

Diplomarbeit

**Periphere Nahinfrarotspektroskopie in  
Kombination mit venöser Okklusion: ist eine  
digitalisierte mit einer optisch-manuellen  
Datenanalyse vergleichbar ?**

eingereicht von

**Eva Baldinger**

**Matrikelnummer: 0433442**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Klinischen Abteilung für Neonatologie / Universitätsklinik für Kinder-  
und Jugendheilkunde**

unter der Anleitung von

**Priv.-Doz. Dr. med. univ. Gerhard Pichler**

Graz, am 25.05.2010

## *Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzen Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am 25.05.2010*

## Danksagungen

Ich möchte mich an dieser Stelle ganz herzlich bei meiner Familie bedanken. Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, Regina Baldinger und Dr. Christian Baldinger, die mich während meiner gesamten Ausbildung liebevoll begleitet und tatkräftig unterstützt haben.

Für gute Zusammenarbeit bedanke ich mich bei Univ. Prof. Dr. Bernd Urlesberger, der mir die Diplomarbeit an der Abteilung für Neonatologie erst ermöglicht hat und Priv.-Doz. Dr. Gerhard Pichler, der mir beim Ausarbeiten meiner Arbeit mit Rat und viel Engagement zur Seite gestanden hat, und immer sofort bereit war, aufkommende Fragen zu klären.

Mein besonderer Dank gilt auch Magdalena Köttl, mit der ich viele Höhen erlebt und Erfolge gefeiert habe, die aber auch in allen weniger guten Zeiten der letzten fünf Jahre immer für mich da war. Ich bedanke mich für eine unvergessliche Zeit und ganz besonders für deine Freundschaft.

## Zusammenfassung

Die Nahinfrarotspektroskopie stellt gemeinsam mit der venösen Okklusion eine klinisch akzeptierte Methode dar, mit der in Echtzeit Informationen über den peripheren Blutfluss und in weiterer Folge den Oxygenierungszustand von Geweben gewonnen werden können.

Ziel dieser Arbeit war es herauszufinden, ob die bis März 2007 angewandte optisch-manuelle Datenauswertung mit der im März 2007 eingeführten Digitalisierung vergleichbar ist.

**METHODEN:** Nach Anbringung von Laseroptoden am Unterschenkel von Neu- und Frühgeborenen und venöser Okklusion am Oberschenkel konnten mit Hilfe des NIRO 300 (Hamamatsu, Photonics, Japan) Konzentrationsänderungen von oxygeniertem Hämoglobin ( $\text{HbO}_2$ ), deoxygeniertem Hämoglobin (Hb) und Gesamthämoglobin (Hbtot) gemessen werden. Zusätzlich konnte mit diesem Gerät auch der „tissue oxygenation index“ (TOI) ermittelt werden. Aus den gemessenen Daten konnten entweder optisch-manuell oder computerunterstützt die Werte für die venöse Sauerstoffsättigung von Geweben ( $\text{SvO}_2$ ), Sauerstoffangebot ( $\text{DO}_2$ ) und –verbrauch ( $\text{VO}_2$ ) sowie die Sauerstoffextraktion (FOE) berechnet werden. Die anhand von zwei Qualitätskriterien überprüften positiven Messungen wurden für diese Studie ausgewählt und die Säuglinge nach Kriterien wie Alter, Gewicht, Gestationsalter und Diagnosen gepaart.

**RESULTATE:** Bei den NIRS-Parametern waren keine signifikanten Unterschiede beobachtet worden, wobei TOI,  $\text{DO}_2$ ,  $\text{VO}_2$ ,  $\text{SvO}_2$ ,  $\text{HbO}_2$  und Hbtot jedoch tendentiell in der optisch-manuellen Gruppe niedriger waren.

**SCHLUSSFOLGERUNG:** Die digitalisierte Auswertung der Daten scheint eine geeignete Methode zu sein, um die periphere Oxygenierung bei Neugeborenen zu beurteilen und einen praktikableren, Zeit und Arbeit sparenden Einsatz von Nahinfrarotspektroskopie zu ermöglichen.

## Abstract

Near infrared spectroscopy is together with venous occlusion an accepted method, which enables one to obtain real time information about the peripheral blood flow and the oxygenation state of tissues.

The aim of this study was to assess if the until march 2007 used manual-optical data evaluation is compareable with the since march 2007 introduced digitalization.

**METHODS:** After fixing the laser diodes on the lower leg of the premature infant or neonate and performing venous occlusion on the femoral, changes in oxygenated haemoglobin ( $\text{HbO}_2$ ), deoxygenated haemoglobin (Hb) und total haemoglobin (Hbtot) were measured with the NIRO 300 (Hamamatsu, Photonics, Japan). Additionally the tissue oxygenation index (TOI) could be detected with this device. With the attained data venous oxygenation ( $\text{SvO}_2$ ), oxygen delivery ( $\text{DO}_2$ ), oxygen consumption ( $\text{VO}_2$ ), and fractional oxygen extraction (FOE) were evaluated either manually-optically or digitalized. The on the basis of two quality criterions positive measurments were included in this study and the newborns were matched according to age, weight, gestational age and diagnosis.

**RESULTS:** No statistically significant difference could be observed for the NIRS-parameters, whereby TOI,  $\text{DO}_2$ ,  $\text{VO}_2$ ,  $\text{SvO}_2$ ,  $\text{HbO}_2$  and Hbtot demonstrate the trend towards lower outcome in the optical-manual group.

**CONCLUSION:** The digitalized evaluation appears to be an applicable method for assessing the peripheral oxygenation in newborns and for enabling a more practical, time- and work-saving application of near infrared spectroscopy.

# Inhaltsverzeichnis

Danksagungen.....	iii
Zusammenfassung.....	iv
Abstract.....	v
Inhaltsverzeichnis.....	vi
Glossar und Abkürzungen.....	viii
Abbildungsverzeichnis.....	xi
Tabellenverzeichnis.....	xii
1. Einleitung.....	1
2. Material und Methoden.....	2
2.1 Nahinfrarotspektroskopie (NIRS).....	2
2.1.1 Absorption und Streuung.....	3
2.1.1.1 Lambert Beer´sches Gesetz.....	4
2.1.1.2 Modifiziertes Lambert-Beer´sches Gesetz.....	4
2.1.2 Chromophoren.....	5
2.1.2.1 Hämoglobin.....	5
2.1.2.2 Myoglobin.....	6
2.1.2.3 Cytochromoxidase.....	6
2.2 NIRS-Geräte.....	7
2.2.1 „Continuous-wave near-infrared spectroscopy“.....	7
2.2.2 „Spatially-resolved spectroscopy“.....	8
2.3 Venöse Okklusion.....	8
2.4 Studiendesign.....	9
2.4.1 Patientenkollektiv.....	9
2.4.2 Durchführung der Messungen.....	9
2.4.2.1 NIRO 300.....	9
2.4.2.2 Messaufbau.....	10
2.4.2.3 Ablauf einer Messung.....	10
2.4.2.4 NIRS-Messparameter.....	11
2.4.3 Auswertung der Daten.....	13
2.4.3.1 Optisch-manuelle Auswertung.....	13
2.4.3.2 digitalisierte Auswertung.....	17
2.4.3.2.1 Voreinstellungen.....	17
2.4.3.2.2 Testdefinition.....	18
2.4.3.2.3 Testablauf.....	19
2.4.3.2.4 Ausgabedatei.....	21
2.4.3.2.5 Export.....	23
2.4.3.2.6 Auswertung der Messdaten.....	23
2.4.4 Qualitätskriterien.....	23
2.4.4.1 Erstes Qualitätskriterium.....	23
2.4.4.2 Zweites Qualitätskriterium.....	24
2.4.5 Statistische Analyse.....	25
3. Ergebnisse.....	26
3.1 Allgemeine Patientendaten.....	26
3.1.1 peri- und postpartale Daten.....	26
3.1.2 Messungen vor der NIRS.....	28
3.1.3 Messresultate der NIRS.....	28

3.2 NIRS-Daten.....	29
3.2.1 SaO2.....	30
3.2.2 HR.....	31
3.2.3 HbO2.....	32
3.2.4 Hb.....	33
3.2.5 Hbtot.....	34
3.2.6 TOI.....	35
3.2.7 DO2.....	36
3.2.8 VO2.....	37
3.2.9 SvO2.....	38
3.2.10 FOE.....	39
3.3. Regressionsanalysen.....	40
4. Diskussion.....	41
5. Literaturverzeichnis.....	46

## **Glossar und Abkürzungen**

bpm – Schläge pro Minute

bzw - beziehungsweise

cm- Zentimeter

CPAP – continuous positiv airway pressure

CRP – C-reaktives Protein

°C – Grad Celsius

d – Abstand zwischen Emitter und Detektor (Abstand der beiden Optoden)

d.h. - das heißt

dl - Deziliter

DO<sub>2</sub> - Sauerstoffversorgung

DPF - Differential Pathlength Factor

EKG - Elektrokardiogramm

et al. – und andere

FOE – fractional oxygen extraction

g – Gramm

GA – Gestationsalter

GG - Geburtsgewicht

h - Stunden

Hb - nicht-oxygeniertes Hämoglobin

Hbflow - Hämoglobinfluss

HbO<sub>2</sub>, - oxygeniertes Hämoglobin

Hbtot – Gesamthämoglobin

HR - Herzfrequenz

$I_0$  – Lichtintensität zu Beginn einer Messung

I - Lichtabschwächung

L – Liter

log – Logarithmus

m – männlich

MAD – Mittlerer arterieller Druck

min - Minute

mmHg – Millimeter Quecksilbersäule

$\mu\text{mol}$  – Mikromol

NapH – Nabel pH-Wert

NIRO – near infrared oxygenation

NIRS – Nahinfrarotspektroskopie

nm – Nanometer

OS - Oberschenkel

Per – peripher

Rekt - rektal

$r^2$  - Korrelationskoeffizient

SaO<sub>2</sub> - arterielle Sauerstoffsättigung

sek – Sekunden

SSW - Schwangerschaftswochen

Ster - Sternum

SvO<sub>2</sub> - venöse Sauerstoffsättigung

Temp - Temperatur

TOI – tissue oxygenation index

US - Unterschenkel

VO<sub>2</sub> - Sauerstoffverbrauch

w – weiblich

z.B. - zum Beispiel

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: schematische Darstellung von Absorption und Streuung.....	3
Abbildung 2: schematische Darstellung des Prinzips der "continous-wave near-infrared spectroscopy" .....	7
Abbildung 3: graphische Auswertung der venösen Okklusionen.....	14
Abbildung 4: Kennzeichnung des linearen Anstiegs.....	15
Abbildung 5: lineare Regressionsanalysen für HbO <sub>2</sub> (oben), Hb (Mitte) und Hbtot (unten) .....	16
Abbildung 6: Voreinstellungen.....	17
Abbildung 7: Bildschirmansicht vor der Messung.....	18
Abbildung 8: Darstellung der gemessenen NIRS-Daten.....	20
Abbildung 9: Messzyklusprotokoll.....	22
Abbildung 10: SaO <sub>2</sub> .....	30
Abbildung 11: HR.....	31
Abbildung 12: HbO <sub>2</sub> .....	32
Abbildung 13: Hb.....	33
Abbildung 14: Hbtot.....	34
Abbildung 15: TOI.....	35
Abbildung 16: DO <sub>2</sub> .....	36
Abbildung 17: VO <sub>2</sub> .....	37
Abbildung 18: SvO <sub>2</sub> .....	38
Abbildung 19: FOE.....	39

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: qualitative Daten: Geschlecht, Atemunterstützung, Geburtsmodus.....	27
Tabelle 2: Geburtsparameter und Adaptation.....	27
Tabelle 3: Kreislaufparameter und Entzündungszeichen.....	28
Tabelle 4: Messresultate der NIRS.....	29

# 1. Einleitung

Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) ermöglicht die nicht-invasive Messung der Oxygenierung in verschiedenen Gewebsregionen.

Zur Analyse der „peripher-muskulären“ Oxygenierung kann NIRS mit venösen Okklusionen kombiniert werden. Venöse Okklusionen am Oberschenkel bewirken ein venöses „pooling“ des Blutes am Unterschenkel. Während dieses „poolings“ können mittels NIRS Veränderungen (Anstieg) von venösem oxygenierten und deoxygenierten Hämoglobin gemessen werden.

Primär waren die Auswertungen und Berechnungen der bei venöser Okklusion entstehenden Veränderungen der NIRS Parameter nur manuell-optisch möglich. Durch eine Digitalisierung dieser (Kurven)-analysen und Berechnungen ist nun eine Automatisierung der Datenanalyse möglich.

Ziel dieser Arbeit war es herauszufinden, ob die Daten, die optisch-manuell erhoben wurden, vergleichbar sind mit jenen, die digitalisiert ausgewertet wurden.

Diese Automatisierung wäre vor allem in Hinblick auf einen zukünftigen klinischen Routineeinsatz und eine unmittelbare Beurteilung der peripher muskulären Hämodynamik mit NIRS von großem Vorteil.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Nahinfrarotspektroskopie (NIRS)

Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) wurde vor über 30 Jahren erstmals von Jöbis (1) beschrieben. Seither wurden zahlreiche Studien zu diesem Thema verfasst.

Mit Nahinfrarotspektroskopie ist die Möglichkeit gegeben - nicht-invasiv und wenig belastend für den Patienten/die Patientin - Aufschluss über den Oxygenierungszustand und die hämodynamischen Veränderungen peripherer Gewebe von Neu- und Frühgeborenen zu erhalten.

Im Wesentlichen werden Veränderungen der Sauerstoffsättigung in kleinen Blutgefäßen, also Venolen, Arteriolen und Kapillaren wahrgenommen. (2) Gemeinsam mit venöser Okklusion kann dieses Verfahren genutzt werden, um Informationen bezüglich des peripheren Blutflusses und der Sauerstoffsättigung zu erhalten. (3,4). Gemessen wird hauptsächlich die Konzentrationsänderung von oxygeniertem Hämoglobin ( $\text{HbO}_2$ ) und nicht-oxygeniertem Hämoglobin (Hb).

Das Prinzip der Nahinfrarotspektroskopie baut auf folgenden Tatsachen auf: zum einen ist Gewebe für Licht bestimmter Wellenlänge durchgängig und zum anderen liegen im Blut sogenannte Farbräger (Chromophore) vor, die je nach Oxygenierung andere Absorptionseigenschaften zeigen. Zu diesen Chromophoren zählen Hämoglobin, Myoglobin und Cytochromoxidase. Für die Messungen relevant ist Hämoglobin (5), dessen Absorptionsmaxima im Bereich des nahinfraroten Lichts liegen.

