マルチファイバ型単一反射プローブを用いた*in vivo*ラット脳の 吸光・散乱特性評価

西舘 泉¹, 吉田 慧一郎¹, 川内 聡子², 佐藤 俊一², 佐藤 学³

¹東京農工大学大学院 生物システム応用科学府 (〒184-8588 東京都小金井市中町2-24-16)

²防衛医科大学校 防衛医学研究センター (〒359-8513 埼玉県所沢市並木3-2)

³山形大学大学院 理工学研究科 (〒992-8510 山形県米沢市城南4-3-16)

Evaluation of Light Absorption and Scattering Properties of *in vivo* Rat Brain Using Single Reflection Probe with Multiple Fibers

Izumi NISHIDATE,¹ Keiichiro YOSHIDA,¹ Satoko KAWAUCHI,² Shunichi SATO,² and Manabu SATO³

¹Graduate School of Bio-Applications and Systems Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology
2-24-16 Naka-cho, Koganei, Tokyo 184-8588

²Division of Biomedical Information Sciences, National Defense Medical College, 3-2 Namiki, Tokorozawa, Saitama 359-8513

³Graduate Program of Electrical Engineering, Graduate School of Science and Engineering, Yamagata University
4-3-16 Jonan, Yonezawa, Yamagata 992-8510

(Received January 10, 2012)

In this study, we present a method to determine the reduced scattering coefficients $\mu_s'(\lambda)$ and the absorption coefficients $\mu_a(\lambda)$ of *in vivo* cerebral cortex based on the diffuse reflectance spectroscopy using single reflectance fiber probe with two source-collector geometries. In order to confirm the possibility of the method to evaluate changes in the optical properties of biological tissue, we performed *in vivo* experiments for exposed brain of rats during cortical spreading depression (CSD). The time courses of $\mu_a(\lambda)$ and SO_2 after the stimulation indicated the hemodynamic change in cerebral cortex, whereas variations of $\mu_s'(\lambda)$ implied the changes in light scattering by tissue and red blood cells.

Key Words: Diffuse reflectance spectroscopy, Optical properties, Monte Carlo simulation, Brain tissue, Cortical spreading depression

1. はじめに

近年, 拡散反射分光法^{1,2)}やOCT³⁻⁶⁾を用いて*in vivo*ラット脳における内因性光信号(Intrinsic Optical Signals, IOSs)に基づき脳神経組織のバイアビリティや神経活動を評価する試みがなされている。脳組織における主要なIOSsは, 血液量の増減による光吸収・散乱変化, 血中ヘモグロビンの酸化-還元による光吸収変化, 細胞外イオン濃度変化により生じる浸透圧に依存した細胞体積変化に起因する光散乱変化であり⁷⁾, *in vivo*で得られるIOSsにはこれらの全てが反映されると考えられる。

IOSsは大脳皮質拡張性抑制(Cortical Spreading Depression, CSD)等の脳組織の病態生理学的なプロセスを評価する上でも有効な手段となり得る。CSDは大脳皮質を2-4 mm/minで伝搬する脱分極波であり, CSDの到達は脳波の平坦化や誘発電位の消失をもたらすと同時に, 一過性の血流上昇と通過後の血流低下が観察される^{8,9)}。CSDは偏頭痛をはじめ, 脳梗塞, 神経損傷, 脳虚血等の様々な神経障害と関係していると考えられているが, その発生機序や生理学および病理学的な意義は未だ不明

