

Diskussion

Die Auswertung der MRT-Untersuchungen von ex vivo Aortenpräparaten von 20 atherosklerotischen Kaninchen erlaubte den direkten Vergleich von einer großen Anzahl von 0,5 mm dünner MRT-Schichten mit anatomisch korrespondierenden histologischen Schnitten und Radiographien. Ein solcher Vergleich war zwischen der in vivo-MRT und ex vivo-Histologie nicht möglich, da die anatomische Zuordnung mit in vivo Bildern nicht zuverlässig ist. Diese Auswertung der ex vivo-MRT-Bilder gestattete, die Richtigkeit der eisenoxidvertärkten Plaque-MRT und die Reproduzierbarkeit der Aussagen zweier Auswerter gegen den Goldstandard Histologie zu überprüfen.

Mit Hilfe der ROC-Analyse fand sich eine Reproduzierbarkeit der eisenoxidverstärkten Plaque-MRT zwischen zwei unabhängigen Auswertern von 0,67. Die Richtigkeit der Methode definiert als Fläche unter der ROC-Kurve betrug 0,88 für den einen und 0,85 für den anderen Auswerter.

Die ROC-Analyse hat zahlreiche Vorteile im Vergleich zu der weiter verbreiteten Methode der Sensitivitäts- und Spezifitätsbestimmung, die nur ein „negatives“ oder ein „positives“ Ergebnis zulassen (Metz CE, 1978; Metz CE, 1986). Die ROC-Analyse ermöglicht den Auswertern hingegen, ihr subjektives Vertrauen in die Richtigkeit des Befundes einfließen zu lassen. So erlaubt die ROC-Analyse die Klassifizierung „unklar“, „vermutlich negativ“ und „vermutlich positiv“. Die Berücksichtigung unterschiedlicher Vertrauensniveaus kommt der täglichen radiologischen Befundungspraxis damit sehr nahe. Auch ermöglicht die ROC-Analyse sowohl die Richtigkeit und Reproduzierbarkeit zweier oder mehrerer Methoden auszudrücken (Swets JA, 1979). Daher wird das Verfahren zunehmend zur Beurteilung von diagnostischen Methoden eingesetzt.

Fehlermöglichkeiten der MRT

Die eisenoxidverstärkte MRT arteriosklerotischer Läsionen ist robust gegenüber falsch-negativen Ergebnissen, welche nur in 2% aller Segmente erhoben wurden. Die falsch-negativen Resultate deuten auf einen Fehler des Referenzverfahrens Histologie hin.

Dieses zeigte nämlich eisenreiche Abschnitte in der Aortenwand von Tieren, die kein Kontrastmittel erhalten hatten. Auch eine retrospektive wiederholte Betrachtung der korrespondierenden MRT-Bilder zeigte keine fokale Signalauslöschung. Vermutlich entspricht dieser histologische Befund Blutabbauprodukten als Folge einer Plauehämorrhagie. Die fehlende Signalmindernng führt die Autorin darauf zurück, dass Blutabbauprodukte einen geringeren T2*-Effekt hervorrufen.

Ein Problem der eisenoxidverstärkten MRT arteriosklerotischer Läsionen ist der hohe Prozentsatz falsch-positiver Befunde. In 121 der 621 Segmente (19%) erhob mindestens einer der Auswerter einen falsch-positiven Befund. Verkalkungen führten in 25 von 621 (4%) der Segmente zu dem falsch-positiven Befund, d.h. Verkalkungen täuschten eine eisenoxidbedingte fokale Signalauslöschung in der MRT vor. Dieses Ergebnis ist überraschend, da Verkalkungen in immerhin 252 der 621 Segmente vorlagen (41%). Somit führen nur 10% der verkalkten Segmente zu Signalmindernngen in der MRT und zu einem falsch-positiven Ergebnis. Eine mögliche Erklärung für den fehlenden MRT-Effekt von Verkalkungen ist vermutlich ihre mikroanatomische Verteilung. Falsch-positive MRT-Befunde wurden vorzugsweise von als „dicht“ eingestuften Verkalkungen hervorgerufen, welche typischerweise in der Gefäßperipherie lokalisiert waren. Diese Verkalkungen waren somit nicht in der Region angeordnet, wie sie für den positiven MRT-Befund gefordert war, nämlich dem lumennahen Anteil der Gefäßintima. Im Gegensatz dazu produzierten als „transparent“ eingestufte Verkalkungen, welche typischerweise nahe dem Gefäßlumen waren, keine fokale Signalauslöschung in der MRT.

