

Norges miljø- og biovitenskapelige  
universitet  
Fakultet for miljøvitenskap og teknologi  
Institutt for matematiske realfag og teknologi

Masteroppgave 2014  
30 stp

# Kan effekten av Avastin detekteres med magnetisk resonansavbildning?

Ragnhild Smistad



---

## Forord

Denne oppgaven ble skrevet høsten 2014 ved Seksjon for Strålingsbiologi, Institutt for kreftforskning, Oslo Universitetssykehus.

Jeg vil rette en stor takk til Jon-Vidar Gaustad for god veiledning og kontinuerlig hjelp, og gruppeleder Einar Rofstad for god oppfølging. Jeg vil også takke resten av forskningsgruppen som har kommet med gode innspill underveis.

Takk til veileder Cecilia Marie Futsæther som har lest igjennom oppgaven og kommet med innspill.

Ikke minst vil jeg takke Geir og Mari som har vært hjelpelige med korrekturlesing.

Takker også til Kanthi for lån av leilighet!

---

## Sammendrag

Angiogenese i tumorer skjer ofte ukontrollert. Dette resulterer i et rotete blodårenettverk og lavere oksygentilførsel. Lavt oksygennivå gjør at effekten av behandling med kjemo- og stråleterapi avtar. Behandling med en antiangiogenese-agens vil kunne bremse angiogenesen i tumor, og dermed påvirke blodårenettverket i tumor. I noen studier er det funnet at antiangiogenese reduserer blodstrøm, og dermed tumorvekst, mens det i andre studier er funnet at antiangiogenese fører til en normalisering av blodårenettverket, og økt blodstrøm. Effekten av antiangiogenesebehandling på tumorvekst kommer generelt sent. Det er derfor gunstig å kunne detektere behandlingseffekt tidlig i behandlingsperioden. Da kan ineffektiv behandling, som kun medfører bivirkninger avsluttes, og en annen type behandling kan vurderes.

Dersom antiangiogenesebehandling reduserer blodstrøm og oksygentilførsel i tumor, kan effekten av denne type behandling redusere effekt av kjemo- og stråleterapi. Hvis derimot antiangiogenesebehandlingen gir økt blodstrøm og oksygentilførsel, vil effekten av behandlingen kunne gi en økt effekt for kjemo- og stråleterapi. På grunn av ulik effekt av antiangiogenesebehandling, som kan påvirke effekten av kjemo- og stråleterapi, vil det derfor være nyttig å få en tidlig indikasjon på hva slags effekt antiangiogenesebehandlingen har.

I denne studien er det først satt opp en avbildningsprotokoll for dynamisk kontrastforsterket magnetisk resonansavbildning (DCE-MRI) og diffusjonsvektet magnetisk resonansavbildning (DWI) for en 7-Tesla scanner. Deretter ble avbildningsprotokollen kvalitetssikret ved å teste blant annet reproduserbarheten. Til slutt er det undersøkt om avbildningsprotokollen kan detektere en tidlig effekt av behandling med Avastin.

A-07 og R-18 human melanoma xenografts som vokste i atymiske nakenmus ble brukt i denne studien. I forkant ble det avbildet fantomer med kontrastvæske for å vurdere avbildningssekvensen for DCE-MRI. A-07-tumorer ble avbildet for å vurdere avbildningssekvensen til DWI. Det ble også verifisert at det var lite støy i bildene. En ubehandlet



---

A-07-tumor og en ubehandlet leggmuskel ble avbildet to ganger for å teste reproduserbarheten til protokollen.

Behandling med Avastin ble gjort i en periode på syv dager, og avbildning med DCE-MRI og DWI ble gjort henholdsvis før behandlingsstart, og tre og syv dager etter behandlingsstart.

Ratekonstanten  $K^{trans}$  og fraksjonelt volum av ekstravaskulært ekstracellulært rom,  $v_e$ , ble bestemt fra Tofts modell, en farmakokinetisk modell, fra DCE-MRI. Diffusjonskoeffisienten  $ADC$  ble bestemt fra DWI.

Avastin hadde liten behandlingseffekt, men viste tendenser til å redusere  $K^{trans}$  for både A-07 og R-18. Både  $v_e$  og  $ADC$  virket å være upåvirket av behandlingen for begge tumorlinjene.

Antiangiogenesebehandlingen viste tendenser til reduksjon i  $K^{trans}$  og dermed en reduksjon i enten blodstrøm eller permeabilitet i tumor. Resultatene viser dermed antydninger til at den bestemte avbildningsprotokollen for DCE-MRI og DWI kan detektere en tidlig effekt av Avastin.

---

## Abstract

In tumors angiogenesis is often uncontrolled. The vasculature is therefore disorganized, resulting in lower oxygen supply. The effects of chemotherapy and radiation therapy are reduced in regions with low oxygen supply. Treatment with antiangiogenic agents may inhibit angiogenesis and therefore affect the tumor vasculature. Some studies have found that antiangiogenic treatment reduces blood supply in tumors, while others have found a normalized vasculature and an improved oxygen supply. The effect of an antiangiogenic treatment on tumor growth is often detected late, and the treatment usually has unpleasant side effects. Early detection of treatment effects is therefore desirable. An ineffective treatment that only causes side effects can then be terminated.

If the antiangiogenic treatment reduces blood flow and oxygen supply, the effects of chemotherapy and radiation therapy will be reduced. If the antiangiogenic treatment normalizes the vasculature and hence increases blood supply, the effects of chemotherapy and radiation therapy will increase. If the antiangiogenic treatment increases the blood supply, chemotherapy and radiation therapy should be given after the antiangiogenic treatment. If the antiangiogenic treatment reduces the blood supply and hence the oxygen supply, chemotherapy and radiation therapy should be given prior to the antiangiogenic treatment. Therefore it will be useful to get an early detection of the treatment outcome. In this study it is investigated whether the effect of an antiangiogenic treatment can be detected at an early stage with magnetic resonance imaging (MRI).

First a protocol for the dynamical contrast enhanced magnetic resonance imaging (DCE-MRI) and the diffusion-weighted magnetic resonance imaging (DWI) with a 7-Tesla scanner had to be determined. Phantoms were imaged during the process of determining the protocol. The quality of the protocol was tested by checking the reproducibility. An untreated A-07-tumor and an untreated muscle were imaged twice.

A-07 and R-18 human melanoma xenografts were grown in athymic nude mice. The mice were treated with Avastin two times over seven days. DCE-MRI and DWI were

---

done prior to each treatment, respectively before treatment start, thereafter three days and seven days after treatment start. The transfer constant,  $K^{trans}$ , and the fractional volume of the extravascular extracellular space,  $v_e$ , were determined from the Toft's model, a pharmacokinetic model, from DCE-MRI. The apparent diffusion coefficient  $ADC$  was determined from DWI.

It was shown that the reproducibility of the protocol was good, in both tumors and muscles.

The effect of Avastin was small, but seemed to reduce  $K^{trans}$ . The reduction was significant for the treated R-18 tumors compared to the control group. The reduction was close to significant for the treated A-07 tumors compared to the control group. Both  $v_e$  and  $ADC$  seemed to be unaffected by the treatment.

The results indicate that the protocol for DCE-MRI and DWI may detect an early effect of Avastin.

# Innhold

<b>1</b>	<b>Innledning</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Teori</b>	<b>3</b>
2.1	Tumorfysiologi . . . . .	3
2.1.1	Xenografter som tumormodellsystem . . . . .	3
2.1.2	Angiogenese . . . . .	3
2.1.3	Vaskulatur . . . . .	5
2.1.4	Hypoksi . . . . .	7
2.1.5	Interstetielt væsketrykk i tumorer . . . . .	8
2.2	Magnetisk Resonansavbildning . . . . .	8
2.2.1	Fysiske prinsipper MRI . . . . .	9
2.2.2	Kvantemekaniske prinsipper . . . . .	11
2.2.3	Eksitasjon . . . . .	13
2.2.4	Relaksasjon . . . . .	16
2.2.5	Bloch-likningen . . . . .	18
2.2.6	Avbildning . . . . .	19
2.2.7	Pulssekvenser . . . . .	22
2.2.8	Spinn ekko-sekvens . . . . .	23
2.2.9	Gradient ekko-sekvens . . . . .	24
2.2.10	Dynamisk likevekt . . . . .	25
2.2.11	3D-avbildning . . . . .	27
2.3	Kontrastforsterket MR-avbildning . . . . .	27
2.3.1	Beregning av kontrastvæskeskonsentrasjon . . . . .	29
2.3.2	Måling av fysiologiske parametre fra dynamisk kontrastforsterket MR-avbildning . . . . .	30
2.4	Diffusjonvektet magnetisk resonansavbildning . . . . .	32

<b>3</b>	<b>Materialer og metoder</b>	<b>35</b>
3.1	Forsøksdyr og tumorlinje . . . . .	35
3.2	Anestesi . . . . .	35
3.3	MR-avbildning . . . . .	36
3.3.1	Kontrastvæske . . . . .	36
3.3.2	Protokoller . . . . .	37
3.4	Forsøksprosedyre . . . . .	42
3.4.1	Behandling med Avastin . . . . .	43
3.4.2	Etter avbildning . . . . .	43
3.5	Bildebehandling . . . . .	43
3.5.1	Beregning av ADC . . . . .	44
3.5.2	Beregning av $K^{trans}$ og $v_e$ . . . . .	45
3.6	Statistisk analyse . . . . .	45
<b>4</b>	<b>Resultater</b>	<b>46</b>
4.1	Protokoller . . . . .	46
4.1.1	Dynamisk kontrastforsterket avbildning . . . . .	46
4.1.2	Diffusjonsvektet magnetisk resonansavbildning . . . . .	54
4.1.3	Reproduserbarhet . . . . .	59
4.2	Sammenlikning av tumorlinjer . . . . .	70
4.3	Effekt av behandling . . . . .	73
4.3.1	Tumorvekst . . . . .	73
4.3.2	Evaluering av $K^{trans}$ . . . . .	74
4.3.3	Evaluering av $v_e$ og $ADC$ . . . . .	86
<b>5</b>	<b>Diskusjon</b>	<b>101</b>
5.1	Diskusjon av materialer og metoder . . . . .	101
5.1.1	Forsøksdyr og tumorlinje . . . . .	101
5.1.2	Forsøksprosedyre . . . . .	102

## *INNHOLD*

---

5.1.3	Avbildningsprotokoll . . . . .	103
5.2	Diskusjon av behandlingseffekt . . . . .	111
5.3	Klinisk relevans . . . . .	113
5.4	Forslag til videre arbeid . . . . .	114
<b>6</b>	<b>Konklusjon</b>	<b>115</b>
	<b>Vedlegg A</b>	<b>116</b>

---

# 1 Innledning

Celler trenger hele tiden tilgang på oksygen, som fraktes inn via blodet [10]. For at tumoren skal kunne vokse over en viss størrelse, må nye blodårer dannes (angiogenese) [5]. I normalvev er det en balanse mellom faktorer som initierer dannelse av nye blodårer i forhold til faktorer som stopper angiogenese. Derfor skjer angiogenesen kontrollert, og blodårenettverket blir velorganisert. Dette medfører en jevn blodstrøm, og at det hele tiden er tilgang på oksygen til cellene. I tumor er det ofte en overvekt av faktorer som initierer angiogenese i forhold til faktorer som stopper angiogenese [20]. På grunn av denne ubalansen er ofte angiogenesen i tumor ukontrollert. Dermed blir blodårenettverket ofte uorganisert, og tumor får en ujevn blodtilførsel. Med ujevn blodtilførsel vil det kunne oppstå områder med lavt oksygennivå. Tumorceller med lav tilgang på oksygen har en større sannsynlighet for spredning [5]. Effekten av både kjemo- og stråleterapi avtar i disse områdene [4].

En av grunnene til ukontrollert angiogenese i tumor, kan være en overproduksjon av proteinet *vascular endothelial growth factor-A* (VEGF-A) [8]. Dette proteinet initierer blant annet angiogenese og øker permeabilitet i blodåreveggen.

Avastin er et medikament med virkestoffet Bevacizumab. Dette er et antistoff som binder seg til VEGF-A, og hindrer initiering av angiogenese. Det er vist at behandling med Avastin både kan normalisere blodårer i tumor [21], men også behandlingen kan redusere blodåretettheten i tumor, og bremse tumorvekst [8]. Avastin brukes idag blant annet på pasienter med langtkommen tykktarms- eller endetarmskreft, sammen med kjemoterapi, for å hindre vekst av tumor [23]. Ofte gir medikamentet bivirkninger som er ubehagelige for pasienten.

Effekten av antiangiogenese på tumorstørrelse kommer sent [13]. Det vil derfor være gunstig å kunne detektere effekt av behandlingen tidligere, slik at behandlingen kan avsluttes hvis det viser seg å ikke ha noen effekt.

Det vil også være nyttig å finne en metode som kan detektere hva slags effekt Avastin-

---

behandlingen har. Ved å få indikasjoner på om Avastin medfører høyere oksygentilførsel i tumor, med et normalisert blodårenettverk, eller lavere oksygentilførsel ved at behandlingen hindrer angiogenese, kan det vurderes om kjemo- eller stråleterapi bør gis henholdsvis i forkant, eller i etterkant av behandlingen.

Bruk av dynamisk kontrastforsterket magnetisk resonansavbildning (DCE-MRI) eller diffusjonsvektet magnetisk resonansavbildning (DWI) kan gi informasjon om blant annet blodstrøm og celletetthet i tumor. Ved DCE-MRI studeres opptak av kontrastvæske i vevet. Opptaket av kontrastvæsken avhenger av blant annet blodstrøm, permeabilitet i blodårer og ekstravaskulært ekstracellulært rom (EES). Ved bruk av den farmakokinetisk modellen Tofts modell, kan ratekonstanten  $K^{trans}$  og  $v_e$ , fraksjonelt volum av EES, bestemmes.  $K^{trans}$  beskriver blodstrøm og permeabilitet, mens  $v_e$  størrelse på EES. Ved DWI kan diffusjonskoeffisienten  $ADC$  bestemmes.  $ADC$  kan gi en indikasjon på blant annet celletettheten i vevet [19].

I forkant av undersøkelsen ble det bestemt protokoller for avbildning med DCE-MRI og DWI. I denne studien brukes to tumorlinjer av malign melanom, A-07 og R-18. Disse tumorlinjene er vist å være forskjellig i flere ulike fysiologiske parametre [31].

Tumorene behandles med Avastin i en periode på syv dager, og avbildning gjøres i forkant av hver behandling.

Hensikten med denne studien er:

- Bestemme en avbildningsprotokoll for DCE-MRI og DWI.
- Vurdere kvaliteten på avbildningssekvensene ved å se på reproduserbarhet og støy i bildene.
- Teste om avbildningsprotokollen er sensitiv nok til å fange opp ulikheter mellom A-07-tumorer og R-18-tumorer.
- Undersøke om effekten av Avastin-behandlingen kan fanges opp med avbildningsprotokollen.



---

## 2 Teori

### 2.1 Tumorfysiologi

#### 2.1.1 Xenografter som tumormodellsystem

Vev som er transplantert fra en art til en annen kalles for xenograft. I kreftforskning brukes xenografter i den betydning at humane tumorceller transplanteres inn i forsøksdyr [14]. I normale dyr med et funksjonelt immunforsvar, vil kroppen prøve å frastøte de transplanterte tumorcellene. For å senke sannsynligheten for frastøtning, brukes atymiske mus, det vil si genmodifiserte nakenmus med sterkt redusert immunforsvar. Dette er mus som ikke har tymus. Ved transplantasjon av vev vil T-cellene medvirke til at vevet blir frastøtt. T-cellene er en type lymfocytt som modnes i tymus. Modne T-celler vil produsere antistoff mot patogener, som er sykdomsfremkallende fremmedlegemer. Uten tymus vil sannsynligheten for at T-celler modnes, være sterkt redusert [34]. Atymiske mus vil derfor i de fleste tilfeller ikke frastøte tumorcellene [14]. Humane tumorer vokser fortere i mus enn om tumoren hadde vokst i et menneske, dette gjør at forsøket tar betydelig kortere tid [14]. Doblingstiden til tumoren om den vokser i mus er omtrent en femtedel av doblingstiden til tumoren om den hadde vokst i menneske [14].

Vevet rundt tumoren og det vaskulære nettverket som dannes i tumoren er fra forsøksdyret. Forsøksdyrets vev vil også ha innflytelse på mikromiljøet rundt tumoren. Allikevel er det mange karakteristiske trekk fra opprinnelig tumor som beholdes, blant annet angiogenesepotensiale, og behandlingsrespons [31].

#### 2.1.2 Angiogenese

Celler er avhengig av å ha jevn tilgang på oksygen [10]. Dette fraktes inn til cellene via blodet, ved diffusjon gjennom blodåreveggene, eller endotelcellene. Diffusjonsrekkevidden til oksygen er rundt 100 – 150  $\mu\text{m}$ , og celler er derfor avhengig av å ha en blodåre innenfor denne radiusen for å få nok tilgang til oksygen [10].

Det finnes flere måter som blodårer dannes på. I tumor dannes blodårer hovedsaklig ved angiogenese. Dette skjer ved at blodårer vokser ut fra allerede eksisterende blodårer. Angiogenesen reguleres i normalvev slik at nye blodårer kun dannes ved behov for mer oksygen [5]. Med en balanse i faktorer som initierer angiogenese og faktorer som hindrer angiogenese, blir blodårenettverket velorganisert, og vevet får en jevn tilgang på oksygen. I tumorer finnes ikke denne balansen mellom angiogenesefaktorer og faktorer som hindrer angiogenese, og blodårenettverket i tumor blir ofte uorganisert [10]. Angiogenese i tumor blir påvirket av blant annet lavt oksygeninnhold og høyt mekanisk trykk [5]. Ved for lav tilgang på oksygen blir cellene hypoksiske, se seksjon 2.1.4.

Det er funnet at en av årsakene til det rotete blodårenettverket som dannes i tumorvev, kan være at noen tumorer har overproduksjon av proteinet *vascular endothelial growth factor-A* (VEGF-A). Dette proteinet initierer blant annet angiogenesen og øker permeabilitet i blodåreveggen [8]. Ved å blokkere VEGF-A i tumorvev, vil angiogenesen kunne hemmes. Avastin er et antiangiogenese-legemiddel med virkestoffet Bevacizumab, et antistoff som binder seg til VEGF-A. Antistoffet vil hindre VEGF-A å initiere angiogenese [23]. En mulig virkning av dette er at vekst av tumor bremses, på grunn av for liten tilgang på oksygen [14]. Jain et al. [21] fremlegger en annen hypotese om at blokkering av VEGF-A vil medføre et ryddigere, normalisert nettverk av blodårer. Et resultat av et normalisert blodårenettverk kan være en jevnere blodstrøm i tumor, og en mer homogen blodtilførsel.

Avastin gis idag blant annet til pasienter med langtkommen tykktarms- eller endetarmskreft i forbindelse med kjemoterapi. Avastin vil også binde seg til VEGF-A i friskt vev. Behandlingen gir ofte bivirkninger til pasientene, som føles ubehagelige, blant disse rektal blødning, kvalme, diaré og magesmerter. Bivirkninger kan også være at sår ikke vil gro og kronisk tretthet.

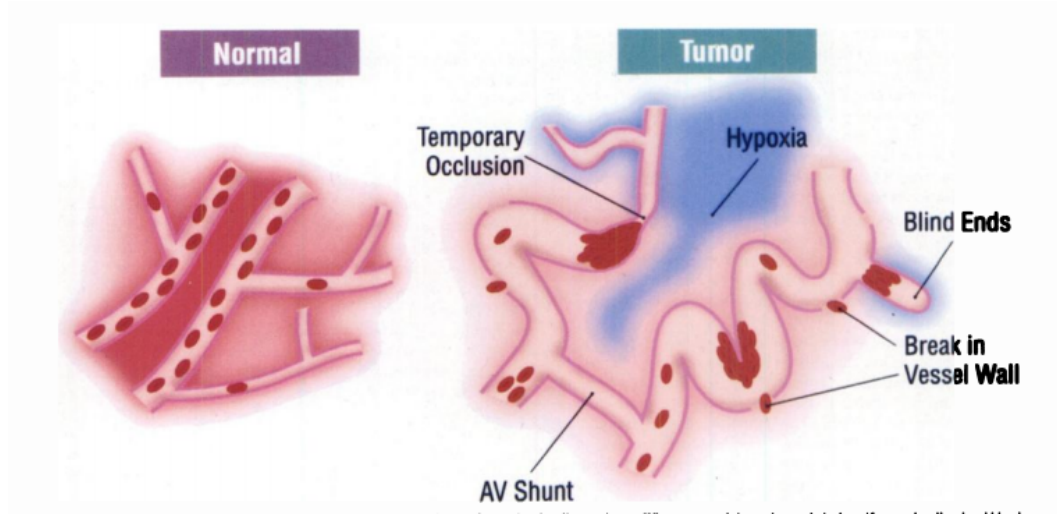
### 2.1.3 Vaskulatur

Blodsirkulasjon og oksygentilførsel er viktige fysiologiske faktorer som kan avgjøre tumorens evne til spredning og respons på behandling [20]. I normalvev vil et velfungerende blodårenettverk (vaskulatur) sørge for jevn blodstrøm og god tilgang på oksygen, samt fjerning av avfallsstoffer [10]. Tumorens vaskulatur er karakteristisk med sitt rotete nettverk av blodårer, med forgreininger, arterievenøse overganger (shunts) og varierende blodåretetthet. Blodårene har ofte ulik diameter, ulik tykkelse i blodåreveggen og høyere permeabilitet. Midlertidig blokkeringer i blodårene kan skje. Den uorganiserte strukturen på blodårene vil føre til økt geometrisk og viskøs motstand mot blodstrøm. Blodstrømmen blir irregulær, og dette medfører en heterogen blodtilførsel i tumor.

Økt permeabilitet i tumorens blodårevegger, utnyttes blant annet ved kontrastforsterket avbildning. Opptaket av kontrastvæske er vanligvis høyere i tumorvev enn i normalvev [3]. Ved kontrastforsterket avbildning injiseres en kontrastvæske i blodårene, og kontrastvæskens administrasjon i vevet studeres.

Det finnes to ulike typer blodårer i tumor: den ene er vertsorganets blodårer og den andre er blodårer som tumor danner selv ut fra vertsorganets eksisterende blodårenettverk [4]. Blodårene som tumor danner selv blir påvirket av ulike angiogenesefaktorer i tumor, som forklart i seksjon 2.1.2. Figur 1 viser den særegne ulikheten mellom vaskulatur i normalvev og vaskulatur i tumorvev.

## 2.1 Tumorfysiologi



Figur 1: Vaskulatur i friskt vev (venstre) sammenliknet med vaskulatur i tumorvev (høyre). Figuren til høyre viser blodårer med økt permeabilitet, blindveier, oksygenfattige områder (hypoksi) med lavere blodåretetthet og arterie-vene-sammenkoblinger. Sammenliknet med blodårenettverket til friskt vev (venstre) er tumors vaskulatur veldig uryddig. Tumorvev har ofte overproduksjon av proteinet VEGF-A, et protein som initierer angiogenesen og øker permeabilitet i blodåreveggene. For mye VEGF-A kan være en av årsakene til det rotete blodårenettverket i tumorvev. Figuren er hentet fra [4].

Tumorens irregulære blodstrømsrate kan forklares ved å se på et forenklet tilfelle av væske med viskositet  $\eta$  som strømmer i gjennom en sylinder med radius  $R$ , lengde  $L$  [20]. Motstand  $FR$  mot strømmingen gjennom sylindren er gitt som:

$$FR = \frac{8\eta L}{\pi R^4} \quad (2.1)$$

I et vaskulært nettverk er blodstrømsraten  $Q$  er gitt som:

$$Q = \frac{\Delta p}{FR} \quad (2.2)$$

hvor  $\Delta p$  er trykkforskjellen mellom arterier og vener.  $FR$  er motstand mot blodstrøm, både geometrisk og viskøs motstand.

For å skille mellom geometrisk og viskøs motstand i et nettverk av blodårer, kan blodstrømsraten  $Q$  uttrykkes som et produkt av viskositeten til blodet  $\eta$  og den geometriske

motstanden  $Z$  gitt som

$$Z = \frac{8L}{\pi R^4} \quad (2.3)$$

Dette gir en blodstrømsrate  $Q$  for et nettverk av blodårer:

$$Q = \frac{\Delta p}{\eta Z} \quad (2.4)$$

Sett fra likning (2.3) og (2.4) er blodstrømsraten  $Q$  proporsjonal med fjerdepotens av blodåreradius og invers proporsjonal med blodets viskositet. Blodåreradiusen vil dermed være en dominerende faktor for blodstrømsraten.

I tumorer finnes ikke noe velfungerende lymfeårer [5]. I periferien vil lymfeårene være utvidet for å oppveie for dårlig fungerende lymfenettverk i tumor. Lymfesystemets oppgave er å transportere bort væske og avfallsstoffer [34]. Utvidede lymfeårer i periferien av tumor vil derfor føre til økt sannsynlighet for metastasering, som er spredning til andre organer [5]. I senter av tumor finnes det ofte opphopning av væske som følge av dårlig fungerende lymfesystem.

### 2.1.4 Hypoksi

Et resultat av tumorens heterogene blodtilførsel, er ujevn tilgang på oksygen i tumorvev. Når tilgangen på oksygen er lav for cellene, oppstår hypoksi, som betyr lavt oksygen-nivå [18]. Det finnes to typer hypoksi [28]; Kronisk og akutt. Kronisk hypoksi forårsakes av at cellene ligger utenfor diffusjonsområdet til oksygen, mens akutt hypoksi skjer ved midlertidig blokkering av blodårer eller som følge av ujevn blodstrøm. Hypoksi oppregulerer en rekke angiogenesefaktorer, inkludert VEGF-A [35]. Med økt angiogenese vil også sannsynligheten for metastasering øke [18].

Tumoren vil være mer resistent mot behandling ved en høyere andel hypoksiske celler [4]. Brown et al. [4] diskuterer med at jo lengre fra blodårene cellene er, jo større

sannsynlighet er det for at det finnes hypoksiske celler. Fordi kjemoterapi kommer via blodet, vil virkningen av kjemoterapi ha avtatt i områder med lav blodtilførsel. Derfor vil virkningen av kjemoterapi være dårligere i hypoksiske områder. Ved stråleterapi trengs en stråledose som er omlag 3 ganger så høy for hypoksiske områder sammenlignet med stråledosen som trengs til områder med normal oksygentilgang [28]. Dette er fordi antall oksygen-radikaler som dannes ved bestråling synker når tilgangen på oksygen er liten. De frie radikalene vil ødelegge DNA i tumorcellene, uten DNA vil ikke cellene overleve. Effekten av stråleterapi blir dermed lavere i hypoksiske områder [18].

### 2.1.5 Interstetielt væsketrykk i tumorer

Det hydrostatiske trykket i blodårene vil gi en trykkgradient, som vil medføre at venøs plasma diffunderer ut i det interstetielle rommet [22]. Normalt vil kun små molekyler diffundere gjennom endotelcellene i venen. Osmotisk trykk vil gjøre at noe av denne væsken diffundere tilbake til arterien, men en lavere andel. Dermed blir det overskudd av væske i det interstetielle rommet. I normalvev vil lymfeårer fjerne denne overskuddsvæsken, og interstetielt væsketrykk (IFP) vil derfor være tilnærmet lik 0 mmHg. I tumorer vil økt permeabilitet i blodårer sammen med et dårlig fungerende lymfesystem gi økt IFP [29]. IFP i tumorer ligger ofte mellom 10 og 20 mmHg, men kan også ligge høyere, opptil 100 mmHg. Økt IFP vil kunne redusere effekten av blant annet kjemoterapi [22]. Fyles et al. [11] har vist ved forsøk på pasienter med livmorhalskreft at en økt IFP gir lavere overlevelse.

## 2.2 Magnetisk Resonansavbildning

Kjerner med odde massetall vil oppføre seg som små magneter, magnetiske dipoler, og retter seg etter et eksternt påført magnetfelt [33]. Magnetisk resonansavbildning (MRI) måler signalet som oppstår når kjernene blir utsatt for et eksternt magnetfelt og i tillegg får tilført energi. Ved å se på tidsvariasjonene i signalet som fanges opp, vil dette

gi informasjon om de lokale kjemiske omgivelsene rundt kjernene [24]. Innen medisin brukes MRI til å ta bilder av kroppen uten bruk av ioniserende stråling. På grunn av høy forekomst av hydrogenatomer i kroppen og protonets sterke magnetiske moment i et eksternt magnetfelt, er det vanligvis signalet fra isotopen protium som måles [41]. Protium er en isotop av hydrogen som består av ett proton. Hydrogenisotopen omtales derfor som proton.

### 2.2.1 Fysiske prinsipper MRI

Et proton har ladning  $+e$  og total dreieimpuls  $\vec{J}$ . Fra klassisk fysikk vil en ladning i bevegelse generere en strøm  $i$  og dermed et magnetisk dipolmoment  $\vec{\mu}$ . Protonets magnetiske moment vil ligge parallelt med protonets rotasjonsakse og være proporsjonal med dreieimpulsen  $\vec{J}$  [9]:

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{J} \quad (2.5)$$

$\gamma$  er det gyromagnetiske forholdet, og er karakteristisk for ulike isotoper.

Et magnetisk dipolmoment i et eksternt magnetfelt  $\vec{B}_0$  vil oppleve et kraftmoment  $\vec{\tau}$  som vil tvinge dipolmomentet i bevegelse:

$$\vec{\tau} = \vec{\mu} \times \vec{B}_0 = \frac{d\vec{J}}{dt} \quad (2.6)$$

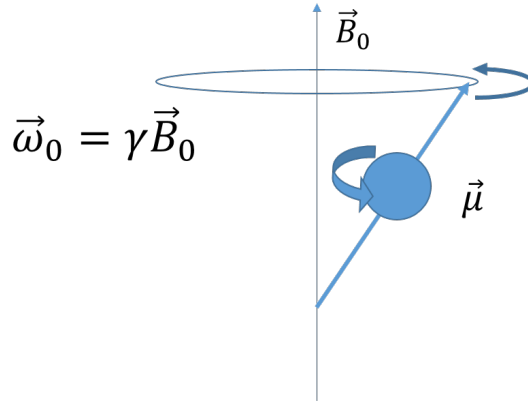
Ved å kombinere likning (2.5) og likning (2.6) gir dette at bevegelsen til den magnetiske dipolen  $\vec{\mu}$  i et eksternt magnetfelt  $\vec{B}_0$  er gitt som

$$\frac{d\vec{\mu}}{dt} = \gamma \vec{\mu} \times \vec{B}_0 \quad (2.7)$$

Likning (2.7) kalles Larmorlikningen og løsningen beskriver presesjonsbevegelsen til den magnetiske dipolen rundt det eksterne magnetfeltet [9]:

$$\vec{\omega}_0 = -\gamma \vec{B}_0 \quad (2.8)$$

Denne vinkelfrekvensen  $\vec{\omega}_0$  kalles for Larmorvinkelfrekvensen. Den magnetiske dipolens bevegelse er vist i figur 2.



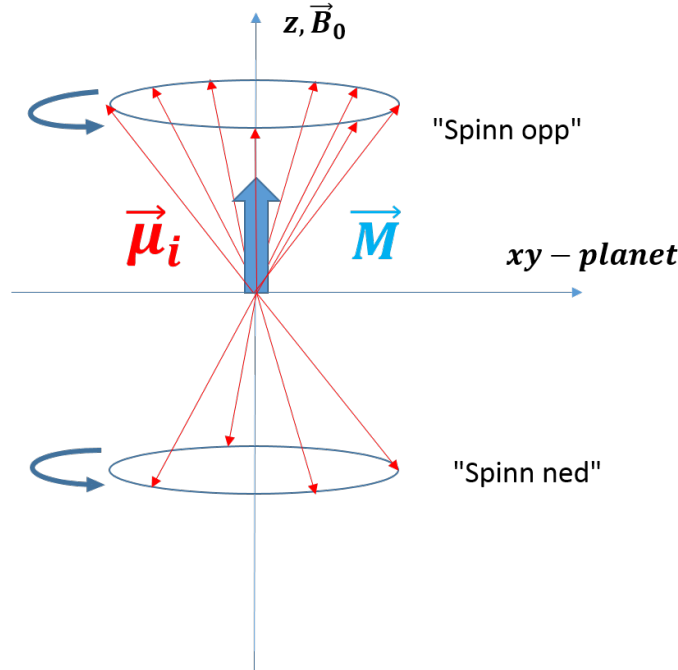
Figur 2: Den magnetiske dipolen  $\vec{\mu}$  vil ligge parallelt med protonets rotasjonsakse. I et eksternt magnetfelt vil et kraftmoment  $\vec{\tau}$  gjøre at den magnetiske dipolen starter å pressesere. Pressesjonsaksen vil ligge parallelt med  $\vec{B}_0$  og dipolen vil ha en vinkelfrekvens  $\vec{\omega}_0$ .

I en MR-avbildning er det summen av alle de magnetiske dipolene i hver voksel med volum  $V$  som evalueres. Den makroskopiske størrelsen kalles for magnetisering  $\vec{M}$  og er definert som [9]:

$$\vec{M} = \frac{1}{V} \sum_i \vec{\mu}_i \quad (2.9)$$

hvor  $\vec{\mu}_i$  er bidraget fra proton nummer  $i$  i et volum  $V$  med  $i$  protoner, se figur 3. Det er magnetiseringens bevegelse i  $xy$ -planet som måles i en MR-avbildning. I et statisk magnetfelt vil retningene til alle de magnetiske dipolene være tilfeldige, og den transversale magnetiseringen  $M_{xy}$  vil nulles ut. I dette tilfellet vil ingen signal detekteres [39].





Figur 3: Magnetiseringen  $\vec{M}$  (blå) gitt som vektorsummen av de magnetiske dipolene  $\vec{\mu}_i$  (rød) i et eksternt magnetfelt  $\vec{B}_0$ . I likevekt vil magnetiseringen  $\vec{M}$  peke i samme retning som det statiske magnetfeltet, positiv  $z$ -retning, på grunn av favorisering av energitilstanden "spinn opp". "spinn opp" er de magnetiske dipolene som er i laveste energitilstand og "spinn ned" er spinnene i høyeste energitilstand [9].

### 2.2.2 Kvantemekaniske prinsipper

Bevegelsen av den makroskopiske magnetiseringen  $\vec{M}$  kan beskrives ved hjelp av klassiske prinsipper, mens oppførselen til hvert enkelt magnetisk dipolmoment er en kvantemekanisk prosess [9]. Den totale dreieimpulsen  $\vec{J}$  til en partikkel er gitt som vektorsummen av spinn  $\vec{S}$  og dreiemomentet  $\vec{L}$ ,  $\vec{J} = \vec{S} + \vec{L}$  [33]. For et proton er dreiemomentet lik null, og man ser kun på spinnet til partikkelen. En partikkel med spinn  $\vec{S}$  kan ha  $2s + 1$  ulike tilstander.  $s$  er det nukleære spinnkvantetallet. Disse tilstandene beskriver kvantifiserte energinivåer. Protoner har spinnkvantetall  $s = \frac{1}{2}$  og de kan dermed ha  $2s + 1 = 2$  ulike energitilstander i et eksternt magnetfelt [33]. Disse tilstandene omtales som "spinn opp" og "spinn ned", og er vist i figur 3. "Spinn opp" representerer når den magnetiske dipolen peker i samme retning som det eksterne magnetfeltet. Spinnet størrelse for protonet er gitt som [33]:

## 2.2 Magnetisk Resonansavbildning

---

$$S = \sqrt{s(s+1)}\hbar = \frac{\sqrt{3}}{2}\hbar \quad (2.10)$$

hvor  $\hbar = h/2\pi$ ,  $h$  er Plancks konstant. Den eksakte retningen til spinnet kan ikke bestemmes, men z-komponenten til spinnet  $S_z$  kan bestemmes nøyaktig [33].

$$S_z = m_s \hbar \quad (2.11)$$

hvor  $m_s$  er det magnetiske kvantetallet og kan innta verdiene  $-s, -s+1, \dots, s-1, s$ .  $S_z = \pm\hbar$  for protoner med  $m_s = \pm 1/2$ .

Den potensielle energien  $U$  for et magnetisk dipolmoment  $\vec{\mu}$  i et eksternt magnetfelt  $\vec{B}_0$  er gitt som [9]:

$$U = -\vec{\mu} \cdot \vec{B}_0 = -\gamma\hbar m_s B_0 \quad (2.12)$$

ved kombinasjon av likning (2.5) og likning (2.11). Likning (2.12) viser at den potensielle energien er lavest når den magnetiske dipolen er parallell med magnetfeltet. Laveste energitilstand er omtalt som ”spinn opp” og høyeste energitilstand som ”spinn ned”. Forskjellen i energi  $\Delta E$  for de to energitilstandene i det eksterne magnetfeltet  $\vec{B}_0$  er gitt ved [9]:

$$\Delta E = \gamma\hbar |B_0| \quad (2.13)$$

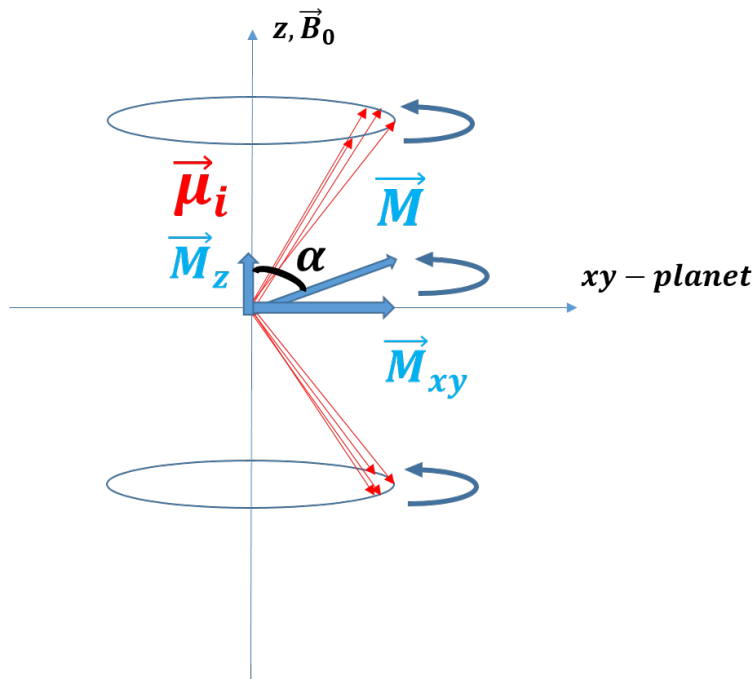
Fordelingen av antall ”spinn opp” og ”spinn ned” vil følge Boltzmanns lov når protonene er i termisk likevekt med omgivelsene [9]

$$\frac{N_{1/2}}{N_{-1/2}} = \exp(\Delta E/kT) \quad (2.14)$$

hvor  $N_{1/2}$  er antall protoner i tilstand ”spinn opp”,  $N_{-1/2}$  er antall protoner i tilstand ”spinn ned”,  $\Delta E$  er gitt i likning (2.13) og er energidifferansen mellom de to energitilstandene,  $k$  er Boltzmanns konstant og  $T$  er absolutt temperatur til objektet som avbildes. Ved en temperatur på 300 K, et magnetfelt på 1,5 T og et gyromagnetisk forhold for protoner gitt som  $\gamma = 2,68 \times 10^8$  rad/s/T gir dette at kun ett proton per  $10^5$  protoner vil bidra til signalet. Derfor vil man få et svakt signal. En økning på magnetfeltet til 7 T vil fra likning (2.14) gi nesten en femdobling i antall protoner som bidrar til signalet, og signalet blir sterkere.

