

Universitätsklinikum Ulm  
Zentrum für Innere Medizin  
Klinik für Innere Medizin I  
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. T. Seufferlein

**Eruierung einer möglichen geräteübergreifenden  
Quantifizierung der Darmwandvaskularisation mit-  
tels hochauflösendem, kontrastmittelverstärkten Ul-  
traschall (CEUS-Quantifizierung) und Gewebsquanti-  
fizierung per Acoustic Structure Quantification  
(ASQ) bei Patienten mit Morbus Crohn**

---

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

vorgelegt 2015

von Falko Zink

geboren in Geislingen/Steige

Amtierender Dekan: Prof. Dr. T. Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Kratzer

2. Berichterstatter: Prof. Dr. L. Bullinger

Tag der Promotion: 29.4.2016

Dank an Elena, meine Familie und die Bunks

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht in:

Zink F, Kratzer W, Schmidt S, Oeztuerk S, Mason RA, Prozner M, Klaus J, Haenle MM, Graeter T: Comparison of two High-End Ultrasound Systems for contrast-enhanced ultrasound quantification of mural microvascularity in Crohn's disease. *Ultraschall Med.*;37(1):74-81. doi: 10.1055/s-0034-1398746. Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York · ISSN 0172-4614, Epub 2015 Aug 7, Print 2016 Feb

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	i
<b>1. Einleitung – Morbus Crohn</b> .....	1
1.1 Epidemiologie.....	1
1.2 Klinik, Ätiologie, Pathogenese und Einflussfaktoren .....	1
1.3 Verfahren zur Diagnosestellung und Verlaufskontrolle .....	2
1.4 Die Rolle der Sonographie .....	3
1.5 Ziel der Studie.....	11
<b>2. Material und Methoden</b> .....	13
2.1 Studiendesign, Ein- und Ausschlusskriterien .....	13
2.2 Anamnese .....	14
2.3 Ultraschalluntersuchung.....	16
2.4 CEUS – kontrastmittelverstärkter Ultraschall .....	23
2.5 CEUS-Quantifizierung.....	25
2.6 Statistische Auswertung.....	28
<b>3. Ergebnisse</b> .....	29
3.1 Dopplerverfahren .....	32
3.2 CEUS-Quantifizierung.....	32
3.3 Acoustic Structure Quantification .....	37
<b>4. Diskussion</b> .....	38
4.1 Patientenkollektiv .....	38
4.2 Dopplerverfahren .....	39
4.3 CEUS-Quantifizierung.....	40
4.4 ASQ .....	43
4.5 Ausblick.....	43
<b>5. Zusammenfassung</b> .....	45
<b>6. Literaturverzeichnis</b> .....	47
<b>7. Danksagung</b> .....	57

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AIF	Arterial input function
ASQ	Acoustic structure quantification
AUC	Area under the curve
CDAI	Crohn´s disease activity index
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankung
CEUS	Contrast enhanced ultrasound
CICDA	Composite index of Crohn´s disease activity
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
CUI	Conventional ultrasound investigation
FT	Fall time
HBI	Harvey Bradshaw Index
kg	Kilogramm
KM	Kontrastmittel
MB	Microbubble
mm	Millimeter
MRT	Magnetresonanztomographie
mTTI	Mean transit time
PE	Peak enhancement
PI	Peak intensity
PRF	Pulse Repetition Frequency

qn-p	quantitatives Parameter
RT	Rise time
SD	Standard deviation
Siem3000	Siemens Acuson S3000 Ultraschallsystem
Tab.	Tabelle
TIC	“Time intensity curve” = Zeitintensitätskurve
Tosh500	Toshiba Aplio 500 Ultraschallsystem
TTP	Time to peak
VI	Video Intensity
WiAUC	Wash-in area under the curve
WiR	Wash-in rate
WiWoAUC	Wash-in – wash-out area under the curve
WoAUC	Wash-out area under the curve
WoR	Wash-out rate

# 1. Einleitung – Morbus Crohn

## 1.1 Epidemiologie

Morbus Crohn ist eine chronisch entzündliche Darmerkrankung, die durch einen schubartig, progredienten Verlauf charakterisiert ist. Sie hat über die zweite Hälfte des 20. Jahrhunderts deutlich an Häufigkeit zugenommen [49]. Aktuelle Inzidenzraten liegen in Nordamerika bei 20, in Europa bei plus/minus 10 und in Asien und dem Mittleren Osten bei ca. 5 Neuerkrankungen auf 100.000 Menschen pro Jahr [59, 101]. Der Erkrankungsgipfel befindet sich im Jugend- bis frühen Erwachsenenalter [89, 92]. Speziell in Asien und der Dritten Welt steigen die Inzidenzraten in den letzten Jahren rapide und kontinuierlich an, auch wenn die Prävalenzen westlicher Länder noch nicht erreicht sind [108, 109]. Entgegen der Zunahme in Entwicklungsländern gibt es Hinweise auf eine Stabilisierung der Neuerkrankungsrate in Ländern mit hohen Crohn-Ziffern, hier sind insbesondere Nordamerika und Nordeuropa zu nennen [41]. Die Prävalenz in Mitteleuropa dürfte laut Hoffmann JC et al. bei 120-200 Morbus Crohn-Erkrankungen pro 100 000 Einwohner liegen [39].

## 1.2 Klinik, Ätiologie, Pathogenese und Einflussfaktoren

Häufigstes Symptom des Morbus Crohn sind chronische Durchfälle (> 6 Wochen), welche in rund 40% der Fälle von Blutbeimengungen flankiert sind [48, 91]. Zusätzlich treten in ca. 60% der Fälle abdominelle Schmerzen und/oder ein ungewollter Gewichtsverlust auf. Extraintestinale Manifestationen sind am häufigsten am Skelettsystem zu finden, wobei bevorzugt die peripheren und axialen Gelenke tangiert sind [20, 106]. Crohn-spezifische Merkmale der CEDs sind ein diskontinuierlicher, segmentaler Befall des Gastrointestinaltraktes, was als „skip lesions“ bezeichnet wird sowie die transmurale, d.h. alle Darmwandschichten betreffende, Entzündung der erkrankten Darmabschnitte. Grundsätzlich ist eine Ausbreitung im gesamten Magen-Darm-Trakt möglich, jedoch prädominant in über 80% der Fälle ist das terminale Ileum und die Ileozäkalregion betroffen [9, 15, 91]. Es wird immer mehr da-

von ausgegangen, dass auch in klinisch symptomfreien Episoden durch eine subklinische Entzündung der Darmwand, eine Progredienz hin zu crohntypischen Komplikationen wie Stenosen, Fisteln oder Abszessen vonstattengeht [64].

Die Ätiologie des Morbus Crohn ist bis heute nicht vollständig geklärt. Es sind multiple genetische Dispositionen dokumentiert, die eine gesteigerte Vulnerabilität im Rahmen einer autoimmunen Genese nahelegen. Starke Assoziationen haben sich für Mutationen in den Risiko - Allelen NOD2, IBD5, IL23 gezeigt [42, 96]. Auch Gen-Gen-Interaktionen werden vermutet, diese bedürfen jedoch weiterer Abklärungen [63].

Als Trigger des Erkrankungsausbruchs werden sowohl Infektionen, wie auch Umwelteinflüsse, so z.B. der Konsum von Fisch und das Halten von Vieh als protektives, urbanes Leben und eine strikt vegetarische oder faserarme Diät als risikobehaftete Einflussfaktoren diskutiert [36, 68, 98]. Gesicherte externe Stimulantien sind das Rauchen oder auch iatrogen induziert die Appendektomie [36, 46]. Für die Beantwortung der Frage: „Zivilisationskrankheit - ja oder nein?“ bedarf es jedoch weiterer Ursachenforschung. Eine multifaktorielle Genese mit konsekutiver Dysregulation des Immunsystems scheint jedoch naheliegend.

