv.Exp.Med.Biol.* **333**, 9-20.
- FALLGATTER, A.J. AND STRIK, W.K. (2000) Reduced frontal functional asymmetry in schizophrenia during a cued continuous performance test assessed with near-infrared spectroscopy. *Schizophr.Bull.* **26**, 913-919.
- FERRARI, M., WILLIAMS, M.A., WILSON, D.A., THAKOR, N.V., TRAYSTMAN, R.J. AND HANLEY, D.F. (1995) Cat brain cytochrome-c oxidase redox changes induced by hypoxia after blood-fluorocarbon exchange transfusion. *Am.J.Physiol.* **269**, H417-H424
- FIRBANK, M., OKADA, E. AND DELPY, D.T. (1998) A theoretical study of the signal contribution of regions of the adult head to near-infrared spectroscopy studies of visual evoked responses [In Process Citation]. *Neuroimage.* **8**, 69-78.
- FOX, P.T. AND RAICHLE, M.E. (1986) Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* **83**, 1140-1144.
- FRAHM, J., BRUHN, H., MERBOLDT, K.D. AND HANICKE, W. (1992) Dynamic MR imaging of human brain oxygenation during rest and photic stimulation. *J.Magn.Reson.Imaging* **2**, 501-505.
- FRAHM, J., KRUGER, G., MERBOLDT, K.D. AND KLEINSCHMIDT, A. (1996) Dynamic uncoupling and recoupling of perfusion and oxidative metabolism during focal brain activation in man. *Magn.Reson.Med.* **35**, 143-148.
- FRANSSON, P., KRUGER, G., MERBOLDT, K.D. AND FRAHM, J. (1998) Temporal characteristics of oxygenation-sensitive MRI responses to visual activation in humans. *Magn.Reson.Med.* **39**, 912-919.
- FRANSSON, P., KRUGER, G., MERBOLDT, K.D. AND FRAHM, J. (1999a) MRI of functional deactivation: temporal and spatial characteristics of oxygenation-sensitive responses in human visual cortex. *Neuroimage* **9**, 611-618.
- FRANSSON, P., KRUGER, G., MERBOLDT, K.D. AND FRAHM, J. (1999b) Temporal and spatial MRI responses to subsecond visual activation. *Magn.Reson.Imaging* **17**, 1-7.

-
- FRISTON, K.J., MECHELLI, A., TURNER, R. AND PRICE, C.J. (2000) Nonlinear responses in fMRI: the Balloon model, Volterra kernels, and other hemodynamics. *Neuroimage* **12**, 466-477.
- GILLER, C.A., LAM, M. AND ROSELAND, A. (1993) Periodic variations in transcranial Doppler mean velocities. *J.Neuroimaging.* **3**, 160-162.
- GJEDDE, A. AND MARRETT, S. (2001) Glycolysis in Neurons, Not Astrocytes, Delays Oxidative Metabolism of Human Visual Cortex During Sustained Checkerboard Stimulation in Vivo. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **21**, 1384-1392.
- GORJI, A. (2001) Spreading depression: a review of the clinical relevance. *Brain Res.Brain Res.Rev.* **38**, 33-60.
- GRAFTON, S.T., WOODS, R.P. AND MAZZIOTTA, J.C. (1993) Within-arm somatotopy in human motor areas determined by positron emission tomography imaging of cerebral blood flow. *Exp.Brain Res.* **95**, 172-176.
- GRAFTON, S.T., WOODS, R.P., MAZZIOTTA, J.C. AND PHELPS, M.E. (1991) Somatotopic mapping of the primary motor cortex in humans: activation studies with cerebral blood flow and positron emission tomography. *J.Neurophysiol.* **66**, 735-743.
- GRATTON, G. AND CORBALLIS, P.M. (1995a) Removing the heart from the brain: compensation for the pulse artifact in the photon migration signal. *Psychophysiology* **32**, 292-299.
- GRATTON, G., CORBALLIS, P.M., CHO, E., FABIANI, M. AND HOOD, D.C. (1995b) Shades of gray matter: noninvasive optical images of human brain responses during visual stimulation. *Psychophysiology* **32**, 505-509.
- GRATTON, G. AND FABIANI, M. (2001) The event-related optical signal: a new tool for studying brain function. *Int.J.Psychophysiol.* **42**, 109-121.
- GRATTON, G., FABIANI, M. AND CORBALLIS, P.M. (1997a) Can we measure correlates of neuronal activity with non-invasive optical methods? *Adv.Exp.Med.Biol.* 413, **53-62**.
- GRATTON, G., FABIANI, M., CORBALLIS, P.M. AND GRATTON, E. (1997b) Noninvasive detection of fast signals from the cortex using frequency- domain optical methods. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* **820**, 286-298.
- GRATTON, G., FABIANI, M., CORBALLIS, P.M., HOOD, D.C., GOODMAN-WOOD, M.R., HIRSCH, J., KIM, K., FRIEDMAN, D. AND GRATTON, E. (1997c) Fast and localized

