

Quantitative contrast-enhanced MRI of the microvasculature

Citation for published version (APA):

Oosterdorp, M. (2009). *Quantitative contrast-enhanced MRI of the microvasculature*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20100115mo>

Document status and date:

Published: 01/01/2009

DOI:

[10.26481/dis.20100115mo](https://doi.org/10.26481/dis.20100115mo)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Angiogenesis, the growth of new blood vessels from pre-existing vessels, is involved in many common diseases, where it can play considerably different roles. On the one hand, it is an important negative prognosticator of tumor growth and malignancy. On the other hand, the level of angiogenic activity is positively associated with functional outcome after myocardial infarction. Currently, novel therapies are being developed that either inhibit angiogenesis in cancer, or stimulate angiogenesis after myocardial infarction. However, to fully address their therapeutic efficacy, non-invasive imaging methods are required which provide an early marker of therapeutic response and which can be safely repeated in the same patient to allow longitudinal monitoring.

Magnetic resonance imaging (MRI) is considered the safest and most versatile non-invasive imaging modality available today. It allows anatomic and functional imaging at a superior spatial resolution and soft tissue contrast of almost every region of the human body. In addition, molecular imaging, i.e. the non-invasive *in vivo* visualization of disease processes at a molecular or cellular level, was shown to be feasible with MRI using specific contrast agents targeted to upregulated biomarkers of disease. As the molecular response to pro- or anti-angiogenic therapy is expected to occur prior to any change in gross anatomy and/or organ function, molecular MRI may provide the required early marker of therapeutic efficacy. Accurate longitudinal evaluation can be achieved via absolute quantification of the therapeutic response in terms that are independent of experimental MRI parameters or physical condition of the patient.

In this thesis, several studies are presented that investigate the microvasculature using quantitative (molecular) MRI techniques. The main focus of this research project was on data acquisition and on the development of novel, quantitative post-processing techniques. The applicability of these methods to explore the microvasculature was demonstrated in preclinical models of tumor growth, myocardial infarction, and ischemia-reperfusion injury in the kidney.

Chapter 1 gives an outline of this thesis and provides a general introduction into the physical basics of MRI and the microvasculature.

In **Chapter 2**, a thorough review is presented on quantitative contrast-enhanced MRI techniques that can be applied to study vessel growth and function. This chapter provides the technical basis for the experimental studies described in the subsequent chapters.

SUMMARY

Chapter 3 describes the successful application of a bimodal (i.e. containing magnetic and fluorescent properties) contrast agent to visualize angiogenic activity in subcutaneous tumors in mice using molecular MRI. Selective contrast agent homing to the angiogenic neovasculature was achieved via a small peptide ligand coupled to the contrast agent surface. Changes in image contrast induced by the contrast agent were most pronounced in the tumor periphery, the tumor area with the known highest level of angiogenic activity. Validation of the MRI results with fluorescence microscopy showed accurate colocalization of the contrast agent with vascular endothelial cells in the tumor rim.

The magnetic properties of the bimodal contrast agent were further explored in **Chapter 4**. The contrast agent was found to influence both longitudinal and transverse relaxation rates of the surrounding tissue, and the most efficient method of contrast enhancement is therefore *a priori* unknown. Using absolute quantification of the level and spatial extent of contrast enhancement in murine tumors, it was found that contrast agent induced changes in image contrast can be most accurately detected using techniques based on the longitudinal relaxation rate. Consequently, these methods are likely most suitable for the visualization of angiogenic activity in tumors.

Molecular MRI contrast agents are often relatively large particles with a diameter in the order of several tens to hundreds of nanometers. Combined with the highly irregular tumor microvasculature, this might hamper uniform contrast agent delivery throughout the entire tumor. In addition, the pharmacokinetic behavior of molecular MRI contrast agents is largely unknown. In **Chapter 5**, a dynamic MRI acquisition method combined with a two-compartment pharmacokinetic model is presented to evaluate contrast agent pharmacokinetics in molecular MRI. The targeted contrast agent was found to have a stronger association with tumor vascular endothelial cells compared with a non-targeted control agent, whereas contrast agent dissociation was weaker. Furthermore, contrast agent delivery could be detected throughout the tumor.

In **Chapter 6**, MR vessel size imaging was applied to obtain quantitative measures related to the local vessel radius and fractional blood volume in tumors. Although MR vessel size imaging has already been applied in several preclinical as well as in clinical studies, the results were not yet validated with an independent three-dimensional microscopy technique. Comparison of *in vivo* MR vessel size imaging with *ex vivo* fluorescence microscopy revealed that MR vessel size imaging severely overestimated vessel radius, whereas it underestimated the relative blood volume. MR vessel size imaging is therefore

not suitable for absolute quantification of vascular morphology. However, it can be used to detect relative differences, for instance between various tissue types within the same patient, or in one tissue before and after therapy.