### **1.3 Verfahren zur Diagnosestellung und Verlaufskontrolle**

Bezüglich der Diagnosestellung des M. Crohn konnte sich noch kein einzelnes diagnostisches Verfahren als unangefochtener Goldstandard durchsetzen [58]. Dementsprechend umfasst das Procedere bis zur Diagnosestellung eine Kombination aus Anamnese, klinischer Untersuchung, laborchemischen und mikrobiologischen Untersuchungen sowie Befunden aus den bildgebenden Verfahren der Sonographie, Endoskopie mit Histologie und der Dünndarmdarstellung per CT oder MRT. So konnten computertomographische Untersuchungen einen Zusammenhang zwischen radiologisch nachweisbaren Darmwandveränderungen und histologisch gesicherten entzündlichen Infiltraten der korrespondierenden Darmabschnitte zeigen; hinreichende Ergebnisse wurden auch für die Magnetresonanztomographie und die Sonographie nachgewiesen [5, 10, 16]. Gegenwärtig ist die konventionelle Endoskopie aufgrund ihrer nicht vorhandenen Strahlenbelastung, ihrer hohen diagnostischen Präzision und zuverlässigen Anwendbarkeit, das terminale Ileum ist in rund

95% darstellbar, für die Diagnosestellung und Sicherung von Rekurrenzen als Goldstandard zu erachten [1]. Jedoch imponiert sie auch mit gravierenden Nachteilen angesichts der Nichtbeurteilbarkeit extraluminaler Krankheitsprozesse und ihrer Invasivität, die die Gefahr schwerer Komplikationen, wie Blutungen oder Darmwandperforationen, birgt. Zudem wird die endoskopische Untersuchung vom Patienten aufgrund der präinterventionellen Vorbereitung schlecht toleriert und ist nur unzulänglich wiederholbar, was gerade beim Follow-up von Crohn-Patienten einen enorm wichtigen tertiärpräventiven Aspekt darstellt [1, 77]. Weitere Problematik gegenwärtiger Diagnostik: häufig differieren die klinischen Scores von den Ergebnissen der bildgebenden Verfahren. Am meisten verwendet ist der Crohn disease activity index (CDAI), der bereits Anfang der 70er Jahre entwickelt wurde und anhand patientengeführter Tagebücher erhoben wird. Dies bringt eine äußerst subjektive Einschätzung mit sich, die zudem oft noch retrospektiv erhoben werden muss [79]. Alternativ existiert der Harry-Bradshaw-Index (HBI), aber auch dieser korreliert nur unzureichend mit endoskopisch-histologischen Befunden und den bildgebenden Verfahren [18, 72].

#### **1.4 Die Rolle der Sonographie**

Demgegenüber bietet die Sonographie viele Vorteile sowohl medizinischer, als auch ökonomischer Art. Medizinisch imponiert sie aufgrund der fehlenden Strahlenbelastung und Invasivität, was sonst nur noch der Magnetresonanztomographie gemein ist. Zudem finden sich im Rahmen diagnostischer Anwendung praktisch keine Nebenwirkungen, was bei guter bis sehr guter diagnostischer Präzision eine einschränkungslose Wiederholbarkeit garantiert. Ökonomisch überzeugt sie dank verifizierter niedrigerer Kosten, einfacher Anwendbarkeit und ihrer Mobilität bis hin zu tragbaren Geräten [29, 61, 87]. Grundsätzlich bieten sich diese Charakteristika hervorragend für das Follow-up oder auch das Therapie-Monitoring bei Crohn-Patienten an, wofür die optimale präsymptomatische Versorgung wiederholte Bildgebung beim asymptomatischen Patienten nötig ist.

In der Vergangenheit hat sich der Darmwandultraschall als sensitive Methode zur Darstellung der Entzündungslokalisation, Befallsmuster, Darmwanddicke und

Länge der verdickten Dünn- und Dickdarmabschnitte sowie extramuraler Komplikationen wie Abszessen, Fisteln und Stenosen bewährt [23, 53, 83]. Einen hohen Stellenwert hat die Darmwandsonographie dadurch in der Primärdiagnostik und insbesondere zur Überwachung des Krankheitsverlaufs, dem so genannten „Follow-up“, gewonnen [13, 22, 44, 71, 78].

Einige Studien, so z.B. Fraquelli et al. und insbesondere Migaleddu et al. konnten schon 2009 zur Unterscheidung eines aktiven vs. inaktiven Crohn, bei einem Cut-off der Darmwanddicke von  $>3,5\text{mm}$ , eine Sensitivität des Ultraschalls von bis zu 95% und eine Spezifität von 100% postulieren [22, 56]. Derartige Ergebnisse wurden anfangs noch kontrovers diskutiert [52, 80]. Inzwischen kann der Zusammenhang von Darmwanddicke und Krankheitsaktivität als gesichert angesehen werden. Auch Aussagen über ein erneutes Auftreten bzw. das gesteigerte Risiko einer bevorstehenden, notwendigen operativen Intervention anhand der Darmwanddicken konnten geleistet werden [73]. Als weitere Kriterien einer aktiven Erkrankung gelten: „fehlende Darmperistaltik, vergrößerte Lymphknoten, intraperitoneale Flüssigkeit und fettige, mesenteriale Infiltrationen“ [23, 54].

Ein routinemäßig durchgeführter Ultraschall des Abdomens ermöglicht es somit, frühzeitig intra- und extraintestinale, pathologische Befunde mit Therapieindikation beim noch asymptomatischen Patienten zu diagnostizieren und kann folglich als Screeningtool für Patienten mit M. Crohn empfohlen werden [12, 78].

Ein moderner, eventuell sensitiverer und reproduzierbarer, diagnostischer Ansatzpunkt ist die Darstellung der krankhaft veränderten Durchblutung des entzündeten Darmwandabschnitts. Schon Ende der 60er Jahre konnte histologisch gezeigt werden, dass chronisch entzündliche Darmerkrankungen mit Neovaskularisation, ergo einer entzündlich bedingten Veränderung der Perfusion der Darmwand einhergehen [6, 51]. Diese Tatsache konnte man sich im Zuge der technischen Weiterentwicklung zunutze machen. 2004 zeigte die retrospektive Auswertung von Daten der Arbeitsgruppe um Kratzer et al. eine powerdopplersonographisch nachweisbare, vermehrte Darmwandvaskularisation des terminalen Ileums und eine Korrelation mit der histologisch determinierten Entzündungsaktivität [43]. Weitere Autoren konnten diese Korrelation stützen [14, 76]. Problematik der Befundung ist jedoch die stark subjektive Einschätzung des Untersuchers in der qualitativen Beurteilung der Darmwanddurchblutung [88]. Mittels semiquantitativer Scores, z.B. dem Limberg-Score,

wurde versucht dieser Limitierung Abhilfe zu leisten, die subjektive Komponente gerade bei Grenzfällen zwischen den Kategorien bleibt jedoch bestehen [88].

Auch für intraperitoneal gelegene entzündliche Massen, insbesondere der Größe < 2cm, stellt der Ultraschall sogar der Computertomografie eine mindestens äquivalente Methode dar. Überdies ist die Unterscheidung von Abszessen gegenüber Phlegmonen anhand des Vaskularisationsmusters möglich [19, 22].

Eine Limitierung der dynamischen Abbildung der Darmwandperfusion per Doppler-Sonographie ist jedoch die begrenzte Visualisierung langsamer Blutflüsse, die gerade bei der crohntypischen Neoproliferation kleinster Gefäße wegweisend sein kann [7, 17, 103].

#### **1.4.1 CEUS – eine kleine sonographische Revolution**

Mit Einführung des kontrastmittelverstärkten Ultraschalls, englisch „contrast enhanced ultrasound kurz CEUS, nach der Jahrtausendwende konnte eine gesteigerte Darstellung der Darmwanddurchblutung gegenüber Dopplerverfahren gezeigt und eine verbesserte diagnostische Accuracy postuliert werden [13, 76]. Im Zuge der weiteren Entwicklung, u.a. mit der Möglichkeit der Verwendung von Hochfrequenz-Schallköpfen, wurde auch die CEUS-Darstellung unter zusätzlicher Anwendung höherer Kontrastmittel-Boli immer differenzierter [85]. Die KM-Perfusion der einzelnen Darmwandschichten und das weitere Ausbreitungsmuster (inward-outward) konnten dargestellt werden, was eine semiquantitative Beurteilung der Darmwanddurchblutung mit gesteigerter diagnostischer Accuracy und ein weiteres Unterscheidungskriterium einer aktiven gegenüber einer inaktiven Crohn-Erkrankung ermöglicht [57, 88].

Auch die Reproduzierbarkeit der Befunde wurde z.B. durch die E/W-Ratio, welche die Kontrastaufhellung in der Darmwand ins Verhältnis zum Wanddiameter setzt, gesteigert und objektivierbarer gemacht [17, 88]. Ein weiterer Vorteil der Darstellung der Darmwandgefäße mittels CEUS ist es, ein weiteres Kriterium in der Unterscheidung entzündlicher gegenüber post-entzündlicher, fibrotischer Wandverdickungen zu haben [75]. Diese Unterscheidung hat direkte therapeutische Konsequenz. So kann bei entzündlich-stenosierte Darmabschnitten eine konservativ-medikamentöse Behandlung zielführend sein, bei fibrotisch-vernarbten Stenosen hingegen

bleibt oftmals nur der operative Eingriff mit Resektion des betroffenen Dünndarmabschnitts [44].

