

ONDERZOEKSVERSLAG

DE INTER- EN INTRA OBSERVER VARIABILITEIT VAN DE VOLUMEBEPALING VAN OEDEEM OP BASIS VAN TURBO INVERSION RECOVERY IMAGING

Anne Manders

Studentnummer: 2183947

Afstudeerbegeleider: Geert van Overbruggen

Opdrachtgever: Linda Heskamp

Afdeling, ziekenhuis: Radiologie, Radboudumc

Definitieve versie

Juni 2015, Eindhoven

Radboudumc

**Fontys Paramedische
Hogeschool**

**Medische Beeldvorming
en Radiotherapeutische
Technieken**



Voorwoord

Dit onderzoeksverslag is geschreven in het kader van de afstudeerfase van de opleiding Medisch Beeldvormende en Radiotherapeutische Technieken (MBRT) aan de Fontys Paramedische Hogeschool te Eindhoven. Het onderzoek betreft een kwantitatieve retrospectieve studie, waarbij onderzocht is wat de inter- en intraobserver variabiliteit is voor het bepalen van het volume oedeem in geïntlammeerde spieren van patiënten met facioscapulohumerale dystrofie (FSHD) op basis van Turbo Inversion Recovery Modulus(TIRM)-beelden. Het onderzoek is uitgevoerd in opdracht van de afdeling Radiologie van het Radboud Universitair Medisch Centrum (Radboudumc) te Nijmegen.

Langs deze weg wil ik een aantal mensen bedanken die mij hebben geholpen bij de totstandkoming van dit onderzoeksverslag. In het bijzonder wil ik Linda Heskamp bedanken. Zij is doctoraatstudent of promovendus (PhD-student) van de afdeling Radiologie in het Radboudumc. Ze was altijd bereid me te helpen en gaf me goede feedback. Ook wil ik mijn dank uitspreken aan mijn afstudeerbegeleider Geert van Overbruggen. Hij heeft me goed begeleid en gaf me goede feedback. Tot slot wil ik de docenten van de opleiding danken voor hun lessen en de tijd die zij genomen hebben om mijn vragen te beantwoorden.

Ik wens u veel plezier bij het lezen van dit onderzoeksverslag.

Nijmegen, juni 2015

Anne Manders

Samenvatting

Achtergrond

Facioscapulohumerale dystrofie (FSHD) is een spierziekte waarbij spiervervetting voorafgegaan wordt door een ontsteking. Aangenomen wordt dat vetinfiltratie voorkomen kan worden door de voorafgaande ontsteking te behandelen. Op dit moment wordt gezocht naar een behandeling voor deze ziekte. Een ontsteking wordt in beeld gebracht middels Turbo Inversion Recovery Magnitude (TIRM)-afbeeldingen. Om te beoordelen wat het effect van een behandeling is op de ontsteking in de spier is het belangrijk de ernst van de ontsteking te kwantificeren. Dit kan door het volume van het oedeem in een spier te bepalen. Hiervoor is recent een methode ontwikkeld. Voor het evalueren van een behandeling in een klinische trial is het van belang dat de inter- en intraobserver variabiliteit bekend is.

Methode

Deze studie is een kwantitatieve retrospectieve studie, waarbij Magnetic Resonance Imaging (MRI)-beelden, T1-gewogen en TIRM, zijn gebruikt van tien FSHD-patiënten. In de bovengenoemde methode wordt eerst de ontstoken spier ingetekend op de T1-gewogen beelden. Daarna worden de bloedvaten verwijderd op basis van de TIRM-beelden. Als laatste wordt op basis van wat gezond spierweefsel is, het volume van het oedeem in de spier bepaald op de TIRM-beelden. In deze studie is de inter-observer variabiliteit van deze methode bepaald. Daarnaast is de inter- en intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel onderzocht. De inter- en intraobserver variabiliteit zijn bepaald aan de hand van de coefficient of repeatability en de intra-class correlation coefficient (ICC). Wanneer het effect van een behandeling een verschil laat zien, moet dit verschil minstens zo groot zijn als de coefficient of repeatability om als reëel verschil beschouwd te worden. In deze studie wordt een coefficient of repeatability van 10% of lager voldoende geacht.

Resultaten

De coefficient of repeatability en de ICC van de inter-observer variabiliteit van de methode is respectievelijk 11.6% en 0.964. Daarnaast zijn de coefficient of repeatability en de ICC van de inter-observer variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel respectievelijk 10.2% en 0.972. Tot slot zijn de coefficient of repeatability en de ICC van de intra-observer variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel respectievelijk 10.6% en 0.973.

Conclusie

De ICC-waardes voortkomend uit dit onderzoek zijn hoog. Dit betekent dat zowel de inter- als de intra-observer variabiliteit laag is, omdat de waardes dicht bij 1 liggen. De coefficient of repeatability wordt in dit onderzoek gezien als de belangrijkste uitkomstmaat. Op basis daarvan en het feit dat de coefficient of repeatability groter dan 10% is, zou de inter- en intraobserver variabiliteit onvoldoende zijn. Echter, gegeven het feit dat de coefficient of repeatability slechts maximaal 1,6% boven de gestelde eis zit en de ICC een sterke relatie weergeeft tussen de metingen, lijkt er toch potentie in deze methode te zitten.

Abstract

Background

Facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD) is a muscle disease in which fat infiltration is preceded by inflammation. It is assumed that fatty infiltration can be prevented by treating the inflammation. At this moment, research is focussing on treating this inflammation with the hope that it prevents the progression to fatty infiltration. In order to assess the effect of the treatment on the inflammation into the muscle, it is important to quantify the severity of the inflammation. This can be done by determining the volume of the oedema in an inflamed muscle, using Turbo Inversion Recovery Magnitude (TIRM) images. A method has recently been developed for this purpose. For treatment evaluation, the inter- and intra-observer variability should be known.

Method

This study is a quantitative retrospective study. Magnetic Resonance Imaging (MRI) images, T1-weighted and TIRM, of ten FSHD-patients are used. First, the inflamed muscle is selected by manually drawing a region of interest on the T1-weighted image. After that, the bloodvessels are removed using the TIRM images. At last, based on what is healthy muscle, the volume of edema is determined on the TIRM images. In this study, the interobserver variability of this method is determined. In addition, the inter- and intra-observer variability due to the selection of healthy muscle tissue is investigated. The inter- and intra-observer variability are determined by the coefficient of repeatability and the intra-class correlation coefficient (ICC). When the effect of a treatment shows a difference, this difference has to be at least as large as the coefficient of repeatability to be considered as a real difference. In this study, a coefficient of repeatability of 10% or less is considered sufficient.

Results

The coefficient of repeatability and the ICC of the inter-observer variability of the method is 11.6% and 0.964, respectively. In addition, the coefficient of repeatability and the ICC of the inter-observer variability of determining healthy muscle is 10.2% and 0.972, respectively. Finally, the coefficient of repeatability and the ICC of the intra-observer variability of determining healthy muscle tissue is 10.6% and 0.973, respectively.

Conclusion

The ICC values that are the result of this research are close to 1, which means that the inter- and intra-observer variability is low. In this study, the coefficient of repeatability is seen as the most important outcome measure. Based on the fact that the coefficient of repeatability was higher than stated 10%, the inter- and intra-observer variability will be insufficient. However, since the coefficient of repeatability is only up to 1.6% above the required 10% and the ICC shows a strong relationship between the measurement, it is worthwhile to further investigate his method.

Inhoudsopgave

1.	Inleiding	6
2.	Methode	8
2.1	Meetprotocol	8
2.1.1	MRI-acquisitie	8
2.1.2	Kwantificatie ontsteking.....	9
2.2	Bepaling inter- en intraobserver variabiliteit.....	12
2.2.1	De interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp	12
2.2.2	De interobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel.....	12
2.2.3	De intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel.....	12
2.3	Data-analyse	13
2.3.1	Bland Altman methode	13
2.3.2	Intraclass Correlation Coefficient	14
2.4	Ethische paragraaf	14
3.	Resultaten	15
3.1	Bepaling inter- en intraobserver variabiliteit.....	16
3.1.1	De interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp	16
3.1.2	De interobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel.....	16
3.1.3	De intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel.....	17
4.	Discussie	19
4.1	Bespreking onderzoeksresultaten.....	19
4.2	Sterkte punten	20
4.3	Beperkingen	20
4.4	Gevolgen voor de praktijk	21
4.5	Toekomstig onderzoek.....	22
5.	Conclusie	23
	Literatuurlijst	24
	Bijlagen	27

Bijlage I Protocol kwantificatie met Matlab	28
Bijlage II Uitkomsten kwantificatie	29
Bijlage III Uitkomsten voor het bepalen van de inter- en intraobserver variabiliteit	32
Bijlage IV Overdrachtsverklaring van data en rechten	34

1. Inleiding

Facioscapulohumerale dystrofie (FSHD) is een erfelijke spierziekte.¹ Het is met een prevalentie van 12 op 100.000 een van de meest voorkomende neuromusculaire aandoeningen in Nederland.² FSHD wordt gekarakteriseerd door asymmetrisch progressieve spierzwakte die in het begin tot uiting komt in de spieren van gezicht, schouderblad en bovenarm. Daarna worden ook andere spieren aangedaan, zoals de spieren van het bekken en de benen.¹ De spierzwakte is het gevolg van ontsteking en vervetting in de spier.^{1,3} De diagnose FSHD wordt gesteld door lichamelijk onderzoek. Daarnaast wordt bij het stellen van de diagnose rekening gehouden met de erfelijkheid binnen de familie. Aanvullend onderzoek bestaat uit deoxyribonucleic acid (DNA)-onderzoek of de bepaling van het spierenzym creatinekinase (CK) in het bloed, dat verhoogd is bij de patiënten met FSHD.^{4,5}

De genetische oorzaak van FSHD is grotendeels bekend, maar het is nog niet precies duidelijk hoe de genetische afwijking leidt tot ontsteking en vervetting.¹ FSHD is op dit moment nog niet te genezen, maar wereldwijd wordt in laboratoria gezocht naar een behandeling.^{6,7} Om het effect van behandelingen in beeld te brengen wordt gebruik gemaakt van Magnetic Resonance Imaging (MRI).¹ MRI is een belangrijke en niet-invasieve methode voor het beoordelen van het verloop van spieraandoeningen.⁸ Met behulp van bepaalde MRI-technieken kan de spieranatomie, -structuur en -fysiologie worden beschreven.⁹ Vetinfiltratie wordt vastgesteld met een T1-gewogen afbeelding. Op T1-gewogen afbeeldingen wordt vet hyperintens weergegeven.¹ Een ontsteking wordt in beeld gebracht middels Turbo Inversion Recovery Magnitude (TIRM)-afbeeldingen.^{1,10,11} Een TIRM-sequentie is een combinatie van een Turbo-Spin-Echo (TSE)-sequentie en een Inversion-Recovery (IR)-sequentie.¹² Door middel van een inversiepuls wordt het vet onderdrukt. Water wordt op een TIRM-afbeelding hyperintens weergegeven ten opzichte van het onderdrukte vetsignaal. Aangezien spieren voornamelijk uit water bestaan, zullen deze zichtbaar blijven en zal het subcutane vet en de vervetting in de spieren worden onderdrukt.¹³ De aanwezigheid van oedeem is kenmerkend voor een ontsteking.¹⁴ Omdat oedeem grotendeels uit water bestaat, zal dit oedeem hyperintens worden afgebeeld op een TIRM-afbeelding en daardoor is de ontsteking te detecteren.^{1,10}

