



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Measurement of microcirculation in clinical research

Birkhoff, W.A.J.

Citation

Birkhoff, W. A. J. (2023, June 20). *Measurement of microcirculation in clinical research*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3620966>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3620966>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Cardiovasculaire ziekten zijn een van de belangrijkste oorzaken van overlijden, met 17,7 miljoen sterfgevallen in 2015, hoewel dit de laatste decenia aanzienlijk is gedaald. Momenteel is er voor de meeste macrovasculaire ziekten een behandelingsoptie beschikbaar. Interventies gericht op de microcirculatie zijn echter schaars. De evaluatie van behandelingen die de microcirculatie beïnvloeden is moeilijk vanwege het ontbreken van gestandaardiseerde geaccepteerde technieken. Recente studies hebben echter aangetoond dat grote macrovasculaire ziekten vooraf worden gegaan door microvasculaire afwijkingen en dat microvasculaire metingen sterke voorspellers zijn van langdurige cardiovasculaire ziekte en overleving. Vroege interventies gericht op microvasculaire afwijkingen kan daarom latere cardiovasculaire problemen uitstellen.

De microcirculatie speelt een cruciale rol in weefselperfusie, de uitwisseling van voedingsstoffen, zuurstof en koolstofdioxide tussen bloed en interstitieel vocht, en in vasculaire homeostase. Endotheelweefsel is een belangrijke regulator van de microcirculatie. Fysiologische meting van de microcirculatie is uitdagend vanwege de ruimtelijk heterogene structuur en variabiliteit in perfusie over tijd en onder verschillende omstandigheden, zoals temperatuur.

De microcirculatie is het gedeelte van het bloed en lymfestelsel wat de arteriolen, capillairen, venules en lymfatische capillairen omvat. De hoeveelheid bloedstroom in de (micro)circulatie wordt voornamelijk gereguleerd door de arteriolen. De endotheliale weefsels in de bloedvaten reageren op verschillende stimuli, waaronder neuropeptiden, neurotransmitters, verschillende hormonen en distensie van de vaten als gevolg van een verhoogde bloeddruk. De belangrijkste hormonen die door de endotheelweefsels worden afgescheiden, zijn stikstofmonoxide (NO) en endotheline-1 (ET-1).

Endotheliale disfunctie speelt een rol in de pathofysiologie van atherosclerose en is een sterke voorspeller van atherosclerotische cardiovasculaire ziekte. Endotheliale disfunctie is geassocieerd

met cardiovasculaire risicofactoren zoals diabetes, dyslipidemie, hypertensie, roken en veroudering. Klinische studies hebben aangetoond dat de endotheliale functie kan worden verbeterd door behandeling met angiotensineconverterende enzym (ACE)-remmers, antioxidanten, bètablokkers, calciumkanaalblokkers, fosfodiësterase (PDE) 5-remmers en statines. Deze interventies hebben indirecte antioxidante effecten en verbeteren de functie van het endotheel door hun ontstekingsremmende werking. Daarnaast is er toenemend bewijs dat microvasculaire disfunctie niet alleen een gevolg is van atherosclerose, maar ook een onafhankelijke risicofactor is voor vasculaire gebeurtenissen.

Hoewel bovenstaande behandelingen wijdverspreid beschikbaar zijn en hebben aangetoond dat ze cardiovasculaire risico's verminderen, is er behoefte aan evaluatie van het effect van deze en nieuwe farmacologische therapieën gericht op microvasculaire (endotheliale) disfunctie. Beoordeling van de microcirculatie is moeilijk vanwege het ontbreken van gestandaardiseerde technieken en daarom zijn er momenteel weinig interventies gericht op de microcirculatie. Vroege detectie en behandeling van endotheliale disfunctie kan echter een belangrijke rol spelen in het voorkomen van (onomkeerbare) aandoeningen. Verder onderzoek is nodig om de mechanismen te begrijpen en effectieve interventies te ontwikkelen om de microvasculaire disfunctie te behandelen en zo de cardiovasculaire gezondheid te verbeteren. Omdat er momenteel weinig behandelingsopties zijn specifiek gericht op microvasculaire afwijkingen, is er een grote behoefte aan verder onderzoek om effectieve interventies te ontwikkelen die gericht zijn op de microcirculatie, zoals geneesmiddelen die de NO-productie verhogen of de activiteit van ET-1 remmen.

Een belangrijk aspect van dit proefschrift is de evaluatie van gestandaardiseerde technieken voor het onderzoeken van de microcirculatie. Momenteel worden er verschillende technieken gebruikt om de microvasculatuur te beoordelen, waaronder flow-gemedieerde vasodilatatie (FMD),

laser Doppler fluxmetrie en videomicroscopie. Er is echter geen consensus over welke techniek het meest geschikt is voor het evalueren van de microcirculatie.