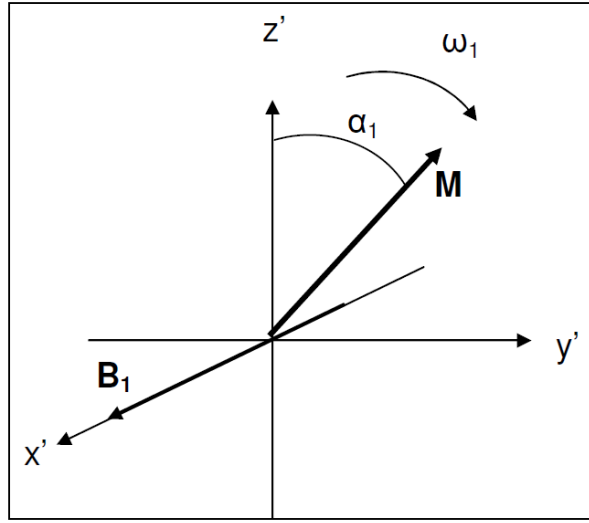
### 2.2.3 Eksitasjon

Det er vanlig å definere et koordinatsystem,  $xyz$ , slik at eksterne magnetfeltet  $\vec{B}_0$  peker i positiv  $z$ -retning, se figur 3. Signalet som måles er den transversale komponenten av magnetiseringen  $M_{xy}$ , og ved likevekt vil derfor ingen signal detekteres [39]. Den totale magnetiseringen vil peke i samme retning som magnetfeltet, fordi tilstanden ”spinn opp” favoriseres av de magnetiske dipolene [9]. For å kunne lese ut et signal må magnetiseringen vippes bort fra likevekt, ned mot  $xy$ -planet. En kort radiofrekvent puls (RF-puls) vil tilføre protonene energi [39]. RF-pulsen eksiterer protonene, og en andel av protonene vil hoppe til et høyere energinivå, ”spinn ned”. Den totale magnetiseringen vil dermed vippes ned mot  $xy$ -planet. De magnetiske dipolene vil oppleve et oscillerende magnetfelt  $\vec{B}_1$  med frekvens  $\vec{\omega}$  i  $xy$ -planet fra eksitasjonspulsen. RF-pulsen har samme frekvens som Larmorvinkelfrekvensen ( $\vec{\omega} = \vec{\omega}_0$ ). De magnetiske dipolene med vinkelfrekvens  $\vec{\omega}_0$  blir fasekoherente, og vil bidra til magnetiseringen som blir vippt ned mot  $xy$ -planet, se figur 4. Magnetiseringen vil nå pressesere rundt det statiske magnetfeltet samtidig som eksiteringen tvinger magnetiseringen ned mot  $xy$ -planet.



Figur 4: Magnetiseringen  $\vec{M}$  (blå) gitt som vektorsummen av de magnetiske dipolene,  $\vec{\mu}_i$  (rød) i et eksternt magnetfelt  $\vec{B}_0$ . Ved eksitering vil noen av de magnetiske dipolmomentene  $\vec{\mu}_i$  hoppe til et høyere energinivå, fra "spinn opp" til "spinn ned". Dermed vil magnetiseringen  $\vec{M}$  vippest ned mot  $xy$ -planet. Det er vanlig å dekomponere magnetiseringen i transversal magnetisering  $M_{xy}$  og longitudinal magnetisering  $M_z$ . Flipvinkel  $\alpha$  er et mål på hvor langt ned mot  $xy$ -planet magnetiseringen vippest. RF-pulsen har samme frekvens som de magnetiske dipolene,  $\omega_0$  og de magnetiske dipolene vil bli fasekoherente.

Hvor lenge eksitasjonspulsen er på, vil avgjøre hvor langt ned magnetiseringen vippest. Som et resultat av den transversale oscillerende magnetiseringen  $\vec{M}_{xy}$  vil en strøm bli induisert i en spole som ligger i dette planet. Amplituden på strømmen er proporsjonal med styrken på den transversale magnetiseringen [9].



Figur 5: Magnetiseringen  $\vec{M}$  observert fra det roterende koordinatsystemet. Magnetfeltet  $\vec{B}_1$  vil rotere magnetiseringen ned mot  $x'y'$ -planet. Situasjonen forenkles ved at pressesjonsbevegelsen til magnetiseringen rundt det statiske magnetfeltet  $\vec{B}_0$  nå kan neglisjeres. Vinkelen  $\alpha_1$  beskriver hvor langt ned mot  $x'y'$ -planet magnetiseringen roteres.  $\omega_1$  er vinkelfrekvensen til det RF-pulsen og også til det roterende koordinatsystemet og magnetiseringen  $\vec{M}$  i det statiske koordinatsystemet. Figuren er hentet fra [3].

For å forenkle magnetiseringens oppførsel innføres et roterende koordinatsystem  $(x'y'z')$ . Dette koordinatsystemet presseser med en vinkelfrekvens  $\vec{\omega}$  rundt  $z$ -aksen [9]. Det effektive magnetfeltet  $\vec{B}_{eff}$  gitt i det roterende koordinatsystemet vil være:

$$\vec{B}_{eff} = \vec{B}_0 + \vec{\omega}/\gamma + \vec{B}_1 \quad (2.15)$$

$\vec{\omega}$  er koordinatsystemets frekvens, som velges til ha samme frekvens som det oscillerende magnetfeltet  $\vec{B}_1$ .  $\vec{B}_1$  vil nå peke i  $x'$ -retning og hvis frekvensen til  $\vec{B}_1$  velges til å være lik Larmorvinkelfrekvensen,  $\vec{\omega} = \vec{\omega}_0$  vil magnetfeltet som oppleves fra det roterende koordinatsystemet være,  $\vec{B}_{eff} = \vec{B}_1$ , se figur 5. Magnetiseringen fremstår nå som ikke-presseserende fra det roterende koordinatsystemet.

Vinkelen  $\alpha$  som magnetiseringen roteres mot  $x'y'$ -planet er gitt som (se figur 4):

$$\alpha = \omega_1 t_p \quad (2.16)$$

$\omega_1$  er vinkelfrekvensen til eksitasjonspulsen og  $t_p$  er tiden eksitasjonspulsen er påsatt. En puls som roterer magnetiseringen  $\vec{M}$   $90^\circ$  ned i det transversale planet omtales som en ”90-graders puls”.

### 2.2.4 Relaksasjon

Etter at eksitasjonspulsen er skrudd av, vil systemet søke tilbake til likevekt. Signalet som avleses vil bli svakere [3]. Dette er på grunn av tap av eksitasjonsenergi og interaksjoner mellom protonene. Magnetiseringen  $\vec{M}$  dekomponeres i transversal magnetisering  $M_{xy}$  og longitudinal magnetisering  $M_z$ , og relaksasjon av hver av komponentene undersøkes separat.

#### Longitudinal relaksasjon

Etter eksitasjon vil protonene gi tilbake energien fra eksitasjonspulsen til omgivelsene [41]. Raten dette skjer i blir beskrevet ved  $T_1$ -relaksasjon, også kalt longitudinal relaksasjon.  $T_1$  angir tiden hvor  $M_z$  har gjenvunnet 63 % av sin opprinnelige verdi  $M_0$  før eksitasjon, og beskriver hvor fort protonene oppnår termisk likevekt etter eksitasjonen.  $T_1$ -tiden er avhengig av miljøet rundt protonene. Gjenvinning av den longitudinale magnetiseringen  $M_z$  er beskrevet ved [39]:

$$M_z(t) = M_0[1 - \exp(-t/T_1)] \quad (2.17)$$

#### Transversal relaksasjon

Etter eksitasjon vil alle de magnetiske dipolene være fasekoherente og signalet er høyt [9]. Etter hvert vil de defase på grunn av ulik opplevelse av magnetfeltet  $\vec{B}_0$ . Det er to grunner til dette: Den ene er skjoldeffekter som gjør at omkringliggende protoner vil påvirke magnetfeltet som hvert proton opplever. Den andre grunnen er makroskopisk og

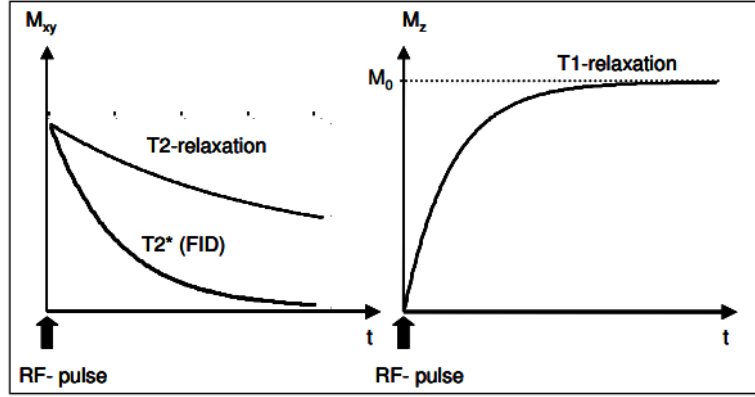
kommer av inhomogeniteter i det eksterne magnetfeltet. Skjoleffekter gir  $T_2$ -relaksasjon, eller transversal relaksasjon.  $T_2$  er tiden før den transversale magnetiseringen  $M_{xy}$  har tapt 37 % av verdien den hadde rett etter eksitasjon,  $M_{xy0}$ . Inhomogeniteter i magnetfeltet kommer blant annet av at det er vanskelig å få et helt homogent magnetfelt  $\vec{B}_0$ . Variasjonene i magnetfeltet  $\Delta B_0$  gjør at spinnene vil få ulike pressesjonsvinkelfrekvenser som følge av ulike opplevelser av magnetfeltet, se likning 2.8. Dette gir tap av signal og kombinasjon av begge effektene omtales som ”*free induction decay*” (FID) og er beskrevet ved relaksasjonskonstanten  $T_2^*$ . Tap av signal skjer omtrent 2 til 3 ganger så fort ved  $T_2^*$ -relaksasjon sammenliknet med  $T_2$ -relaksasjon [39]. Relaksasjonen som følge av statiske inhomogeniteter kan neglisjeres ved å bruke en spinn-ekko-sekvens (SE), se seksjon 2.2.8. Tap av transversal magnetisering er gitt ved [9]:

$$M_{xy}(t) = M_{xy0} \exp(-t/T_2) \quad (2.18)$$

$M_{xy0}$  er den transversale magnetiseringen umiddelbart etter at eksitasjonspulsen er skrudd av,  $T_2$  er tiden før 37 % av signalet er tapt, se figur 6. Sammenhengen mellom  $T_2$ -relaksasjon og  $T_2^*$ -relaksasjon er gitt som [9]:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \gamma \Delta B_0 \quad (2.19)$$

hvor  $T_2^*$  og  $T_2$  er relaksasjonstider,  $\gamma$  er det gyromagnetiske forholdet og  $\Delta B_0$  er ulikheter i magnetfeltet innenfor hver voksel.



Figur 6: Viser hvordan signalet dør ut etter eksitasjon (venstre) og hvordan den longitudinale magnetiseringen gjenvinnes (høyre). Verdiene på  $T_1$ ,  $T_2$  og  $T_2^*$  beskriver hvor fort relaksasjonen skjer. Figuren er hentet fra [15].

Vanligvis er  $T_2 \leq T_1$  og tap av den transversale magnetiseringen skjer raskere enn gjenvinning av longitudinal komponent [7].

### 2.2.5 Bloch-likningen

Likning (2.20) beskriver magnetiseringens bevegelse under påvirkning av et eksternt magnetfelt og eksitasjonspuls, inkludert relaksasjon, og er grunnlaget for MR-avbildning [39]. Likningen kalles Bloch-likningen og er gitt som følger:

$$\frac{d\vec{M}(t)}{dt} = \gamma \vec{M}(t) \times \vec{B}_{eff} - \vec{R}[\vec{M}(t) - \vec{M}_0] \quad (2.20)$$

$\vec{R}$  beskriver relaksasjon av magnetiseringen og er gitt som

$$\vec{R} = \begin{pmatrix} 1/T_2 & 0 & 0 \\ 0 & 1/T_2 & 0 \\ 0 & 0 & 1/T_1 \end{pmatrix} \quad (2.21)$$

$\vec{M}_0$  beskriver magnetiseringens likevektsverdi gitt i likning 2.22



$$\vec{M}_0 = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ M_0 \end{pmatrix} \quad (2.22)$$

og  $\vec{M}(t)$  er magnetiseringens verdi ved tiden  $t$

$$\vec{M}(t) = \begin{pmatrix} M_x(t) \\ M_y(t) \\ M_z(t) \end{pmatrix} \quad (2.23)$$

Hvor  $T_1$  og  $T_2$  beskriver henholdsvis longitudinal og transversal relaksasjon. Det er antatt at det roterende koordinatsystemet roterer med Larmorvinkelfrekvensen  $\vec{\omega}_0$ .

Den transversale magnetiseringen defineres som summen av magnetiseringen langs  $x'$ - og  $y'$ -aksen;  $M_T = M_{x'}\vec{i}' + M_{y'}\vec{j}'$ , der  $\vec{i}'$  og  $\vec{j}'$  er enhetsvektorer langs henholdsvis  $x'$ - og  $y'$ -aksen i det roterende koordinatsystemet. Likning (2.20) separeres og verdien til henholdsvis den transversale og den longitudinale magnetiseringen ved tiden  $t$  er gitt ved [39]:

$$M_T(t) = M_T(0)\exp\left(\frac{-t}{T_2}\right) \quad (2.24a)$$

$$M_z(t) = M_0[1 - \exp\left(\frac{-t}{T_1}\right)] + M_z(0)\exp\left(\frac{-t}{T_1}\right) \quad (2.24b)$$

### 2.2.6 Avbildning

En MR-avbildning får ut spatiell informasjon om protonene i det eksiterte volumet. Det er mulig å få ut informasjon som blant annet protontetthet, ulikheter i relaksasjon eller diffusjon [9]. Kontraster i et bilde viser ulike egenskaper i miljøet rundt protonene [41]. Ved å kun eksitere og lese av signalet vil det ikke være mulig å skille de ulike protonene

spatielt fra hverandre. Alle spinnene vil ha samme vinkelfrekvens ved et homogent magnetfelt, se likning (2.8). For å kunne skille signalbidraget fra protonene, brukes ulike gradienter, det vil si spatielt varierende magnetfelt. Ved å påføre en gradient  $\vec{G}_r = \frac{d\vec{B}_{G,r}}{d\vec{r}}$ , et magnetfelt som varierer lineært med posisjon  $\vec{r}$ , blir nå magnetfeltet som protonene opplever [9]:

$$\vec{B}_z = \vec{B}_0 + G_r \vec{r} \quad (2.25)$$

hvor  $\vec{r}$  er posisjonsvektor og  $\vec{G}$  er gradientstyrken i mT/m. Med et påført gradientfelt vil spinnene pressesere med ulik vinkelfrekvens avhengig av hvor de befinner seg. Larmorvinkelfrekvensen blir nå posisjonsavhengig:

$$\vec{\omega}(\vec{r}) = \vec{B}_0 + G_r \vec{r} \quad (2.26)$$

Gradientene kan velges slik at kun et tynt snitt blir eksitert, og protonene i hvert snitt kan lokaliseres [39]. Det finnes 3 typer gradienter; snittvalgsgradient, faseinnkodingsgradient og frekvensinnkodingsgradient. Disse diskuteres nærmere i de neste avsnittene.

### Magnetiske feltgradienter

Ved å kun eksitere et tynt snitt av objektet, vil dette gi en bedre oppløsning i snittretning [3]. Snittet som eksiteres velges ved å legge på en snittvalgsgradient. En gradient  $G_z$  som varierer med  $z$ -retning vil påvirke Larmorvinkelfrekvensen  $\vec{\omega}$  til spinnene. Posisjonen til spinnene vil avgjøre deres vinkelfrekvens [39]:

$$\vec{\omega}(z) = -\gamma(\vec{B}_0 + G_z \vec{z}) \quad (2.27)$$

en posisjonsavhengig vinkelfrekvens. Kun protoner som presseserer med Larmorvinkelfrekvensen vil bidra til at magnetiseringen vippes bort fra likevekt når en RF-puls med

samme frekvens settes på. For å få en tykkelse på snittet velges en båndbredde  $\Delta\omega$  på RF-pulsen, samtidig som en gradient med styrke  $G_z$  settes på. Kun protonene med vinkelfrekvens innenfor  $\Delta\omega$  vil bidra til signalet som leses ut. Tykkelsen til snittet som er eksitert er gitt som:

$$\Delta z = \frac{\Delta\omega}{\gamma G_z} \quad (2.28)$$

For å få en oppløsning i bildene i hvert snitt trengs informasjon om protonene innenfor hvert snitt. Dette fås ved å påføre ytterligere to gradienter etter eksitasjonen. En faseinnkodingsgradient gir en posisjonsavhengig faseforskyvning av protonene, og en frekvensinnkodingsgradient gir en posisjonsavhengig frekvensfordeling av protonene [9].

Faseinnkodingsgradienten står på en tid  $T_y$  etter eksitasjonen og faseforskyvningen  $\theta$  til spinnene vil etter en tid  $t_y$  være

$$\theta(y, t) = \gamma G_y y T_y = k_y y \quad (2.29)$$

$G_y$  er styrken til gradienten og  $y$  er posisjon.  $k_y$  er romlig frekvensfordeling, og faseforskyvningen vil avhenge av protonenes posisjon.

Ved utlesning av signal, etter at faseinnkodingsgradienten er skrudd av, settes en frekvensinnkodingsgradient  $G_x$  på. Dette er en gradient som varierer med  $x$ -retning. Denne vil påvirke vinkelfrekvensen  $\omega_x$  til protonene og gir en posisjonsavhengig frekvens:

$$\omega_x T_x = \gamma G_x x T_x = k_x x \quad (2.30)$$

$T_x$  er tiden gradienten står på, og  $k_x$  er romlig frekvensfordeling av protonenes Larmor-vinkelfrekvens.

Signalbidraget fra hver voksel vil være komplekst og er beskrevet ved

$$M_{xy}(\vec{r}, t) = M_{xy}(\vec{r}) \exp(-i\vec{k} \cdot \vec{r}) \quad (2.31)$$

Hvor  $M_{xy}(\vec{r})$  er den transversale magnetiseringen umiddelbart etter eksitering, avhengig av protontettheten  $\vec{\rho}$ ,  $\exp(-i\vec{k} \cdot \vec{r})$  angir fase- og frekvensfordeling i vokselen og  $\vec{k}$  er spatiell frekvensfordeling i bildet,  $\vec{k} = [k_x, k_y, k_z]$ . Tidssignalet  $SI(t)$  som leses ut, er en sum av signalbidragene i alle vokslene i snittet som er eksitert

$$SI(t) \propto M_{xy}(t) \propto \int \int_{\text{snitt}} \vec{M}_{xy}(\vec{r}) \exp(-j\vec{k} \cdot \vec{r}) d\vec{r} \quad (2.32)$$

$\exp(-j\vec{k} \cdot \vec{r})$  angir faseforskyvningen og frekvensen til protonene, og  $\vec{M}_{xy}$  er protontettheten med en gitt frekvens og faseforskyvning. Dette er en 2-dimensjonal Fouriertransformasjon, og avbildning med bruk av snittselektiv gradient omtales som en 2D-avbildning [3]. Likning (2.32) viser at den inverse Fouriertransformasjonen av signalet som måles gir en posisjonsavhengig protontetthet i snittet som eksiteres:

$$\rho(x, y) \propto M_{xy}(x, y) = \frac{1}{2\pi} \int_{k_x} \int_{k_y} SI(k_x, k_y) \exp(j(k_x x + k_y y)) dk_x dk_y \quad (2.33)$$

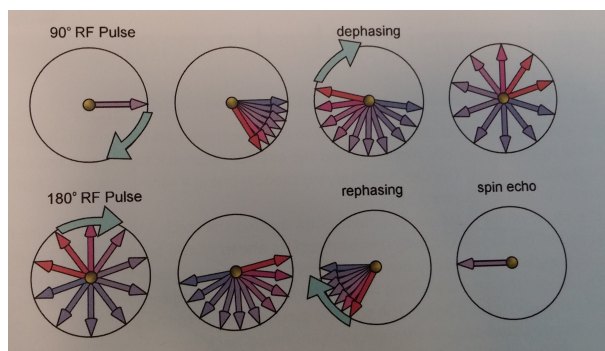
hvor  $SI(k_x, k_y)$  er signalstyrken som er målt med kjente påførte gradienter og  $\exp(j(k_x x + k_y y))$  angir fase- og frekvensfordeling av Larmorvinskelfrekvensen til protonene. Det målte signalet for ulike gradientkonfigurasjoner omtales som k-space, og ett punkt i k-space representerer den målte magnetiseringen  $M_{xy}$  i dette tidspunktet. For å få ut et bilde må k-space fylles opp ved å måle signalintensiteten med ulike gradientstyrker. En invers Fouriertransformasjon av k-space gir et MR-bilde. Antall punkter som fylles i k-space og måten k-space blir fylt opp på, vil avgjøre blant annet MR-bildets konturer, artefakter og oppløsning.

### 2.2.7 Pulssekvenser

Det finnes ulike metoder å lese ut signal for å danne et MR-bilde. Hvordan dette gjøres kalles for pulssekvenser. En pulssekvens består av eksitasjonspulser, inversjonspulser og ulike gradienter satt sammen på forskjellige måter med valg av ulike parametre [39].

Tiden mellom to eksitasjonspulser for ett snitt kalles repetisjonstid  $TR$ . Signalet som leses ut kalles ekko, og tiden fra eksitasjonspuls til avlesning av signal kalles ekkotid  $TE$ . Ofte kreves det at likevekt må oppnås før hver nye eksitasjonspuls. Dette gjør at mye av tiden i avbildningen går med på å vente på at systemet har relaxert tilbake til likevekt. Tiden fra utlesning av signal til snittet er klart for å eksiteres på nytt etter at protonene har relaxert tilbake til likevekt, kan brukes til å eksitere et nytt snitt uten at avbildningstiden økes [3]. Det er også mulig å eksitere snittet på nytt før likevekt for å få en raskere avbildningstid mot et lavere signal. Dette forklares i seksjon 2.2.10.

### 2.2.8 Spinn ekko-sekvens



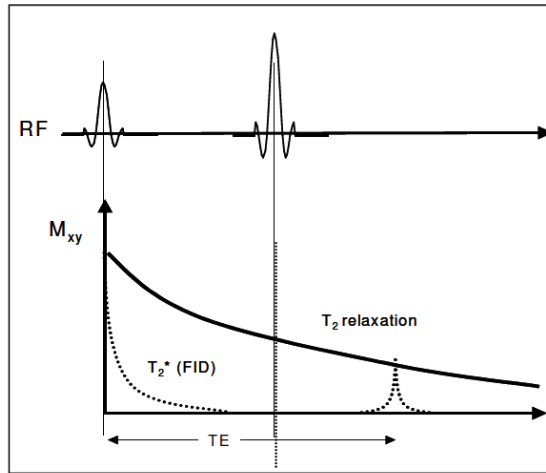
Figur 7: Viser hvordan en SE-sekvens utføres; spinnene defases som følge av ulik opplevelse av magnetfeltet. Etter at en 180-graders inversjonspuls settes på vil spinnene refase før signalet når maks amplitude ved utlesning av ekko. Figuren er hentet fra [41].

Figur 7 viser hvordan en spinn ekko-sekvens (SE) utføres i det roterende koordinatsystemet. Denne sekvensen vil redusere effekter fra statiske inhomogeniteter. Etter at en 90 graders eksitasjonspuls er satt på, vil protonene defase som følge av ulik opplevelse av

## 2.2 Magnetisk Resonansavbildning

magnetfeltet  $\Delta\vec{B}_0$  [9]. Protoner som opplever et magnetfelt  $\vec{B}_0$  vil fremstå som stasjonære, mens protoner som opplever et sterkere magnetfelt vil starte å pressesere med klokken i det roterende koordinatsystemet. Etter en tid  $t = TE/2$  settes en  $180^\circ$  inverteringspuls på. Ekkotiden  $TE$  er tiden fra  $90^\circ$ -puls til utlesning av signal. Magnetiseringen blir nå invertert og protonene vil refase. Ved tiden  $t = TE$  vil spinnene være i fase igjen, og ekkot som leses ut vil nå et maksimalt signal. Denne situasjonen kan sammenliknes med løpere på en bane: Alle starter samtidig, men noen løper fortere enn andre. De løper en tid  $t = TE/2$  hvorpå alle snur og løper motsatt vei. Etter en total tid  $t = TE$  vil alle løperne nå ligge likt.

Ved bruk av inverteringspulsen kan statiske inhomogeniteter i magnetfeltet neglisjeres, men det finnes fortsatt  $T_2$ -relaksasjon som beskrevet i seksjon 2.2.4, og ekkot vil ha en amplitude som er redusert med en faktor  $\exp(-\frac{TE}{T_2})$  som vist i figur 8.



Figur 8: Etter eksitasjon vil den transversale magnetiseringen relaksere på grunn av  $T_2$ -effekter som kommer av påvirkning på magnetfeltet fra omkringliggende protoner.  $M_{xy} \propto SI$ .  $TE$  er tiden fra  $90^\circ$ -puls til utlesning av signal. Bruk av en inverteringspuls ved tiden  $t = TE/2$  gjør at statiske inhomogeniteter i magnetfeltet kan neglisjeres. Uten inverteringspulsen som brukes i en SE-sekvens vil magnetiseringen relaksere med  $T_2^*$ -relaksasjon. Dette gir en raskere relaksasjon og inkluderer statiske inhomogeniteter i magnetfeltet.  $FID$  er signalets relaksasjon beskrevet med  $T_2^*$ -effekter. Figuren er hentet fra [3].

### 2.2.9 Gradient ekko-sekvens

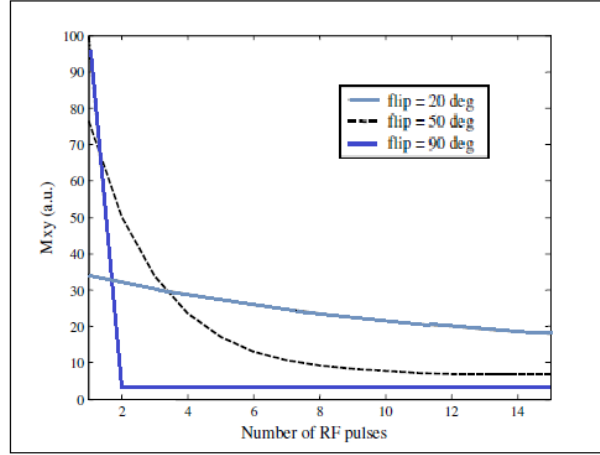
En SE-sekvens er relativt tidkrevende på grunn av den ekstra tiden som brukes med inversjonspulsen [39]. Man kan korte ned avbildningstiden ved å kutte ut denne inver-

sjonspulsen og heller bruke gradienter til å refase magnetiseringen. Dette gir muligheten for kortere repetisjonstid  $TR$  og ekkotid  $TE$ . Denne sekvensen kalles en gradient ekko (GRE) og er populær fordi den er rask. Men uten inversjonspulsen vil statiske inhomogeniteter i magnetfeltet  $B_0$  være synlig som  $T2^*$ -relaksasjon og gir et raskere tap av signal, se figur 8. Ekkoet som leses av vil ha relaxert med en faktor  $\exp(-TE/T_2^*)$ . Dette gir artefakter i bildet synlige som uskarpheter [39]. En GRE kan benytte seg av små flipvinkler,  $\alpha < 90^\circ$ , noe som vil forkorte avbildningstiden ytterligere fordi tiden før likevekt er oppnådd er kortere.

### 2.2.10 Dynamisk likevekt

En annen måte å redusere avbildningstiden på er å eksitere snittet før protonene har relaxert tilbake til likevekt [39]. Magnetiseringene vil nå være påvirket av tidligere eksitasjonspulser og ha både en transversal og en longitudinal komponent før hver eksitering. Allikevel vil systemet prøve å søke etter dynamisk likevekt, det vil si at magnetiseringen søker tilbake til en likevektsverdi før hver nye eksitasjonspuls. Eksitering før likevekt medfører et lavere signal [3].

Antall eksitasjonspulser som kreves før dynamisk likevekt er oppnådd og signalstyrken som oppnås (dummy scans)  $M_{xy}$  avhenger av flipvinkel som brukes. Figur 9 viser at en høy flipvinkel gir rask likevekt, men lavt signal. En lav flipvinkel krever flere dummy scans før dynamisk likevekt, men gir til gjengjeld et høyere signal.



Figur 9: Effekten av flipvinkel på dynamisk likevekt. Høy flipvinkel gir raskt likevekt (flip = 90 deg), mens lav flipvinkel gir senere likevekt, men et høyere signal (flip = 20 deg) [3]. Grafene viser magnetisering  $M_{xy} \propto SI$  etter hver eksitering med oppgitt flipvinkel. Når grafen har flatet ut betyr det at dynamisk likevekt er oppnådd. Antall RF-pulser er hvor mange ganger magnetiseringen blir vippet ned mot det transversale planet med gitt vinkel, henholdsvis 20 °, 50 ° og 90 °. Dynamisk likevekt er oppnådd når kurven har flatet ut. Fargekoder for ulike flipvinkler er oppgitt i figuren.

På grunn av magnetiseringens tidligere eksitasjoner vil magnetiseringen inneholde både en transversal og longitudinal komponent før hver eksitering, og signalet som leses ut vil inneholde både  $T_1$  og  $T_2$ -effekter [39].

### Spoiled gradient echo

Spoiled gradient echo (SPGR) er en dynamisk likevektstsekvens der det transversale signalet destrueres før hver nye eksitasjonspuls. Dette vil medføre at kun den longitudinale magnetiseringen når dynamisk likevekt [39]. Den longitudinale magnetiseringen vil derfor hovedsaklig avgjøre signalstyrke i bildet, og bildet blir rent  $T_1$ -vektet. For å destruere den transversale magnetiseringen, velges en lang repetisjonstid,  $TR \gg T_2$  og en kort  $TE$ ;  $TE \ll T_2^*$ .

Signalintensiteten som leses av i en SPGR er gitt som

$$M_T = SI = M_0 \frac{\sin(\alpha)(1 - \exp(\frac{-TR}{T_1}))}{1 - \exp(\frac{-TR}{T_1})\cos(\alpha)} \exp\left(\frac{-TE}{T_2^*}\right) \quad (2.34)$$

$\alpha$  er flipvinkelen,  $TR$  og  $TE$  er henholdsvis repetisjonstiden mellom hver eksitasjon og



ekkotiden,  $T_1$  og  $T_2^*$  er relaksasjonstidene. Den flipvinkelen med høyest signal med gitt TR og  $T_1$ , kan finnes ved å derivere likning (2.34) med hensyn på  $\alpha$  og sette lik 0. Dette gir

$$\alpha_e = \cos^{-1}\left(\exp\left(\frac{-TR}{T_1}\right)\right) \quad (2.35)$$

hvor  $\alpha_e$  kalles ernstvinkelen.

#### 2.2.11 3D-avbildning

Det har frem til nå kun vært diskutert 2D-avbildning, hvor ett og ett snitt blir eksitert, og tykkelsen på snittet er avhengig av båndbredde  $\Delta\omega$  på RF-pulsen og styrken på gradienten  $G_z$ , se likning (2.28). Dette gir ofte en oppløsning i bildet som er lavere i snitt-retning. I tillegg kan *cross talk* oppstå, hvor noe av snittet ved siden av det eksiterte snittet også blir eksitert, og vil medføre et lavere signalbidrag [3]. Derfor bør ikke snittene legges inntil hverandre, og det anbefales en snittavstand, gap, på rundt 20 – 30 % av snittykkelsen [39].

En mulighet for å unngå cross-talk er å bruke 3D-avbildning, hvor hele objektet blir eksitert. Den snittselektive gradienten byttes ut med en faseinnkodingsgradient. Men dette går på bekostning av lengre avbildningstid. Økningen er proporsjonal med antall faseinnkodingsgradienter  $G_z$  som settes på [3].

### 2.3 Kontrastforsterket MR-avbildning

Weinmann et al. [40] har funnet at relaksasjonstider i friskt vev og tumorer ofte overlapper. Ulike valg av parametre, som repetisjonstid TR og ekkotid TE kan velges slik at man får kontrast i bildet i ønsket område. Ofte er ikke dette godt nok til å kunne skille ulike typer vev fra hverandre. Relaksasjonstiden avhenger av mikromiljøet rundt protonene, og ved hjelp av kontrastvæsker kan relaksasjonstidene modifiseres og kontrasten økes. Bruk av kontrastvæsker utnytter økt permeabilitet i blodårene til tumor og dermed blir

det et større opptak av kontrastvæske i tumorvev [3]. Ved hjelp av kort avbildningstid og god oppløsning i MR-avbildningen er det mulig å følge det dynamiske opptaket av kontrastvæsken i vevet. Dette kalles for dynamisk kontrastforsterket avbildning (DCE-MRI)

#### Kontrastvæsker

Kontrastvæsker kan bestå av paramagnetiske ioner. Disse ionene har uparede elektroner [7]. Spinnet til elektroner er omtrent 700 ganger større enn spinnet til et proton, og sterke fluktuerende magnetfelt vil oppstå rundt elektronene [3]. Komponenten av det induerte magnetfeltet som oscillerer med Larmorvinkelfrekvensen vil øke relaksjonsraten  $R_1 = 1/T_1$  og signalstyrken i  $T_1$ -vektede bilder vil øke. Forholdet mellom kontrastvæskeskonsentrasjon og endring i relaksasjonsrate  $\Delta R_1(t)$  er gitt ved [3]:

$$\Delta R_1(t) = R_1(t) - R_1^0 = C_t(t)r_1 \quad (2.36)$$

hvor  $R_1^0$  og  $R_1(t)$  er relaksasjonsratene for vevet henholdsvis før og en tid  $t$  etter at kontrastvæsken er injisert.  $C_t(t)$  er kontrastvæskens konsentrasjon ved tiden  $t$  og  $r_1$  er kontrastvæskens relaksivitet.  $r_1$  beskriver kontrastvæskens evne til å endre relaksasjon  $R_1$  i vevet.

Ionet gadolinium ( $Gd^{3+}$ ) har syv uparede elektroner og veldig sterk innflytelse på  $T_1$ -tidene til protoner [40]. Alene er  $Gd^{3+}$  giftig, men bundet til ligander som for eksempel dietylntriaminpentaetylsyre (DTPA) eller 1,4,7,10-tetraazasyklododekan-1,4,7,10-tertaetylsyre (DOTA), reduseres denne toksisiteten [3]. Weinmann et al. [40] har vist at bundet gadolinium har lite eller ingen vekselvirkninger i kroppen. Kun 0,3% av kontrastvæsken ble funnet i kroppen syv dager etter injeksjon. Resten var blitt detektert i urin og ekskrementer. Kontrastvæsken diffunderer inn i ekstracellulært område i tumor [26], og opptaket av kontrastvæske avgjøres av fysiologiske parametre som blodperfusjon, permeabilitet og ekstracellulært volum [36]. På grunn av påvirkningen  $Gd^{3+}$  har på  $T_1$ -relaksasjon, kalles gadoliniumbaserte kontrastmidler for  $T_1$ -agens.

### 2.3.1 Beregning av kontrastvæskekonsentrasjon

For å kunne måle ulike fysiologiske parametre brukes en farmakokinetisk modell som beskrevet i seksjon 2.3.2.

Kontrastvæskekonsentrasjonen i vevet ved tiden  $t$  antas i denne modellen å være kjent. Signalintensiteten avhenger både av sekvensparametre, relaksasjonstider før kontrastvæsken er injisert og kontrastvæskekonsentrasjon. Derfor vil ikke økningen i signalintensitet nødvendigvis være proporsjonal med økning i kontrastvæskekonsentrasjon [17]. Endringen i vevets relaksasjon er derimot proporsjonal med konsentrasjon av kontrastvæske i vevet [3].

Ved først å kartlegge relaksasjonstider i tumor uten kontrastvæske med et  $R_1^0$ -kart, for deretter å beregne relaksasjonstidene for ulike tider fra  $T_1$ -vektede bilder etter injeksjon av kontrastvæske, kan tidsforløpet til konsentrasjon av kontrastvæske i hver voxel bestemmes.

$R_1^0$ -tidene kan beregnes ved hjelp av en fast spin echo-sekvens (FSE). En FSE er en SE-sekvens som leser ut flere ekko per eksitasjon og bruker  $180^\circ$ -pulser til refasing (se seksjon 2.2.8). Signalintensiteten måles for ulike repetisjonstider  $TR$ , for så å bruke kurvetilpasning til å bestemme  $R_1^0 = 1/T_1^0$  ut fra målt signalintensitet  $SI$ :

$$SI = SI_0(1 - \exp(-TR \cdot R_1^0)) \quad (2.37)$$

En annen mulighet for å bestemme  $R_1^0$  er å bruke en SPGR-sekvens. I dette tilfellet måles signalintensiteten med konstant  $TR$  og varierende flipvinkler  $\alpha$ . Deretter gjøres en kurvetilpasning til likning (2.2.10) for å bestemme  $R_1^0$ .

Før injeksjon av kontrastvæske beregnes protontetthet  $SI_0$ . Dette gjøres ved å bruke gjennomsnittlig signalintensitet  $SI_{pre}$  i hver voxel i 6 bilder som er tatt før injisering av kontrastvæske. Ved å bruke de målte relaksasjonstidene  $R_1^0$  kan  $SI_0$  beregnes ved hjelp av likning 2.38:

$$SI_0 = SI_{pre} \frac{1 - \cos(\alpha) \exp(-TR \cdot R_1)}{\sin(\alpha)(1 - \exp(-TR \cdot R_1))} \quad (2.38)$$

Relaksasjonsratene  $R_1$  etter injeksjon av kontrastvæske må til slutt bestemmes. Dette må være en rask avbildningssekvens for å få en god tidsoppløsning i bildene. Derfor kan ikke en SE-sekvens brukes, slik som for beregning av  $R_1^0$ . Istedet brukes en SPGR-sekvens (se seksjon 2.2.10), som har kort avbildningstid. Det velges en lav ekkotid,  $TE \ll T2^*$ , slik at  $T2^*$ -effekter kan neglisjeres og bildet blir rent  $T_1$ -vektet. Signalstyrken fra likning (2.34) blir tilnærmet lik

$$SI \approx SI_0 \frac{1 - \exp(-TR \cdot R_1)}{1 - \cos(\alpha) \exp(-TR \cdot R_1)} \quad (2.39)$$

$\alpha$  er flipvinkel som er benyttet,  $R_1$  er relaksasjonene som skal bestemmes ved hjelp av numerisk løsning. Serien av de  $T_1$ -vektede bildene som tas etter injeksjon av kontrastvæske brukes til å bestemme tidsforløpet til  $R_1$  for hver voksel i vevet. Konsentrasjonen av kontrastvæske ved tiden  $t$  kan nå bestemmes for hver voksel fra likning 2.36

$$C_t(t) = \frac{R_1(t) - R_1^0}{r_1} \quad (2.40)$$

$R_1(t)$  er målt relaksasjon fra SPGR-sekvensen målt etter injeksjon av gadolinium,  $R_1^0$  er vevets relaksasjon før kontrastvæske injiseres og  $r_1$  er kontrastvæskens relaksivitet.

Avbildning av fantomer med kjente konsentrasjoner av gadolinium i fysiologisk saltvann kan brukes til å bestemme relaksiviteten  $r_1$  til kontrastvæsken som brukes.

#### 2.3.2 Måling av fysiologiske parametre fra dynamisk kontrastforsterket MR-avbildning

Det har blitt utarbeidet ulike modeller som bestemmer parametre som er karakteristiske for vevets fysiologiske egenskaper, ved å vite det dynamiske forløpet til kontrastvæsken.

Disse parametrene beskriver blant annet blodperfusjon, permeabilitet og ekstracellulært volum [36]. MR-avbildning som måler det dynamiske kontrastvæskeopptaket kalles dynamisk kontrastforsterket MR-avbildning (DCE-MRI). Modellene som har vært brukt ved DCE-MRI viser uenighet blant forskere om hvilke parametre som skal beregnes og hvordan disse skal uttrykkes. Tofts et al. [37] har derfor utarbeidet en standardisert farmakokinetisk modell for å beregne kinetiske parametre ut fra DCE-MRI, og hvordan disse parametre skal beregnes. Slik kan arbeid fra ulike forskere lettere sammenliknes.

Tofts modell er en to-kammermodell, hvor det ene kammeret representerer blodplasma og det andre kammeret representerer det ekstravaskulære, ekstracellulære rommet (EES) i tumorvevet. Det antas at kontrastvæsken er fordelt homogent i kamrene, og at kontrastvæsken diffunderer mellom dem. Parameterne som beregnes beskriver opptaket av gadoliniumbaserte kontrastvæsker. Endring i konsentrasjon av kontrastvæske i EES er antatt å være diffusjon inn og ut av plasma. Modellen ser bort fra bidrag av signal fra intravaskulært rom ved beregning av konsentrasjonen av kontrastvæske. Konsentrasjonen av gadolinium som måles som beskrevet i seksjon 2.3.1 er derfor antatt å være konsentrasjonen av kontrastvæske vevet,  $C_t$  [37]. Modellen beskriver hvordan kontrastvæsker diffunderer ut fra kapillærene og inn i EES. Ved å se på utviklingen i konsentrasjonen for hver voxel over tid, kan to parametre estimeres fra Tofts modell;  $K^{trans}$  og  $v_e$ .  $K^{trans}$  [ $min^{-1}$ ] kalles ratekonstant og angir hvor raskt kontrastvæsken diffunderer mellom blodplasma og EES, og er en funksjon av blodstrømsraten og permeabiliteten i blodåreveggen. En høy  $K^{trans}$  kan bety god blodtilførsel, men det er ikke mulig å skille mellom blodstrøm og permeabilitet.  $v_e$  er fraksjonelt volum av EES per enhetsvolum vev og er et mål på interstitielt volum. En høy  $v_e$  betyr lav EES.

$$\frac{dC_t}{dt} = K^{trans}(C_p - C_t/v_e) \quad (2.41)$$

Hvor  $K^{trans}$  er en ratekonstant som beskriver raten kontrastvæske blir overført fra plasma til EES.