MRI-studies wijzen erop dat vetinfiltratie voorafgegaan wordt door de ontsteking in de skeletspier.^{1,15,16} Aangenomen wordt dat vetinfiltratie voorkomen kan worden door de voorafgaande ontsteking te behandelen. Om te beoordelen wat het effect van een behandeling is op de ontsteking in de spier, is het belangrijk de ernst van de ontsteking te kwantificeren. Op dit moment bestaan meerdere semi-kwantitatieve schalen voor het aantonen van de ernst van de ontsteking.^{11,17} Hierbij wordt aangenomen dat de hoeveelheid oedeem gerelateerd is aan de ernst van de ontsteking. Friedman et al.¹⁶ beoordeelt Short Tau Inversion Recovery (STIR)-beelden van patiënten met FSHD aan de hand van de helderheid en verdeelt deze in 0 = geen ontsteking, 1 = milde ontsteking en 2 = gemiddelde tot ernstige ontsteking. Daarnaast beschrijft Studynková et al.¹⁸ een ontsteking met behulp van een Visual Analog-schaal van tien punten, die zowel de intensiteit als de omvang van het oedeem kan bepalen bij patiënten met polymyositis en dermatomyositis. Tevens beoordeelt Malattia et al.¹⁹ een ontsteking aan de hand van een whole-body STIR-MRI en beschrijft deze aan de hand van een driepuntsschaal. Deze schaal wordt verdeeld in 0 = geen signaalafwijkingen in de spier, 1 = milde tot gemiddelde signaalafwijkingen en 2 = hoge mate van signaalafwijkingen.

Bovenstaande schalen zijn semi-kwantitatief. Voor het evalueren van een behandeling is echter een kwantitatieve maat gewenst. Op dit moment bestaan er twee kwantitatieve methodes. De eerste methode is het bepalen van de T2-relaxatietijd van water in de spier. De vorming van oedeem zorgt ervoor dat de T2-relaxatietijd van water in de spier toeneemt bij een ontsteking.²⁰⁻²² Daarom is het bij neuromusculaire aandoeningen een maat om het effect van een behandeling op de ontsteking te kwantificeren.²³⁻²⁵ Deze methode geeft echter geen informatie over het volume van het oedeem en de verdeling van het oedeem in de spier. Daarom is recent een kwantitatieve methode ontwikkeld door Heskamp et al.¹⁷ die de ernst van de ontsteking kwantificeert aan de hand van het volume van het oedeem in een ontstoken spier. Bij deze methode wordt tevens aangenomen dat de hoeveelheid oedeem gerelateerd is aan de ernst van de ontsteking. Bij de methode wordt op basis van TIRM-beelden het volume van het oedeem in een ontstoken spier bepaald.¹⁷ Als bovenstaande methode gebruikt wordt om het verloop van het ziekteproces of het effect van een behandeling in beeld te brengen, is het van belang de inter- en intraobserver variabiliteit te onderzoeken. Daarom wordt in deze studie de inter- en intraobserver variabiliteit bepaald van de methode van Heskamp et al.¹⁷

Voor het onderzoek is de volgende onderzoeksvraag opgesteld:

Wat is de inter- en intraobserver variabiliteit van de volumebepaling van het oedeem in geïnteflammeerde spieren van patiënten met FSHD op basis van TIRM-beelden?

2. Methode

Dit is een retrospectieve studie, waarbij MRI-beelden zijn gebruikt van patiënten met FSHD. De beelden zijn vanaf januari 2015 gemaakt in het Radboud Universitair Medisch Centrum (Radboudumc) in Nijmegen. Voor de MRI-beelden golden een aantal inclusiecriteria. De datasets moesten zowel T1-gewogen als TIRM-beelden bevatten. Daarnaast waren de MRI-beelden bruikbaar voor deze studie indien een ontsteking in één van de skeletspieren te zien was. Wanneer in een spier hyperintense gebieden zichtbaar waren op een TIRM-afbeelding in vergelijking met het omliggende spierweefsel, werd dit gezien als oedeem, wat kenmerkend is voor een ontsteking.¹⁴ Per dataset werd de spier met de meeste ontsteking en minste vervetting gebruikt. Dit werd beoordeeld door ervaren neurologen van de Katholieke Universiteit van Rome, Instituut Neurologie.³ Patiënten moesten aangeven klachten te ervaren, maar mochten niet rolstoelafhankelijk zijn. Bij deze patiënten werden ontstekingen en weinig vervetting in de spieren verwacht. Een ander inclusie criterium was dat er gezond spierweefsel zichtbaar moest zijn op de beelden. Daarnaast moest de kwaliteit voldoende zijn om de volumebepaling van het oedeem in een ontstoken spier op uit te voeren. Beelden waarop artefacten, zoals bewegingsartefacten, te zien waren, werden geëxcludeerd. De signaal-ruis verhouding en artefacten werden beoordeeld door L. Heskamp, doctoraatsstudent of promovendus (PhD-student) op het gebied van MRI en spierziekte in het Radboudumc. Van elf patiënten waren datasets beschikbaar. Daarvan werd één dataset geëxcludeerd, omdat op de MRI-beelden geen gezond spierweefsel zichtbaar was. Uiteindelijk werden de datasets van tien patiënten geïnccludeerd.

2.1 Meetprotocol

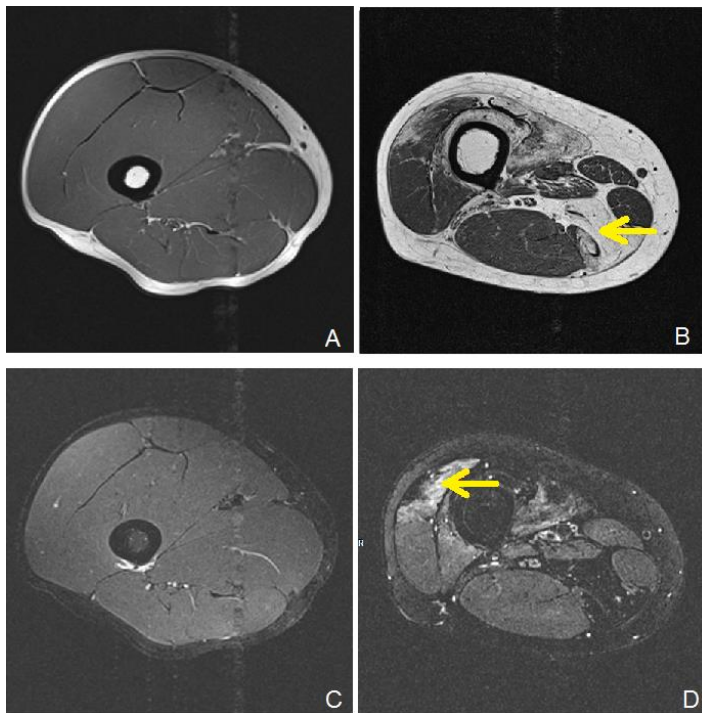
2.1.1 MRI-acquisitie

De MRI-beelden die werden gebruikt voor de volumebepaling van het oedeem in ontstoken skeletspieren werden gemaakt met een 3 Tesla Trio MRI-scanner van de fabrikant Siemens. De patiënten werden op de rug gepositioneerd, de armen naast het lichaam en de voeten richting de MRI-tunnel. Er is een volumespoel gebruikt, die zo gepositioneerd werd dat de ontstoken spier in het midden van de spoel lag.

Zoals beschreven in de inleiding wordt FSHD gekarakteriseerd door spierzwakte die in het begin tot uiting komt in de spieren van het gezicht, schouderbladen en bovenarm en daarna pas in andere spieren, zoals de spieren van het bekken en de benen.¹ Toch werd gekozen voor het scannen van de benen, omdat bij de patiënten die gescand zijn al ontstekingen in de beenspieren verwacht werden. Het scannen van de benen had een aantal redenen: de kans op bewegingsartefacten door de ademhaling is kleiner, de anatomie van het been is eenvoudiger en het been is makkelijker in het midden van de MRI-tunnel te positioneren wat een betere beeldkwaliteit oplevert.

De scout-afbeeldingen werden in drie richtingen gemaakt (transversaal, sagittaal en coronaal), zodat hierop aangegeven kon worden hoe de MRI-slices gescand moesten worden. Zowel een T1-gewogen afbeelding als een TIRM-afbeelding werd vervaardigd. Figuur 1 geeft een voorbeeld van deze MRI-beelden bij een gezond persoon en bij een FSHD-patiënt. In tabel 1 staan de parameters die gebruikt werden voor het maken van de afbeeldingen. Bij de TIRM-beelden werden saturatie-banden geplaatst

aan beide zijden (proximaal en distaal) van het Field of View (FOV) om de flowartefacten te onderdrukken.



Figuur 1 (A) Transversale T1-gewogen afbeelding van het bovenbeen van een gezonde volwassene. (B) Transversale T1-gewogen afbeelding van het bovenbeen van een patiënt met FSHD. Bij de pijl is vetinfiltratie in de adductor magnus zichtbaar. (C) Transversale TIRM-afbeelding van het bovenbeen van een gezonde volwassene. (D) Transversale TIRM-afbeelding van het bovenbeen van een patiënt met FSHD. Bij de pijl laat de musculus vastus lateralis een hyperintens signaal zien, wat wijst op oedeem.

Tabel 1 Sequentie parameters voor een T1-gewogen- en TIRM-afbeelding (3T MRI-scanner)

Parameter	T1-gewogen- afbeelding	TIRM-afbeelding
FOV	192 x 192	192 x 192
Spatiële resolutie	1 mm ²	1 mm ²
Repetitie tijd (TR)	670 ms	4000 ms
Echo tijd (TE)	10 ms	41 ms
Inversietijd (IT)	-	220 ms
Aantal slices	25	25
Slicedikte	5 mm	5 mm
Gap	0 mm	0 mm

2.1.2 Kwantificatie ontsteking

Om de ernst van een ontsteking te bepalen werd het volume van het oedeem in een ontstoken spier bepaald. Voor het bepalen van het volume van het oedeem in een ontstoken spier werd de methode van Heskamp et al.¹⁷ gebruikt. Deze werd geïmplementeerd in Matlab (Matlab, The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, United States). De methode werd opgedeeld in twee stappen: stap 1) het intekenen van de ontstoken spier en stap 2) de bepaling van het volume van het oedeem in de spier (zie bijlage I voor een weergave van het protocol).