Nur in 3 von 621 Segmenten wurde ein falsch-positiver Befund durch einen wandständigen Thrombus hervorgerufen. In diesen Fällen ist nicht klar, ob sich der Thrombus in vivo entwickelt hat, oder ob es sich um ein Gerinnsel, somit um eine Entwicklung ex vivo handelt. Die Anzahl der wandständigen Thromben könnte nach Mutmaßung der Autorin zu gering sein, da Thromben im Rahmen der Aufarbeitung der Präparate ungewollt entfernt wurden. Problematisch erscheint dabei besonders die Druckfixierung, die Fixierung in Formaldehyd und die Agareinbettung sowie die Entfernung aus dem Agar. Nach der Definition dieser Arbeit wird ein muraler Thrombus, der eine

fokale Signalauslöschung hervorruft als ein falsch-positives Ergebnis gewertet. Dieses ist methodisch korrekt, da ja die Kontrastmittelanreicherung geprüft werden sollte. Möglicherweise ist es klinisch jedoch nicht gerechtfertigt, wandständige Thromben als einen Fehler der Methode zu werten. Denn wandständige Thrombus entstehen typischerweise auf einer endothelialen Läsion, die nach der AHA-Klassifikation als komplizierte Läsion eingestuft wird. Gerade der Nachweis solcher komplizierter Läsionen, ist jedoch auch das Anliegen der eisenoxidverstärkten MRT.

Bei 93 von 121 falsch-positiven Ergebnissen konnte keine Ursache für die falsche MRT-Befundung gefunden werden. Die Tatsache, dass bei 64 der 93 falsch-positiven Segmente ein „geringer Eisengehalt“ vorlag, wie er in der Alternativauswertung definiert wurde, lässt vermuten, dass bereits eine als „gering“ definierte Eisenkonzentration einen Effekt im MRT hat.

Limitationen des Experimentes

Aus dem gesagten ergibt sich ein grundlegendes methodisches Problem, nämlich die Definition des Grenzwertes der Referenzmethode Histologie. Dieser Grenzwert wurde bei einer Vorauswertung festgelegt. Er bezieht sich jedoch auf die nötige Eisenkonzentration für die Visualisierung einer Eisenoxid-Anreicherung in vivo. Es stellt sich grundsätzlich die Frage, ob ein Grenzwert für die Analyse dieser Daten sinnvoll ist, da die Eisenoxidanreicherung in arteriosklerotischen Läsionen ein

kontinuierliches Phänomen ist. Der Grenzwert wurde jedoch aus pragmatischen Überlegungen so festgelegt. Grenzwerte finden sich in jedem Nachweisverfahren und die Definition eines Grenzwertes auf in vivo Untersuchungen ist in jedem Fall einer Anpassung eines Grenzwertes auf ex vivo Auswertungen vorzuziehen.

Eine weitere Limitation des Experimentes ist die Tatsache, dass die Tiere unterschiedlich hohe Kontrastmitteldosen erhalten haben und unterschiedliche Verlaufsintervalle zwischen der Kontrastmittelgabe und der Präparategewinnung zwischen Gruppen vorlagen. Diese Fehlermöglichkeiten können vom Autor nicht ausgeschlossen werden. Ein wesentlicher Effekt scheint nach Meinung des Autors jedoch nicht vorzuliegen, da die Richtigkeit der Methode histologisch überprüft wurde.