Nach einer Implementierungsphase in den 2000er-Jahren werden aktuell „second generation microbubbles“ mit einem Diameter von 1-10 $\mu$ m in den Blutkreislauf injiziert [4, 32, 34, 37]. Aufgrund ihrer Größe können sie das gesamte Kapillarbett des Körpers durchfluten und sind entsprechend ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften bereits nach 10-15 Minuten über die Lunge abgeatmet bzw. deren Lipidhülle über die Leber metabolisiert. Durchgesetzt hat sich weitestgehend die Substanz Sonovue (Bracco, Italien), bestehend aus einer Phospholipid-Hülle gefüllt mit Sulfurhexafluorid [8]. Sie überzeugt mit außergewöhnlicher Stabilität und überragendem Sicherheitsprofil [21]. Reaktionen auf das Kontrastmittel, wie Hypotension oder anaphylaktische Reaktionen sind mit < 0,01% sehr selten [66, 93]. Einzige absolute Kontraindikation stellt die schwere Kardiomyopathie dar [28]. Entsprechend ihrer physikalischen Eigenschaften oszillieren die ultraschallstimulierten MBs und emittieren verstärkt „nicht-lineare harmonische Signale“. Dies sind Echosignale in Form von Oberton- und Untertonfrequenzen, welche einem Vielfachen/einer Fraktion der initial ausgesandten Fundamentalfrequenz entsprechen und mithilfe des „Contrast harmonic imaging“-Modus gefiltert und selektiv zur Darstellung gebracht werden können [33]. Zusätzlich kommt die „Phaseninversions“-Technik zum Einsatz bei der zwei Ultraschallimpulse invertiert, d.h. um 180° Grad phasenverschoben, und kurz hintereinander ausgesandt werden. Durch Interferenz der geraden und linearen Echosignale kommt es zur Auslöschung derselben, was eine trennscharfe Darstellung der harmonischen Signale möglich macht. Dank dieser technischen Errungenschaften gelingt eine deutlich verbesserte räumliche Auflösung und Kontrastierung der Kontrastmittelsignale gegenüber der B-Bild-Darstellung [82]. Als relative Schwachstelle des CEUS kann die leicht reduzierte räumliche Auflösung infolge des benötigten niedrigeren mechanischen Index, der ein MB-Zerplatzen verhindert, angeführt werden. Diese wird allerdings durch die wesentlich gesteigerte Echo-Kontrastierung suffizient kompensiert, sodass eine insgesamt verbesserte Darstellung der Darmwandvaskularisation gelingt [69, 105]. Weiterer Malus bleibt die Interobserver-Variabilität aufgrund der qualitativ-subjektiven Beurteilung, welche stark erfahrungs- und untersucherabhängig ist.

## 1.4.2 CEUS-Quantifizierung

Mit der CEUS-Quantifizierung fand eine Methode Einzugs, welche eine genaue Beschreibung des KM-Anflutungsmusters über die Zeit und somit Aussagen zum perfundierten Blutvolumen und Blutfluss erlaubt und zudem untersucherunabhängig und objektiv sein soll. Mit neuen Softwareprogrammen zur Quantifizierung der Vaskularisation scheint die Limitierung der Interobserver-Variabilität überwindbar. In einem manuell gewählten Abschnitt, der so genannten „Region of Interest“, kann es entsprechend der gesteigerten Vaskularisation in der Darmwand zur beschleunigten Anflutung (die Parameter Wash-in-slope,  $\beta$ -coefficient und „Time to peak“ (TTP) sind verkürzt), zur gesteigerten maximalen Echosignalintensität („Peak intensity“ (PI) ist gesteigert) und zum verlangsamten Abfluten („Area under the enhancement curve“ (AUC) ist gesteigert) kommen[35]. Dies konnte in diversen Studien bereits gezeigt werden [11, 30, 70]. Ferner erlaubt die Aufzeichnung minutenlanger Sequenzen eine spätere Reevaluation, was eine zusätzliche Steigerung der Interobserver-Reliabilität ermöglicht. Einige Autoren konnten bereits die nochmals gesteigerte diagnostische Präzision und verringerte Interobserver-Variabilität der CEUS-Quantifizierung untermauern:

Ripollés et al. erreichten für die sonographische Aktivitätsbestimmung korreliert mit dem endoskopisch ermittelten Schweregrad der Crohn-Erkrankung, bei der CEUS-qn eine diagnostische Präzision von 90%, gegenüber 79% für die Darmwandverdickung und 69% für farbdoppler-sonographische Befunde [74].

Im Vergleich mit dem klinischen CICDA-Score gelang es De Franco et al. diesen hochsignifikant in Zusammenhang mit quantitativen Parametern zu bringen. Für die „Major peak Intensity“ legten sie den Grenzwert der kontrastverstärkten Aufhellung auf 24 VI fest und erreichten für die Identifizierung einer aktiven Crohn-Erkrankung eine Sensitivität von 97% bei einer Spezifität von 93%. Idem für den  $\beta$ -Koeffizienten, wo bei Grenzwert 4.5 VI/s eine Sensitivität von 86% bei einer Spezifität von 83% resultierte [11].

Ähnlich gelang es Girlich et al. eine signifikante Korrelation klinischer Scores mit der CEUS-qn für „Peak intensity“  $>25\%$  nachzuweisen. Sie eruierten eine stark negative Korrelation von HBI und TTP (spearman correlation  $r=-0.645$ ,  $p<0.01$ ). Auch für den Anstieg des Surrogatmarkers CRP konnte eine bedeutsame Korrelation zur TTP

gezeigt werden. Für die Gruppe PI >25% schlägt die Arbeitsgruppe um Girlich C. die CEUS-Quantifizierung als bevorzugte Methode zur Aktivitätsbestimmung bei M. Crohn vor [30].

Insbesondere bei schwerem Krankheitsverlauf und im akuten Schub kommt es entzündungsbedingt zu angiogenetischen Prozessen mit Dilatation und Zunahme der Zahl der Gefäße in der betroffenen Darmwand [7, 104]. Dies führt zu diversen Veränderungen der Durchblutungssituation, was in Fällen eindeutig gesteigerter Perfusion die Detektion der Entzündung und folgend die adäquate Applikation antiinflammatorischer Medikation erlaubt. Doch nicht immer ist die Situation so unmissverständlich, da z.B. pathologische Gefäßveränderungen wie Dilatation und Verwindung von Darmwandgefäßen zu einer Steigerung der mTTI führen können, was eine Minderperfusion suggeriert. Kontrovers diskutiert bleibt folglich weiterhin auch für die CEUS-qn der Nutzen des Ultraschalls bei der Differenzierung von entzündlichen gegenüber fibrotischen Stenosierungen [62, 75, 81]. Trennschärfer hingegen ist die Situation bei eindeutig reduzierter Darmwandperfusion, welche auf eine narbig-fibrotische Stenosierung hindeutet und vielmehr eine operative Intervention in Betracht kommt.

Oben genannte Studien lassen die CEUS-qn als vielversprechende neue Methode zur Bestimmung der Krankheitsaktivität, dem Follow-up und Therapie-Monitoring bei Morbus Crohn, anmuten.

Diese komplexe, technisch ausgeklügelte Untersuchung scheint jedoch auch durch multiple Faktoren beeinflusst. So zeigten T.P.Gauthier et al., dass MI, Gain, die Menge des Kontrastbolus und Tiefe des Fokus bedeutenden Einfluss, insbesondere auf Amplituden-abhängige qn-ps haben [27]. Gauthier M. et al. propagieren, dass die ROI-Größe starken, die Repositionierung der Schallköpfe und mehrfache KM-Gaben keinen Einfluss auf die CEUS-qn haben [24, 26]. Des Weiteren warnen Lassau N. et al., dass die Läsions-Größe, unklare Grenzen, Bewegungsartefakte mit dem Verlust der Untersuchungsebene und die komplette Aufnahme des Wash-in großen Einfluss auf die CEUS-qn haben [47]. Und Piscaglia et al. empfehlen in den „EFSUMB-Guidelines on non-hepatic applications“ von 2011 die Gabe hoher Kontrastmittel-Boli und die Nutzung hochauflösender Schallköpfe, um ein optimales Ergebnis zu erzielen [67].