Eerst werd de ontstoken spier handmatig ingetekend op alle slices van de T1-gewogen-beelden. Vervolgens werd deze intekening toegepast op het TIRM-beeld. De pixels buiten de intekening werden

geëxcludeerd, zodat alleen de ontstoken spier overbleef (figuur 2). Het volume van de ontstoken spier werd als volgt berekend:¹⁷

$$\text{Volume van de ontstoken spier (cm}^3\text{)} = \text{aantal pixels} \times \text{volume van een pixel}$$

Uit de ontstoken spier werden handmatig de bloedvaten verwijderd op basis van de TIRM-afbeelding, zodat alleen spierweefsel overbleef. Dit werd gedaan op basis van de TIRM-afbeelding, omdat hierop de bloedvaten duidelijk zichtbaar zijn. Na het intekenen van de ontstoken spier (stap 1), werd het volume van het oedeem in deze spier bepaald (stap 2). Om dit te bepalen werden op elke slice van de TIRM-beelden stukjes gezond spierweefsel geselecteerd met behulp van regions of interest (ROI's). Een standaard ROI bestond uit een cirkel met een diameter van tien pixels. Per slice werd een ROI geplaatst in elke gezonde spier. Bij een grote spier werden maximaal twee ROI's geplaatst en in geval van een kleine spier werd de ROI verkleind. De pixels in de ROI's hadden een grijswaarde. Een grijswaarde is dimensieloos. Dit betekent dat de hoogte van het getal geen directe betekenis heeft, maar wordt gebruikt om grijswaarden in beelden te vergelijken. De grijswaarden van de pixels in de ROI's werden uitgezet in een histogram (figuur 3). Aan de hand van het histogram konden de standaarddeviatie (SD) en het gemiddelde van gezond spierweefsel (grijswaarde) worden bepaald. Deze waarden werden gebruikt om een drempelwaarde te bepalen, die aangaf wanneer een pixel gezond of ontstoken spierweefsel representeert. De drempelwaarde werd volgens de methode van Heskamp et al.¹⁷ berekend:

$$\text{Drempelwaarde (cm}^3\text{)} = \text{Gemiddelde gezond weefsel} + (2 \times \text{standaarddeviatie gezond spierweefsel})$$

In de TIRM-afbeelding werd per pixel bepaald of de waarde hiervan boven of onder de drempelwaarde lag. Alle pixels die een waarde hadden boven de drempelwaarde werden als ontstoken gezien. De pixels met een grijswaarde onder de drempelwaarde werden als gezond gezien en werden geëxcludeerd, waardoor uiteindelijk alleen het volume van het oedeem overbleef (figuur 4). Het volume van het oedeem werd als volgt berekend:¹⁷

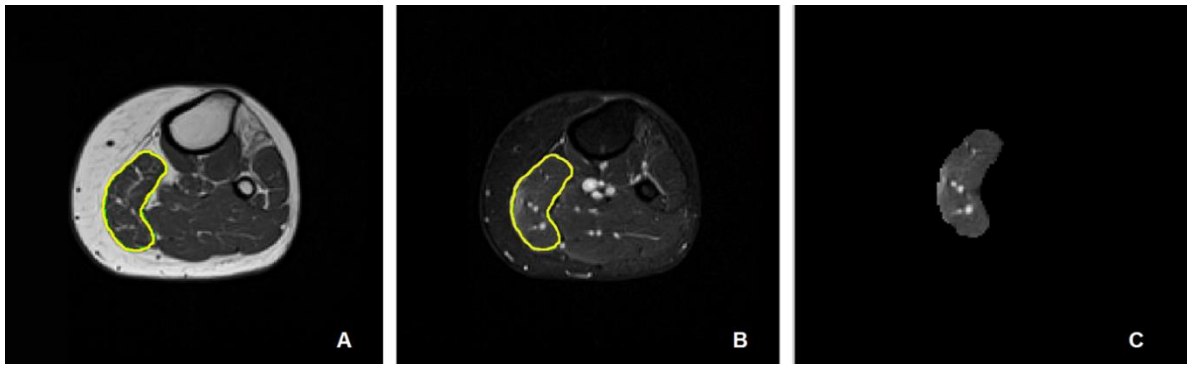
$$\text{Volume van het oedeem in de spier (cm}^3\text{)} = \text{aantal pixels} \times \text{volume van een pixel}$$

De berekening voor de drempelwaarde werd op deze manier gekozen, omdat dit betekent dat 95% van het gezonde spierweefsel (grijswaarde) onder de drempelwaarde ligt en als gezond wordt gezien. 2.5% van het gezonde spierweefsel ligt boven de drempelwaarde en wordt als ontstoken gezien. Op deze manier worden alleen pixels met een sterk verhoogde grijswaarde meegenomen als zijnde ontstoken.

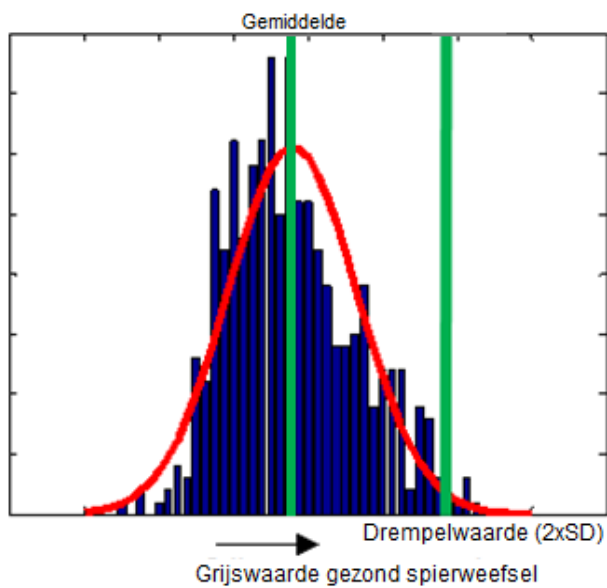
Aan de hand van het volume van het oedeem in een ontstoken spier werd de relatieve hoeveelheid oedeem in de spier berekend:

$$\text{Relatieve hoeveelheid oedeem in de spier (\%)} = \text{volume van het oedeem} \div \text{volume spier} \times 100\%$$

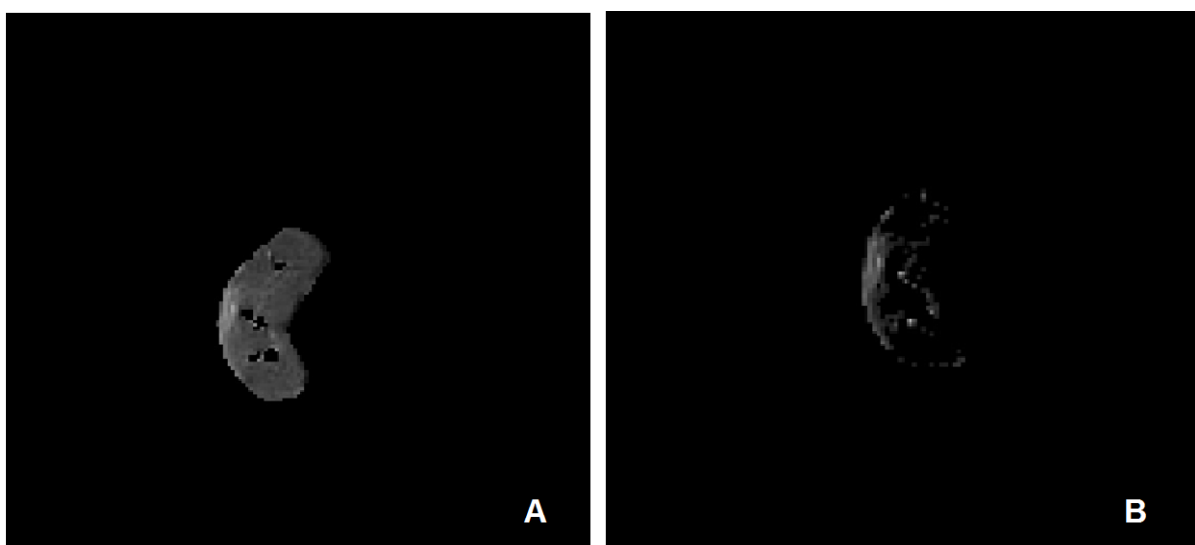
De relatieve hoeveelheid oedeem in de spier maakt het mogelijk spieren met elkaar te vergelijken. Tevens is het een objectieve maat om de ernst van de ontsteking in de spier vast te stellen.



Figuur 2 (A) Transversale T1-gewogen afbeelding van het bovenbeen waarbij de ontstoken spier is ingetekend. (B) De intekening van de ontstoken spier werd toegepast op het TIRM-beeld. (C) De pixels buiten de intekening werden geëxcludeerd, waardoor alleen de ontstoken spier overbleef.



Figuur 3 Voorbeeld van een histogram van gezond spierweefsel. De grijswaardes van gezond spierweefsel worden uitgezet tegen de frequentie. Deze laat een normale verdeling zien.



Figuur 4 (A) TIRM-afbeelding met de ontstoken spier. (B) De pixels met een grijswaarde beneden de drempelwaarde werden als gezond spierweefsel gezien en werden geëxcludeerd uit de TIRM-afbeelding met de ontstoken spier. Alleen het volume van het oedeem bleef over.

2.2 Bepaling inter- en intraobserver variabiliteit

In de bovenstaande methode kunnen verschillende variaties zitten die bij herhaling tot een ander resultaat kunnen leiden: het intekenen van de ontstoken spier, het verwijderen van de bloedvaten en het bepalen van gezond spierweefsel met behulp van ROI's. In dit onderzoek werd in de eerste plaats gekeken naar de interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷, waarbij het volume van het oedeem in de ontstoken spier bepaald werd. Daarnaast werd onderzocht wat de interobserver variabiliteit is voor het bepalen van gezond spierweefsel. Tot slot werd de intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel onderzocht.

2.2.1 De interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp

De interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷ werd bepaald door twee personen onafhankelijk van elkaar de methode uit te laten voeren bij alle datasets. De personen waren getraind in het uitvoeren van de kwantificatie. Zij hebben ieder minimaal een week geoefend met het intekenen van de spieren, het verwijderen van de bloedvaten en met het interpreteren van hoe gezond, geïntlammeerd en vet spierweefsel zichtbaar is op een T1-gewogen- en TIRM-afbeelding. Uit de metingen kwamen de volgende gegevens naar voren: het volume van de spier (cm^3), het volume van het oedeem in de spier (cm^3) en het gemiddelde en de SD van gezond spierweefsel (grijswaarde). De genoemde gegevens werden ingevuld in bijlage II.

2.2.2 De interobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel

Gezond spierweefsel werd bepaald door op elke slice van de TIRM-beelden stukjes gezond spierweefsel te selecteren met behulp van ROI's. De manier voor het bepalen van gezond spierweefsel met ROI's kan variëren. De ROI's kunnen op verschillende plaatsen gezet worden, ze kunnen worden verkleind en er kunnen meerdere ROI's op één slice geplaatst worden. De interobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel werd onderzocht door twee personen onafhankelijk van elkaar het gezond spierweefsel te laten vaststellen bij alle datasets. Het intekenen van de ontstoken spier en het verwijderen van de bloedvaten is voor beide metingen gelijk gehouden. De intekening van de ontstoken spier en verwijdering van de bloedvaten uitgevoerd door persoon 1 werden hiervoor gebruikt. Uit de metingen kwamen de volgende gegevens naar voren: het volume van de spier (cm^3), het volume van het oedeem in de spier (cm^3) en het gemiddelde en de SD van gezond spierweefsel (grijswaarde). De genoemde gegevens werden ingevuld in bijlage II.