Er zijn verschillende manieren om de microcirculatie te evalueren. Hoewel de invloed van het endotheel-variabel is in vasculaire bedden van verschillende organen, zijn de pathologische veranderingen in signaalroutes opmerkelijk vergelijkbaar. De huid is een uitstekende locatie om farmacologische effecten op de microcirculatie te onderzoeken, vanwege de gemakkelijke toegankelijkheid. Verscheidene simulatie modellen zijn ontwikkeld voor gezonde vrijwilligersstudies. Buiten de huid is het netvlies ook een locatie waar de microcirculatie gemakkelijk kan worden gevisualiseerd en gemonitord. Retinale microvasculaire afwijkingen zijn in verband gebracht met verschillende cerebrovasculaire, cardiovasculaire, renale en metabole ziekten.

Er zijn weinig overzichten gepubliceerd over de toepasbaarheid van microvasculaire metingen, en deze richtten zich vaak op een beperkt aantal beeldvormingstechnieken of op metingen in één orgaansysteem. Er zijn echter nieuwe ontwikkelingen geweest en er is behoefte aan een bijgewerkt overzicht. De meeste microcirculatiemetingen zijn indirect en geven beperkte informatie over de microvasculaire functie over het volledige scala. Daarom worden deze metingen meestal gecombineerd met interventies om het regelgevende systeem naar een extremere toestand te brengen. In de loop der jaren zijn verschillende interventies ontwikkeld die inzicht kunnen geven in verschillende aspecten van de microcirculatoire functie, hoewel de meeste zich richten op de endotheel-functie.

Samenvattend is de microcirculatie cruciaal voor de uitwisseling van voedingsstoffen en gassen, en vasculaire homeostase. Er zijn diverse methoden om microcirculatie te evalueren en ontwikkelingen in technologie hebben bijgedragen aan verbeterde beeldverwerking. Dit proefschrift heeft tot doel de meest geschikte microvasculaire beeldvormingstechnieken voor klinische toepassing en onderzoek te identificeren, met nadruk op huid- en netvlies-microcirculatiebeoordelingen. Bovendien worden in dit overzicht de meest gebruikte interventies besproken, die helpen bij het verkrijgen van meer inzicht in de microcirculatie.

In dit proefschrift onderzoeken we de mogelijkheden en onmogelijkheden van het meten van

de microvasculatuur voor farmacodynamische uitkomstmaten van nieuwe interventies en geneesmiddelen. Dit werd gedaan in zeven hoofdstukken, waarbij verschillende invalshoeken werden gebruikt om de microvasculatuur te evalueren.

Hoofdstuk twee heeft een overzicht gegeven van microcirculatiemetingen in de huidige kliniek. De nadruk van dit overzicht lag op de klinische bruikbaarheid van microvasculaire beeldvormingstechnieken die momenteel commercieel beschikbaar zijn voor metingen van de huid- en retina. In dit overzicht werden de meest gebruikte cutane en retinale microvasculaire meetapparaten alsmede veelbelovende nieuwe technieken geëvalueerd. Daarnaast werd een overzicht gegeven van minimaal-invasieve (biochemische) interventies die kunnen helpen bij het onderzoeken van de microcirculatie.

In **hoofdstuk drie** werd de microvasculaire functionaliteit onderzocht bij acht patiënten met sikkelcelziekte en gematchte gezonde vrijwilligers met twee nieuwe apparaten: de laser speckle contrast imager (LSCI) en de retinal function imager. Beide apparaten toonden een uitstekende herhaalbaarheid (CVC van respectievelijk 8,5%, 9,5%, 7,6% en 7,7%) en tussen metingen op één dag (CVC van respectievelijk 7,0%, 7,7%, 7,6% en 4,7%) en waren in staat om een verschil in microvasculaire functionaliteit te meten tussen de patiënten en gezonde vrijwilligers. Dit maakt deze apparaten geschikt voor verder gebruik in klinisch microvasculair onderzoek. Hoewel de retinale functie-imager veel potentieel liet zien, was het verkrijgen van goede kwaliteit beelden een uitdaging.