## 2.4 Diffusjonvektet magnetisk resonansavbildning

---

Løsning av likning (2.41) med antakelse om at  $C_t(t = 0) = 0$  gir:

$$C_t(t) = K^{trans} \int C_p(\tau) e^{-K^{trans}(t-\tau)/v_e(t-\tau)} d\tau \quad (2.42)$$

Hvor  $K^{trans}$  og  $v_e$  bestemmes ved hjelp av kurvetilpasning og  $C_p$  er konsentrasjonen av kontrastvæske i arterielt plasma ved tiden  $t$ . Benjaminsen et al. [2] har målt fordelingen av kontrastvæske i plasma etter injeksjon av gadoliniumbasert kontrastvæske ved hjelp av blodprøver i atymiske mus. Ved regresjonsanalyse ble den populasjonsbaserte arterie input-funksjonen (AIF) bestemt som

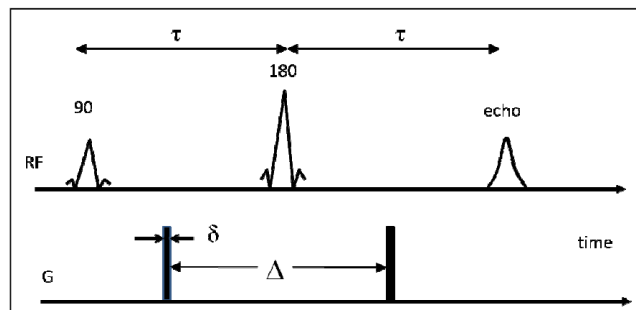
$$C_p(t) = A \exp(-Bt) + C \exp(-Dt) \quad (2.43)$$

hvor  $A = 2,55 \pm 0,21$  mM,  $B = 0,080 \pm 0,017$  s<sup>-1</sup>,  $C = 1,20 \pm 0,11$  mM og  $D = 0,0010 \pm 0,0002$  s<sup>-1</sup>. Første ledd beskriver diffusjon av kontrastvæske fra blodårer til vev og andre ledd beskriver utskillelse av kontrastvæske i nyrer. I dette forsøket ble det injisert en mengde på 5,0 mL/kg kroppsvekt mus. I samme forsøk ble det funnet at Tofts modell bryter sammen i områder med nekrose og ingen perfusjon. Dette vil gi  $v_e$ -verdier som er ufysiologiske ( $v_e > 1$ ). Ratekonstanten  $K^{trans}$  er avhengig av både blodstrøm og permeabilitet i blodåreveggen. Ved høy permeabilitet og lav blodstrøm er  $K^{trans}$  begrenset av blodstrøm og andel røde blodceller, hematokrit. Det meste av kontrastvæsken i arterien vil diffundere ut i vevet. I dette tilfellet beskriver  $K^{trans}$  blodstrøm. Ved lav permeabilitet og høy blodstrøm er  $K^{trans}$  avhengig av permeabilitetsareal i blodårene. Her beskriver  $K^{trans}$  permeabilitet. Dette er to ideelle situasjoner, ofte er situasjonen at  $K^{trans}$  avhenger både av blodstrøm og permeabilitet.

## 2.4 Diffusjonvektet magnetisk resonansavbildning

Det foregår hele tiden bevegelse av molekyler i kroppen, i form av blant annet termisk diffusjon av vannmolekyler i ekstracellulært område (Brownske bevegelser) [9]. Dette

påvirker avbildningen i den grad at protoner i bevegelse vil få en annen fase enn stasjonære spinn ved avlesning av signal. Disse faseforskjellene kan utnyttes, og et diffusjonsvektet magnetisk resonansbilde (DWI) ser på signaltapet som oppstår som følge av protoner i bevegelse. Kontrastene i DWI vil være bestemt av diffusjonen av vannmolekyler [1]. Stejskal og Tanner kom i 1965 frem til en sekvens som kan måle diffusjonen, en SE-sekvens med bruk av et gradientpar som begge har samme styrke og varighet [25]. I denne sekvensen settes en gradient på før inversjonspulsen. Denne gradienten vil defase alle spinn i snittet. Gradienten har styrke  $G$  og varighet  $\delta$ . En annen gradient med samme styrke og varighet som settes på etter inversjonspulsen, vil refase de stasjonære spinnene. Spinn i bevegelse som ikke ble påvirket av første gradient vil defase. Fasen til stasjonære spinn vil dermed være upåvirket av gradientparet, mens spinn i bevegelse vil bli påvirket. Tiden mellom gradientene  $\Delta$  kalles diffusjonstid, og avgjør hvor rask diffusjon som fanges opp i bildet. Lavt signal betyr derfor høy diffusjon i et diffusjonsvektet bilde. Stejskal-Tanner sekvensen er vist i figur 10. Gradientene som settes på henholdsvis før og etter inversjonspulsen har styrke  $G$ , varighet  $\delta$  og tiden mellom dem er  $\Delta$ . Det kan også brukes sekvenser uten inversjonspuls, da har gradientene motsatt polaritet, og begge gradientene settes på mellom eksitasjonspulsen og avlesning av ekko [3].



Figur 10: En Stejskal-Tanner-sekvens. En gradient med styrke  $G$  settes på en tid  $\delta$  med en påfølgende gradient med samme styrke og varighet som settes på med en avstand  $\Delta$  mellom dem. På denne måten vil kun signal fra stasjonære protoner og protoner med en lavere diffusjonstid enn  $\Delta$  detekteres.  $2 \times \tau$  er ekkotiden i sekvensen. Figuren er hentet fra [3].

I kroppen finnes naturlige barrierer, som for eksempel bindevev og cellemembraner, og diffusjon blir dermed ikke en tilfeldig prosess. Derfor måles diffusjonskoeffisienten

*apparent diffusion coefficient* (ADC) som beskriver diffusjonens lengde. En høy ADC betyr lang diffusjonslengde og få barrierer, og kan være et mål på celletettheten. Ekkonet  $SI(b, TE)$  som leses ut avhenger av ekkotiden  $TE$ , noe  $T_2$ -relaksasjon, diffusjon  $ADC$  og diffusjonsvektning beskrevet av en diffusjonsfaktor  $b$ :

$$SI(TE, b) = SI_0 \exp\left(\frac{TE}{T_2}\right) \exp(-b \cdot ADC) \quad (2.44)$$

Hvor  $SI_0$  er signalstyrken rett etter eksitasjon. Styrken på gradientparet, lengde og avstand mellom dem angir grad av diffusjonsvektning,  $b$  gitt som

$$b = \gamma^2 G^2 \delta^2 \left( \Delta - \frac{\delta}{3} \right) \quad (2.45)$$

$ADC$  kan beregnes ved å måle signalstyrke for ulike  $b$ -verdier (mens andre sekvensparametre holdes konstant) for deretter å bruke kurvetilpasning til den naturlige logaritmen av signalintensitet ved ulike  $b$ -verdier i forhold til signalintensiteten for  $b = 0$ .

$$\ln\left(\frac{SI(b)}{SI(b=0)}\right) = ADC \cdot b \quad (2.46)$$

hvor minst to  $b$ -verdier må brukes for å bestemme  $ADC$ .  $ADC$  angir stigningstallet.



---

## 3 Materialer og metoder

### 3.1 Forsøksdyr og tumorlinje

Musene som ble brukt i disse forsøkene var voksne atymiske hunnmus av typen *BALB/c-nu/nu*. Dyrene ble avlet frem ved dyreavdelingen på Radiumhospitalet. Dyrestallen holdt en temperatur på rundt 22,5° C og en luftfuktighet på 30 % – 35 %. Sterilt fôr og vann ble gitt. Forsøkene ble i forkant godkjent av ansvarshavende.

Tumorlinjene *A-07* og *R-18* ble benyttet. Dette er malignt melanom, en type føflekkreft. Tumorcellene stammer fra metastaser fra to pasienter ved Radiumhospitalet. Cellekulturen ble dyrket på medie i flasker.

Ca  $5 \times 10^5$  celler ble løst i 10  $\mu$ l Hanks saltløsning og injisert intradermalt (i huden) på forsøksmusene. Deretter vokste tumorene til ønsket størrelse, 150 – 400 mm<sup>3</sup>. Behandling av Avastin startet ca 3-4 uker etter injisering av celler. Tumorens volum ble bestemt fra  $T_1$ -vektede bilder tatt etter den dynamiske avbildningen. Bildebehandlingsprogrammet ImageJ (ImageJ versjon 1,49i) regnet ut volumet til tumoren ved hjelp av inntegnede *region of interest* (ROI) .

Mus som underveis i forsøket ble dårlige (tynne, lamme) ble avlivet og ekskludert fra forsøket.

### 3.2 Anestesi

Under inngrep og avbildning ble musene anestesert med *Sevofluran Baxter*, en inhalasjon-sanestesi gitt sammen med oksygen  $O_2$  og lystgass  $N_2O$ . Sevofluran gir generell anestesi og virker analgesisk samtidig som den er muskelavslappende, og opprettholder en dyp søvn uten at dyrene kjenner smerte. Lystgassen virker noe analgesisk samtidig som det gir en hypnotisk effekt. Til innsovning ble det gitt 1 *L/min*  $O_2$ , 2 *L/min*  $N_2O$  og 5 % Sevofluran i et gasskammer. Der ble musene liggende til de sovnet, før de ble lagt i en gassmaske slik at forberedelser til MR-scanningen kunne starte. Deretter ble musene lagt

i MR-scanneren i gassmaske, hvor 0,5 L/min  $O_2$  sammen med rundt 3,7 % Sevofluran ble gitt for å opprettholde den dype søvnen. Det var viktig å kontrollere både pust og temperatur kontinuerlig under anestesi. Temperaturen ble regulert med varmluft og målt ved hjelp av en rektalprobe. Varmluften ble automatisk regulert slik at temperaturen til musene var på 37 °C. Pustefrekvens ble monitorert gjennom hele avbildningsprosedyren. Underveis i avbildningen ble dosen Sevofluran regulert opp og ned slik at pustefrekvensen lå på mellom 50 – 100 min<sup>-1</sup>. Anesteseringen ble gjort for å unngå mest mulig bevegelse under MR-avbildningen samt å unngå smerte og ubehageligheter. Oppvåkningen skjedde raskt etter at anestesen ble skrudd av, det ble påsett at musene hadde våknet ordentlig opp før de ble plassert tilbake i buret med de andre musene. Dette var for å unngå at andre mus skulle bite på den sovende musen, noe som kan forekomme i slike situasjoner.

## 3.3 MR-avbildning

Det ble brukt en 7 T dyrescanner (*Bruker Pharma Scan 7T*). I forkant av avbildningen måtte protokoller bestemmes og avbildning med fantomer ble gjort. Den endelige protokollen er oppsummert i figur 11, og tabell 1 angir parameterne som er brukt i hver sekvens. En ubehandlet tumor og en leggmuskel ble avbildet to ganger for å teste reproduserbarhet i avbildningene. Det ble brukt en volumspole i forsøkene. Musene ble plassert i spolen i scanneren slik at tumor lå i isosenteret av magneten. For å teste om effekten av Avastin kunne detekteres ved et tidlig stadium, ble det gjort avbildning før behandlingsstart, dag 0. Siden ble avbildning gjort dag 3 og dag 7 etter behandlingsstart.

### 3.3.1 Kontrastvæske

Kontrastvæsken Dotarem ble brukt under den kontrastforsterkede MR-avbildningen. Dette er en kontrastvæske som er tilpasset klinisk bruk på pasienter og består av 0,5 M Gd-DOTA. Til mus måtte kontrastvæsken fortynnes med 0,9 % NaCl slik at konsen-

trasjonen på den injiserte kontrastvæsken ble 0,06 M. Total mengde Dotarem injisert per mus var 5  $\mu$  l/g 0,06 M intravenøst i halevenen. Injeksjonen ble gjort ved en konstant rate på 2220  $\mu$ l/min. Musene ble veid i forkant av avbildningen slik at riktig mengde kontrastvæske ble gitt. Dette er samme mengde kontrastvæske som ble gitt ved bestemmelse av arterie input-funksjonen (AIF), likning 2.43.

#### 3.3.2 Protokoller

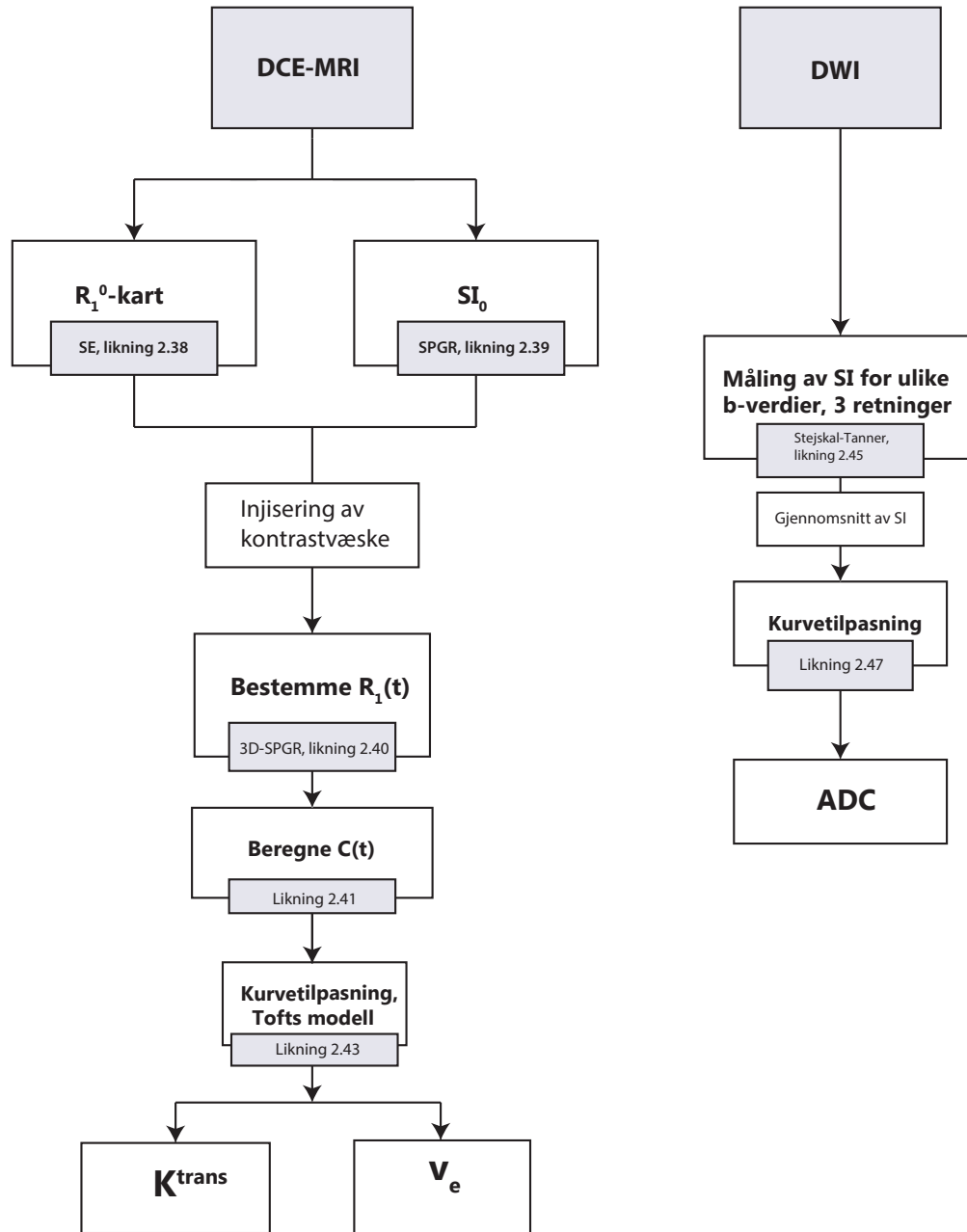
Kriterier for en god avbildning var lavest mulig avbildningstid og minst mulig støy og artefakter i bildene. Samtidig var det viktig at snittene lå på samme sted ved ulike avbildninger slik at de direkte kunne sammenliknes. Det var i forkant funnet at en 3D-SPGR-sekvens med en snittykkelse på 1 mm måtte benyttes til den dynamiske kontrastforsterkede avbildningen (DCE-MRI). Det var derfor et krav om at snittykkelse inkludert gap i hver avbildningssekvens måtte tilsvare 1 mm.

I forkant av av DCE-MRI måtte relaksasjon  $R_1^0$  til vevet bestemmes, se seksjon 2.3.2.  $R_1^0$  ble beregnet for hver voksel, og fremstillingen av disse verdiene i et snitt kalles  $R_1^0$ -kart. Avbildningssekvens for bestemmelse av  $R_1^0$ -kart måtte først fastsettes. Det stod mellom to mulige avbildningssekvenser. Den ene var en 3D-SPGR med konstant repetisjonstid og varierende flipvinkel. Dette er en 3D-sekvens og gap var ikke nødvendig. I dette tilfellet ville vokslene ligge på nøyaktig samme sted som ved den dynamiske kontrastforsterkede avbildningen. Den andre muligheten var en FSE-sekvens med ulike repetisjonstider ( $TR = 200 - 5000$  ms). Dette er en 2D-sekvens, så et gap måtte bestemmes. Det ble avbildet 8 fantomer med lave konsentrasjoner av Dotarem (0 – 1 mM) for å evaluere de to sekvensene. Først ble relaksasjon  $R_1$  for de ulike fantomene beregnet. Det ble deretter vurdert om sekvensen beregnet  $R_1$ -verdier som var mulig å skille fra hverandre ved så lave konsentrasjoner. Beregning av  $R_1$ -verdier fra en FSE-sekvens med 8 snitt og 1 mm gap og høye TR ( $TR = 200 - 15000$  ms) ble brukt som referanse. Til slutt måtte en diffusjonsvektet avbildning bestemmes. En diffusjonsvektet avbildning er ekstremt sensitiv for bevegelse.

### 3.3 MR-avbildning

---

En ekko planar avbildning (EPI) ble først prøvd ut. EPI er en GRE-sekvens som leser ut flere ekkoer per eksitasjon og bruker gradienter til refasing. Denne sekvensen er rask, men også veldig sensitiv for inhomogeniteter i magnetfeltet. Støy i bildene var derfor en viktig faktor ved bestemmelse av sekvens. Korrelasjonskoeffisienten  $R^2$  ved kurvetilpasning ble vurdert ved beregning av ADC-verdier. Det måtte også bestemmes om det holdt å bruke én gradientretning, eller om det måtte brukes flere gradientretninger. Til slutt måtte det vurderes hvilke b-verdier som skulle benyttes i avbildningen.



Figur 11: Flyttdiagrammet viser hvordan den dynamiske kontrastforsterkede avbildningen (DCE-MRI) og den diffusjonsvektede avbildningen (DWI) er utført. Sekvensene er beskrevet i detalj i teksten og parameterne som er brukt er oppgitt i tabell 1.

### 3.3 MR-avbildning

Tabell 1: Oppsummering av protokoll ved avbildning av tumor. Turbofaktor angir antall ekko som leses ut per eksitasjon. Dummy scans er antall eksitasjoner som er gjort før avlesning av signal.

Sekvens	TR [ms]	TE [ms]	Flipvinkel [°]	Avbildningstid	Vokselstørrelse [mm <sup>3</sup> ]	Turbofaktor/ Dummy scans
Lokalisering ( $T_1 - SPGR$ )	100	3	30	12,8 s	$0,156 \times 0,156 \times 1$	-
$T_2$ FSE	2500	35	90 og 180	1 min 20 s	$0,234 \times 0,234 \times 0,7$	8/-
DWI	1100	26	90 og 180	13 min 12 s	$0,469 \times 0,469 \times 0,7$	-
$T_1$ - FSE	200 – 5000	8,5	90 og 180	8 min 21 s	$0,469 \times 0,469 \times 0,7$	2/-
$T_1$ 3D-SPGR	10	2,07	20	15 min 15 s	$0,469 \times 0,469 \times 1$	-/100
$T_1$ 3D-SPGR	10	2,07	20	19,2 s	$0,469 \times 0,469 \times 1$	-/100

Avbildningsprotokollen er oppsummert i figur 11.

Før avbildning ble spolen med mus tunet for å få et mest mulig homogent magnetfelt. Først ble et lokaliseringsscan med 3 snitt utført, ett aksialt, ett sagittalt og ett koronalt. Dette var en  $T_1$ -vektet SPGR-sekvens. Field of View (FOV) var  $40 \times 40 \text{ mm}^2$  og antall piksler var  $256 \times 256$  med snittykkelse på 1 mm. Lokaliseringsscannet var for å kunne påse at tumor var plassert i isosenteret. Sekvensparameterne og avbildningstid er oppgitt i tabell 1. Deretter ble et  $T_2$ -vektet FSE aksialt bilde med 8 snitt tatt for å bekrefte at det midterste snittet lå midt i tumor. Det var totalt 8 snitt med snittykkelsen 0,7 mm og gap 0,3 mm. FOV var  $30 \times 30 \text{ mm}^2$ . Siden ble en diffusjonsvektet avbildning gjort, hvor størrelsen på pikslene ble firedoblet for å få ned støy i bildet. Også her var det 8 snitt med en snittykkelse på 0,7 mm og 0,3 mm avstand mellom snittene. FOV var  $30 \times 30 \text{ mm}^2$ . Det ble målt signalintensitet ved 5 ulike diffusjonsvektinger, hhv  $b = 0 \text{ s/mm}^2$ ,  $b = 200 \text{ s/mm}^2$ ,  $b = 400 \text{ s/mm}^2$ ,  $b = 700 \text{ s/mm}^2$  og  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ . I denne avbildningen var det meget viktig at musene lå helt stille, og at tumoren ble minst mulig påvirket av pustebevegelser. For å neglisjere mest mulig tilfeldig støy ble gjort DWI med 3 ulike gradientretninger, henholdsvis retning  $[1,0,0]$ ,  $[0,1,0]$  og  $[0,0,1]$ . Gradientene som ble brukt i diffusjonsvektingen hadde fast varighet  $\delta = 7 \text{ ms}$  og avstand  $\Delta = 14 \text{ ms}$ . Styrken på gradienten  $G$  ble endret for ulike  $b$ -verdier (se likning (2.45)).

Til slutt ble det gjort dynamisk kontrastforsterket avbildning, hvor det først ble tatt en  $T_1$ -FSE til å bestemme  $R_1^0$ -kartet i tumor. Det var 8 snitt hvorav snittykkelsen var på 0,7 mm med 0,3 mm gap. Signalintensiteten ble målt for ulike repetisjonstider, henholdsvis

### 3.3 MR-avbildning

---

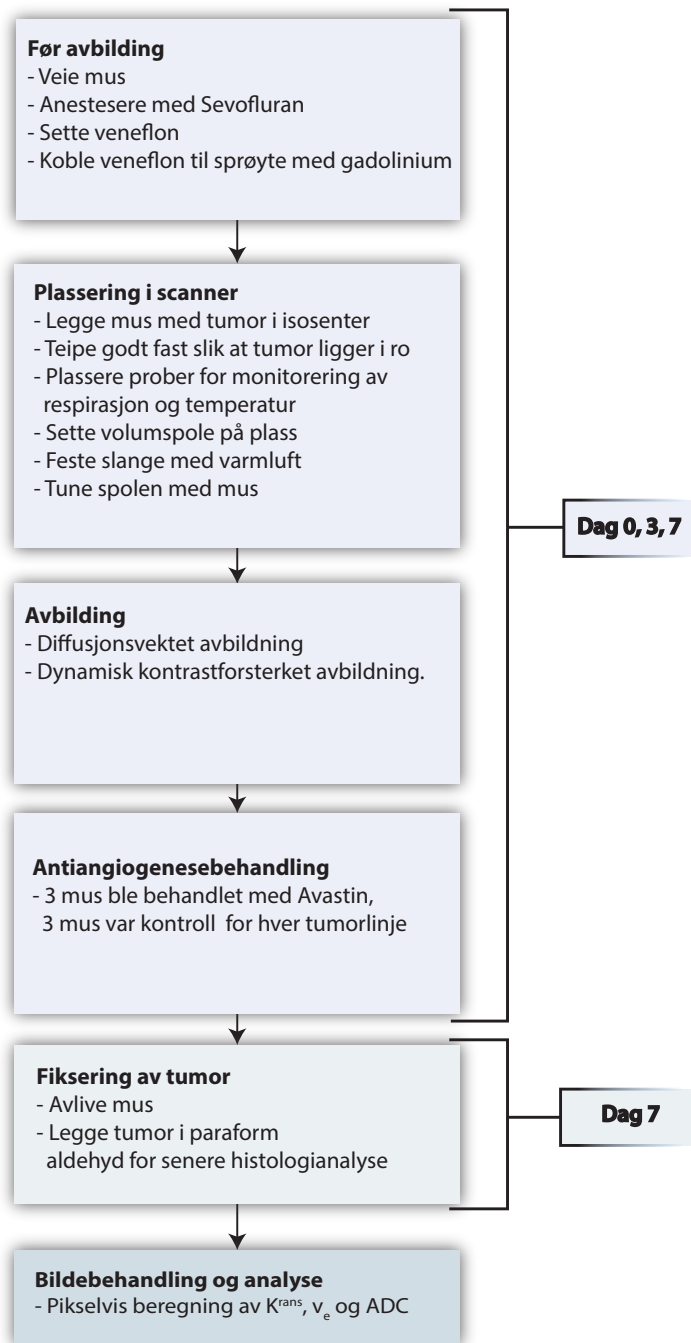
$TR = 200$  ms,  $TR = 400$  ms,  $TR = 800$  ms,  $TR = 1500$  ms og  $TR = 5000$  ms.  $R_1^0$  kunne bestemmes i etterkant.  $FOV = 30 \times 30$  mm<sup>2</sup>.

Deretter ble det tatt 65  $T_1$  3D-SPGR-bilder. En flipvinkel på  $20^\circ$  ble brukt, romlig oppløsning på  $0,23 \times 0,23 \times 1$  mm<sup>3</sup> og *field of view* (FOV) ble valgt til  $30 \times 30 \times 10$  mm<sup>3</sup>. Oppløsningen blir da på  $128 \times 128$  piksler med 10 snitt. Ekkotiden  $TE$  ble valgt å være så lav som mulig,  $TE = 2,07$  ms slik at minst mulig  $T_2$ -effekter kom med i vektingen. Dette gir en tidsoppløsning på 14,8 s med en total avbildningstid på 15 min 15 s for 65 bilder. De 6 første bildene var prebilder som ble tatt før injisering av kontrastvæske.

Til slutt ble et  $T_1$ -3D-SPGR-bilde tatt med en snittykkelse på 1 mm og et FOV som tilsvarte å dekke hele tumor, omkring  $30 \times 30 \times 14$  mm<sup>3</sup> avhengig av tumorstørrelse. Det ble brukt en ekkotid på  $TE = 2,07$  ms og samme oppløsning som på den dynamisk kontrastforsterkede avbildningen ble brukt. Hensikten med denne avbildningen var å kunne måle volumet til tumor i etterkant.

I Brukers system omtales en FSE som RARE (Rapid acquisition with refocusing echoes) og en SPGR omtales som FLASH (Fast low angle shot) .

## 3.4 Forsøksprosedyre



Figur 12: Flytdiagram over prosessen ved avbildning av musene. Utførelsene blir beskrevet detaljert i teksten.



I forkant av MR-opptakene ble musene anestesert som beskrevet i seksjon 3.2. Etter innsovning ble musene lagt på en varmematte for å unngå tap av kroppstemperatur. Varmen gjorde også at halevenen utvidet seg. Da ble det lettere å innsette venefflon. Det ble injisert heparinisert saltvann i venefflonen før den ble satt inn i halevenen for å unngå koagulasjon av blodet. En sprøyte med kontrastvæske ble koblet til venefflonen før musen ble lagt i spolen. Der ble den teipet godt fast for at tumor skulle ligge stille. Øyesalve ble smurt på øynene for å hindre uttørking. Det ble påsett at probene for monitorering av temperatur og respirasjon ga tilstrekkelig med signal før spolen ble lagt rundt musene. Varm luft blåste på musene slik at de hadde en konstant kroppstemperatur på 37 ° C. Til slutt ble spolen tunet for et mest mulig homogent magnetfelt. Etter dette kunne avbildningen beskrevet i seksjon 3.3.1 starte. Forsøksprosedyren er oppsummert i figur 12.

#### 3.4.1 Behandling med Avastin

Avastin ble fortynnet til 0,5 mg/ml slik at mengde Avastin per gram mus var 0,01 ml. Behandlingen ble gjort etter avbildning på dag 0 og dag 3. I hver batch på totalt 6 mus ble 3 mus behandlet med Avastin og de resterende 3 ble gitt samme mengde fysiologisk saltvann. De ubehandlede musene fungerte som en kontrollgruppe. Musene ble fordelt slik at størrelsene på tumorene i hver gruppe ble omtrent lik.

#### 3.4.2 Etter avbildning

Etter avbildning på dag 7 ble musene avlivet ved nakkedislokasjon. Umiddelbart etter avlivingen ble tumor klippet ut og fiksert i paraformaldehyd for senere histologiundersøkelse. Snittretning ved avbildning ble merket av på tumor før musene ble tatt ut av scanner slik at en direkte sammenlikning med snittene fra MR-bildene var mulig.

## 3.5 Bildebehandling

MR-bildene ble lagret i DICOM-format (Digital Imaging and Communication in Medicine) for deretter å bli analysert vokselvis med Matlab-programvarer (Mathworks R2013a). Programvarene er utviklet av Jon-Vidar Gaustad ved Seksjon for Strålingsbiologi på Radiumhospitalet.

I forkant av analysen ble kvaliteten på bildene kontrollsjekket. For de diffusjonsvektede bildene ble kurvetilpasningen ved bestemmelse av ADC vurdert. Dette ble gjort ved å beregne  $R^2$ -verdier. Tumorert med mye støy i de diffusjonsvektede bildene bli ikke inkludert i analysen. For å ekskludere tilfeller der ikke all kontrastvæsken var injisert i venen ble opptaket i muskel analysert. Et ROI ble tegnet på en muskel, og programvaren i Matlab beregnet tidsforløpet i gjennomsnittlig signalintensitet i dette ROIet. Opptaket ble regnet som godt hvis forholdet mellom maksimal signalintensitet etter injisering av kontrastvæsken og signalintensitet før injisering av kontrastvæsken lå på over 1,5. I tilfeller hvor ikke all kontrastvæsken hadde havnet i venen, ble kun dataene fra de diffusjonsvektede avbildningene analysert. Resultat fra scanninger hvor varmluften ikke fungerte optimalt, ble også ekskludert fra analysen. Mus med to sammenvokste tumorert ble analysert som to individuelle tumorert. Ved sår i tumor ble disse ekskludert fra volumanalysen.

Det ble også studert konsentrasjonsforløpet for flere enkeltvoksler i tumoren for å vurdere støy i avbildningen. For å minske effekten av voksler hvor  $v_e$  hadde ufysiologiske verdier, det vil si  $v_e > 1$ , ble verdier fra hele tumor brukt ved beregning av medianverdier.

Brukeren merket av tumor i Matlab-programmet ved å tegne inn ROI i de  $T_2$ -vektede bildene. Disse ble videre analysert. Samme ROI ble brukt i analyse av DCE-MRI og i DWI.

### 3.5.1 Beregning av ADC

Matlabprogrammet leste inn signalintensiteten i ROIet for de 5 diffusjonsvektede bildene. For å neglisjere mest mulig tilfeldig støy i bildene ble gjennomsnittet av signalintensiteten

for 3 ulike retninger brukt. Videre ble kurvetilpasning til likning 2.46 gjort, og verdier for enkeltvoksler ble beregnet. Samtidig ble  $R^2$  beregnet for hver voksel.  $ADC$ -verdiene ble lagret i matriser, hvor verdiene utenfor ROI ble satt til å være 0. Disse matrisene ble lagret som *csv*-filer og importert til Sigmaplot (Sigmaplot versjon 12.0). Der kunne tumorens  $ADC$ -verdier visualiseres som bilder.  $ADC$ -verdiene til tumor ble også lagret i en vektor hvor et frekvenshistogram av  $ADC$ -verdiene kunne lages i Sigmaplot. Median  $ADC$ -verdier for hver tumor ble beregnet.

#### 3.5.2 Beregning av $K^{trans}$ og $v_e$

Det ble først beregnet et  $R_1^0$ -kart vokselvis for tumoren ved å bruke kurvetilpasning til likning (2.37). Deretter ble de 6 pre-bildene tatt før injisering av kontrastvæske, brukt til å bestemme  $SI_0$  med likning (2.38). Endring i relaksasjonsraten  $\Delta R_1$  kunne nå bestemmes, og bruk av likning (2.40) ga konsentrasjon av kontrastvæske for hver voksel ved tiden  $t$ . Til slutt ble kurvetilpasning til Tofts modell likning (2.42) gjort for å bestemme verdier av  $K^{trans}$  og  $v_e$ . Matriser og vektorer av  $K^{trans}$  og  $v_e$ -verdier for tumor ble lagret som *csv*-filer og importert til Sigmaplot for visualisering. Verdier utenfor tumor ble satt til å være 0. Median  $K^{trans}$ - og  $v_e$ -verdier for hver tumor ble beregnet ved fra alle vokslene i hele tumor.

### 3.6 Statistisk analyse

Under antakelsene om lik varians og normalfordeling ble en tosidig Student's t-test gjort for å avgjøre om forskjellen mellom to grupper var signifikant. Det er brukt signifikansnivå 0,05. Sigmaplot ble brukt i de statistiske testene. Kolmogorov-Smirnov-metoden ble brukt for å teste normalitet, og Levenes test ble brut for å teste for lik varians. Minste kvadraters metode ble brukt ved kurvetilpasning av data, og ved lineær regresjon ble den antatt å være signifikant hvis P-verdi for stigningstallet var lavere enn signifikansnivå. Ved eksponentiell kurvetilpasning ble den antatt å være signifikant hvis P-verdi for vekstfaktor hadde en verdi lavere enn signifikansnivå.

---

## 4 Resultater

Totalt 18 mus ble scannet tre ganger, 12 mus med A-07-tumorer og seks mus med R-18-tumorer. Resultater fra noen avbildninger ble ekskludert fra analysen. Kriterier for ekskludering er forklart i seksjon 3.5. I denne studien presenteres totalt åtte tumorer fra A-07-tumorlinjen og seks tumorer fra R-18-tumorlinjen. Disse tumorene har data fra alle tre dagene. I tillegg ble data fra ytterligere fire A-07-tumorer og to R-18-tumorer inkludert. Dette var tumorer som ikke hadde data fra alle tre dagene.

### 4.1 Protokoller

#### 4.1.1 Dynamisk kontrastforsterket avbildning

##### **Avbildningssekvens til $R_1^0$ -kart**

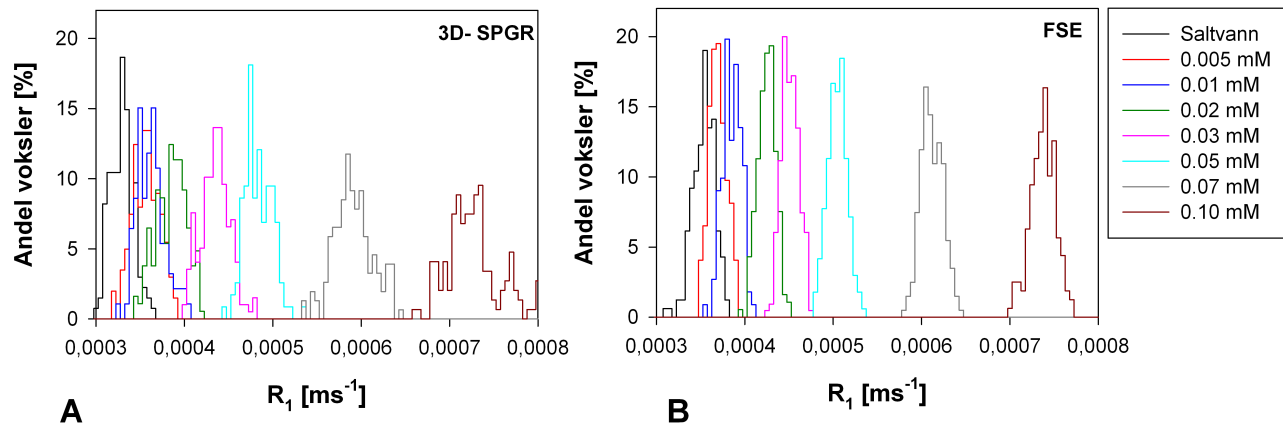
Ved dynamisk kontrastforsterket magnetisk resonansavbildning (DCE-MRI) beregnes relaksasjonen  $R_1 = 1/T_1$  vokselvis i vevet før, og deretter kontinuerlig en tid etter injisering av kontrastvæske ved hjelp av  $T_1$ -vektede bilder. Med kjente  $R_1$  kan konsentrasjonsforløpet av kontrastvæske bestemmes (se seksjon 2.3.1). Det var tidligere avgjort at en  $T_1$ -vektet 3D-SPGR-sekvens skulle brukes til å beregne relaksasjon i vevet etter injisering av kontrastvæske. Denne sekvensen hadde 1 mm snittykkelse og 0 mm gap. Det gjenstod å bestemme en sekvens som beregnet  $R_1^0$ -kart. Dette kartet viser relaksasjon  $R_1^0$  for hver voxel i vevet før injisering av kontrastvæske. Snittene måtte være plassert på samme sted ved begge avbildningene, derfor måtte snittykkelse inkludert et eventuelt gap være 1 mm.

Den ene muligheten for å lage et  $R_1^0$ -kart var å bruke en 3D-SPGR, hvor signalintensiteten ble avlest med ulike flipvinkler ( $\alpha = 1 - 40^\circ$ ). Fordelen med denne sekvensen er at det er en 3D-sekvens, og ingen gap var nødvendig (se seksjon 2.2.11). Snittykkelsen kunne i dette tilfellet være lik ved begge avbildningene, før og etter injisering av kontrastvæske. Den andre muligheten til å lage et  $R_1^0$ -kart var å bruke en 2D-FSE med ulike TR (200 – 5000 ms). Dette er en 2D-sekvens, og en avstand mellom snittene var nødvendig.

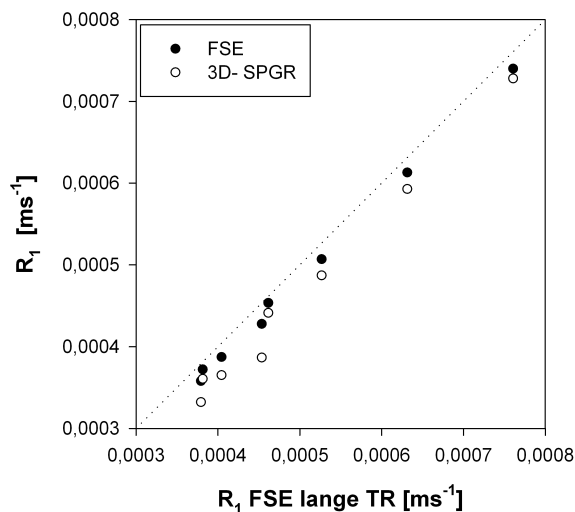
Fantomer med konsentrasjoner  $0 - 0,1$  mM Dotarem ble avbildet med de to sekvensene, deretter ble  $R_1$ -verdier beregnet vokselvis i inntegnede ROI fra hvert fantom. Det ble vurdert hvor mye de beregnede  $R_1$ -verdiene for ulike fantomer overlappet for å bestemme hvilken sekvens som skulle brukes. Det forventes lite variasjon i  $R_1$ -verdier innen hvert fantom ettersom det er en homogen fordeling av kontrastvæske. Figur 13 viser frekvensfordelingen av  $R_1$ -verdiene i hvert fantom, som ble beregnet fra de to sekvensene 3D-SPGR (A) og FSE (B). Figuren viser at  $R_1$ -verdiene beregnet fra FSE-sekvensen har et smalt frekvenshistogram innen hvert fantom, og lite overlapp i  $R_1$ -verdier mellom de ulike fantomene. Et smalt frekvenshistogram betyr lite variasjon i beregnede  $R_1$ -verdier innen hvert fantom.  $R_1$ -verdiene beregnet fra 3D-SPGR-sekvensen har bredere frekvenshistogram og mer overlapp av  $R_1$ -verdier mellom de ulike fantomene.

Som referanseverdier på  $R_1$  ble en FSE med lange  $TR$  brukt ( $TR = 200 - 15000$  ms).  $R_1$ -verdier beregnet fra FSE og 3D-SPGR sammenliknet med referanseverdiene vises i figur 14. Beregnede  $R_1$ -verdier fra FSE ligger nærmere referanseverdiene enn  $R_1$ -verdiene fra 3D-SPGR-sekvensen. På grunnlag av figur 13 og figur 14 ble det bestemt at en FSE-sekvens skulle brukes til å lage  $R_1^0$ -kart.

