Korrelations- versus Integrations-Analyse

Implikationen für funktionelle Kernspintomographie und Optische Registrierungen Intrinsischer Signale

Andreas Hess, Detlef Stiller und Henning Scheich*

*Leibniz Institut für Neurobiologie,
Brenneckstr. 6, D-39118 Magdeburg
Email: hess@ifn-magdeburg.de

Zusammenfassung. In dieser Kombinationsstudie von funktioneller Kernspintomographie (fMRI) und optischen Registrierung (ORIS) wurde zum einen zeitliche Korrelationen zwischen Stimulations- und Ruhephasen, zum anderen integrative Aktivierungen analysiert. Beide Methoden messen die hämodynamische Antwort; ORIS kann zusätzlich eine Sauerstoffverbrauchs- und ein Blutvolumensignal unterscheiden. Aufgrund gleicher Zeit- und Raumfunktionen von fMRI und ORIS des Blutvolumensignales wurde gezeigt, daß das funktionelle Kernspinsignal primär ein Blutvolumensignal ist. Aufgrund zeitlich-korrelativer Analyse konnte weiterhin durch Vergleich mit dem sehr gut lokalisierten Sauerstoffverbrauchssignal des ORIS auch für das Blutvolumensignal ein sehr gute räumliche Lokalisierung demonstriert werden. Dadurch verbessert sich die nutzbare räumliche Auflösung des Kernspinsignals um mehr als 10-fach.

Schlüsselwörter: fMRI, optische Bildgebung, Korrelationsanalyse, Hemodynamische Antwort, Auflösung

1 Einleitung

Die funktionelle Kernspintomographie (fMRI) hat eine enorme experimentelle und klinische Relevanz bei der Untersuchung von Gehirnfunktion und –fehlfunktion eingenommen. Die nicht invasive fMRI basiert auf dem sog. BOLD-Effekt („blood oxygenation level dependent" [1]). Dessen exakte physiologische Mechanismen sind noch nicht ausreihend verstanden. Um ein robustes, positives BOLD Signal zu erzielen, muß über längere Zeit stimuliert werden [2]. Die gemessene positive Polarität des BOLD-Signales wird üblicherweise als vermehrte Auswaschung von paramagnetischem Desoxy-Hemoglobin (HbR) aufgrund erhöhten Blutflusses (CBF) interpretiert. Diese Interpretation steht im Widerspruch zu Ergebnissen, die belegen, daß unter Stimulationsbedingungen die Konzentration von HbR zunimmt [3].
Optische Registrierungen intrinsischer Signale (ORIS) [4, 5] ist eine Methode, die durch Absorptionsänderungen des Gewebes sowohl Blutvolumenänderungen (bei 577 nm Wellenlänge) als auch Änderungen der Konzentration von Desoxyhemoglobin (bei 605 nm Wellenlängen) erfaßt. Weitere Vorteile sind die hohe räumliche Auflösung und die Tatsache, daß Ergebnisse direkt bezüglich der zugrundeliegenden vaskulären Struktur interpretierbar sind.

Die hier durchgeführte Kombinationsstudie soll die zeitlich korrelative Analyse des periodischen Stimulations/Ruhe Protokolls zur Natur des BOLD-Effektes sowie seiner räumlichen Genauigkeit beitragen.

2 Methoden

2.1 fMRI Experimentalmethoden

Bei 5 Mongolischen Gerbils wurden unter Halothan-Narkose jeweils ein Schnurbarthaar (D2 rechts, alle anderen waren abgeschnitten) periodisch (30 sec Ruhe dann 30 sec Stimulation mit 8 Hz Modulation; 10 mal wiederholt, sog. *Block-Design*) mit einem sanften Luftstrom im Kernspinmagnet (4,7-T BRUKER Biospec imager, Bohrung 20 cm, aktiv entkoppeltes Spulensystem, 3 cm Oberflächenspule direkt über dem Kopf) stimuliert. Die Bildgebung des linken Somatosensorischen Cortex wurde mit folgenden Sequenzen durchgeführt:
Anatomische Referenzbilder: RARE Sequenz, T2-weighted spin echo, Dicke 1,5 mm, field of view: 2,56*2,56 cm, Matrix: 256*256 voxels, 100 μm in-plane Auflösung).
Funktionelle Bilder: FLASH Gradienten Echo Sequenz, (TR/TE/flip-angle of 96,7 ms/20 ms/15^0, Dicke 1,5 mm, field of view: 2,56*2,56 cm, Matrix: 64*64 voxels, und damit 400 μm in-plane Auflösung). In 100 sequentielle Scans wurden jeweils drei Bilder aufgenommen. Ein Scan dauerte 6 s; somit ergibt sich eine Gesamtexperimentzeit von 600 s.