2.2.3 De intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel

De intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel werd bepaald door op twee momenten door één persoon het gezond spierweefsel te vaststellen bij alle datasets. Tussen de metingen zaten gemiddeld vier dagen, zodat bij de tweede meting geen sprake was van herinnering van de eerste meting. Het intekenen van de ontstoken spier en het verwijderen van de bloedvaten is voor beide momenten gelijk gehouden. De intekening van de ontstoken spier en verwijdering van de bloedvaten uitgevoerd op moment 1 werden hiervoor gebruikt. Uit de metingen kwamen de volgende gegevens naar voren: het volume van de spier (cm^3), het volume van het oedeem in de spier (cm^3) en

het gemiddelde en de SD van gezond spierweefsel (grijswaarde). De genoemde gegevens werden ingevuld in bijlage II.

2.3 Data-analyse

In deze studie werden voor het bepalen van de inter- en intraobserver variabiliteit de Bland Altman methode en de intraclass correlation coefficient (ICC) gebruikt. Het wordt aanbevolen om beide methodes gezamenlijk te gebruiken, omdat het gebruik van één van beide op zichzelf niet voldoende informatie geeft.²⁶

Bij zowel de interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷ als de interobserver variabiliteit van het bepalen van gezond spierweefsel is het volume een continue en afhankelijke variabele en zijn de twee personen nominale en onafhankelijke variabelen. Bij het bepalen van de intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel is het volume een continue en afhankelijke variabele en zijn de twee momenten nominale en onafhankelijke variabelen.

2.3.1 Bland Altman methode

De Bland Altman methode is geschikt voor het vergelijken van twee methoden of metingen in de geneeskunde. Deze benadering kan uitgebreid worden naar de evaluatie van inter- en intraobserver variabiliteit voor continue variabelen. De analyse interpreteert de inter- en intraobserver variabiliteit in termen van overeenkomst tussen twee momenten of onderzoekers. Voor deze analyse geldt: hoe hoger de overeenkomst des te lager de variabiliteit.²⁷

Van elke patiënt werd het verschil en het gemiddelde van het volume tussen meting 1 en 2 bepaald. Deze werden uitgezet in een scatterplot, met op de x-as het gemiddelde en op de y-as het verschil tussen meting 1 en 2. Bij het maken van een Bland Altman scatterplot moeten de verschillen tussen de metingen normaal verdeeld zijn. Dit werd visueel beoordeeld middels een histogram. Op basis van het scatterplot konden de grenzen van overeenkomst, oftewel limits of agreement, worden bepaald. De limits of agreement geven inzicht in hoe goed de twee metingen overeenkomen. Het gemiddelde verschil tussen de twee metingen, ook wel 'bias' genoemd, wordt aangegeven met de waarde d . De limits of agreement werden als volgt berekend:²⁸

$$\text{Lower limit of agreement} = d - (2 \times \text{Standaarddeviatie van de verschillen tussen de metingen})$$

$$\text{Upper limit of agreement} = d + (2 \times \text{Standaarddeviatie van de verschillen tussen de metingen})$$

95% van de verschillen tussen de metingen ligt tussen deze grenzen. Hoe dichter de upper en lower limits of agreement bij elkaar liggen, des te meer overeenstemmingen tussen de metingen indien de waarde van de tweede meting hoger is dan de eerste meting, ligt het punt onder de nullijn en wanneer de waarde van de tweede meting lager is dan de eerste meting, ligt het punt boven de nullijn.^{28,29}

Uit het Bland Altman plot werd de coefficient of repeatability bepaald. Deze werd als volgt berekend:²⁷

$$\text{Coefficient of repeatability} = 2 \times \text{Standaarddeviatie van de verschillen tussen de metingen}$$

De coefficient of repeatability is direct gerelateerd aan de limits of agreement.³⁰ De coefficient geeft aan wat het laagst detecteerbare verschil is. Een waargenomen verschil, bijvoorbeeld het effect van een behandeling, moet minstens zo groot zijn als de coefficient of repeatability om als reëel verschil beschouwd te worden.²⁷ Dit betekent dat een zo laag mogelijke coefficient of repeatability wordt nagestreefd. In deze studie wordt de coefficient of repeatability van 10% of lager als voldoende beschouwd. Aangezien niet duidelijk is wat het effect van een behandeling gaat zijn, wordt een lage coefficient of repeatability als grens genomen. Tevens wordt de coefficient of repeatability in dit onderzoek als belangrijkste waarde voor de variabiliteit gezien, aangezien deze aangeeft of er werkelijk een behandelingseffect is.

Met de gegevens die tijdens de kwantificatie ingevuld werden in bijlage III kon de analyse worden uitgevoerd. De analyse werd uitgevoerd middels het programma GraphPath Prism versie 5 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA).

2.3.2 Intraclass Correlation Coefficient

De ICC is geschikt voor het bepalen van overeenstemming tussen twee of meerdere momenten of onderzoekers bij continue variabelen.²⁸ In dit onderzoek werd een steekproef genomen van alle mogelijke onderzoekers en patiënten. Daarom werd een two way random ICC gebruikt. Een ICC van 1 betekent het dat er geen variabiliteit is. In het geval van de interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷ betekent dat bij een ICC van 1 de twee personen op dezelfde manier de methode uitvoeren. Het maakt in dat geval niet uit wie de ontstoken spier intekent, de bloedvaten verwijdt of wie het gezonde spierweefsel bepaalt. Een ICC van 0 betekent dat de twee personen de methode op een totaal verschillende manier uitvoeren. Voor de interpretatie van de ICC geldt: hoe lager de ICC, hoe hoger de variabiliteit.³¹ Bij de uitkomst van de ICC hoort een 95% confidence interval (95% CI). Deze interval-waarde betekent dat de berekende ICC met 95% zekerheid tussen de berekende waarden van de 95% CI ligt.^{31,32} De analyse werd uitgevoerd middels het programma SPSS, versie 20.0 (SPSS inc., Chicago, IL, USA). Om de overeenstemming tussen de metingen visueel in beeld te brengen, werden de metingen in een grafiek gezet. De uitkomsten van meting 2 staan op de x-as en de uitkomsten van meting 1 op de y-as.³³ De grafieken werden vervaardigd middels het programma GraphPath Prism versie 5 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA).

2.4 Ethische paragraaf

Met de MRI-data die werden gebruikt voor het uitvoeren van de kwantificatie van de ontsteking werd vertrouwelijk omgegaan. De data waren afkomstig van een wetenschappelijk onderzoek waaraan patiënten met FSHD deelnemen. De patiënten hadden een informed consent gegeven voor het deelnemen aan dit wetenschappelijk onderzoek en voor het maken van een MRI. Het wetenschappelijk onderzoek was een Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek (WMO)-plichtig onderzoek. De Commissie Mensgebonden Onderzoek (CMO) Arnhem-Nijmegen heeft hier toestemming voor gegeven.

3. Resultaten

De datasets van tien patiënten zijn geanalyseerd. Bij drie patiënten is het bovenbeen gescand en bij zeven patiënten het onderbeen. Per dataset is één ontstoken spier ingetekend, waarvan het volume van het oedeem in de spier is bepaald. In tabel 2 is het minimum, maximum, gemiddelde en SD van het volume van de spier, het volume van het oedeem in de spier en de relatieve hoeveelheid oedeem in de spier weergegeven per persoon of moment en per variabiliteit. De brondata van deze gegevens zijn te vinden in bijlage II en III.

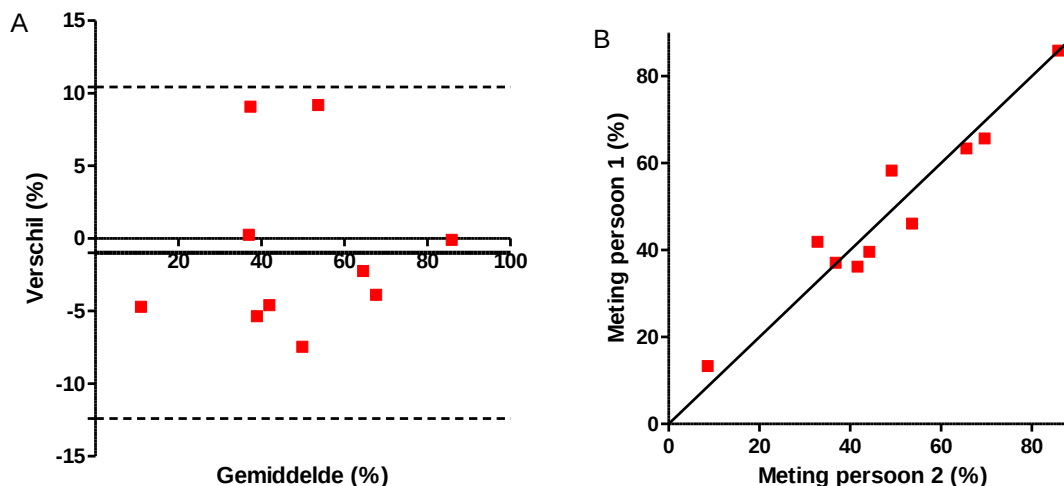
Tabel 2 Beschrijvende statistieken van het volume van het oedeem in de spier, het volume van de spier en de relatieve hoeveelheid oedeem per persoon of moment en per variabiliteit.

Parameter	Minimum	Maximum	Gemiddelde	SD
Interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp				
Persoon 1				
Volume oedeem (cm ³)	7.4	146.1	55.9	52.3
Volume spier (cm ³)	32.5	444.7	124.4	124.4
Relatieve hoeveelheid oedeem (%)	8.6	85.8	48.3	21.1
Persoon 2				
Volume oedeem (cm ³)	10.2	162.7	51.1	49.6
Volume spier (cm ³)	25.8	368.1	106.3	102.7
Relatieve hoeveelheid oedeem (%)	13.3	85.9	49.3	20.7
Interobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond weefsel				
Persoon 1				
Volume oedeem (cm ³)	7.4	176.1	55.9	52.3
Volume spier (cm ³)	32.5	444.7	124.4	124.4
Relatieve hoeveelheid oedeem (%)	8.6	85.8	48.3	21.1
Persoon 2				
Volume oedeem (cm ³)	10.9	179.7	56.4	54.8
Volume spier (cm ³)	32.5	444.7	124.4	124.4
Relatieve hoeveelheid oedeem (%)	12.7	87.0	47.3	21.0
Intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond weefsel				
Moment 1				
Volume oedeem (cm ³)	7.4	176.1	55.9	52.3
Volume spier (cm ³)	32.5	444.7	124.4	124.4
Relatieve hoeveelheid oedeem (%)	8.6	85.8	48.3	21.1
Moment 2				
Volume oedeem (cm ³)	5.4	176.1	58.2	55.2
Volume spier (cm ³)	32.5	444.7	124.4	124.4
Relatieve hoeveelheid oedeem (%)	6.3	86.5	48.4	22.3

3.1 Bepaling inter- en intraobserver variabiliteit

3.1.1 De interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp

De methode van Heskamp et al.¹⁷ is uitgevoerd door twee personen. De relatieve hoeveelheid oedeem gemeten door deze twee personen is vergeleken. Om deze verschillen in beeld te brengen is een Bland Altman scatterplot gemaakt. Figuur 5A laat een Bland Altman scatterplot zien voor de interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷ De coefficient of repeatability is 11.6%. Deze waarde zit boven de in dit onderzoek gestelde eis van 10%. Daarnaast vertoonde het scatterplot een bias van -1.0% en limits of agreement van -12.6 en 10.6%. In de figuur zijn geen extreme uitschieters zichtbaar. Naast het gebruik van de Bland Altman methode is de ICC bepaald. De ICC van de interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷ is 0.964 (95% CI: 0.865, 0.991). Dit betekent een uitstekende overeenkomst. In figuur 5B is een scatterplot weergegeven waarin de overeenkomsten van de metingen tussen persoon 1 en persoon 2 visueel zichtbaar zijn. In deze figuur stelt de rechte lijn een perfecte overeenkomst voor. Hoewel de coefficient of repeatability net te hoog is, heeft de ICC een hoge waarde, laat het scatterplot (figuur 5B) visueel een goede overeenkomst zien en is de bias laag.