## 4.1 Protokoller



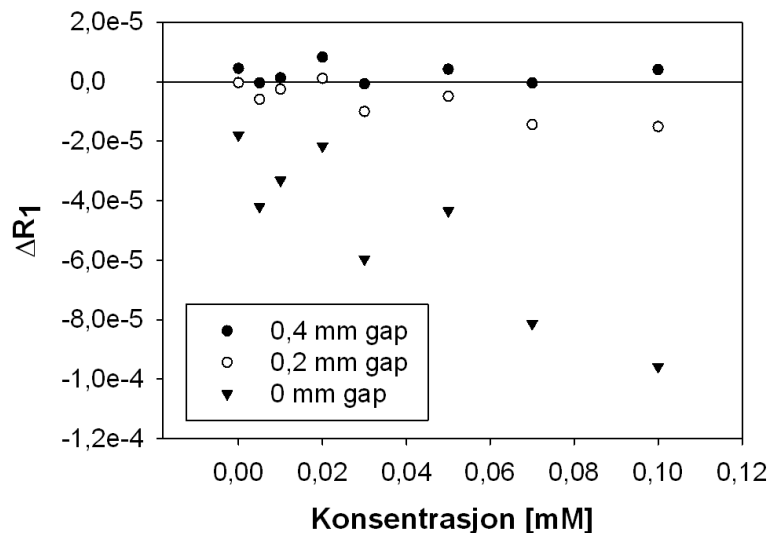
Figur 13:  $R_1$ -verdier ble beregnet i fantomer med ulik konsentrasjon med bruk av to avbildningssekvenser. 3D-SPGR (A) og FSE (B). Frekvenshistogrammene til  $R_1$ -verdiene beregnet fra 3D-SPGR viser større overlapp i  $R_1$ -verdier og bredere histogram enn  $R_1$ -verdiene beregnet fra FSE. Åtte fantomer med konsentrasjon på hhv 0 mM, 0,005 mM, 0,01 mM, 0,02 mM, 0,03 mM, 0,05 mM, 0,07 mM og 0,1 mM Dotarem ble brukt. Konsentrasjonene er oppgitt i figuren. Ettersom konsentrasjonene av Dotarem er homogent fordelt i hvert fantom, forventes også smalt frekvenshistogram for beregnede  $R_1$ -verdier i hvert fantom. Lave konsentrasjoner viser lav relaksasjon  $R_1$ .



Figur 14: For å bestemme referanseverdier av  $R_1$  i hvert fantom, ble en FSE med lange  $TR$  brukt ( $TR = 200 - 15000$  ms).  $R_1$ -verdier beregnet fra de to sekvensene FSE (med korte  $TR$ ,  $TR = 200 - 5000$  ms) og 3D-SPGR (henholdsvis svarte og hvite punkter) ble sammenliknet med referanseverdier. FSE ligger nærmere referanseverdi enn de beregnede  $R_1$ -verdiene fra 3D-SPGR-sekvensen. x-aksen er referanseverdier fra hvert fantom, mens y-aksen viser  $R_1$ -verdier beregnet for de samme fantomene, men med henholdsvis FSE-sekvens med korte  $TR$  og 3D-SPGR-sekvens.

### Avstand mellom snitt

Til avbildninger med 2D-sekvenser, måtte avstand mellom snittene, gap, bestemmes. Dette er fordi eksitasjon av et snitt også vil eksitere en liten del av området utenfor snittet. For å unngå påvirkning av eksitasjon fra omkringliggende snitt, må et gap velges. Det måtte vurderes hvor stort gap som var nødvendig. Hvis snittene ligger for nær hverandre, vil beregnede  $R_1$ -verdier kunne bli feil. For å vurdere gap ble det avbildet fantomer med ulik konsentrasjon av Dotarem (0 – 0,1 mM). Det ble først gjort en avbildning med snittykkelse på 1 mm med 1 mm gap. Dette er et gap på 100 % av snittykkelsen, litteraturen anbefaler et gap på minimum 20 – 30 % [39]. Relaksasjoner som er beregnet fra denne sekvensen er brukt som referanse. Deretter ble det beregnet median  $R_1$ -verdier i hvert fantom med bruk av ulike gap (henholdsvis 0 mm 0,2 mm og 0,4 mm gap). De beregnede  $R_1$ -verdiene ble sammenliknet med referanseverdier i hvert fantom. Figur 15 viser avvik i beregnede  $R_1$ -verdier for hvert fantom med bruk av ulike gap i forhold til referanseverdi.  $R_1$ -verdiene beregnet med 0 mm gap avviker mest fra referanse-verdi. Selv om beregnet relaksasjon ved 0,4 mm gap lå nærmest referanseverdi, viser figuren også at et gap på 0,2 mm ikke avviker mye. For å få mest mulig av tumoren med i snittet, og samtidig få gode estimat av  $R_1$ , ble det derfor valgt et gap på 0,3 mm. Snittykkelsen ble da på 0,7 mm, slik at total snittykkelse og gap ble 1 mm.

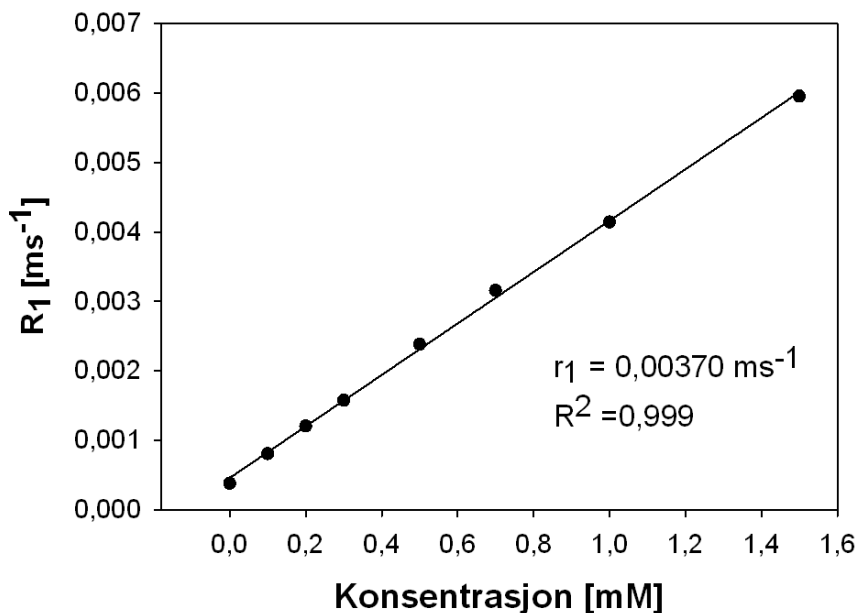


Figur 15: Åtte fantomer med ulik konsentrasjoner av Dotarem ble avbildet med ulike gap (henholdsvis 0, 0,2 og 0,4 mm). Fantomene hadde konsentrasjoner på 0 – 0,1 mM Dotarem.  $R_1$ -verdier ble beregnet i hvert fantom med bruk av ulike gap. Figuren viser avvik i beregnede  $R_1$ -verdier med ulike gap i forhold til  $R_1$ -verdier beregnet med 1 mm gap. Et gap på 1 mm ble antatt å ikke påvirke nærliggende snitt og ble derfor brukt som referanse. Et gap på 0,4 mm ga beregnede  $R_1$ -verdier som lå nærmest referanse. Et gap på 0,3 mm ble valgt, for å få med must mulig av tumor i snittene.

### Relaksiviteten til Gd-DOTA

Etter at protokollen for DCE-MRI var fastsatt, måtte relaksiviteten  $r_1$  til kontrastvæsken Dotarem bestemmes.  $r_1$  beskriver kontrastvæskens evne til å endre relaksasjonen i vevet. Sammenhengen mellom økning i relaksasjon og økningen i konsentrasjon av kontrastvæske er lineær. Ved å måle relaksasjonen i fantomer med ulik konsentrasjon, kan relaksiviteten til kontrastvæsken bestemmes med lineær kurvetilpasning. Figur 16 viser den lineære kurvetilpasningen av målte  $R_1$ -verdier for konsentrasjoner på 0 – 1,5 mM Dotarem. Det ble bestemt en relaksivitet  $r_1 = 0,00370 \text{ ms}^{-1}$ .

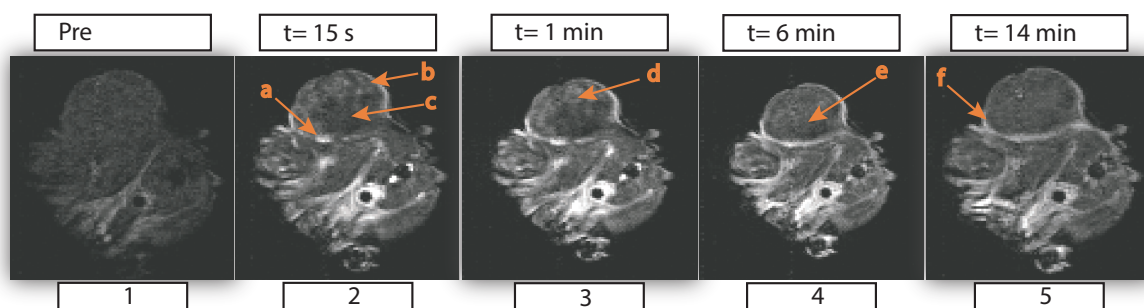




Figur 16: Relaksiviteten  $r_1$  er kontrastvæskens evne til å endre relaksasjon  $R_1$  i vevet. Relaksiviteten ble bestemt ved å måle relaksasjonen i fantomer med konsentrasjoner 0 – 1,5 mM Dotarem. Deretter ble en lineær kurvetilpasning gjort. Stigningstallet angir relaksiviteten, og ble bestemt til  $r_1 = 0,0037 \text{ ms}^{-1}$ .

### Eksempel på dynamisk kontrastforsterkede bilder

Representative  $T_1$ -vektede bilder som er tatt med DCE-MRI er vist i figur 17. Bilde 1 viser at det  $T_1$ -vektede bildet før injisering av kontrastvæske skiller dårlig mellom ulike bløtvev. 15 sekunder etter injisering av kontrastvæske (bilde 2) er en rask økning i signalintensitet synlig i bildet, som følge av opptak av kontrastvæske. Opptaket skjer først i periferien i tumor (bilde 2, punkt a og b). I senter av tumor har det enda ikke skjedd opptak (c). Bilde 3 viser at opptak av kontrastvæske også har skjedd lengre inn i tumor (punkt d). Opptak i sentrum av tumor er først synlig etter seks minutter (bilde 4). I bilde 5, 14 minutter etter injisering av kontrastvæske, har signalintensiteten i periferien av tumor sunket. Dette indikerer at kontrastvæsken har begynt å skilles ut av vevet.



Figur 17: Eksempel på bilder tatt ved DCE-MRI av en A-07-tumor. Tidene  $t$  er tiden etter injisering av kontrastvæske. Bilde 1 viser et  $T_1$ -vektet bilde før injisering av kontrastvæske. Dette bildet har lav signalintensitet, og skiller dårlig mellom ulike bløtvev. Bilde 2 er tatt 15 sekunder etter injisering av kontrastvæske. I periferien av tumor (punkt a og b) er det raskt høyt opptak, mens lengre innover i tumor er signalintensiteten lave på grunn av et senere opptak (punkt c). Lave intensitet i bildene betyr lavt opptak. I bilde 3, ett minutt etter injeksjon av kontrastvæske, vises det at opptaket har begynt å skje innover i tumor (punkt d). Bilde 4, tatt seks minutter etter injeksjon av kontrastvæske viser opptak også i senter av tumor (punkt e). I bilde 5, punkt f, har signalintensiteten i periferien sunket. Dette betyr at kontrastvæske har begynt å skilles ut av vevet.

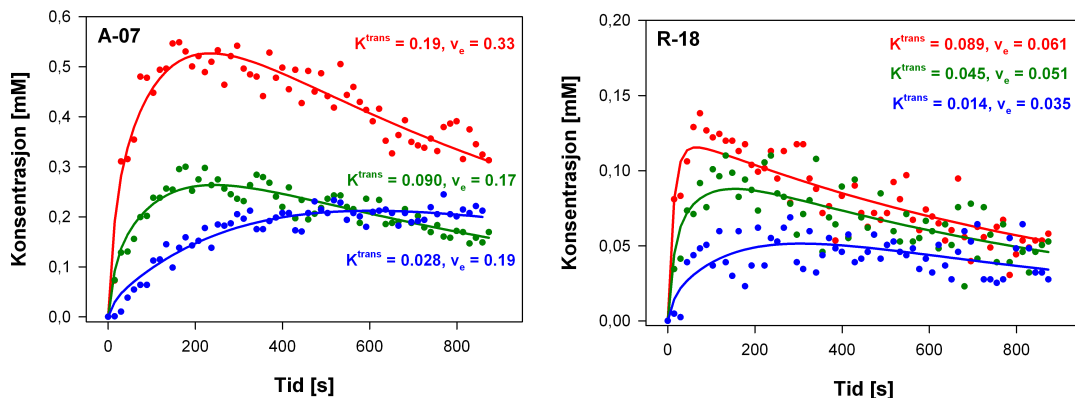
Etter at konsentrasjonsforløpet til kontrastvæsken var beregnet fra DCE-MRI, kunne en kurvetilpasning til Tofts modell gjøres. Det blir beregnet to parametre fra denne modellen. Den ene er ratekonstanten  $K^{trans}$ , som beskriver hvor fort kontrastvæsken diffunderer ut i vevet. Den andre er  $v_e$ , fraksjonelt volum av ekstravaskulært ekstracellulært rom (EES). Disse parameterne gjenspeiler fysiologiske egenskaper til vevet.

Eksempler på kurvetilpasning gjort til Tofts modell er vist i figur 18. Grafene viser eksempler for tre ulike voksler fra hver tumorlinje A-07 og R-18. Rød kurve viser et eksempel på en voksel med høyt opptak av kontrastvæske, grønn kurve viser et eksempel på en voksel med middels opptak av kontrastvæske, og blå kurve viser et eksempel på en voksel med lavt opptak av kontrastvæske. Figuren viser at kurvetilpasningen er god, og det er lite støy. R-18 har imidlertid et lavere opptak av kontrastvæske enn det A-07 har.

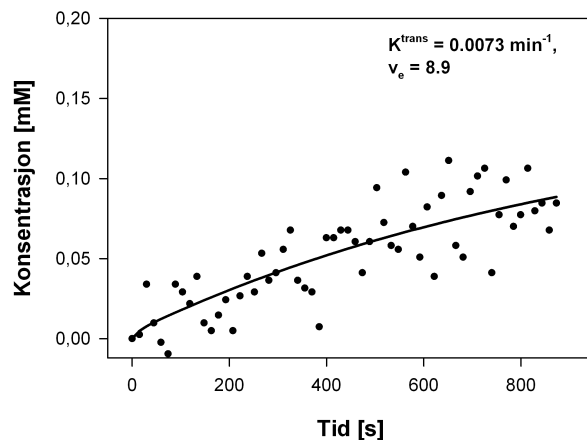
Figur 19 viser et eksempel hvor Tofts modell bryter sammen. I områder med lav blodstrøm vil kontrastvæsken fordeles senere. Konsentrasjon av kontrastvæske ser ut til å øke li-

## 4.1 Protokoller

neært. I dette tilfellet blir ufysiologiske verdier av  $v_e$  beregnet ( $v_e > 1$ ).



Figur 18: Et eksempel på beregnet konsentrasjonsforløp for tre ulike vokslar fra de to tumorlinjene tumorlinjene A-07 (venstre) og R-18 (høyre). Punktene er de beregnede konsentrasjonene ved tiden  $t$ , og den heltrukne linjen viser kurvetilpasningen til Tofts modell. Verdier av  $K^{trans}$  og  $v_e$  er oppgitt i figuren. A-07 har et høyere opptak enn R-18, og R-18 har også lavere  $K^{trans}$  og  $v_e$ . Den røde kurven viser en voksle hvor opptaket av kontrastvæske er høyt, og den blå kurven viser en voksle hvor opptaket av kontrastvæske er lavt. Grønn kurve er viser et middels høyt opptak. Kurvenes maksimum angir hvor høyt opptaket er. Vær oppmerksom på at skaleringene på de to grafene er forskjellig.



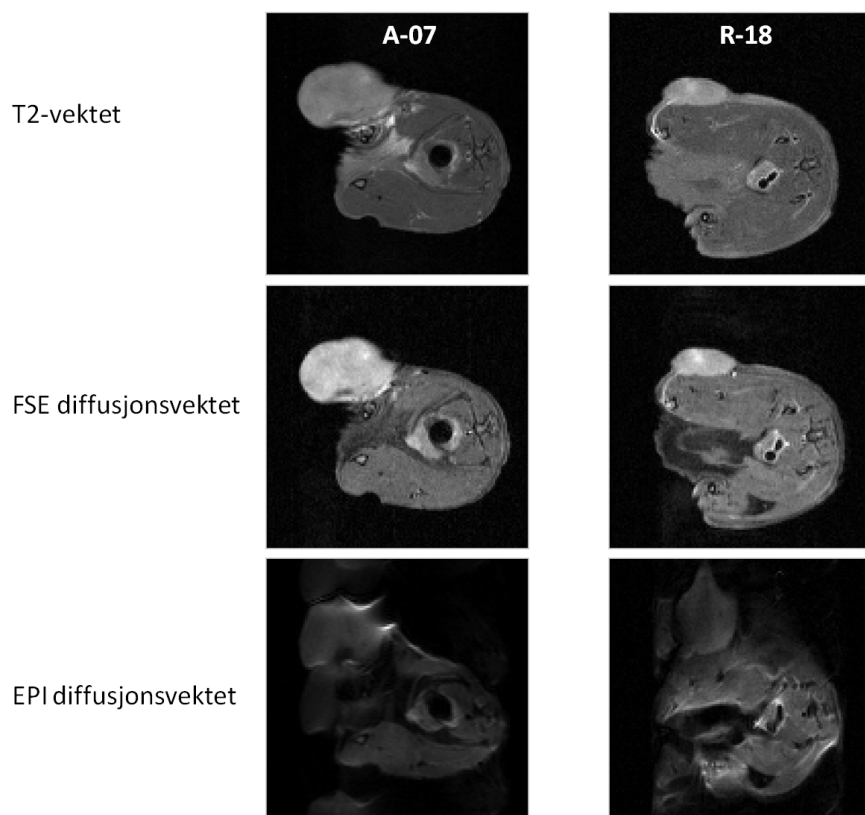
Figur 19: Et eksempel på en voksle fra en ubehandlet A-07-tumor hvor Tofts modell bryter sammen. Punktene er målt konsentrasjon ved tiden  $t$  i én voksle, og den heltrukne linjen er tilhørende kurvetilpasning til Tofts modell. På grunn av en lineær økning i kontrastvæskeskonsentrasjon, vil modellen beregne ufysiologiske høye  $v_e$ ,  $v_e > 1$  [2].

### 4.1.2 Diffusjonsvektet magnetisk resonansavbildning

En diffusjonsvektet magnetisk resonansavbildning (DWI) måler diffusjon i vevet ved hjelp av to påførte gradienter. Styrke på gradienten,  $G$ , tiden gradienten er på,  $\delta$ , og tid mellom to gradienter,  $\Delta$ , avgjør hvor mye diffusjon som fanges opp i bildet, og kalles  $b$ -verdi. Fra signalintensiteten til 5 diffusjonsvektede-bilder (DW-bilder) med ulike  $b$ -verdier, kan diffusjonskoeffisienten  $ADC$  beregnes.

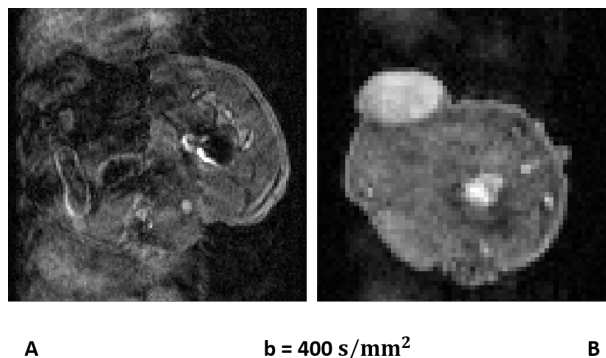
En avbildningssekvens for DWI måtte bestemmes. Det var to muligheter for avbildningssekvenser til DWI. Den ene var å bruke en EPI-sekvens. Denne sekvensen er rask, men er veldig sensitiv til inhomogeniteter i magnetfeltet. Den andre muligheten var å bruke en FSE-sekvens, hvor avbildningstiden ble vesentlig lengre i forhold til EPI-sekvensen. En FSE er til gjengjeld mindre sensitiv til inhomogeniteter i magnetfeltet.

Det ble i hovedsak vurdert hvor mye støy det var i bildene da sekvensen for DWI skulle bestemmes. Figur 20 viser eksempler på bilder tatt ved bruk av EPI og FSE for  $b = 0$  s/mm<sup>2</sup>. Tumorlinje A-07 vises til venstre og tumorlinje R-18 vises til høyre. Det øverste bildet er et  $T_2$ -vektet bilde som viser anatomen uten geometriske forvrenginger, det midterste bilde viser en FSE diffusjonsvektet avbildning, og det nederste bildet viser en EPI diffusjonsvektet avbildning. På grunn av mye støy og geometrisk forvrenginger i bildet tatt med EPI-sekvensen er det her ikke mulig å se konturene til tumor. Derfor ble en FSE-sekvens valgt på bekostning av lenger avbildningstid.



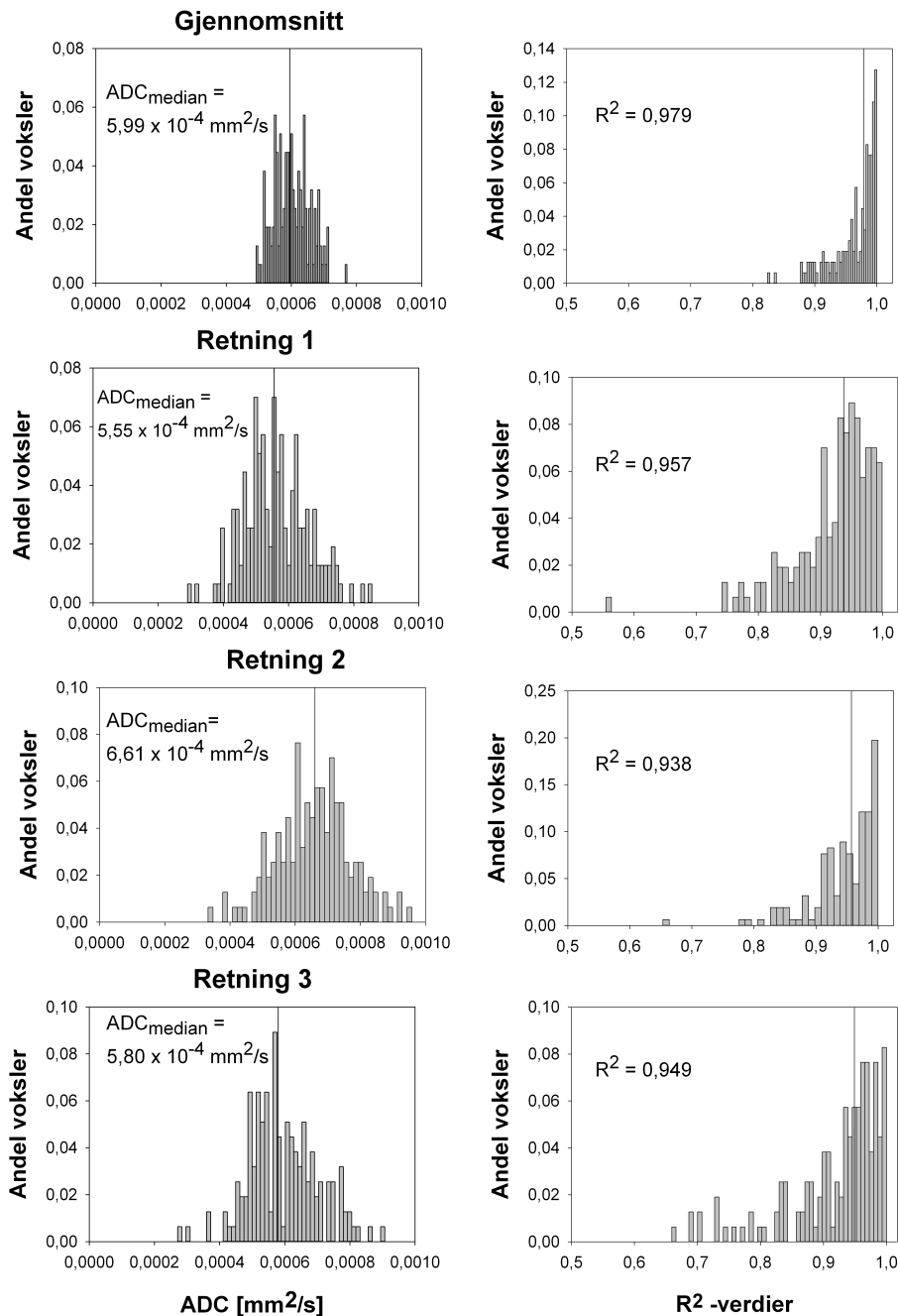
Figur 20: Eksempel på bilder tatt ved diffusjonsvektet avbildning med ulike avbildningssekvenser, FSE (midten) og EPI (nederst) for de to tumorlinjene A-07 (venstre) og R-18 (høyre). De øverste bildene er  $T_2$ -vektede bilder som viser anatomien i snittet. DWI er gjort med  $b = 0 \text{ s/mm}^2$ . Ved EPI er det ikke mulig å definere tumorens periferi på grunn av geometriske forvrenginger. Ved FSE kan tumors periferi lettere defineres.

Det var fortsatt endel støy i bildene med bruk av FSE-sekvensen for  $b > 0$ . Det besluttet å halvere den romlige oppløsningen i bildene for å redusere støyen i bildene ytterligere. Figur 21 viser mindre støy i bildet med halvert oppløsning (B) enn i bildet med høy oppløsning (A). Bildene er tatt for  $b = 400 \text{ s/mm}^2$  med pikselstørrelser på henholdsvis  $0,234 \times 0,234 \text{ mm}^2$  (A) og  $0,469 \times 0,469 \text{ mm}^2$  (B).



Figur 21: På grunn av mye støy i de diffusjonsvektede bildene ble det besluttet å halvere oppløsningen i bildet. Her er et eksempel på en A-07-tumor som er avbildet på to ulike dager. Figur A viser en avbildning med pikselstørrelse på  $0,234 \times 0,234 \text{ mm}^2$  og figur B viser den samme tumoren avbildet en annen dag, men avbildningen ble gjort med en pikselstørrelse på  $0,469 \times 0,469 \text{ mm}^2$ . Støyen er betraktelig mindre i avbildningene med lav oppløsning.  $b = 400 \text{ s/mm}^2$  for begge avbildningene.

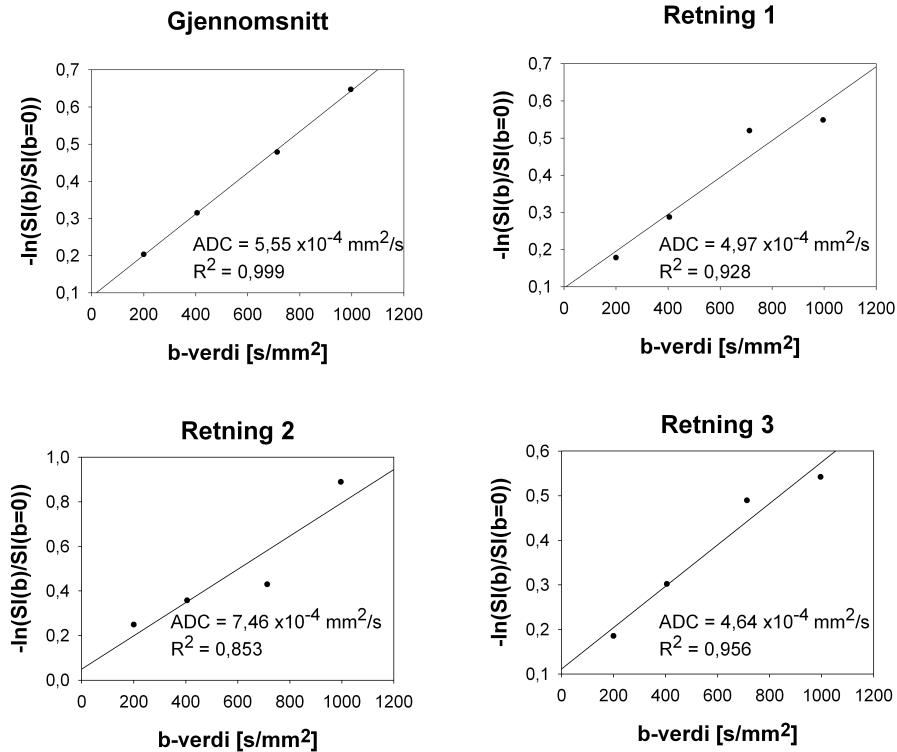
Diffusjon ble målt med tre ulike gradientretninger, retning 1 med koordinater  $[1,0,0]$ , retning 2 med koordinater  $[0,1,0]$  og retning 3 med koordinater  $[0,0,1]$ . Det ble funnet at ADC-verdiene som ble beregnet fra de tre gradientretningene ikke samsvarte. For å vurdere om dette var tilfeldig støy ble en ubehandlet A-07-tumor avbildet med DWI i tre retninger. Ved beregning av  $ADC$ -verdier, ble også  $R^2$ -verdier beregnet. Figur 22 viser frekvenshistogram av beregnede  $ADC$ -verdier for tumoren, med tilhørende frekvenshistogram av  $R^2$ -verdier. Diffusjonen er målt i henholdsvis retning 1, 2 og 3. I tillegg er det brukt gjennomsnittlig signalintensitet fra de tre retningene og beregnet  $ADC$ -verdier ut fra dette.  $R^2$ -verdiene er høyere ved bruk av gjennomsnittet av signalintensitet fra tre retninger enn ved bruk av signalintensitet i én retning.



Figur 22: Det ble beregnet  $ADC$ -verdier med tre ulike gradientretninger, retning 1, retning 2 og retning 3. I tillegg ble  $ADC$  beregnet fra gjennomsnittlig signalintensitet i de tre retningene. Figuren viser frekvenshistogram for beregnede  $ADC$ -verdier i tumor sammen med frekvenshistogram for tilhørende  $R^2$ -verdier. Frekvenshistogram for beregnede  $ADC$ -verdier i en tumor er smalest ved bruk av gjennomsnittlig signalintensitet for tre ulike retninger, både for  $ADC$ -verdier (venstre) og  $R^2$ -verdier (høyre). Median  $ADC$ -verdier og median  $R^2$ -verdier er oppgitt i figurene. Medianverdien er merket av som en vertikal strek i hver figur, tallverdien er oppgitt i figuren. I dette eksempelet er det avbildet en ubehandlet A-07-tumor.

## 4.1 Protokoller

Et eksempel på kurvetilpasning ved bestemmelse av  $ADC$  fra en representativ voksel er vist i figur 23. Signalintensiteten  $SI$  ved DWI er målt i retning 1, retning 2 og retning 3 med fem ulike  $b$ -verdier. Gjennomsnittet av signalintensiteten i de tre retningene er også brukt. Deretter er signalintensiteten omregnet til  $-\ln(SI(b)/SI(b=0))$ , og plottet som funksjon av  $b$ .  $SI(b=0)$  er signalintensiteten i bildet uten diffusjonsvektning. Stigningstallet i grafen angir  $ADC$ -verdi. Grafene viser en dårligere kurvetilpasning ved bestemmelse av  $ADC$ -verdier fra signalintensiteten i enkeltretninger. Bruk av gjennomsnittlig signalintensitet ga høyest  $R^2$ -verdi. Det var tilfeldig hvilken retning som avvek mest.



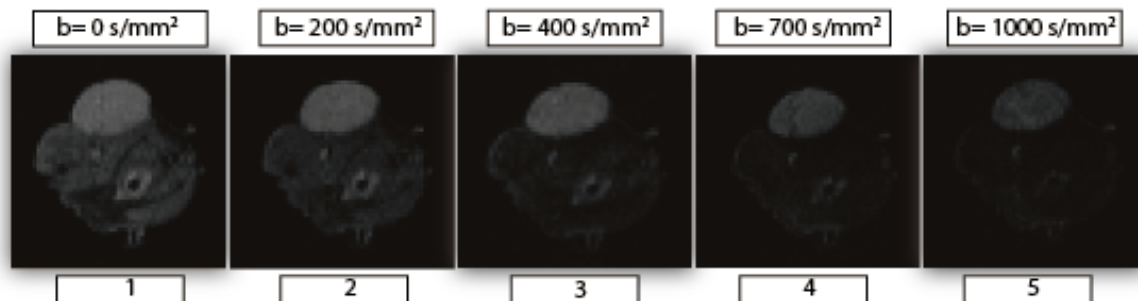
Figur 23: En representativ voksel som viser beregning av  $ADC$ . Signalintensitet er målt i retning 1, retning 2 og retning 3. Gjennomsnittet av signalintensiteten er også brukt. Signalintensiteten er deretter omregnet til  $-\ln(SI(b)/SI(b=0))$  og plottet som funksjon av  $b$ , før kurvetilpasning er gjort. Kurvetilpasningene ved beregning av  $ADC$  var dårligere ved kun å måle diffusjon i én retning. Gjennomsnittlig signalintensitet viser høyest  $R^2$ -verdi.  $ADC$ -verdi og  $R^2$ -verdi er oppgitt i hver figur.

På grunnlag av figur 22 og figur 23 ble det besluttet at diffusjonen skulle måles i tre retninger for så å bruke gjennomsnittlig signalintensitet til beregning av  $ADC$ .



## 4.1 Protokoller

Et eksempel på bilder tatt med den diffusjonsvektede sekvensen vises i figur 24. Bildene viser en synkende signalintensitet med økende  $b$ -verdi.



Figur 24: Eksempel på bilder tatt med den bestemt DWI-sekvensen.  $b$ -verdiene er oppgitt over hvert bilde. Signalintensiteten synker med økende  $b$ -verdi. Lav signalintensitet betyr mer diffusjon som detekteres.

### 4.1.3 Reproduserbarhet

For å vurdere reproduserbarheten av avbildningsprotokollen som var bestemt til DCE-MRI og DWI, ble det gjort to avbildninger med DCE-MRI (DCE-avbildninger) og to avbildninger med DWI (DW-avbildninger). Én ubehandlet A-07-tumor og én ubehandlet leggmuskel uten tumor ble avbildet to ganger med begge sekvensene. DCE-avbildningene ble gjort med én times mellomrom, og DW-avbildningen ble gjort med 15 minutters mellomrom. Ratekonstanten  $K^{trans}$  og fraksjonelt volum av EES,  $v_e$ , ble beregnet fra Tofts modell fra begge DCE-avbildningene. Diffusjonskoeffisienten  $ADC$  ble beregnet fra begge DW-avbildning. Deretter ble  $K^{trans}$ -bildene og  $v_e$ -bildene fra første DCE-avbildning sammenliknet med henholdsvis  $K^{trans}$ -bildene og  $v_e$ -bildene fra andre DCE-avbildning.  $ADC$ -bilder fra første DW-avbildning ble sammenliknet med  $ADC$ -bilder fra andre DW-avbildning. Musen lå i scanneren mellom scanningene, slik at tumor og leggmuskel lå på nøyaktig samme sted ved alle fire avbildningene.

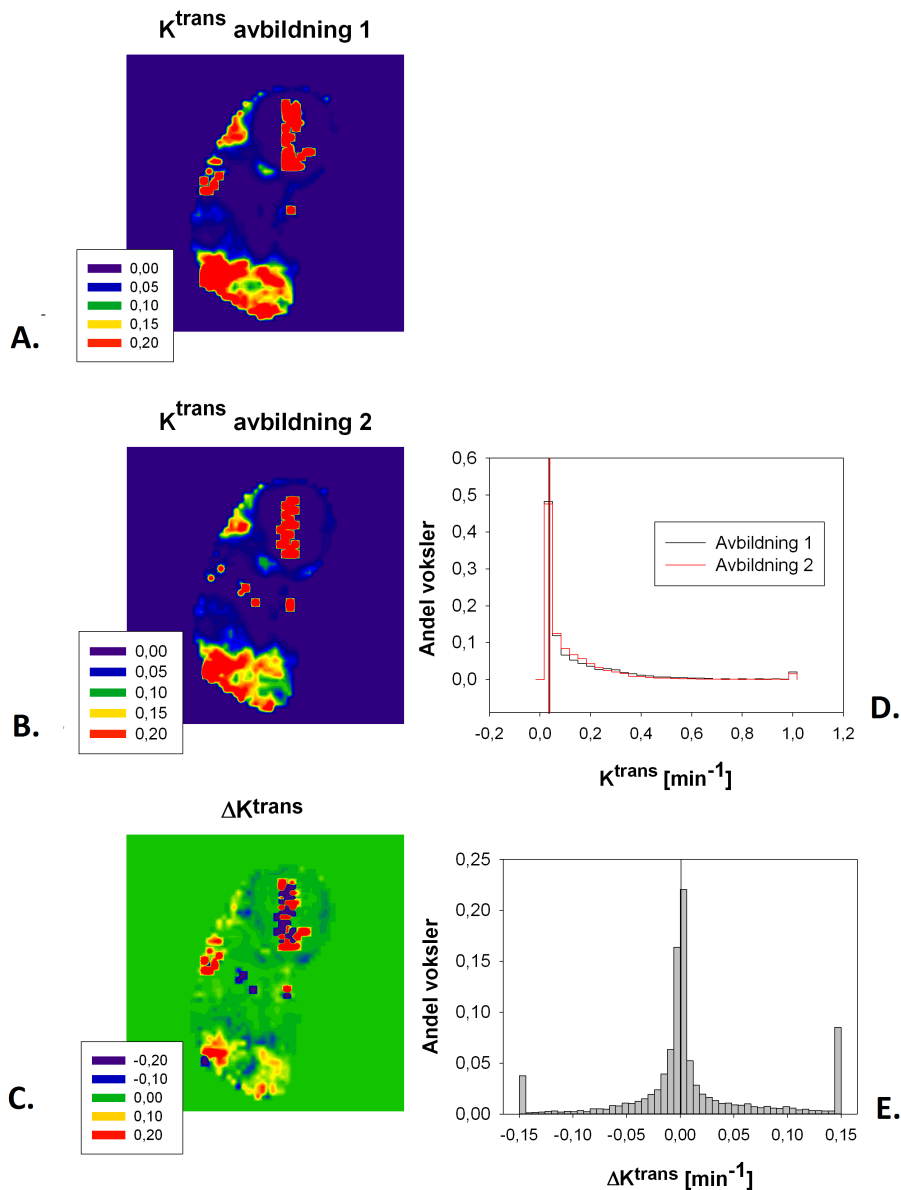
Figur 25 viser  $K^{trans}$ -bilder av et sentralt snitt i tumor beregnet fra henholdsvis DCE-avbildning 1 (A) og DCE-avbildning 2 (B) med tilhørende frekvenshistogram fra begge avbildningene (D). Det ble beregnet vokselvis differanse mellom  $K^{trans}$  fra DCE-

avbildning 1 og  $K^{trans}$  fra DCE-avbildning 2 ( $\Delta K^{trans}$ ) i tumoren (C). Tilhørende frekvenshistogram viser vokselvis differanse av beregnet  $K^{trans}$  i tumoren mellom DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 (E). Figur 25 viser at  $K^{trans}$ -bildet fra DCE-avbildning 2 ligner veldig på  $K^{trans}$ -bildet fra DCE-avbildning 1. Dette bekreftes ved at histogrammene fra begge avbildningene overlapper.  $\Delta K^{trans}$ -bildet viser at det er noe avvik i avbildningene, men at dette avviket er lite. Medianverdiene for tumor fra henholdsvis DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 er  $K^{trans} = 0,037 \text{ min}^{-1}$  og  $K^{trans} = 0,038 \text{ min}^{-1}$ .