Da sichtbares Licht biologische Gewebe lediglich wenige Millimeter durchdringen kann (6), braucht man nahinfrarotes Licht, dessen Wellenlänge im Bereich von 700-3000 nm angesiedelt ist, um Messungen in tieferen Gewebeschichten durchzuführen. Vor allem kurzwelliges Nahinfrarotlicht (700-1000 nm) kommt bei der Nahinfrarotspektroskopie zum Einsatz, da es Haut und Fettgewebe durchdringen kann und bis in die darunter liegende muskuläre Schicht eindringt. (7)

## 2.1.1 Absorption und Streuung

Wenn Licht Gewebe durchdringt, kommt es zu zwei physikalischen Phänomenen: erstens die Absorption und zweitens die Streuung. Beide bewirken den Effekt, dass Licht abgeschwächt wird. Dieser Effekt wird von der Nahinfrarotspektroskopie ausgenutzt, sodass Veränderungen in speziellen Geweben wie der Muskulatur direkt gemessen werden können.

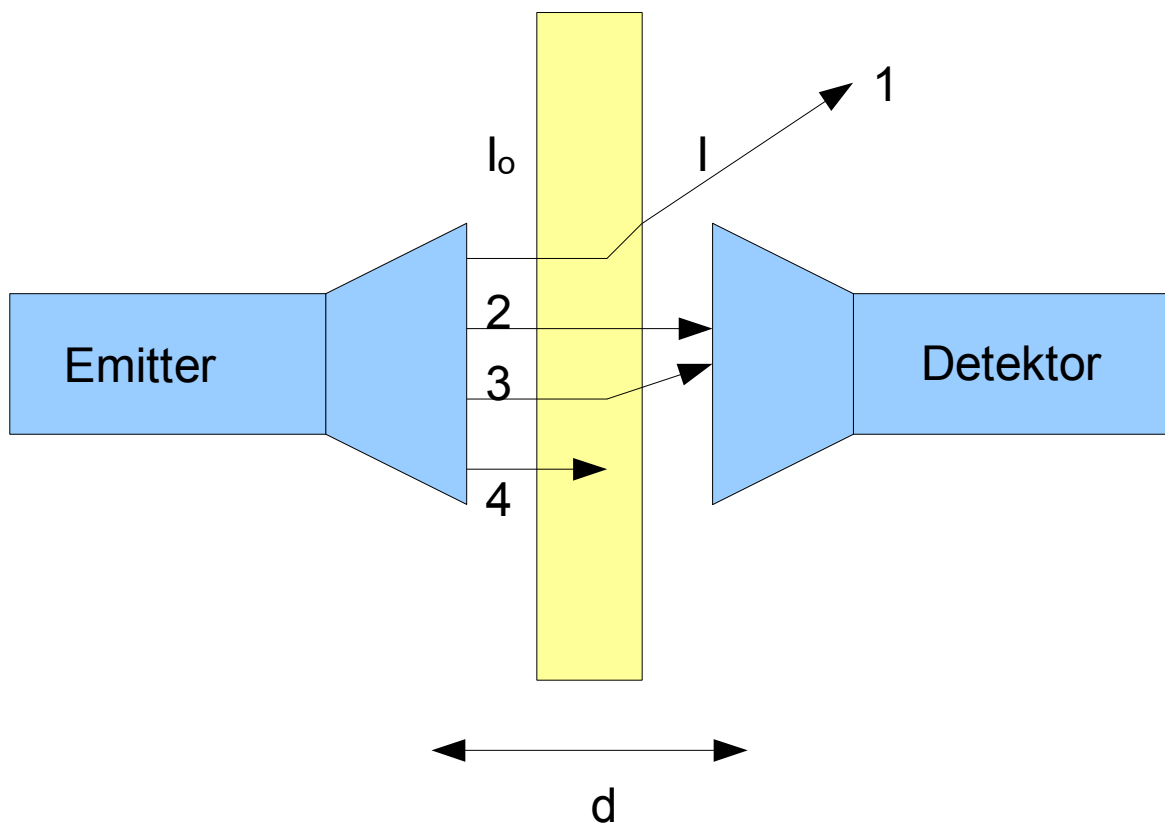


Abbildung 1: schematische Darstellung von Absorption und Streuung

1: gestreutes Licht, das nicht mehr vom Detektor erfasst wird, 2: ungestreutes Licht,

3: Licht wird gestreut und vom Detektor erfasst, 4: Licht wird komplett absorbiert.

$I_0$ : Lichtintensität zu Beginn,  $I$ : Lichtabschwächung,  $d$ : Abstand zwischen Lichtquelle und Detektor.

### **2.1.1.1 Lambert Beer'sches Gesetz**

Die Absorption wird durch die Schichtdicke des durchstrahlten Materials, aber auch von der Frequenz des Lichtes entscheidend beeinflusst. Die Intensitätsschwächung des Lichtes ist im Lambert-Beer'schen Gesetz zusammengefasst:

$$A = \log (I_0/I) = \epsilon \times c \times d$$

A (die Einheit wird in der optischen Dichte (OD) angegeben) steht für die Abschwächung des Lichts,  $I_0$  bedeutet die Lichtintensität zu Beginn und I ist die durchgelassene Intensität.

Mit  $\epsilon$  wird der Extinktionskoeffizient beschrieben, der frequenzabhängig ist. Die Konzentration des vorhandenen Chromophors wird mit c ( $\mu\text{mol/L}$ ) angegeben und d (cm) steht für den Abstand zwischen Emitter und Detektor, bzw. den beiden Optoden.

Um die Konzentration des Chromophors zu berechnen, müssen A,  $\epsilon$  und d bekannt sein.

$$c = A / (\epsilon \times d)$$

### **2.1.1.2 Modifiziertes Lambert-Beer'sches Gesetz**

Da in biologischen Geweben nicht nur die Absorption eine Rolle spielt, sondern auch die Streuung berücksichtigt werden muss, wird das Lambert-Beer'sche Gesetz folgendermaßen modifiziert:

$$A = \epsilon \times c \times d \times \text{DPF} + G$$

Auf Grund der Tatsache, dass Streuung eine Verlängerung der Wegstrecke, die die Photonen bei der Durchleuchtung des Gewebe zurücklegen, bewirkt, muss in die

Gleichung der „Differential Pathlength Factor“ (DPF) aufgenommen werden.

Der DPF ist für bestimmte Gewebe - wie zum Beispiel Gehirn oder Muskel - bekannt auch wenn es beim jeweiligen Patienten/Patientin zu Unterschieden kommen kann. (8)

Der DPF korreliert mit der Zusammensetzung des Gewebes sowie mit der Wellenlänge des Lichtes mit dem das Gewebe durchleuchtet wird. Außerdem ist der Abstand der beiden Optoden entscheidend, da der Faktor als konstant angenommen werden kann, wenn der besagte Abstand größer als 2,5 cm ist. (9)

Mit G werden jene Photonen berücksichtigt, die durch Streuung von Licht im Gewebe für die Messung verloren gehen. Es wird davon ausgegangen, dass dieser Wert bei jedem Patienten / jeder Patientin konstant ist. Da der Grad der Streuung gleich bleibt, kann auf Grund der Absorptionsänderungen von Chromophoren die Abschwächung des Lichtes ermittelt werden. (6)

Der Weg der Photonen durch das optisch inhomogene Gewebe ist nicht linear, sondern annähernd sichelförmig. Inwieweit die Photonen in die Tiefe dringen können, bedingt, welche Gewebeschichten an der Messung teilnehmen. Die Eindringtiefe ist nicht nur vom Gewebe selbst, sondern auch maßgeblich vom Abstand der Dioden abhängig. Theoretisch entspricht die Eindringtiefe ungefähr der Hälfte des Abstandes der beiden Dioden. (5) Je größer der Abstand der Dioden voneinander, desto tiefer reicht das Signal. Wird hingegen der Abstand verkleinert, nehmen hauptsächlich oberflächliche Schichten - wie die Haut oder das Fettgewebe - an der Messung teil. (10)

## **2.1.2 Chromophoren**

### **2.1.2.1 Hämoglobin**

Hämoglobin setzt sich aus dem Protein Globin, das vorwiegend aus jeweils zwei  $\alpha$ - und zwei  $\beta$ - Untereinheiten aufgebaut ist und vier Häm-Molekülen, die je von einer dieser  $\alpha$ - oder  $\beta$ - Ketten getragen werden, zusammen. Im Zentrum jedes Häm-Moleküls befindet sich ein Eisenatom, das als zweiwertiges Eisen vorliegt und für die Sauerstoffanlagerung verantwortlich ist.

Hämoglobin, an das sich Sauerstoff gebunden hat, wird als Oxyhämoglobin bezeichnet,

sauerstofffreies Hämoglobin heißt Deoxyhämoglobin. Diese beiden Formen des Hämoglobins zeigen bei gleicher Wellenlänge unterschiedliches Absorptionsverhalten. Im isoelektrischen Punkt, bei 800 nm, schneiden sich die beiden Kurven der Absorptionsspektren.

### **2.1.2.2 Myoglobin**

Myoglobin, das sich in den Zellen der Skelettmuskulatur findet, besteht aus einem globulären, einkettigen Protein, das ebenfalls Häm aufweist, an das es Sauerstoff binden kann. Da das Absorptionsspektrum von Myoglobin dem von Hämoglobin sehr ähnlich ist, ist es derzeit nicht möglich die beiden Komponenten getrennt voneinander mittels NIRS zu beurteilen. (11)

Bei Durchleuchtung der Muskulatur absorbiert Myoglobin lediglich 10% des Lichtes, weshalb Hämoglobin die maßgebliche Komponente für die Nahinfrarotspektroskopie ist.

### **2.1.2.3 Cytochromoxidase**

Cytochrom C Oxidase ist ein Molekül der Atmungskette und befindet sich in der inneren Mitochondrienmembran. Es handelt sich ebenfalls um ein Protein, das auf Grund seiner Häm-Gruppe mit Sauerstoff reagieren kann.

Auf Grund der Tatsache, dass Cytochrom C weniger als 5 % Anteil an der Lichtabschwächung trägt, ist die Aussagekraft dieses Chromophors für die Nahinfrarotspektroskopie in Frage zu stellen. (11)

Bei der Anwendung der Nahinfrarotspektroskopie wird berücksichtigt, dass in biologischen Geweben mehrere Chromophore, die Licht absorbieren, vorliegen. Daher wird auch mit so vielen unterschiedlichen Wellenlängen gemessen, wie zu untersuchende Substanzen vorkommen. (12) Bei der Messung wird Licht jener Wellenlänge gewählt, bei dem die Farbträger ihr Absorptionsmaximum zeigen. (8)

## 2.2 NIRS-Geräte

Bei allen NIRS-Geräten wird von Laser-Photodioden Licht bestimmter Wellenlänge erzeugt und über fiberoptische Kabel durch das zu untersuchende Gewebe geschickt. Von Silikon-Photodioden, die in einem bestimmten Abstand zu den Laserdioden angebracht sind, wird das Licht wieder aufgenommen. Mittels Computer kann die Änderung der Lichtabschwächung in die Konzentrationsänderungen der Chromophore umgewandelt werden.(13)

### 2.2.1 „Continuous-wave near-infrared spectroscopy“

Bei dieser Art der Nahinfrarotspektroskopie wird auf Grund der spezifischen Wellenlänge und gleicher Intensität des Lichtes die Konzentrationsänderung der Chromophore errechnet. Nur die absoluten Konzentrationsänderungen können hier errechnet werden, da der Weg der Photonen im Gewebe nicht genau ermittelt werden kann. Voraussetzung für Änderungen der Konzentration sind biochemische oder hämodynamische Prozesse, die entweder spontan stattfinden oder induziert werden. (8)

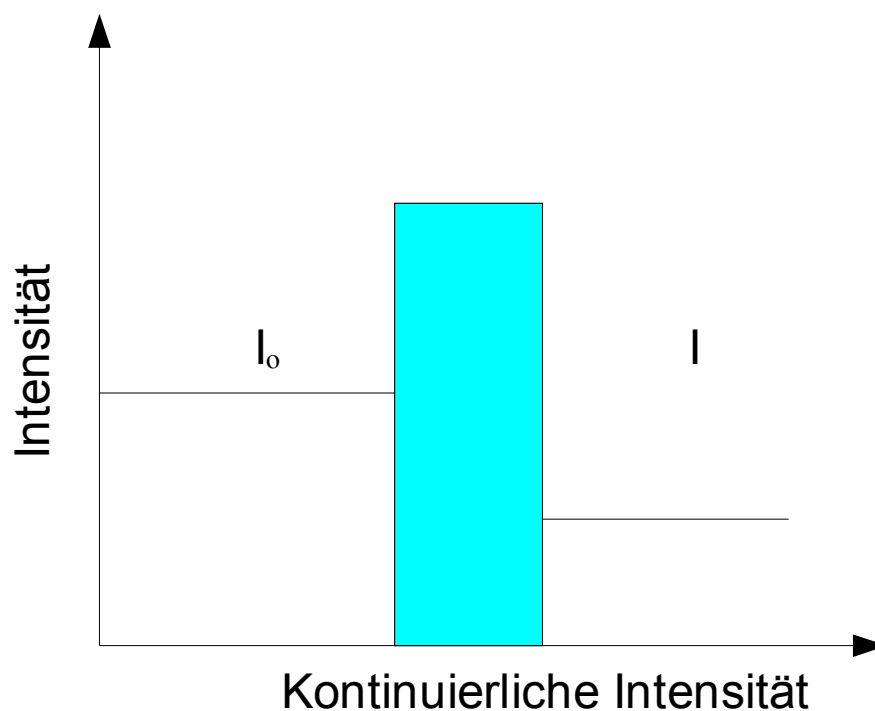


Abbildung 2: schematische Darstellung des Prinzips der "continuous-wave near-infrared spectroscopy"

## **2.2.2 „Spatially-resolved spectroscopy“**

Mit diesem Gerät ist es möglich, die mittlere Sauerstoffsättigung von biologischen Geweben zu ermitteln. Im Unterschied zu anderen Geräten gibt es nicht nur eine Optode und einen Detektor, sondern mehrere Detektoren, die das Licht wieder aufnehmen.

Mit diesem Verfahren ist es möglich die relativen Konzentrationen von Hb und HbO<sub>2</sub> und in weiterer Folge die regionale Gewebssättigung zu messen, indem man verschiedene Wellenlängen und verschiedene Abstände zwischen der Optode und den Detektoren miteinander kombiniert. (13)

Die regionale Gewebssättigung wird auch als „tissue oxygenation index“, kurz TOI, bezeichnet und in Prozent angegeben.