-
- event-related optical signals (EROS) in the human occipital cortex: comparisons with the visual evoked potential and fMRI. *Neuroimage*. **6**, 168-180.
- GRATTON, G., FABIANI, M., FRIEDMAN, D., FRANCESCHINI, M., FANTINI, S., COBALLIS, P. AND GRATTON, E. (1995) Rapid Changes of Optical Parameters in the Human Brain During a Tapping Task. *Journal of Cognitive Neuroscience* **7**, 446-456.
- GRATTON, G., MAIER, J.S., FABIANI, M., MANTULIN, W.W. AND GRATTON, E. (1994) Feasibility of intracranial near-infrared optical scanning. *Psychophysiology* **31**, **211-215**.
- GRATTON, G., SARNO, A., MACLIN, E., CORBALLIS, P.M. AND FABIANI, M. (2000) Toward Noninvasive 3-D Imaging of the Time Course of Cortical Activity: Investigation of the Depth of the Event-Related Optical Signal. *Neuroimage* **11**, 491-504.
- HEEGER, D.J., HUK, A.C., GEISLER, W.S. AND ALBRECHT, D.G. (2000) Spikes versus BOLD: what does neuroimaging tell us about neuronal activity? *Nat.Neurosci.* **3**, **631-633**.
- *HEEKEREN, H.R., KOHL, M., OBRIG, H., WENZEL, R., VON, P.W., MATCHER, S.J., DIRNAGL, U., COOPER, C.E. AND VILLRINGER, A. (1999) Noninvasive assessment of changes in cytochrome-c oxidase oxidation in human subjects during visual stimulation [In Process Citation]. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **19**, 592-603.
- HEEKEREN, H.R., OBRIG, H., WENZEL, R., EBERLE, K., RUBEN, J., VILLRINGER, K., KURTH, R. AND VILLRINGER, A. (1997) Cerebral haemoglobin oxygenation during sustained visual stimulation--a near-infrared spectroscopy study. *Philos.Trans.R.Soc.Lond.B.Biol.Sci.* **352**, 743-750.
- HILL, D.K. AND KEYNES, R.D. (1949) Opacity changes in stimulated nerve. *J Physiol* **108**, 278-281.
- HILL, R.A., CHIAPPA, K.H., HUANG-HELLINGER, F. AND JENKINS, B.G. (1999) Hemodynamic and metabolic aspects of photosensitive epilepsy revealed by functional magnetic resonance imaging and magnetic resonance spectroscopy. *Epilepsia* **40**, 912-920.
- HINTZ, S.R., BENARON, D.A., SIEGEL, A.M., ZOURABIAN, A., STEVENSON, D.K. AND BOAS, D.A. (2001) Bedside functional imaging of the premature infant brain during passive motor activation. *J.Perinat.Med.* **29**, 335-343.
- HIRAOKA, M., FIRBANK, M., ESSENPREIS, M., COPE, M., ARRIDGE, S.R., VAN, D.Z. AND DELPY, D.T. (1993) A Monte Carlo investigation of optical pathlength in inhomogeneous tissue and its application to near-infrared spectroscopy. *Phys.Med.Biol.* **38**, 1859-1876.

-
- HIRTH, C., OBRIG, H., VALDUEZA, J., DIRNAGL, U. AND VILLRINGER, A. (1997) Simultaneous assessment of cerebral oxygenation and hemodynamics during a motor task. A combined near infrared and transcranial Doppler sonography study. *Adv.Exp.Med.Biol.* **411**, 461-469.
- HOCK, C., VILLRINGER, K., MULLER-SPAHN, F., WENZEL, R., HEEKEREN, H., SCHUH-HOFER, S., HOFMANN, M., MINOSHIMA, S., SCHWAIGER, M., DIRNAGL, U. AND VILLRINGER, A. (1997) Decrease in parietal cerebral hemoglobin oxygenation during performance of a verbal fluency task in patients with Alzheimer's disease monitored by means of near-infrared spectroscopy (NIRS) --correlation with simultaneous rCBF-PET measurements. *Brain Res.* **755**, 293-303.
- HORTON, J.C. AND HOCKING, D.R. (1998) Monocular core zones and binocular border strips in primate striate cortex revealed by the contrasting effects of enucleation, eyelid suture, and retinal laser lesions on cytochrome oxidase activity. *J.Neurosci.* **18**, 5433-5455.
- HOWSEMAN, A.M., PORTER, D.A., HUTTON, C., JOSEPHS, O. AND TURNER, R. (1998) Blood oxygenation level dependent signal time courses during prolonged visual stimulation. *Magn.Reson.Imaging* **16**, 1-11.
- HU, X., LE, T.H. AND UGURBIL, K. (1997) Evaluation of the early response in fMRI in individual subjects using short stimulus duration. *Magn.Reson.Med.* **37**, 877-884.
- HUBENER, M., SHOHAM, D., GRINVALD, A. AND BONHOEFFER, T. (1997) Spatial relationships among three columnar systems in cat area 17. *J.Neurosci.* **17**, 9270-9284.
- HUDETZ, A.G., BISWAL, B.B., SHEN, H., LAUER, K.K. AND KAMPINE, J.P. (1998) Spontaneous fluctuations in cerebral oxygen supply. An introduction. *Adv.Exp.Med.Biol.* **454**, 551-559.
- ISRAEL, H., OBRIG, H., KOHL, M., ULUDAG, K., MÜLLER, B., WENZEL, R., BUCKOW, C., ARNOLD, G. AND VILLRINGER, A. (2000) Is neuro-vascular coupling altered in interictal migraineurs? A combined visually evoked potential (VEP) and Near-Infrared-Spectroscopy (NIRS) Approach. Conference Proceedings Human Brain Mapping, Brighton **Abstr. 10434, (Abstract)**
- JOBSIS, F.F. (1977) Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science* **198**, 1264-1267.
- JUEPTNER, M. AND WEILLER, C. (1995) Review: does measurement of regional cerebral blood flow reflect synaptic activity? Implications for PET and fMRI. *Neuroimage.* **2**, 148-156.