な点が多い。

IOSsを用いたCSDの研究としてこれまでに脳スライスをを用いた*in vitro*計測や露出脳または薄く研磨した頭蓋骨を通して行う*in vivo*計測が報告されている。脳スライスをを用いた*in vitro*計測では人工脳髄液(artificial cerebrospinal fluid, aCSF)灌流系を用いることで, 血流, ヘモグロビンの酸化-還元による強い光吸収の影響を受けずに, 細胞の代謝・活性を保持した状態で, 脳組織そのものの光散乱・吸光特性変化を計測することが可能である¹⁰⁻¹²⁾。一方で, *in vivo*計測では主にCSDにより生じる脳血流量(Cerebral blood flow, CBF)の変化をIOSsとして計測しており, レーザードップラー法による赤血球からの散乱光計測^{8,9)}や拡散反射分光法を用いた血中ヘモグロビンによる吸光計測^{13,14)}が挙げられる。IOSsの計測により脳組織そのものの変化と血行動態変化を同時に評価することが出来ればCSDのより詳細な検討が可能になると考えられる。

われわれは2つの異なる入射-検出ファイバ配置を有する反射光計測用単一反射ファイバプローブによる分光拡散反射率計測システムを構築し, 分光反射率から等価散乱

係数 μ_s' , 吸収係数 μ_a および組織酸素飽和度 SO_2 を推定する方法を新たに開発した. 本論文では*in vivo*ラット露出脳に対するCSD誘発実験により本方法の生体脳組織への応用可能性について検討を行った結果について述べる.

2. 原理

2.1 計測システム

Fig. 1に計測システムを示す. 光学系は白色光源, 2分岐マルチモード光ファイバ, 反射光測定用マルチモード光ファイバプローブ, および2台のマルチチャンネル分光器から構成される. 2分岐マルチモード光ファイバはコア径 $400\text{ }\mu\text{m}$ の光ファイバ2本から成り, 共通端で並置している. 反射光測定用マルチモード光ファイバプローブは1本の光ファイバとそれを等間隔で取り囲む6本の光ファイバ群から構成される. 反射光計測用光ファイバプローブ内の各ファイバのコア径は $600\text{ }\mu\text{m}$ であり, 共通端での中心間距離は $700\text{ }\mu\text{m}$ である. ハロゲンランプ光源からの白色光は, 2分岐光ファイバの一方の経路を通り, 反射光測定用光ファイバプローブの中心ファイバを介してサンプルへと照射される. サンプルからの拡散反射光のうちで再び中心ファイバに入射した光は2分岐マルチモード光ファイバのもう一方の経路を通り, 1台のマルチチャンネル分光器に伝送される. また, サンプルからの拡散反射光のうちで周囲6つのファイバに入射した光は, もう一台のマルチチャンネル分光器に伝送される. 本研究では平均粒径 $0.1\text{ }\mu\text{m}$ のポリスチレンラテックススビーズ懸濁液を体積濃度50%に希釈したものをリファレンスとして用い, Mie散乱理論により求めたラテックススビーズ溶液の分光拡散反射率の理論値と分光拡散反射光強度の測定値との比較から, ラット脳の分光拡散反射光強度の測定値を補正することで, 中心ファイバ及び周囲ファイバに対する分光拡散反射率 $R_c(\lambda)$ 及び $R_s(\lambda)$ を $500\sim 900\text{ nm}$ の波長範囲で求めた.

2.2 光伝搬モンテカルロシミュレーション

計測した分光反射率 $R_c(\lambda)$ と $R_s(\lambda)$ から吸収係数 $\mu_a(\lambda)$

Fig. 1 Measuring system.

