

Einleitung

Problem

Zahlreiche pathologische Untersuchungen (seit 1990) haben zu einer Neubewertung der Atherosklerose geführt. Nach dieser Neubewertung ist die Atherosklerose eine chronisch-entzündliche Erkrankung (Ross R, 1993; Ross R, 1999). Endotheliale Dysfunktion wird als der wichtigste Mechanismus für die Initiierung und die Unterhaltung des entzündlichen Krankheitsprozesses angesehen (Ross R, 1993; Ross R, 1999). Makrophagen spielen eine wesentliche Rolle für das Wachstum und die Destabilisierung atherosklerotischer Läsionen (Stary HC et al., 1992). Derzeit werden neue, nichtinvasive bildgebende Verfahren entwickelt, die diesen Entzündungszustand darstellen sollen. Als besonders aussichtsreich werden szintigraphische und magnetresonanztomographische bildgebende Verfahren angesehen (Fayad ZA et al., 2001; Schmitz SA et al., 2000; Vallabhajosula S, 1999; Vallabhajosula S et al., 1997). Diese neuen diagnostischen Techniken sollen im Rahmen der Grundlagenforschung den Entzündungsprozeß, der bereits pathologisch und molekularbiologisch sehr gut untersucht wurde, auch in vivo nachweisen. Langfristiges Ziel dieser Bemühungen soll eine Therapie der Atherosklerose im Sinne einer Plaquestabilisierung oder einer Entzündungshemmung sein (Fuster V et al., 1997). Diese Therapie soll eine Primärprävention der Atherosklerose selbst darstellen, bevor die Folgen der Atherosklerose durch Herz- oder Hirninfarkt sowie die Folgen der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit eintreten (Fuster V, 1997).

Die Darstellung atherosklerotischer Wandläsionen ist jedoch sehr anspruchsvoll und erfordert einerseits eine hohe Ortsauflösung und andererseits eine hohe Kontrastempfindlichkeit für die Effekte der Eisenoxidpartikel. Zusätzlich ist die Anwesenheit von fließendem Blut und die Bewegung der Gefäßwand durch Atmung oder Herzschlag ein erhebliches untersuchungstechnisches Problem. Auch sind atherosklerotische Läsionen sehr heterogen. Sie bestehen aus Stoffen wie Wasser, flüssigen Triglyzeriden, kristallinen Cholesterinestern, einer fibrotischen Matrix sowie aus Blutabbauprodukten und Verkalkungen. Ein alternativer Ansatz für die

Darstellung der Arterienwand ist die Verwendung von Kontrastmitteln, die nach Aufnahme in die Arterienwand deren Signalintensität manipulieren. Zusätzlich können bestimmte Kontrastmittel spezifisch bestimmte Zellen atherosklerotischer Plaques markieren. Ein erster Ansatz für eine solche Bildgebung sind ultrakleine superparamagnetische Eisenoxidpartikel (engl. *ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles*, USPIO) für die MRT. Der Kontrastmitteleffekt durch superparamagnetisches Eisenoxid in T2*-gewichteten Bildern ist eine fokale Signalauslöschung (Schmitz SA, 2000). Eine solche kann jedoch theoretisch auch durch wasserarme fibrotische Strukturen, Verkalkungen und Blutabbauprodukte entstehen. Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war es daher, bei Kaninchen, die in vivo superparamagnetisches Eisenoxid erhalten hatten und bei denen prä und post Kontrast Aufnahmen vorlagen, diese eben genannten Fehlermöglichkeiten zu überprüfen.

Bei Pilotexperimenten von Schmitz et al stellte sich jedoch heraus, dass es außerordentlich schwierig war, das histologische Präparat, d. h. serielle Schnitte von 3 mm Schnittabstand mit 2 mm dicken, schichtangrenzenden in vivo-MRT-Bildern zu vergleichen, da es im Rahmen der Gefäßpräparation und Formalinfixierung zu nichtlinearen Schrumpfungsprozessen kommt und da im Kaninchen nur wenige Abgänge der thorakalen Aorta vorkommen, die eine Zuordnung des histologischen Präparates zur in vivo-Schichtebene gestatten (Schmitz SA, 2000).