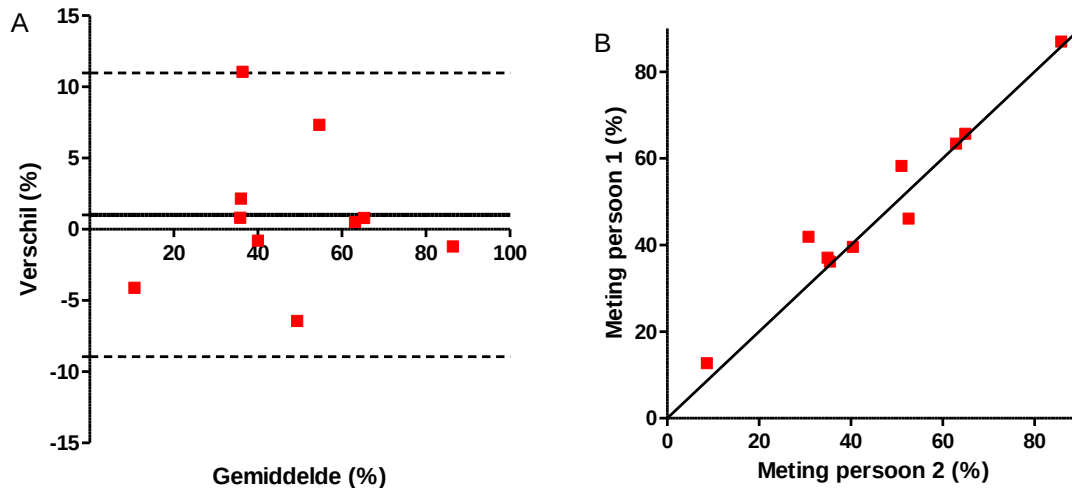


Figuur 5 De interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷. (A) Bland Altman scatterplot: de verschillen tussen de metingen van persoon 1 en 2 (meting 1 – meting 2) uitgezet tegen het gemiddelde van de metingen van persoon 1 en 2 in percentage (%). De bovenste en onderste lijn (gestippelde lijn) laten de limits of agreement zien en de middelste lijn (doorgetrokken lijn) is de bias. (B) Scatterplot, waarin de metingen van persoon 2 (x-as) uitgezet zijn tegen de metingen van persoon 1 (y-as) in percentage (%). Indien er een perfecte overeenkomst is tussen beide metingen liggen de punten op de doorgetrokken lijn.

3.1.2 De interobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel

Binnen de methode van Heskamp et al.¹⁷ is door twee personen het gezonde spierweefsel bepaald, waarbij de resterende stappen van de methode van Heskamp et al.¹⁷ gelijk bleven. De relatieve hoeveelheid oedeem gemeten door deze twee personen is vergeleken. De verschillen tussen de metingen van beide personen zijn verwerkt in een Bland Altman scatterplot. Figuur 6A laat een Bland Altman scatterplot zien voor de interobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond weefsel. De coefficient of repeatability is 10.2%. Deze waarde zit boven de in dit onderzoek gestelde eis van 10%. Daarnaast vertoont het scatterplot een bias van 1.0% en limits of agreement van -9.2 en 11.2%. In de grafieken van figuur 6 zijn geen extreme uitschieters zichtbaar. Naast het gebruik van de Bland Altman

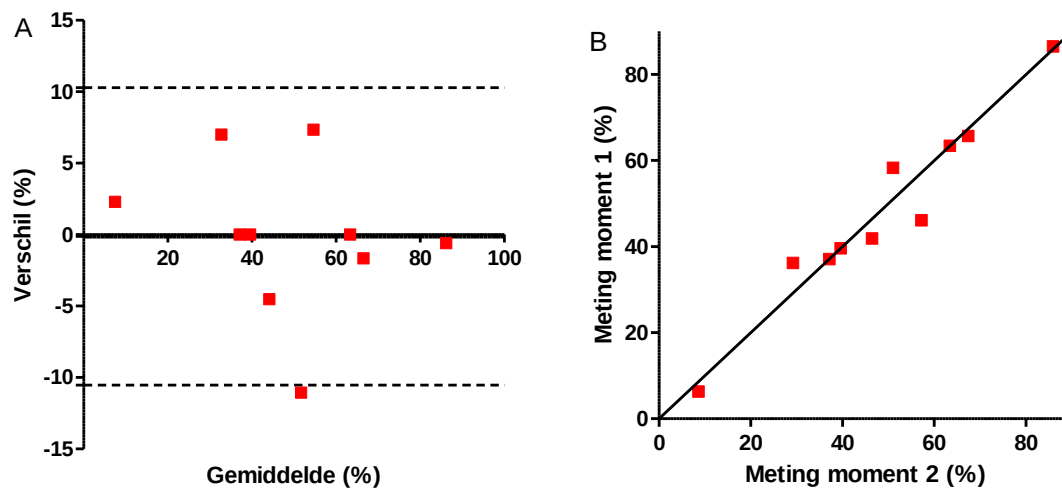
methode voor de analyse is ook de ICC bepaald. De ICC heeft een waarde van 0.972 (95% CI: 0.897, 0.993). Dit betekent een uitstekende overeenkomst. In figuur 6B is een scatterplot weergegeven waarin de overeenkomsten van de metingen tussen persoon 1 en persoon 2 zichtbaar zijn. Hoewel de coefficient of repeatability net te hoog is, heeft de ICC een hoge waarde, laat het scatterplot (figuur 6B) visueel een goede overeenkomst zien en is de bias laag.



Figuur 6 De interobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel. (A) Bland Altman scatterplot: de verschillen tussen de metingen van persoon 1 en 2 (meting 1 – meting 2) uitgezet tegen het gemiddelde van de metingen van persoon 1 en 2 (%). De bovenste en onderste lijn (gestippelde lijn) laten de limits of agreement zien en de middelste lijn (doorgetrokken lijn) is de bias. (B) Scatterplot, waarin de metingen van persoon 2 (x-as) uitgezet zijn tegen de metingen van persoon 1 (y-as). Indien er een perfecte overeenkomst is tussen beide metingen liggen de punten op de doorgetrokken lijn.

3.1.3 De intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel

Er is onderzocht wat de variatie is wanneer een persoon meerdere keren intekent. Dit werd onderzocht door één persoon op twee momenten gezond weefsel te laten bepalen, waarbij de resterende stappen van de methode van Heskamp et al.¹⁷ gelijk bleven. De resultaten van de twee momenten zijn met elkaar vergeleken. De verschillen tussen de metingen van moment 1 en 2 zijn in een Bland Altman scatterplot weergegeven, zie figuur 7A. De coefficient of repeatability is 10.6%. Deze waarde zit boven de in dit onderzoek gestelde eis van 10%. Daarnaast vertoont het scatterplot een bias van -0.1% en de limits of agreement zijn -10.7 en 10.5% . Naast het gebruik van de Bland Altman methode voor de analyse is ook de ICC bepaald. De ICC heeft een waarde van 0.973 (95% CI: 0.895, 0.993). Dit betekent een uitstekende overeenkomst. In figuur 7B is een scatterplot weergegeven waarin de overeenkomsten van de metingen tussen persoon 1 en persoon 2 zichtbaar zijn. Hoewel de coefficient of repeatability net te hoog is, heeft de ICC een hoge waarde, laat het scatterplot (figuur 7B) visueel een goede overeenkomst zien en is de bias laag. In de grafieken van figuur 7 zijn geen extreme uitschieters zichtbaar.



Figuur 7 De intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel. (A) Bland Altman scatterplot: de verschillen tussen de metingen van moment 1 en 2 (meting 1 – meting 2) uitgezet tegen het gemiddelde van de metingen van moment 1 en 2 in percentage (%). De bovenste en onderste lijn (gestippelde lijn) laten de limits of agreement zien en de middelste lijn (doorgetrokken lijn) is de bias. (B) Scatterplot, waarin de metingen van persoon 2 (x-as) uitgezet zijn tegen de metingen van persoon 1 (y-as) in percentage (%). Indien er een perfecte overeenkomst is tussen beide metingen liggen de punten op de doorgetrokken lijn.

4. Discussie

In dit onderzoek is een antwoord gezocht op de vraag wat de inter- en intraobserver variabiliteit is van de volumebepaling van het oedeem in geïnflammeerde spieren van patiënten met FSHD op basis van TIRM-beelden. Op dit moment bestaan meerdere semi-kwantitatieve schalen voor het aantonen van het de ernst van de ontsteking.^{16,18,19} Voor het evalueren van een behandeling is echter een kwantitatieve maat gewenst. Daarom is recent de kwantitatieve methode van Heskamp et al.¹⁷ ontwikkeld. Het doel van deze methode is de ernst van de ontsteking te kwantificeren aan de hand van het volume van het oedeem in een ontstoken spier. Als deze methode in de praktijk wordt gebruikt om het verloop van het ziekteproces of het effect van een behandeling in beeld te brengen, is het van belang de inter- en intraobserver variabiliteit te onderzoeken. In dit onderzoek is de interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷ bepaald. Daarnaast is onderzocht wat de inter- en intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel is.

4.1 Bespreking onderzoeksresultaten

In dit onderzoek is de inter- en intraobserver variabiliteit bepaald door middel van de Bland Altman analyse en uit deze analyse volgt de coefficient of repeatability. De coefficient of repeatability van de interobserver variatie van de methode van Heskamp et al.¹⁷ is 11.6%. Deze waarde zit boven de in dit onderzoek gestelde eis van 10%. Factoren die een rol kunnen spelen bij het ontstaan van deze variatie is het intekenen van de ontstoken spier, het verwijderen van bloedvaten en het bepalen van gezond spierweefsel. Om te achterhalen of de interobserver variatie van de methode komt door het bepalen van gezond spierweefsel, is gekeken wat de coefficient of repeatability is van de interobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond weefsel. Het bepalen van gezond spierweefsel werd door twee verschillende personen uitgevoerd. Het intekenen van de ontstoken spier en het verwijderen van de bloedvaten zijn voor beide onderzoekers gelijk gehouden. Dit leidde tot een coefficient of repeatability van 10.2%. De interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷ wordt dus beïnvloed door het bepalen van gezond spierweefsel. Tevens is gekeken naar wat de intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond weefsel te onderzoeken. Eén persoon heeft op twee momenten gezond weefsel bepaald. Het intekenen van de ontstoken spier en het verwijderen van de bloedvaten is voor beide momenten gelijk gehouden. Deze variatie is ook bepaald aan de hand van de coefficient of repeatability en had een waarde van 10.6%. De coefficients of repeatability voorkomend uit deze studie liggen net boven de in deze studie genoemde grenswaarde van 10%. Naast de coefficient of repeatability is de ICC berekend. De ICC-waardes variëren van 0.964 tot 0.973. Dit zijn hoge waardes, aangezien een ICC van 1 betekent dat de metingen precies overeenkomen.