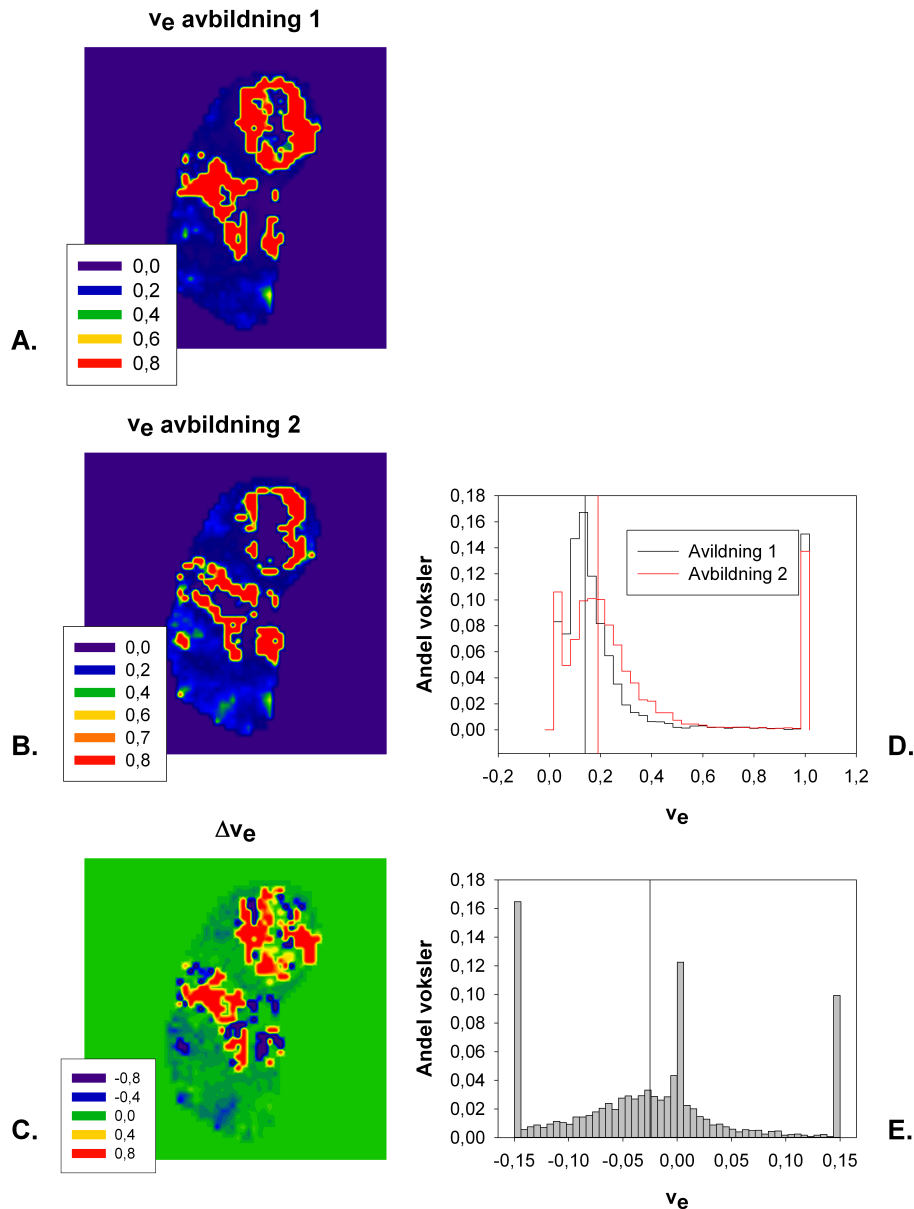
Figur 26 viser  $v_e$ -bilder av et sentralt snitt i tumor beregnet fra henholdsvis DCE-avbildning 1 (A) og DCE-avbildning 2 (B) med tilhørende frekvenshistogram fra begge avbildningene (D). Det ble beregnet vokselvis differanse mellom  $v_e$  fra DCE-avbildning 1 og  $v_e$  fra DCE-avbildning 2 ( $\Delta v_e$ ) i tumoren (C). Tilhørende frekvenshistogram viser vokselvis differanse av beregnet  $v_e$  i tumoren mellom DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 (E). Figur 26 viser at mønstre i  $v_e$ -bildene med høye verdier er synlig på samme sted i begge avbildningene, og at histogrammene overlapper ganske bra. Plottene i figur 26 viser at  $v_e$  var noe høyere ved avbildning 2 enn ved avbildning 1. Medianverdiene for tumor fra henholdsvis DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 er  $v_e = 0,14$  og  $v_e = 0,19$ .

Figur 27 viser  $ADC$ -bilder av et sentralt snitt i tumor beregnet fra henholdsvis DW-avbildning 1 (A) og DW-avbildning 2 (B) med tilhørende frekvenshistogram fra begge avbildningene (D). Det ble beregnet vokselvis differanse mellom  $ADC$  fra DW-avbildning 1 og  $ADC$  fra DW-avbildning 2 ( $\Delta ADC$ ) i tumoren (C). Tilhørende frekvenshistogram viser vokselvis differanse av beregnede  $ADC$  i tumoren mellom DW-avbildning 1 og DW-avbildning 2 (E). Figur 27 illustrerer at områder med høy  $ADC$  fremkommer på samme sted begge DW-avbildningene. Histogrammene overlapper også her bra, men viser en liten reduksjon i  $ADC$  i avbildning 2 i forhold til avbildning 1. Medianverdiene for tumor fra henholdsvis DW-avbildning 1 og DW-avbildning 2 er  $ADC = 0,00079 \text{ mm}^2/\text{s}$  og  $ADC = 0,00076 \text{ mm}^2/\text{s}$ .

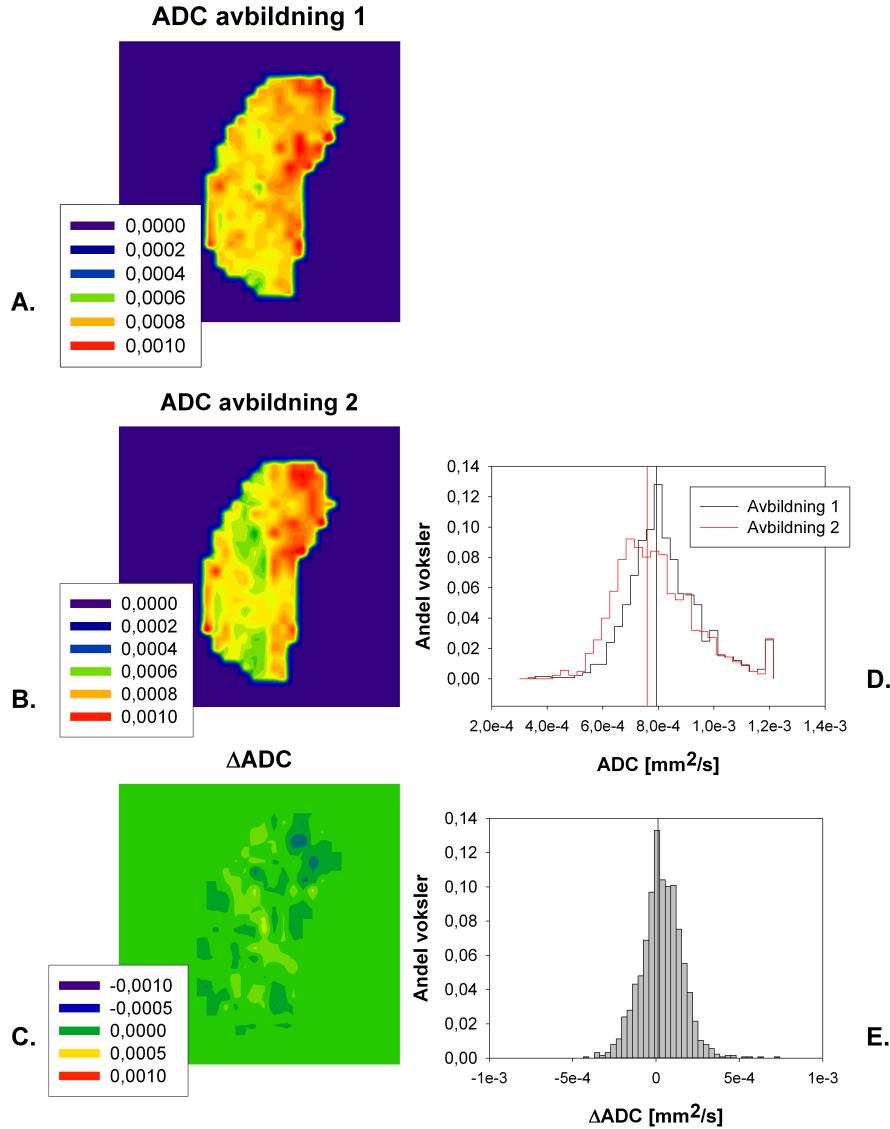
Figur 25, 26 og 27 viser gode reproduserbare resultater for tumor ved bruk av den bestemte avbildningsprotokollen med DCE-MRI og DWI.



Figur 25: To DCE-avbildninger av en ubehandlet A-07-tumor ble gjort. Figuren viser fordeling av ratekonstanten  $K^{trans}$  for begge avbildningene. Figur A viser  $K^{trans}$ -bilde for et sentralt snitt av tumoren fra DCE-avbildning 1, og figur B viser  $K^{trans}$ -bilde for det sentrale snittet av tumoren fra DCE-avbildning 2. Tilhørende frekvenshistogram for hele tumor fra begge avbildningene er vist i figur D. Vokslene ligger på samme sted ved begge avbildningene og er derfor direkte sammenliknbare. Differansen mellom  $K^{trans}$  fra første DCE-avbildning og andre DCE-avbildning for hver voksle er beregnet ( $\Delta K^{trans}$ ), og resultatet for differansen fra det sentrale snittet vises i figur C med tilhørende differansefrekvenshistogram (E). Vertikal strek i histogrammene viser medianverdier.  $K^{trans} > 1$  er satt til 1 i histogrammet (D) og  $|\Delta K^{trans}| > 0,15$  er satt til  $\pm 0,15$  i differanse-histogrammet (E). Medianverdiene fra henholdsvis DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 er Medianverdiene for tumor i henholdsvis DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 er  $K^{trans} = 0,037 \text{ min}^{-1}$  og  $K^{trans} = 0,038 \text{ min}^{-1}$ . Skaleringen er oppgitt i figurene.



Figur 26: To DCE-avbildninger av en ubehandlet A-07-tumor ble gjort. Figuren viser fordeling av fraksjonelt volum av EES,  $v_e$ . Figur A viser  $v_e$ -bilde for et sentralt snitt av tumoren fra DCE-avbildning 1, og figur B viser  $v_e$ -bilde for det sentrale snittet av tumoren fra DCE-avbildning 2. Tilhørende frekvenshistogram for hele tumor fra begge avbildningene er vist i figur D. Vokslene ligger på samme sted ved begge avbildningene og er derfor direkte sammenliknbare. Differansen mellom  $v_e$  fra første DCE-avbildning og andre DCE-avbildning for hver veksle er beregnet ( $\Delta v_e$ ), og resultatet for differansen fra det sentrale snittet vises i figur C med tilhørende differanse-frekvenshistogram (E). Vertikal strek i histogrammene viser medianverdier.  $v_e > 1$  er satt til 1 i histogrammet (D) og  $|\Delta v_e| > 0,15$  er satt til  $\pm 0,15$  i differanse-histogrammet (E). Medianverdiene for tumor fra henholdsvis DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 er  $v_e = 0,14$  og  $v_e = 0,19$ . Skaleringen er oppgitt i figurene.



Figur 27: To DW-avbildninger av en ubehandlet A-07-tumor ble gjort. Figuren viser fordeling av diffusjonskoeffisienten  $ADC$  i tumor. Figur A viser  $ADC$ -bilde for et sentralt snitt av tumoren fra DW-avbildning 1. Figur B viser  $ADC$ -bilde for det sentrale snittet av tumoren fra DW-avbildning 2. Tilhørende frekvenshistogram for hele tumor fra begge avbildningene er vist i figur D. Vokslene ligger på samme sted ved begge avbildningene og er derfor direkte sammenliknbare. Differansen mellom  $ADC$  fra første DW-avbildning og andre DW-avbildning for hver voksle er beregnet ( $\Delta ADC$ ), og resultatet fra det sentrale snittet vises i figur C med tilhørende differanse-frekvenshistogram fra hele tumor (E). Vertikal strek i histogrammene viser medianverdier for hele tumor.  $ADC > 0,0012$  er satt til 0,0012 i histogrammet (D). Medianverdiene for tumor fra henholdsvis DW-avbildning 1 og DW-avbildning 2 er  $ADC = 0,00079 \text{ mm}^2/\text{s}$  og  $ADC = 0,00076 \text{ mm}^2/\text{s}$ . Skaleringen er oppgitt i figurene.

Figur 25 viser  $K^{trans}$ -bilder av et representativt snitt i en muskel uten tumor i en ubehandlet mus.  $K^{trans}$  ble beregnet fra henholdsvis DCE-avbildning 1 (A) og DCE-avbildning 2 (B) med tilhørende frekvenshistogram fra begge avbildningene (D). Det ble beregnet vokselvis differanse mellom  $K^{trans}$  fra DCE-avbildning 1 og  $K^{trans}$  fra DCE-avbildning 2 ( $\Delta K^{trans}$ ) i muskel (C). Tilhørende frekvenshistogram viser vokselvis differanse av beregnet  $K^{trans}$  i muskel mellom DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 (E). Figur 28 viser at  $K^{trans}$ -bildet fra DCE-avbildning 2 ligner på  $K^{trans}$ -bildet fra DCE-avbildning 1. Histogrammene fra begge avbildningene overlapper.  $\Delta K^{trans}$  viser at det er noe avvik i avbildningene i områder i muskelen med høy  $K^{trans}$ . Medianverdien for muskelen i henholdsvis DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 er  $K^{trans} = 0,12 \text{ min}^{-1}$  og  $K^{trans} = 0,11 \text{ min}^{-1}$ .

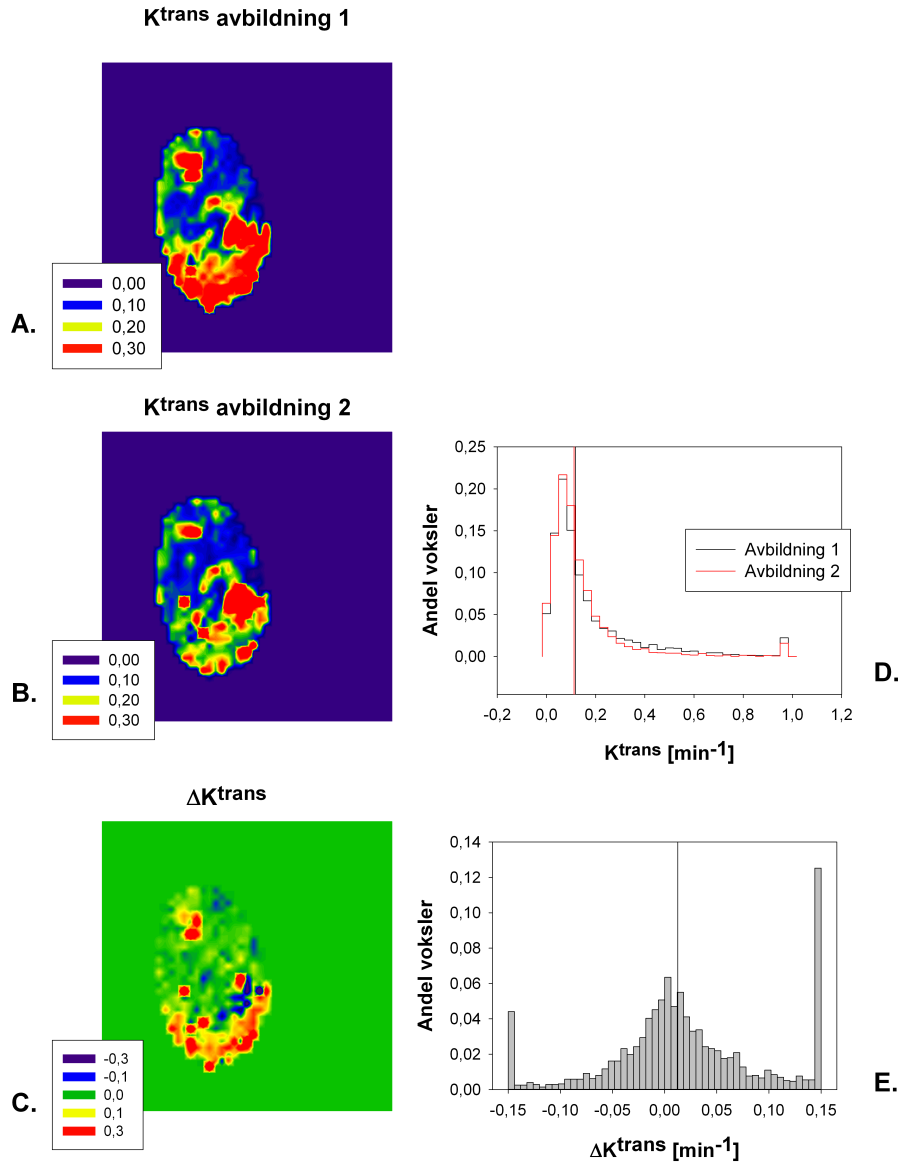
Figur 29 viser  $v_e$ -bilder av et representativt snitt i muskel beregnet fra henholdsvis DCE-avbildning 1 (A) og DCE-avbildning 2 (B) med tilhørende frekvenshistogram fra begge avbildningene (D). Det ble beregnet vokselvis differanse mellom  $v_e$  fra DCE-avbildning 1 og  $v_e$  fra DCE-avbildning 2 ( $\Delta v_e$ ) i muskel (C). Tilhørende frekvenshistogram viser vokselvis differanse av beregnet  $v_e$  i muskel mellom DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 (E). Figur 29 viser at  $v_e$ -bildet fra DCE-avbildning 2 ligner veldig på  $v_e$ -bildet fra DCE-avbildning 1. Histogrammene fra begge avbildningene overlapper nesten helt.  $\Delta v_e$  viser at det er noe avvik i avbildningene i områder med høy  $v_e$  i muskel. Medianverdien for muskelen i henholdsvis DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 er  $v_e = 0,065$  og  $v_e = 0,056$ .

Figur 30 viser  $ADC$ -bilder av et representativt snitt i muskel beregnet fra henholdsvis DW-avbildning 1 (A) og DW-avbildning 2 (B) med tilhørende frekvenshistogram fra begge avbildningene (D). Det ble beregnet vokselvis differanse mellom  $ADC$  fra DW-avbildning 1 og  $ADC$  fra DW-avbildning 2 ( $\Delta ADC$ ) i muskel (C). Tilhørende frekvenshistogram viser vokselvis differanse av beregnet  $ADC$  i muskel mellom DW-avbildning 1 og DW-avbildning 2 (E). Figur 30 viser at  $ADC$ -bildet fra DW-avbildning 2 ligner veldig på  $ADC$ -bildet fra DW-avbildning 1. Histogrammene fra begge avbildningene overlapper nesten helt.  $\Delta ADC$  viser at det er noe avvik i avbildningene i områder med høy

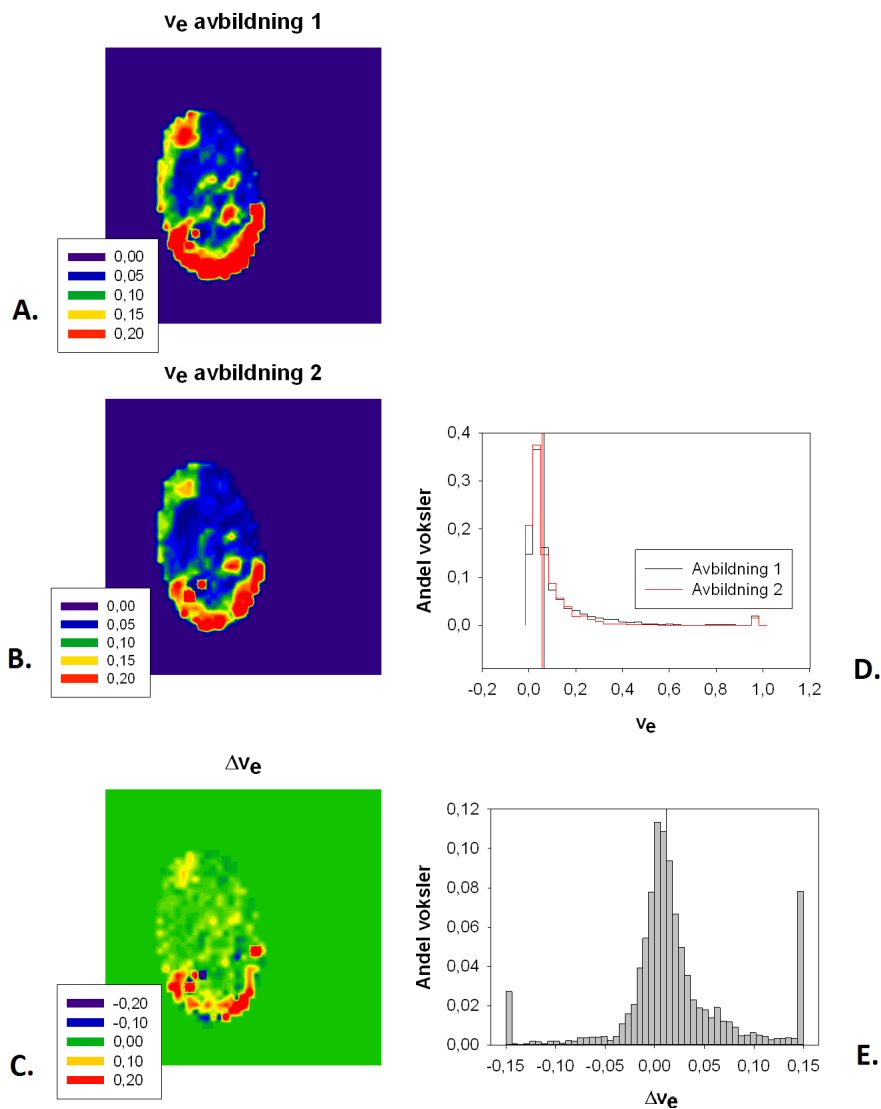
$ADC$  i muskel. Medianverdiene for muskelen fra henholdsvis DW-avbildning 1 og DW-avbildning 2 er  $ADC = 0,0013 \text{ mm}^2/\text{s}$  og  $ADC = 0,0013 \text{ mm}^2/\text{s}$ .

Figur 28, 29 og 30 viser gode reproduserbare resultater også for muskel ved bruk av den bestemte avbildningsprotokollen med DCE-MRI og DWI.

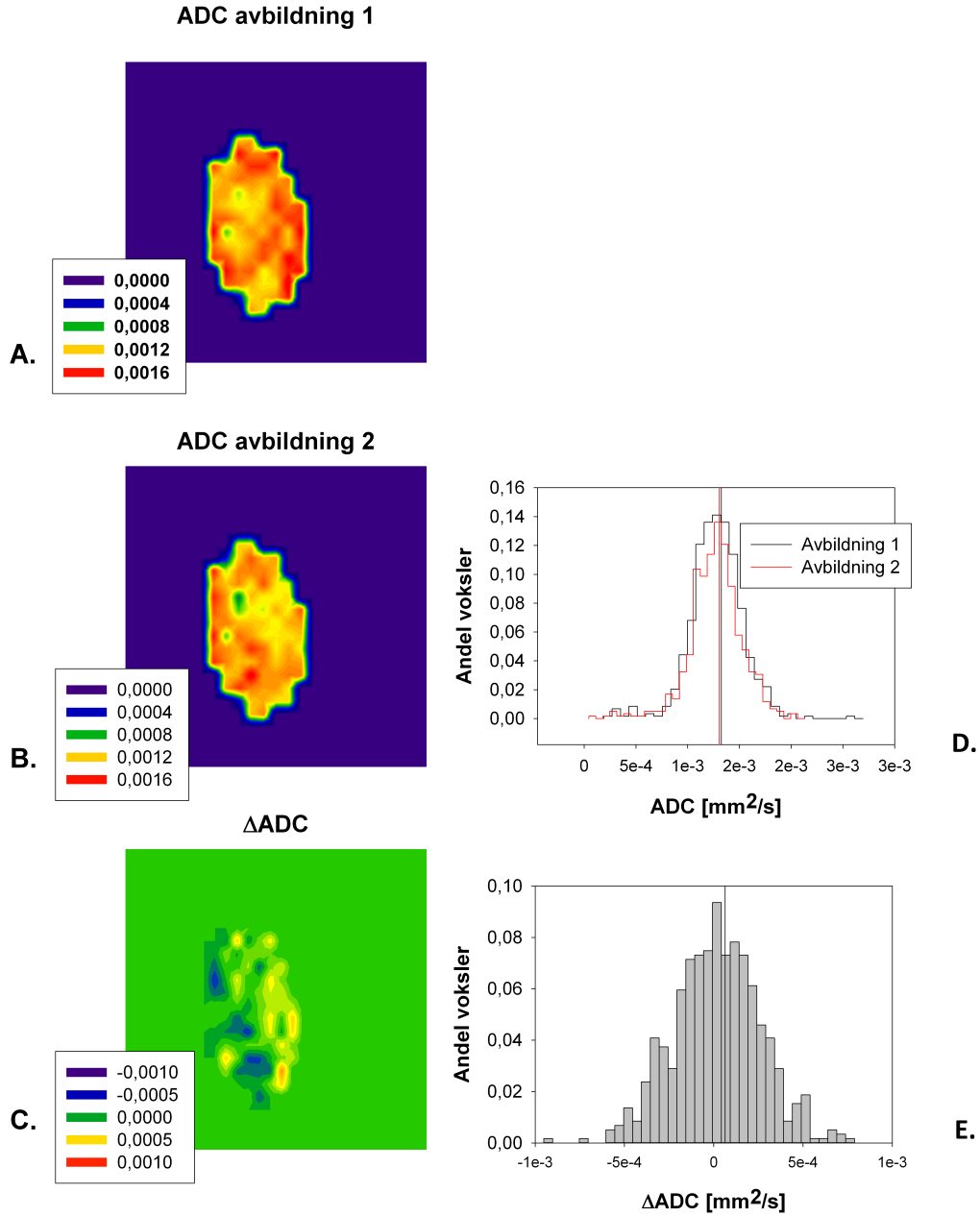




Figur 28: Reproduserbarhet av ratekonstanten  $K^{trans}$  i en muskel uten tumor i en ubehandlet mus. Figur A viser beregnet  $K^{trans}$  for et representativt snitt i muskel fra DCE-avbildning 1, og figur B viser beregnet  $K^{trans}$  for det sentrale snittet av muskelen fra DCE-avbildning 2. Tilhørende frekvenshistogram for hele muskelen fra begge avbildningene er vist i figur D. Vokslene ligger på samme sted ved begge avbildningene og er derfor direkte sammenliknbare. Differansen av  $K^{trans}$  mellom avbildning 1 og 2 for hver voksel er beregnet ( $\Delta K^{trans}$ ), og  $\Delta K^{trans}$ -bildet for det sentrale snittet vises i figur C med tilhørende differanse-frekvenshistogram for hele muskelen (E). Vertikal strek i histogrammene viser medianverdier for hele muskelen.  $K^{trans} > 1$  er satt til 1 i histogrammet (D) og  $|\Delta K^{trans}| > 0,15$  er satt til  $\pm 0,15$  i differanse-histogrammet (E). Medianverdien for muskelen i henholdsvis DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 er  $K^{trans} = 0,12 \text{ min}^{-1}$  og  $K^{trans} = 0,11 \text{ min}^{-1}$ . Skaleringen er oppgitt i figurene.



Figur 29: Reproduserbarhet av fraksjonelt volum av EES,  $v_e$ , i en muskel uten tumor i en ubehandlet mus. Bilde A viser beregnet  $v_e$  for et representativt snitt av muskelen fra DCE-avbildning 1, bilde B viser beregnet  $v_e$  for det samme snittet av muskelen fra DCE-avbildning 2. Tilhørende frekvenshistogram for hele muskelen fra begge avbildningene er vist i figur D. Vokslene ligger på samme sted ved begge avbildningene og er derfor direkte sammenliknbare. Differansen av  $v_e$  mellom avbildning 1 og 2 for hver voksel er beregnet ( $\Delta v_e$ ), og resultatet fra det sentrale snittet vises i figur C med tilhørende differanse-frekvenshistogram for hele muskelen (E). Vertikal strek i histogrammene viser medianverdier for hele muskelen.  $v_e > 1$  er satt til 1 histogrammet (D) og  $|\Delta v_e| > 0,15$  er satt til  $\pm 0,15$  i differanse-histogrammet (E). Medianverdien for muskelen i henholdsvis DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 er  $v_e = 0,065$  og  $v_e = 0,056$ . Skaleringen er oppgitt i figurene.

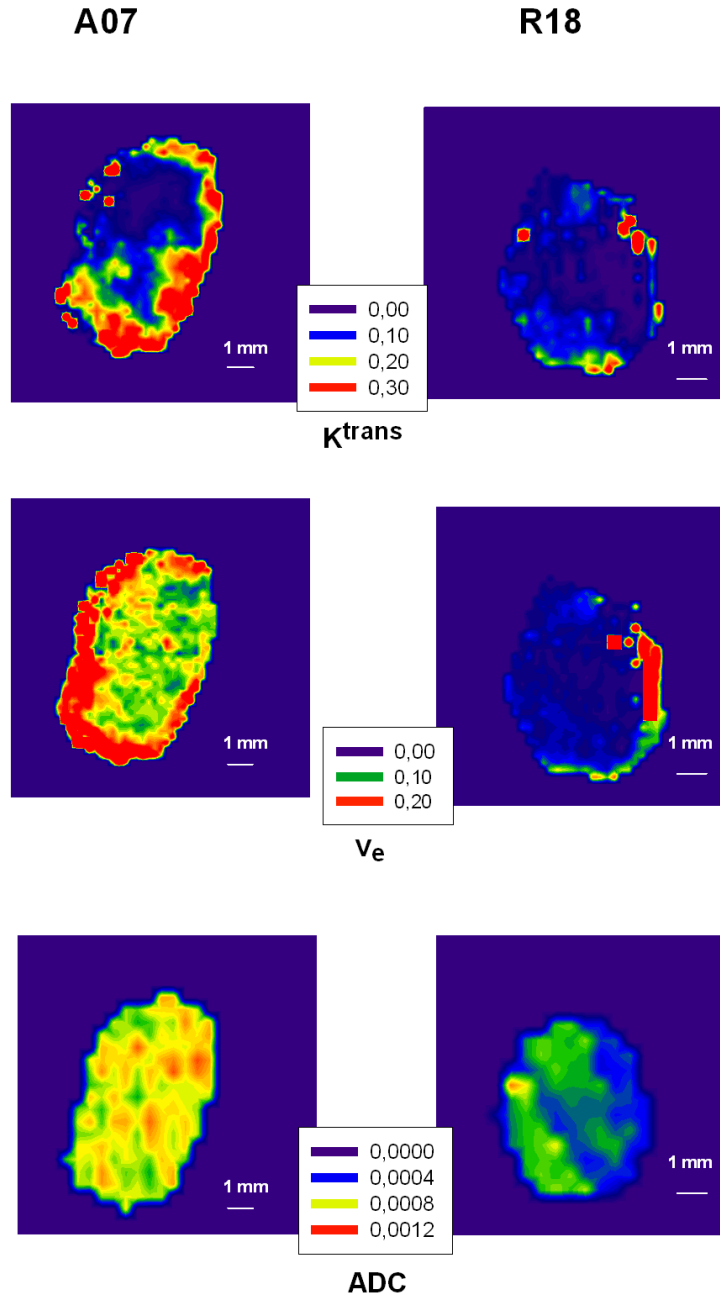


Figur 30: Reproduserbarhet av diffusjonskoeffisienten  $ADC$  i en muskel uten tumor i en ubehandlet mus.. Bilde A viser beregnet  $ADC$  for et representativt snitt av muskel fra DW-avbildning 1, bilde B viser beregnet  $ADC$  for det samme snittet av muskelen fra DW-avbildning 2. Tilhørende frekvenshistogram for hele muskelen fra begge avbildningene er vist i figur D. Vokslene ligger på samme sted ved begge avbildningene og er derfor direkte sammenliknbare. Differansen av  $ADC$  mellom avbildning en og to for hver voksle er beregnet ( $\Delta ADC$ ), og resultatet fra det sentrale snittet vises i figur C med tilhørende differanse-frekvenshistogram for hele muskelen. Vertikal strek i histogrammene viser medianverdier for hele muskelen. Medianverdiene for muskelen fra henholdsvis DW-avbildning 1 og DW-avbildning 2 er  $ADC = 0,0013 \text{ mm}^2/\text{s}$  og  $ADC = 0,0013 \text{ mm}^2/\text{s}$ . Skaleringen er oppgitt i figurene.

### 4.2 Sammenlikning av tumorlinjer

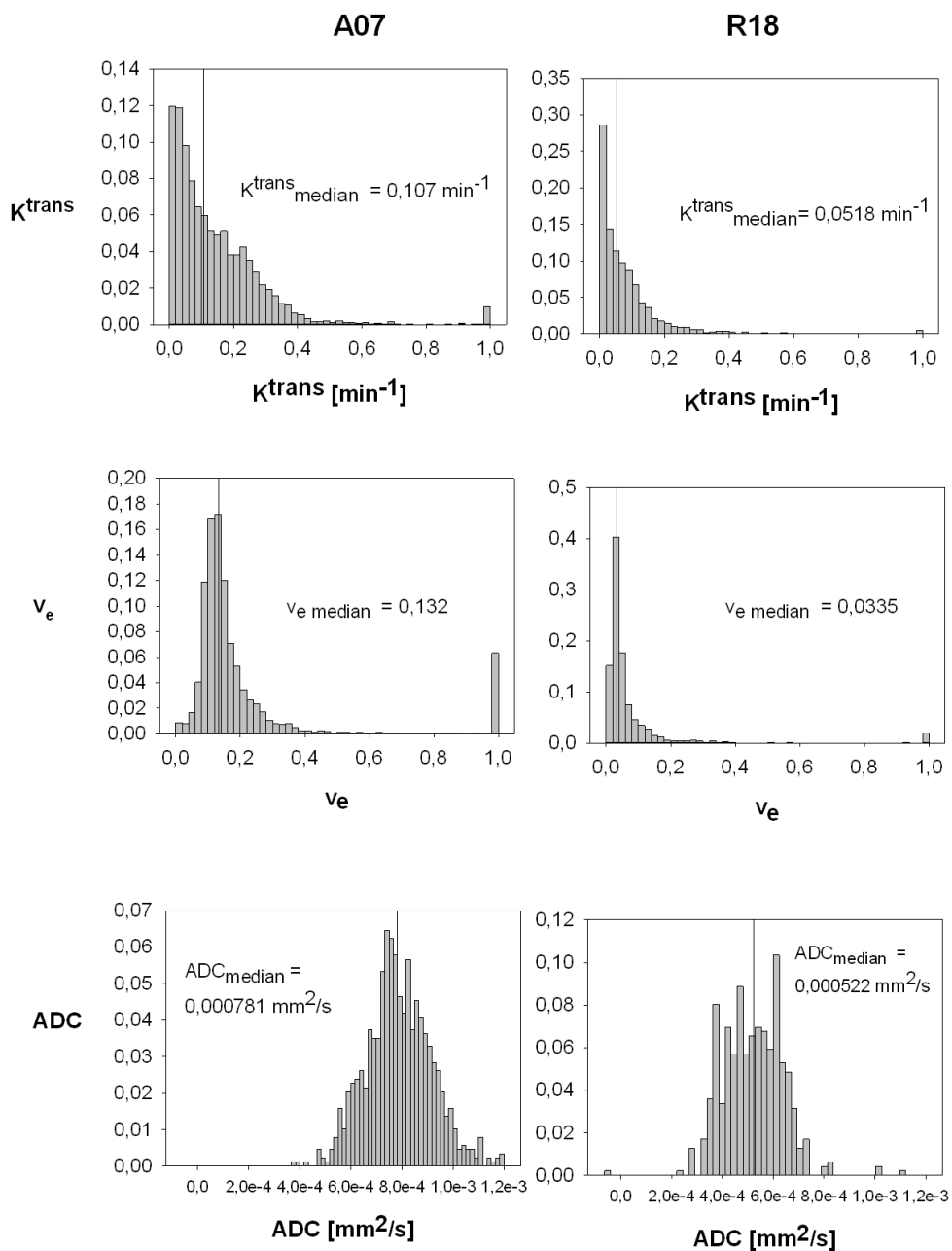
To tumorlinjer ble benyttet i denne studien, A-07 og R-18. De to tumorlinjene er tidligere vist å være forskjellige i flere fysiologiske parametre [31]. For å teste om avbildningsprotokollen kunne fange opp disse ulikhetene, ble avbildninger av A-07 før behandlingsstart sammenliknet med avbildninger av R-18. Figur 32 viser at R-18-tumorer har signifikant lavere  $K^{trans}$ ,  $v_e$  og  $ADC$ -verdier. Volumdoblingstiden er beregnet fra målte tumorvolum for alle ubehandlede tumorene før behandlingsstart, og ved dag 3 og dag 7. Det er antatt en eksponentiell vekst. Det er nært signifikant forskjell i volumdoblingstid ( $P=0,06$ ).

Figur 31 viser bilder av henholdsvis  $K^{trans}$ ,  $v_e$  og  $ADC$  fra sentrale snitt til to representative A-07- og R-18-tumorer. Tilhørende frekvenshistogram fra hele tumorene er vist i figur 32.

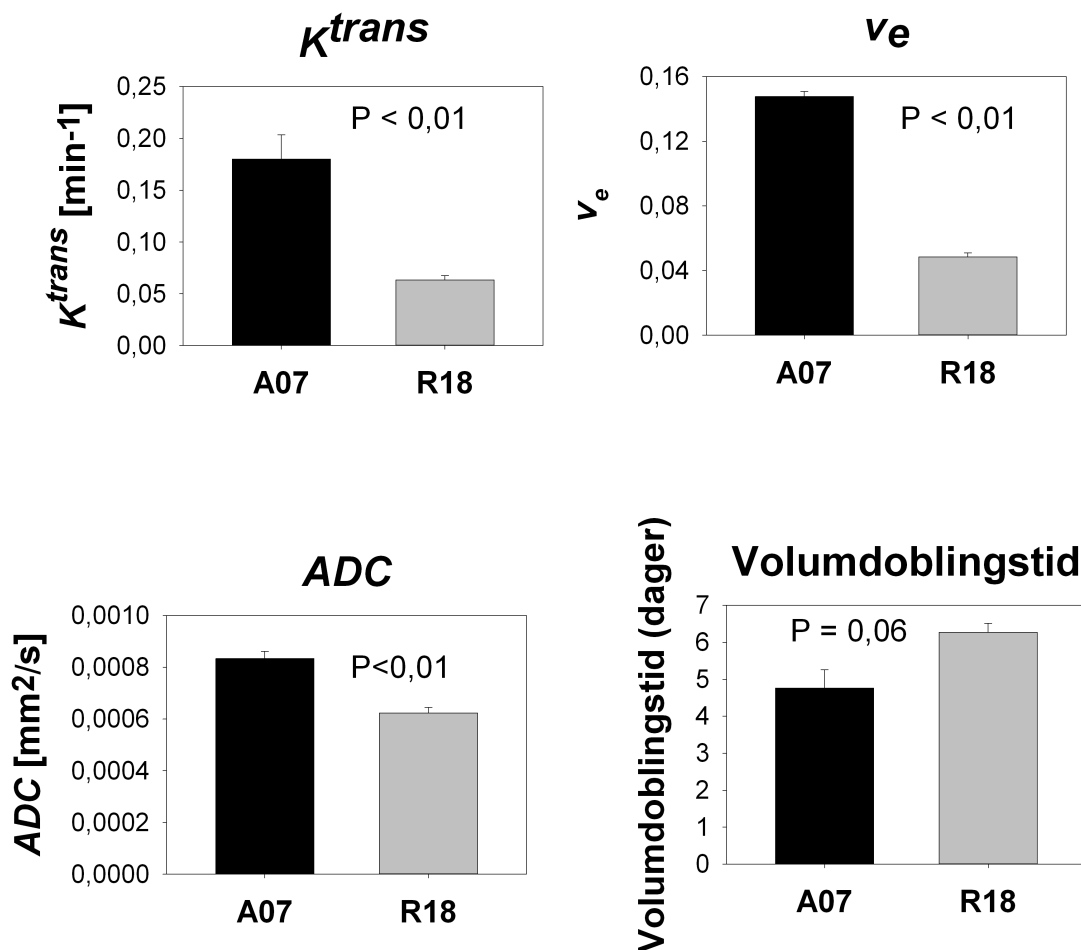


Figur 31:  $K^{trans}$ ,  $v_e$  og  $ADC$ -bilder av en representativ ubehandlet A-07-tumor (venstre) og en representativ ubehandlet R-18-tumor (høyre).  $K^{trans}$ ,  $v_e$  og  $ADC$ -bildene er viser sentralt snitt av tumor. Tilhørende frekvenshistogram for hele tumor er vist i figur 32. Skaleringen er oppgitt i figurene.

## 4.2 Sammenlikning av tumorlinjer



Figur 32: Frekvenshistogram for representative tumorer fra hver tumorlinje. A-07 til venstre og R-18 til høyre. Verdier høyere enn 1 er satt til å være 1. Den vertikale streken i histogrammene viser medianverdien av parameteren for hele tumor. Medianverdien er oppgitt i hver figur.