Zwischen der in vivo-Bildgebung und der histologischen Aufarbeitung wurde deswegen noch ein weiterer Untersuchungsschritt eingefügt. Dabei wurden die 3 mm langen Gefäßsegmente der Aorta thoracica und der suprarenalen Aorta abdominalis in einen Agar-Block eingebettet und ex vivo mittels MRT mit derselben Sequenz, die auch in vivo verwendet wurde, untersucht. Bei der ex vivo Sequenz wurde jedoch zur besseren örtlichen Auflösung die Schichtdicke von 2 mm auf 0,5 mm reduziert. Zusätzlich wurde dieser Agar-Block samt der darin befindlichen Gefäßsegmente zum Nachweis von Verkalkungen in Mammo-Technik geröntgt. Die ex vivo-MRT-Bilder wurden dann von zwei unabhängigen Untersuchern ohne Kenntnis der in vivo-Messungen, der Histologie und der ex vivo-Radiographie hinsichtlich des Eisenoxideffektes ausgewertet und mit dem Goldstandard Histologie verglichen.

Hintergrund

Die Atherosklerose ist eine Erkrankung der Arterienwand mittelgroßer und großer Arterien und es ist eine Systemerkrankung, die den gesamten Körper befällt (Meyer R, 1999). Die Erkrankung weist interindividuell unterschiedliche Befallsmuster auf. Das klinische Handeln konzentriert sich derzeit vorwiegend auf das Gefäßlumen und abhängig vom Fachgebiet auf bestimmte Gefäßprovinzen. Aufgrund zahlreicher pathologischer und klinischer Daten wird das derzeitige diagnostische Konzept, das im wesentlichen aus der Angiographie mit Stenosequantifizierung besteht, jedoch in Frage gestellt und die Untersuchung der Gefäßwand findet eine größere Beachtung. Besonders deutlich wird die Wand-Lumen-Problematik am Beispiel der Koronarangiographie: Zwar kann bei Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung mittels perkutaner transluminaler Koronarangioplastie oder Aortokoronarem-Bypass die Lebensqualität, insbesondere durch Reduktion der Angina-pectoris-Symptomatik, verbessert werden. Es findet sich jedoch kein lebensverlängernder Effekt (Hueb WA et al., 1995). Dagegen kann durch Behandlung der Hypercholesterinämie mit Statinen das Risiko an einer koronaren Herzerkrankung zu versterben, signifikant um 44 % gesenkt werden. Nur kann bei Patienten, die durch eine Statintherapie klinisch profitierten, koronarangiographisch kein Rückgang bestehender Stenosen festgestellt werden (Levine GN et al., 1995). Der genaue Wirkmechanismus der Statine ist noch unklar. Man geht von einem Plaque-stabilisierenden Effekt aus (Fuster V, 1999). Die Stabilisierung der Wandläsion hat somit keinen Effekt auf die luminale Anatomie. Zusätzlich zeigte Ambrose (Ambrose JA et al., 1988) mit Verlaufskoronarangiographien, daß die Mehrzahl der Infarkte gerade von solchen Gefäßwandabschnitten ausgeht, die in einer Voruntersuchung nur eine gering- oder mittelgradige Stenosierung aufweisen. Am Beispiel der koronaren Herzerkrankung zeigt sich somit einerseits der Nutzen der Angiographie für die Planung einer Revaskularisation symptomatischer Gefäßstenosen. Die Angiographie ist jedoch kein geeignetes diagnostisches Verfahren zur Abschätzung des vaskulären Risikos und zur Kontrolle plaquestabilisierender Therapien.