Nach meinem Kenntnisstand gibt es bis dato nur zwei Studien, die Ansätze zur Berechnung absoluter Werte bei der CEUS-qn bieten [40, 102]. Schon 2005 wurde eine Methode zur absoluten Quantifizierung der kardialen Perfusion beschrieben. Jirik et al. ist dies sogar am Darm mithilfe einer AIF-ROI in einem zuführenden Gefäß, zwei separaten Kontrastmittelinjektionen und der so genannten Bolus-and-Burst-Methode gelungen. Dieser intelligente Ansatz scheint vielversprechend für eine mögliche patienteninterne Referenz-Skalierung bei der CEUS-qn zu sein und liefert damit einen weiteren Ansatz zur geräteübergreifenden CEUS-qn am Darm.

Bei der Anwendung von Quantifizierungssoftwares wird zwar ein bestimmter Auswertungsalgorithmus vorgegeben; welche Sequenzen ausgewertet werden und wo und wie genau die ROIs gelegt werden sollen, bleibt allerdings dem Plazet des Untersuchers überlassen. All diese Variablen beeinflussen das Endresultat in Form quantitativer Ergebnisse enorm [24, 26, 27]. Um die breite Anwendbarkeit und multizentrische Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleisten zu können, muss die Reproduzierbarkeit an verschiedenen Geräten am Patienten gesichert sein. Hierfür bedarf es klarer Leitlinien und dezidierter Standardisierung der technischen Geräteeinstellungen [47].

### **1.4.3 Aktuelle diagnostisch-therapeutische Konzepte**

Aktuelle Therapiekonzepte streben primär eine Behandlung der entzündlichen Wandveränderung, das so genannte „mucosal healing“ an, welches ein besseres Langzeit-Outcome und niedrigere Operationsraten verspricht [84]. Weiterhin sollte es im Idealfall nicht mehr zur Notwendigkeit der Behandlung eines klinisch akuten entzündlichen Schubes kommen [2]. Nicht d'accord hiermit basieren immer noch häufig verwendete klinische Scores und Einteilungskriterien hauptsächlich auf klinischen und laborchemischen Entzündungsparametern und befähigen den behandelnden Arzt, erst im akuten Entzündungsstadium der Indikationsstellung zu einer erforderlichen Therapie, oder aber es besteht eine akute Symptomatik bei geringer mukosaler Inflammation und es wird unnötigerweise eine eventuell nebenwirkungsreiche antiinflammatorische Therapie eingeleitet [17, 58, 90].

Deshalb ist es wichtig ein verlässliches, frei wiederholbares diagnostisches Tool zu entwickeln, das die Überwachung des Entzündungsverlaufs bei Patienten mit CED garantiert.

Der Weg des sonographischen Therapie-Monitorings wurde bereits in verschiedenen Studien erfolgreich beschritten. So konnten Migaleddu et al., sowie auch Quaia et al. im Therapieverlauf eine signifikante Korrelation quantitativer Parameter der CEUS-qn mit dem CDAI nachweisen. Die TTP korrelierte negativ, „Wash in-slope“ und AUC korrelierten positiv mit der über den CDAI ermittelten Krankheitsaktivität [55, 70].

Auch in anderen Bereichen ist für die CEUS-qn bereits ein erhebliches Potential beschrieben. So konnte für die Differenzierung benigner vs. maligner Schilddrüsenknoten eine diagnostische Präzision von 83% erreicht werden [60]. Bei der Graft versus Host Disease des Darms konnte als neue diagnostische Ergänzung eine eindeutige Penetration von MBs in das Darmlumen dargestellt werden [86].

Zukünftige Therapieoptionen prophezeien CEUS nicht nur als diagnostisches Verfahren, sondern auch als therapeutische Methode. Über „targeted MBs“, die per Oberflächenproteine an endotheliale Krankheitsfoci binden, sollen Medikamente zielgenau an den Ort der Entzündungsreaktion gelangen und dort Ultraschall-getriggert durch Zerplatzen der MBs der Wirkstoff fokal freigesetzt werden. Der Hintergrund ist maximale Wirkkonzentrationen am Ort der Entzündung bei minimalen Nebenwirkungen zu erreichen [21].

#### 1.4.4 Limitierungen

Wong D. et al. hingegen konnten oben aufgeführte Ergebnisse nicht stützen. Sie fanden für die CEUS-qn keine Korrelation zu endoskopischen Aktivitätsindices. Als mögliche Erklärung ziehen sie experimentell erhobene Daten heran, die eine Minderdurchblutung mit mikrovaskulärer Ischämie propagieren und dementsprechend dem pathophysiologischen Verständnis einer entzündungsbedingten Mehrdurchblutung widersprechen [107].

Ähnlich lancieren Schirin-Sokhan et al. für die Unterscheidung entzündlicher vs. fibrotischer Stenosierung mittels CEUS-qn keine Verbesserung der diagnostischen

Power gegenüber dem konventionell, semiquantitativen Dopplerverfahren nach Limberg [81].

Auch weiterhin verbleibt die der Sonographie, speziell für hochfrequente Schallköpfe anhaftende Restriktion der physikalisch unumgänglichen Penetrationsbeschränkung. So liegt die Eindringtiefe für 6-15MHz Schallköpfe bei ca. 4cm, was besonders bei adipösen Patienten die regelrechte Darstellung aller Darmschlingen extrem erschwert. In beschriebenen Fällen müssen dann, auf Kosten der höheren räumlichen Auflösung, niedriger frequente Schallköpfe mit höherer Eindringtiefe (6-9MHz bis 8cm, 1-5MHz bis 15cm) verwendet werden [31].

## 1.5 Ziel der Studie

Angeführte Studien und die der Sonographie eigenen Charakteristika artikulieren deutlich das Potential der Sonographie und im Speziellen der CEUS-Quantifizierung gebräuchlichstes bildgebendes Verfahren in der Verlaufsbeurteilung und zum Therapie-Monitoring bei Morbus Crohn zu werden. Allerdings bedarf es aufgrund der ebenfalls genannten, nicht eindeutigen Studienlage, unzureichenden Fallzahlen und verbesserungswürdigen Korrelationskoeffizienten einer weiteren Abklärung, Herausarbeitung und technischen Optimierung der Detektions- und Differenzierungsmöglichkeiten der CEUS-qn. Dies erfolgt optimaler Weise mittels multizentrischer, randomisierter Studien. Allerdings muss hierfür die fehlerfreie, geräteübergreifende, objektivierbare Quantifizierung gewährleistet sein, was nur durch eine entsprechende Standardisierung der technischen Einstellungen, zum Ausschluss technischer Störgrößen, möglich ist. Dies wollen wir in unserer Studie simulieren.

Zum einen findet das neu auf dem Markt erschienene High-end-Ultraschallsystem Aplio 500 von Toshiba Verwendung, welches mehrere technische Innovationen offeriert, die der sonographischen Diagnostik der Darmwand bei Patienten mit Morbus Crohn möglicherweise einen neuen Zugang bieten. Hierzu zählt ein hochauflösender Linear-Ultraschallkopf bis 18 MHz sowie das neue Analyseprogramm der Gewebestruktur, Acoustic Structure Quantification kurz ASQ genannt. Zum anderen wartet das Siemens Acuson S3000 High-End-Gerät mit gesteigerter Performance und ebenfalls hochauflösendem 18MHz Schallkopf auf.

Im Gegensatz zu geräteinternen „on-line“ Softwares macht die geräteübergreifende off-line Quantifizierungssoftware VueBox® der Firma Bracco Ergebnisse unterschiedlicher US-Systeme vergleichbar. Sie ermöglicht es die erhobenen CEUS-Daten zu quantifizieren und damit zu objektivieren.

Nach unserem Wissensstand hat bis heute keine Forschungsgruppe die Ergebnisse der CEUS-qn bei M.Crohn an zwei unterschiedlichen Ultraschallsystemen untersucht.

Ziel dieser prospektiven Studie ist es folglich, im Sinne eines Methodenvergleichs, die verschiedenen zur Verfügung stehenden, teils neuen, teils bewährten sonographischen Verfahren, insbesondere zur Beurteilung der Darmwandvaskularisation (CEUS-qn, Dopplersonographie nach Limberg), aber auch der Gewebestruktur (ASQ) zu vergleichen und mit dem klinischen Krankheitsaktivitätsscore CDAI in Zusammenhang zu bringen.