## **2.3 Venöse Okklusion**

Auf Grund der Hämodynamik kommt es bei venöser Okklusion in biologischen Geweben zu Konzentrationsänderungen von HbO<sub>2</sub>, Hb und Hbtot. Hbtot ist die Summe aus HbO<sub>2</sub> und Hb und spiegelt den muskulären Blutfluss wider. (14)

Mit Hilfe von NIRS und der venösen Okklusion kann der lokale Sauerstoffverbrauch und der Blutfluss im Muskel gemessen werden. Der große Vorteil dabei ist, dass der Oxygenierungsstatus des zu untersuchenden Gewebes direkt und nicht invasiv, aber nicht über globale Messungen wie Blutdruck, Blutgasanalyse und Blutlaktatkonzentration ermittelt wird. (15)

Bei der venösen Okklusion wird eine Blutdruckmanschette auf jenen Wert aufgepumpt, der einen ungehinderten arteriellen Zufluss garantiert, den venösen Abstrom jedoch blockiert. Es kommt zum sogenannten „venösen pooling“, währenddessen der Anstieg von Hb, HbO<sub>2</sub> und Hbtot beobachtet werden kann.

Die venöse Okklusion stellt eine klinisch akzeptierte (16) und einfach anwendbare Methode dar, die für den Probanden wenig belastend ist. Um Artefakte zu vermeiden, muss bei Neugeborenen darauf geachtet werden, dass die Messung in körperlicher Ruhe

vorgenommen wird.

Mit Hilfe der venösen Okklusion können  $DO_2$ ,  $VO_2$ , FOE und  $SvO_2$ , sowie Hbflow berechnet werden. (15) (siehe Kapitel 2.4.2.4)

## **2.4 Studiendesign**

### **2.4.1 Patientenkollektiv**

Es handelt sich bei dieser Arbeit um eine retrospektive Beobachtungsstudie.

Insgesamt wurden seit 2006 237 NIRS-Messungen bei Neu- und Frühgeborenen, die am LKH Graz auf die Welt kamen, durchgeführt. 124 dieser Messungen wurden bis März 2007 optisch-manuell ausgewertet. Ab März 2007 war die digitalisierte Auswertung der Daten möglich. Die digitalisiert ausgewertete Gruppe umfasst 113 Messungen.

### **2.4.2 Durchführung der Messungen**

#### **2.4.2.1 NIRO 300**

Die Messungen wurden mit dem NIRO 300 (Hamamatsu Photonics, Japan) durchgeführt. Dieses Gerät berücksichtigt das modifizierte Lambert-Beer'sche Gesetz und vereint die Technik der „Continuous-wave near-infrared spectroscopy“ mit der „Spatially-resolved spectroscopy“.

Von vier Laserdioden wird Licht unterschiedlicher Wellenlänge (775, 810, 850, 910 nm) ausgesandt und dieses von einem Multi-channel-Detektor (drei nebeneinander liegenden Dioden) aufgenommen. Mit der mittleren Photodiode wird die Konzentrationsänderung der Chromophore gemessen, der TOI von allen drei Dioden. (17)

Die Laser besitzen eine Strahlungsintensität der Klasse I, weshalb das Gerät auf einer Neu- und Frühgeborenen Station auch für die Langzeitüberwachung eingesetzt werden darf.

#### **2.4.2.2 Messaufbau**

Jede Messung begann mit der Aufnahme der anamnestischen Daten von Mutter und Kind. Es wurden Fragen nach dem Verlauf der Schwangerschaft, Infektionen oder Erkrankungen der Mutter gestellt, sowie intrapartale Werte des Kindes in ein Protokollblatt eingetragen. Dazu zählten Geburtsdatum, Geburtsmodus, Gestationsalter, Geschlecht, Geburtsgewicht, Größe, Kopfumfang, Adaptation (angegeben im Apgar-Score) und Nabel-pH.

Auch postpartale Daten - wie derzeit eingenommene Medikamente oder Erkrankungen - wurden mit in die Anamnese einbezogen.

Vor der Messung wurden bei jedem Säugling das Alter in Stunden, aktuelles Gewicht sowie Umfang von Ober- und Unterschenkel in das Protokoll eingetragen.

Die Optoden wurden so in einer Kunststoffplatte befestigt, dass ihr Abstand von einander 3 cm betrug. Bevor sie noch am Neugeborenen angebracht wurden, wurden die Optoden mit Hilfe einer Kalibrierungseinheit kalibriert.

#### **2.4.2.3 Ablauf einer Messung**

Um Artefakte bei der Messung zu vermeiden, muss darauf geachtet werden, dass selbige in Ruhe stattfindet, weshalb versucht wurde, möglichst zwischen zwei Fütterungen zu messen. Die Säuglinge befanden sich während der Messung, am Rücken liegend, im Inkubator. Während eines Messdurchgangs wurde das zu messende Bein auf Sternumhöhe gelagert.

Die Herzaktion des Kindes wurde mit Hilfe von aufgeklebten EKG-Elektroden während des gesamten Messvorganges überwacht. Weiters wurden mittels Pulsoxymeter Herzfrequenz und Sauerstoffsättigung gemessen. Sowohl Messungen der peripheren Temperatur (am Bein, an dem die Messung vorgenommen wurde), als auch der zentralen Temperatur wurden vorgenommen.

Mit einem Glasspatel wurde die Rekapillarierungszeit am entsprechenden Bein und am Sternum gemessen.

Die in der Kunststoffplatte befestigten Optoden wurden mittels Klebeband am

Unterschenkel des Patienten / der Patientin angebracht und mit Pehahaft® fixiert. Dabei wurde darauf geachtet, dass die zirkuläre Fixierung einen ungehinderten Blutfluss zulässt. Um die empfindlichen Optoden weiter vor Licht zu schützen, wurde der Raum abgedunkelt, bzw. ein Tuch über den Inkubator gehängt.

Am Oberschenkel des zu messenden Beines wurde für die Blutdruckmessung und die venöse Okklusion eine Blutdruckmanschette angelegt.

Mit den Messungen wurde erst nach einer Ruhephase, während der das Kind keine Bewegungen zeigte, begonnen.

Die venöse Okklusionsperiode dauerte 20 Sekunden. Die Manschette wurde mit einem Druck von 20-30 mmHg aufgeblasen, da dies einen ungehinderten arteriellen Zustrom erlaubt, einen venösen Abstrom des Blutes jedoch verhindert. Zwischen den einzelnen Messungen wurde eine Pause von einer Minute eingelegt. Bei Bewegungen des Kindes wurde die Messung abgebrochen und erst dann wieder begonnen, wenn die Werte von HbO<sub>2</sub>, Hb und Hbtot jenen der Ausgangswerte vor der Okklusion entsprachen.

Dieser Vorgang wurde so lange wiederholt, bis drei zu verwertende Messungen zustande kamen.

#### **2.4.2.4 NIRS-Messparameter**

Der NIRO zeichnet während einer venösen Okklusion den Anstieg von HbO<sub>2</sub>, Hb, und Hbtot, sowie den TOI auf. Anhand dieser Parameter kann die Oxygenierung peripherer Gewebe noch genauer berechnet werden.

- DO<sub>2</sub>: (Sauerstoffversorgung) – beschreibt die Menge an Sauerstoff, die ins Gewebe transportiert wird

$$DO_2 = Hbtot \times 4 \times SaO_2/100$$

- VO<sub>2</sub>: (Sauerstoffverbrauch) – beschreibt den Sauerstoffverbrauch im Gewebe

$$VO_2 = Hbtot \times 4 \times (SaO_2/100 - SvO_2)$$

- SvO<sub>2</sub>: (gemischt venöse Sättigung) – bei einer venösen Okklusion entspricht die regionale Sättigung der venösen Sättigung

$$SvO_2 = HbO_2 / Hbtot$$

- FOE : („fractional oxygen extraction“) – stellt das Verhältnis von VO<sub>2</sub> zu DO<sub>2</sub> dar

$$FOE = VO_2 / DO_2 = [(SaO_2/100 - SvO_2)] / [SaO_2/100]$$

- Hbflow : (Veränderung des Hbtot) – wird definiert als Anstieg des Hbtot während der Dauer einer Okklusion

SaO<sub>2</sub> wurde während der Messungen vom Pulsoxymeter aufgezeichnet und ist in % angegeben.

Der Faktor 4 erklärt sich durch die Tatsache, dass ein Molekül Hämoglobin 4 Sauerstoffatome tragen kann. (18)

DO<sub>2</sub> und VO<sub>2</sub> werden in μmol/L/min angegeben.

### **2.4.3 Auswertung der Daten**

Ein Messplatz besteht aus dem NIRO Monitor (NIRO-300, Fa. Hamamatsu), einem IntelliVue Patientenmonitor (IV MP-30, Fa. Philips), einem PC und bei der digitalisierten Auswertung zusätzlich aus der *alpha-trace NeuroSpeed* Software mit NIRS-Erweiterung (Fa. Dr. Grossegger & Drbal GmbH).

Der gesamte Messplatz wird über einen medizinischen Trenntransformator versorgt.

Daten von folgenden Kanälen werden vom NIRO erfasst: Hb, Hbtot, HbO<sub>2</sub>, TOI (zentral), und TOI\_2 (peripher).

Folgende Daten werden vom MP-30 erfasst: mittlerer Blutdruck, SaO<sub>2</sub>, HR, und die Temperatur.

SaO<sub>2</sub>, HR und die NIRS-Daten wurden kontinuierlich im Polygraphiesystem gespeichert.

#### **2.4.3.1 Optisch-manuelle Auswertung**

Für die Berechnung der einzelnen Parameter wurden drei venöse Okklusionen benötigt, während denen ein Anstieg von HbO<sub>2</sub>, Hb und Hbtot über 5-7 Sekunden beobachtet werden konnte. (siehe Abbildung 3)

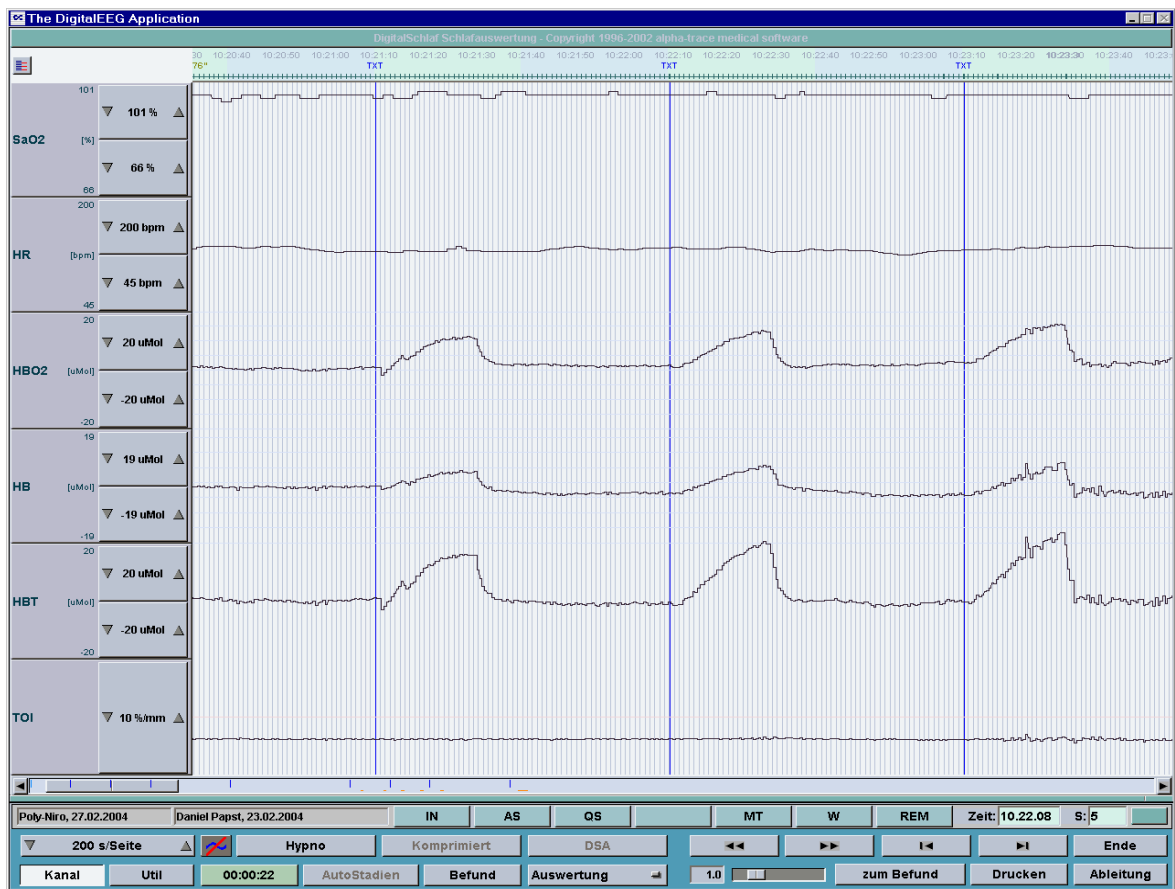


Abbildung 3: graphische Auswertung der venösen Okklusionen

Der lineare Anstieg in den Messungen wurde wie in Abbildung 4 mit Linien graphisch gekennzeichnet.

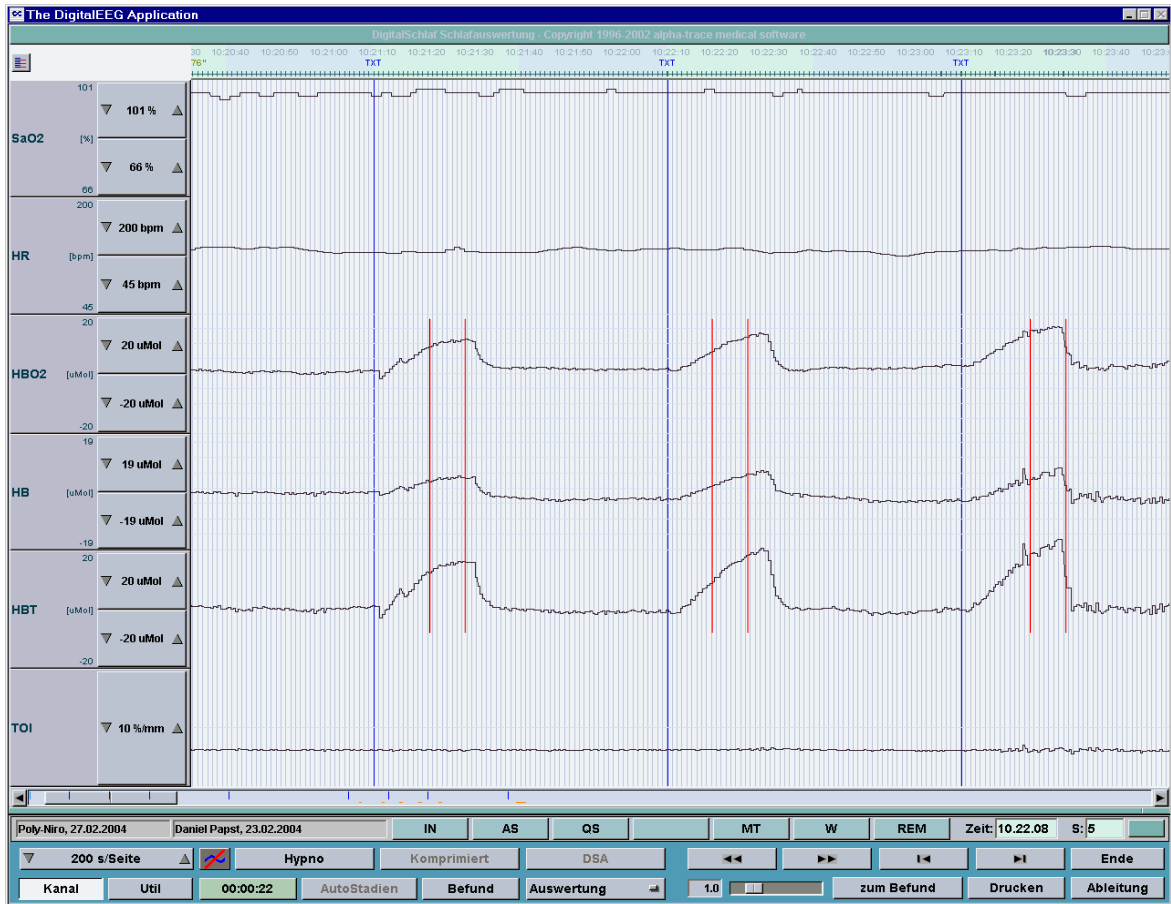


Abbildung 4: Kennzeichnung des linearen Anstiegs

Diese gemessenen und optisch gekennzeichneten Anstiege wurden in eine Microsoft® Excel Datei mit 1 Wert / Sekunde übertragen. Für diese Daten wurden Regressionsanalysen erstellt, wobei der Korrelationskoeffizient  $r^2$  größer als 0,95 sein musste, um weiter analysiert zu werden. Schließlich wurde aus diesen Daten der Anstieg über eine Minute berechnet.