Pathoanatomie

Eine Erklärung für die Diskrepanz zwischen angiographischem Befund und vaskulärem Risiko liefern pathologische Untersuchungen von Glagov (Glagov S et al., 1987). Dieser konnte zeigen, daß die frühe atherosklerotische Läsion zwar eine Wandverdickung und im Verlauf eine beträchtliche Zunahme des Außendurchmessers hervorruft, daß aber das Gefäßlumen auch bei fortschreitender Erkrankung lange in unveränderter Weite erhalten bleibt. Erst wenn dieser Mechanismus der kompensatorischen Erweiterung (engl. compensatory enlargement) erschöpft ist, kommt es zur Stenose.

Dagegen sind von besonderem klinischem Interesse solche Läsionen, von denen ein hohes Infarktisiko ausgeht und deren Abheilung den Effekt einer plaquestabilisierenden Therapie anzeigt. Fuster und andere haben solche Läsionen bei Koronararterien als „vulnerable Plaques“ bezeichnet (Fuster V, 1994). Andere nennen sie „risikoreiche“ oder „high-risk“ Läsionen. Pathologisch sind diese Läsionen charakterisiert durch zahlreiche Makrophagen, einen großen „Atheromkern“ (Fettsee) und eine dünne „fibröse Kappe“, die den Atheromkern vom Gefäßlumen trennt (Mann JM et al., 1996). Die eigentliche Komplikation der Läsion entsteht durch eine Endothelulzeration oder Plaqueruptur. Der so entstandene oberflächliche Defekt bringt das stark thrombogene Plaquematerial mit dem vorbeiströmenden Blut in Kontakt. Aus dem Blut bildet sich darauf ein wandständiger Thrombus, der wiederum durch einen lokalen Gefäßverschluß (Arterienthrombose) oder als Arterio-Arterielle-Embolie zum Infarkt führt. Zusätzlich können auch Plaquebestandteile selbst in unterschiedlichem Ausmaß das Lumen verlagern. Die „dünne fibröse Kappe“ und der „große Atheromkern (Fettsee)“ sind damit pathologisch definierte Vulnerabilitätskriterien, die sich als potentielle Ziele nichtinvasiver bildgebender Verfahren anbieten (Yuan C et al., 1998).

Komplizierter, ist die histopathologische Einteilung der American Heart Association (AHA). Diese geht dabei von einer stadienartigen Entwicklung der atherosklerotischen Läsionen aus. Es werden drei „frühe“ (Typ I-III) und drei

potentiell symptomatische „fortgeschritte“ Läsionstypen (Typ IV-VI) unterschieden (Sary HC et al., 1995), Siehe Tabelle 1.

Tabelle 1 Einteilung atherosklerotischer Läsionen der American Heart Association (AHA)

Läsionstyp (AHA)	Alternative Bezeichnung	Histologische Zusammensetzung der Intima
Frühläsion		
I	Initiale Läsion	Ansammlung von Plasmalipoproteinen, gruppierte Makrophagen mit Fetttropfchen, einzelne Schaumzellen
II	Fettstreifen (fatty streak)	Ansammlung von Plasmalipoproteinen, mehrere Zellschichten von Makrophagen und glatten Muskelzellen, beide z. T. mit Fetttropfchen, vereinzelt Lymphozyten
III	Präatherom	Befund wie bei Fettstreifen, zusätzlich einzelne extrazelluläre Lipidseen
Fortgeschrittene Läsion		
IV	Atherom	Befund wie beim Präatherom , aber Konfluenz der Lipidseen zu einem Atheromkern (core); strukturelle Intimaschäden
V	Fibroatherom	Bindegewebsreiche Läsion mit Atheromkern
Va	Multilaminäres Fibroatherom	Mehrschichtige bindegewebsreiche Läsion mit mehreren durch Bindegewebsbrücken getrennten Atheromkernen
Vb	Verkalktes Fibroatherom	Typ-V-Läsion mit starker Verkalkung
Vc	Fibroma	Bindegewebsreiche Läsion ohne Atheromkern oder starke Verkalkung
VI	Komplizierte Läsion	Jede andere Läsion typischerweise Typ-V-Läsionen, mit Fissur, Hämorrhagie oder Thrombus