Hauptaugenmerk soll hierbei auf dem Gerätevergleich zwischen dem TOSH500 und dem SIEM3000 bezüglich der CEUS-Quantifizierung liegen. Dadurch soll evaluiert werden, ob unter standardisierten Bedingungen und unter Verwendung einer Referenz-ROI im subkutanen Fettgewebe eine geräteübergreifende CEUS-Quantifizierung möglich ist? Und falls ja, welches quantitative Parameter sich am reliabelsten in der Beurteilung der Darmwanddurchblutung zeigt und ob die Korrelationskoeffizienten ausreichen, eine Empfehlung für die Verwendung der CEUS-qn in multizentrischen Studien auszusprechen.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Studiendesign, Ein- und Ausschlusskriterien

Es handelt sich um eine klinisch prospektive Pilotstudie mit Methodenvergleich von B-Bild, Dopplersonographie, ASQ<sup>®</sup> (Toshiba) und CEUS-qn in der Bestimmung der Krankheitsaktivität bei MC und deren Korrelation mit dem klinischen Aktivitätsindex CDAI. Zusätzlich soll ein Gerätevergleich für die CEUS-Quantifizierung zwischen dem Toshiba Aplio 500 und dem Siemens Acuson S3000 Ultraschallsystem stattfinden.

Die Daten für unsere prospektive Single-Center-Studie wurden am Universitätsklinikum Ulm, Albert-Einstein-Allee 23, 89081 Ulm, in der Abteilung „Zentraler Ultraschall“ der Klinik für Innere Medizin I erhoben. Die Rekrutierung der Patienten erfolgte über die „Innere Ambulanz/Crohnsprechstunde“. Hier werden Patienten zur Verlaufskontrolle bzw. bei akut aufgetretenen Beschwerden vorstellig. Im Rahmen der leitliniengerechten Betreuung werden sie anamnestisch, laborchemisch und durch bildgebende Verfahren exploriert. Entsprechende Informationen und Befunde (CRP, Leukozyten, Hämatokrit) aus der „Crohnsprechstunde“ wurden uns, nach Einwilligung des Patienten, über das klinische Befund- und Dokumentationssystem des Universitätsklinikums Ulm zur Verfügung gestellt. Alle Untersucher waren gegeneinander verblindet.

Als Einschlusskriterien unserer Studie galten ein histologisch gesicherter Morbus Crohn mit klinischem Verdacht auf einen akuten Schub und eine deutliche Darmwandverdickung von größer 5mm. Nach Aufklärung und Aushändigung der Patienteninformation sollte vom Patienten eine schriftliche Einwilligungserklärung zur Studienteilnahme unterzeichnet werden. Es mussten sowohl die klinische Krankheitsaktivität mittels CDAI, als auch laborchemische Entzündungsparameter wie CRP, Hämatokrit und Leukozyten bestimmt sein. Am selben Tag hatte die Bestimmung der Darmwandschichtung, der Darmwandvaskularisation per Dopplersonographie nach Limberg und CEUS-qn sowie der Gewebestruktur mittels ASQ, an zwei unterschiedlichen Ultraschallgeräten (Tosh500/Siem3000) zu erfolgen.

Ausschlusskriterien waren entsprechend eine Darmwandverdickung kleiner 5mm und eine unvollständige sonographische Erhebung. Zudem wurden Personen jünger 18 Jahren und Patienten mit Herzinsuffizienz, Schwangerschaft oder anderen Darmerkrankungen wie Colitis ulcerosa, Colon irritabile, Zöliakie, Divertikulose/Divertikulitis oder akuter Enteritis von der Studie ausgeschlossen.

Die Genehmigung der Studie erfolgte durch die Ethikkommission der Universität Ulm und steht im Konsens mit der Deklaration von Helsinki (1964) und deren weitere Revisionen.

## 2.2 Anamnese

Vor der Ultraschalluntersuchung erfolgte anhand eines standardisierten Fragebogens die ausführliche Befragung zur aktuellen Beschwerdesymptomatik, dem Krankheitsverlauf, anthropometrischen Merkmalen (Alter, Größe, Gewicht), Kreislaufsituation, Risikofaktoren (Rauchverhalten, familiäre Prädisposition), Voroperationen, Begleiterkrankungen und aktueller Therapie. Alle gewonnenen Daten wurden anonymisiert in den Datenerhebungsbogen eingetragen. Anhand der erfragten

*Tabelle 1: Kalkulation des Crohn Disease Activity Index (CDAI) entsprechend Best et al. (Best et al., Development of a Crohn's disease activity index, Gastroenterology, 1976, 439-444) als Score zur Quantifizierung der klinischen Entzündungsaktivität von Morbus Crohn.*

Kriterium	Erhebungs-Faktor	Gewichtungs-faktor	Score
<b>Anzahl ungeformter Stuhlgänge (n) in der letzten Woche</b>	n	x2	
<b>Bauchschmerzen in der letzten Woche</b> (0 = keine, 1 = leichte, 2 = mittel, 3 = stark)	0-3	x5	
<b>Allgemeinbefinden in der letzten Woche</b> (0 = gut, 1 = beeinträchtigt, 2 = schlecht, 3 = sehr schlecht, 4 = unerträglich)	0-4	x7	
<b>Komplikationen (jeweils 1 Punkt)</b> - Gelenkbeteiligung - Augenbeteiligung	0-6	x20	

<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hautbeteiligung (Erythema nodosum, Pyoderma gangraenosum, Aphten oral)</li> <li>- Perianaler Befall (Analfissur, Fistel, Abszess)</li> <li>- Andere Fisteln</li> <li>- Erhöhte Körpertemperatur in den letzten 7 Tagen (&gt; 37,7°C)</li> </ul>		
<b>Symptomatische Durchfallbehandlung</b> (nein = 0, ja = 1)	0-1	x30
<b>Abdominelle Resistenzen</b> (0 = nein, 1 = fraglich, 2 = sicher)	0-2	x10
<b>Abweichung des Hämatokrits um x</b> (von 47% bei Männern und 42% bei Frauen)	x	x5
<b>Abweichung vom Standardgewicht um x%</b>	x	x1

und laborchemisch erhobenen Parameter ließ sich die klinische Erkrankungsaktivität mittels CDAI (Crohn disease activity index) nach Best für jeden Patienten bestimmen. Nach der Berechnung des CDAI entsprechend Tab. 1, erfolgte die Schweregradeinteilung nach Stange et al. 2006 [91]. Demzufolge bedeutet ein CDAI <150 eine Remission. Werte zwischen 150 und 220 entsprechen einer mild aktiven Entzündung und Werte zwischen 221 und 450 einer moderaten Entzündung. CDAI-Werte > 450 sind indikativ für eine schwere Crohn-assoziierte Entzündung (Abb. 1).

<u>Entzündungsaktivität:</u>	
CDAI < 150	→ Remission
150-220	→ mild
221-450	→ moderat
> 450	→ schwer

Abbildung 1: Schweregradeinteilung der Crohn-assoziierten Entzündungsaktivität entsprechend Stange et al. (Stange et al., European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohns disease, Gut, 2006, i1-15) nach Berechnung der klinischen Entzündungsaktivität mittels CDAI-Score nach Best

## 2.3 Ultraschalluntersuchung

Die Darmwandsonographie wurde von einem sehr erfahrenen Untersucher (mehr als 50 000 abdominelle Ultraschalluntersuchungen) für jeden Patienten an zwei unterschiedlichen High-End Ultraschallgeräten, dem Toshiba Aplio 500 und dem Siemens Acuson S3000, unmittelbar aufeinanderfolgend am gleichen Tag innerhalb einer Stunde durchgeführt. Der Untersucher war gegenüber den klinischen- und laborchemischen Parametern der Morbus Crohn Erkrankung verblindet. Um den Einfluss von Kreislauffaktoren auf das splanchnische KM-Anflutungsverhalten zu minimieren, wurde die US-Untersuchung standardisiert nach einer Fastenzeit von mindestens acht Stunden, bei 23° Celsius Raumtemperatur und einer Liegezeit von mindestens 15 Minuten vor der Untersuchung durchgeführt. Bis auf den Toshiba-eigenen ASQ-Modus wurde die sonographische Untersuchung an beiden Geräten, wie im Folgenden erläutert, realisiert.