-
- KIRKPATRICK, P.J., LAM, J., AL-RAWI, P., SMIELEWSKI, P. AND CZOSNYKA, M. (1998a) Defining thresholds for critical ischemia by using near-infrared spectroscopy in the adult brain. *J.Neurosurg.* **89**, 389-394.
- KIRKPATRICK, P.J., SMIELEWSKI, P., AL-RAWI, P. AND CZOSNYKA, M. (1998b) Resolving extra- and intracranial signal changes during adult near infrared spectroscopy. *Neurol.Res.* **20 Suppl 1**, S19-S22
- KIRKPATRICK, P.J., SMIELEWSKI, P., CZOSNYKA, M., MENON, D.K. AND PICKARD, J.D. (1995) Near-infrared spectroscopy use in patients with head injury. *J.Neurosurg.* **83**, 963-970.
- *KLEINSCHMIDT, A., OBRIG, H., REQUARDT, M., MERBOLDT, K.D., DIRNAGL, U., VILLRINGER, A. AND FRAHM, J. (1996) Simultaneous recording of cerebral blood oxygenation changes during human brain activation by magnetic resonance imaging and near-infrared spectroscopy. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **16**, 817-826.
- KOHL, M., LINDAUER, U., DIRNAGL, U. AND VILLRINGER, A. (1997) Separation of changes in light scattering and chromophore concentrations during cortical spreading depression in rats. *Optics Letters* **23**, 555-557.
- KOHL, M., LINDAUER, U., ROYL, G., KUHL, M., GOLD, L., VILLRINGER, A. AND DIRNAGL, U. (2000) Physical model for the spectroscopic analysis of cortical intrinsic optical signals. *Phys.Med.Biol.* **45**, 3749-3764.
- KOHL, M., NOLTE, C., HEEKEREN, H., HORST, S., SCHOLZ, U., OBRIG, H. AND VILLRINGER, A. (1997) Changes in cytochrome-oxidase oxidation in the occipital cortex during visual stimulation: Improvement in sensitivity by the determination of the wavelength dependence of the differential pathlength factor. *SPIE conference proceedings* 18-27.
- *KOHL, M., NOLTE, C., HEEKEREN, H.R., HORST, S., SCHOLZ, U., OBRIG, H. AND VILLRINGER, A. (1998) Determination of the wavelength dependence of the differential pathlength factor from near-infrared pulse signals. *Phys.Med.Biol.* **43**, 1771-1782.
- KOHL, M., OBRIG, H., STEINBRINK, J., MALAK, J., ULUDAG, K. AND VILLRINGER, A. (2001) Noninvasive cerebral blood flow monitoring by a dye bolus method: separation of extra- and intracerebral absorption changes by frequency domain spectroscopy. *Proceedings of SPIE* **4250**, 296-300.

-
- KOHL, M., OBRIG, H., STEINBRINK, J., MALAK, J., ULUDAG, K. AND VILLRINGER, A. (2002) Non-invasive monitoring of cerebral blood flow by a dye bolus method: separation of brain from skin and skull signals . *J.Biomed.Opt.* (**in press**)
- KRUGER, G., KASTRUP, A., TAKAHASHI, A. AND GLOVER, G.H. (1999) Simultaneous monitoring of dynamic changes in cerebral blood flow and oxygenation during sustained activation of the human visual cortex. *Neuroreport.* **10**, 2939-2943.
- KUWABARA, H., OHTA, S., BRUST, P., MEYER, E. AND GJEDDE, A. (1992) Density of perfused capillaries in living human brain during functional activation. *Prog.Brain Res.* **91**, 209-215.
- LAMANNA, J.C., SICK, T.J., PIKARSKY, S.M. AND ROSENTHAL, M. (1987) Detection of an oxidizable fraction of cytochrome oxidase in intact rat brain. *Am.J.Physiol.* **253**, C477-C483
- LAURITZEN, M. (1994) Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory. *Brain* **117**, 199-210.
- LAURITZEN, M. (2001) Relationship of Spikes, Synaptic Activity, and Local Changes of Cerebral Blood Flow. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **21**, 1367-1383.
- LEINSINGER, G.L., HEISS, D.T., JASSOY, A.G., PFLUGER, T., HAHN, K. AND DANEK, A. (1997) Persistent mirror movements: functional MR imaging of the hand motor cortex. *Radiology* **203**, 545-552.
- LEMIEUX, L., SALEK-HADDADI, A., JOSEPHS, O., ALLEN, P., TOMS, N., SCOTT, C., KRAKOW, K., TURNER, R. AND FISH, D.R. (2001) Event-related fMRI with simultaneous and continuous EEG: description of the method and initial case report. *Neuroimage* **14**, 780-787.
- LINDAUER, U., ROYL, G., LEITHNER, C., KUHL, M., GOLD, L., GETHMANN, J., KOHL-BAREIS, M., VILLRINGER, A. AND DIRNAGL, U. (2001) No evidence for early decrease in blood oxygenation in rat whisker cortex in response to functional activation. *Neuroimage* **13**, 988-1001.
- LINDAUER, U., VILLRINGER, A. AND DIRNAGL, U. (1993) Characterization of CBF response to somatosensory stimulation: model and influence of anesthetics. *Am.J.Physiol.* **264**, H1223-H1228