Hoofdstuk vier: De resultaten van de studie in hoofdstuk drie werden gebruikt om een grotere studie op te zetten waarin microvasculaire metingen werden vergeleken met cerebrale hemodynamica gemeten door de MRI. In totaal werden 17 patiënten met sikkelcelanemie en 6 gezonde vrijwilligers onderzocht. Er werd een verhoogde cerebrale- en huidbloedstroom gevonden bij patiënten met sikkelcelanemie in vergelijking met controles. Bovendien waren de huidmetingen (basale bloedstroom) sterk gecorreleerd [ASL vs. LSCI: $r = 0,70$; PC-MRI vs. LSCI: $r = 0,75$] met MRI-metingen. Dit suggereert dat cutane microvasculaire metingen een goedkope, niet-invasieve alternatieve methode zou kunnen zijn om details over de hemodynamische toestand van patiënten met sikkelcelanemie te verkrijgen.

Hoofdstuk vijf: Retinale microcirculatie en retinale oximetrie werden kwantitatief geanalyseerd met behulp van fractalanalyse bij 8 patiënten met sikkelcelanemie en evenveel gematchte gezonde vrijwilligers. Oximetrie-afbeeldingen en niet-invasieve capillaire perfusiemaps (ncPM) werden verkregen met behulp van de RFI. Er werd geen significant verschil waargenomen voor de fractalanalyse tussen de patiënten en gezonde controles. Bij de oximetrie metingen werden significant lagere geoxideerde Hb-niveaus werden gedetecteerd bij patiënten met name in de temporale kwadranten. Dit suggereert dat functionele afwijkingen in oximetriemetingen bij patiënten met sikkelcelanemie kunnen worden waargenomen voordat structurele microvasculaire veranderingen optreden.

Hoofdstuk zes werd een nieuw meetapparaat: de miniaturized Dynamic Light Scattering (mDLS), geëvalueerd in verschillende patiënten populaties met vaatafwijkingen. Deze metingen werden vergeleken met LSCI-metingen en verschillende bloedmetingen. Er was een grote intra-subject-variabiliteit in de mDLS metingen en geen van de eindpunten kan onderscheid maken tussen patiënten groepen en gezonde vrijwilligers. LSCI- en laboratoriummetingen waren wel in staat om verschillen te meten. Deze resultaten suggereren dat het mDLS-apparaat (nog) niet geschikt is voor het meten van veranderingen in de microcirculatie.

Hoofdstuk zeven: In deze studie hebben we het effect geëvalueerd van recombinant humaan erythropoëtine (rHuEPO) op de cutane microvasculaire functie bij goed getrainde wielrenners met behulp van LSCI. Achteenveertig proefpersonen kregen gedurende 8 weken wekelijks een dosis rHuEPO of placebo (1:1 verhouding). LSCI metingen werden uitgevoerd op drie tijdstrips:

- 1 Bij het begin van de studie;
- 2 Na een maximale inspanningstest in week 6;
- 3 Voor maximale inspanning in week 8.

Ondanks een toename van hematocrietwaarden in de rHuEPO-groep werd er geen statistisch significante verschil gevonden in de microvasculaire functie tussen de rHuEPO-groep en de placebogroep. De resultaten van deze studie suggereren dat de verhoogde hematocrietwaarden bij rHuEPO-behandelde goed getrainde wielrenners niet geassocieerd zijn met veranderingen in microvasculaire metingen met behulp van LSCI.

Hoofdstuk acht: In deze studie werd hyperspectrale beeldvorming geëvalueerd met behulp van een snapshot hyperspectrale camera die weefseloxygenatie non-invasief kan meten met relevante golflengtes in het VIS-NIR-gebied (450-950 nm) en de resultaten werden vergeleken met LSCI. Verschillende interventies werden onderzocht bij 16 gezonde vrijwilligers, waaronder occlusie-reperfusie van de brachiale slagader en metingen van lokale veranderingen in huidoxygenatie en bloedstroom na toediening van een lokale vasodilatator (capsaïcinecrème) en een lokale vasoconstrictor (brimonidinegel). Hyperspectrale metingen (cutane StO₂-niveaus) waren gecorreleerd aan de hemoglobinezuurstofsaturatie gemeten door een oximeter. Daarnaast werd een sterke correlatie (Pearson R²: 0,86) van de bloedstroom met StO₂-niveaus tijdens occlusie-reperfusiefases waargenomen. De resultaten van deze pilotstudie toonden aan dat de snapshot hyperspectrale camera verschillende niveaus van cutane StO₂ kon detecteren bij menselijke vrijwilligers.

DISCUSSIE

Als gevolg van technologische vooruitgang in de afgelopen decennia zijn de mogelijkheden voor microvasculaire metingen sterk toegenomen. In dit proefschrift hebben we verschillende nieuwe apparaten onderzocht die al beschikbaar zijn of momenteel in ontwikkeling zijn, en we hebben de toepasbaarheid van verschillende nieuwe microcirculatie meetmethodes onderzocht voor hun nut in de kliniek of in een klinische onderzoek setting.