### 2.3.1 B-Bild und Dopplersonographie

Zunächst screenete man das gesamte Abdomen, insbesondere den Kolonrahmen und rechten Unterbauch einschließlich des Rektums per Konvexschallkopf (C3.5MHz am Tosh500 / 6C1MHz am Siem3000). Bei Detektion einer Wandverdickung > 5 mm, wurde die prominenteste Darmschlinge überdies mit einem hochauflösenden L12MHz(Tosh500) bzw. 18L6(Siem3000)-Schallkopf examiniert. Die exakte Darmwanddicke, Schichtung und Länge des veränderten Darmsegments wurden vermessen und die räumliche Position in einem Piktogramm dokumentiert, um bei der darauffolgenden Untersuchung am anderen Ultraschallgerät, die Evaluation der identischen Darmschlinge zu gewährleisten. Zusätzlich achtete man auf Druckschmerzhaftigkeit, extraintestinale Manifestationen und Komplikationen wie Fisteln oder Abszesse. Anschließend wurde an der Stelle der prominentesten Darmwandverdickung die intramurale Vaskularisation mithilfe der verschiedenen Dopplermodi (Farbkodiert-/Power- und ADF-Doppler) zur Darstellung gebracht (Abb. 2).

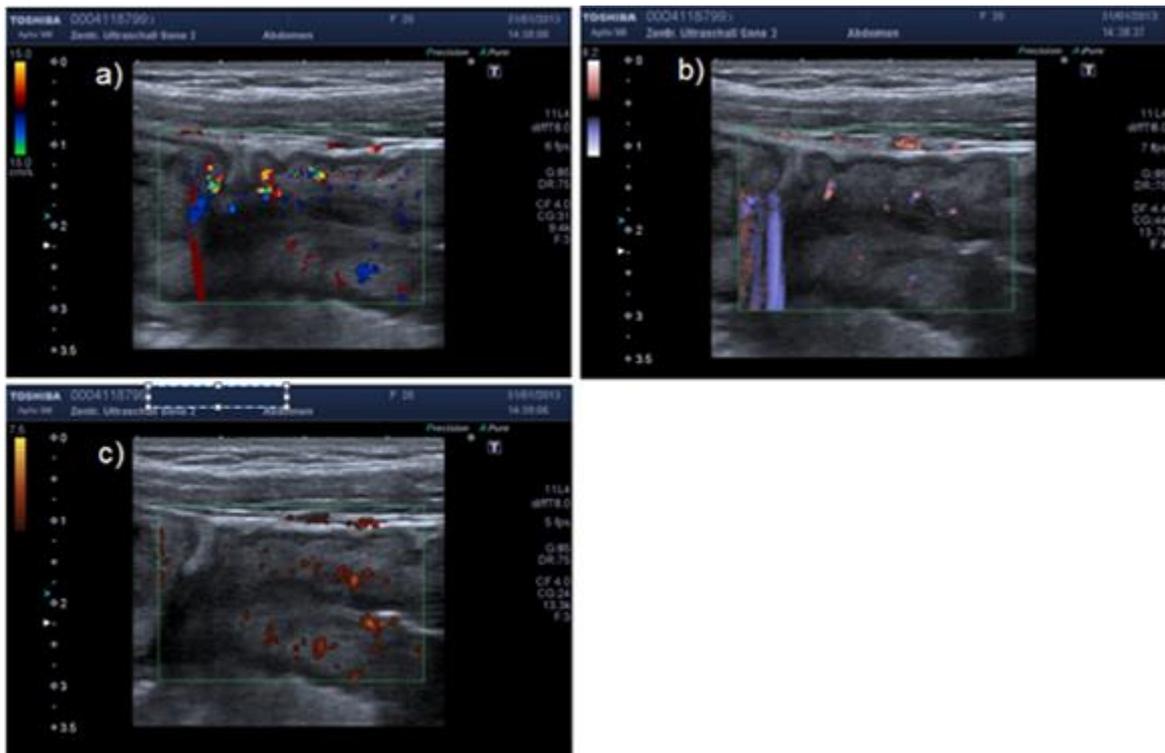


Abbildung 2: Limberg-Klassifikation mittels der verschiedenen Dopplerverfahren a) Farbkodierter Doppler, b) ADF-Doppler von Toshiba, c) Powerdoppler. Bei hier gezeigter Untersuchung wurde entsprechend Limberg Grad 2 eingeteilt. Zu sehen sind eine Darmwandverdickung auf  $> 4\text{mm}$  und verienzelte Gefäßspots, bevorzugt in der Lamina submukosa (echoreichere Schicht mit Farbspots). Langstreckige oder in das Mesenterium ausstrahlende Gefäßstrecken sind nicht zu erkennen.

Dabei betrug für das Aplio500 die Puls-Repetitions-Frequenz bei Verwendung des L7.5MHz-Schallkopfes 1000 Hz. Die Persistenz des Power-Dopplers adjustierte man auf „niedrig“, den Wandfilter auf „mittel“ und die Power-Sensitivität auf „hoch“. Am AcusonS3000 wurde der 9L4-Schallkopf verwendet und die dopplersonographische Siemens-StandardEinstellung beibehalten und entsprechend die PRF für den Farb-Doppler auf 1099 Hz und den Power-Doppler auf 977 Hz eingestellt. Für beide Geräte wurde die Power-Doppler-Verstärkung (CPA) erhöht bis der Ausschnitt ganz von Farbe überlagert war („Color-Blooming“), dann wieder reduziert, sodass, bei möglichst „hoch“ eingestellter Power-Sensitivität, Bewegungsartefakte eliminiert wurden und nur noch Blutgefäße zu sehen waren. Die Einteilung der durchblutungsassoziierten Krankheitsaktivität erfolgte entsprechend dem semiquantitativen Score nach Limberg [28]. Die Einteilung in Schweregrade wird zum einen über die Verdickung und Echogenität der Darmwand und zum anderen über die Größe und Ausdehnung des Powerdopplersignals determiniert (s. Abb. 3) [25].

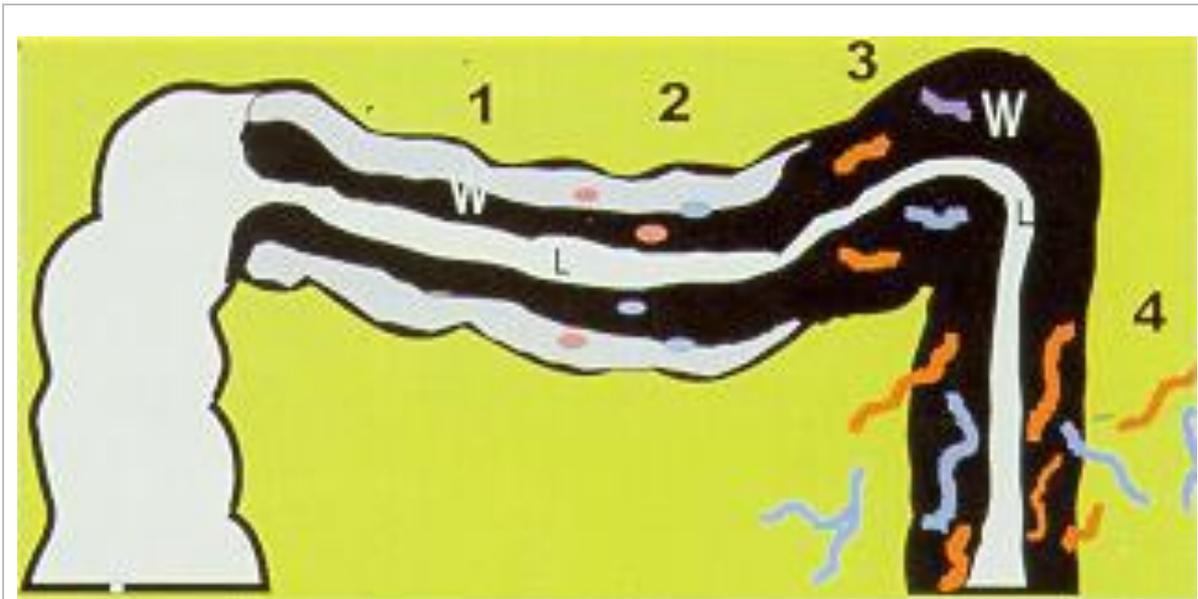


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Darmwandvaskularisation entsprechend der dopplersonographischen Klassifikation nach Limberg (Limberg B. Diagnosis of chronic inflammatory bowel disease by ultrasonography, Z Gastroenterol., 1999, 495-508). W=Darmwand, L=Darmlumen, 1-4 = Grade der dopplersonographischen Klassifikation.