2.2 fMRI Datenanalyse

Für jeden Voxel wurde der Zeitverlauf der Amplitudenveränderung des BOLD-Signales über die 600s des Experimentes mit Zeitverschiebung 0 mit dem Blockdesign der Stimulation korreliert. Die resultierende Matrix von Pearson's Koeffizienten wurde Fisher-transformiert und mittels Student-t-Test auf Signifikanz geprüft. Die aktivierte Fläche auf unterschiedlichen Signifikanzniveaus ergab sich aus Zahl aktiver Voxel des Somatosensorischen Cortex mal 400*400 μm^2 pro Voxel. Üblicherweise werden Signifikanzniveaus von 10^{-3} bis 10^{-4} gewählt; in dieser Studie wurde der Effekt des Signifikanzniveaus systematischer über einen weiten Bereich untersucht. Zur Ermittelung eines mittleren Zeitverlaufes wurden alle Experimentdaten aller Tiere gemittelt.

2.3 ORIS Experimentalmethoden

Am Tag nach dem fMRI Experiment wurde den Tieren unter Halothananästhesie ein Kopfhalter angeklebt, sowie über dem linken Somatosensorischen Cortex der Knochen dünngefräst. Durch diesen gedünnten Knochen wurden nun die optischen Signale mit der Kamera des Imager 2001 (Optical Imaging) aufgezeichnet. Vor Experimentbeginn wurde ein vasculäres Referenzbild des homogen ausgeleuchteten Cortex aufgenommen. Für jedes Tier wurden jeweils 5 Experimente für die Wellenlängen 577 ± 6 nm und 605 ± 10 nm durchgeführt. Aufgezeichnet wurden wiederum zehn 30 sec Ruhe/Stimulationsphasen mit 30 Bildern, also 1 sec pro Bild.

2.4 ORIS Datenanalyse

Wir bezeichnen im Rahmen dieser Studie die Pixel des ORIS-Kamerabildes zur Vereinheitlichung der Nomenklatur ebenfalls als Voxel da eigentlich auch die Pixel integrierte Photonenzahlen eines corticalen Volumens enthalten.
ORIS Daten wurden auf zwei Arten analysiert:
Konventionelle integrative Aktivierungskarten (Stimulation in Relation zur Ruhe) wurden für beide Wellenlängen nach einer sog. „first-frame"-Analyseerrechnet. Hierzu wird für alle 30 Bilder einer Ruhe- bzw. Stimulations Halbperiode die Differenzzum jeweils ersten Bild gebildet und diese dann durch das jeweilige erste Bilder geteilt (DR/R). Alle 5 Experimente einer Wellenlänge eines Tieres wurden dann gemittelt und anschließend mittels Faltung mit einem 3x3 Gauß-Kern rauschbefreit. Die Aktivierungswerte zwischen dem 10% und 90 % Quantil wurden farbkodiert als Aktivierungs-Karten dargestellt.

Die neue Art der Auswertung bestand in der Anwendung der zeitlich korrelativen Analyse wie sie unter 2,3 für fMRI beschrieben wurde. Es wurden lediglich zu Beginn die Zeitauflösung der ORIS Daten (1 Bild / 1 sec) auf die des fMRI (1 Bild / 6 s) heruntergerechnet. Karten des Korrelationskoeffizientensowie der Signifikanzniveaus wurden angefertigt. Für die ORIS Daten wurde auch eine komplette Korrelationsfunktion des Datensatzes mit Phasenshift ± 1 Periode errechnet. In den gemittelten Zeitverlauf für jeder Wellenlänge gingen wiederum alle Daten aller Tier für die Signifikanzniveaus von $p<10^{-8}$ (605 nm) und $p<10^{-18}$ (577 nm) ein.