Zoals gesteld in de methode-sectie, wordt de coefficient of repeatability in dit onderzoek gezien als de belangrijkste waarde voor de variabiliteit. Op basis daarvan en het feit dat de coefficient of repeatability groter is dan de gestelde eis van 10%, zou de inter- en intraobserver variabiliteit onvoldoende zijn. Echter, gegeven het feit dat de coefficient of repeatability slechts maximaal 1.6% boven de gestelde eis zit en de ICC een sterke relatie weergeeft tussen de metingen, lijkt er toch potentie in de methode van Heskamp et al.¹⁷ te zitten.

4.2 Sterkte punten

Er zijn diverse sterke punten te benoemen in dit onderzoek. Ten eerste, in dit onderzoek werd gebruik gemaakt de Bland Altman methode en de ICC. Beide analyses worden gebruikt voor het bepalen van overeenstemming tussen twee of meer momenten of onderzoekers bij continue variabelen.^{27,28} Uit onderzoek blijkt dat deze methoden apart niet voldoende informatie geven.²⁶ De data-analyses vullen elkaar aan. De uitkomst van de ICC geeft geen indicatie over de omvang van de verschillen. Dit kan aangevuld worden door de 95% limits of agreement te bepalen met de Bland Altman methode.²⁶ In tegenstelling tot het feit dat de Bland Altman analyse erg complex is om te interpreteren, is de ICC eenvoudig te interpreteren.²⁶ Ten tweede, de onderzoekers hebben elkaars kwantificatie niet gezien en hebben de metingen dus onafhankelijk van elkaar uitgevoerd. Dit is voor de betrouwbare bepaling van de interobserver variabiliteit belangrijk. Ten derde, bij het bepalen van de intraobserver variabiliteit zat er ten minste vier dagen tussen de twee meetmomenten, zodat de invloed van de herinnering van het eerste meetmoment werd beperkt. Ten vierde, om ervoor te zorgen dat de onderzoekers weten hoe de kwantificatie uitgevoerd moet worden, hebben zij ieder minimaal een week geoefend met het intekenen van de spieren, het verwijderen van de bloedvaten en met het interpreteren van hoe gezond spierweefsel, geïnflammeerd en vet spierweefsel zichtbaar zijn op een T1-gewogen- en TIRM-afbeelding.

4.3 Beperkingen

Er zijn een aantal beperkingen van dit onderzoek te benoemen. Een beperking is dat voor de gebruikte statistische analyses, de steekproefgrootte van tien metingen in dit onderzoek erg laag is. Bij het gebruiken van de Bland Altman methode en de ICC heeft het de voorkeur een grotere steekproef te nemen. De Bland Altman methode geeft de voorkeur aan een steekproefgrootte van minstens 50.^{26,34} Bij de ICC geeft de 95%CI de betrouwbaarheid van de ICC-waarde aan: hoe breder de 95%CI, des te onbetrouwbarder de ICC-waarde. Bij een kleine steekproefgrootte zal de 95%CI breder zijn.³⁵ De interval-waarde betekent dat de berekende ICC met 95% zekerheid tussen de berekende waardes van de 95%CI ligt.^{31,32} In dit onderzoek levert de interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷ de breedste 95%CI van 0.897 tot 0.993. Op basis hiervan kan gesteld worden dat de ICC-waardes voortkomend uit dit onderzoek niet breed zijn, voor het feit dat er maar tien datasets gebruikt zijn. Omdat de Bland Altman methode een hoge steekproefgrootte als voorkeur heeft en dit onderzoek maar een steekproefgrootte heeft van tien, kunnen aan de uitkomsten, zoals de coefficient of repeatability, de limits of agreement en de bias, geen bindende conclusies verbonden worden. Echter, geeft het een indicatie van de inter- en intraobserver variabiliteit van de methode. In deze studie zijn slechts van tien patiënten datasets gebruikt. FSHD is een zeldzame ziekte, waardoor niet voldoende datasets beschikbaar waren.

Een andere beperking is dat slechts op twee momenten en door twee personen gemeten is. Wanneer het aantal van deze variabelen groter is, worden de resultaten betrouwbaarder. Een nadeel is dat de Bland Altman methode alleen uitgevoerd kan worden bij twee nominale variabelen. Daarentegen zou de ICC hierbij wel gebruikt kunnen worden.²⁶ Voor het gebruiken van de Bland Altman methode moeten de verschillen tussen de metingen normaal verdeeld zijn. Dit is visueel beoordeeld middels een histogram. De beperking hiervan is dat het visueel beoordeeld is en dit is minder betrouwbaar dan wanneer een

toets gebruikt zou worden. Toetsen die gebruikt zouden kunnen worden zijn de Kolmogorov-Smirnoff toets en de Shapiro-Wilk toets. In dit onderzoek is geen toets gebruikt, omdat de uitkomst hiervan niet betrouwbaar zou zijn, aangezien er maar tien metingen waren.³⁶

In deze studie wordt een coefficient of repeatability van 10% of lager als voldoende beschouwd. Een beperking van dit onderzoek is dat deze grens een aangenomen waarde is en niet gebaseerd is op literatuur. Voor de coefficient of repeatability is echter geen duidelijke grens. Dit is afhankelijk van wat het behandel-effect gaat zijn. Het effect van een behandeling, moet minstens zo groot zijn als de coefficient of repeatability om als reëel verschil beschouwd te worden.²⁷ Het effect van een behandeling is echter niet bekend.

Daarnaast is een beperking van dit onderzoek en tevens een beperking van de methode van Heskamp et al.¹⁷ te benoemen, die de inter- en intraobserver variabiliteit kan beïnvloeden. Wanneer er bij datasets per slice weinig tot geen gezond weefsel aanwezig is, zijn de mogelijkheden voor het selecteren van gezond spierweefsel niet groot of helemaal niet aanwezig. Bij datasets waar dit het geval is, is de kans groot dat de variabiliteit tussen twee momenten en personen kleiner is dan op slices waar de mogelijkheden voor het selecteren van gezond spierweefsel groot zijn. In dit onderzoek waren drie datasets waarbij slechts twee duidelijk gezonde spieren aanwezig waren. Hiervan vertoonde twee een kleine variatie. In één dataset was geen gezond spierweefsel aanwezig, waardoor deze werd geëxcludeerd.

Een andere beperking van dit onderzoek en tevens een beperking van de methode van Heskamp et al.¹⁷ is dat op de TIRM-afbeeldingen waar het gezond spierweefsel op wordt bepaald, het signaal per slice verschilt. Dit was bij het merendeel van de MRI-datasets het geval. Als op twee slices gezond spierweefsel van eenzelfde spier werd geselecteerd, gaf het op de ene slice een hoge grijswaarde en op de volgende slice een lage grijswaarde. Opmerkelijk is dat deze verschillen groter werden wanneer de slices aflieden. Deze beperking heeft invloed op de betrouwbaarheid van de resultaten van de kwantificatie. Het is niet duidelijk wat de oorzaak hiervan is. Aangezien alle datasets dit verschijnsel vertonen, wordt verwacht dat de oorzaak in de TIRM-sequentie zit. Door deze beperking kwam bij een aantal datasets geen normale verdeling uit de kwantificatie. Toch zijn deze datasets geïnccludeerd, omdat aangenomen wordt dat het geen invloed heeft op de inter- en intraobserver variabiliteit.

In dit onderzoek is alleen de interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷ bepaald. Om een beter beeld te krijgen van de variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷ zou ook de intraobserver variabiliteit bepaald moeten worden. In dit onderzoek is in het kader van afbakening gekozen om deze analyse niet uit te voeren.

4.4 Gevolgen voor de praktijk

Er zijn twee methoden om de ernst van de ontsteking te kwantificeren. De eerste methode is het bepalen van de T2-relaxatietijd van water in de spier. In een eerdere studie is de validiteit en betrouwbaarheid van deze kwantitatieve meting van ontstekingen beoordeeld bij kinderen met juvenile dermatomyositis. Hieruit bleek dat deze methode een valide en betrouwbare meting is om de ontsteking in spieren van kinderen met juvenile dermatomyositis te kwantificeren.²⁴ Een andere methode is het bepalen van het volume van het oedeem in de spier, zoals de methode van Heskamp et al.¹⁷ doet.

Zoals eerder aangegeven, is het voor het bepalen van het effect van een therapeutisch behandeling van belang de inter- en intraobserver variabiliteit te onderzoeken. De methode van Heskamp et al.¹⁷ is klinisch bruikbaar als het effect van een behandeling, minstens zo groot is als de coefficient of repeatability van de inter- en intraobserver variabiliteit om als reëel verschil beschouwd te worden.²⁷ Het effect van een behandeling is echter niet bekend. Daarom wordt in dit onderzoek een coefficient of repeatability van 10% of lager als voldoende beschouwd. De resultaten van de coefficients of repeatability voortkomend uit dit onderzoek liggen hier net boven. Aanbevolen wordt de inter- en intraobserver variabiliteit te optimaliseren. Uit de onderzoeksresultaten kwam naar voren dat de variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷ wordt beïnvloed door het bepalen van gezond weefsel. Dit kan verbeterd worden door de variaties die in het bepalen van gezond weefsel zitten, te verkleinen. Variaties in het bepalen van gezond weefsel kunnen de volgende zijn: de ROI's kunnen op verschillende plaatsen worden gezet, ze kunnen worden verkleind en vergroot en in een grote spier kunnen één of twee ROI's gezet worden. Deze variaties kunnen verkleind worden door de gehele gezonde spier in te tekenen. Het nadeel is dat het uitvoeren van de kwantificatie hierdoor enorm veel tijd vergt. Daarnaast kan het zetten van ROI's in gezonde spieren variëren. Deze variatie zou verkleint kunnen worden door duidelijk te stellen welke spier gezond is en welke aangedaan.

4.5 Toekomstig onderzoek

Aanbevelingen voor toekomstig onderzoek zijn om in het vervolg niet alleen de interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp et al.¹⁷ te bepalen, maar ook de intraobserver variabiliteit. Daarnaast zou er door meer dan twee personen of op meer dan twee momenten gemeten moeten worden. Voor de betrouwbaarheid van het onderzoek wordt aanbevolen mogelijk een grotere steekproef te nemen. Tevens is een aanbeveling om een spier te kiezen voor de kwantificatie die in de nabijheid ligt van een aantal gezonde spieren, zodat de mogelijkheden voor het bepalen van gezond spierweefsel groter worden.