-
- LIU, H., CHANCE, B., HIELSCHER, A.H., JACQUES, S.L. AND TITTEL, F.K. (1995) Influence of blood vessels on the measurement of hemoglobin oxygenation as determined by time-resolved reflectance spectroscopy. *Med.Phys.* **22**, 1209-1217.
- LIU, H. AND GAO, J. (2000) An investigation of the impulse functions for the nonlinear BOLD response in functional MRI. *Magn.Reson.Imaging* **18**, 931-938.
- LIVINGSTONE, M.S. AND HUBEL, D.H. (1984) Anatomy and physiology of a color system in the primate visual cortex. *J.Neurosci.* **4**, 309-356.
- LOCKWOOD, A.H., LAMANNA, J.C., SNYDER, S. AND ROSENTHAL, M. (1984) Effects of acetazolamide and electrical stimulation on cerebral oxidative metabolism as indicated by the cytochrome oxidase redox state. *Brain Res.* **308**, 9-14.
- LOGOTHETIS, N.K., PAULS, J., AUGATH, M., TRINATH, T. AND OELTERMANN, A. (2001) Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature* **412**, 150-157.
- MACVICAR, B.A. AND HOCHMAN, D. (1991) Imaging of synaptically evoked intrinsic optical signals in hippocampal slices. *J Neurosci.* **11**, 1458-1469.
- MAGISTRETTI, P.J. (2000) Cellular bases of functional brain imaging: insights from neuron-glia metabolic coupling. *Brain Res.* **886**, 108-112.
- MAGISTRETTI, P.J., PELLERIN, L., ROTHMAN, D.L. AND SHULMAN, R.G. (1999) Energy on demand. *Science* **283**, 496-497.
- MALONEK, D., DIRNAGL, U., LINDAUER, U., YAMADA, K., KANNO, I. AND GRINVALD, A. (1997) Vascular imprints of neuronal activity: relationships between the dynamics of cortical blood flow, oxygenation, and volume changes following sensory stimulation. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* **94**, 14826-14831.
- MANDEVILLE, J.B., MAROTA, J.J., AYATA, C., ZAHARCHUK, G., MOSKOWITZ, M.A., ROSEN, B.R. AND WEISSKOFF, R.M. (1999) Evidence of a cerebrovascular postarteriole windkessel with delayed compliance. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **19**, 679-689.
- MAROTA, J.J., AYATA, C., MOSKOWITZ, M.A., WEISSKOFF, R.M., ROSEN, B.R. AND MANDEVILLE, J.B. (1999) Investigation of the early response to rat forepaw stimulation. *Magn.Reson.Med.* **41**, 247-252.
- MARTIN, E. AND MARCAR, V.L. (2001) Functional MR imaging in pediatrics. *Magn.Reson.Imaging Clin.N.Am.* **9**, 231-23x.

-
- MATCHER, S.J., COPE, M. AND DELPY, D.T. (1994) Use of the water absorption spectrum to quantify tissue chromophore concentration changes in near-infrared spectroscopy. *Phys.Med.Biol.* **39**, 177-196.
- MATCHER, S.J., ELWELL, C.E., COOPER, C.E., COPE, M. AND DELPY, D.T. (1995) Performance comparison of several published tissue near-infrared spectroscopy algorithms. *Anal.Biochem.* **227**, 54-68.
- MATHIESEN, C., CAESAR, K. AND LAURITZEN, M. (2000) Temporal coupling between neuronal activity and blood flow in rat cerebellar cortex as indicated by field potential analysis. *J.Physiol.* **523 Pt 1**, 235-246.
- MATSUO, K., KATO, T., FUKUDA, M. AND KATO, N. (2000) Alteration of hemoglobin oxygenation in the frontal region in elderly depressed patients as measured by near-infrared spectroscopy. *J.Neuropsychiatry.Clin.Neurosci.* **12**, 465-471.
- MAYEVSKY, A., DORON, A., MANOR, T., MEILIN, S., ZARCHIN, N. AND OUAKNINE, G.E. (1996) Cortical spreading depression recorded from the human brain using a multiparametric monitoring system. *Brain Res.* **740**, 268-274.
- MAYEVSKY, A. AND ZIV, I. (1991) Oscillations of cortical oxidative metabolism and microcirculation in the ischaemic brain. *Neurol.Res.* **13**, 39-47.
- MAYHEW, J., ZHAO, L., HOU, Y., BERWICK, J., ASKEW, S., ZHENG, Y. AND COFFEY, P. (1998) Spectroscopic investigation of reflectance changes in the barrel cortex following whisker stimulation. *Adv.Exp.Med.Biol.* **454**, 139-148.
- MAYHEW, J., ZHENG, Y., HOU, Y., VUKSANOVIC, B., BERWICK, J., ASKEW, S. AND COFFEY, P. (1999) Spectroscopic analysis of changes in remitted illumination: the response to increased neural activity in brain. *Neuroimage* **10**, 304-326.
- MAYHEW, J.E., ASKEW, S., ZHENG, Y., PORRILL, J., WESTBY, G.W., REDGRAVE, P., RECTOR, D.M. AND HARPER, R.M. (1996) Cerebral vasomotion: a 0.1-Hz oscillation in reflected light imaging of neural activity. *Neuroimage* **4**, 183-193.
- MAYHEW, J.W., ASKEW, S., ZHENG, Y., PORRILL, J., WESTBY, G.M., REDGRAVE, P., RECTOR, D.M. AND HARPER, R.M. (1996) Cerebral Vasomotion: A 0.1-Hz Oscillation in Reflected Light Imaging of Neural Activity. **4**, 183-193.