Zur Überlagerung der Meßdaten der beiden Methoden wurden die in beiden Fällen gut erkennbaren arteriellen Aderstrukturen benutzt (siehe Fig. 3).

3 Ergebnisse

ORIS 605 nm reflektiert sehr genau den Raumbereich evozierter überschwelliger neuronaler Aktivität.

- Durch Vergleich der Kennlinien der aktivierten Fläche als Funktion des Signifikanzniveaus der korrelativen Analyse sowie des gleicheren Zeitverläufes, konnte nahegelegt werden, daß es sich bei dem *BOLD* Signal primär um ein *Blutvolumensignal* handelt (Daten nicht gezeigt).
- Die ORIS 605 nm Messung zeigte, daß für die gewählte lange Experimentaldauer die *Desoxykonzentration* gesamte Dauer während jeder Stimulationsphase *erhöht bleibt*. Bei der Analyse der Korrelationsfunktion zeigt sich eine Verschiebung der Werte bester Korrelation mit zunehmendem Phasenshift hin zu dem abführenden venösen Gefäßbett. Der Aktivitätspeak der integrativen Analyse und die besten Korrelationskoeffizienten bei Phasenshift0 der korrelativen Analyse zeigten eine sehr hohe räumliche Übereinstimmung und vergleichbare Raumaktivierungsfunktionen (Fig. 1).

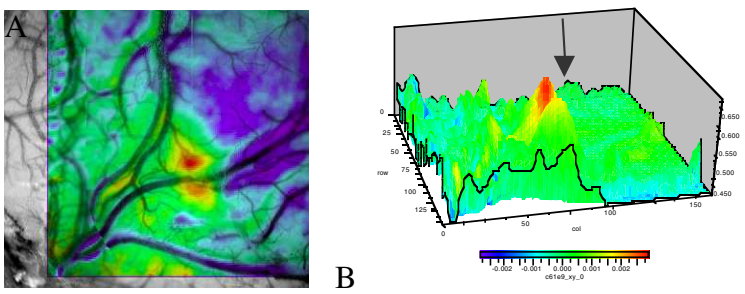

Fig. 1: A: Superpositionen der Aktivitäten von ORIS 577 und dem corticalen Gefäßbild: B: Superpositionen der Verteilung von Korrelationskoeffizienten (*Oberfläche*) und integrativer Aktivierungskarte (*Farbkodierte Übereinstimmung von*) für ORIS 605 nm; gute korrelativer und integrativer Signale (rot am höchsten Gipfelpunkt, siehe Pfeil, vergleiche mit Fig. 2).

- Das ORIS 577 nm Signal zeigte hierzu im Vergleich eine weit verteilte Aktivierung, die räumlich in beiden Analysemethoden unspezifischer und asymmetrisch zum *arteriellen* sich Gefäßbett verschoben ist.. Interessanterweise wurden tiv analysiert, für die *höchsten Korrelationskoeffizienten* bei Phasenshift 0 eine *sehr gute räumliche Übereinstimmung* mit der ortsgenauen Erfassung neuronaler Aktvität des ORIS 605 nm Signales (siehe Doppelpfeil in Fig. 2 B).

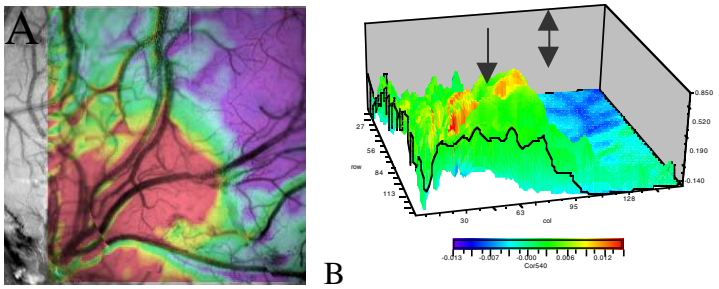

Fig. 2: A: Superpositionen der Aktivitäten von ORIS 577 und dem corticalen Gefäßbild: B: Superpositionen der Verteilung von Korrelationskoeffizienten (*Oberfläche*) und integrativer Aktivierungskarte (*Farbkodierte Übereinstimmung*) für ORIS 577 nm (B). Für ORIS 577 keine gute Übereinstimmung (rot liegt nicht am höchsten Gipfelpunkt, siehe Einfachpfeile für stärkste integrative Aktivierung und Doppelpfeil am höchsten Korrelationskoeffizienten).