5. Conclusie

In deze studie is de inter- en intraobserver variabiliteit onderzocht van de bepaling van het volume oedeem in geïnteflammeerde spieren van patiënten met FSHD op basis van TIRM-afbeeldingen. De ICC-waardes voortkomend uit dit onderzoek zijn hoog. Dit betekent dat de variabiliteit bij zowel de inter als de intraobservatie laag is, omdat de waardes dicht bij 1 liggen. De coefficient of repeatability wordt in dit onderzoek gezien als de belangrijkste waarde voor de variabiliteit. Op basis daarvan en het feit dat de coefficient of repeatability groter is dan de gestelde eis van 10%, zou de inter- en intraobserver variabiliteit onvoldoende zijn. Echter, gegeven het feit dat de coefficients of repeatability dicht op de gestelde eis zitten en de ICC-waardes een sterke relatie weergeven tussen de metingen, is het te vroeg om de methode van Heskamp et al.¹⁷ af te wijzen.

Literatuurlijst

1. Janssen BH, Voet NBM, Nabuurs CI, Kan HE, de Rooy JWJ, Geurts AC, et al. Distinct disease phases in muscles of facioscapulohumeral dystrophy patients identified by MR detected fat infiltration. *PLoS One* 2014, 9(1):1-9.
2. Deenen JCW, Arntst H, Padberg GW, Verschuuren JJGM, Bakker E, Weinreich SS. Population-based incidence and prevalence of facioscapulohumeral dystrophy. *Neurology* 2014, 83:1056–1060.
3. Frisullo G, Frusciante R, Nociti V, Tasca G, Renna R, Iorio R, et al. CD8+ T cells in facioscapulohumeral muscular dystrophy patients with inflammatory features at muscle MRI. *J Clin Immunol* 2011, 31:155–166.
4. Spierziekten Nederland. Diagnose en behandeling bij FSHD. Beschikbaar via <http://www.spierziekten.nl/overzicht/facioscapulohumerale-dystrofie/diagnose-en-behandeling-bij-fshd/>. Geraadpleegd op 23-3-2015
5. Kinderneurologie.eu. Fasciocalpulothumeraale dystrofie (FSHD) 2007. Beschikbaar via: <http://www.kinderneurologie.eu/ziektebeelden/spier/FSHD.php>. Geraadpleegd op 1-5-2015
6. De Boo M. Bewegen als medicijn. *Contact* 2013:1–7.
7. Wattjes MP, Fischer D. *Neuromuscular imaging*. New York: Springer; 2013. p 302.
8. Chapman S, Southwood TR, Fowler J, Ryder CA. Rapid changes in magnetic resonance imaging of muscle during the treatment of juvenile dermatomyositis. *Br J Rheumatol* 1994, (33):184–186.
9. Hiba B, Richard N, Hébert LJ, Côté C, Nejari M, Vial C, et al. Quantitative assessment of skeletal muscle degeneration in patients with myotonic dystrophy type 1 using MRI. *J Magn Reson Imaging* 2012, 35:678–685.
10. Wattjes MP, Kley RA, Fischer D. Neuromuscular imaging in inherited muscle diseases. *Eur Radiol* 2010, 20:2447–2460
11. Yao L, Gai N. Fat-corrected T2 measurement as a marker of active muscle disease in inflammatory myopathy. *American Journal of Roentgenology* 2012, 98(5):475–481.
12. Zuurbier R, Nahuis J, Geers-van Gemeren S, Dol-Jansen J, Dam T. *Magnetic Resonance Imaging*. Amsterdam: Reed Business; 2012
13. Fraser DD, Frank JA, Dalakas M, Miller FW, Hicks JE PP. Muscular ultrasound in idiopathic inflammatory myopathies of adults. *Journal Rheumatol* 1991, 18(11):1693–1700.
14. Kan HE, Scheenen TWJ, Wohlgemuth M, Klomp DWJ, van Loosbroek-Wagenmans I, Padberg GW, et al. Quantitative MR imaging of individual muscle involvement in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*. Elsevier B.V 2009, 19(5):357–362.
15. Kornblum C, Lutterbey G, Bogdanow M, Kesper K, Schild H, Schröder R, et al. Distinct neuromuscular phenotypes in myotonic dystrophy types 1 and 2: A whole body highfield MRI study. *Journal Neurology* 2006, 253:753–761.
16. Friedman SD, Poliachik SL, Otto RK, Carter GT, Budech CB, Bird TD, et al. Longitudinal features of stir bright signal in FSHD1. *Muscle and Nerve* 2014, 49:257–260.
17. Heskamp, L, Janssen, B, Heerschap A. Quantification of the inflammatory process in muscles of patients with facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Proceeding van ISMRM Benelux Chapter*. Ghent; 2015.

18. Tomasová Studynková J, Charvát F, Jarosová K, Vencovsky J. The role of MRI in the assessment of polymyositis and dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford)* 2007, 46:1174–1179.
19. Malattia C, Damasio MB, Madeo A, Pistorio A, Providenti A, Pederzoli S, et al. Whole-body MRI in the assessment of disease activity in juvenile dermatomyositis. *Annual of the Rheumatic Diseases* 2013, 0:1–8.
20. Ph D, Bryant ND, Vandenborne K, Walter GA. Changes in Muscle T2 and tissue damage following downhill running in mdx mice. *NIH Public Access*. 2012;43(6):878–886.
21. Azzabou N, Loureiro de Sousa P, Caldas E, Carlier PG. Validation of a generic approach to muscle water T2 determination at 3T in fat-infiltrated skeletal muscle. *Journal of magnetic resonance imaging* 2014, 00:1–9.
22. Park JH, Olsen NJ. Utility of magnetic resonance imaging in the evaluation of patients with inflammatory myopathies. *Current Rheumatology Reports* 2001, 3(4):334–345.
23. Friedman SD, Poliachik SL, Carter GT, Budech CB, Bird TD, Shaw DWW. The magnetic resonance imaging spectrum of facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 2012, 45:500–506
24. Maillard SM, Jones R, Owens C, Pilkington C, Woo P, Wedderburn LR, et al. Quantitative assessment of MRI T2 relaxation time of thigh muscles in juvenile dermatomyositis. *Rheumatology* 2004, 43(5):603–608.
25. Arpan I, Forbes SC, Lott DJ, Senesac CR, Daniels MJ, Triplett WT, et al. T2 mapping provides multiple approaches for the characterization of muscle involvement in neuromuscular diseases: A cross-sectional study of lower leg muscles in 5-15-year-old boys with Duchenne muscular dystrophy. *NMR Biomed* 2013, 26(3):320–328.
26. Rankin G, Stokes M. Reliability of assessment tools in rehabilitation: an illustration of appropriate statistical analyses. *CI in Rehabil* 1998, 12(3):187–199.
27. Sardanelli F, Di Leo G. *Biostatistics for Radiologists*. 2009. San Donato Milanese, Italië: Springer-Verlag 2008.
28. Berukens S, van Peppen R, Stutterheim E, Swinkels R WH. *Meten in de praktijk*. 2008. Houten: Bohn Stafleu van Lohum; 2008.
29. Myles, PS, Cui J. Using the Bland-Altman method to measure agreement with repeated measures. *Br J Anaesth* 2007, 99(3):309–311.
30. Vaz S, Falkmer T, Passmore AE, Parsons R, Andreou P. The Case for Using the Repeatability Coefficient When Calculating Test-Retest Reliability. *PLoS One* 2013, 8(9):1–7.
31. Osborne J. *Best Practices in Quantitative Methods*. Thousand Oaks, London, New Delhi, Singapore: Sage Publications; 2008.
32. HBO Statestiek. 95 Betrouwbaarheidsinterval. Beschikbaar via: <http://www.hbostatistiek.nl/intervalschatting/95-betrouwbaarheidsinterval/>. Geraadpleegd op 28 - 4-2015.
33. Kennisbasis statestiek. ICC. Z.j. Beschikbaar via: <http://www.wynneconsult.com/root/HomePageKB012.htm>. Geraadpleegd op 30-4-2015
34. Cade JE, Burley VJ, Warm DL, Thompson RL, Margetts BM. Food-frequency questionnaires: a review of their design, validation and utilisation. *Public Health Nutrition* 2004, 17(1):5–22.

- 35 The Survey System. Sample Size 2012. Beschikbaar via:
<http://www.surveysystem.com/sscalc.htm>. Geraadpleegd op 7-5-2015
36. Janssen J, Laatz W. Statistische datanalyse mit SPSS für Windows. Berlin: Springer-Verslag; 2003.

Bijlagen

Bijlage I Protocol kwantificatie met Matlab

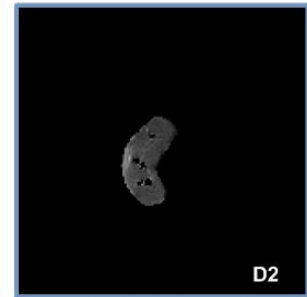
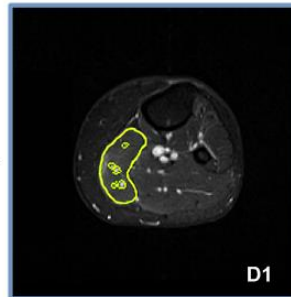
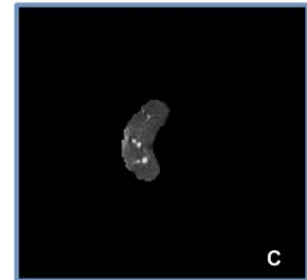
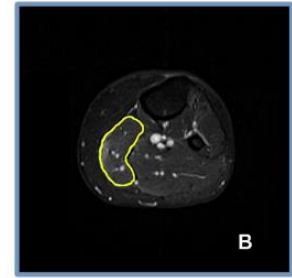
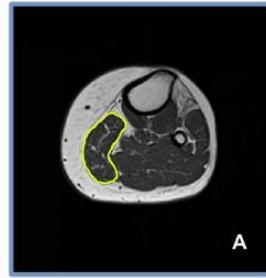
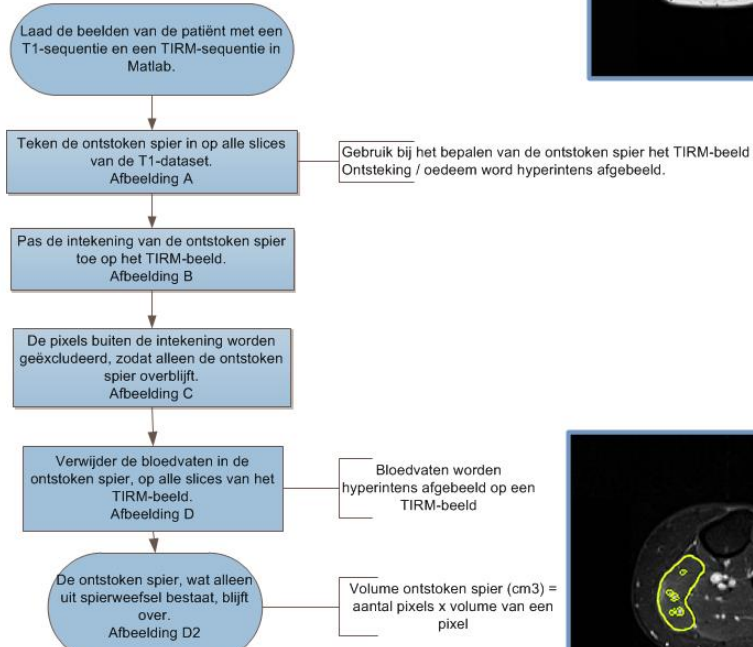
Kwantificatie ontsteking: volumebepaling oedeem in de spier