Betrug der Korrelationskoeffizient  $r^2 < 0,95$  wurden die Messungen verworfen.

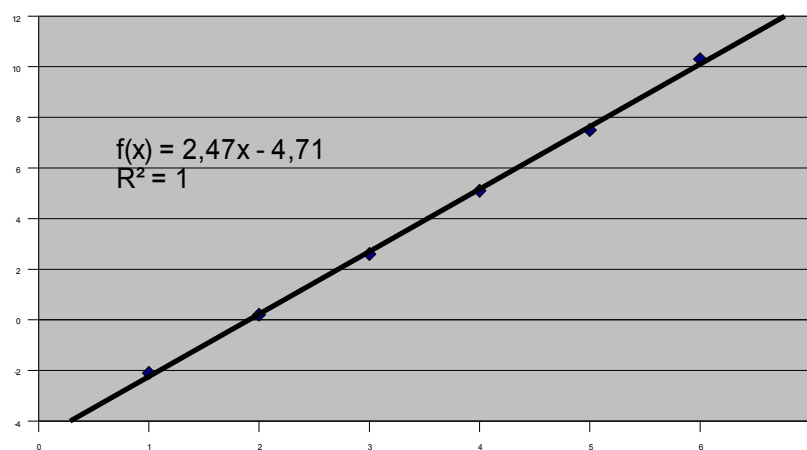
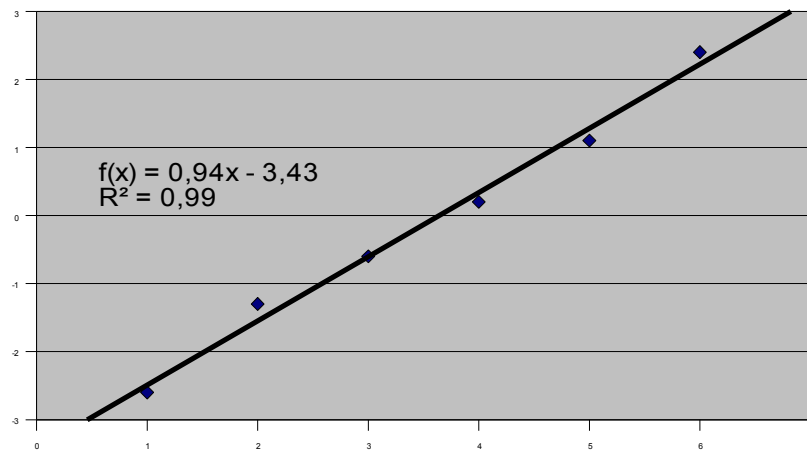
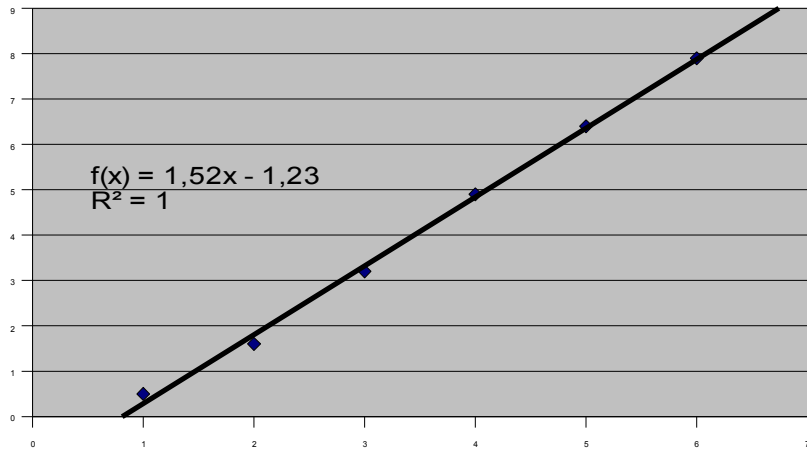


Abbildung 5: lineare Regressionsanalysen für HbO<sub>2</sub> (oben), Hb (Mitte) und Hbtot (unten)

Der „tissue oxygenation factor“ (TOI), der kontinuierlich direkt gemessen wurde, wurde als Mittelwert der drei Messungen, genauso wie SaO<sub>2</sub> und HR, angegeben.

Abschließend wurden die Werte für FOE, SvO<sub>2</sub>, DO<sub>2</sub> und VO<sub>2</sub> berechnet und die Messungen mittels der beiden Qualitätskriterien überprüft. (siehe Kapitel 2.4.4)

### 2.4.3.2 digitalisierte Auswertung

#### 2.4.3.2.1 Voreinstellungen

In der *NeuroSpeed* Software wird die Oberfläche für eine Muskelmessung eingerichtet. Als Messtyp wird „Schlaf“ ausgewählt, als Verstärker wird „EEGNOHW“ mit einer Abtastrate von 32Hz eingestellt.

Von der Liste der „Aufnahme Geräte“ werden NIRO und IVUE ausgewählt.

In den Kanaleinstellungen müssen zumindest die oben angeführten Kanäle aufgezeichnet werden.

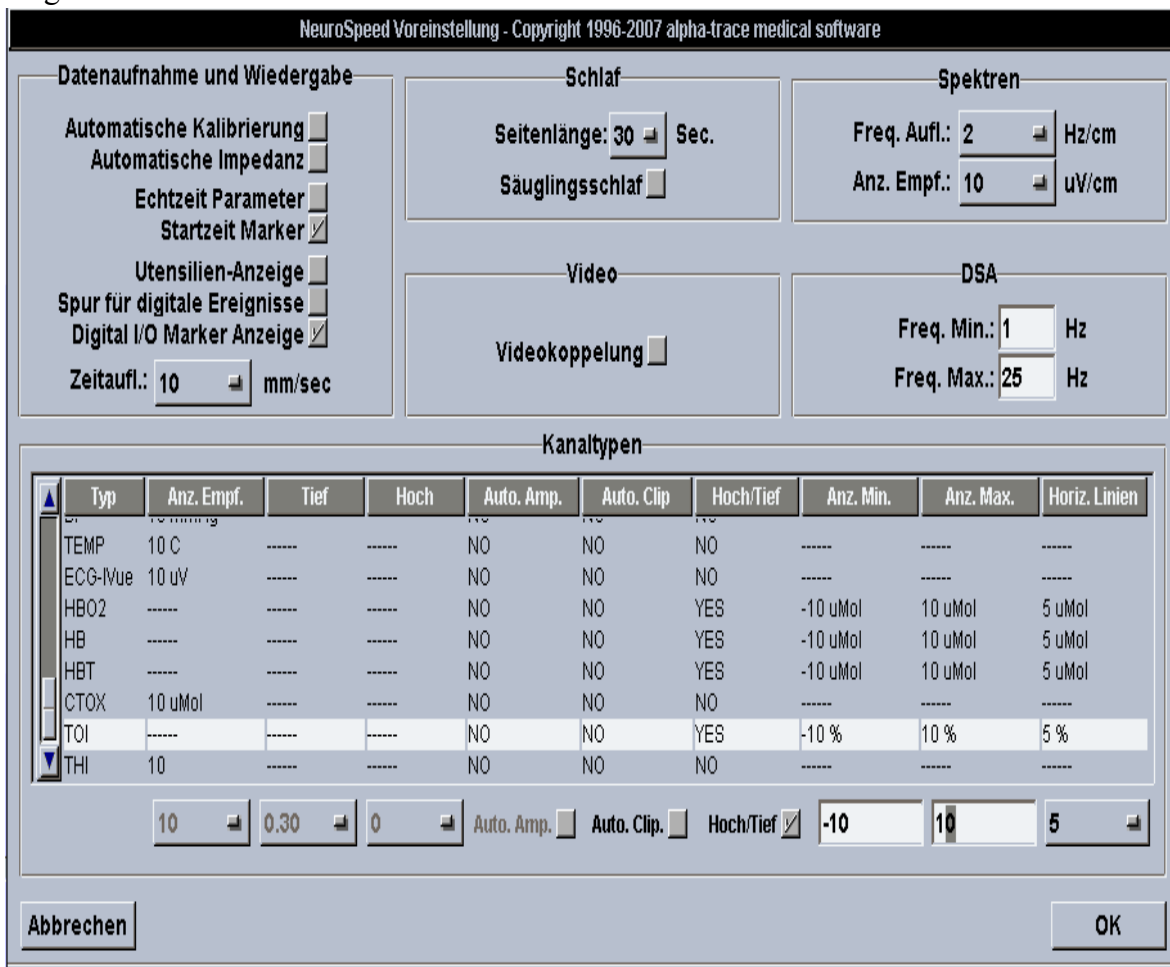


Abbildung 6: Voreinstellungen

Die Daten werden zunächst nur am Bildschirm angezeigt. Erst durch Mausklick auf den „Record“ Knopf werden Daten gespeichert. Mit gedrückter Maustaste auf den Knopf „Auswertung“ wählt man aus der Liste der Optionen „NIRS“ aus.

Es wird die Bildschirmanzeige geteilt, wobei im linken Fenster die spezifischen NIRS Erweiterungen verfügbar werden.

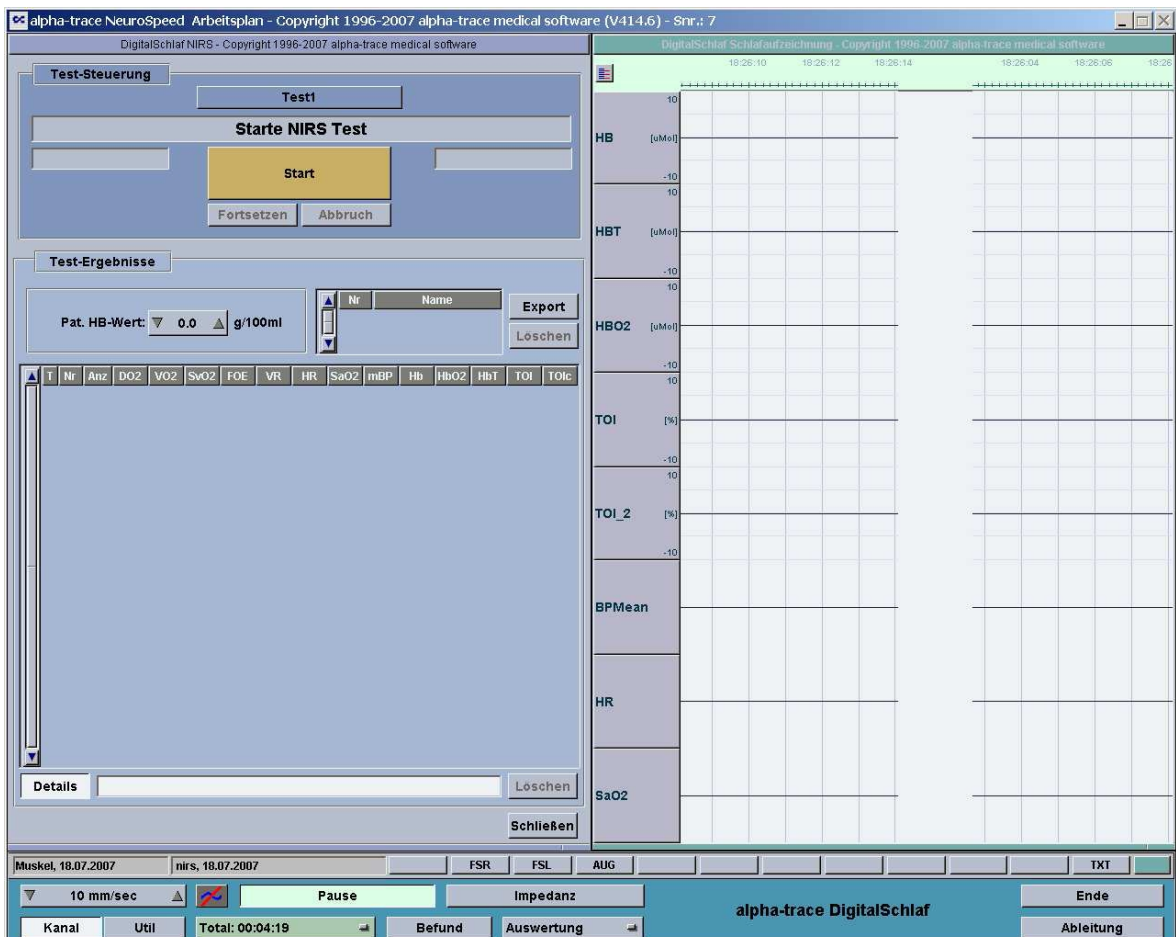


Abbildung 7: Bildschirmansicht vor der Messung

#### 2.4.3.2.2 Testdefinition

Ein Test besteht aus einer variablen Anzahl von Zyklen, zwischen den Messzyklen werden Pausen mit einer festgelegten Zeit (in Minuten) eingehalten. Jeder Test kann mit einem Namen (z.B. Test1, 2, 3 ...) versehen werden. Ein Messzyklus besteht aus einer bestimmten Anzahl von venösen Okklusionen (1-10), die festgelegt werden kann. Die Dauer einer Okklusion (in Sekunden) und die Pausendauer zwischen den Okklusionen (in

Sekunden) werden für jeden Test festgelegt. Wenn für einen Test eine Blutdruckmessung erfolgen soll, wird die Spalte mit „YES“ aktiviert.