Molecular MRI of angiogenic activity in the murine heart after myocardial infarction was explored in **Chapter 7**. Administration of the targeted bimodal contrast agent resulted in a significantly enhanced image contrast in the infarct and border zones of the heart, which was absent in mice injected with control contrast agent, and in sham-operated mice injected with the targeted agent. The MRI results were confirmed by fluorescence microscopy, which showed extensive colocalization of the targeted contrast agent with the microvasculature in the infarcted area and border zone of the heart.

In **Chapter 8**, quantitative MRI was applied to study microvascular damage in the kidney after ischemia-reperfusion injury, which likely plays an important role in allograft dysfunction after kidney transplantation. A significant reduction in renal oxygenation and function was found in the injured kidney compared with the contralateral control, which persisted up to 24 hours after reperfusion. This may indicate ongoing ischemic damage to the injured kidney.

Finally, **Chapter 9** integrates the results of the various studies and discusses the remaining challenges towards clinical application of quantitative contrast-enhanced MRI of the microvasculature.

Samenvatting

Angiogenese, de groei van nieuwe bloedvaten uit reeds bestaande vaten, speelt een belangrijke rol bij een aantal veel voorkomende ziektes. De exacte bijdrage van angiogenese kan zeer verschillend zijn per ziekte. Aan de ene kant is het een belangrijke negatieve voorspeller van tumorgroei en de vorming van uitzaaiingen. Aan de andere kant is de hoeveelheid angiogene activiteit juist geassocieerd met een positieve prognose en (gedeeltelijk) functieherstel na een hartinfarct. Momenteel worden nieuwe therapieën ontwikkeld waarmee angiogenese geremd kan worden bij kwaadaardige tumoren, of waarmee angiogenese gestimuleerd kan worden in het geval van een hartinfarct. Echter, om de werkzaamheid van deze therapieën volledig in kaart te kunnen brengen, zijn niet-invasieve technieken, waarmee de therapeutische effecten in een vroeg stadium gedetecteerd kunnen worden, noodzakelijk. Verder moeten de metingen veilig herhaald kunnen worden in dezelfde patiënt, zodat de werkzaamheid van de therapie ook over een langere periode in de tijd kan worden vervolgd.

Beeldvorming door middel van magnetische kernspin resonantie (in het Engels magnetic resonance imaging, afgekort MRI) wordt gezien als de meest veilige en veelzijdige niet-invasieve beeldvormende techniek van de huidige radiologische praktijk. Met MRI kan zowel anatomische als functionele informatie worden verkregen over vrijwel elk orgaan in het menselijk lichaam, met een zeer groot oplossend vermogen en contrast tussen de verschillende weefsels. Verder zijn recentelijk ook moleculaire MRI technieken geïntroduceerd, waarmee ziekteprocessen niet-invasief kunnen worden afgebeeld in levende organismen op moleculair en cellulair niveau. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van speciale contrastmiddelen, die met hoge affiniteit binden aan bepaalde biomarkers die verhoogd tot expressie komen tijdens ziekte. Moleculaire MRI wordt gezien als een potentiële vroege marker van therapeutische werkzaamheid, aangezien de effecten van pro- of anti-angiogene therapie zich hoogstwaarschijnlijk het eerst op moleculair niveau zullen manifesteren, voordat veranderingen zichtbaar worden in anatomie en/of orgaanfunctie. Nauwkeurige longitudinale evaluatie kan worden gerealiseerd door middel van absolute kwantificatie van de therapierespons in termen die onafhankelijk zijn van experimentele MRI parameters of van de fysieke conditie van de patiënt.

In dit proefschrift wordt een aantal studies beschreven waarin de microvasculatuur werd onderzocht met kwantitatieve (moleculaire) MRI technieken. Het onderzoeksproject was met name gericht op de data-acquisitie en op de ontwikkeling van nieuwe technieken voor kwantitatieve beeldanalyse. De ont-

SAMENVATTING

wikkelde technieken werden gebruikt om de microvasculatuur te bestuderen in preklinische (d.w.z. proefdier) modellen van tumorgroei, hartinfarcten en ischemie-reperfusie schade in de nieren.

Hoofdstuk 1 beschrijft kort de inhoud van dit proefschrift en geeft tevens een algemene introductie over de fysische achtergrond van MRI en over de microvasculatuur.

In **Hoofdstuk 2** wordt een uitgebreid overzicht gegeven van kwantitatieve contrast-versterkte MR technieken waarmee vaatgroei en -functie bestudeerd kunnen worden. Dit hoofdstuk vormt een actueel literatuuroverzicht en is tevens de technische basis voor de in de daaropvolgende hoofdstukken beschreven experimentele studies.