-
- MECHELLI, A., PRICE, C.J. AND FRISTON, K.J. (2001) Nonlinear Coupling between Evoked rCBF and BOLD Signals: A Simulation Study of Hemodynamic Responses. *Neuroimage*. **14**, 862-872.
- MENON, R.S., OGAWA, S., HU, X., STRUPP, J.P., ANDERSON, P. AND UGURBIL, K. (1995) BOLD based functional MRI at 4 Tesla includes a capillary bed contribution: echo-planar imaging correlates with previous optical imaging using intrinsic signals. *Magn.Reson.Med.* **33**, 453-459.
- MIES, G., IJIMA, T. AND HOSSMANN, K.A. (1993) Correlation between peri-infarct DC shifts and ischaemic neuronal damage in rat. *Neuroreport*. **4**, 709-711.
- MILLER, K.L., LUH, W.M., LIU, T.T., MARTINEZ, A., OBATA, T., WONG, E.C., FRANK, L.R. AND BUXTON, R.B. (2001) Nonlinear temporal dynamics of the cerebral blood flow response. *Hum.Brain Mapp.* **13**, 1-12.
- MINTUN, M.A., LUNDSTROM, B.N., SNYDER, A.Z., VLASSENKO, A.G., SHULMAN, G.L. AND RAICHLE, M.E. (2001) Blood flow and oxygen delivery to human brain during functional activity: Theoretical modeling and experimental data. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* **98**, 6859-6864.
- MIYAI, I., TANABE, H.C., SASE, I., EDA, H., ODA, I., KONISHI, I., TSUNAZAWA, Y., SUZUKI, T., YANAGIDA, T. AND KUBOTA, K. (2001) Cortical mapping of gait in humans: a near-infrared spectroscopic topography study. *Neuroimage* **14**, 1186-1192.
- MIYAKE, H., NIOKA, S., ZAMAN, A., SMITH, D.S. AND CHANCE, B. (1991) The detection of cytochrome oxidase heme iron and copper absorption in the blood-perfused and blood-free brain in normoxia and hypoxia. *Anal.Biochem.* **192**, 149-155.
- NEWELL, D.W., AASLID, R., STOOSS, R. AND REULEN, H.J. (1992) The relationship of blood flow velocity fluctuations to intracranial pressure B waves. *J.Neurosurg.* **76**, 415-421.
- NGAI, A.C., JOLLEY, M.A., D'AMBROSIO, R., MENO, J.R. AND WINN, H.R. (1999) Frequency-dependent changes in cerebral blood flow and evoked potentials during somatosensory stimulation in the rat. *Brain Res.* **837**, 221-228.
- NIOKA, S., LUO, Q. AND CHANCE, B. (1997) Human brain functional imaging with reflectance CWS. *Adv.Exp.Med.Biol.* **428**, 237-242.

-
- NOLLERT, G., JONAS, R.A. AND REICHART, B. (2000) Optimizing cerebral oxygenation during cardiac surgery: a review of experimental and clinical investigations with near infrared spectrophotometry. *Thorac.Cardiovasc.Surg.* **48**, 247-253.
- NOLLERT, G., NAGASHIMA, M., BUCERIUS, J., SHIN, LIDOV, H.G., DU, P.A. AND JONAS, R.A. (1999) Oxygenation strategy and neurologic damage after deep hypothermic circulatory arrest. II. hypoxic versus free radical injury. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* **117**, 1172-1179.
- NORRIS, D.G. (2001) The effects of microscopic tissue parameters on the diffusion weighted magnetic resonance imaging experiment. *NMR.Biomed.* **14**, 77-93.
- NUDO, R.J. AND MASTERTON, R.B. (1986) Stimulation-induced [14C]2-deoxyglucose labeling of synaptic activity in the central auditory system. *J.Comp.Neurol.* **245**, 553-565.
- NYBERG, L., MCINTOSH, A.R., CABEZA, R., NILSSON, L.G., HOULE, S., HABIB, R. AND TULVING, E. (1996) Network analysis of positron emission tomography regional cerebral blood flow data: ensemble inhibition during episodic memory retrieval. *J.Neurosci.* **16**, 3753-3759.
- *OBRIG, H., HIRTH, C., JUNGE-HULSING, J.G., DOGE, C., WOLF, T., DIRNAGL, U. AND VILLRINGER, A. (1996) Cerebral oxygenation changes in response to motor stimulation. *J.Appl.Physiol.* **81**, 1174-1183.
- OBRIG, H., ISRAEL, H., KOHL-BAREIS, M., ULUDAG, K., WENZEL, R., MÜLLER, B. AND VILLRINGER, A. (2002) Habituation of the Visually Evoked Potential (VEP) and its Vascular Response: Implications for Neurovascular Coupling in the Healthy Adult. *Neuroimage* (**submitted, 1 minor revision requested**)
- *OBRIG, H., NEUFANG, M., WENZEL, R., KOHL, M., STEINBRINK, J., EINHAUPL, K. AND VILLRINGER, A. (2000a) Spontaneous low frequency oscillations of cerebral hemodynamics and metabolism in human adults. *Neuroimage.* **12**, 623-639.
- *OBRIG, H., WENZEL, R., KOHL, M., HORST, S., WOBST, P., STEINBRINK, J., THOMAS, F. AND VILLRINGER, A. (2000b) Near-infrared spectroscopy: does it function in functional activation studies of the adult brain? *Int.J.Psychophysiol.* **35**, 125-142.
- OGAWA, S. AND LEE, T.M. (1990) Magnetic resonance imaging of blood vessels at high fields: in vivo and in vitro measurements and image simulation. *Magn.Reson.Med.* **16**, 9-18.