と等価散乱係数 $\mu_s'(\lambda)$ を推定するために, 本研究では光伝搬モンテカルロシミュレーション¹⁵⁾の結果を利用する. Fig. 2にFig. 1で示した計測システムの入射-検出ファイバ配置を再現した光伝搬モンテカルロシミュレーションモデルを示す. 本シミュレーションモデルでは光ファイバ層と測定対象となる散乱・吸収媒質層の2層構造を仮定し, ファイバ及び媒質の屈折率はそれぞれ $n_f=1.458$ 及び $n_m=1.4$ とした. Fig. 2(a)に示した $R_c(\lambda)$ の計算モデルでは, 入射領域と検出領域は同一とし, 直径 $600\text{ }\mu\text{m}$ の円形領域を媒質層とファイバ層との境界面に設定した. 一方でFig. 2(b)に示した $R_s(\lambda)$ の計算モデルでは, 入射領域と検出領域の中心間の距離は $700\text{ }\mu\text{m}$ とした. 各モデルにおいて, 光子の入射点を入射領域内にランダムに発生させ, 媒質層内を伝搬後に検出領域内に到達した光子のうちで, 受光立体角内で出射した光子を検出光としてカウントした. ただし, R_s の計算については, 実際のファイバ数を考慮して, シミュレーションの結果を6倍したものを R_s とした. 媒質内の吸収係数 μ_a と等価散乱係数 μ_s' は一樣であるとし, μ_a は $0.1, 1.0, 5.0, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50\text{ cm}^{-1}$ の12段階, μ_s' は $5.0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70\text{ cm}^{-1}$ の8段階を設定し, 計96通りの条件の下で R_c と R_s の計算を行った. 両モデルにおいて, 1条件当たりの光子数は $1,000,000$ とした. Fig. 3にモンテカルロシミュレーションの結果を示す. R_c と R_s はいずれも μ_a の増加に従い指数関数的な減少を示す. μ_s' の増加に従い R_c は単調な増加を示す. 一方で R_s は μ_s' の増加に伴い緩やかに増加し, ピークを示した後で減少する. この μ_s' に対する R_s と R_c の変化の違いは, 入射間隔によるものであり, μ_s' の値が高い領域での R_s の減少は, 散乱がある程度強くなることで入射領域から離れた検出領域まで到達する光の割合が減少するためであると考えられる. R_c は μ_s' に対して, また R_s は μ_a に対して, より感度が高いと言え, μ_s' および μ_a への依存性は両者で異なることが分かる.

Fig. 2 Schematic illustration of the Monte Carlo simulation models that represents the fiber configuration of reflection probe used in this study. (a) Single fiber configuration that a central fiber of reflection probe is used for both source and collection of light. (b) Multiple-fiber configuration that central fiber and the surrounding fiber are used for source and collection of light, respectively.

Fig. 3 Results obtained from the Monte Carlo simulations for (a) R_c collected by the center fiber and (b) R_s collected by the surrounding 6 fibers.

2.3 吸収係数と等価散乱係数の推定

本研究では2.2で示したモンテカルロシミュレーションの結果を利用して R_c 及び R_s と μ_a または μ_s' の関係を(1)式で示される回帰モデルとして考える。

$$\begin{bmatrix} \mu_s' \\ \mu_a \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \alpha_c & \alpha_s \\ \beta_c & \beta_s \end{bmatrix} \begin{bmatrix} A_c \\ A_s \end{bmatrix} \quad (1)$$

ここで、 α_c 、 α_s 、 β_c 、及び β_s は係数であり、変数 A_c 及び A_s は $A_c = -\log_{10} R_c$ 及び $A_s = -\log_{10} R_s$ で定義される見かけの吸光度である。一般に、対象となる回帰モデルが非線形性を有する場合、高次項を用いることで精度が向上することが知られている。そこで本研究では、(2)式に表わされるような A_c 及び A_s とそれらの2次項までを含む回帰モデルを考える。

$$\begin{bmatrix} \mu_s' \\ \mu_a \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \alpha_0 & \alpha_1 & \alpha_2 & \alpha_3 & \alpha_4 & \alpha_5 \\ \beta_0 & \beta_1 & \beta_2 & \beta_3 & \beta_4 & \beta_5 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 \\ A_c^2 \\ A_s^2 \\ A_c A_s \\ A_c \\ A_s \end{bmatrix} \quad (2)$$