4 Diskussion

Nimmt man obige Befunde zusammen, ergibt sich für fMRI folgends Bild: Wir konnten zeigen, daß es sich bei dem fMRI BOLD-Signal, entgegen gängiger Auffassung, wohl primär um ein Blutvolumensignal handelt (Hess et al., submitted). Aufgrund

der Ergebnisse des Experimentaldesigns und der korrelativen Analyse scheinen weiterhin die abführenden Venen („draining veins“) entgegen üblicher Meinung kein Problem darzustellen; zumindest nicht bei Phasenshift 0. Der Vergleich der beiden optischen Registrierungen untereinander zeigt, daß bei korrelativer Analyse die höchsten Korrelationswerte des Blutvolumensignal (ORIS 577 nm) sehr gut mit denen des Desoxyhemoglobinsignales (ORIS 605 nm) übereinstimmen. Vergleicht man nun die korrelativen Aktivierungswerte von ORIS 577 nm Daten an ein und demselben Tier mit den fMRI Aktivierungen, so zeigt sich im Einzelfall eine Ortsgenauigkeit zwischen den Methoden von bis zu ± 1 Voxel. Dies entspräche einer Verbesserung der räumlichen Auflösung von mehr als Faktor 10 für fMRI (siehe Fig. 3).

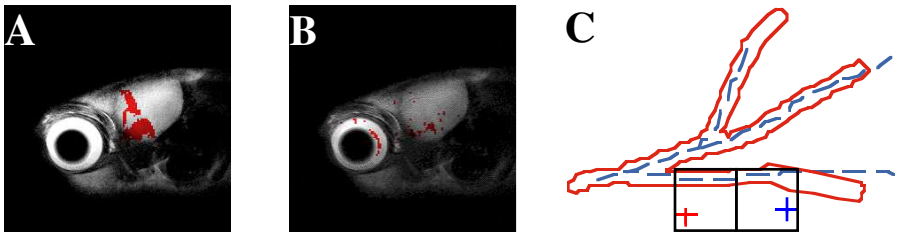

Fig 3: Funktionelles Kernspinbild mit Darstellung signifikanter Bereiche (rot) auf dem üblichen Signifikanzniveau von 10^{-3} (A) und mit verbesserter Ortsauflöung auf dem Signifikanzniveau 10^{-12} (B). C zeigt die Lokalisierungsgenauigkeit zwischen hochsignifikanter fMRI Aktivität (10^{-14} rot) und ORIS 577 nm Aktivität (10^{-16} blau). Sie beträgt ± 1 Voxel (schwarzers Rechteck).

3 Literatur

- Ogawa, S., T. M. Lee, A. R. Kay, and D. W. Tank, Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation: Proc Natl Acad Sci USA, v. 87, p. 9868-72, 1990.
- Bandettini, P. A., A. Jesmanowicz, E. C. Wong, and J. S. Hyde, Processing strategies for time-course data sets in functional MRI of the human brain: Magn Reson Med, v. 30, p. 161-73, 1993.
- Kato, T., S. Takashima, K. Kamada, J. Kishibayashi, N. Sunohara, and T. Ozaki, Advantage of Near-Infrared Spectroscopy in the Human Functional MR Imaging in Brain: Proceedings of the SMRM, 12th annual meeting, New York 1993, p. 1409, 1993.
- Frostig, R. D., E. E. Lieke, D. Y. Ts'o, and A. Grinvald, Cortical functional architecture and local coupling between neuronal activity and the microcirculation revealed by in vivo high-resolution optical imaging of intrinsic signals: Proc Natl Acad Sci USA, v. 87, p. 6082-6, 1990.
- Grinvald, A., E. Lieke, R. D. Frostig, C. D. Gilbert, and T. N. Wiesel, Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals: Nature, v. 324, p. 361-364, 1986.