MRT atherosklerotischer Läsionen - Plaque-Imaging

Wegen ihres hohen Weichteilkontrastes ist die MRT prinzipiell ein besonders geeignetes Verfahren zur Darstellung atherosklerotischer Plaques. Verschiedene Gruppen haben sich seit 20 Jahren mit dem Vessel-Wall-Imaging oder Plaque-Imaging beschäftigt. Zunächst wurde versucht, die unterschiedlichen Gewebsanteile atherosklerotischer Läsionen mit der MRT darzustellen (Herfkens RJ et al., 1983). An der Arteria carotis interna konnten verschiedene Gewebsanteile atherosklerotischer Läsionen in-vivo dargestellt werden:

Fett, Bindegewebe, Verkalkung, Einblutung und wandständige Thromben (Toussaint JF et al., 1996). Besondere Beachtung wurde dabei zunächst der Abbildung des Fettanteils geschenkt. Die Fette atherosklerotischer Läsionen machen jedoch nur einen sehr kleinen Anteil des Resonanzsignals aus, da ihr relativer Gewebsanteil gering ist und da sie teilweise in einer nicht signalwirksamen, kristallinen Form vorliegen (Yuan C et al., 1997). Der überwiegende Anteil des Resonanzsignals atherosklerotischer Läsionen, etwa 90%, entstammt dem Plaqueswasser (Toussaint JF, 1996). Daher bieten sich besonders wasserempfindliche T2-gewichtete Techniken für die Plaque-MRT an. Sie gestatten die Differenzierung des fibrösen Gewebes (iso- bis hyperintens) und des Atheromkerns (hypointens). T1-gewichtete Messungen stellen diese weichen Gewebsanteile der Arterienintima relativ signalreich dar und erlauben den Nachweis von Verkalkungen, die in allen Wichtungen signalarm erscheinen. Typischerweise werden Turbospinechosequenzen für die Plaquedarstellung verwendet, da sie das Gefäßlumen dank Flußauslöschung im Sinne einer „Black-Blood-Technik“ signalfrei und das umgebende perivaskuläre Fettgewebe signalreich darstellen. Auch Gradientenechotechniken, die das Lumen dank Time-of-Flight Effekt im Sinne einer „Bright-Blood-Technik“ signalreich abbilden, wurden verwendet (Hatsukami TS et al., 2000). In begrenzten Studien konnte sogar die Plaqueruptur gezeigt werden (Hatsukami TS, 2000).

Limitationen der Plaque-MRT

Die Anforderungen an die MRT atherosklerotischer Läsionen sind jedoch hoch. Die Ursachen dafür sind einerseits technischer Natur, andererseits konnte bislang noch nicht überzeugend der klinische Nutzen der Technik gezeigt werden. Das wesentliche Problem des MR-Plaque Imagings ist die begrenzte Ortsauflösung. Die ausreichende Darstellung der Gefäßwand erfordert kleine Oberflächenspulen sowie eine Kontrolle von Artefakten durch Herzschlag, Atmung und Blutfluss. Problematisch ist auch die variable Zusammensetzung der atherosklerotischen Läsionen aus zahlreichen Stoffen mit sehr unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften: Wasser, fibrotisches Gewebe, Fette, Kalk und Blutabbauprodukte. Die begrenzte Ortsauflösung ist auch für die Beurteilung „vulnerabler Plaques“ von Bedeutung. So wurde an der Arteria carotis interna in einer durch Thrombaterektomie kontrollierten Studie die fehlende Darstellung eines signalarmen Bandes zwischen Lumen und Plaque als „dünne fibröse Kappe“ gewertet und als Kriterium für eine vulnerable Läsion genommen (Hatsukami TS, 2000). Da jedoch nur fortgeschrittene Läsionen untersucht wurden, ist die Methode möglicherweise nicht für frühe Läsionen der A. carotis interna und kleinere Gefäße geeignet, bei denen sich die fibröse Kappe wegen der geringen Größe der Läsion nicht darstellt.