係数 α_i 、 β_i ($i=0, 1, 2, 3, 4, 5$)はモンテカルロシミュレーションで得られた96セットの A_c 及び A_s とそれらの2次までの項を説明変数とし、各セットに対応する μ_s' または μ_a の設定値を目的変数とした重回帰分析により統計的に求めた。一般に重回帰式の当てはまり、すなわち重回帰式そのものの精度は決定係数 r^2 で評価される。ここで、 r は設定値と重回帰式による予測値の間の相関係数を表わす。この場合の決定係数 r^2 は μ_a 及び μ_s' に対していずれも $r^2 > 0.99$ であった。本研究では、(2)式を計測した分光反射率 $R_c(\lambda)$ と $R_s(\lambda)$ の任意の波長に適用することで吸収係数スペクトル $\mu_a(\lambda)$ と等価散乱係数スペクトル $\mu_s'(\lambda)$ を求める。

2.4 組織酸素飽和度の推定

本研究では、推定した吸収係数スペクトル $\mu_a(\lambda)$ をもとに組織酸素飽和度 $SO_2\%$ を算出する。ここでは、吸収係数スペクトル $\mu_a(\lambda)$ が酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンによる吸収の和であると仮定して、 $\mu_a(\lambda) = C_{hbo2} \times \epsilon_{hbo2}(\lambda) + C_{hb} \times \epsilon_{hb}(\lambda)$ で表わす。ここで、 C と $\epsilon(\lambda)$ は各色素の濃度と吸光係数スペクトルであり、添字の

$hbo2$ と hb は酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンを表わす。ここで、吸収係数スペクトル $\mu_a(\lambda)$ を目的変数とし、吸光係数スペクトル $\epsilon_{hbo2}(\lambda)$ と $\epsilon_{hb}(\lambda)$ を説明変数とした重回帰モデルとして、 $\mu_a(\lambda) = a_{hbo2} \times \epsilon_{hbo2}(\lambda) + a_{hb} \times \epsilon_{hb}(\lambda) + a_0$ を考え、回帰係数 a_{hbo2} と a_{hb} を求める。ここで a_0 はバイアス成分を表わす。この場合、回帰係数 a_{hbo2} と a_{hb} は酸化ヘモグロビン濃度と還元ヘモグロビン濃度の割合を反映すると考えられるため、 $SO_2\% = \{a_{hbo2} / (a_{hbo2} + a_{hb})\} \times 100$ として酸素飽和度 $SO_2\%$ を算出する。今回は酸素飽和度 $SO_2\%$ の算出において、酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンによる吸収スペクトルの違いが顕著である、波長500～600 nmのデータを用いた。

3. 実験

3.1 ファントムを用いた実験

構築した計測システムの基礎特性を確認するために、液体ファントムを用いた実験を行った。散乱媒質としてIntralipid溶液と生理食塩水の混合液を作成し、吸収体には馬赤血球を溶血・濾過処理することで抽出したヘモグロビン溶液を利用した。それぞれを混合することで液体ファントムを作成した。Intralipid溶液及びヘモグロビン溶液の濃度によりファントムの μ_s' と μ_a を調整した。Intralipid溶液の μ_s' の設定値は文献値¹⁶⁾を利用し、ヘモグロビンの μ_a は1 cm角のキューベットを用いた透過光測定により実測した値と希釈倍率から求めた。

3.2 ラット露出脳の計測

実験では4匹の雄性Wister種ラット(80～286 g)に対して α -chloralose(50 mg/kg)とUrethane(600 mg/kg)の混合による腹腔麻酔を施し、頭部固定装置に設置後皮膚を切開し、頭蓋骨を露出した。Fig. 4にラット頭部の模式図を示す。高速精密ドリルにより頭蓋骨を切削・除去することで長軸8.0 mm、短軸6.0 mmの楕円状の観察窓を作成し、ファイバプローブ先端を脳表面に接触させた。CSDを誘発するために、本実験ではPinprick刺激による方法

Fig. 4 Schematic illustrations of measuring site and stimulating point on the rat head.