Twee stappen:

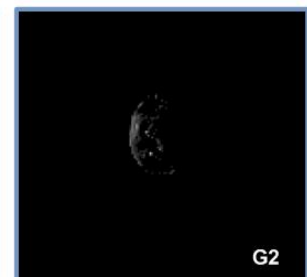
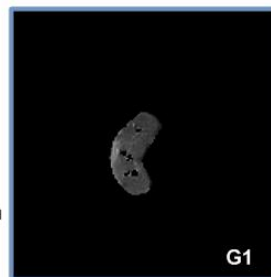
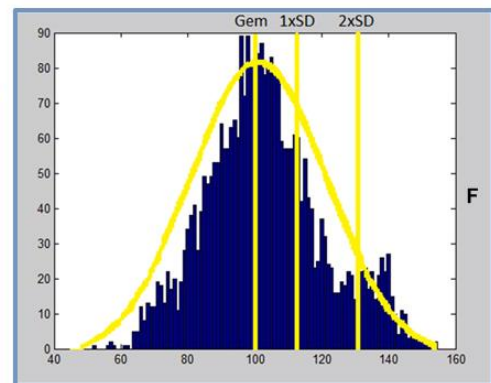
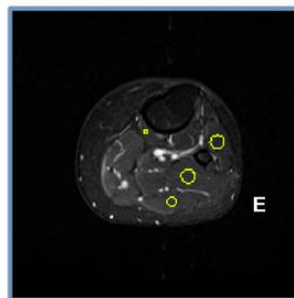
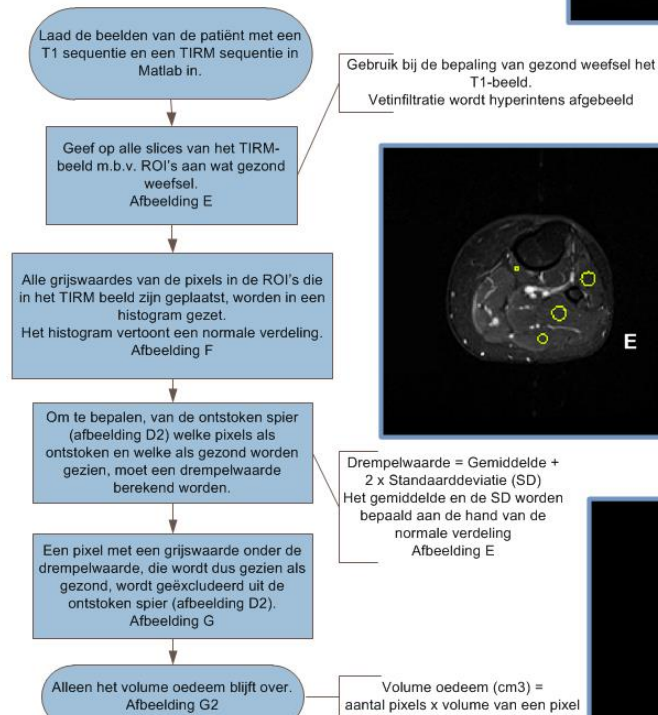
Stap 1: Intekenen ontstoken spier

Stap 2: Bepalen volume oedeem in de spier

Stap 1: Intekenen ontstoken spier



Stap 2: Bepalen volume oedeem in de spier



Bijlage II Uitkomsten kwantificatie

Tabel II.1 Uitkomsten kwantificatie: de interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp van persoon 1.

Patiënt	Volume oedeem (cm ³)	Volume spier (cm ³)	Gemiddelde gezond spierweefsel (grijswaarde)	SD gezond spierweefsel (grijswaarde)	Drempelwaarde (grijswaarde)
1	93,5	202,5	164	32	228
2	20,8	35,8	123	15	152
3	37,2	88,9	97	22	141
4	11,8	32,5	91	23	137
5	176,1	444,7	141	17	176
6	53,9	85,0	98	12	122
7	31,9	86,1	102	18	139
8	96,6	147,0	82	12	106
9	30,1	35,1	176	34	245
10	7,4	86,2	49	16	80

SD = standaarddeviatie

Tabel II.2 Uitkomsten kwantificatie: de interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp van persoon 2.

Patiënt	Volume oedeem (cm ³)	Volume spier (cm ³)	Gemiddelde gezond spierweefsel (grijswaarde)	SD gezond spierweefsel (grijswaarde)	Drempelwaarde (grijswaarde)
1	91,8	171,2	158	30	216
2	13,4	27,3	129	15	160
3	26,0	79,1	106	27	161
4	10,7	25,8	90	24	138
5	162,7	368,1	138	18	173
6	46,8	71,3	97	13	123
7	28,0	76,2	101	20	142
8	91,9	132,2	82	12	107
9	29,9	34,8	167	35	237
10	10,2	76,5	44	15	73

SD = standaarddeviatie

Tabel II.3 Uitkomsten kwantificatie: de interobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel van persoon 1.

Patiënt	Volume oedeem (cm ³)	Volume spier (cm ³)	Gemiddelde gezond spierweefsel (grijswaarde)	SD gezond spierweefsel (grijswaarde)	Drempelwaarde (grijswaarde)
1	93,5	202,5	164	32	228
2	20,8	35,8	123	15	152
3	37,2	88,9	97	22	141
4	11,8	32,5	91	23	137
5	176,1	444,7	141	17	176
6	53,9	85,0	98	12	122
7	31,9	86,1	102	18	139
8	96,6	147,0	82	12	106
9	30,1	35,1	176	34	245
10	7,4	86,2	49	16	80

SD = standaarddeviatie

Tabel II.4 Uitkomsten kwantificatie: de interobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel van persoon 2.

Patiënt	Volume oedeem (cm ³)	Volume spier (cm ³)	Gemiddelde gezond spierweefsel (grijswaarde)	SD gezond spierweefsel (grijswaarde)	Drempelwaarde (grijswaarde)
1	106,5	202,5	157	30	216
2	18,2	35,8	129	15	160
3	27,4	88,9	106	27	161
4	11,5	32,5	90	24	138
5	179,7	444,7	138	18	173
6	53,4	85,0	97	13	123
7	30,1	86,1	101	20	142
8	95,4	147,0	82	12	107
9	30,5	35,1	167	35	237
10	10,9	86,2	44	15	73

SD = standaarddeviatie

Tabel II.5 Uitkomsten kwantificatie: de intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel van moment 1

Patiënt	Volume oedeem (cm ³)	Volume spier (cm ³)	Gemiddelde gezond spierweefsel (grijswaarde)	SD gezond spierweefsel (grijswaarde)	Drempelwaarde (grijswaarde)
1	93,5	202,5	164	32	228
2	20,8	35,8	123	15	152
3	37,2	88,9	97	22	141
4	11,8	32,5	91	23	137
5	176,1	444,7	141	17	176
6	53,9	85,0	98	12	122
7	31,9	86,1	102	18	139
8	96,6	147,0	82	12	106
9	30,1	35,1	176	34	245
10	7,4	86,2	49	16	80

SD = standaarddeviatie

Tabel II.6 Uitkomsten kwantificatie: de intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel van moment 2

Patiënt	Volume oedeem (cm ³)	Volume spier (cm ³)	Gemiddelde gezond spierweefsel (grijswaarde)	SD gezond spierweefsel (grijswaarde)	Drempelwaarde (grijswaarde)
1	115,9	202,5	157	26	209
2	18,2	35,8	129	15	159
3	41,3	88,9	97	18	133
4	9,5	32,5	95	24	144
5	176,1	444,7	142	18	177
6	53,9	85,0	97	13	122
7	31,9	86,1	103	18	138
8	99,0	147,0	81	11	104
9	30,4	35,1	174	33	240
10	5,4	86,2	51	16	84

SD = standaarddeviatie

Bijlage III Uitkomsten voor het bepalen van de inter- en intraobserver variabiliteit

Tabel III.1 Uitkomsten voor het bepalen van de interobserver variabiliteit van de methode van Heskamp

Persoon 1		Persoon 2	
Patiënt	Relatieve hoeveelheid oedeem in de spier (%)	Relatieve hoeveelheid oedeem in de spier (%)	Vershil metingen (meting persoon 1 - meting persoon 2) (%)
1	46,1	53,6	-7.5
2	58,3	49,1	9.2
3	41,9	32,8	9.1
4	36,2	41,6	-5.4
5	39,6	44,2	-4.6
6	63,4	65,6	-2.2
7	37,1	36,8	0.3
8	65,7	69,6	-3.9
9	85,8	85,9	-0,1
10	8,6	13,3	-4,7

Tabel III.2 Uitkomsten voor het bepalen van de interobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel

Persoon 1		Persoon 2	
Patiënt	Relatieve hoeveelheid oedeem in de spier (%)	Relatieve hoeveelheid oedeem in de spier (%)	Vershil metingen (meting persoon 1 - meting persoon 2) (%)
1	46,1	52,6	-6.4
2	58,3	51,0	7.3
3	41,9	30,8	11.1
4	36,2	35,4	0.8
5	39,6	40,4	-0.8
6	63,4	62,9	0.5
7	37,1	34,9	2.2
8	65,7	64,9	0.8
9	85,8	87,0	-1,2
10	8,6	12,7	-4,1

Tabel III.3 Uitkomsten voor het bepalen van de intraobserver variabiliteit voor het bepalen van gezond spierweefsel

	Moment1	Moment 2	
Patiënt	Relatieve hoeveelheid oedeem in de spier (%)	Relatieve hoeveelheid oedeem in de spier (%)	Verschil metingen (meting moment 1 - meting moment 2) (%)
1	46,1	57,2	-11,1
2	58,3	51,0	7,3
3	41,9	46,4	-4,5
4	36,2	29,2	7,0
5	39,6	39,6	0,0
6	63,4	63,4	0,0
7	37,1	37,1	0,0
8	65,7	67,4	-1,7
9	85,9	86,5	-0,6
10	8,6	6,3	2,3

Bijlage IV Overdrachtsverklaring van data en rechten

Overeenkomst

Houdende overdracht van rechten en de plicht tot overdracht/retournering van data, software en andere middelen

Ondergetekenden:

1. de heer/mevrouw Anne Maria Catharina Manders, woonachtig te 5752 RH Deurne aan de Biesheuvelweg 20, hierna aan te duiden als "**Student**"

en

2. Ziekenhuis Radboudumc Nijmegen, Geert Grooteplein/zuid 10, 6525 GA Nijmegen, hierna aan te duiden als "**Radboudumc**"

Met deze verklaring wordt bevestigd dat de student alle door hem / haar verzamelde data aan de opdrachtgever heeft overgedragen.

Student

Naam:

Anne Manders



(handtekening)

Datum: 8/6/2015

Plaats: Nijmegen

Ziekenhuis Radboudumc

Naam opdrachtgever:

Linda Heshamp



(handtekening)

Datum: 8/6/2015

Plaats: Nijmegen