Zoals uiteengezet in hoofdstukken één en twee, moeten nieuwe apparaten worden gevalideerd voordat ze kunnen worden gebruikt in klinisch onderzoek. Dit validatieproces bestaat uit verschillende stappen die onderzoekers in staat stellen om te bepalen hoe nauwkeurig de metingen zijn, wat de variabiliteit van de eindpunten is en of het apparaat ziekten of farmacodynamische effecten van nieuwe interventies kan detecteren. In dit proefschrift hebben we verschillende apparaten geprobeerd te valideren, en hierover willen wij het volgende stellen.

Ten eerste moeten de metingen redelijk eenvoudig uit te voeren zijn en moet de afhankelijkheid van

de diegene die de metingen uitvoert beperkt zijn. Dit is van toepassing op de LSCI, maar voor andere apparaten zoals de RFI of mDLS is er een steile leercurve en grote afhankelijkheid van de operateur van de apparaten

De fysiologie van de microvasculatuur en in het bijzonder de toegankelijkheid om het te meten maken het een potentieel waardevolle biomarker. Hoewel de meeste beeldvormingsapparaten een grote initiële investering vereisen (zie hoofdstuk 2), hebben de apparaten over het algemeen lage onderhouds- en operationele kosten.

De rol van microvasculaire disfunctie in de pathofysiologie van verschillende ziekten is bekend en is niet alleen beperkt tot vaatziekten, maar ook tot ischemische zenuw schade, nieraandoeningen en retinale disfunctie. Bovendien biedt recent onderzoek ons het inzicht dat microvasculaire veranderingen een vroege voorspeller kunnen zijn voor het ontstaan van bepaalde ziekten. Dit is goed bestudeerd in de oogheelkunde met betrekking tot beroerte, nierschade en hart- en vaatziekten. Een aanzienlijk deel van de hart- en vaatziekten niet verklaard door de traditionele risicofactoren voor hart- en vaatziekten zoals roken, hypertensie en obesitas. Daarom kan een uitgebreider onderzoek naar de mechanismen achter microvasculaire disfunctie nieuwe inzichten bieden in deze ziektebeelden en mogelijk worden ingezet als biomarkers voor vroege interventies.

Toekomstige richtingen

Er zijn tal van nieuwe apparaten die claimen niet-invasieve metingen van de microcirculatie mogelijk te maken. Echter voor een succesvolle implementatie van microvasculaire metingen is het essentieel dat de implementatie van deze apparaten in klinische onderzoeken op een zodanige manier wordt gereguleerd dat de uitkomst van de metingen betrouwbaar is. De nieuwe EMA-richtlijnen voorzien in dit probleem.

We voorzien een bredere implementatie van microvasculaire metingen, niet alleen in de kliniek, maar ook in de thuissituatie. Bijvoorbeeld, PPG-metingen worden steeds vaker geïntegreerd in wearables. Aangezien de microcirculatie mogelijk een dominante rol speelt als voorspeller voor bepaalde ziekten, kan thuismonitoring met wearables vroege detectie van bijvoorbeeld een myocardinfarct mogelijk maken en cardiologen een tijdsvenster bieden

om actie te ondernemen. Verder kunnen microvasculaire metingen vaker worden gebruikt als een methode om meer informatie te verkrijgen over de farmacodynamiek in (vroege fase) farmacologisch onderzoek, zeker gezien de sleutelrol van stikstofoxide in immuunactivatie en metabole ziekten. Momenteel worden microvasculaire metingen niet vaak toegepast in onderzoeken, maar vanwege de relatief lage kosten, lage belasting voor patiënten en nuttige inzichten kan dit een waardevolle aanvulling zijn in (farmacologisch) onderzoeken.

Hoewel er decennia zijn geweest met microvasculaire metingen, is het pas in de laatste twee decennia dat microvasculair onderzoek een vlucht heeft genomen. Nieuwe beeldvormingstechnieken, geavanceerdere algoritmen voor analyse en betere computerprocessen hebben microvasculaire onderzoeksmethoden gevestigd. Voordat deze methoden echter op grote schaal geïmplementeerd worden, moeten ze worden getest op hun validiteit en integriteit. Microvasculair onderzoek heeft ons al interessante nieuwe inzichten gebracht in de pathofysiologie van ziekten en we staan pas aan het begin van een nieuw tijdperk van microvasculair onderzoek. In dit proefschrift hopen we met onze validatiestudies van nieuwe en bestaande microcirculatie meetinstrumenten bij te dragen aan een bredere implementatie van microcirculatie metingen in de huidige klinische en onderzoekspraktijk.