を採用した。Pinprick刺激は先端の細い注射針等を脳表面から数mmの深さに挿入することで刺激を与えるものであり、比較的簡便なCSDの誘発方法として知られている。Pinprick刺激を行うために、測定用観察窓の作成と同様に、高速精密ドリルにより前頭部頭蓋骨に直径2.0 mmの穴を開けた。ファイバプロープの中心とPinprick刺激用窓の中心との距離は8.0 mmであった。脳表面の乾燥を防ぐために、脳露出部を含む頭蓋骨上面全体を生理食塩水で満たした。Pinprick刺激は25ゲージの注射針を用いて行った。 $R_c(\lambda)$ と $R_s(\lambda)$ の測定は10秒間隔で40分間行った。

4. 実験結果と考察

4.1 ファントムを用いた実験

Fig. 5 (a) 及び5 (b) にファントム実験により得られた μ_a 及び μ_s' の結果をそれぞれ示す。 μ_a と μ_s' の推定値は設定値に対しておおむね線形に相関していることが確認できる。設定値と推定値との間の相関係数は μ_s' では0.945であり、 μ_a では0.946であった。しかしながら、 μ_s' と μ_a はいずれも値が高くなるにつれて設定値との間の差が大きくなっていることが分かる。この不一致の原因の一つとして、シミュレーションで仮定したモデルと実際の光学系の条件が厳密に一致していないことが考えられる。

4.2 ラット露出脳の計測

Fig. 6にラット大脳皮質のPinprick刺激によるSD誘発実験において得られた $\mu_a(\lambda)$ と $\mu_s'(\lambda)$ の時間変化の一例を示す。この場合、測定開始から10.5、21.0、31.4分後に計3回のpinprick刺激を行っている。Fig. 6 (a)において、計測開始から1回目のPinprick刺激までの平常状態における $\mu_a(\lambda)$ にはヘモグロビンに特異的な吸光スペクトルピークが観察される。平常状態の $\mu_a(\lambda)$ から推定した組織酸素飽和度 SO_2 の平均値は $55.5 \pm 2.0\%$ であった。本方法で得られる SO_2 は主に組織内の毛細血管内を流れる動・静脈血の酸素飽和度を表わしていると考えられる。ラット大脳皮質の毛細血管内血液の酸素飽和度として $SO_2 = 82 - 59\%$ の値が報告されている¹⁷⁾。全身麻酔・自発呼吸下において得られた平常時の組織酸素飽和度であ

Fig. 5 Comparison of the estimated and expected values for (a) the absorption coefficient μ_a and (b) the reduced scattering coefficient μ_s' , obtained from the phantom experiments.

Fig. 6 Typical time courses of (a) the absorption coefficient spectrum $\mu_a(\lambda)$ and (b) the reduced scattering coefficient spectrum $\mu_s'(\lambda)$ during pinprick-induced CSD.

ることを考慮すると、上記の SO_2 推定値は妥当であると考えられる。Fig. 6(b)に示した $\mu_s'(\lambda)$ は、波長の増加に対して緩やかに減少するスペクトルを示しており、 $\mu_s'(\lambda)$ の値の範囲は灌流スライスから得られた脳組織の $\mu_s'(\lambda)$ の値¹²⁾とおおむね対応する。一方で、波長500~600 nmの $\mu_s'(\lambda)$ に見られる双峰性のピークは脳スライスの $\mu_s'(\lambda)$ ¹²⁾では見られないことから、赤血球の散乱スペクトル¹⁸⁾を反映している可能性がある。従って、Fig. 6(b)に示した $\mu_s'(\lambda)$ には血液以外の組織そのものによる単調な分光特性と赤血球による複数のピークを有する分光特性の両方を重ね合わせた特性が反映されることが考えられる。