Grad	0	1	2	3	4
Wanddicke	< 4mm	> 4mm			
5-Schichtung	erhalten	teilweise erhalten		Schichtung aufgehoben	
Powerdoppler-signal – Gefäße sichtbar?	Nein		vereinzelt Gefäß-Spots	langstreckig Gefäße sichtbar	langgestreckt, bis ins Mesenterium

### 2.3.2 ASQ – Allgemeines und Examinierung

Die Acoustic Structure Quantification ist eine innovative, nicht invasive Methode am Aplio 500 Ultraschallsystem der Firma Toshiba. Sie soll eine Charakterisierung und Quantifizierung struktureller Gewebsveränderungen ermöglichen. Durch ihre einfache und schnelle Anwendbarkeit ist die ASQ problemlos in eine routinemäßige Ultraschalluntersuchung zu integrieren.

Nach unseren Informationen findet die ASQ bisher lediglich Anwendung in der Gewebequantifizierung der Leber. Hierbei konnte erfolgreich eine Differenzierung von homogenem, gesundem Leberparenchym zu fettig-fibrotisch verändertem Lebergewebe im Rahmen einer Steatosis hepatis gezeigt werden [97]. Sogar eine

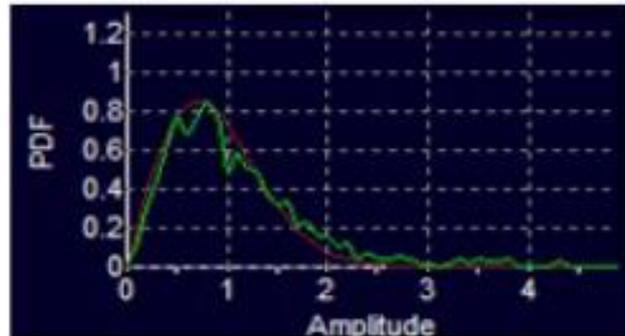


Abbildung 4: Beispielhaft aus den eigenen Erhebungen, Probability density function (PDF)= Amplitudenverteilung einer perfekt homogenen Leber (rot) und einer gesunden Leber (grün) entsprechend Rayleigh-Distribution bei einer Messung mittels Acoustic Structure Quantification.

Quantifizierung des Fibrosegrads und der Verfettung der Leber war möglich [45, 94]. Die unterschiedliche Echogenität von gesundem Parenchym und inhomogenem, fibrotisch-fettig verändertem Gewebe kann anhand der atypischen, statistischen Verteilung der Amplituden der Echosignale analysiert und quantifiziert werden. In gesundem, homogenem Leberparenchym sind die reflektierenden Strukturen in der Regel kleiner als die Wellenlänge des Ultraschallimpulses und die statistische Verteilung der Echoamplituden entspricht einer Rayleigh-Distribution (s. Abb. 4). Dies ist nicht mehr der Fall bei fibrotisch-zirrotisch verändertem Gewebe, bei dem sich der Wirkungsquerschnitt der reflektierenden Struktur vergrößert. Die Verteilung der Echoamplituden ist nicht mehr kongruent mit einer Rayleigh-Verteilung s. Abb. 5 [94, 100].

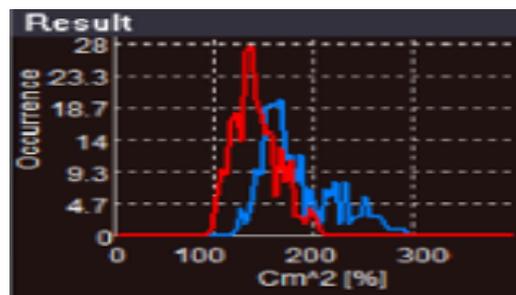


Abbildung 5: Beispielhaft aus den eigenen Erhebungen, eine Probability density function (PDF) = Amplitudenverteilung einer homogenen gesunden Leber (rot) und einer inhomogenen Leber mit Makrostrukturen (z.B. Fettvakuolen, Bindegewebsknoten) (blau) im Rahmen der Auswertung mittels Acoustic Structure Quantification.

Diese Merkmale machen auch eine Anwendung in anderen, pathologisch inhomogen veränderten Organsystemen denkbar.

Bei der ASQ Untersuchung werden C<sup>2</sup>-Werte zwischen 100 und 300 berechnet. Die C<sup>2</sup>-Werte berechnen sich nach folgender Formel [100]:

$$C^2 = \frac{\sigma^2}{\sigma_0^2} [\%]$$

Hierbei beschreibt  $\sigma$  den Wirkungsquerschnitt, d.h. die Wahrscheinlichkeit der Wechselwirkungen der eintreffenden akustischen Welle mit einem im Untersuchungsgebiet befindlichem Streukörper. „Der C<sup>2</sup>-Wert ist der Quotient aus der Varianz  $\sigma^2$  des gemessenen Gewebes und der Varianz  $\sigma_0^2$  einer perfekt homogenen Leber“ [100]. Ein C<sup>2</sup>-Wert von 100 im farbcodierten ASQ-Bildaufbau stellt sich als grünes Pixel, ein Wert von 200 als gelbes und ein Wert von 300 als dunkelrotes Pixel dar [3]. Niedrige C<sup>2</sup>-Werte werden in homogenen Gewebsabschnitten erreicht, hohe C<sup>2</sup>-Werte zeigen sich in diffus inhomogen verändertem Gewebe. Die qualitative, farbcodierte Bildgebung mit ASQ lässt eine Beurteilung der strukturellen Parenchymveränderungen in Echtzeit zu. Am Darm ermöglicht sie zudem subjektiv eine bessere Abgrenzung der Darmwandschichten gegenüber dem B-Bild-Modus. Numerische, quantitative Angaben über vier verschiedene ASQ-Parameter werden durch die retrospektive Auswertung der ASQ Rohdaten mit der Software „TusCLCQFuncio, Version 1.0.0.1.“ möglich gemacht. Errechnet werden die Parameter Mode, Average (=Mittelwert), Standard Deviation (=Standard Abweichung) und FD-Ratio (= Quotient aus AUC einer perfekten Leber mit Rayleigh-Distribution und der AUC der gemessenen Probability density function). Diese Software nutzt mit dem „Ultrasound raw data interface“, einer Erweiterung der Hardware am Toshiba Aplio 500, die volle Datenmenge aus den Echosignalen mit mehr als 100-fach höherer Auflösung als im konventionellen B-Bild bzw. dopplersonographischen Ultraschallbildern.

Nach unseren Informationen gibt es bisher keine Erkenntnisse über die Anwendbarkeit, Reproduzierbarkeit und Aussagekraft von ASQ-Untersuchungen am pathologisch veränderten Darm des Menschen und den daraus resultierenden quantitativen Parametern bei Patienten mit der chronisch entzündlichen Darmerkrankung Morbus Crohn. Nebst unserer Haupthypothese bzgl. CEUS-qn ist es Ziel unserer

Forschungsarbeit, in enger Zusammenarbeit mit Softwareentwicklern und Applikationsspezialisten der Firma Toshiba, das diagnostische Potential der ASQ-Methode am Darm und im Speziellen bei Patienten mit Morbus Crohn zu eruieren.

Wir möchten mit dieser Forschungsarbeit zunächst überprüfen, ob ASQ auch auf andere Organsysteme, in diesem Fall den Darm, übertragbar ist und wenn ja einen geeigneten Algorithmus für den Ablauf der ASQ Untersuchung bei M. Crohn erstellen. Des Weiteren beschreiben wir unser Vorgehen bei der Auswertung gewonnener Daten, einerseits mit Blick auf die parametrisch qualitative ASQ-Darstellung in Echtzeit und andererseits mit Blick auf die entsprechenden quantitativen Parameter aus der retrospektiven Auswertung. Schlussendlich sollen die erarbeiteten Ergebnisse eine erste valide Einschätzung über die Aussagekraft der ASQ Methode bei Patienten mit Morbus Crohn ermöglichen. Für die Untersuchung am Tosh500 im ASQ-Modus wurde auf einen 7.5MHz Linearschallkopf gewechselt und der ASQ-Modus durch Aktivierung der entsprechenden Schaltfläche „ASQ“ am Ultraschallgerät gestartet. Bisher existieren keine Leitlinien oder Empfehlungen zur Durchführung von ASQ- Untersuchungen am Darm. Unsere Strategie bei der Erhebung der ASQ Datensätze wurde in Kooperation mit Applikationsspezialisten der Firma Toshiba entwickelt und steht im Konsens mit den Empfehlungen aus unveröffentlichten Papern von Entwicklern der ASQ Methode [100].