Mit dem Knopf „+“ kann ein weiterer Test in der Definition hinzugefügt werden bzw. mit dem Knopf „-“ ein Test aus der Liste entfernt werden.

#### **2.4.3.2.3 Testablauf**

Gemäß der Testdefinition wird der erste Test in der Liste mit Drücken des Startknopfes gestartet.

Es besteht keine Ablaufkoppelung zwischen den Aufnahmegeräten und der Software; d.h. alle Schritte werden in der Software dokumentiert, sobald die entsprechende Aktion ausgewählt wird. Die Durchführung am externen Gerät (Blutdruckmessung, Okklusion) muss parallel dazu von Hand gestartet werden.

Vor dem Start eines Tests wird abgefragt, ob ein Hämoglobin-Wert (g/100ml) für den Patienten/die Patientin eingegeben werden soll. Nachträglich ist diese Hämoglobin-Eingabe nur zwischen den Tests und nicht während eines Tests möglich.

Anschließend wird die Blutdruckmessung vorgenommen und diese im System mittels dem Befehl „Starte die Blutdruckmessung“ erfasst.

Danach wird die Messung am Gerät mittels „OK“- Knopf gestartet.

Die Zeit während der Blutdruckmessung wird gestoppt und am Computer angezeigt („Warte auf das Ende der Blutdruckmessung“).

Danach kann mit dem ersten Messzyklus bzw. mit der ersten Okklusion begonnen werden.

Nach Abwarten der Pause kann eine erneute Okklusion vorgenommen werden.

Je nach Einstellung kann ein Messzyklus beliebig oft durchgeführt werden.

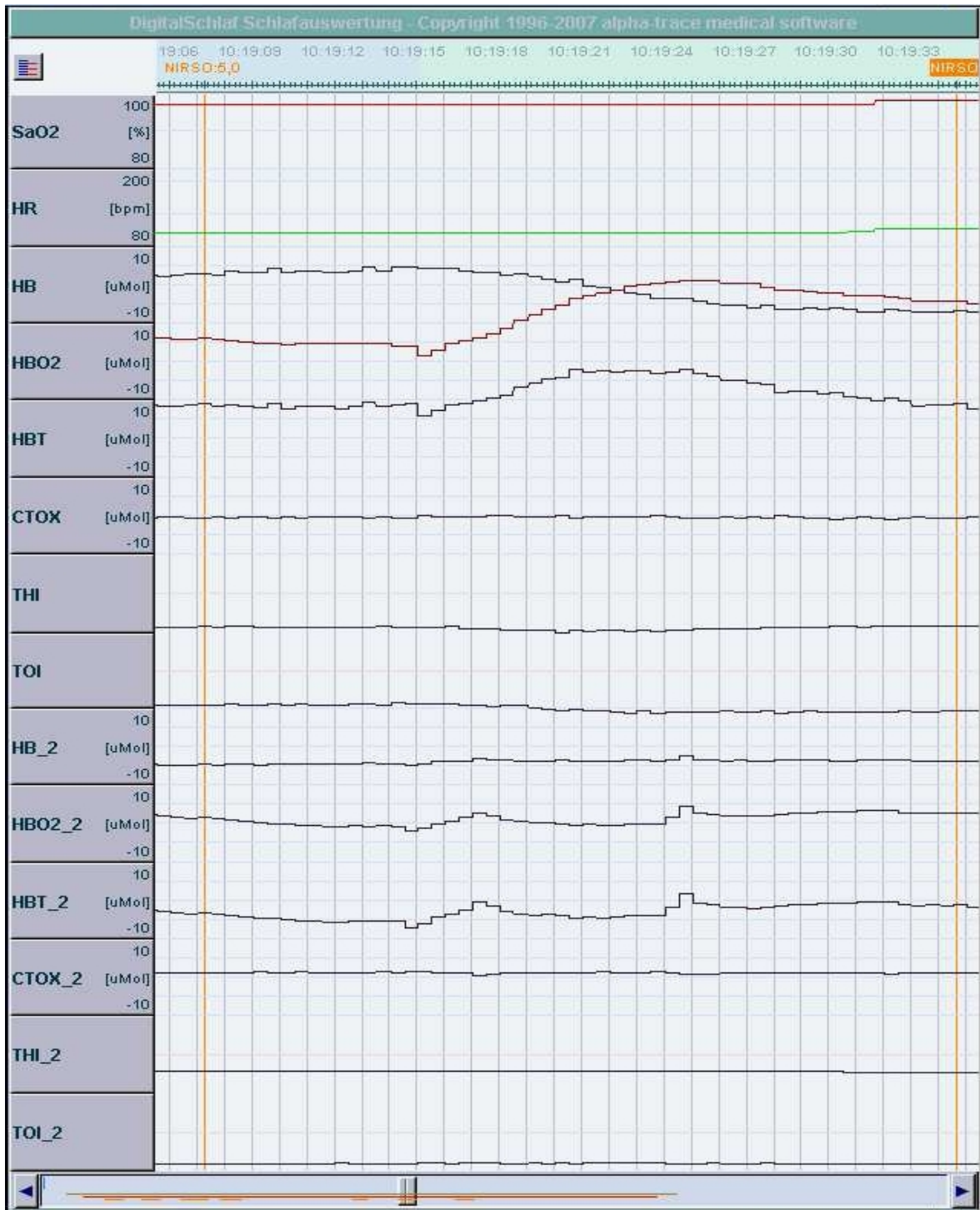


Abbildung 8: Darstellung der gemessenen NIRS-Daten

#### **2.4.3.2.4 Ausgabedatei**

Jeder Test wird mit Nummer und Name versehen, damit keine Verwechslungen der durchgeführten Messungen vorkommen können.

Jede Zeile beginnend mit „C“ liefert die gemittelten Messergebnisse für einen gesamten Messzyklus, die mit einer fortlaufenden Nummer beschrieben werden.

Weiters wird die Anzahl verwertbarer Messungen für einen Zyklus angegeben.

Jede Zeile beginnend mit „O“ liefert die Messergebnisse für eine Messung/Okklusion, die ebenfalls eine fortlaufende Nummer tragen.

Nach jeder Messung/Okklusion werden die Werte für Hb, HbO<sub>2</sub>, Hbtot, TOI und TOIc (cerebraler TOI, der für diese Arbeit keine Rolle spielt) gemessen, sowie die Werte für DO<sub>2</sub>, VO<sub>2</sub>, SvO<sub>2</sub> und FOE ermittelt und in einer Tabelle eingetragen. Aufgezeichnet werden außerdem VR (Gefäßwiderstand), HR, SaO<sub>2</sub> und der Blutdruck. (siehe Abbildung 11, rosa Markierung)

**Test-Steuerung**

Test1

Start

Fortsetzen Abbruch

---

**Test-Ergebnisse**

Pat. HB-Wert: 10.0 g/100ml

Nr	Name
1	Test

Export  
Löschen

T	Nr	Anz	DO2	VO2	SvO2	FOE	VR	HR	SaO2	mBP	Hb	HbO2	HbT	TOI	TOIc
C	1	2	12.2	3.5	0.7	0.3	0.0	91.5	97.0	0.0	1.0	2.2	3.2	55.0	69.5
O	1	----	6.1	2.3	0.6	0.4	0.0	88.0	87.0	0.0	0.0	1.0	1.6	55.1	69.3
O	2	----	18.3	4.7	0.7	0.3	0.0	93.0	97.0	0.0	1.3	3.4	4.7	56.1	69.7
O	3	----													
O	5	----													
O	6	----													
O	7	----													

Details

Löschen

Schließen

Abbildung 9: Messzyklusprotokoll

(C bedeutet den Messzyklus, O die Okklusionen, Nr die Zyklusnummer und Anz die Anzahl der Okklusionen mit Messergebnissen.)

#### **2.4.3.2.5 Export**

Nach Fertigstellen eines kompletten Tests (sämtliche Messzyklen sind erledigt) werden die Ergebnisse in der Tabelle bei nachträglicher Eingabe des Hämoglobin-Wertes neu berechnet. Nach Import in eine Excel-Datei stehen die Messwerte für eine weitere Verarbeitung zur Verfügung.

#### **2.4.3.2.6 Auswertung der Messdaten**

Die oben beschriebenen Signale vom NIRO werden zeitsynchron mit Markierungen, die während der Messung (z.B. Stauung) erzeugt werden, aufgezeichnet. Nach jeder Okklusion werden die Hbtot-Daten ausgewertet und validiert.

Es wird mittels linearer Interpolation (Regressionsanalyse) eine Gerade (Kurvenanstieg) in den Daten gesucht, die für die Dauer von zumindest 7 Sekunden einen Korrelationskoeffizienten  $> 95\%$  ergibt.

Nach der Validierung wird aus dem linearen Anstieg der Hbtot-Kurve durch Anwendung der Regressionsgeraden die Zunahme auf eine Minute aufgerechnet. (Hbtot-Flow) Gleiches wird für Hb und HbO<sub>2</sub> vorgenommen.

Anschließend werden - wie in Kapitel 2.4.2.4 beschrieben - die Daten für die restlichen NIRS-Parameter berechnet.

### **2.4.4 Qualitätskriterien**

Um die Reproduzierbarkeit der Nahinfrarotspektroskopie in Verbindung mit venöser Okklusion zu verbessern, führten Pichler et al. (19) zwei Qualitätskriterien ein. Dies war erst durch die digitalisierte Anwendung der NIRS möglich. Anhand dieser Kriterien wurden die Daten der optisch-manuellen Gruppe nochmals überprüft.

#### ***2.4.4.1 Erstes Qualitätskriterium***

Ersteres besagt, dass während einer venösen Okklusion Hbtot einen linearen Anstieg mit einem Korrelationskoeffizient  $r^2 > 0,95$  in der Regressionsanalyse aufweisen muss.

#### 2.4.4.2 Zweites Qualitätskriterium

Das zweite Qualitätskriterium setzt sich aus zwei Komponenten zusammen.

TOI repräsentiert vor allem das Hämoglobin im venösen, arteriellen und kapillären System in regionalen Geweben. Da  $SvO_2$  während einer venösen Okklusion hauptsächlich im venösen System gemessen wird, muss der TOI größer sein als  $SvO_2$ :

$$TOI \geq SvO_2$$

Auf Grund der Tatsache, dass sich die Volumina von Venolen, Kapillaren und Arteriolen wie 70 : 20 : 10 verhalten (10,20), kann, ausgehend von der „oxygenation extraction“ (OE) ( $SaO_2 - SvO_2$ ) die „oxygen extraction“ regionaler Gewebe wie folgt berechnet werden:

$$(OE \times 0,7) \times 1 + (OE \times 0,2) \times 0,5 + (OE \times 0,1) \times 0 = OE \times 0,8$$

Die Faktoren ergeben sich aus der Annahme, dass die OE von regionalen Geweben bei Venolen der OE entspricht, und bei Kapillaren zwischen 0 und OE liegt, bzw. die Hälfte der OE ist, Arterien jedoch vernachlässigbar sind. (21)

Außerdem wurde festgehalten, dass TOI nur 20% höher sein darf als die Sauerstoffextraktion im Gewebe. ( $SaO_2 - SvO_2$ )

Bei Berücksichtigung beider Komponenten ergibt sich für das zweite Qualitätskriterium folgende Formel:

$$0 \leq TOI - SvO_2 \leq (SaO_2 - SvO_2) \times 0.2$$

## 2.4.5 Statistische Analyse

Die optisch-manuell ausgewerteten Messungen wurden mit den digitalisierten Messungen – nach Überprüfung durch die zwei Qualitätskriterien - hinsichtlich Alter (gleicher Lebenstag, an dem die Messung vorgenommen wurde), Gewicht (+/- 500g), Gestationsalter (+/- 2 Wochen) und Diagnose (klinisch oder laborchemisch nachgewiesene Infektion) gepaart.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Microsoft® Excel.

Die Daten sind dargestellt als Mittelwert +/- Standardabweichung.

Mit dem gepaarten T1-Test wurden alle quantitativen Daten der beiden Gruppen miteinander verglichen. Für den Vergleich der qualitativen Daten wurde der Chi-Quadrat-Test herangezogen.

Die Messergebnisse des NIRO 300 wurden mit Hilfe der Bland-Altman-Analyse dargestellt.

Die Ergebnisse galten als statistisch signifikant, wenn ihr p-Wert  $< 0,05$  betrug.

Jene Werte, die einen statistisch signifikanten Unterschied zeigten, wurden mit den NIRS-Daten mit Hilfe von Regressionsanalysen verglichen.

## **3. Ergebnisse**

### **3.1 Allgemeine Patientendaten**

Insgesamt wurden 237 NIRS-Messungen an Neu- und Frühgeborenen vorgenommen.

124 Messungen wurden optisch-manuell ausgewertet, bei 113 wurde eine digitalisierte Auswertung vorgenommen. Diese Messungen wurden anhand der zwei Qualitätskriterien (1.:  $TOI \geq SvO_2$  und 2.:  $0 \leq TOI - SvO_2 \leq (SaO_2 - SvO_2) \times 0.2$ ) (siehe Kapitel 2.4.4) überprüft.

Danach wurden die beiden Gruppen hinsichtlich Alter, Gewicht, Gestationsalter und Diagnose gematched, sodass für diese Studie 34 Paare übrig blieben.

#### **3.1.1 peri- und postpartale Daten**

In die digitalisierte Gruppe (Gruppe 1) wurden 19 männliche und 15 weibliche Säuglinge aufgenommen. Die Neugeborenen in Gruppe 1 hatten ein mittleres Lebensalter von 3,24 +/- 5,46 Tagen, ein Gestationsalter von 38,07 +/- 2,35 SSW und ein Gewicht von 3063,15 +/- 623,38 g. Lediglich zwei Patienten benötigten postpartal Atemunterstützung mittels CPAP, 32 adaptierten ohne Probleme. Bei 14 der Säuglinge war eine Sectio caesarea nötig oder geplant, wohingegen 19 vaginal entbunden wurden.

In der zweiten Gruppe, jene die optisch-manuell ausgewertet wurde, waren 20 Buben und 14 Mädchen. Das durchschnittliche Lebensalter dieser Gruppe betrug 3,53 +/- 7,12 Tage. Das Gestationsalter war 37,68 +/- 2,29 SSW und das mittlere Gewicht betrug 3166,30 +/- 626,35 Gramm. 19 Säuglinge wurden mittels CPAP beim Atmen unterstützt, 15 kamen ohne technischen Support aus. In der Gruppe 2 wurden 20 Kaiserschnitte durchgeführt, 13 Säuglinge kamen auf natürlichem Weg zur Welt.