Das Watanabe hereditäre hyperlipidämische Kaninchen ist ein weit verbreitetes Tiermodell der Atherosklerose (Stehbens WE, 1995). Die Atherosklerose der Tiere entsteht als Folge einer Hypercholesterinämie, die ihrerseits Folge eines LDL-Rezeptormangels ist, der die Aufnahme von LDL aus dem Blut verhindert. Vorteile des Modells sind das Vorliegen einer Hypercholesterinämie, die zelluläre Zusammensetzung aus Makrophagen und glatten Muskelzellen und die Anreicherung von Cholesterinkristallen. Im vorliegenden Experiment sind die Vielzahl von Verkalkungen als ein Vorteil des Modells zu werten, da die Atherosklerose des Menschen wirklichkeitsnah simuliert wird. Nachteile des Watanabe-Kaninchens sind jedoch die Tatsache, dass gesunde Kaninchen keine Atherosklerose entwickeln und die multifaktorielle Genese der menschlichen Atherosklerose nicht simuliert wird. Kritiker sehen daher im Watanabe-Kaninchen nur ein Modell für einen Sonderfall der menschlichen Atherosklerose, nämlich der Atherosklerose bei familiärer Hypercholesterinämie (Stehbens WE, 1995). Von histologischer Seite wird ferner eingewendet, daß die fortgeschrittenen Läsionen des Watanabe-Kaninchens nicht den typischen Aufbau sogenannter vulnerabler Plaques – dünne fibröse Kappe und großer darunterliegender Fettkern – aufweisen. Ein Vorteil des WHHL-Kaninchens ist jedoch die Verteilung der Erkrankung im Aortenbogen und an Abgängen großer Arterien, die Verteilung von Arealen mit erhöhter Endothelpermeabilität – die im

WHHL mit einem Farbstoff „Evans-Blau“ nachgewiesen wurde - und der hohe Anteil von Makrophagen in einzelnen Plaques.

Wertung der Fehlermöglichkeiten der MRT und der Limitationen des Experimentes

Die Autorin vermutet, dass bei vielen falsch-positiven Segmenten, die nicht durch eine Verkalkung oder Blutabbauprodukte erklärt werden können, ein zu geringer Wassergehalt den Befund einer fokalen Signalauslöschung in der MRT vorgetäuscht hat. Einige dieser Areale hatten histologisch Ähnlichkeit mit der sogenannten fibrösen Kappe. Diese konnte jedoch nicht objektiviert werden, da die notwendige histologische Färbung, z. B. Massons-Trichrom, nicht vorlag. Auf eine solche Färbung wurde verzichtet, da das WHHL-Kaninchen kein geeignetes Modell für die Untersuchung sog. vulnerabler Plaques ist. Eine solche Färbung sollte jedoch in zukünftigen Experimenten berücksichtigt werden.

Die Autorin zweifelt daran, dass Triglyceride, die durch die Fettsuppression unterdrückt werden, zu fokalen Signalauslöschungen in der ex vivo-MRT geführt haben, da diese beim Menschen und mutmaßlich im Kaninchen nur 6% des Plaquevolumens ausmachen.

Artefakte der Präparatherstellung könnten eine weitere Ursache falsch-positiver MRT-Befunde sein. So könnte ein Verlust von Wasser durch die Formaldehydfixierung hervorgerufen worden sein. Der Wasseranteil ist für die gewählte T2*-gewichtete Sequenz ganz entscheidend. Wasser macht ca. 90% des Resonanzsignals in T2-gewichteten Bildern aus (Toussaint JF, 1998; Toussaint JF et al., 1995). Ein Verlust von Wasser, möglicherweise fokal akzentuiert, könnte daher eine wichtige Ursache für falsch-positive Befunde sein. Ferner mag die Untersuchung bei Raumtemperatur zu falsch-positiven Befunden geführt haben, da Plaque lipide, die bei physiologischen Körpertemperatur des Kaninchens in liquider Form vorliegen, bei Raumtemperatur einen soliden oder semisoliden Aggregatzustand annehmen durch den die Signalintensität im MRT sinkt und evtl. zu fokalen Signalauslöschungen führt.