Figur 33: Det er gjort en sammenlikning av A-07 (svart) og R-18 (grå) ved å evaluere median  $K^{trans}$ -,  $v_e$ - og ADC-verdier fra hver tumorlinje av alle tumorene før behandlingsstart. Det er i tillegg beregnet volumdoblingstid i behandlingsperioden (dag 0-dag 7) for begge tumorlinjene ved å anta en eksponentiell tumorvekst. R-18 har signifikant lavere verdi enn A-07 av både  $K^{trans}$ ,  $v_e$  og ADC. Det er nært signifikant forskjell i volumdoblingstid mellom tumorlinjene ( $P = 0,06$ ). Barene representerer gjennomsnittsverdi av hver parameter i hver gruppe og errorbarene er standardfeil.

## 4.3 Effekt av behandling

Det ble gjort avbildning før behandlingsstart (dag 0), og tre og syv dager etter behandlingsstart. Avastin ble gitt etter avbildning på dag 0 og dag 3.

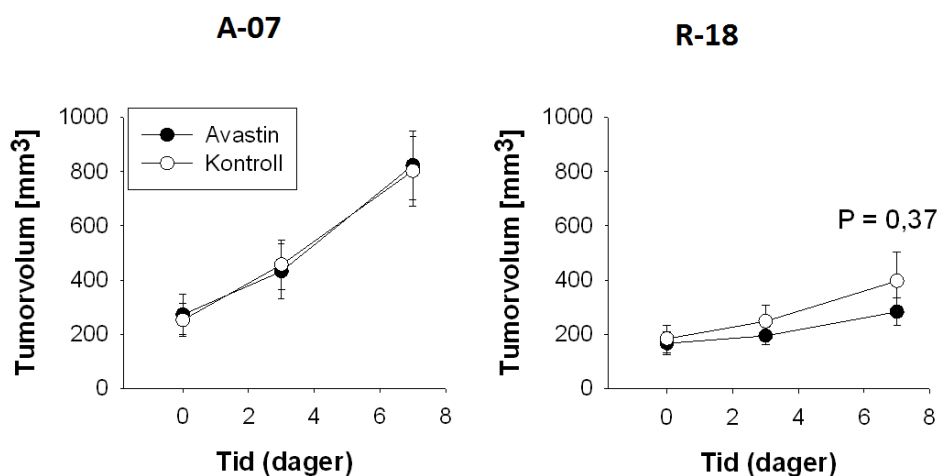
### 4.3.1 Tumorvekst

Tumorumvolum ble målt i MR-bildene som ble tatt. De ubehandlede og behandlede tumorene hadde ikke signifikant forskjellig volum ved noen av disse tidspunktene, se figur 34.

### 4.3 Effekt av behandling

Dette kan indikere at behandlingen med Avastin ikke påvirker tumorvekst over en så kort behandlingsperiode.

Veksthastigheten til de behandlede R-18-tumorene viser en tendens til å være lavere enn veksthastigheten til de ubehandlede R-18-tumorene, men forskjellen i volum er ikke signifikant ved dag 7 ( $P = 0,37$ ).



Figur 34: Volum av tumorene ble målt fra MR-bilder tatt før behandlingsstart (dag 0) deretter før behandling tre og syv dager etter behandlingsstart. Musene ble behandlet med Avastin etter avbildning på dag 0 og dag 3. Tumorvekst blir ikke signifikant påvirket av behandlingen. Behandlede R-18-tumorer viser en tendens til å ha redusert tumorvekst sammenliknet med ubehandlede R-18-tumorer, men avviket i tumorvolum er ikke signifikant ( $P = 0,37$ ). Punktene er gjennomsnittlig volum for alle tumorene i hver gruppe. Errorbarene angir standardfeil.

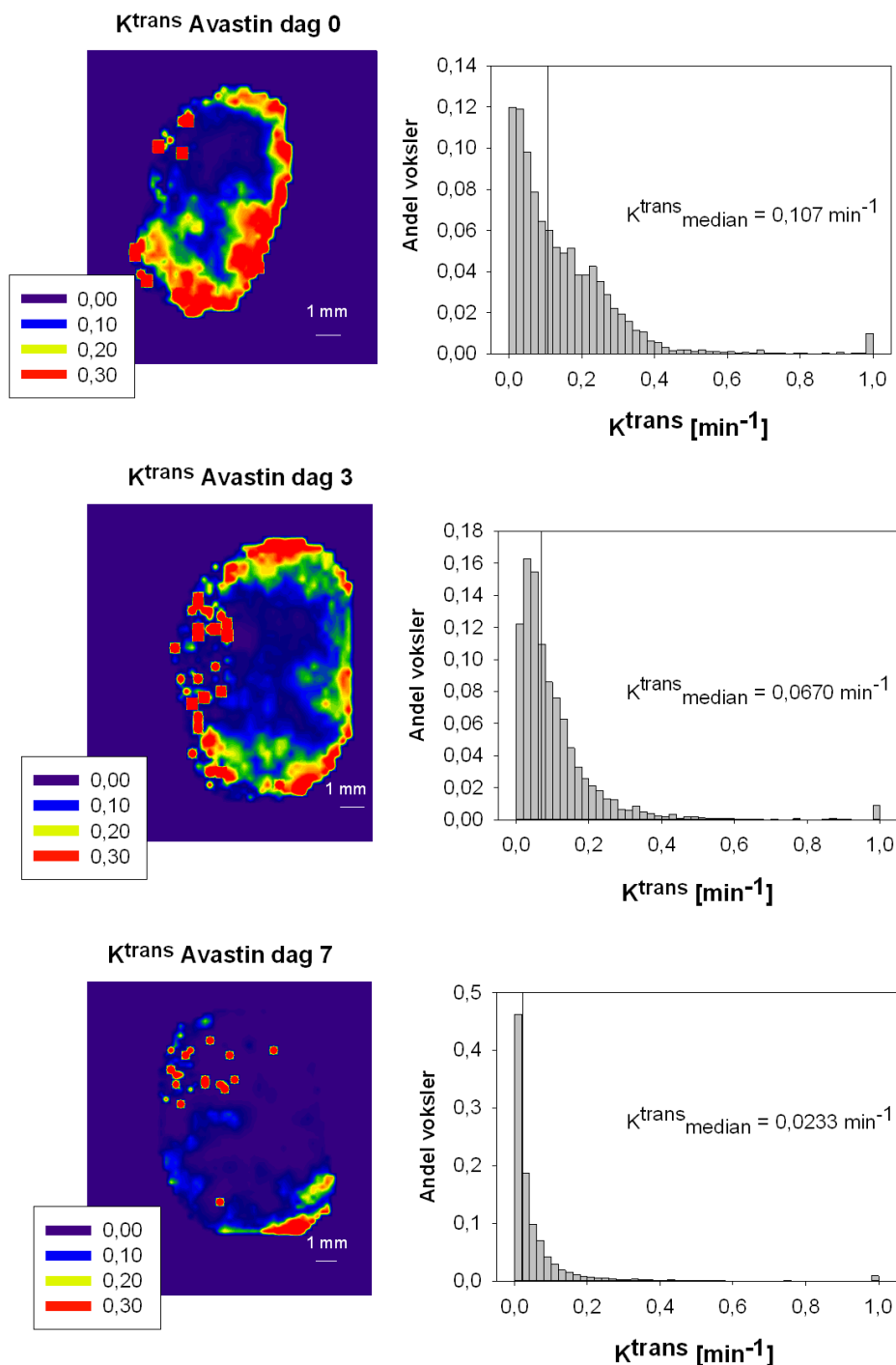
#### 4.3.2 Evaluering av $K^{trans}$

$K^{trans}$ -verdier ble beregnet for alle tumorene før behandlingsstart (dag 0) og dag 3 og dag 7. Medianverdier av  $K^{trans}$  for hver tumor ble beregnet, og disse ble sammenliknet. Det ble funnet at behandlingen hadde en tendens til å redusere ratekonstanten  $K^{trans}$  både i A-07-tumorer og R-18-tumorer.

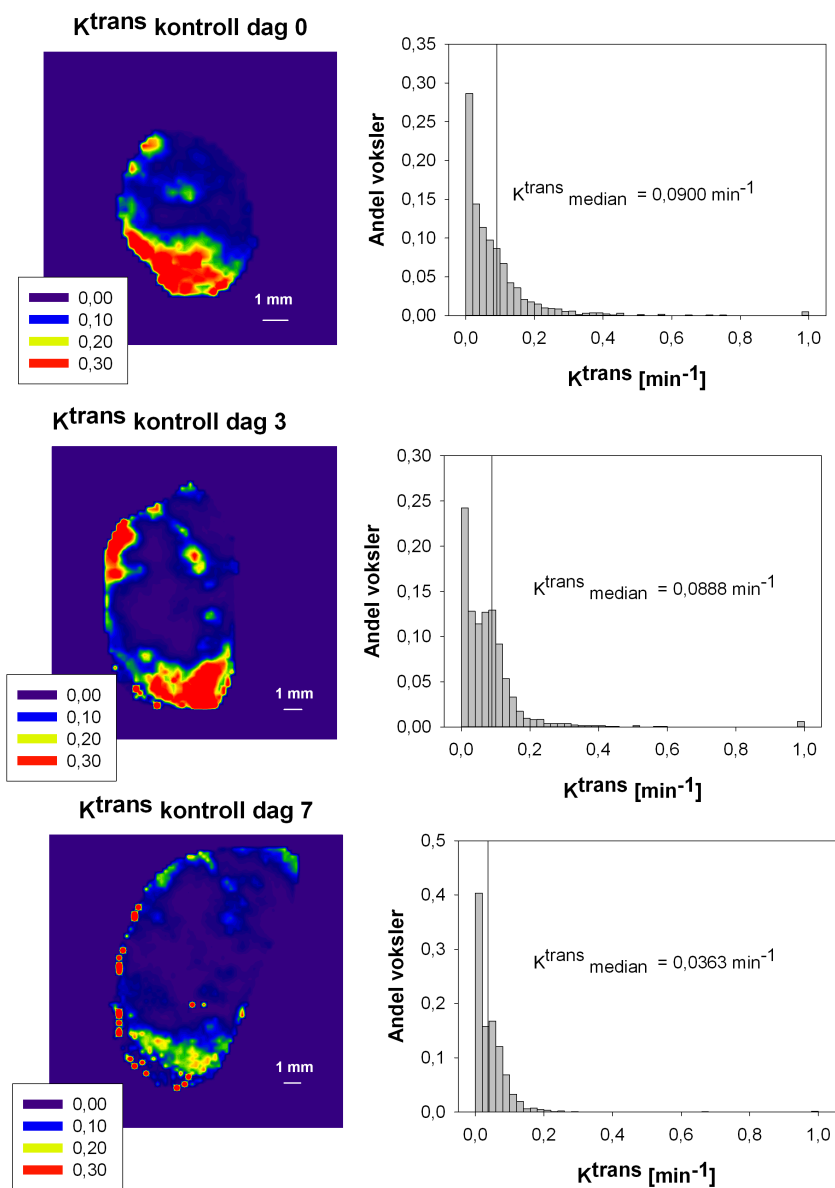


Figur 35 og figur 36 viser to representative A-07-tumorer, én behandlet tumor og én ubehandlet tumor.  $K^{trans}$ -bildene er fra et sentralt snitt fra før behandlingsstart (dag 0), og fra dag 3 og dag 7. Bildene illustrerer at  $K^{trans}$  er lavere ved dag 7 enn dag 0 både for den behandlede og den ubehandlede tumoren. Den behandlede tumorene viser tendens til en større reduksjon i  $K^{trans}$  enn det den ubehandlede. Tilhørende frekvenshistogram for hele tumor vises til høyre i figuren.

### 4.3 Effekt av behandling



Figur 35: En representativ A-07 tumor som er behandlet med Avastin.  $K^{trans}$ -bilder er fra et sentralt snitt i tumor, og tilhørende frekvenshistogram er for hele tumor. Avbildning er gjort før behandlingsstart (dag 0), og på dag 3 og dag 7. Det er behandlet med Avastin etter avbildning på dag 0 og dag 3. Skaleringen er oppgitt i figuren. Den vertikale streken i histogrammene viser median  $K^{trans}$ -verdi for tumorene. Medianverdiene er oppgitt i plottene.  $K^{trans} > 1$  er satt til 1 i histogrammet.



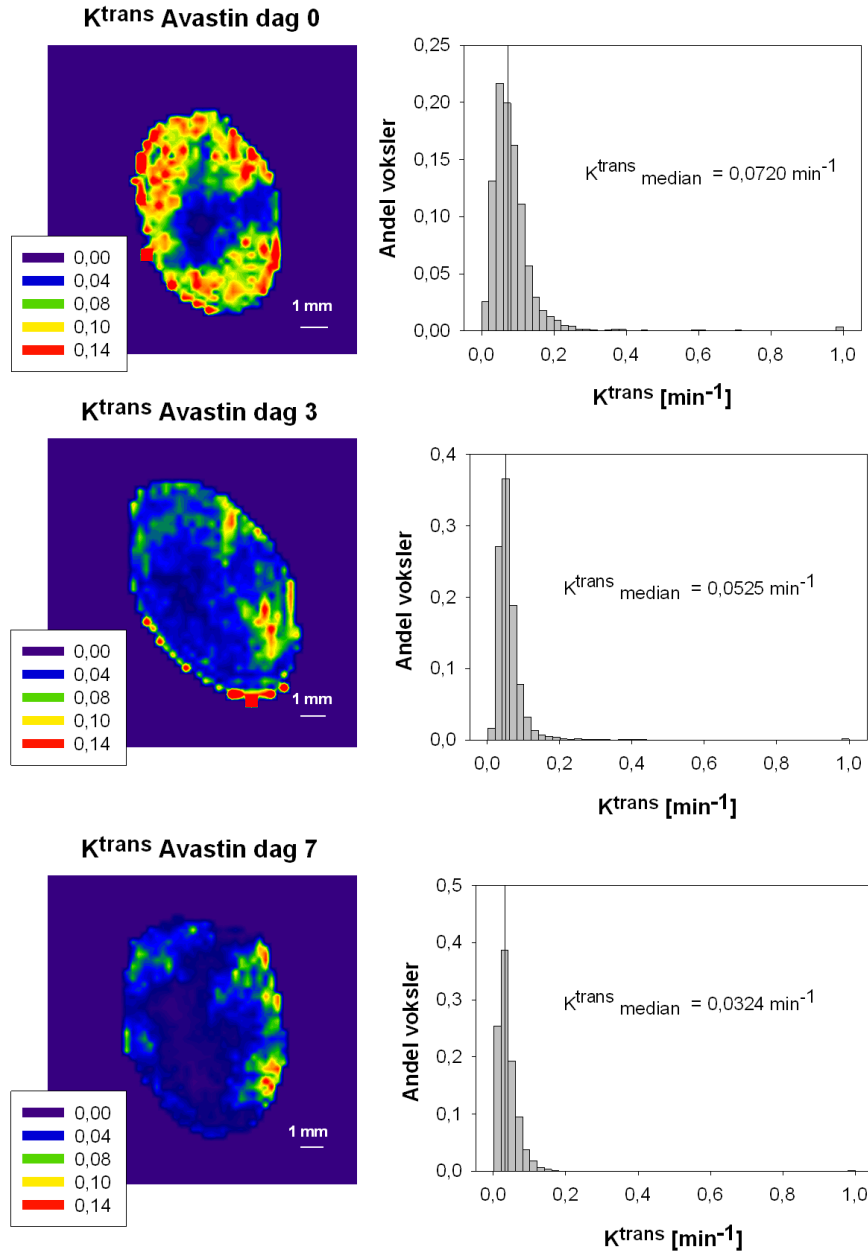
Figur 36: En representativ A-07-tumor fra kontrollgruppen.  $K^{trans}$ -bilder er fra et sentralt snitt i tumor, og tilhørende frekvenshistogram er for hele tumor. Bildene er fra dag 0, dag 3 og dag 7, og illustrerer at de ubehandlede tumorene ikke har like mye reduksjon i  $K^{trans}$  fra dag 0 til dag 7 i forhold til  $K^{trans}$  i for behandlede A-07 i samme periode (figur 35). Kontrollgruppen fikk injisert fysiologisk saltvann etter avbildning på dag 0 og dag 3. Skaleringen er oppgitt i figuren. Den vertikale streken i histogrammene viser median  $K^{trans}$ -verdi for tumorene. Medianverdiene er oppgitt i plottene.  $K^{trans} > 1$  er satt til 1 i histogrammet.

### 4.3 Effekt av behandling

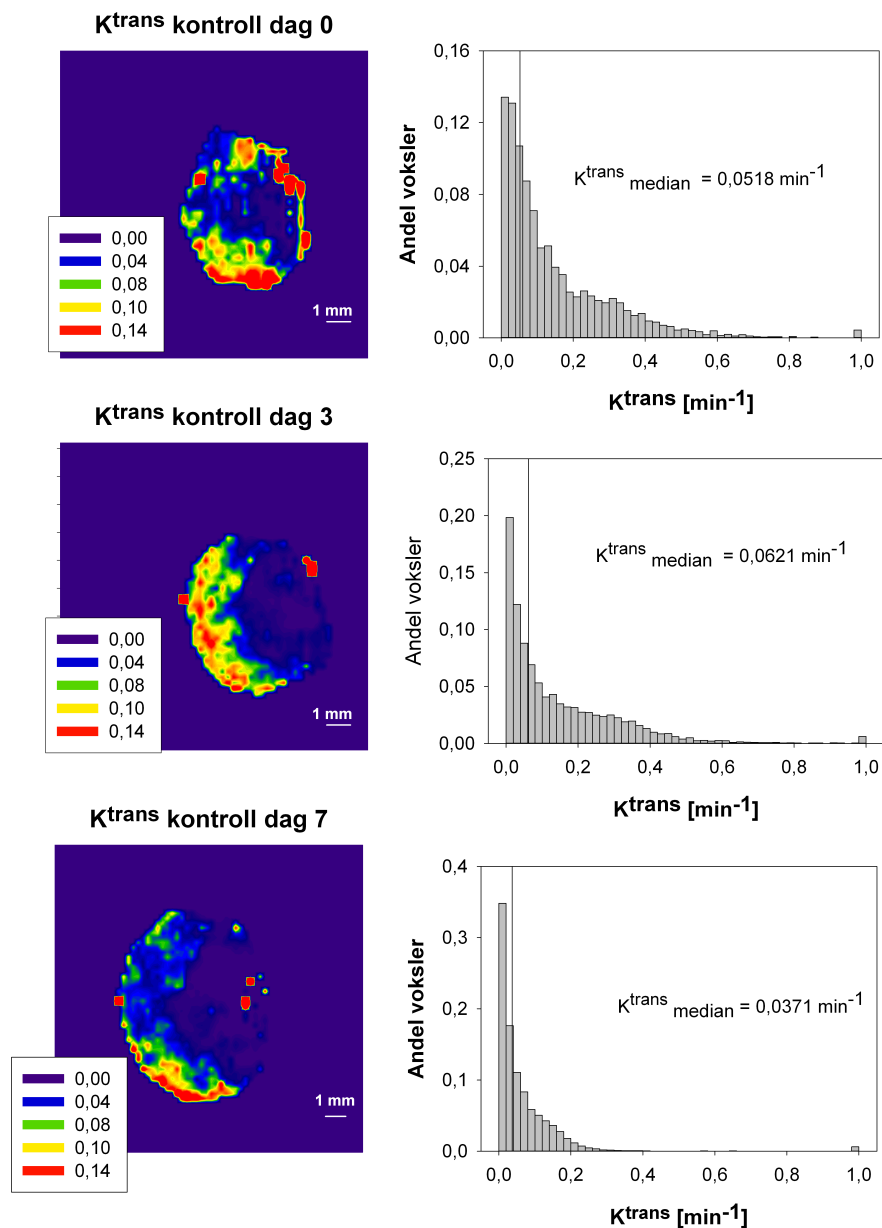
---

Figur 37 og figur 38 viser to representative R-18-tumorer, én behandlet og én ubehandlet.  $K^{trans}$ -bildene er fra et sentralt snitt i tumor fra henholdsvis dag 0, dag 3 og dag 7. Bildene illustrerer at  $K^{trans}$  er lavere ved dag 7 enn dag 0 for både behandlet og ubehandlet tumor. Tilhørende frekvenshistogram for hele tumor vises til høyre i figuren.

### 4.3 Effekt av behandling



Figur 37: En representativ R-18 tumor som er behandlet med Avastin.  $K^{trans}$ -bilder er fra et sentralt snitt i tumor, og tilhørende frekvenshistogram fra hele tumor. Avbildning er gjort før behandlingsstart (dag 0), og på dag 3 og dag 7, og illustrer at  $K^{trans}$  reduseres fra dag 0 til dag 7. Det er gitt Avastin etter avbildning på dag 0 og dag 3. Skaleringen er oppgitt i figuren. Den vertikale streken i frekvenshistogrammene viser median  $K^{trans}$ -verdi for tumoren. Medianverdiene er oppgitt i plottene.  $K^{trans} > 1$  er satt til 1 i histogrammet.



Figur 38: En representativ R-18-tumor fra kontrollgruppen.  $K^{trans}$ -bilder er fra et sentralt snitt i tumor, og tilhørende frekvenshistogram fra hele tumor. Bildene er fra dag 0, dag 3 og dag 7, og illustrerer at de ubehandlede tumorene har en reduksjon i  $K^{trans}$  fra dag 0 til dag 7. Skaleringen er oppgitt i figuren. Den vertikale streken i histogrammene viser median  $K^{trans}$ -verdi for tumorene. Medianverdiene er oppgitt i hver figur.  $K^{trans} > 1$  er satt til 1 i histogrammet

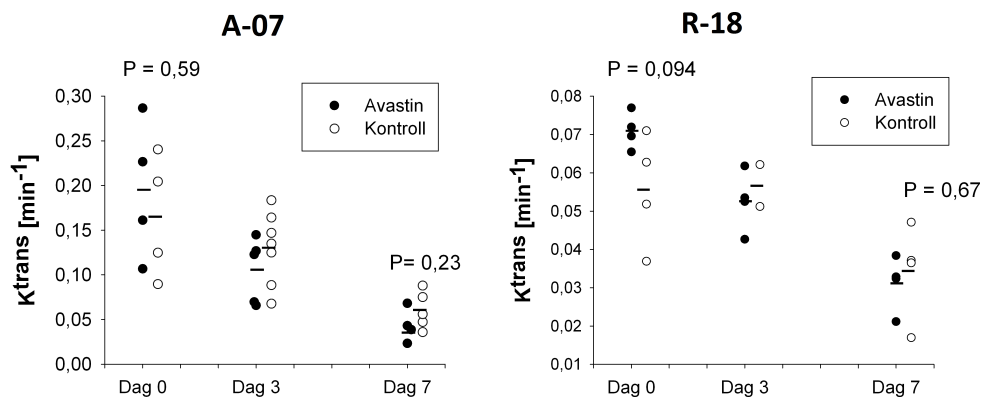
Oppsummeringsplot som viser absoluttverdien av  $K^{trans}$  til begge tumorlinjene figur 39. Effekten av behandlingen på  $K^{trans}$  er liten for begge tumorlinjene, absoluttverdi av  $K^{trans}$  fra alle dagene er vist i figurene. Det er ingen signifikant forskjell i behandlet sammenliknet med ubehandlet for absoluttverdien av  $K^{trans}$ . Plottet viser at det er en litt skjevfordeling av  $K^{trans}$  mellom behandlede og ubehandlede tumorer ved start, særlig for R-18 ( $P=0,094$ ). Både behandlede tumorer og ubehandlede tumorer viser en trend i synkende  $K^{trans}$ .

Imidlertid kommer det frem en signifikant større reduksjon i  $K^{trans}$  fra dag 7 til dag 0 for behandlede R-18-tumorer i forhold til ubehandlede tumorer ( $P=0,012$ ), se figur 40. For A-07 kommer det ikke frem en signifikant større reduksjon i  $K^{trans}$  for behandlede tumorer i forhold til ubehandlede tumorer ( $P=0,44$ ).

Både A-07 og R-18-tumorer viser en tydelig tendens til at  $K^{trans}$  reduseres mer i behandlede enn ubehandlede tumorer når ratio mellom  $K^{trans}$  på dag 7 og dag 0 evalueres, se figur 41. Forskjellen mellom behandlede og ubehandlede tumorer er imidlertid ikke signifikant for hverken A-07-tumorer ( $P=0,125$ ) eller R-18-tumorer ( $P=0,089$ ).

Det kan derfor virke som om det er en tendens til at R-18-tumorer har en større effekt av behandlingen enn det A-07-tumorer har.

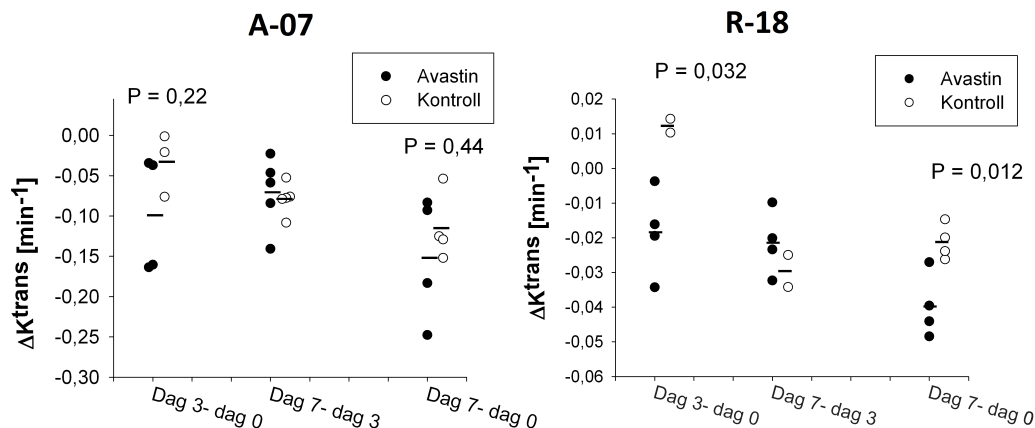
### 4.3 Effekt av behandling



Figur 39: Oppsummeringsplot av  $K^{trans}$  for behandlede (Avastin) og ubehandlede (Kontroll) tumorer fra A-07 (venstre) og R-18 (høyre). Svarte punkter er medianverdier til behandlede tumorer, og hvite punkter er medianverdier til ubehandlede tumorer. De oppgitte P-verdiene angir om det er signifikant forskjell mellom behandlede og ubehandlede tumorer. De horisontale strekene representerer gjennomsnittet av medianverdien for hver gruppe. x-aksene viser dag og y-aksene er absoluttverdi av  $K^{trans}$  for de ulike dagene. Det fremkommer ingen signifikant større reduksjon av  $K^{trans}$  for de behandlede tumorene sammenliknet med kontrollgruppen, for hverken A-07 eller R-18 ( $P > 0,05$ ), men både behandlede A-07 og behandlede R-18 viser en tendens til en høyere reduksjon i  $K^{trans}$  enn de ubehandlede.

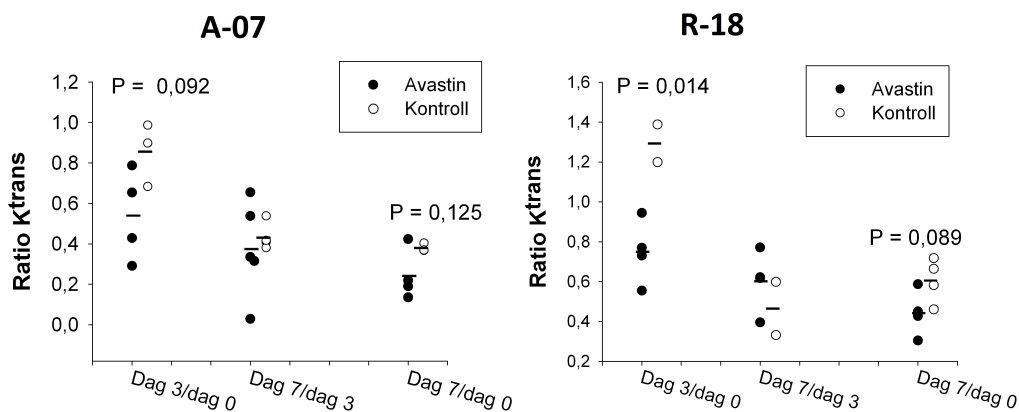


### 4.3 Effekt av behandling



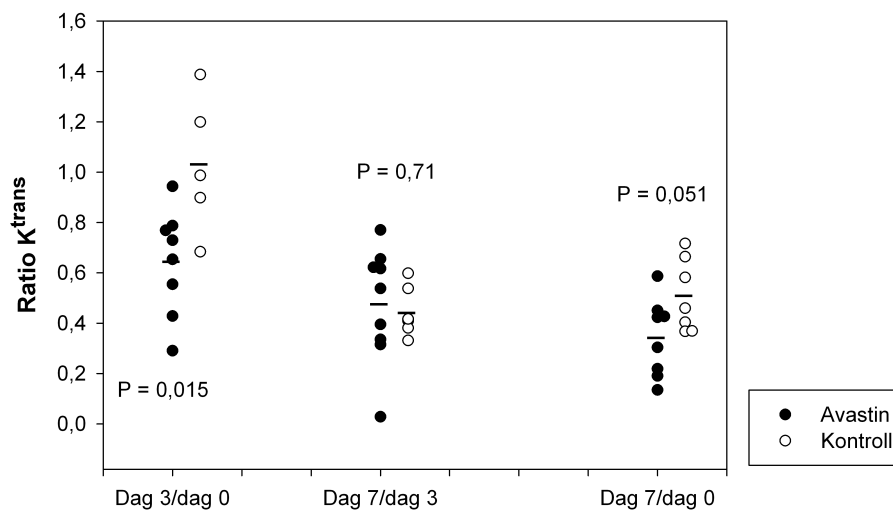
Figur 40: Oppsummeringsplot av  $K^{trans}$  for behandlede (Avastin) og ubehandlede (Kontroll) tumorer fra A-07 (venstre) og R-18 (høyre). Det er tatt differansen for hver tumor, henholdsvis dag 3 - dag 0, dag 7 - dag 3 og dag 7 - dag 0. Svarte punkter er differansen av behandlede tumorer, og hvite punkter er differansen av ubehandlede tumorer. De oppgitte P-verdiene angir om det er signifikant forskjell mellom behandlede og ubehandlede tumorer. De horisontale strekene representerer gjennomsnittetsverdi av differansen for hver gruppe. x-aksene viser periode, og y-aksene viser forskjell i  $K^{trans}$  for de ulike dagene. Effekten behandlingen har på  $K^{trans}$  er liten for begge tumorlinjene, men en signifikant høyere reduksjon av  $K^{trans}$  fremkommer ved evaluering av differansen  $\Delta K^{trans}$  fra dag 7 til dag 0 for R-18 sammenliknet med kontrollgruppe (P=0,012). Behandlede A-07 har ingen signifikant større reduksjon i  $K^{trans}$  fra dag 0 til dag 7 sammenliknet med ubehandlede A-07-tumorer, selv om det er tendens til en høyere reduksjon i  $K^{trans}$ .

### 4.3 Effekt av behandling



Figur 41: Oppsummeringsplot av  $K^{trans}$  for behandlede (Avastin) og ubehandlede (Kontroll) tumorer fra A-07 (venstre) og R-18 (høyre). Det er tatt ratio for hver tumor, henholdsvis dag 3 / dag 0, dag 7 / dag 3 og dag 7 / dag 0. Svarte punkter er ratioverdi for behandlede tumorer, og hvite punkter er ratioverdi for ubehandlede tumorer. De oppgitte P-verdiene angir om det er signifikant forskjell mellom behandlede og ubehandlede tumorer. De horisontale strekene er gjennomsnittsverdi av ratio for hver gruppe. x-aksene viser periode, og y-aksene viser ratio av  $K^{trans}$  for de ulike dagene. Ved evaluering av ratio av  $K^{trans}$  for dag 3 i forhold til dag 0 fremkommer ingen signifikant reduksjon i  $K^{trans}$  for behandlede sammenliknet med reduksjon i  $K^{trans}$  for ubehandlede for begge tumorlinjene A-07 og R-18.

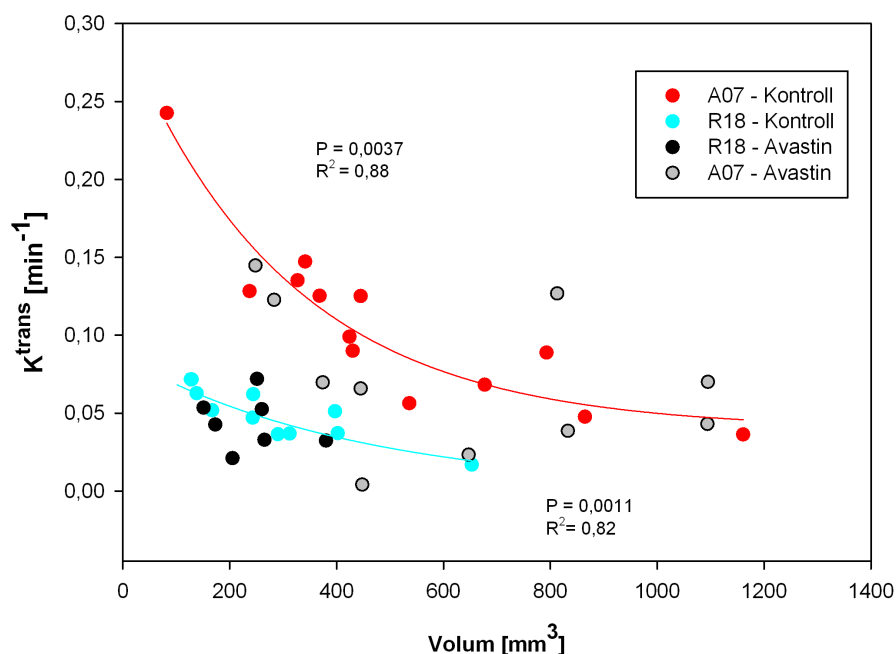
### 4.3 Effekt av behandling



Figur 42: En evaluering av behandlingseffekt for begge tumorlinjene A-07 og R-18 sammen. Et plot hvor ratio til begge tumorlinjene er slått sammen, for å øke antall tumorer i hver gruppe. Svarte punkter er ratioverdi for behandlede tumorer, og hvite punkter er ratioverdi for ubehandlede tumorer. De oppgitte P-verdiene angir om det er signifikant forskjell mellom behandlede og ubehandlede tumorer. De horisontale strekene er gjennomsnittsverdi av ratio for hver gruppe. x-aksene viser periode, og y-aksene viser ratio av  $K^{trans}$  for de ulike dagene. Forholdet mellom  $K^{trans}$  på dag 7 og  $K^{trans}$  på dag 0 er nært signifikant forskjellig for de behandlede tumorene sammenliknet med de ubehandlede tumorene ( $P = 0,051$ ).

For å få en bedre indikasjon på om det var en behandlingseffekt av  $K^{trans}$ , ble ratio av A-07 og R-18 evaluert sammen. På denne måten ble det flere tumorer i hver gruppe. Forholdet mellom  $K^{trans}$  på dag 7 og  $K^{trans}$  på dag 0 er nært signifikant forskjellig for de behandlede tumorene sammenliknet med de ubehandlede tumorene ( $P = 0,051$ ), se figur 42.

### 4.3 Effekt av behandling



Figur 43:  $K^{trans}$  er plottet som funksjon av tumorvolum, både for A-07 og R-18. Plottet viser en viss avhengighet av  $K^{trans}$  og volum for de ubehandlede tumorene, og at denne avhengigheten avviker noe fra kurven for de behandlede tumorene. Kurvetilpasningen er gjort for de ubehandlede tumorene.  $K^{trans}$  for de behandlede tumorene viser en tendens til å avta raskere med økende tumorvolum enn det de ubehandlede gjør. Det er brukt en enkel eksponentiell kurvetilpasning for de ubehandlede tumorene. P-verdien er fra kurvetilpasningen, og viser at en eksponentiell kurvetilpasning er signifikant både for ubehandlede A-07 tumorer og ubehandlede R-18-tumorer. Fargekodene er oppgitt i figuren.

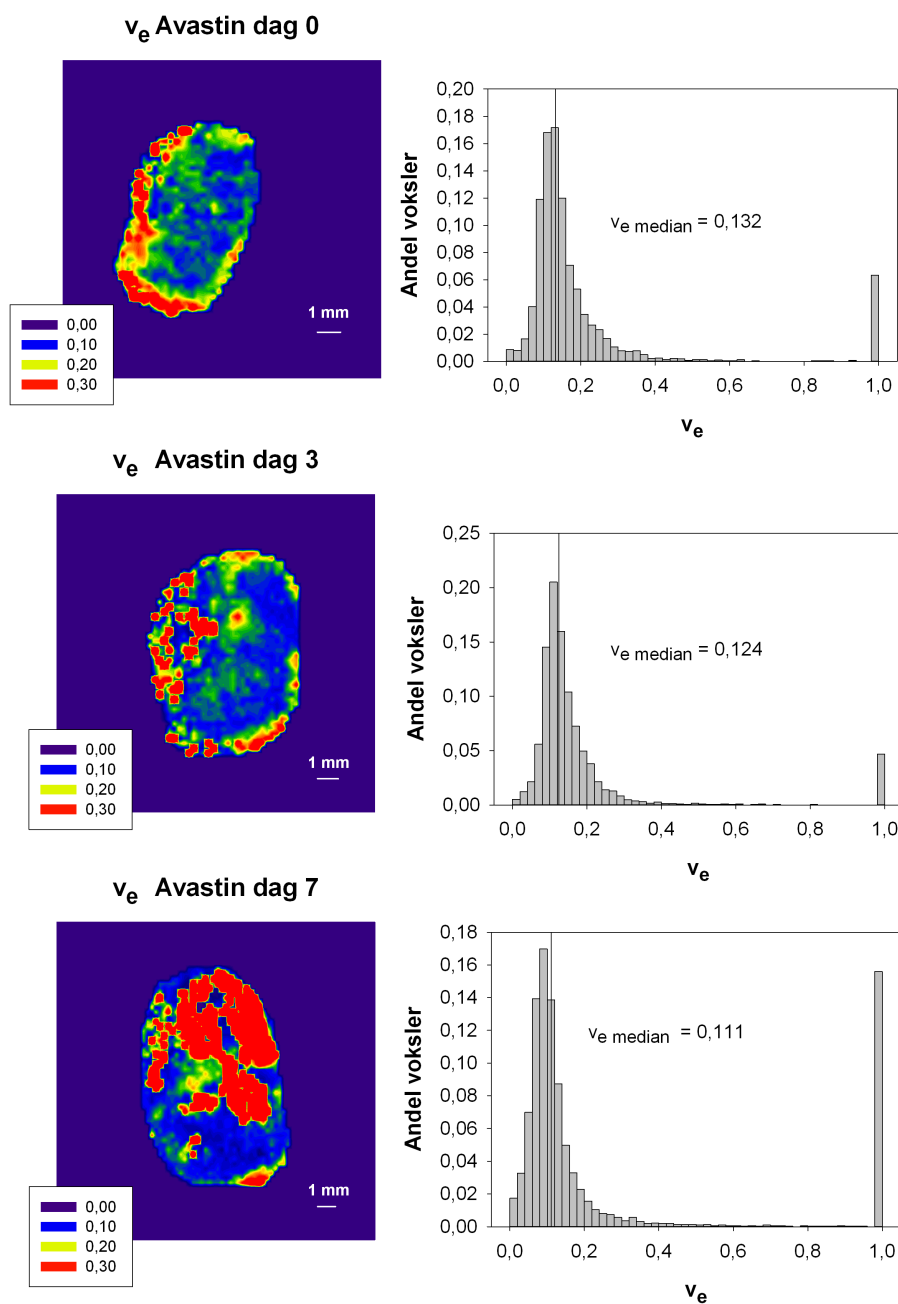
Figur 43 viser  $K^{trans}$  som funksjon av tumorvolum for behandlede og ubehandlede tumorer.  $K^{trans}$  synker eksponentielt med økende tumorvolum for ubehandlede tumorer ( $P = 0,0037$  for ubehandlede A-07-tumorer, og  $P = 0,0011$  for ubehandlede R-28-tumorer). Denne sammenhengen avviker for de behandlede tumorene, noe som kan antyde at det kan være en behandlingseffekt. Mens de fleste ubehandlede tumorene ligger langs den heltrukne linjen i plottet, avviker de behandlede tumorene med både en økt og en redusert  $K^{trans}$  i forhold til de ubehandlede med samme tumorvolum.