Die beiden Gruppen zeigten keinen signifikanten Unterschied bezüglich des Geschlechts. Jedoch lassen sich Unterschiede bei der Atemunterstützung und dem Geburtsmodus

feststellen.

Jene qualitativen und mit Chi-Quadrat-Test ermittelten Daten sind in Tabelle 1 dargestellt:

	vorher	nachher	p-Wert
m	19	20	0,73
w	15	14	

	vorher	nachher	p-Wert
cpap	2	19	< 0,001
ohne	32	15	

	vorher	nachher	p-Wert
sectio	14	20	0,03
spontan	19	13	

*Tabelle 1: qualitative Daten: Geschlecht, Atemunterstützung, Geburtsmodus*

Die beiden Gruppen unterscheiden sich nicht im Hinblick auf Gestationsalter, Geburtsgewicht, Größe oder Nabel-pH. Ein Unterschied besteht bei der Adaptation. Während der Apgar-Score nach einer und nach zehn Minuten nicht signifikant ist, ist der p-Wert für den Apgar-Score nach 5 Minuten 0,042.

	digitalisiert	optisch-manuell	p-Wert
GA (Wochen)	38,07 +/- 2,35	37,68 +/- 2,29	0,31
GG (g)	3063,15 +/- 623,38	3166,30 +/- 626,35	0,34
Größe (cm)	48 +/- 9,12	50,03 +/- 2,27	0,26
NAPh	7,03 +/- 1,26	7,22 +/- 0,09	0,41
Apgar 1	7,82 +/- 1,96	8,38 +/- 1,13	0,16
Apgar 5	9,41 +/- 1,21	8,59 +/- 1,96	0,04
Apgar 10	9,62 +/- 0,82	9,12 +/- 1,32	0,08

*Tabelle 2: Geburtsparameter und Adaptation*

### 3.1.2 Messungen vor der NIRS

Vor jeder Messung wurden bei dem betroffenen Säugling Hämoglobin und das C-reaktive Protein (CRP) bestimmt. Außerdem wurden der mittlere arterielle Druck (MAD) und die Temperatur, sowohl zentral als auch peripher, gemessen. Die Rekapillarierungszeit wurde am Sternum (zentral) und am zu messenden Bein (peripher) ermittelt.

Wie in Tabelle 3 angeführt ist, gibt es signifikante Unterschiede bei der peripheren Temperatur und den beiden Rekapillarierungszeiten.

In Hinsicht auf Hb, CRP und mittleren arteriellen Druck (MAD) unterscheiden sich Gruppe 1 und Gruppe 2 nicht.

	digitalisiert	optisch-manuell	p-Wert
Hb(g/dl)	15,97 +/- 3,81	16,37 +/- 2,23	0,26
CRP	17,17 +/- 15,72	16,04 +/- 34,22	0,84
MAD* (mmHg)	45,86 +/- 5,74	43,59 +/- 8,31	0,31
Temp. Per * (°C)	35,55 +/- 0,63	34,56 +/- 1,13	< 0,001
Temp. Rekt * (°C)	36,93 +/- 0,36	36,86 +/- 0,38	0,46
Rekap. Ster * (sek.)	3,22 +/- 0,46	2,44 +/- 0,66	< 0,001
Rekap. Per * (sek.)	3,29 +/- 0,67	2,65 +/- 0,63	< 0,001
SaO <sub>2</sub> (%)	97,88 +/- 2,32	94,96 +/- 2,78	< 0,001
HR (bpm)	124,07 +/- 12,17	123,32 +/- 10,98	0,82

*Tabelle 3: Kreislaufparameter und Entzündungszeichen*

### 3.1.3 Messresultate der NIRS

Bei den beiden Gruppen kann kein statistisch signifikanter Unterschied für HR, HbO<sub>2</sub>, Hb und Hbtot, sowie TOI, DO<sub>2</sub>, VO<sub>2</sub>, SvO<sub>2</sub> und FOE festgestellt werden. Ein signifikanter Unterschied zwischen der digitalisierten Gruppe und der optisch-manuell ausgewerteten Gruppe ergibt sich nur bei der Sauerstoffsättigung.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

	digitalisiert	optisch-manuell	p-Wert
HbO <sub>2</sub> (µmol)	8,56 +/- 4,63	7,160 +/- 3,28	0,18
Hb (µmol)	3,30 +/- 1,2	3,35 +/- 1,68	0,89
Hbtot (µmol)	11,86 +/- 5,63	10,48 +/- 4,44	0,29
TOI (%)	72,84 +/- 7,54	68,61 +/- 12,19	0,10
DO <sub>2</sub> (µmol/l/min)	45,58 +/- 21,4	39,94 +/- 17,28	0,30
VO <sub>2</sub> (µmol/l/min)	11,92 +/- 3,82	11,29 +/- 6,2	0,62
SvO <sub>2</sub>	0,69 +/- 0,09	0,67 +/- 0,07	0,16
FOE	0,28 +/- 0,09	0,3 +/- 0,09	0,39

*Tabelle 4: Messresultate der NIRS*

### **3.2 NIRS-Daten**

Mit Hilfe der Bland-Altman-Analyse ist es möglich, zwei verschiedene Messmethoden miteinander graphisch zu vergleichen. Optisch kann beurteilt werden, wie hoch die Schwankungsbreite der einzelnen Messungen ist. Generell wird diese graphische Darstellung zum Vergleich einer neuen Messtechnik mit dem Goldstandard verwendet. (22,23)

In der x-Achse ist der Mittelwert der beiden Werte aufgetragen, die y-Achse stellt die Differenz der beiden Werte dar. Weiters sind in den Abbildungen zur besseren Orientierung drei Linien dargestellt. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die beiden strichlierten Linien bedeuten die Standardabweichung.

Mit 1 in den Abbildungen wird die digitalisierte Gruppe bezeichnet, 2 bezeichnet jene Gruppe, die optisch-manuell ausgewertet wurde.

### 3.2.1 SaO<sub>2</sub>

Die Sauerstoffsättigung (%) war in der digitalisierten Gruppe statistisch signifikant höher als in der optisch-manuellen Gruppe. In der digitalisierten Gruppe betrug SaO<sub>2</sub> 97,88 +/- 2,32 und in der optisch-manuellen Gruppe 94,96 +/- 2,78. Der p-Wert betrug < 0,001.

In der Bland-Altman Analyse liegt der Mittelwert der Differenzen bei 2,92, die Standardabweichung beträgt +/- 4,17.

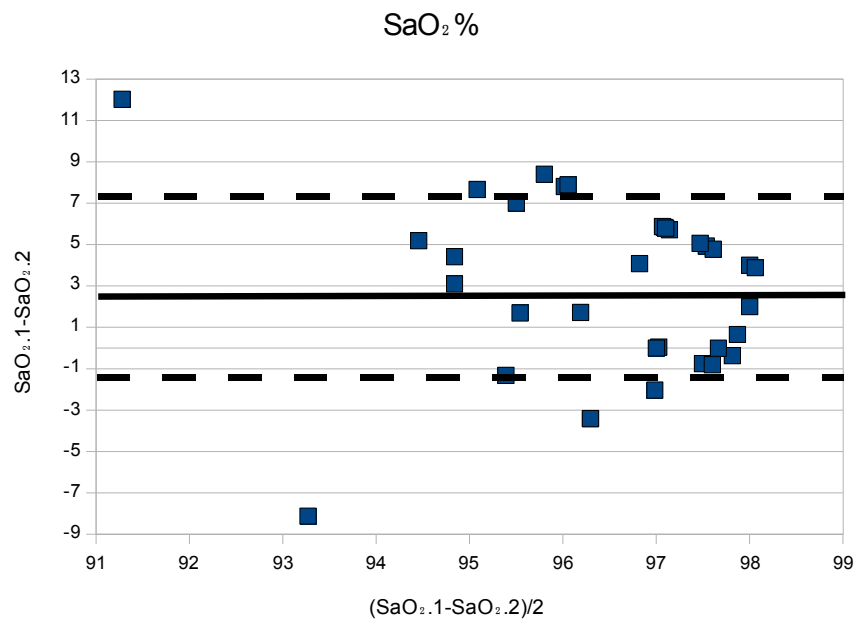


Abbildung 10: SaO<sub>2</sub>

### 3.2.2 HR

Die Herzfrequenz (bpm) weist, wie alle anderen gemessenen Daten, keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der optisch-manuellen und der digitalisierten Auswertung auf. Der p-Wert beträgt 0,82. In der digitalisierten Gruppe liegt die HR bei 124,07 +/- 12,17, in der optisch-manuellen Gruppe bei 123,32 +/- 10,98.

Der Mittelwert der Differenzen der graphischen Darstellung liegt bei 0,75 und die Standardabweichung bei +/- 18,78.

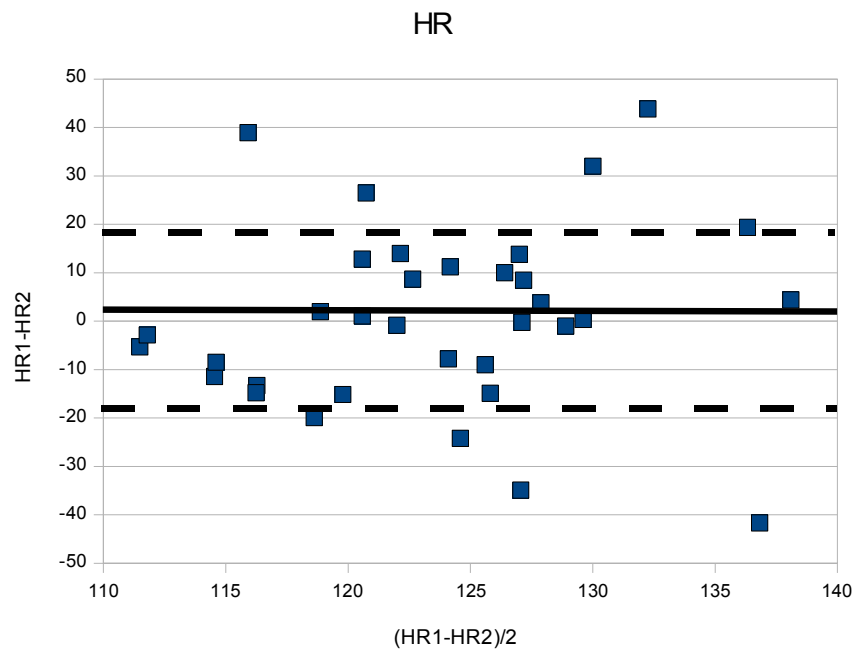


Abbildung 11: HR

### 3.2.3 HbO<sub>2</sub>

Da  $p = 0,18$  ist, weist auch dieser Messwert kein statistisch signifikantes Ergebnis auf.

Das oxygenierte Hämoglobin beträgt in der digitalisierten Gruppe  $8,56 \pm 4,63$  und in der optisch-manuellen Gruppe  $7,16 \pm 3,28$ . Dieser Wert wird in  $\mu\text{mol}$  angegeben.

In der Graphik liegt der Mittelwert der Differenzen bei  $1,4$  mit einer Standardabweichung von  $\pm 5,9$ .

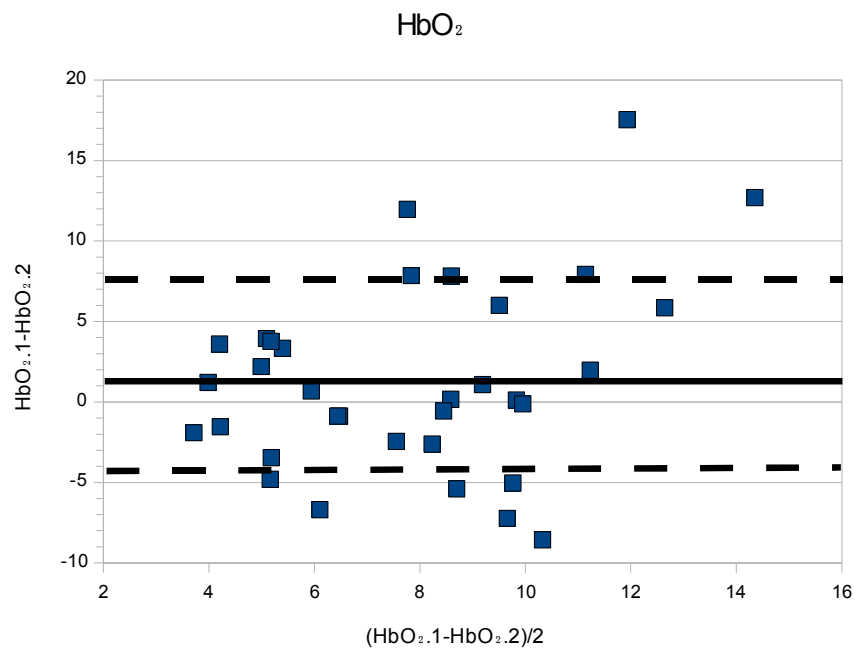


Abbildung 12: HbO<sub>2</sub>

### 3.2.4 Hb

Deoxygeniertes Hämoglobin beträgt bei der digitalisierten Gruppe  $3,30 \pm 1,2$  und bei der optisch-manuell ausgewerteten Gruppe  $3,35 \pm 1,68$ . Auch dieser Wert ergibt keine statistische Signifikanz ( $p = 0,89$ ). Dieser Wert wird ebenfalls in  $\mu\text{mol}$  angegeben.

In der Bland-Altman-Analyse beträgt der Mittelwert der Differenzen  $-0,05$ , die Standardabweichung liegt bei  $\pm 2,15$ .

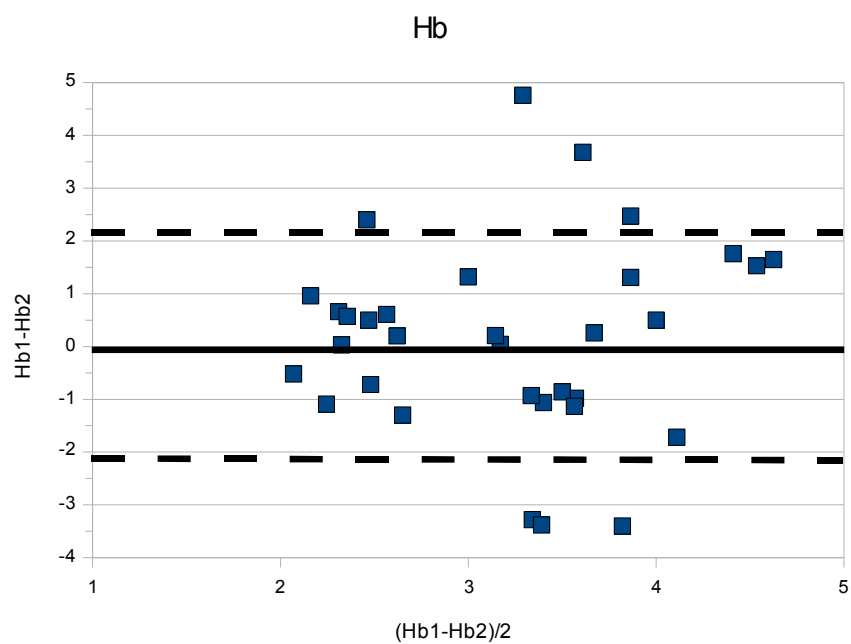


Abbildung 13: Hb

### 3.2.5 Hbtot

In der digitalisierten Gruppe beträgt Hbtot ( $\mu\text{mol}$ )  $11,86 \pm 5,63$  und in der optisch-manuellen Gruppe  $10,48 \pm 4,44$ . Da  $p = 0,29$  ist, ist auch Hbtot der beiden Gruppen nicht signifikant.

