

DISS. ETH NO. 29855

Quantitative Assessment of Microvascular Dynamics with Spectroscopic Large-Scale Optoacoustic Microscopy

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

Weiye Li

Master of Science in Electrical Engineering and Information Technology

ETH Zurich, Switzerland

born on 06.07.1994

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Daniel Razansky

Prof. Dr. Martin Frenz

Prof. Dr. Christian Stockmann

2024

Abstract

Microcirculation is comprised of arteries, capillaries, and veins with sizes that are mostly invisible to the human eye. It plays a central role in supplying oxygen and nutrients to living tissues, and underlies a myriad of pathological processes. Imaging microcirculation in an unperturbed biological environment over time provides invaluable insights into tissue physiology, organ development and the underlying mechanisms of pathological alterations.

Optoacoustic imaging offers unique capabilities to measure microcirculation by capitalizing on the intrinsic optical absorption of hemoglobin in the visible and near infrared spectrum. By employing focused excitation light, optoacoustic microscopy offers rich morphological and functional information within microvascular structures in a non-invasive and label-free manner. Owing to the hybrid nature of optoacoustic imaging, the seamless integration with pulse-echo ultrasound offers complementary anatomical information and facilitates the interpretation and quantification of microvascular signals.

This thesis is dedicated to the technical development of a hybrid optoacoustic and ultrasound microscopy system and its application in various preclinical studies. A spectroscopic optoacoustic and ultrasound microscopy system was developed to image microvascular morphology and oxygenation in three dimensions at capillary resolution over centimeter field-of-view. Thanks to the excellent endogenous contrast from hemoglobin, the system is well suited to perform longitudinal *in vivo* studies without repeated injection of contrast agents and invasive procedures. On the application side, the first contribution aimed to track angiogenesis and vascular remodeling processes during murine skull development. Vasculature in the skull was accurately segmented from the cerebral vasculature, and its longitudinal changes were quantified and linked to the skull bone growth. The second contribution targeted the wound healing process in the dorsal murine skin. Skin layer-specific microvascular morphology and oxygenation dynamics were monitored comprehensively at large scale up to 10 days post injury.

A further contribution of the presented work is to enhance optoacoustic imaging performance in the mesoscopic depth regime. Instead of using focused excitation light, broad illumination is used in combination with focused ultrasonic detection, in order to achieve deeper penetration by taking advantage of low ultrasound scattering in biological tissues. In this regime, spatial resolution is determined by the acoustic properties of ultrasound transducer. By numerically modeling the shape and impulse response of the transducer and iteratively correcting for the acoustic detection deficiencies in a model-based reconstruction approach, the mesoscopic imaging performance was significantly enhanced as demonstrated in numerical simulations, phantoms and *in vivo* images in mice and human volunteers.

Zusammenfassung

Die Mikrozirkulation besteht aus Arterien, Kapillaren und Venen mit Durchmessern, die für das menschliche Auge meist unsichtbar sind. Sie spielt eine zentrale Rolle bei der Versorgung des Gewebes mit Sauerstoff und Nährstoffen und liegt einer Vielzahl von pathologischen Prozessen zugrunde. Die Abbildung der Mikrozirkulation in einer ungestörten biologischen Umgebung über einen längeren Zeitraum hinweg bietet unschätzbare Einblicke in die Gewebephysiologie, die Organentwicklung und die zugrunde liegenden Mechanismen pathologischer Veränderungen.

Die opto-akustische Bildgebung bietet einzigartige Möglichkeiten zur Messung der Mikrozirkulation, indem sie sich die intrinsische optische Absorption von Hämoglobin im sichtbaren und nahen Infrarotspektrum zunutze macht. Durch den Einsatz von fokussiertem Anregungslicht bietet die opto-akustische Mikroskopie reichhaltige morphologische und funktionelle Informationen innerhalb mikrovaskulärer Strukturen auf nicht-invasive Weise und ohne zusätzliche Kontrastmittel. Aufgrund des hybriden Charakters der optoakustischen Bildgebung bietet die nahtlose Integration mit Puls-Echo-Ultraschall ergänzende anatomische Informationen und erleichtert die Interpretation und Quantifizierung mikrovaskulärer Signale.

Diese Arbeit widmet sich der technischen Entwicklung eines hybriden optoakustischen und ultraschallmikroskopischen Systems und seiner Anwendung in verschiedenen präklinischen Studien. Ein spektroskopisches opto-akustisches und ultraschallmikroskopisches System wurde entwickelt, um die Morphologie und Oxygenierung der Mikrovaskulatur in drei Dimensionen mit kapillarer Auflösung über ein Sichtfeld von einem Zentimeter darzustellen. Dank des hervorragenden endogenen Kontrasts von Hämoglobin ist das System gut geeignet, um longitudinale in-vivo Studien ohne wiederholte Injektion von Kontrastmitteln und invasive Verfahren durchzuführen. Auf der Anwendungsseite zielte der erste Beitrag darauf ab, Angiogenese und vaskuläre Umbauprozesse während der Schädelentwicklung bei Mäusen zu verfolgen. Die Gefäße im Schädel wurden präzise von den zerebralen Gefäßen abgegrenzt, und ihre longitudinalen Veränderungen wurden quantifiziert und mit dem Wachstum des Schädelknochens in Verbindung gebracht. Der zweite Beitrag befasste sich mit dem Wundheilungsprozess in der dorsalen Haut von Mäusen. Hautschichtspezifische mikrovaskuläre Morphologie und Oxygenierungsdynamik wurden bis zu 10 Tage nach der Verletzung über eine große Fläche beobachtet.

Ein weiterer Beitrag der vorgestellten Arbeit ist die Verbesserung der optoakustischen Bildgebungsleistung im mesoskopischen Tiefenbereich. Anstelle von fokussiertem Anregungslicht wird eine diffuse Beleuchtung in Kombination mit fokussierter Ultraschalldetektion verwendet, um durch Ausnutzung der geringen Ultraschallstreuung in biologischem Gewebe eine tiefere Durchdringung zu erreichen. In diesem System wird die räumliche Auflösung durch die akustischen Eigenschaften des Ultraschallwandlers bestimmt. Durch die numerische Modellierung der Form und der Impulsantwort des Ultraschallwandlers und die iterative Korrektur der akustischen Detektionsmängel in einem modellbasierten Rekonstruktionsansatz konnte die mesoskopische Bildgebungsleistung erheblich verbessert werden, wie in numerischen Simulationen, Phantomen und in-vivo Bildern bei Mäusen und menschlichen Probanden nachgewiesen wurde.