Atherogenese

Eine wichtige Neuerung hat sich in der oft kontrovers geführten Diskussion um die Ursachen und die Bewertung der verschiedenen bekannten Pathomechanismen der Atherosklerose ergeben, die Ross in einer aktuellen Übersicht vorstellt (Ross R, 1999). Initial führen zahlreiche Noxen vor allem LDL-Cholesterin (Low Density Lipoprotein) und seine Oxidationsprodukte, aber auch Rauchen, Diabetes und Hypertonie zu einer sogenannten endothelialen Dysfunktion oder Endotheldysfunktion. Im Rahmen der Dysfunktion steigert das Endothel seine Permeabilität für Wasser aber auch für Makromoleküle aus dem Plasma, worauf insbesondere LDL vom Gefäßlumen in die Gefäßintima wandert. LDL und seine Oxidationsprodukte sind toxisch und werden von Makrophagen und speziellen

glatten Muskelzellen phagozytiert. Diese Anreicherung und die lokale Produktion der sogenannten Plaquematrix führen zur Wandverdickung.

Makrophagen setzen proteolytische Enzyme, insbesondere Matrixmetalloproteinasen, frei, die die Plaquematrix aufweichen und zu einer Destabilisierung der Läsion führen (Galis ZS et al., 1994). Dieser Prozeß wird in der Summe als eine Entzündung verstanden (Ross R, 1999). Gegenüber der früheren Auffassung, nach der die Atherosklerose eine eher degenerative Gefäßerkrankung ist, handelt es sich um eine grundlegende pathologische Neubewertung. Diese neuen Daten legen die Entwicklung neuer diagnostischer Techniken mit einer direkten Darstellung der Gefäßwand und des Entzündungsprozesses nahe.

Kontrastverstärkte MRT atherosklerotischer Läsionen

Blood-Pool-Kontrastmittel stellen einen neuen, funktionellen Ansatz für die MRT-Diagnostik der Atherosklerose dar (Ruehm SG et al., 2001; Schmitz SA, 2000). Ursprünglich wurden diese Kontrastmittel für die MR-Angiographie entwickelt. Die lange Plasmahalbwertszeit und intravasale Verteilung generiert einen hohen Kontrastmittelspiegel über einen Zeitraum von Minuten bis Tagen. Dies ist vorteilhaft für hochaufgelöste MR-Angiographien, z. B. von Koronararterien, oder für Angiographien mehrerer Körperabschnitte hintereinander, z. B. von Bein- und Körpervenen. Dagegen beruht die neue Technik auf der Darstellung des Kontrastmittels in der atherosklerotischen Wandläsion selbst. Als erste Kontrastmittel wurden ultrakleine superparamagnetische Eisenoxidpartikel (engl. ultrasmall superparamagnetic iron oxide, USPIO) verwendet (Weissleder R et al., 1990). Die Partikel werden dank endothelialer Dysfunktion vom Gefäßlumen in die entzündete Wandläsion aufgenommen und führen nach Aufnahme in Plaquemakrophagen zu starken Suszeptibilitätseffekten, welche als fokale Signalauslöschungen in T2*-empfindlichen Techniken in Spätaufnahmen dargestellt werden können. Patientenbeobachtungen liefern einen ersten Hinweis darauf, daß die Technik auch im Menschen einsetzbar ist (Schmitz SA et al., 2001).

MR-Technik

Die MRT ist mittlerweile ein Standardverfahren der Radiologie, daher wird auf eine einführende Beschreibung der physikalischen Grundlagen im Rahmen dieser Arbeit verzichtet. Für Interessierte sei auf die Standardwerke verwiesen (Brix G, 1992). Hier sollen nur auf einige technische Besonderheiten eingegangen werden, die für die vorliegende Arbeit relevant sind.