Der Mittelwert der Differenzen in der Analyse ist bei  $1,39$  durch die durchgezogene Linie dargestellt, die Linien der Standardabweichung sind im Abstand von  $\pm 7,47$  vom Mittelwert eingezeichnet.

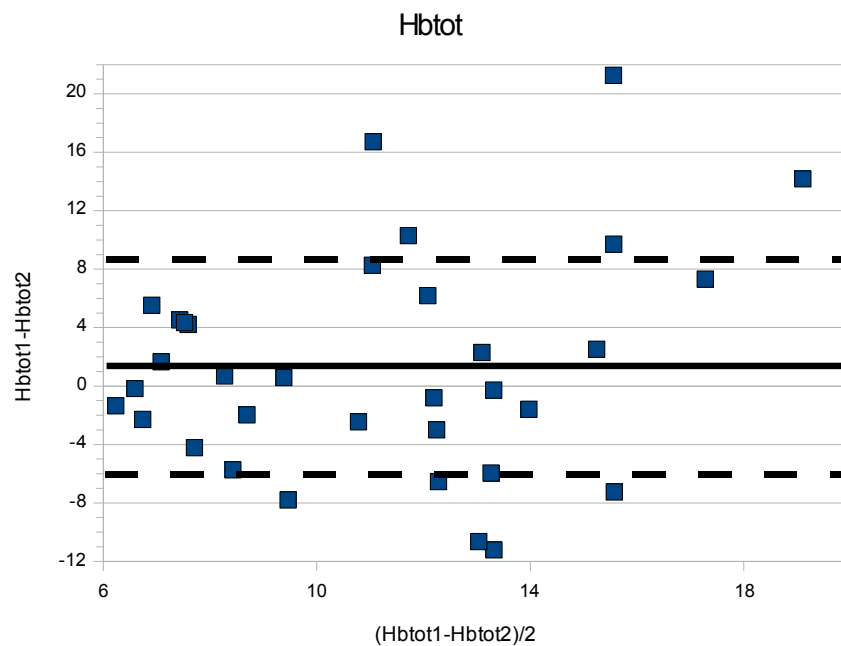


Abbildung 14: Hbtot

### 3.2.6 TOI

TOI (%) nimmt bei der digitalisierten Gruppe einen Wert von 72,84 +/- 7,54 an. In der optisch-manuellen Gruppe liegt der TOI bei 68,61 +/- 12,19 %. Es besteht keine Signifikanz, da  $p = 0,1$ .

In der Bland-Altman-Analyse liegt der Mittelwert der Differenzen bei 4,23, die Standardabweichung beträgt +/- 14,65.

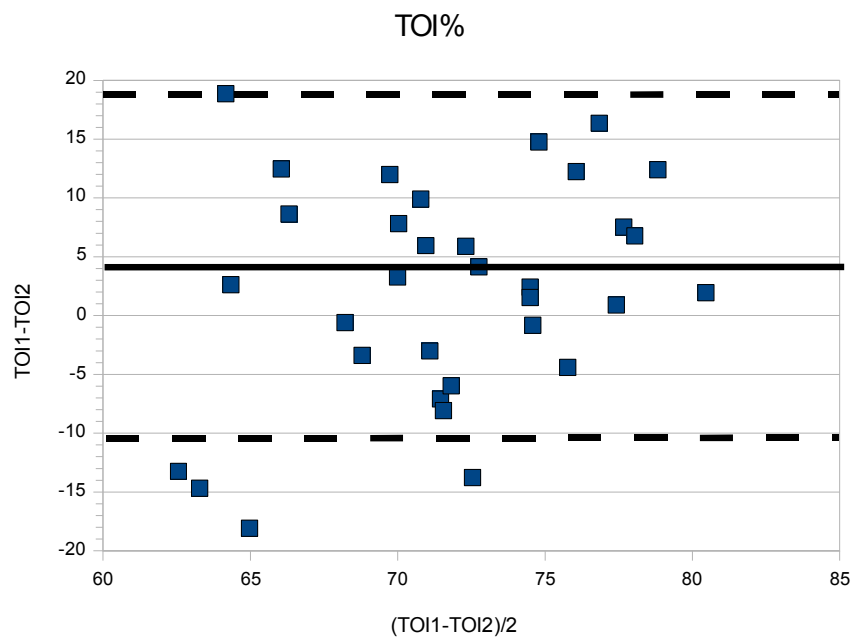


Abbildung 15: TOI

### 3.2.7 DO<sub>2</sub>

In der digitalisierten Gruppe wurde DO<sub>2</sub> mit 45,58 +/- 21,4 gemessen, in der optisch-manuellen Gruppe mit 39,94 +/- 17,28. Auch dieser Wert ist statistisch nicht signifikant (p = 0,3). Dieser Wert wird in µmol/L/min angegeben.

Der Mittelwert der Differenzen beträgt 3,64, die Standardabweichung +/- 29,26. Beides ist in Abbildung 14 dargestellt.

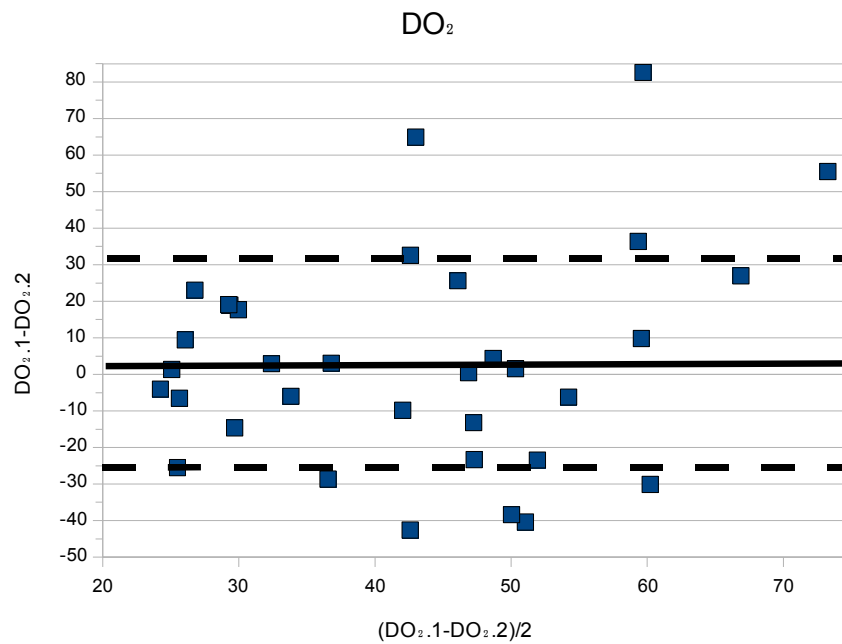


Abbildung 16: DO<sub>2</sub>

### 3.2.8 VO<sub>2</sub>

In der digitalisierten Gruppe betrug VO<sub>2</sub> 11,92 +/- 3,82 und in der optisch-manuellen 11,29 +/- 6,2. Mit einem p-Wert von 0,62 weist VO<sub>2</sub> keine statistische Signifikanz auf. Dieser Wert wird in µmol/L/min angegeben.

In der Graphik liegt der Mittelwert der Differenzen bei 0,63. Die Standardabweichung beträgt +/- 7,25.

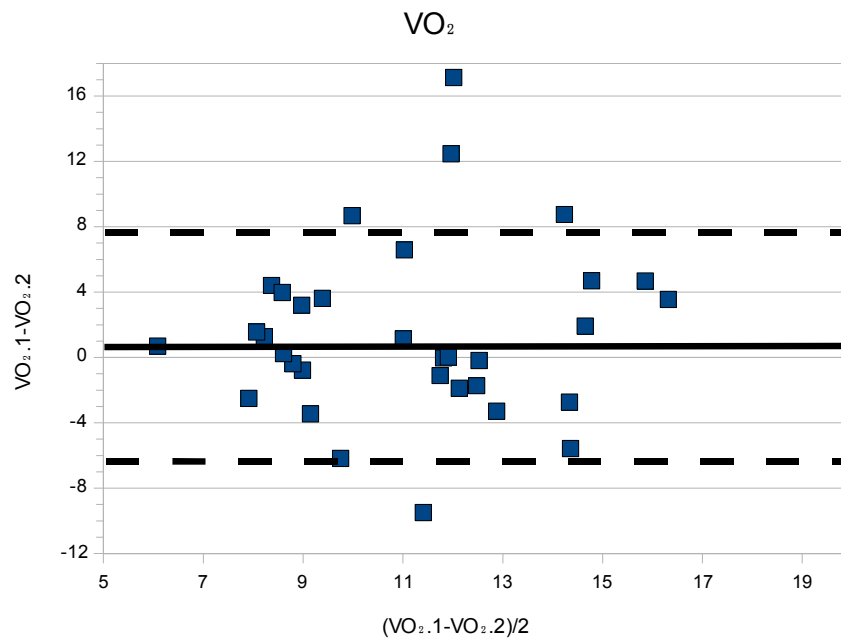


Abbildung 17: VO<sub>2</sub>

### 3.2.9 SvO<sub>2</sub>

Dieser Wert beträgt 0,69 +/- 0,09 in der digitalisierten Gruppe und 0,67 +/- 0,07 in der optisch-manuellen Gruppe. p beträgt 0,16, weshalb auch dieser Wert von keiner statistischen Signifikanz zeugt.

Der Mittelwert der Differenzen in der Bland-Altman-Analyse liegt bei 0,03, die Standardabweichung beträgt +/- 0,11.

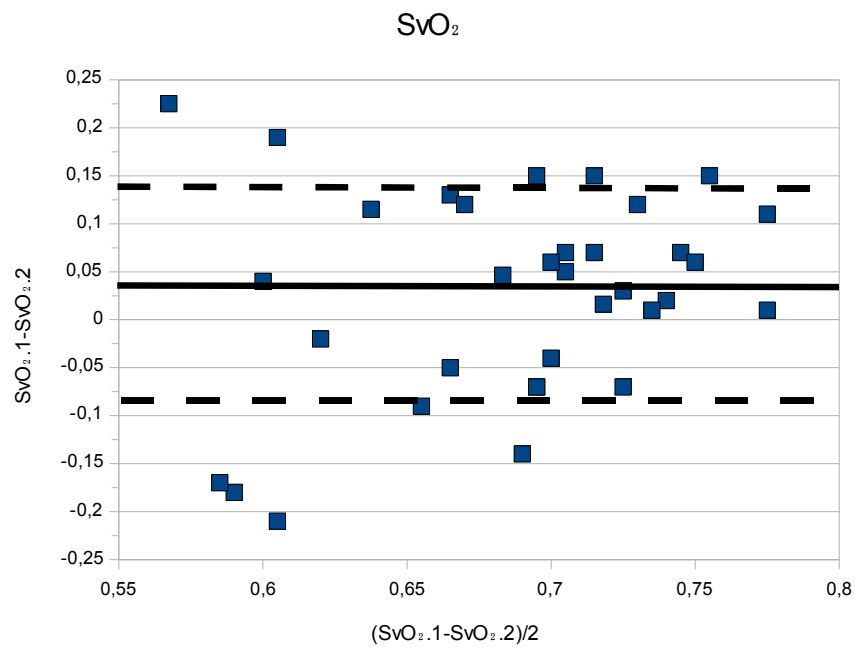


Abbildung 18: SvO<sub>2</sub>

### 3.2.10 FOE

Als letzter Wert wurde FOE für beide Gruppen berechnet. In der digitalisierten Gruppe liegt FOE bei 0,28 +/- 0,09 und in der optisch-manuellen Gruppe bei 0,3 +/- 0,09.

Signifikant ist auch FOE nicht, da  $p = 0,39$  ist.

Graphisch dargestellt durch eine durchgezogene Linie ist der Mittelwert der Differenzen von -0,02 in der Bland-Altman-Analyse. Die beiden strichlierten Linien signalisieren die Standardabweichung von +/- 0,12.

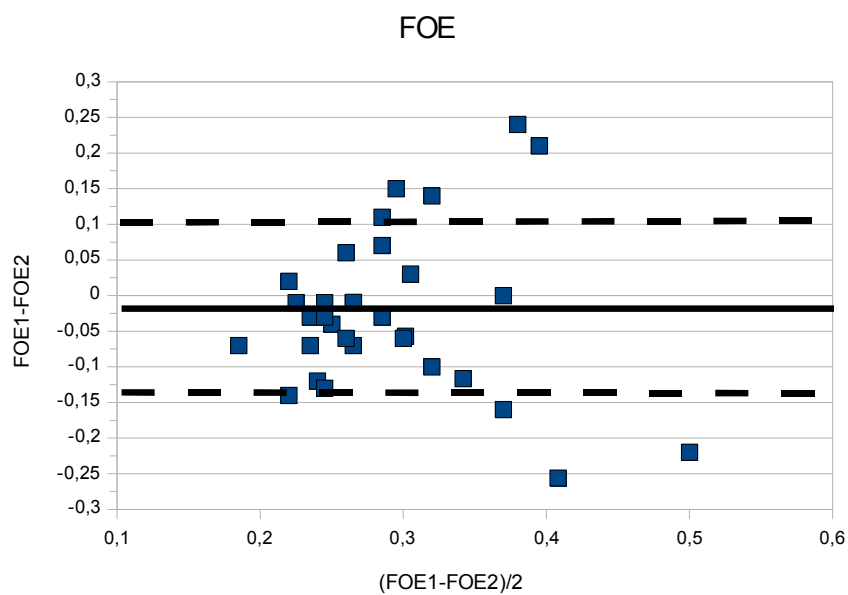


Abbildung 19: FOE

### **3.3. Regressionsanalysen**

In den Regressionsanalysen von SaO<sub>2</sub>, den Rekapillarisierungszeiten und der peripheren Temperatur mit den NIRS-Daten zeigen sich keine signifikanten Ergebnisse.

## 4. Diskussion

Die Nahinfrarotspektroskopie stellt gemeinsam mit der venösen Okklusion eine klinisch akzeptierte Methode dar, um Auskunft über den Blutfluss und in weiterer Folge den Oxygenierungszustand von Geweben zu erhalten. (3,4)

Der Vorteil dieses Verfahrens besteht darin, dass die Daten in Echtzeit nichtinvasiv gewonnen werden. Somit erhofft man sich, hämodynamische Veränderungen rascher zu erkennen und daraus resultierende Probleme in der Versorgung von Neu- und Frühgeborenen gezielt behandeln zu können.