-
- OKADA, E., FIRBANK, M. AND DELPY, D.T. (1995) The effect of overlying tissue on the spatial sensitivity profile of near-infrared spectroscopy. *Phys.Med.Biol.* **40**, 2093-2108.
- OKADA, E., FIRBANK, M., SCHWEIGER, ARRIDGE, S.R., COPE, M. AND DELPY, D.T. (1997) Theoretical and experimental investigation of near-infrared light propagation in a model of the adult head. *Applied Optics* **36**, 21-31.
- OKADA, F., TAKAHASHI, N. AND TOKUMITSU, Y. (1996) Dominance of the 'nondominant' hemisphere in depression. *J.Affect.Disord.* **37**, 13-21.
- OKADA, F., TOKUMITSU, Y., HOSHI, Y. AND TAMURA, M. (1994) Impaired interhemispheric integration in brain oxygenation and hemodynamics in schizophrenia. *Eur.Arch.Psychiatry Clin.Neurosci.* **244**, 17-25.
- PAUS, T., MARRETT, S., WORSLEY, K.J. AND EVANS, A.C. (1995) Extraretinal modulation of cerebral blood flow in the human visual cortex: implications for saccadic suppression. *J.Neurophysiol.* **74**, 2179-2183.
- QUARLES, R.P., MINTUN, M.A., LARSON, K.B., MARKHAM, J., MACLEOD, A.M. AND RAICHLE, M.E. (1993) Measurement of regional cerebral blood flow with positron emission tomography: a comparison of [15O]water to [11C]butanol with distributed-parameter and compartmental models. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **13**, 733-747.
- RECTOR, D.M., POE, G.R., KRISTENSEN, M.P. AND HARPER, R.M. (1995) Imaging the dorsal hippocampus: light reflectance relationships to electroencephalographic patterns during sleep. *Brain Res.* **696**, 151-160.
- RECTOR, D.M., POE, G.R., KRISTENSEN, M.P. AND HARPER, R.M. (1997a) Light scattering changes follow evoked potentials from hippocampal Schaeffer collateral stimulation. *J.Neurophysiol.* **78**, 1707-1713.
- RECTOR, D.M., POE, G.R., REDGRAVE, P. AND HARPER, R.M. (1997b) A miniature CCD video camera for high-sensitivity light measurements in freely behaving animals. *J.Neurosci.Methods* **78**, 85-91.
- RECTOR, D.M., ROGERS, R.F., SCHWABER, J.S., HARPER, R.M. AND GEORGE, J.S. (2001) Scattered-light imaging in vivo tracks fast and slow processes of neurophysiological activation. *Neuroimage* **14**, 977-994.
- REES, G., FRISTON, K. AND KOCH, C. (2000) A direct quantitative relationship between the functional properties of human and macaque V5. *Nat.Neurosci.* **3**, 716-723.

-
- ROTHER, J., KNAB, R., HAMZEI, F., FIEHLER, J., REICHENBACH, J.R., BUCHEL, C. AND WEILLER, C. (2002) Negative Dip in BOLD fMRI Is Caused by Blood Flow- Oxygen Consumption Uncoupling In Humans. *Neuroimage* **15**, 98-102.
- ROY, C. AND SHERRINGTON, C. (1890) On the regulation of the blood supply of the brain. *J.Physiol.* **11**, 85-108.
- RUBEN, J., WENZEL, R., OBRIG, H., VILLRINGER, K., BERNARDING, J., HIRTH, C., HEEKEREN, H., DIRNAGL, U. AND VILLRINGER, A. (1997) Haemoglobin oxygenation changes during visual stimulation in the occipital cortex. *Adv.Exp.Med.Biol.* **428**, 181-187.
- SALZBERG, B.M. (1989) Optical recording of voltage changes in nerve terminals and in fine neuronal processes. *Annu.Rev.Physiol.* **51**, 507-526.
- SAPPEY-MARINIER, D., CALABRESE, G., FEIN, G., HUGG, J.W., BIGGINS, C. AND WEINER, M.W. (1992) Effect of photic stimulation on human visual cortex lactate and phosphates using ¹H and ³¹P magnetic resonance spectroscopy. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **12**, 584-592.
- SCANNELL, J.W. AND YOUNG, M.P. (1999) Neuronal population activity and functional imaging. *Proc.R.Soc.Lond.B.Biol.Sci.* **266**, 875-881.
- SHAFFER, L.H. (1982) Rhythm and timing in skill. *Psychol.Rev.* **89**, 109-122.
- SHULMAN, R.G., HYDER, F. AND ROTHMAN, D.L. (2001) Cerebral energetics and the glycogen shunt: neurochemical basis of functional imaging. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* **98**, 6417-6422.
- SKOV, L. AND GREISEN, G. (1994) Apparent cerebral cytochrome aa3 reduction during cardiopulmonary bypass in hypoxaemic children with congenital heart disease. A critical analysis of in vivo near-infrared spectrophotometric data. *Physiol.Meas.* **15**, 447-457.
- SMIELEWSKI, P., CZOSNYKA, M., PICKARD, J.D. AND KIRKPATRICK, P. (1997) Clinical evaluation of near-infrared spectroscopy for testing cerebrovascular reactivity in patients with carotid artery disease. *Stroke* **28**, 331-338.
- SMIELEWSKI, P., CZOSNYKA, M., PICKARD, J.D. AND KIRKPATRICK, P. (1998) Assessment of cerebrovascular reactivity in patients with carotid artery disease using near-infrared spectroscopy. *Acta Neurochir.Suppl.(Wien.)* **71**, 263-265.
- SOKOL, D.K., MARKAND, O.N., DALY, E.C., LUERSSSEN, T.G. AND MALKOFF, M.D. (2000) Near infrared spectroscopy (NIRS) distinguishes seizure types. *Seizure* **9**, 323-327.