Üblicherweise werden für die Darstellung atherosklerotischer Plaques Sequenzen eingesetzt, die auf der Basis der Turbospinechosequenz beruhen. Die Turbospinechosequenz hat jedoch eine geringe Empfindlichkeit für den intrazellulären Effekt von superparamagnetischem Eisenoxid und ist somit für diese Fragestellung ungeeignet. Der Effekt der Eisenoxidanreicherung beruht sowohl auf einer T2-Komponente als auch auf einer Suszeptibilitätskomponente, beide Komponenten werden durch T2*-gewichtete Gradientenechosequenzen besonders empfindlich nachgewiesen. Voraussetzung ist, daß die Sequenzparameter eine ausreichende T2*-Wichtung erzeugen. Eine hohe T2*-Wichtung wird durch einen kleinen Anregungswinkel, eine lange Echozeit und eine lange Repetitionszeit erzeugt (Brix G, 1992). Typische Parameter für eine T2-gewichtete 2D-Gradientenechosequenz sind ein Anregungswinkel von weniger als 30°, eine Echozeit von länger als 50 ms und eine Repetitionszeit von länger als 300 ms. Für 3D-Gradientenechosequenzen wird üblicherweise eine höhere Anzahl von Schichten angefertigt. Da sich die Untersuchungsdauer mit der Anzahl der Schichten und der Länge der Repetitionszeit verlängert und 3D-Gradientenechosequenzen eine große Anzahl von Schichten ermöglichen sollen, wird die Repetitionszeit bei diesen 3D-Sequenzen verkürzt.

Für die Darstellung der Gefäßwand werden üblicherweise EKG-getriggerte Techniken eingesetzt. Im Kaninchen kann auf eine Triggerung verzichtet werden, da die Kaninchenaorta fest an der Wirbelseule haftet und sich mit dem Herzschlag wenig bewegt.

Eine besondere Aufmerksamkeit sollte dem Gefäßlumen geschenkt werden, da die Gefäßwand sehr dünn ist und damit das Areal, in dem die Eisenoxidanreicherung nachgewiesen werden soll, entsprechend noch kleiner ist. Daher sollte die

Signalintensität im Lumen so gestaltet werden, daß kleine kontrastmittelbedingte „fokale Signalauslöschungen“ leicht erkannt werden können (Schmitz SA, 2001). Daher bieten sich Techniken an, die das Lumen signalreich darstellen. Auch dies ist besonders günstig mit Gradientenechosequenzen möglich, da sie über einen „Bright-Blood Effekt“ verfügen. Dieser beruht auf dem Einflußphänomen. Hierbei kommt es zu einer Signalerhöhung von fließendem gegenüber stationärem Gewebe, da das stationäre Gewebe durch vorhergegangene Anregungen bereits abgesättigt ist. Das einfließende Blut ist jedoch noch nicht abgesättigt. Die Signalintensität des Lumens hängt von den Sequenzparametern Repetitionszeit und Schichtdicke und der Flußgeschwindigkeit des Blutes ab. Die Signalintensität im Gefäßlumen steigt, wenn zwischen zwei Anregungen viel Blut in der Schicht ausgetauscht wurde. Das geht mit einer dünnen Schichtdicke, einer langen Repetitionszeit und einem schnellen Fluß. Nach der Anregung soll das Blut aber nicht so schnell aus der Schicht herausfließen, damit das ganze Signal ausgelesen werden kann. Daher muß die Echozeit möglichst kurz sein. Bei 3D-Gradientenechosequenzen sollte ferner die Anzahl der Schichten gering sein, da mit jeder Schicht das fließende Blut gesättigt wird und der Einstromeffekt sinkt.

Fragestellung

Das Problem wurde am Anfang der Einleitung bereits dargelegt. Folgende Fragen sollen mit der folgenden Untersuchung geklärt werden.

Wie groß ist die Reproduzierbarkeit der Eisenoxid-verstärkten Plaque-MRT im Kaninchenmodell ex vivo?

Wie groß ist die Richtigkeit der Methode in demselben Versuchsaufbau?

Welches sind die Fehlerquellen der Methode?