CSD波の到達に伴い脳組織の血流は、わずかな減少の後に急激な増加を示し再び減少することが報告されている^{8,9)}。この変化の傾向は、Fig. 6 (a)に示した各Pinprick刺激後の $\mu_a(\lambda)$ の時間変化においても確認することが出来る。刺激から $\mu_a(\lambda)$ の最初の減少が開始するまでの時間をCSDの伝搬時間とした場合、3回の刺激に対する伝搬速度はそれぞれ2.5、2.4、及び3.0 mm/minであった。4匹のラットに対して行われた計6回のpinprick刺激に対するCSDの伝搬速度の平均値は 2.4 ± 0.4 mm/minであり、2~4 mm/minの文献値^{8,9)}と一致する。

Fig. 7に1回目の刺激に対する波長500, 530, 570, 及び585 nmでの μ_s' 、 μ_a 及び SO_2 [%]の時間変化を示す。波長530及び570 nmでの μ_s' の時間変化は μ_a と同期している。一方で波長500 nm及び585 nmではCSDによる μ_s' の増大

Fig. 7 Typical time courses of the reduced scattering coefficient μ_s' and the absorption coefficient μ_a during pinprick-induced CSD for (a) 500, (b) 530, (c) 570 and (d) 584 nm. The oxygen saturation SO_2 is compared with the values of μ_s' and μ_a for each wavelength.

ピークは μ_a の増大ピークよりも前に観察された。CSDに伴うフィールド電位とIOSsの同時計測^{8,9)}ではCSDの到達により生じる電位変化は血流量の増大に先立って観察され、この電位変化は細胞外 K^+ 濃度の上昇と関連付けられる。細胞外 K^+ の上昇が浸透圧による細胞内への水の移行をもたらすことで細胞及び細胞内小器官は膨潤し、光散乱特性が変化する^{10,11)}。一般に細胞、ミトコンドリア、リソソーム・小胞、リボソーム、及び膜構造のサイズはそれぞれ10 μm , 1 μm , 0.1~1 μm , 0.025 μm 及び0.01 μm 程度であると言われており、これらの微小構造が組織全体の光散乱特性に寄与すると考えられる。Fig. 8に細胞、細胞内小器官、及び膜と同等のサイズを有する球形微粒子の $\mu_s'(\lambda)$ をMie散乱理論に基づき計算した結果を示す。粒子内部及び外部媒質の屈折率はそれぞれ1.46及び1.35とし、粒子の体積濃度は2%とした。波長500–585 nmにおいて粒径 $d=0.01-0.1 \mu m$ の範囲では粒子直径の増加に伴い μ_s' は増加を示し、 $d=0.4-10.0 \mu m$ の範囲では μ_s' は減少を示す。この結果は、細胞やミトコンドリアなどの比較的大きい構造体の膨潤は μ_s' の減少を、またリボソームや膜などのより微細な構造体の膨潤は μ_s' の増加をもたらす可能性を示唆している。

波長530 nmや570 nmでは赤血球による散乱の影響が大きいため、CSDに伴う μ_s' の変化では血流による散乱変化が支配的であり、細胞膨潤に起因する組織による散乱

変化は血流による散乱変化に埋もれている可能性がある。一方で波長500 nmや585 nmでは赤血球による散乱の影響が小さいために全体の散乱変化に対する組織散乱の寄与は530 nmや570 nmよりも大きいと考えられる。この全体の散乱に対する赤血球と組織の寄与度が波長により異なることが、CSDに伴う μ_s' 増大ピークのタイミングの違いに関係している可能性がある。 SO_2 はCSDの到

Fig. 8 Reduced scattering coefficient spectra $\mu_s'(\lambda)$ calculated by the Mie theory for various size spheres.