Bisher war es nur möglich die Auswertung optisch-manuell vorzunehmen. Das Problem dabei ist der erhöhte Arbeits- und Zeitaufwand.

Eine digitalisierte Auswertung der Daten wurde erst 2007 eingeführt. Dies soll durch erhöhte Praktikabilität dazu beitragen, dass Nahinfrarotspektroskopie im klinischen Routinebetrieb zum Einsatz kommt.

Ziel dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob beide Datenauswertungen miteinander vergleichbar sind, ausgehend von der Annahme, dass die optisch-manuelle Auswertung die einzig etablierte ist.

Generell unterliegt die Nahinfrarotspektroskopie einigen Fehlerquellen, die unabhängig von der Methode der Auswertung (optisch-manuell bzw. digitalisiert) bei den einzelnen Messungen entstehen können. Einfluss auf die Ergebnisse nehmen vor allem Messartefakte, die durch Bewegungen entstehen. Daher sollten Messungen bei Neugeborenen in Ruhe oder während des Schlafes, vorwiegend zwischen Fütterungen, vorgenommen werden.

Ein weiteres Problem ist die Fixierung der Optoden. Oftmals kann eine Messung nicht durchgeführt werden, da Licht zwischen Emitter und Detektor einstrahlt. Dies kann durch zusätzliches Abdunkeln des Raumes bzw. des Inkubators verhindert werden.

Wie in Kapitel 2.1.1.2 beschrieben, ist auch der Abstand der beiden Optoden voneinander für die Messung entscheidend, da - je nach Entfernung der beiden - unterschiedliche

Gewebeschichten an der Messung teilnehmen (10).

Durch die zirkuläre Fixierung der Laserdioden ergibt sich ein weiteres mögliches Fehlerpotential.

Um die Reproduzierbarkeit der Messungen zu erhöhen, muss versucht werden, diese Gefahrenquellen auszuschließen.

Auch die von Pichler et al. (19) eingeführten und in Kapitel 2.4.4 beschriebenen Qualitätskriterien tragen dazu bei, dass die Messungen vergleichbarer werden.

Ein generelles Problem der Nahinfrarotspektroskopie ist die hohe Streubreite der einzelnen Messungen. Sorensen et al. beschäftigten sich mit genau dieser Thematik. Sie beurteilten die Genauigkeit der TOI-Messungen durch mehrfaches Entfernen und Wiederauflegen der Optoden bei ein und derselben Versuchsperson. Sie fanden heraus, dass erst bei fünf durchgeführten Messungen die Präzision der TOI-Werte mit der Präzision der Pulsoxymetrie übereinstimmt, dass aber Einzelmessungen zu ungenau sind, um Anwendung zu finden. (24).

Diese Beobachtungen können auch bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Bland-Altman-Analysen bestätigt werden.

Weiters fällt auf, dass generell die digitalisierte Auswertung der Daten eine geringere Streuung aufweist als die optisch-manuelle Auswertung. Auf Grund dessen lassen sich die Daten, die mit Hilfe der digitalisierten Auswertung gewonnen wurden, besser reproduzieren.

Anhand der Analysen zeigt sich, dass die Werte für TOI,  $DO_2$ ,  $VO_2$ ,  $HbO_2$  und  $Hbtot$  tendentiell in der optisch-manuellen Gruppe niedriger sind. Dies könnte man darauf zurückführen, dass die statistisch signifikanten Unterschiede für  $SaO_2$  und die periphere Temperatur Einfluss auf diese Faktoren nehmen.

In der Regressionsanalyse lässt sich diesbezüglich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Sauerstoffsättigung bzw. der peripheren Temperatur und den einzelnen

NIRS-Werten nachweisen. Möglicherweise könnte dies durch eine höhere Probandenzahl erreicht werden.

Auf Grund dessen, dass TOI vor allem das Hämoglobin im venösen, arteriellen und kapillären System repräsentiert, nimmt die arterielle Sauerstoffsättigung Einfluss auf diesen Wert. Wenn also die Sättigung erniedrigt ist, kann demzufolge auch der TOI erniedrigt sein. Auch wenn sich hierfür in der Regressionsanalyse kein deutliches Ergebnis zeigt, kann anhand von Tabelle 4 der Trend zu einem niedrigeren TOI in der optisch-manuellen Gruppe aufgezeigt werden. Ein statistisch signifikanter Unterschied ergibt sich für TOI jedoch nicht, in erster Linie auf Grund der Streuung und der niedrigen Probandenzahl.

DO<sub>2</sub> folgt diesem Trend. Beeinflusst durch Temperatur und Sauerstoffsättigung ist auch dieser Wert in der optisch-manuell ausgewerteten Gruppe niedriger.

Hassan et al. fanden in ihrer 2003 publizierte Studie heraus, dass die Temperatur Einfluss auf VO<sub>2</sub> nimmt. Am stärksten zeigt sich ein Abfall von peripherem VO<sub>2</sub> bei einer moderaten Abkühlung der betroffenen Extremität um vier Grad Celsius. (25)

Auch in unserer Studie lässt sich dieser Trend erkennen. Auf Grund der niedrigeren Temperatur in der optisch-manuellen Gruppe war folglich auch VO<sub>2</sub> niedriger. In der Regressionsanalyse lässt sich dieser Zusammenhang allerdings nicht statistisch nachweisen. Dies ist ebenfalls zurückzuführen auf die hohe Streuung und die niedrige Probandenzahl.

Die Hämoglobinkonzentrationen – mit NIRS gemessen – zeigten keine signifikanten, jedoch auch tendenzielle Unterschiede.

Eine niedrigere Temperatur bewirkt eine verminderte Perfusion von Geweben. Dadurch lässt sich das tendenziell niedrigere Gesamthämoglobin in der zweiten Gruppe erklären. Auch wenn sich keine statistische Signifikanz für diesen Wert ergibt, folgt die Analyse doch diesem Trend.

Auch bei HbO<sub>2</sub> kann ein ähnliches Verhalten beobachtet werden.

Abgesehen von der peripheren Temperatur und der Sauerstoffsättigung, zeigt auch die Rekapillarisation einen signifikanten Unterschied für den peripher ( $p < 0,001$ ) und den zentral ( $p < 0,001$ ) gemessenen Wert. Die optisch-manuell ausgewertete Gruppe rekapillarisierte bei beiden Messwerten um rund eine Sekunde schneller.

Generell wird die Rekapillarisationszeit als Hinweis auf die Mikrozirkulation verstanden. Der Wert ist sehr subjektiv und von vielen Störfaktoren beeinflusst, wodurch sich eine breite Streuung ergibt. (26) Fehler, die von demjenigen, der die Messung vornimmt, ausgehen, sind unter anderem der Druck, mit dem der Glasspatel aufgelegt wird, und die Schnelligkeit, mit der die Stop-Taste auf der Stoppuhr gedrückt wird. Die Zeit, in der sich die Kapillaren wieder mit Blut füllen, ist außerdem von der axillären Temperatur des Neugeborenen sowie von der Haut- und Umgebungstemperatur abhängig. Auf Grund der Tatsache, dass die Messung der Rekapillarisation so ungenau ist, bleibt fraglich, ob dies tatsächlich Auswirkungen auf die NIRS-Daten hat.

Dass ein Zusammenhang zwischen peripherer Temperatur und der Rekapillarisationszeit besteht, zeigt auch diese Studie.

Die Hauttemperatur der optisch-manuellen Gruppe war tendenziell um rund  $1^{\circ}\text{C}$  kühler, wohingegen die zentral gemessene Temperatur keinen signifikanten Unterschied zeigt.

Ein Wert, der ebenfalls einen statistisch signifikanten Unterschied aufweist, ist der Apgar-Score nach fünf Minuten. Der Score, der nach einer Minute und nach zehn Minuten erhoben wurde, zeigt jedoch keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen an. Da es sich hier jedoch um anamnestische Daten handelt, die lange vor der eigentlichen Messung erhoben wurden, kann man davon ausgehen, dass dieser Wert keinen Einfluss auf das Messergebnis - weder in der digitalisierten, noch in der optisch-manuellen Gruppe - nimmt.

Obwohl sich für  $\text{SaO}_2$  und die periphere Temperatur, die die peripher-muskuläre NIRS-Messung beeinflussen können, ein signifikanter Unterschied ergab, kann man davon ausgehen, dass die beiden Methoden vergleichbar sind, da sich die mit NIRS gemessenen Daten tendenziell gleich verhalten aber in erster Linie auf Grund der größeren Streuung keinen signifikanten Unterschied zeigten.

Ein großes Problem bisher war die breite Streuung der Messergebnisse. Abgesehen von Messartefakten und der physiologischen Streuung, die vom jeweiligen Probanden verursacht werden, kann dies auch auf die „inter- und intra-observer variability“ bei der optisch-manuellen Auswertung zurückgeführt werden. Obwohl es immer noch zu einer breiten Streuung und damit zu einer schlechten Reproduzierbarkeit der Werte kommt, zeigt sich doch, dass die digitalisierte Auswertung der optisch-manuellen in dieser Hinsicht überlegen ist und einen Einsatz - auch in Bezug auf Praktikabilität sowie Arbeits- und Zeitersparnis - im klinischen Alltag rechtfertigt.

## 5. Literaturverzeichnis

1. F.F. Jöbis. Noninvasive infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science* 1997;198:1264-1267.
2. Mancini DM, Bolinger L, Li H, Kendrick K, Chance B, Wilson JR. Validation of near-infrared spectroscopy in humans. *J Appl Physiol* 1994;77(6):2740-7.
3. Yoxall CW, Weindling AM. The measurement of peripheral venous oxyhemoglobin saturation in newborn infants by near infrared spectroscopy with venous occlusion. *Pediatr Res* 1996;39:1103-1006.
4. De Blasi RA, Ferrari M, Natali A, Conti G, Mega A, Gasparetto A. Noninvasive measurement of forearm blood flow and oxygen consumption by near-infrared spectroscopy. *J Appl Physiol* 1994;76:1388-1393.
5. Hamaoka T, McCully KK, Quaresima V, Yamamoto K, Chance B. Near-infrared spectroscopy/imaging für monitoring muscle oxygenation and oxidative metabolism in healthy and diseased humans. *J Biomed Opt* 2007 Nov-Dec;12(6):062105
6. Edwards AD, Richardson C, van der Zee P, Elwell C, Wyatt JS, Cope M, et al. Measurement of hemoglobin flow and blood flow by near-infrared spectroscopy. *J Appl Physiol* 1993 Oct; 75(4):1884-9.
7. Quaresima V, Lepanto R, Ferrari M. The use of near infrared spectroscopy in sports medicine. *J Sports Med Phys Fitness*. 2003 Mar;43(1):1-13.
8. Wolfberg AJ, du Plessis AJ. Near-infrared spectroscopy in the fetus and neonate. *Clin Perinatol* 2006 Sep;33(3):707-28.
9. Van der Zee P, Cope M, Arridge SR, Essenpreis M, Potter LA, Edwards AD, et al. Experimentally measured optical pathlengths for adult head, calf and forearm and the head of the newborn infant as a function of inter optode spacing. *Adv Exp Med Biol* 1992;316:143-53
10. Boushel R, Piantadosi Ca. Near-infrared spectroscopy for monitoring muscle oxygenation. *Acta Physiol Scand* 2000 Apr;168(4):615-22).
11. Boushel R, Langberg H, Olesen J, Gonzales-Alonzo J, Bülow J, Kjaer M. Monitoring tissue oxygen availability with near infrared spectroscopy (NIRS) in health and disease. *Scand J Med Sci Sports* 2001 Aug;11(4):213-22.
12. Barnett N, Germon T. Theoretical principles and practical problems of cerebral near infrared spectroscopy. In: Litscher G, Schwarz G, editors.

13. Owen-Reece H, Smith M, Elwell Ce, Goldstone JC. Near infrared spectroscopy. *Br J. Anaesth* 1999 Mar;82(3):418-26.
14. Hassan IA, Spencer SA, Wickramasinghe Ya, Palmer KS. Measurement of peripheral oxygen utilisation in neonates using near infrared spectroscopy: comparison between arterial and venous occlusion methods. *Early Hum Dev* 2000 Mar;57(3):211-24.
15. Lima A, Bakker J. Noninvasive monitoring of peripheral perfusion. *Intensive Care Med* 2005 Oct;31(10):1316-26.
16. Pichler G, Urlesberger B, Jirak P, Zotter H, Müller W. Forearm oxygen consumption and forearm blood flow in healthy children and adolescents measured by near infrared spectroscopy. *J Physiol Sci* 2006 Jun;56(3):191-4.
17. Al-Rawi PG, Smielewski P, Kirkpatrick PJ. Evaluation of a near-infrared spectrometer (NIRO 300) for the detection of intracranial oxygenation changes in the adult head. *Stroke* 2001 Nov;32(11):2492-500.
18. Casavola C, Paunescu LA, Fantini S, Gratton E. Blood flow and oxygen consumption with near-infrared spectroscopy and venous occlusion: spatial maps and the effect of time and pressure of inflation. *J Biomed Opt* 2000 Jul;5(3):269-76.
19. Pichler G, Grossauer K, Peichl E, Gaster A, Berghold A, Schwantzer G, Zotter H, Müller W, Urlesberger B. Combination of different noninvasive measuring techniques: a new approach to increase accuracy of peripheral near infrared spectroscopy. *J Biomed Opt* 2009 Jan-Feb;14(1):014014.
20. Stephard JT. Circulation to skeletal muscle in *Handbook of physiology*, Abboud FM, Shepherd JT, Eds., pp.319-370, American Physiological Society, Bethesda, MD (1983).
21. Honig CR, Gayeski TEJ, Clark JA, Clark PAA. Arteriovenous oxygen diffusion shunt is negligible in resting and working gracilis muscle. *Am J Physiol Heart Cir Physiol.* 261, H2031-H2041 (1991).
22. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986 Feb 8;1:307-10.
23. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res* 1999 Jun;8:135-60.
24. Sorensen LC, Greison G. Precision of measurement of cerebral tissue oxygenation index using near-infrared spectroscopy in preterm neonates. *J Biomed Opt* 2006 Sep-Oct;11(5):054005.
25. Hassan IA, Wickramasinghe YA, Spencer SA. Effect of limb cooling on peripheral and global oxygen consumption in neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*

*Ed.2003 Mar;88(2):F139-42.*

26. Raju NV, Maisels MJ, Kring E, Schwarz-Warner L. Capillary refill time in the hands and the feet of normal newborn infants. *Vlin Pediatr (Phila)* 1999 Mar;38(3):139-44.