#### 4.3.3 Evaluering av $v_e$ og $ADC$

$v_e$ - og  $ADC$ -verdier ble beregnet for alle tumorene før behandlingsstart (dag 0), og på dag 3 og dag 7. Medianverdier av  $v_e$  og  $ADC$  for hver tumor ble beregnet, og disse ble

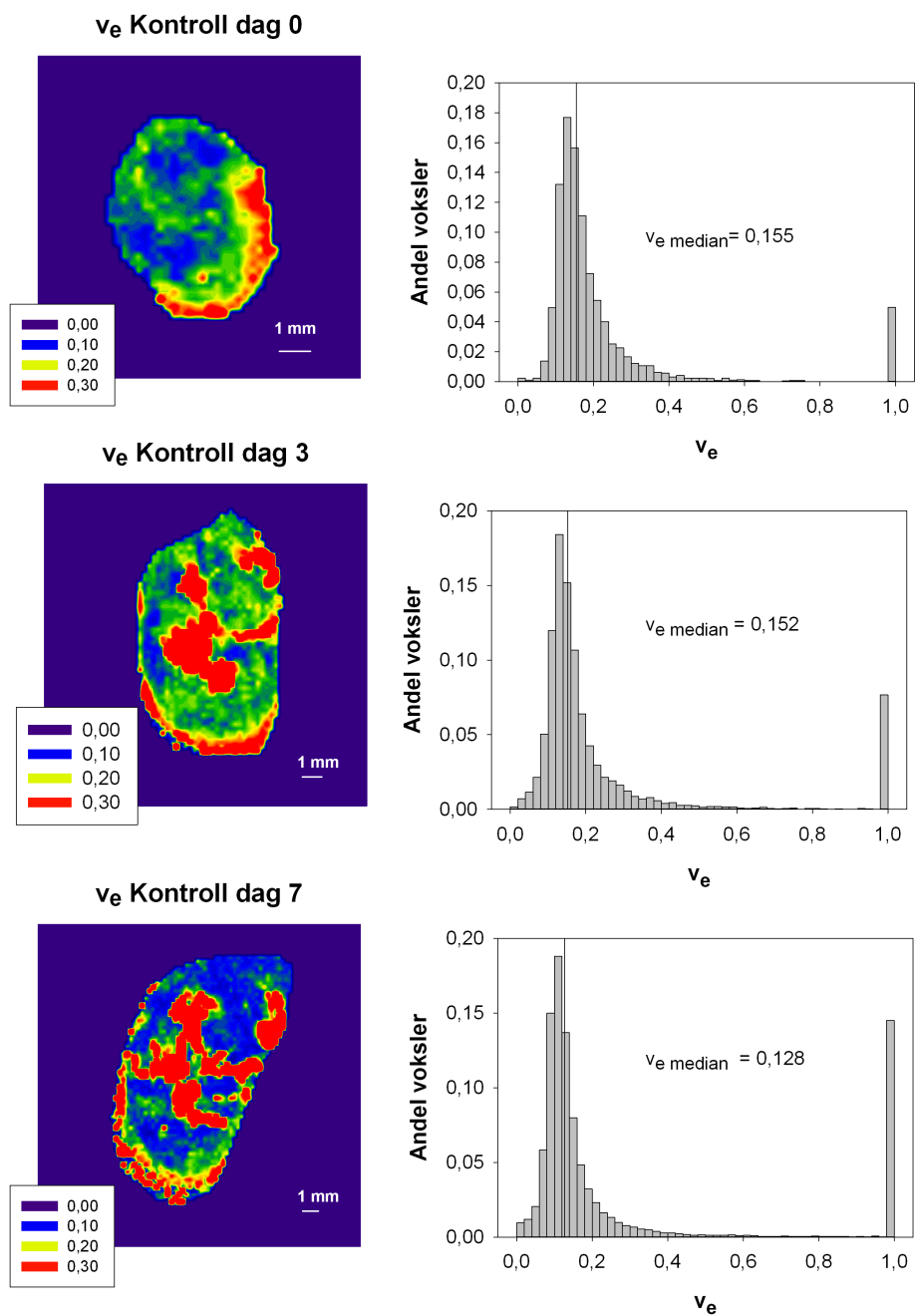
sammenliknet. Det ble funnet at behandlingen ikke ga signifikant endring av hverken  $v_e$  eller  $ADC$ . Dette gjaldt både for A-07 og R-18-tumorer. Oppsummeringsplot for alle tumorene er vist i figur 52.

Figur 44 og 45 viser  $v_e$ -bilder av to representative A-07-tumorer, én behandlet og én ubehandlet. Figurene illustrerer at den romlige fordelingen av  $v_e$ -verdier endrer seg noe for de ulike dagene, men at denne endringen forekommer i både behandlede og ubehandlede tumorer. Bildene viser et sentralt snitt i tumor, og histogrammene er beregnede  $v_e$ -verdier fra hele tumor.



Figur 44: En representativ A-07-tumor som er behandlet med Avastin.  $v_e$ -bildene er fra et sentralt snitt i tumor, og tilhørende frekvenshistogram er  $v_e$ -verdier fra hele tumor. Bildene er fra før behandlingsstart (dag 0), og dag 3 og dag 7. Bildene illustrerer at  $v_e$  blir lite påvirket av behandlingen. Skaleringen er oppgitt i figuren. De vertikale strekene i histogrammene viser median  $v_e$ -verdi for tumorene. Medianverdiene er oppgitt i plottene.  $v_e > 1$  er satt til 1 i histogrammet.

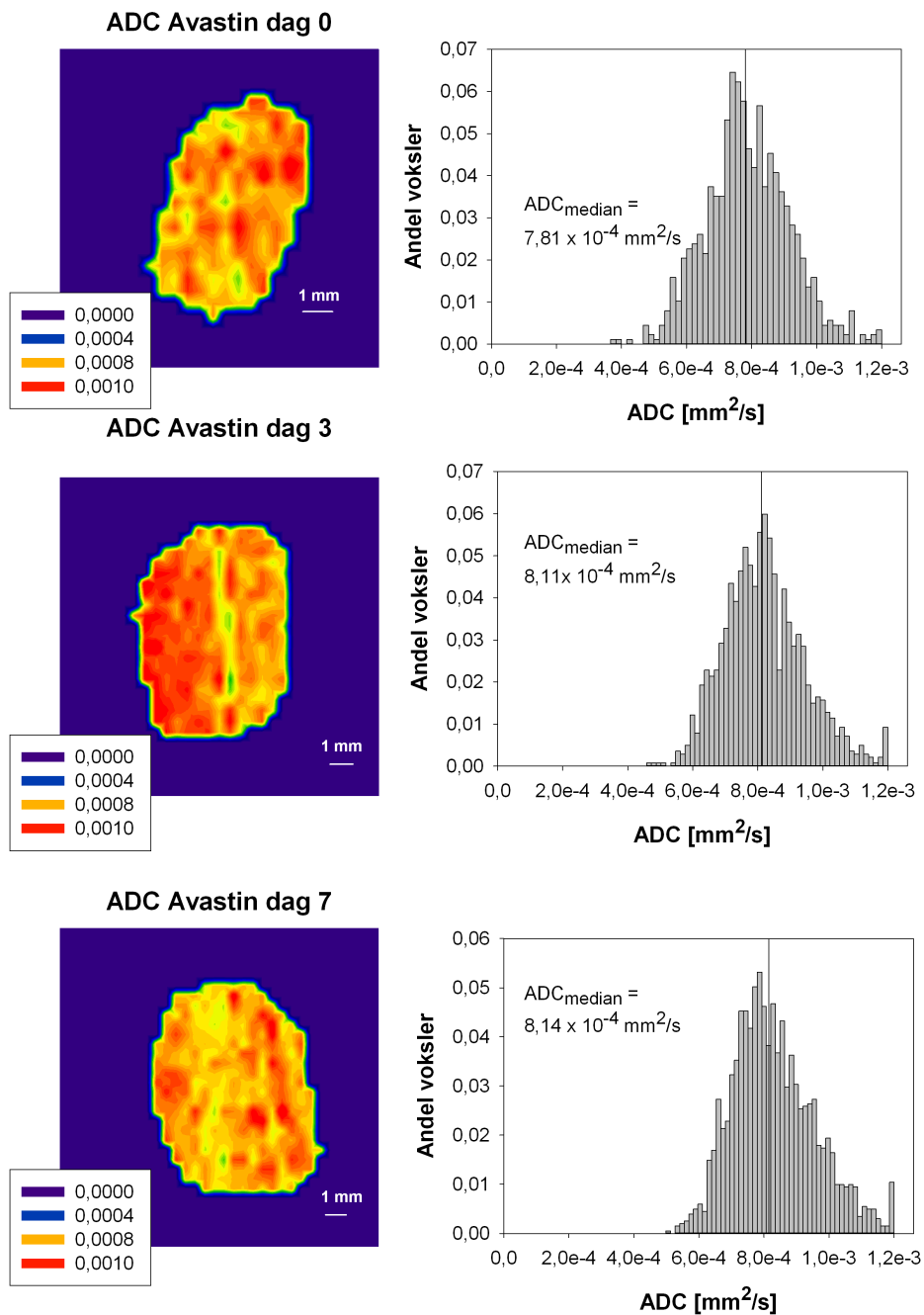
### 4.3 Effekt av behandling



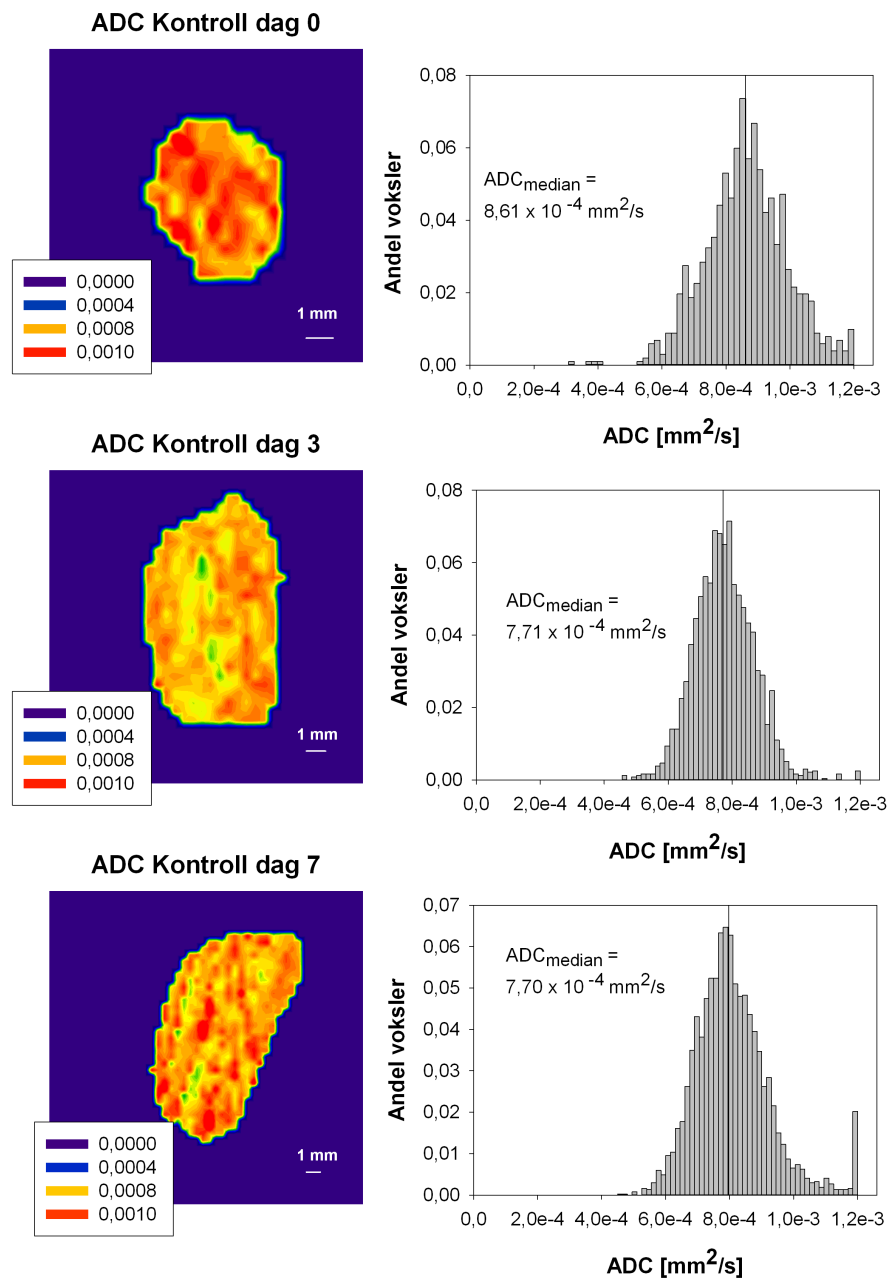
Figur 45: En representativ A-07-tumor som er ubehandlet.  $v_e$ -bilder er fra et sentralt snitt i tumor, og tilhørende frekvenshistogram er  $v_e$ -verdier fra hele tumor. Bildene er fra dag 0, dag 3 og dag 7 og illustrerer at  $v_e$  endres lite i denne tidsperioden. Skaleringen er oppgitt i figuren. Den vertikale streken i histogrammene viser median  $v_e$ -verdi for tumorene. Medianverdiene er oppgitt i plottene.  $v_e > 1$  er satt til 1 i histogrammet.

Figur 46 og 47 viser  $ADC$ -bilder av to representative A-07-tumorer, én behandlet tumor og én ubehandlet tumor. Figurene illustrerer at den romlige fordeling av  $ADC$ -verdier i den sentrale delen av tumor endrer seg noe for de ulike dagene, men at denne endringen forekommer i både behandlede og ubehandlede tumorer. Bildene er et sentralt snitt i tumor og histogrammene er beregnede  $ADC$ -verdier fra hele tumor.





Figur 46: En representativ A-07-tumor som er behandlet med Avastin. ADC-bilder er fra et sentralt snitt i tumor, og tilhørende frekvenshistogram er ADC-verdier fra hele tumor. Bildene er fra dag 0, dag 3 og dag 7 og illustrerer at ADC blir lite påvirket av behandlingen. Skaleringen er oppgitt i figuren. Den vertikale streken i histogrammene viser median ADC-verdi for tumorene. Medianverdiene er oppgitt i plottene.

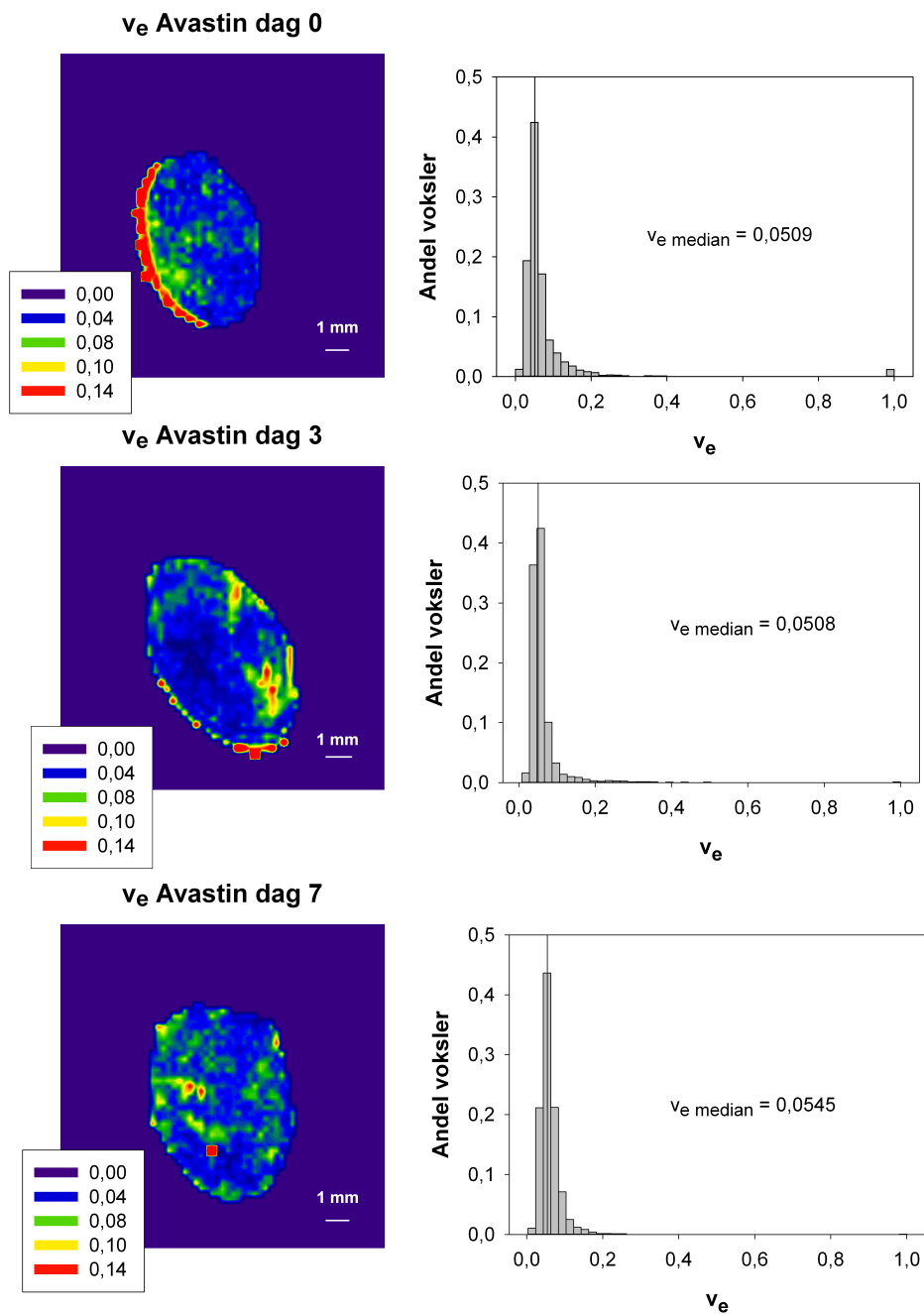


Figur 47: En representativ A-07-tumor som er ubehandlet. ADC-bilder er fra et sentralt snitt i tumor, og tilhørende frekvenshistogram er ADC-verdier fra hele tumor. Bildene er fra dag 0, dag 3 og dag 7 og illustrerer at ADC endrer seg lite over denne tidsperioden. Skaleringen er oppgitt i figuren. Den vertikale streken i histogrammene viser median ADC-verdi for tumorene. Medianverdiene er oppgitt i plottene.

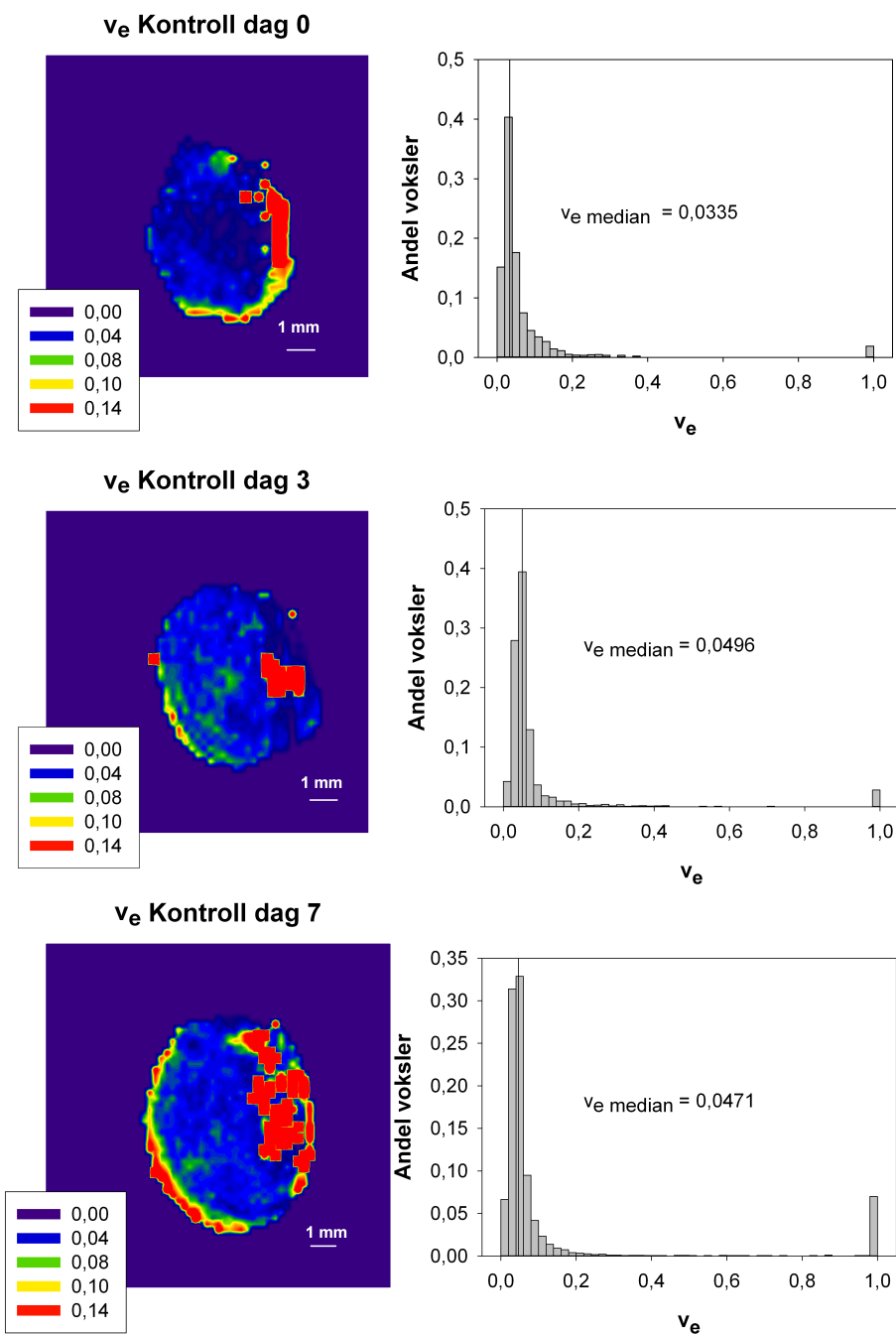
### 4.3 Effekt av behandling

---

Figur 48 og 49 viser to representative  $v_e$ -bilder av R-18-tumorer, én behandlet tumor og én ubehandlet tumor. Figurene illustrer at endringene som forekommer i  $v_e$  for de behandlede også forekommer i de ubehandlede tumorene. Bildene er et sentralt snitt i tumor og histogrammene er beregnede  $v_e$ -verdier fra hele tumor.



Figur 48: En representativ R-18-tumor som er behandlet med Avastin.  $v_e$ -bilder er fra et sentralt snitt i tumor, og tilhørende frekvenshistogram er  $v_e$ -verdier fra hele tumor. Bildene er fra dag 0, dag 3 og dag 7 og illustrerer at  $v_e$  blir lite påvirket av behandlingen. Skaleringen er oppgitt i figuren. Den vertikale streken i histogrammene viser median  $v_e$ -verdi for tumorene. Medianverdiene er oppgitt i plottene.  $v_e > 1$  er satt til 1 i histogrammet.

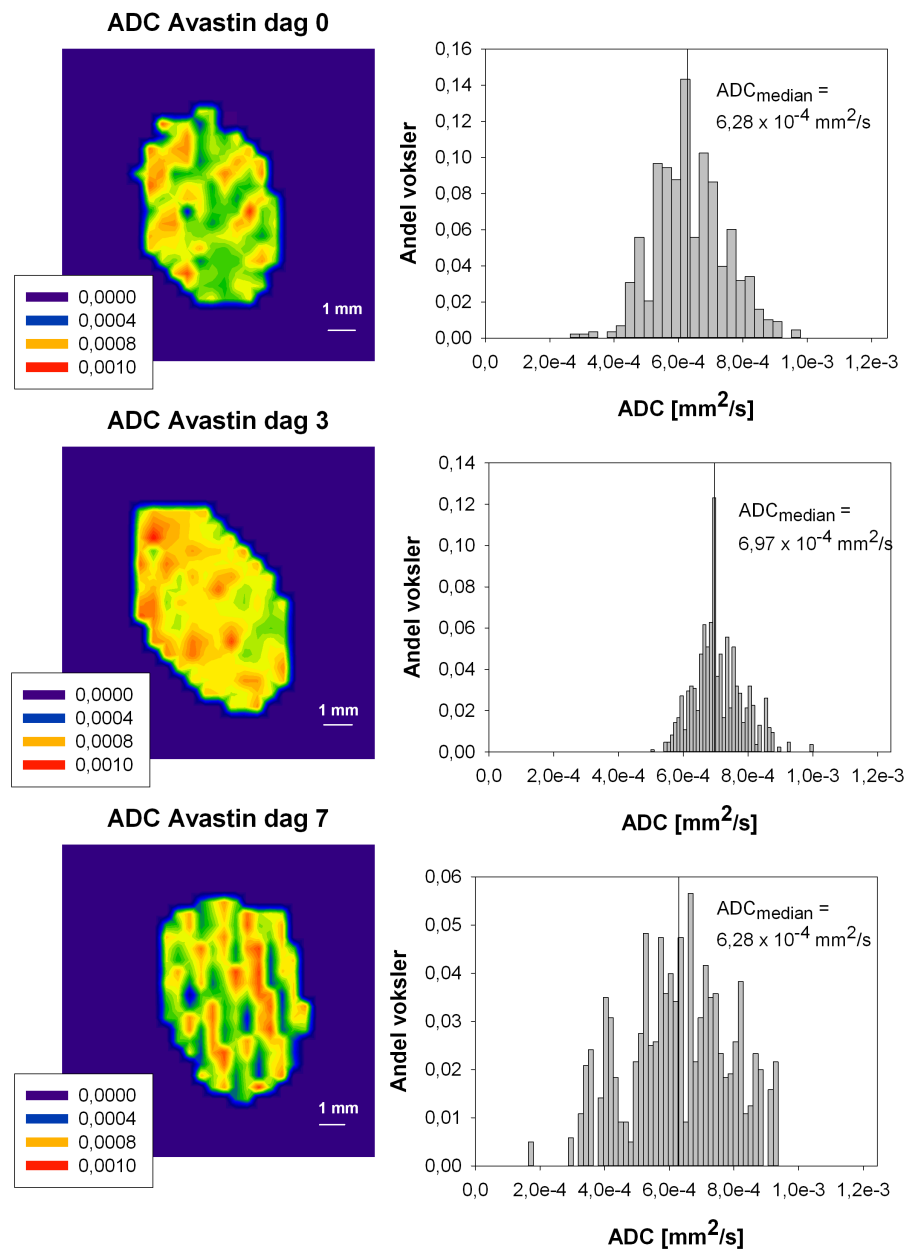


Figur 49: En representativ R-18 tumor som er ubehandlet.  $v_e$ -bilder er fra et sentralt snitt i tumor, og tilhørende frekvenshistogram er  $v_e$ -verdier fra hele tumor. Bildene er fra dag 0, dag 3 og dag 7 og illustrerer at  $v_e$  endres lite i denne tidsperioden. I tumoren er det oppstått en liten nekrose i den sentrale delen som vises i  $v_e$ -bildet (rødt), men dette påvirker ikke histogrammet i stor grad. Skaleringen er oppgitt i figuren. Den vertikale streken i histogrammene viser median  $v_e$ -verdi for tumorene. Medianverdiene er oppgitt i plottene.  $v_e > 1$  er satt til 1 i histogrammet.

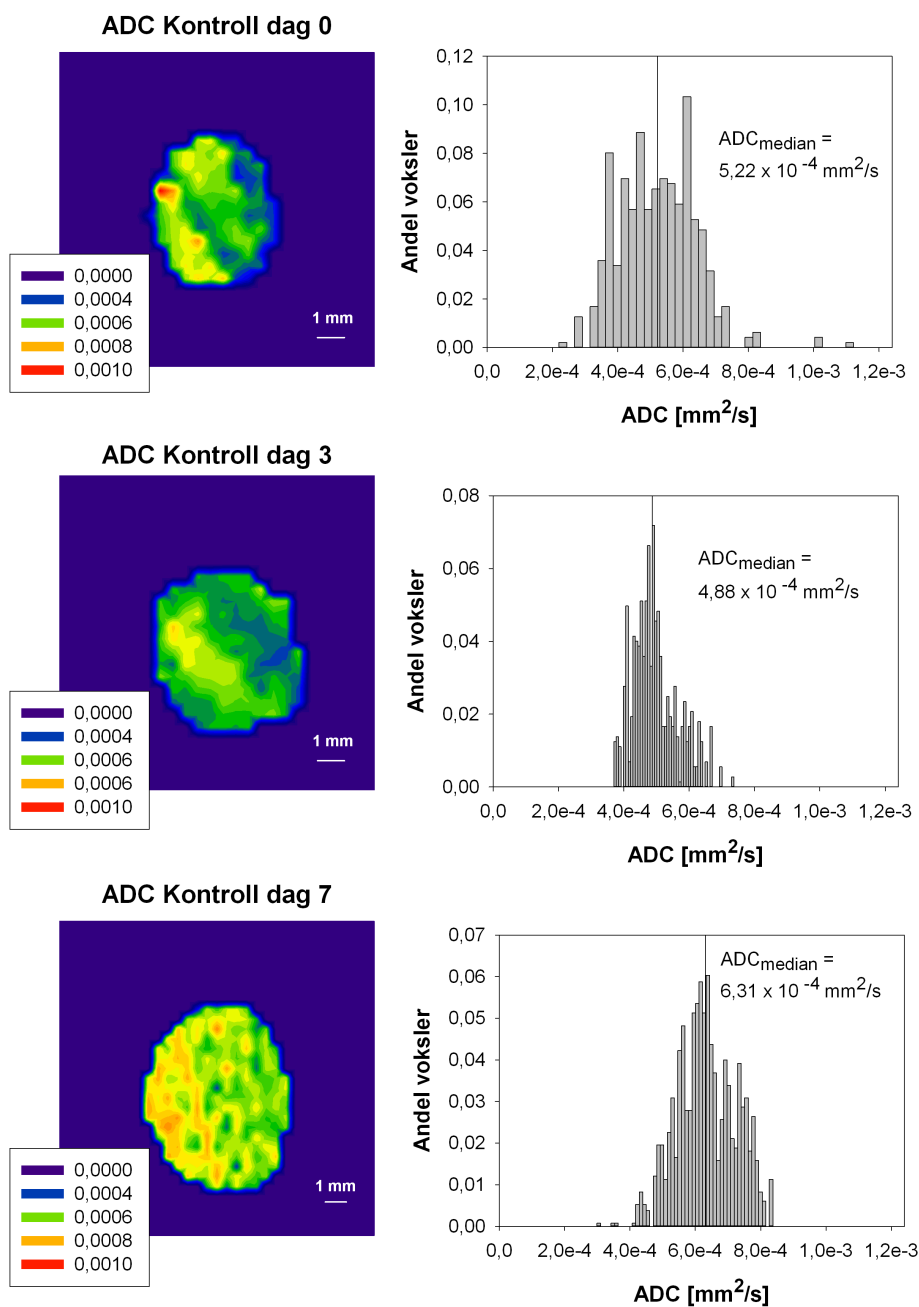
### 4.3 Effekt av behandling

---

Figur 50 og 51 viser to representative  $ADC$ -bilder av R-18-tumorer, én behandlet og én ubehandlet. Figurene illustrer at det er ingen tydelig påvirkning på  $ADC$  for de behandlede i forhold til de ubehandlede tumorene. Bildene er et sentralt snitt i tumor og histogrammene er beregnede  $ADC$ -verdier fra hele tumor.



Figur 50: En representativ R-18-tumor som er behandlet med Avastin. ADC-bilder er fra et sentralt snitt i tumor, og tilhørende frekvenshistogram er ADC-verdier fra hele tumor. Bildene er fra dag 0, dag 3 og dag 7 og illustrerer at ADC blir lite påvirket av behandlingen. Skaleringen er oppgitt i figuren. Den vertikale streken i histogrammene viser median ADC-verdi for tumorene. Medianverdiene er oppgitt i plottene.

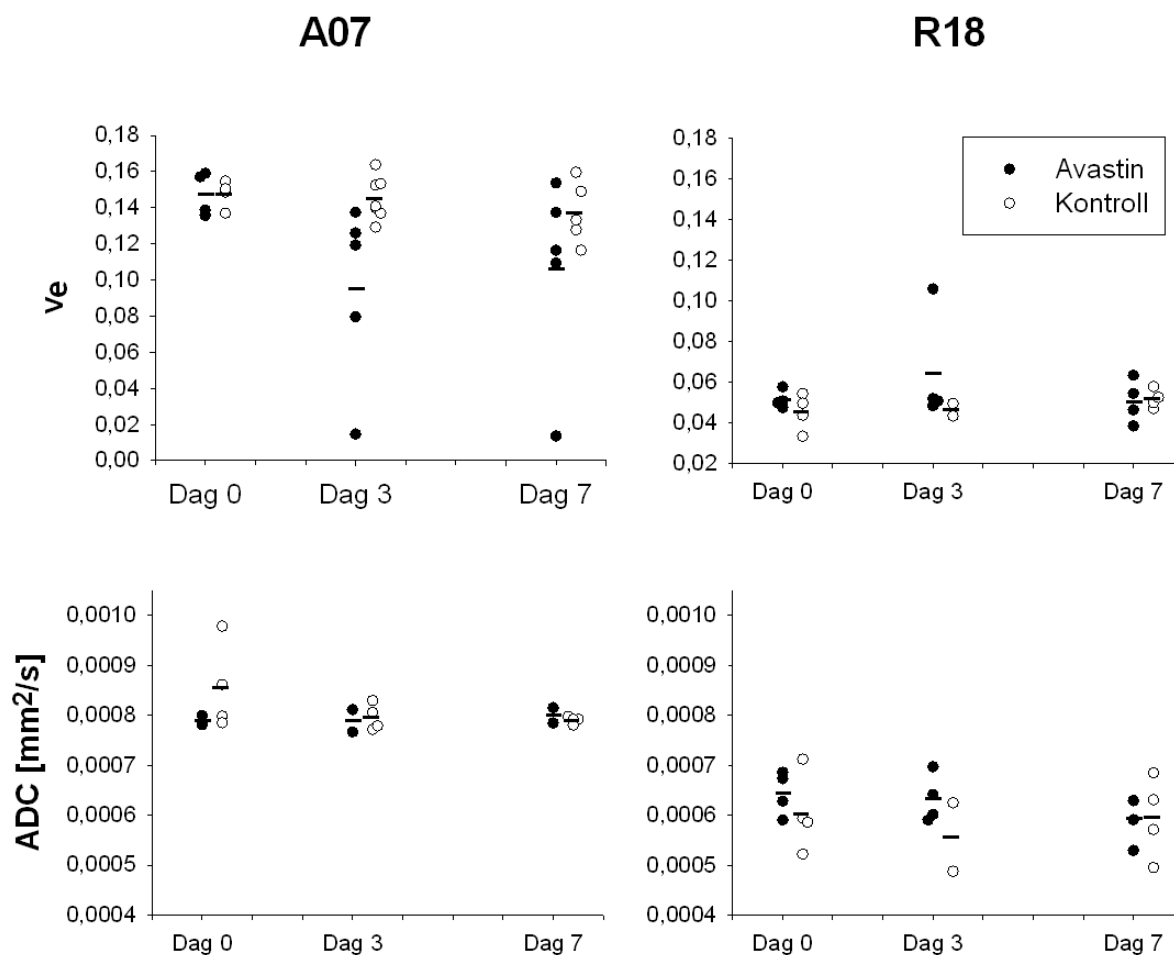


Figur 51: En representativ R-18-tumor som er ubehandlet. *ADC*-bilder er fra et sentralt snitt i tumor, og tilhørende frekvenshistogram er *ADC*-verdier fra hele tumor. Bildene er fra dag 0, dag 3 og dag 7 og illustrerer at *ADC* endrer seg lite over denne tidsperioden. Skaleringen er oppgitt i figuren. Den vertikale streken i histogrammene viser median *ADC*-verdi for tumorene. Medianverdiene er oppgitt i plottene.



Figur 44 - 51 illustrerer at behandlingen med Avastin ikke påvirket hverken  $v_e$  eller  $ADC$  i noen av tumorlinjene. Selv om det er litt forandring i  $v_e$  og  $ADC$  for de ulike dager, ser ikke dette ut til å være en forandring som er påvirket av behandlingen. Disse endringene forekommer for både behandlede og ubehandlede tumorer.

Oppsummeringsplot for absoluttverdiene av  $v_e$  og  $ADC$  for begge tumorlinjene fra alle tre dagene vises i figur 52. Figuren viser ingen tydelig trend i endring av  $v_e$  og  $ADC$  hverken for A-07 eller R-18 for de behandlede tumorene i forhold til ubehandlede.



Figur 52: Absoluttverdi av  $v_e$  (øverst) og  $ADC$  (nederst) fra avbildning før behandlingsstart (dag 0), og dag 3 og dag 7.  $v_e$  og  $ADC$  viser ingen trend til å bli påvirket av behandlingen. Både behandlede A-07 og R-18 (svarte punkter) og ubehandlede A-07 og R-18 (hvite punkter) har lite endring i  $v_e$  og  $ADC$  fra dag 0 til dag 7. Punktene er medianverdier fra hver tumor og de horisontale strekene angir gjennomsnitt av medianene fra hver gruppe.

---

## 5 Diskusjon

### 5.1 Diskusjon av materialer og metoder

#### 5.1.1 Forsøksdyr og tumorlinje

Fordelen med bruk av xenografter er at tumorene bevarer de opprinnelige histologiske egenskapene til den humane tumoren bra [14]. Xenograftenes respons på kjemo- og stråleterapi er i stor grad den samme som responsen på tumoren om den hadde vokst i et menneske. Volumdoblingstiden på tumoren i forsøksdyr er på omtrent en femtedel i forhold til volumdoblingstid om tumoren hadde vokst i et menneske [14]. Dette gjør at forsøket tar betydelig kortere tid.

Ulempen med bruk av xenografter er at vevet rundt tumoren stammer fra vertsdyret. Blodet som strømmer igjennom tumor og vaskulaturen vil derfor være fra forsøksdyret. Av den grunn vil den hypoksiske fraksjonen i xenograften likne mer på en spontan tumor fra forsøksdyret enn den hypoksiske fraksjonen i tumoren om den hadde vokst i et menneske [14]. Selv om vaskulaturen i tumor er fra vertsdyret, vil angiogenesefaktorer fra tumor også påvirke vaskulaturen.

I denne studien ble det benyttet to ulike tumorlinjer, A-07 og R-18. Dette er human melanom xenografter. Rofstad [31] har vist at disse tumorlinjene beholder karakteristiske trekk som angiogenesepotensial, blodåretetthet, tumor celletetthet og sensitivitet til behandling fra den opprinnelige tumoren når den vokser i mus. I tillegg er det vist at disse tumorlinjene er betydelig forskjellige når det gjelder blodstrøm og tumor celletetthet [38]. Disse tumorlinjene bør derfor være velegnet til å undersøke om effekten av Avastin kan detekteres med MR.

### 5.1.2 Forsøksprosedyre

#### Faktorer som påvirker blodstrøm

I denne studien vokste tumorene intradermalt, det vil si i huden. Et av formålene med undersøkelsene var å studere blodstrøm i tumor. Det var derfor viktig at blodstrømmen i tumor ble minst mulig påvirket under avbildningen. Faktorer som kan påvirke blodstrøm er kroppstemperatur, volum på injiserte væsker og mekanisk trykk.

En av kroppens mekanismer for å holde kroppstemperaturen optimal er å regulere blodstrømmen subkutant, det vil si under huden [6]. Ved en for lav kroppstemperatur vil de subkutane blodårene trekke seg sammen og blodstrømmen i huden vil reduseres. Ettersom tumorene lå intradermalt, ville en reduksjon i kroppstemperatur også kunne medføre en reduksjon i blodstrøm i tumor. For å unngå varmetap ble det brukt en varmematte ved innsetting av veneflon, deretter ble varm luft blåst på musene under avbildning. Varmluften ble regulert automatisk slik at temperaturen på musene lå på 37 °C under hele avbildningen.

Andre faktorer som kan påvirke blodstrøm er volum av injiserte væsker. Det anbefales å injisere et volum som ligger under 10 % av musenes blodvolum, for å ikke påvirke blodstrømmen [16]. Et grovt estimat er at rundt 10 % av musenes vekt er blod [16]. Gjennomsnittsvekt på musene var 25 g og tettheten til blod er på rundt 1 g/ml. 10 % av blodvolumet blir da omtrent 0,25 ml. Volumet på kontrastvæske som ble injisert i en mus på 25 g var på 0,185 ml, under grensen på 10 % av musenes blodvolum. Mengden kontrastvæske injisert ville derfor ikke påvirke blodstrømmen i stor grad.

For å unngå pustebevegelser under avbildning var det nødvendig å teipe mus og tumor fast i scanneren. Dette kunne medvirke til mekanisk trykk som påvirket blodstrømmen. Tumoren ble fiksert på en slik måte at det ble unngått å påvirke blodstrømmen.

#### Fordeling av tumorer

Det ble gjort en vurdering av tumorvolum ved fordeling av tumorer i Avastin-gruppen og kontrollgruppen. Tumorene ble fordelt slik at det var like store tumorer i begge grupper.