達により、緩やかに上昇し、一度低下した後、 μ_a の急激な増加とともに上昇を示した。この SO_2 の変化は主にCSDに伴う動脈血流量の変化を反映していると考えられる。以上の μ_s 、 μ_a 及び SO_2 の変化は4匹のラットに対する全てのPinprick刺激で同様の傾向が観察された。

5. おわりに

本研究では2つの入射-検出ファイバ配置を有する単一ファイバプローブ型分光拡散反射率計測システムを構築し、拡散反射率から脳組織の μ_a 、 μ_s および $\text{SO}_2\%$ を推定する方法について検討を行った。*in vivo*ラット露出脳のCSD誘発モデルを用いた実験において、波長500–600 nmの μ_a とそれらから算出した SO_2 は主に動脈血流量の変化を反映していると考えられた。ヘモグロビンによる吸光の影響が小さい600 nm以上の波長帯において、 $\mu_a(\lambda)$ からCytochrome *c* oxidaseの酸化・還元による吸光変化を推定することができれば、脳組織エネルギー代謝の評価も可能になると考えられる。一方で、 $\mu_s(\lambda)$ の変動は組織および赤血球による光散乱変化の両方を含んでおり、波長選択により $\mu_s(\lambda)$ から血流と組織そのものの散乱変化を分離できる可能性が得られた。

参考文献

- 1) S. Kawauchi, S. Sato, H. Ooigawa, H. Nawashiro, M. Ishihara, and M. Kikuchi: Appl. Opt. **47** (2008) 4164.
- 2) S. Kawauchi, S. Sato, H. Ooigawa, H. Nawashiro, M. Ishihara, and M. Kikuchi: Neurosci. Lett. **459** (2009) 152.
- 3) U. M. Rajagopalan and M. Tanifuji: Opt. Lett. **32** (2007) 2614.
- 4) M. Sato, M. S. Hrebesh, and I. Nishidate: Appl. Opt. **48** (2009) 4354.
- 5) M. Sato, D. Nomura, T. Tsunenari, and I. Nishidate: Appl. **49** (2010) 4851.
- 6) M. Sato, D. Nomura, T. Tsunenari, and I. Nishidate: Appl. Opt. **49** (2010) 5686.
- 7) T. Bonhoeffer and A. Grinvald: in Optical imaging based on intrinsic signals (The methodology in brain mapping ed. A. Toga and J. Mazziotta, Academic Press, 1996).
- 8) C. Ayata, H. K. Shin, S. Salomone, Y. Ozdemir-Gursoy, D. A. Boas, A. K. Dunn, and M. A. Moskowitz: J. Cereb. Blood Flow Metab. **24** (2004) 1172.
- 9) I. Sukhotinsky, E. Dilekoz, M. A. Moskowitz, and C. Ayata: J. Cereb. Blood Flow Metab. **28** (2008) 1369.
- 10) C. R. Jarvis, T. R. Anderson, and R. D. Andrew: Cereb. Cortex **11** (2001) 249.
- 11) T. R. Anderson, C. R. Jarvis, A. J. Biedermann, C. Molnar, and R. D. Andrew: J. Neurophysiol. **93** (2005) 963.
- 12) I. Nishidate, K. Yoshida, and M. Sato: Appl. Opt. **49** (2010) 6617.
- 13) A. M. Ba, M. Guieu, N. Pouratian, A. Muthialu, D. E. Rex, A. F. Cannestra, J. W. Y. Chen, and A. W. Toga: J. Neurophysiol. **88** (2002) 2726.
- 14) S. Chen, Z. Feng, P. Li, S. L. Jacques, S. Zeng, and Q. Luo: J. Biomed. Opt. **11** (2006) 034002.
- 15) L. Wang and S. L. Jacques: Appl. Opt. **34** (1995) 2362.
- 16) H. J. van Staveren, C. J. M. Moes, J. Marle, S. A. Prahl, and M. J. C. Gamert: Appl. Opt. **30** (1991) 4507.
- 17) E. Vovenko: Eur. J. Physiol. **437** (1999) 617.
- 18) M. Friebe, J. Helfmann, U. Netz, and M. Meinke: J. Biomed. Opt. **14** (2009) 034001.