-
- SPRINGETT, R., NEWMAN, J., COPE, M. AND DELPY, D.T. (2000) Oxygen dependency and precision of cytochrome oxidase signal from full spectral NIRS of the piglet brain. *Am.J.Physiol.Heart Circ.Physiol.* **279**, H2202-H2209
- *STEINBRINK, J., KOHL, M., OBRIG, H., CURIO, G., SYRE, F., THOMAS, F., WABNITZ, H., RINNEBERG, H. AND VILLRINGER, A. (2001a) Somatosensory evoked fast optical intensity changes detected non-invasively in the adult human head. *Neurosci.Lett.* **291**, 105-108.
- *STEINBRINK, J., WABNITZ, H., OBRIG, H., VILLRINGER, A. AND RINNEBERG, H. (2001b) Determining changes in NIR absorption using a layered model of the human head. *Phys.Med.Biol.* **46**, 879-896.
- STEINMETZ, H., FURST, G. AND MEYER, B.U. (1989) Craniocerebral topography within the international 10-20 system. *Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.* **72**, 499-506.
- STEPNOSKI, R.A., LAPORTA, A., RACCUIA-BEHLING, F., BLONDER, G.E., SLUSHER, R.E. AND KLEINFELD, D. (1991) Noninvasive detection of changes in membrane potential in cultured neurons by light scattering. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* **88**, 9382-9386.
- SYRÉ, F., OBRIG, H., STEINBRINK, J., KOHL, M., WENZEL, R. AND VILLRINGER, A. (2000) Are VEP Correlated Fast Optical Changes Detectable in the Adult by Non Invasive Near Infrared Spectroscopy (NIRS)? *Adv.Exp.Med.Biol.*
- TOOTELL, R.B., REPPAS, J.B., KWONG, K.K., MALACH, R., BORN, R.T., BRADY, T.J., ROSEN, B.R. AND BELLIVEAU, J.W. (1995) Functional analysis of human MT and related visual cortical areas using magnetic resonance imaging. *J.Neurosci.* **15**, 3215-3230.
- TSUJI, M., NARUSE, H., VOLPE, J. AND HOLTZMAN, D. (1995) Reduction of cytochrome aa3 measured by near-infrared spectroscopy predicts cerebral energy loss in hypoxic piglets. *Pediatr.Res.* **37**, 253-259.
- UEKI, M., LINN, F. AND HOSSMANN, K.A. (1988) Functional activation of cerebral blood flow and metabolism before and after global ischemia of rat brain. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **8**, 486-494.
- *ULUDAG, K., KOHL, M., STEINBRINK, J., OBRIG, H. AND VILLRINGER, A. (2001) Crosstalk in the Lambert-Beer calculation for near-infrared wavelengths estimated by Monte simulations. *J.Biomed.Opt.* **7**, 51-59.

-
- VAFABEE, M.S. AND GJEDDE, A. (1999) Model of blood-brain transfer of oxygen explains nonlinear flow-metabolism coupling during stimulation of visual cortex. *J.Cereb.Blood Flow Metab.*2000.Apr.;**20**. (4.) :747.-54. **20**, 747-754.
- VAFABEE, M.S., MARRETT, S., MEYER, E., EVANS, A.C. AND GJEDDE, A. (1998) Increased oxygen consumption in human visual cortex: response to visual stimulation. *Acta Neurol.Scand.* **98**, 85-89.
- VANZETTA, I. AND GRINVALD, A. (2001) Evidence and lack of evidence for the initial dip in the anesthetized rat: implications for human functional brain imaging. *Neuroimage* **13**, 959-967.
- VAZQUEZ, A.L. AND NOLL, D.C. (1998) Nonlinear aspects of the BOLD response in functional MRI. *Neuroimage* **7**, 108-118.
- VERN, B.A., LEHETA, B.J., JUEL, V.C., LAGUARDIA, J., GRAUPE, P. AND SCHUETTE, W.H. (1998) Slow oscillations of cytochrome oxidase redox state and blood volume in unanesthetized cat and rabbit cortex. Interhemispheric synchrony. *Adv.Exp.Med.Biol.* **454**, 561-570.
- VERNIERI, F., ROSATO, N., PAURI, F., TIBUZZI, F., PASSARELLI, F. AND ROSSINI, P.M. (1999) Near infrared spectroscopy and transcranial Doppler in monohemispheric stroke. *Eur.Neurol.* **41**, 159-162.
- VILLRINGER, A. AND DIRNAGL, U. (1995) Coupling of brain activity and cerebral blood flow: basis of functional neuroimaging. *Cerebrovasc.Brain Metab.Rev.* **7**, 240-276.
- VILLRINGER, A., PLANCK, J., HOCK, C., SCHLEINKOFER, L. AND DIRNAGL, U. (1993) Near infrared spectroscopy (NIRS): a new tool to study hemodynamic changes during activation of brain function in human adults. *Neurosci.Lett.* **154**, 101-104.
- VILLRINGER, K., MINOSHIMA, S., HOCK, C., OBRIG, H., ZIEGLER, S., DIRNAGL, U., SCHWAIGER, M. AND VILLRINGER, A. (1997) Assessment of local brain activation. A simultaneous PET and near- infrared spectroscopy study. *Adv.Exp.Med.Biol.* **413**, 149-153.
- WALDVOGEL, D., VAN, G.P., MUELLBACHER, W., ZIEMANN, U., IMMISCH, I. AND HALLETT, M. (2000) The relative metabolic demand of inhibition and excitation. *Nature* **406**, 995-998.