Hoofdstuk 3 beschrijft de succesvolle toepassing van een nieuw, bimodaal (d.w.z. magnetische en fluorescente eigenschappen bevattend) contrastmiddel voor het afbeelden van angiogene activiteit in onderhuidse tumoren bij muizen, met behulp van moleculaire MRI. Selectieve binding van het contrastmiddel aan de angiogene bloedvaten werd geïntroduceerd door een klein, specifiek peptide aan het contrastmiddel te koppelen. De door het contrastmiddel geïnduceerde veranderingen in beeldcontrast waren voornamelijk gelokaliseerd in de rand van de tumor. Dit tumorgebied staat bekend om zijn hoge mate van angiogene activiteit. Validatie van de MRI resultaten met fluorescentie microscopie toonde aan dat het contrastmiddel specifiek geassocieerd was met de vasculaire endotheelcellen in de rand van het tumorweefsel.

De magnetische eigenschappen van het bimodale contrastmiddel werden verder onderzocht in **Hoofdstuk 4**. Het contrastmiddel bleek zowel de longitudinale als de transversale relaxatiesnelheden te beïnvloeden, waardoor het *a priori* onbekend is welke contrast-versterkte MRI techniek het meest optimaal is. Door middel van absolute kwantificatie van het niveau en de ruimtelijke uitgebreidheid van de contrastverandering in tumoren, werd ontdekt dat technieken welke gebaseerd zijn op de longitudinale relaxatiesnelheid het meest geschikt zijn om contrastveranderingen ten gevolge van het bimodale contrastmiddel te kunnen detecteren. Deze methodes zijn daarom waarschijnlijk ook het meest geschikt om angiogene activiteit in tumoren te detecteren met MRI.

Over het algemeen zijn contrastmiddelen voor moleculaire MRI relatief grote deeltjes met een diameter tussen enkele tientallen en honderden nanometers. In combinatie met de sterk onregelmatige structuur van de microvaten in de tumor, hindert dit mogelijk de gelijkmatige verdeling van het contrastmiddel over de gehele tumor. Daarnaast is er tot nu toe weinig bekend over

de farmacokinetische eigenschappen van deze grote moleculaire MRI contrastmiddelen. **Hoofdstuk 5** beschijft de ontwikkeling van een dynamische MRI methode en een twee-compartimenten farmacokinetisch model, waarmee de farmacokinetiek van moleculaire MRI contrastmiddelen kan worden bestudeerd. In vergelijking met een controle contrastmiddel werd een verhoogde associatie gevonden van het specifieke bimodale contrastmiddel met de vasculaire endotheelcellen, terwijl de dissociatie juist lager was. Verder werd onomstotelijk vastgesteld dat het moleculaire MRI contrastmiddel zich ondanks zijn grootte over de hele tumor kan verspreiden.

In **Hoofdstuk 6** werd een MRI techniek gebruikt waarmee kwantitatieve informatie kan worden verkregen over de lokale vaatgrootte en het relatieve bloedvolume in een tumor. Ondanks dat deze techniek al in meerdere preklinische en zelfs in klinische studies is toegepast, zijn de resultaten nog niet eerder gevalideerd met een onafhankelijke driedimensionale microscopie techniek. Vergelijking van de *in vivo* MRI resultaten met *ex vivo* fluorescentie microscopie toonde aan dat MRI de vaatdiameter aanzienlijk overschat, terwijl het relatieve bloedvolume juist wordt onderschat. Deze MRI techniek is daarom niet geschikt voor de absolute kwantificatie van vasculaire morfologie. Het zou echter wel gebruikt kunnen worden om relatieve verschillen te detecteren, bijvoorbeeld tussen verschillende weefsels in dezelfde patiënt, of binnen één weefseltype voor en na therapie.

Hoofdstuk 7 beschrijft de toepassing van moleculaire MRI voor de visualisatie van angiogene activiteit in het hart, na inductie van een hartinfarct in muizen. Na toediening van het specifieke bimodale contrastmiddel werd een significante verandering in beeldcontrast waargenomen in het infarctgebied en de naastgelegen randzones. Er werd geen verandering gevonden wanneer een controle contrastmiddel werd gegeven, of wanneer het specifieke contrastmiddel werd toegediend aan muizen zonder hartinfarct. De MRI resultaten werden bevestigd met fluorescentie microscopie, waarmee veel colokalisatie werd gevonden van het contrastmiddel met de microvaten in het infarctgebied en de randzones van het hart.

In **Hoofdstuk 8** werd microvasculaire schade in de nieren als gevolg van ischemie en reperfusie onderzocht met behulp van kwantitatieve MRI. Deze ischemie-reperfusie schade speelt waarschijnlijk een belangrijke rol bij de ontwikkeling van nierfunctiestoornissen na een niertransplantatie. Tot 24 uur na ischemie-reperfusie werd een significante reductie in renale oxygenatie en functie waargenomen in een beschadigde nier in vergelijking met de andere, gezonde nier. Dit duidt mogelijk op voortdurende ontwikkeling van ischemische schade in de aangedane nier.

SAMENVATTING

In **Hoofdstuk 9** worden de voorgaande resultaten in een breder perspectief geplaatst en wordt bediscussieerd welke uitdagingen overwonnen dienen te worden op weg naar de klinische toepassing van kwantitatieve contrast-versterkte MRI van de microvasculatuur.