Det viste seg imidlertid at dette i noen tilfeller ga en skjevfordeling av  $K^{trans}$ -verdier mellom de to gruppene ved start, se figur 39, R-18, dag 0. Denne ujevnheten kunne muligens blitt redusert hvis flere tumorer hadde vært med i studien.

### 5.1.3 Avbildningsprotokoll

#### Arterie input-funksjon

Ved kurvetilpasning til Tofts modell måtte konsentrasjon av kontrastvæske i arteriell plasma bestemmes. Det ligger en usikkerhet i måten hver mus skiller ut kontrastvæsken. Benjaminsen et al. [2] har vist at variasjonen i utskillelse av gadoliniumbaserte kontrastvæsker er liten for typen forsøksdyr som benyttes i denne studien. Derfor ble en populasjonsbasert arterie input-funksjon (AIF) brukt, fremfor å måle konsentrasjonen i arteriell plasma individuelt for hver mus.

Det ble valgt å variere mengde kontrastvæske i forhold til dyrets vekt. Mengden kontrastvæske injisert var  $5 \mu\text{l/g}$  musevekt. Dette var for å få mest mulig lik konsentrasjon av kontrastvæske i blodet til alle musene. Ulik mengde kontrastvæske betød at enten kunne injeksjonstiden være lik for alle mus, eller så kunne injeksjonsraten holdes konstant for alle mus. Det ble valgt en konstant injeksjonsrate. Dette impliserte at injeksjonstidene varierte for mus med ulik vekt. Injeksjonsraten var  $2220 \mu\text{l/min}$  og total mengde væske injisert lå i området  $160 \mu\text{l} - 210 \mu\text{l}$ , avhengig av musevekt. Injeksjonstider varierte mellom 4,3 s og 5,7 s. Tidsoppløsningen i DCE-MRI er på 14,8 s, og forskjellen i maksimum og minimum injeksjonstid er betraktelig mindre enn tidsoppløsningen. Det ble derfor vurdert at variasjon i injeksjonstid ga minst mulig påvirkning i avbildningen.

For å få injisert et volum av kontrastvæske med minst mulig usikkerhet, ble det brukt en automatisk injeksjonspumpe. Dette ga også lite usikkerhet i injeksjonsraten.

AIF antar at all kontrastvæsken som injiseres kommer inn i venen. Det var tilfeller der

det feilaktig ble stukket igjennom venen. I disse tilfellene ble ikke all kontrastvæsken injisert i venen. For å ekskludere disse tilfellene i resultatene, ble opptaket av kontrastvæske i muskel studert i MR-bildene i etterkant. Forholdet mellom maksimal signalintensitet etter injisering av kontrastvæske og signalintensitet før injisering av kontrastvæske i muskelvev ble sjekket. Hvis forholdet var over 1,5 ble det antatt at all kontrastvæske var injisert i venen. Denne terskelverdien ble bestemt fra avbildninger foretatt tidlig i forsøkene, hvor injiseringer av kontrastvæske tydelig viste at ikke all kontrastvæsken var injisert i venen. I disse tilfellene ble halen hvit. I avbildninger hvor veneffonen ikke var riktig plassert, lå forholdet mellom signalintensitet før og etter injisering rundt 1 – 1,3. For tilfeller hvor det ble antatt at all kontrastvæsken var injisert i venen, lå forholdet mellom 1,7 – 2. Derfor ble en terskelverdi på 1,5 vurdert til å skille godt mellom fullstendig og ufullstendig injisering av kontrastvæske.

### Støy i bilder fra diffusjonsvektet MR-avbildning

En diffusjonsvektet magnetisk resonans-avbildning (DWI) er sensitiv til Brownske bevegelse av vann i vevet [3]. Dette er en tilfeldig prosess, i vev blir diffusjonen ofte hindret av blant annet cellemembraner og store molekyler. Derfor måles ikke den tilfeldige diffusjonsbevegelsen, men diffusjonskoeffisienten  $ADC$  får ut informasjon om hvor begrenset diffusjonen er. Lav  $ADC$  betyr mye hindringer i diffusjonen.

Fordi en DWI-sekvens måler bevegelser i kroppen, er avbildningen avhengig av at avbildningsobjektet er i ro [3]. Det var endel problemer med støy i bildene som ble tatt med DWI. Det ble først forsøkt med en EPI-sekvens. I disse bildene ble det mye geometriske forvrengninger. Det var dermed ikke mulig å definere tumor, se figur 21. Litteraturen foreslår at disse geometriske forvrengningene ved EPI kan komme av at sekvensen er ekstremt sensitiv til inhomogeniteter i magnetfeltet. I tillegg kan det være at sekvensen bruker sterke gradienter [3]. På grunn av mye støy i EPI ble det derfor valgt å bruke en FSE-sekvens. Andel støy i bildene ble betraktelig lavere, men det var enda ikke optimalt. Musene var anesteserte og lå stille, og tumorene var plassert på låret. Allikevel

var det støy som antas å komme fra bevegelse, hovedsaklig pustebevegelser. Det ble derfor påsett at det var minst mulig bevegelse av tumor ved fiksering av mus i scanner. Vokselstørrelsen ble fire-doblet for å redusere støyen ytterligere, signal til støy-forholdet er proporsjonal med vokselstørrelsen [3].  $ADC$  ble målt med tre ulike gradientretninger. De beregnede  $ADC$ -verdiene varierte for ulike gradientretninger, og det var tilfeldig hvilke retninger som avvek mest. Lyng et al. [27] har vist at  $ADC$  i A-07 og R-18-tumorer ikke er retningsavhengig. Avvikene i  $ADC$ -verdier i ulike retninger ble derfor ansett som tilfeldig støy. For å redusere denne støyen, ble målt signalintensitet midlet over de tre retningene.  $R^2$ -verdiene ble beregnet ved kurvetilpasningen. Ved å bruke gjennomsnittlig signalintensitet for de tre gradientretningene ble kurvetilpasningen bedre. Dette ga høyere  $R^2$ -verdier, se figur 22. Kurvetilpasningen for enkeltvoksler ble også studert for å bekrefte at tilpasning var bedre ved midling av signalet, se fig 23.

### Valg av $b$ -verdier til DWI

Ved den diffusjonsvektede avbildningen måtte det avgjøres hvilke  $b$ -verdier som skulle brukes. Grunnlaget for valget av  $b$ -verdier på  $200 - 1000 \text{ s/mm}^2$  var anbefalinger fra litteraturen. Det ble funnet at ved lave  $b$ -verdier ( $b < 100 - 150 \text{ s/mm}^2$ ) kunne bevegelse fra blodperfusjon mistolkes som diffusjon, og at denne grenseverdien avhenger av vaskulariteten i vevet [30]. Det ble derfor valgt en  $b$ -verdi som lå litt høyere enn anbefalingen for å unngå å fange opp bevegelse fra blodperfusjon. For høye  $b$ -verdier ( $b > 1000 \text{ s/mm}^2$ ) kan intracellulær diffusjon fanges opp [30].

For å måle kun ekstracellulær diffusjon ble det valgt  $b$ -verdiene i området  $200 - 1000 \text{ s/mm}^2$ .

### Valg av sekvens til $R_1^0$ -kart ved DCE-MRI

Ved DCE-MRI kartlegges først relaksasjonen  $R_1 = 1/T_1$  i vevet, deretter tas  $T_1$ -vektede bilder kontinuerlig en tid etter injisering av kontrastvæske.  $R_1$  beregnes vokselvis for ve-

vet etter injisering av kontrastvæske fra de  $T_1$ -vektede bildene. Det var tidligere avgjort at en  $T_1$ -vektet 3D-SPGR-sekvens skulle brukes til å beregne relaksasjon i vevet etter injisering av kontrastvæske. Det gjenstod å bestemme en sekvens til å beregne  $R_1^0$ -kart. Dette kartet viser relaksasjon  $R_1$  for hver voksel i vevet før injisering av kontrastvæske. Det var viktig å kunne skille ulike  $R_1^0$  i vev. Derfor ble det vurdert overlapp av beregnede  $R_1$ -verdier ved avbildning av fantomer. Det ble avbildet åtte fantomer med konsentrasjon  $0 - 0,1$  mM Dotarem. Disse fantomene hadde  $R_1$ -verdier mellom  $3,6 \times 10^{-4} \text{ ms}^{-s}$  -  $7,6 \times 10^{-4} \text{ ms}^{-s}$ , og dekket derfor  $R_1$ -verdier som tidligere var blitt målt i tumorvev. Disse konsentrasjonene ville gi en indikasjon på hvor bra avbildningssekvensen kunne skille mellom ulike  $R_1$ -verdier i vev.

Ved å vurdere overlapp av beregnede  $R_1$ -verdier mellom hvert fantom, se figur 16 ble det funnet at FSE hadde minst overlapp og derfor ble en FSE-sekvens valgt til å lage  $R_1^0$ -kart.

Fordi FSE er en 2D-sekvens, måtte derfor avstand mellom snittene vurderes. Litteraturen foreslår en avstand på rundt  $20 - 30\%$  av snittykkelsen [39]. Det ble derfor testet snittavstander i dette området. Hvis snittene ligger for nært hverandre, vil eksitasjon av et snitt medføre at en del av snittet ved siden av også blir eksitert. Det blir antatt at magnetiseringen er i likevekt før eksitasjon. Derfor vil en tidligere eksitering fra omkringliggende snitt medføre at denne antakelsen ikke er oppfylt. Signalet som leses ut vil avvike. Det ble brukt beregnede  $R_1$ -verdier med bruk av et gap på  $100\%$  av snittykkelsen som referanse, det vil si snittykkelse på  $1 \text{ mm}$  med gap  $1 \text{ mm}$ . Dette ligger godt over anbefalt gap på  $30\%$  av snittykkelsen.  $R_1$ -verdier ble deretter beregnet i hvert fantom med bruk av ulike gap ( $0 \text{ mm}$ ,  $0,2 \text{ mm}$  og  $0,4 \text{ mm}$ ) og sammenliknet med referanseverdier. Figur 15 viser at et gap på  $0,4 \text{ mm}$  ligger nærmest referanseverdi.  $0,2 \text{ mm}$  gap var også akseptabelt, men litt lavere. For å få med mest mulig av tumoren i snittet, i tillegg til best mulig estimat av  $R_1$ , ble derfor et gap på  $0,3 \text{ mm}$  valgt.

For at avbildningstiden ikke skulle bli altfor lang ved avbildningssekvens for  $R_1^0$ -kart ble det valgt å bruke  $TR \leq 5000 \text{ ms}$ . Det ble også i dette tilfellet avbildet fantomer med lave konsentrasjoner  $0 - 0,1 \text{ mM}$ . Ved undersøkelse av beregnede  $R_1$ -verdier for de ulike



konsentrasjonene i fantomene var det antydning til overlapp i  $R_1$ -verdier for de laveste konsentrasjonene ( $0 - 0,01$  mM) se figur 13. Ved lave  $R_1$  bruker magnetiseringen lenger tid tilbake til likevekt, se likning 2.37. Det kan dermed antyde at høyere  $TR$ -verdier var nødvendig for å skille de laveste  $R_1$ -verdiene. Figur 14 viser imidlertid at de beregnede  $R_1$ -verdiene ved bruk av  $TR$ -verdier opptil 5000 ms ikke avviker mye fra  $R_1$ -verdiene som er beregnet med bruk av  $TR$ -verdier opp til 15000 ms. Derfor ble det besluttet at  $TR$ -tider på 200 – 5000 ms var tilstrekkelig.

### Tofts modell

Ved å vite endringene i relaksasjon i vevet etter injisering av kontrastvæske i forhold til før injisering av kontrastvæsken fra DCE-MRI, kunne tidsforløpet til konsentrasjon av kontrastvæske bestemmes vokselvis. De beregnede konsentrasjonene fra DCE-MRI ble brukt til kurvetilpasning i Tofts modell. Denne modellen bestemmer vokselvis ratekonstanten  $K^{trans}$ , som beskriver raten kontrastvæsken blir overført fra plasma til EES, og  $v_e$ , fraksjonelt volum av EES. Modellen har visse forutsetninger som må oppfylles. Det antas blant annet en homogen fordeling av kontrastvæske i hver voksel, og at andel kontrastvæske som diffunderer ut fra blodårene, avhenger av EES. Disse forutsetningene er ikke nødvendigvis oppfylt for alle områder. Tumorens uorganiserte vaskulatur medfører lav blodtilførsel i deler av tumor [20]. Modellens antakelse om homogent fordelt kontrastvæske vil ikke være korrekt i disse områdene [2]. Figur 19 viser et eksempel på en voksel hvor ikke alle antakelsene er oppfylt. Figuren viser målt konsentrasjon av kontrastvæske sammen med kurvetilpasning fra Tofts modell. Punktene viser at konsentrasjonen av kontrastvæske øker lineært med tiden i det målte tidsområdet.

$v_e$  beskriver andel EES i vevet, det vil si størrelse på område hvor opptak av kontrastvæske kan skje. I områder med svært lav blodstrøm, kan det antyde at mengde kontrastvæske som tas opp i vevet ikke er begrenset av EES. Med en lineær økning i kontrastvæskeskonsentrasjon vil algoritmen fra Tofts modell beregne en feilaktig verdi av  $v_e$  ( $v_e > 1$ ) [12]. Voksler med  $v_e > 1$  kan derfor indikere områder i tumor som er nekrotiske.

Det var en liten andel av vokslene i tumor hvor modellen ikke fungerte optimalt, og de ble derfor antatt å ha minimal innflytelse ved beregning av medianverdi for hele tumor. Medianverdier ble brukt fremfor gjennomsnittsverdier for å redusere påvirkningen fra vokslar med feilaktive  $v_e$ -verdier.

Ved avbildningen med DCE-MRI var det en mulighet for at vevet kunne forflytte seg fra bilde til bilde på grunn av pustebevegelser. Dette innebar at vokslene ikke inneholdt samme volumelement i hver avbildning. Konsentrasjon som funksjon av tid kunne på den måten bli påvirket av bevegelsene. Kurvetilpasningene i figur 18 ser ikke ut til å bli påvirket særlig av dette, da kurvetilpasningene er gode. Bevegelsene antas å være tilfeldige, og påvirket derfor ikke beregning av  $K^{trans}$  og  $v_e$  i stor grad.

Figur 18 viser at signal til støyforholdet er lavere for R-18 enn A-07. Det ble beregnet  $R^2$ -verdier for kurvetilpasningene og funnet at  $R^2$ -verdiene for R-18-tumorene var lavere enn  $R^2$ -verdiene for A-07-tumorer. Dette skyldes lavere EES i R-18 og dermed et lavere opptak av kontrastvæske enn opptaket i A-07. Det er tidligere vist at R-18-tumorer har høyere celletetthet enn A-07-tumorer [19]. Dermed vil R-18-tumorer ha lavere EES. Vestvik et al. [38] har vist at R-18-tumorer har lavere opptak av kontrastvæske og lavere  $v_e$  sammenlignet med A-07. Dette er i tråd med observasjonene i denne studien.

### Reproduserbarhet

En ubehandlet A-07 tumor og en muskel uten tumor ble avbildet to ganger med DWI (DW-avbildning 1 og 2) deretter to ganger med DCE-MRI (DCE-avbildning 1 og 2). Dette testet reproduserbarheten i avbildningsprotokollen. De beregnede  $K^{trans}$  fra DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 var svært like både i tumor og i muskel.

$v_e$  viste et lite avvik i tumor. To avbildninger med DCE-MRI med kort tid imellom, innebar at den andre DCE-avbildningen ble gjort med en tidligere injisering av kontrastvæske. Derfor kunne det være noe kontrastvæske i vevet ved start av DCE-avbildning 2. I Tofts modell antas det at ingen kontrastvæske befinner seg i vevet ved avbildningens start. Figur 19 viser et eksempel hvor kontrastvæskeskonsentrasjonen øker lineært

og konsentrasjonen ikke viser antydning til å synke. Voksler med en slik lineær økning i konsentrasjon av kontrastvæske har sannsynligvis ikke rukket å skille ut all kontrastvæsken av vevet innen DCE-avbildning nummer 2. Selv om reproduserbarheten viser gode resultater, er det allikevel små variasjoner mellom  $v_e$ -bildene fra DCE-avbildning nummer 1 og nummer 2. Antakelsen om at ingen kontrastvæske befinner seg i vevet ved start, kan derfor være en årsak til de små variasjonene, og de ulike medianverdiene av  $v_e$  for tumor fra DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2. Det antas derfor at en avbildning med lengre opphold ville gitt gode reproduserbare resultater også for  $v_e$  av tumor.

For å redusere variasjonene i  $v_e$  mellom DCE-avbildning 1 og DCE-avbildning 2 hadde en mulighet vært å vente lengre enn en time mellom avbildningene. Da ville det sannsynligvis vært lite kontrastvæske i vevet ved start av DCE-avbildning 2. Men musen måtte da bli tatt ut av scanneren for å våkne fra anestesi. Mus og tumor måtte fikseres på nytt i scanneren, med den følge at tumorvoksler ikke ville være på på nøyaktig samme sted ved begge avbildningene. Det ble derfor valgt å gjøre DCE-avbildningene med en times mellomrom.

$v_e$ -bildene av muskel viser derimot veldig gode reproduserbare resultater.  $v_e$ -bildene fra begge DCE-avbildningene likner, og frekvenshistogrammene fra begge avbildningene overlapper. Fordi muskel er normalvev, antas det en jevn blodstrøm i dette området [20]. Det ble observert en rask økning av kontrastvæske i muskel, før kontrastvæsken ble skilt ut av vevet igjen. Det antas derfor å være minimalt med kontrastvæske i muskelen ved DCE-avbildning nummer 2.

$ADC$ -bilder i figur 27 viser også at  $ADC$ -bilder fra avbildning 1 og avbildning 2 ligner. Områder med høy  $ADC$ - fremkommer i begge  $ADC$  - bildene, både for tumor, figur 27 og muskel, figur 30. Det fremkommer en liten variasjon i median  $ADC$ -verdier fra DW-avbildning 1 og DW-avbildning 2 i tumor. Verdiene er henholdsvis  $ADC = 0,00079 \text{ mm}^2/\text{s}$  og  $ADC = 0,00076 \text{ mm}^2/\text{s}$ . Forskjellene i medianverdiene fra de to avbildningene viser seg imidlertid å være liten når de sammenliknes med variasjon i målte  $ADC$ -verdier som er beregnet for ubehandlede A-07- tumorer. Høyeste målte  $ADC$ -verdi og laveste målte  $ADC$ -verdi for de ubehandlede A-07-tumorene er henholdsvis  $ADC = 0,00098$

$\text{mm}^2/\text{s}$  og  $ADC = 0,00077 \text{ mm}^2/\text{s}$ .

### Bildebehandling

MR-bildene ble importert som DICOM-filer inn i Matlab hvor videre analyse ble gjort. Programmet beregnet  $K^{trans}$ ,  $v_e$  og  $ADC$ -verdier vokselvis for hele tumor. Medianverdier for hele tumor ble også beregnet. I programmet måtte tumor defineres ved at brukeren tegnet inn et ROI i de  $T_2$ -vektede bildene. Det var i noen tilfeller vanskelig å definere periferien til tumor. Skillet mellom hva som var hud eller tumor, eller hva som var tumor og normalvev var uklart. Benjaminsen et al. [2] har vist at det er høyere  $K^{trans}$ -verdier i periferien av tumor enn i senter av tumor. Feil inntegning av ROI vil derfor kunne påvirke medianverdien av  $K^{trans}$ . For å sjekke hvor stor påvirkning inntegning av ROI hadde på medianverdi ble inntegning av ROI gjentatt 10 ganger på ett snitt på en A-07-tumor. For hver inntegning av ROI, ble medianverdi av  $K^{trans}$ ,  $v_e$  og  $ADC$  for snittet beregnet. Medianverdiene av henholdsvis  $K^{trans}$ ,  $v_e$  og  $ADC$  for snittet er bestemt som (gjennomsnitt  $\pm$  standardfeil)  $K^{trans} = 2,7 \times 10^{-2} \pm 0,013 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ ,  $v_e = 1,30 \times 10^{-1} \pm 0,0019 \times 10^{-1}$  og  $ADC = 8,7 \times 10^{-4} \pm 0,0066 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$ . Det viser seg at  $K^{trans}$  blir mest påvirket av denne feilen. Usikkerheten i inntegning av ROI var liten for alle tre parameterne, og ble dermed antatt å ikke påvirke resultatene.

**Volumdoblingstid** Det ble sammenliknet volumdoblingstid av tumorlinjene for å evaluere ulikheter mellom dem. Volumdoblingstiden er målt i et volumområde på  $400 - 1100 \text{ mm}^3$  for A-07 og i et volumområde på  $100 - 700 \text{ mm}^3$  for R-18, og er beregnet fra perioden hvor behandling pågikk (dag 0 - dag 7). På grunn av en kort tidsperiode og ulike volum på de to tumorlinjene, kan derfor en sammenlikning av volumdoblingstiden være noe feilaktig. Allikevel kommer det frem at volumdoblingstiden er nært signifikant kortere for A-07 enn R-18 ( $P=0,06$ ).

### 5.2 Diskusjon av behandlingseffekt

Avastin er et legemiddel med virkestoffet Bevacizumab. Dette virkestoffet binder seg til proteinet VEGF-A. Det er vist at tumorer ofte har overproduksjon av VEGF-A [8]. VEGF-A initierer angiogenese og øker permeabiliteten i blodårene. Blokkering av VEGF-A vil påvirke blodåretettheten og dermed blodstrøm i tumor, og/eller at permeabilitet i blodårene blir redusert. Dette kan føre til at vekst av tumor bremses [12]. I denne studien ble A-07-tumorer og R-18-tumorer behandlet med Avastin to ganger i løpet av syv dager, effekten av behandlingen ble studert med parametre beregnet fra DCE-MRI og DWI. I tillegg ble tumorvolumet målt i løpet av behandlingsperioden.

Resultatene viser at tumorvolumet ikke ble påvirket signifikant av Avastinbehandling i løpet av denne behandlingstiden, hverken for A-07-tumorer eller R-18-tumorer (se figur 34). Behandlede R-18-tumorer viste en tendens til å avvike i vekst fra ubehandlede R-18-tumorer. Det kan derfor ikke utelukkes at en høyere dose Avastin, eller en lengre behandlingsperiode ville hatt større effekt på tumorvolum. Volumet på behandlede A-07-tumorer viste ingen tendens til å avvike fra volumet på ubehandlede A-07-tumorer.

Evaluerings av ratekonstanten  $K^{trans}$ , som er en funksjon av blodstrøm og permeabilitet i blodårer, viser at det er tendenser til behandlingseffekt, men at denne effekten er liten. Behandlede R-18-tumorer hadde en signifikant større reduksjon i  $K^{trans}$  enn de ubehandlede R-18-tumorene, se figur 40. A-07 viste derimot ikke like stor reduksjon i  $K^{trans}$  for de behandlede tumorene sammenliknet med de ubehandlede tumorene, en høyere P-verdi kommer frem. Dette gir antydninger til at A-07-tumorer ikke hadde større effekt av behandlingen enn det R-18-tumorer hadde, og var et uventet resultat. Det er tidligere vist at A-07 har en større effekt på antiangiogenesebehandling som påvirker VEGF-A enn for R-18 [13]. Fordi A-07-tumorer har en større utskillelse av VEGF-A enn det R-18-tumorer har [31], ble det derfor antatt at A-07 er mer avhengig av VEGF-A for angiogenese enn det R-18 er, og at R-18-tumorer kan kompensere med andre angiogenesefaktorer. En hypotese er at dosen som ble gitt i denne studien var for lav for å blokkere all VEGF-A i A-07-tumorer, mens for R-18 ble all VEGF-A blokkert. Hvis dette er tilfellet vil en økt

dose Avastin kunne gi en økt effekt på A-07, mens R-18 vil ikke bli mer påvirket av økt dose.

Evaluerings av ratio av  $K^{trans}$  for begge tumorlinjene A-07 og R-18 sammen, gir en nær signifikant reduksjon i  $K^{trans}$  for de behandlede sammenliknet med ubehandlede ( $P=0,51$ ), se figur 41. Tumorlinjene ble slått sammen for å få flere tumorer, og dermed en bedre indikasjon på om effekten av Avastin-behandlingen kunne detekteres.

$K^{trans}$  synker for både de behandlede og de ubehandlede tumorene. Resultatene viser at  $K^{trans}$  synker med økende tumorvolum, se figur 43. Figuren viser at sammenhengen mellom økende tumorvolum og  $K^{trans}$  er eksponentiell. De behandlede tumorene avviker fra denne sammenhengen, både for A-07 og R-18. Dette kan være en tidlig indikasjon på behandlingseffekt for både A-07 og R-18-tumorer. De ubehandlede tumorene ligger langs den heltrukne linjen i plottet, mens de behandlede tumorene ligger enten over eller under denne linjen. En mulig forklaring kan være at de som ligger over linjene kan ha fått et normalisert blodårenettverk, mens de som ligger under linjen har fått redusert blodstrømmen eller permeabiliteten i blodårene.

Det at  $K^{trans}$  synker mer i de behandlede tumorene enn i de ubehandlede tumorene kan bety at enten har blodstrøm blitt redusert, eller så har permeabiliteten i blodåreveggen blitt redusert av behandlingen.

Selv om resultatene viser antydning til at behandlingen påvirker  $K^{trans}$  vil det være nødvendig å gjøre målinger på flere tumorer for å få en sikker konklusjon. Med flere tumorer vil det komme tydeligere frem om det er en behandlingseffekt eller ikke. Endringen i  $K^{trans}$  som fanges opp kan imidlertid være en tidlig indikasjon på respons av behandlingen, som kan detekteres med DCE-MRI.

En reduksjon i  $K^{trans}$  vil kunne påvirke behandlingseffekten av for eksempel kjemoterapi eller stråleterapi. Hvis en reduksjon i  $K^{trans}$  betyr lavere blodstrøm i tumor vil effekt av kjemoterapi og stråleterapi kunne bli dårligere. Kjemoterapi kommer via blodet, og med lavere blodstrøm vil også mengde kjemoterapi til tumor reduseres [4]. Effekt av stråleterapi vil også være lavere ved redusert blodstrøm på grunn av lavere oksygennivå [28]. Det kan derfor tenkes at kjemo- eller stråleterapi bør gis i forkant av Avastinbe-

handling for at effekten ikke skal bli redusert.

Hvis reduksjon i  $K^{trans}$  er et resultat av redusert permeabilitet i blodårene, vil dette også kunne påvirke effekten av kjemoterapi [22]. Normalt vil økt permeabilitet føre til økt lekkasje gjennom blodårene, og dermed økt dose til tumor. Lavere permeabilitet i blodårene vil kunne medføre en lavere dose kjemoterapi for store molekyler.

En annen effekt av redusert permeabilitet i blodårene vil være en lavere IFP i tumor [22]. Hvis IFP reduseres vil diffusjon av væske gjennom blodårene ut i EES bli høyere på grunn av redusert trykk i EES. I dette tilfellet vil effekten av kjemoterapi kunne bli høyere.

Blokking av angiogenesefaktorer kan også medføre normalisering av blodårer i tumor [21]. Ved normalisering av blodårer, vil blodstrøm i tumor kunne øke, og blodstrømmen blir mer homogen. I dette tilfellet vil både kjemoterapi og stråleterapi ha en større behandlingseffekt, og Avastin bør i dette tilfellet gis i forkant av behandlingen.

Både  $v_e$  og  $ADC$  virker å være upåvirket av behandlingen. Effekten av behandlingen i denne studien kan derfor antas å ikke gi nekrose i tumorene. Det kan derimot ikke utelukkes at en økt dose Avastin vil medføre nekrose på grunn av reduksjon i blodtilførsel til tumor. Ved nekrose vil både  $v_e$  og  $ADC$  endres.

### 5.3 Klinisk relevans

Avastin er dyrt og gir ubehagelige bivirkninger til pasienten. Det er vist en respons i tumorvekst ved antiangiogenesebehandling [13]. Det er derfor ønskelig å finne en god metode som kan bestemme om behandlingen har effekt på et tidligere stadium enn ved evaluering av tumorvolum. Resultatene tyder på at effekt av behandlingen kan detekteres på et tidligere stadium enn ved kun å evaluere tumorvekst. Selv med få tumorer og kort behandlingstid viser resultatene at data fra MRI kan indikere om behandlingen har effekt eller ikke. Det vil være nødvendig å modifisere arterie input-funksjonen slik at den tilpasses klinisk bruk. På grunn av ulik utskillelse av kontrastvæske i mennesker, vil det være nødvendig å måle AIF individuelt på hver pasient fremfor å bruke en populasjons-

basert AIF.

Resultater fra denne typen MR-avbildninger vil kunne gi en indikasjon på om behandlingen har effekt, og hvordan en annen type behandling bør gis sammen med Avastin. Ved normalisering av blodårer og økt blodstrøm, vil det være mest effektivt å gi Avastin i forkant av kjemo- eller stråleterapi. Ved redusert blodstrøm vil det være mest effektivt å gi i etterkant av kjemo- eller stråleterapi, for å hindre tumorvekst.

## 5.4 Forslag til videre arbeid

For å få et bedre og mer sikkert resultat i hvordan behandlingseffekten fanges opp med MRI, vil bruk av flere mus være nødvendig. Resultatene viser at behandlingseffekten er nær signifikant for både A-07 og R-18, med en reduksjon i  $K^{trans}$ . Med flere mus, vil det vises tydeligere om behandlingen med Avastin har effekt eller ikke.

For å undersøke om reduksjon i  $K^{trans}$  er en indikasjon på redusert vaskularitet, kan en CD31-undersøkelse gjøres. CD31 er en markør som farger endotelceller i histologiske preparater [32]. Ved å analysere et slik preparat kan det fås informasjon om blodåretettheten i tumor. CD31 sier imidlertid ingenting om permeabiliteten i blodårene, men det kan gi en indikasjon på om en reduksjon av  $K^{trans}$  er redusert vaskularitet eller ikke. Det var et uventet resultat at R-18 viste antydning til en større behandlingseffekt enn A-07. En mulighet vil være å øke dosen Avastin, for å teste om forskjell i effekt for de to tumorlinjene blir den samme. En hypotese er at A-07 vil ha en høyere effekt enn R-18 ved høyere dose, på grunn av lavere produksjon av VEGF-A i R-18. Hvis det meste av VEGF-A i R-18 blir blokkert med dosen som ble gitt i denne studien, vil ikke en høyere dose ha noen større behandlingseffekt på R-18. Dette vil kunne gi en indikasjon på hvor stor rolle mengden av VEGF-A i tumor har på behandlingseffekten.



---

## 6 Konklusjon

Det ble bestemt en avbildningsprotokoll for DCE-MRI og DWI som ga lite støy i bildene. Dette bekreftes ved å studere kurvetilpasning til Tofts modell og ved bestemmelse av diffusjonskoeffisient. Avbildningsprotokollen viste gode reproduserbare resultater, både i tumor og muskel, noe som indikerer at avbildningsprotokollen kan benyttes på ulike typer vev.

Resultater fra avbildninger av ubehandlede A-07-tumorer og ubehandlede R-18-tumorer viste at avbildningsprotokollen klarte å skille fysiologiske ulikheter mellom tumorlinjene. Både  $K^{trans}$ ,  $v_e$  og  $ADC$  ble vist å være signifikant høyere for A-07 sammenlignet med R-18.

Protokollen ga resultater som kan gi indikasjoner på en tidlig effekt av behandlingen for både A-07-tumorer og R-18-tumorer. En sammenligning av behandlede og ubehandlede tumorer viste en signifikant større reduksjon i  $K^{trans}$  for behandlede R-18 tumorer sammenliknet med ubehandlede R-18-tumorer. A-07-tumorene viste en trend til å ha en større reduksjon i  $K^{trans}$  for behandlede tumorer sammenlignet med ubehandlede tumorer, men denne reduksjonen var ikke signifikant.

---

## Vedlegg A

ADC	Appearant diffusion coefficient
AIF	Arterie input-funksjon
DCE-MRI	Dynamisk kontrastforsterket magnetisk resonansavbildning
DOTA	1,4,7,10-tetraazasyklododekan-1,4,7,10-tertaetylsyre
DTPA	dietylentriaminpentaetylsyre
DW	Diffusjonsvektet
DWI	Diffusjonsvektet magnetisk resonansavbildning
EPI	Ekko planar avbildning
FID	Free induction decay
FLASH	Fast low angle shot
FSE	Fast spin echoo
GRE	Gradient ekko
IFP	Interstetielt væsketrykk
MRI	Magnetisk resonansavbildning
RARE	Rapid acquisition with refocusing echoes
ROI	Region of interest
SE	Spinn ekko

---

SPGR	Spoiled gradient echo
TE	Ekkotid
TR	Repetisjonstid
VEGF	Vaskular endothelial growth factor

## Referanser

- [1] Roland Bammer. Basic principles of diffusion-weighted imaging. *European journal of radiology*, 45(3):169–184, 2003.
- [2] Ilana C Benjaminsen, Bjørn A Graff, Kjetil G Brurberg, and Einar K Rofstad. Assessment of tumor blood perfusion by high-resolution dynamic contrast-enhanced MRI: A preclinical study of human melanoma xenografts. *Magnetic resonance in medicine*, 52(2):269–276, 2004.
- [3] Atle Bjørnerud. The physics of magnetic resonance imaging, kompendium II til faget FYS-KJM4740 ved UiO, 2008.
- [4] J Martin Brown and Amato J Giaccia. The unique physiology of solid tumors: opportunities (and problems) for cancer therapy. *Cancer research*, 58(7):1408–1416, 1998.
- [5] Peter Carmeliet and Rakesh K Jain. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature*, 407(6801):249–257, 2000.
- [6] Nisha Charkoudian. Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why. In *Mayo Clinic Proceedings*, volume 78, pages 603–612. Elsevier, 2003.
- [7] Robert L Dixon and Kenneth E Ekstrand. The physics of proton NMR. *Medical physics*, 9(6):807–818, 1982.
- [8] Napoleone Ferrara, Kenneth J Hillan, Hans-Peter Gerber, and William Novotny. Discovery and development of Bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nature reviews Drug discovery*, 3(5):391–400, 2004.
- [9] Maggie A Flower. *Webb’s physics of medical imaging*. CRC Press, 2012.

- [10] Dai Fukumura and Rakesh K Jain. Tumor microenvironment abnormalities: causes, consequences, and strategies to normalize. *Journal of Cellular Biochemistry*, 101(4):937–949, 2007, først publisert i 2006.
- [11] Anthony Fyles, Michael Milosevic, Melania Pintilie, Ami Syed, Wilf Levin, Lee Manchul, and Richard P Hill. Long-term performance of interstitial fluid pressure and hypoxia as prognostic factors in cervix cancer. *Radiotherapy and oncology*, 80(2):132–137, 2006.
- [12] Jon-Vidar Gaustad, Ilana C Benjaminsen, Else-Beate M Ruud, and Einar K Rofstad. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging of human melanoma xenografts with necrotic regions. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 26(1):133–143, 2007.
- [13] Jon-Vidar Gaustad, Trude G Simonsen, Marit N Leinaas, and Einar K Rofstad. Sunitinib treatment does not improve blood supply but induces hypoxia in human melanoma xenografts. *BMC cancer*, 12(1):388, 2012.
- [14] Eric J Hall and Amato J Giaccia. *Radiobiology for the Radiologist*. Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
- [15] Eddy W. Hansen. MR spectroscopy and tomography – kompendium I til faget FYS-KJM4740 ved UiO, 2014.
- [16] Annelise Hem, Dag Marcus Eide, Espen Engh, and Adrian Smith. Kompendium i forsøksdyrlære, 2004.
- [17] Karl Hittmair, Gregor Gomiscek, Karl Langenberger, Michael Recht, Herwig Imhof, and Josef Kramer. Method for the quantitative assessment of contrast agent uptake in dynamic contrast-enhanced mri. *Magnetic resonance in medicine*, 31(5):567–571, 1994.

- [18] Michael Höckel and Peter Vaupel. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects. *Journal of the National Cancer Institute*, 93(4):266–276, 2001.
- [19] Tord Hompland, Christine Ellingsen, Kanthi Galappathi, and Einar K Rofstad. DW-MRI in assessment of the hypoxic fraction, interstitial fluid pressure, and metastatic propensity of melanoma xenografts. *BMC cancer*, 14(1):92, 2014.
- [20] Rakesh K Jain. Determinants of tumor blood flow: a review. *Cancer research*, 48(10):2641–2658, 1988.
- [21] Rakesh K Jain. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in anti-angiogenic therapy. *Science*, 307(5706):58–62, 2005.
- [22] Seong Hoon Jang, M Guillaume Wientjes, Dan Lu, and Jessie L-S Au. Drug delivery and transport to solid tumors. *Pharmaceutical research*, 20(9):1337–1350, 2003.
- [23] Legemiddelindustrien. Felleskatalogen, 2001.
- [24] John S Lilley. *Nuclear physics: principles and applications*. John Wiley & Sons, 2013.
- [25] R Luypaert, S Boujraf, S Sourbron, and M Osteaux. Diffusion and perfusion MRI: basic physics. *European journal of radiology*, 38(1):19–27, 2001.
- [26] Heidi Lyng, Gro A Dahle, Olav Kaalhus, Arne Skretting, and Einar K Rofstad. Measurement of perfusion rate in human melanoma xenografts by contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Magnetic resonance in medicine*, 40(1):89–98, 1998.
- [27] Heidi Lyng, Olav Haraldseth, and Einar K Rofstad. Measurement of cell density and necrotic fraction in human melanoma xenografts by diffusion weighted magnetic resonance imaging. *Magnetic resonance in medicine*, 43(6):828–836, 2000.
- [28] Philip Mayles, Alan Nahum, and Jean-Claude Rosenwald. *Handbook of Radiotherapy Physics: Theory and Practice*. CRC Press, 2007.

- [29] Michael F Milosevic, Anthony W Fyles, Raimond Wong, Melania Pintilie, Mary-Claire Kavanagh, Wilfred Levin, Lee A Manchul, Thomas J Keane, and Richard P Hill. Interstitial fluid pressure in cervical carcinoma. *Cancer*, 82(12):2418–2426, 1998.
- [30] Anwar R Padhani, Guoying Liu, Dow Mu-Koh, Thomas L Chenevert, Harriet C Thoeny, Taro Takahara, Andrew Dzik-Jurasz, Brian D Ross, Marc Van Cauteren, David Collins, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging as a cancer biomarker: consensus and recommendations. *Neoplasia*, 11(2):102–125, 2009.
- [31] EK Rofstad. Orthotopic human melanoma xenograft model systems for studies of tumour angiogenesis, pathophysiology, treatment sensitivity and metastatic pattern. *British journal of cancer*, 70(5):804, 1994.
- [32] EK Rofstad and EF Halsør. Hypoxia-associated spontaneous pulmonary metastasis in human melanoma xenografts: involvement of microvascular hot spots induced in hypoxic foci by interleukin 8. *British journal of cancer*, 86(2):301–308, 2002.
- [33] James William Rohlf. *Modern Physics from alpha to Z0*. Wiley New York, 1994.
- [34] David Sadava, H. Craig Heller, Gordon H Orians, William K Purves, and David M Hillis. *Life: The Science of Biology: Volume I: The Cell and Heredity*, volume 1. W.H Freeman and Company Macmillan, 2008.
- [35] Gregg L Semenza. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 3(10):721–732, 2003.
- [36] June S Taylor, Paul S Tofts, Ruediger Port, Jeffrey L Evelhoch, Michael Knopp, Wilburn E Reddick, Val M Runge, and Nina Mayr. Mr imaging of tumor microcirculation: promise for the new millenium. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 10(6):903–907, 1999.
- [37] Paul S Tofts, Gunnar Brix, David L Buckley, Jeffrey L Evelhoch, Elizabeth Henderson, Michael V Knopp, Henrik BW Larsson, Ting-Yim Lee, Nina A Mayr,

- Geoffrey JM Parker, et al. Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T1-weighted MRI of a diffusable tracer: standardized quantities and symbols. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 10(3):223–232, 1999.
- [38] Ida K Vestvik, Tormod AM Egeland, Jon-Vidar Gaustad, Berit Mathiesen, and Einar K Rofstad. Assessment of microvascular density, extracellular volume fraction, and radiobiological hypoxia in human melanoma xenografts by dynamic contrast-enhanced MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 26(4):1033–1042, 2007.
- [39] M.T. Vlaardingerbroek and J.A. Den Boer. *Magnetic Resonance Imaging: Theory and Practice. Third edition, 2003*. Springer-Verlag, Berlin, 2003.
- [40] Hanns-Joachim Weinmann, Robert C Brasch, Wolf-R Press, and George E Wesbey. Characteristics of gadolinium-DTPA complex: a potential NMR contrast agent. *American Journal of Roentgenology*, 142(3):619–624, 1984.
- [41] Catherine Westbrook and Carolyn Kaut Roth. *MRI in Practice*. John Wiley & Sons, 2013.





Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
67 23 00 00  
[www.nmbu.no](http://www.nmbu.no)