-
- WASTELL, D.G. AND KLEINMAN, D. (1980) Potentiation of the habituation of human brain potentials. *Biol.Psychol.* **10**, 21-29.
- WATANABE, E., MAKI, A., KAWAGUCHI, F., TAKASHIRO, K., YAMASHITA, Y., KOIZUMI, H. AND MAYANAGI, Y. (1998) Non-invasive assessment of language dominance with near-infrared spectroscopic mapping [In Process Citation]. *Neurosci.Lett.* **256**, 49-52.
- WATANABE, E., MAKI, A., KAWAGUCHI, F., YAMASHITA, Y., KOIZUMI, H. AND MAYANAGI, Y. (2000) Noninvasive cerebral blood volume measurement during seizures using multichannel near infrared spectroscopic topography. *J.Biomed.Opt.* **5**, 287-290.
- WENZEL, R., OBRIG, H., RUBEN, J., VILLRINGER, K., THIEL, A., BERNARDING, J., DIRNAGL, U. AND VILLRINGER, A. (1996) Cerebral Blood Oxygenation Changes Induced by Visual Stimulation in Humans. *J.Biomed.Opt.* **1**, 399-404.
- *WENZEL, R., WOBST, P., HECKEREN, H.H., KWONG, K.K., BRANDT, S.A., KOHL, M., OBRIG, H., DIRNAGL, U. AND VILLRINGER, A. (2000) Saccadic suppression induces focal hypooxygenation in the occipital cortex. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **20**, 1103-1110.
- WICKRAMASINGHE, Y.A., ROLFE, P., PALMER, K. AND SPENCER, S.A. (1995) Investigation of neonatal brain cytochrome redox by NIRS. *Brain Res.Dev.Brain Res.* **89**, 307-308.
- *WOBST, P., WENZEL, R., KOHL, M., OBRIG, H. AND VILLRINGER, A. (2001) Linear aspects of changes in deoxygenated hemoglobin concentration and cytochrome oxidase oxidation during brain activation. *Neuroimage* **13**, 520-530.
- WOLF, T., LINDAUER, U., REUTER, U., BACK, T., VILLRINGER, A., EINHAUPL, K. AND DIRNAGL, U. (1997) Noninvasive near infrared spectroscopy monitoring of regional cerebral blood oxygenation changes during peri-infarct depolarizations in focal cerebral ischemia in the rat. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* **17**, 950-954.
- WRAY, S., COPE, M., DELPY, D.T., WYATT, J.S. AND REYNOLDS, E.O. (1988a) Characterization of the near infrared absorption spectra of cytochrome aa3 and haemoglobin for the non-invasive monitoring of cerebral oxygenation. *Biochim.Biophys.Acta* **933**, 184-192.
- WRAY, S., COPE, M., DELPY, D.T., WYATT, J.S. AND REYNOLDS, E.O. (1988b) Characterization of the near infrared absorption spectra of cytochrome aa3 and haemoglobin for the non-invasive monitoring of cerebral oxygenation. *Biochim.Biophys.Acta* **933**, 184-192.

YABUTA, N.H. AND CALLAWAY, E.M. (1998) Cytochrome-oxidase blobs and intrinsic horizontal connections of layer 2/3 pyramidal neurons in primate V1. *Vis.Neurosci.* **15**, 1007-1027.

YAMADA, H., SADATO, N., KONISHI, Y., KIMURA, K., TANAKA, M., YONEKURA, Y. AND ISHII, Y. (1997) A rapid brain metabolic change in infants detected by fMRI. *Neuroreport* **8**, 3775-3778.

Danksagung

Mein Dank gilt an erster Stelle Arno Villringer, ohne den diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre. In ganz besonderem Maße aber auch Matthias Kohl-Bareis und Rüdiger Wenzel. In je spezifischer Weise haben sie essentiell nicht nur zu dem hier Dargestellten beigetragen, sondern ist allen drei auch zu verdanken, daß mir das Arbeiten in der Gruppe Spaß gemacht hat. Ich verbinde den Dank mit der Hoffnung, daß dies nur eine Zwischenbilanz des freundschaftlichen und wissenschaftlichen gemeinsamen Arbeitens sei.

Die erste Person Plural der Arbeit umfaßt jedoch eine Gruppe: Aus dem Bereich der Physik gilt der Dank vor allem Jens Steinbrink und Kamil Uludag. Weiterhin sei an dieser Stelle den (ehemaligen) Doktoranden Cathleen Buckow, Claudia Döge, Daniel Haux, Hauke Heekeren, Susanne Horst, Jan Junge-Hülsing, Heike Israel, Florian Kempf, Jasmin Malak, Anne Müller, Markus Neufang, Christian Nolte, Petra Ritter, Sein Schmidt, Frank Syré und Florian Thomas ganz herzlich gedankt.

Nicht zuletzt möchte ich Herrn Professor Einhüpl danken. Gedankt sei ihm an dieser Stelle auch stellvertretend für das wissenschaftliche, klinische aber auch menschlich außergewöhnliche Klima, das er an der Berliner Neurologie der Charité geschaffen hat.

EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

gemäß Habilitationsordnung der Charité

Hiermit erkläre ich, daß

keine staatsanwaltschaftlichen Ermittlungsverfahren anhängig sind,

weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde bzw. welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte;

die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfaßt, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,

dem Bewerber die geltende Habilitationsordnung bekannt ist,

Berlin, 20.03.2002

Dr. med. Hellmuth Obrig