Die Durchführung der ASQ-Untersuchung lief nach folgendem Schema ab. Die Referenzläsion wurde im Längs- und Querschnitt erfasst. Zur schnellen Bildjustierung wurde der „Quickscan“ hinzu geschaltet und der Bildfokus individuell angepasst. Pro Patient wurden mehrere ASQ-Bilder und retrospektiv aufgenommene ASQ-Videosequenzen erstellt und mit der Schaltfläche „Raw Data Store“ in Form von Rohdaten abgespeichert. Die Aufnahmen wurden unter Stillhalten der Schallsonde generiert, während der Patient angewiesen war, jegliche Körper- und Atembewegungen für den Zeitraum der Videoaufnahmen auszusetzen.

Eine qualitative Beurteilung mit deutlicher Abgrenzbarkeit der Darmwandschichten war anhand der farbkodierten parametrischen Darstellung in Echtzeit möglich. Die Referenzläsion wurde im ASQ Bild erneut vermessen, um festzustellen, ob sich die Abmessungen im ASQ Modus von den Messungen im B-Bild unterscheiden.

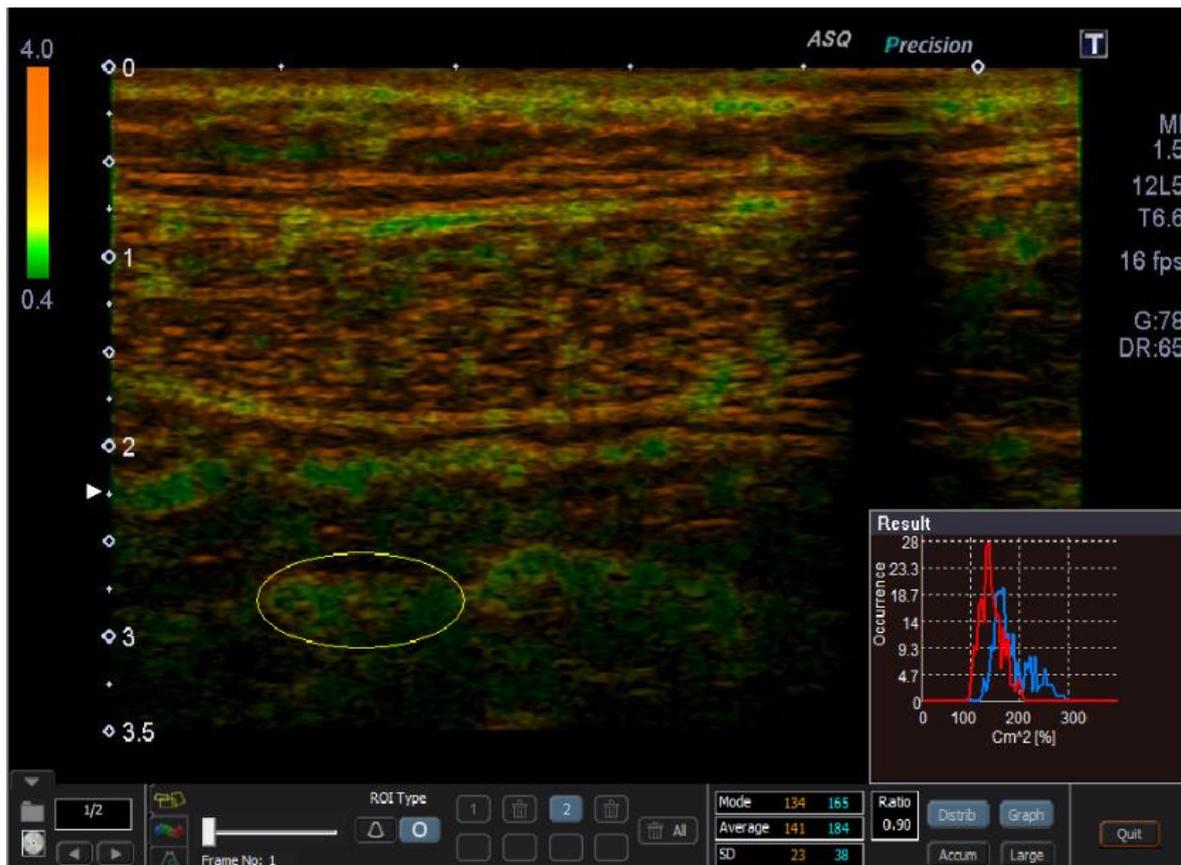


Abbildung 6: Auswertungs-Screen der „Acoustic structure quantification“ von Toshiba. In den Bereich der dorsalen Darmwand, eingerahmt v.a. die grün-gelblich erscheinende Lamina submucosa, wurde eine gelbe, ellipsoide Region of interest (ROI = Quantifizierungsbereich) gelegt. Es werden die Parameter Mode, Average, SD und Ratio kalkuliert (s. rechts unten im Bild).

Die quantitative ASQ-Auswertung der abgespeicherten Rohdaten erfolgte nach Abschluss der Untersuchung retrospektiv an einem externen Arbeitscomputer. Die Auswertungssoftware „TusCLCQFunctio, Version 1.0.0.1“ macht numerische Angaben über vier verschiedene Parameter: Mode (M), Average (A), Standard Deviation (SD) und Focal Disturbance-Ratio (FD-ratio) s. Abb. 6. Aus der Vielzahl der Videos wurde ein geeignetes ausgewählt und in diesem ROIs (Regions of interest) folgendermaßen gesetzt:

In longitudinaler Schnitfführung wurde sowohl in die ventrale, wie auch die dorsal gelegene Darmwand jeweils eine ROI manuell gelegt, um zum einen den Einfluss der Lage zum Fokus zu eruieren und zum andern die Reproduzierbarkeit der Untersuchung am Darm zu prüfen. Zwischen den quantifizierten Bildern mussten mindestens fünf Bildsequenzen liegen, um die Analyse gleicher Bildinformation auszuschließen. Die Lokalisation der ROIs blieb unverändert, sodass ein verschiebungs-

bedingter Bias eliminiert werden konnte. Somit ergaben sich pro verdickte Darmwand, entsprechend der vier unterschiedlichen quantitativen Parameter FD, M, A, SD für jede ROI, insgesamt 36 Werte pro Patient. Diese wurden in eine Excel-Tabelle übertragen und statistisch ausgewertet.

## 2.4 CEUS – kontrastmittelverstärkter Ultraschall

Zum Abschluss der sonographischen Befundung wurde mithilfe des CEUS im Contrast Harmonic Imaging Modus die Durchblutung der Darmwand evaluiert. Zur differenzierteren Darstellung der intramuralen Perfusion, wurde als Kontrastmittel das etablierte Sulfurhexaflorid (Sonovue®, Bracco, Italien) verwendet und in Form eines 4.8 ml Bolus über zwei Sekunden Injektionszeit, gefolgt von 10 ml NaCl 0.9%, über eine 18 - 20 Gauge Kanüle in eine periphere Vene injiziert. Bezüglich des Kontrastmittels SonoVue® sind keine Kontraindikationen für andere Medikamente beschrieben. Alle Medikamente, die die Studienpersonen am Tag der Untersuchungen oder während der letzten 24 Stunden vor Untersuchung eingenommen hatten, mussten dokumentiert werden. Sollte der Patient während der Untersuchung mit SonoVue® im Rahmen von Notfallmaßnahmen ein anderes Medikament intravenös verabreicht bekommen, so war dies über einen getrennten periphervenösen Zugang zu applizieren. Für die Kontrastmittelgabe kontraindizierte Erkrankungen (Herzinsuffizienz) und Schwangerschaften blieben von unserer Studie ausgeschlossen. Folgende technische Einstellungen waren für alle CEUS-Untersuchungen standardisiert (s. auch Abb. 7): niedriger „Mechanischen Index“ von 0.1, Focus unterhalb der Läsion und 3-minütige Clip-Aufnahme bei einer Bildrate zwischen 10-13fp. Der Gain wurde ähnlich dem „Color-Blooming“ bei der Dopplersonographie, zunächst hochgedreht und dann auf die maximale Gesamtverstärkung bei der im KM-Bild nur Mukosa und Serosa echoreich, Submukosa und Muscularis echofrei erscheinen,

### **Standardisierte geräteübergreifende technische Einstellungen für alle CEUS-Untersuchungen:**

- **Mechanischer Index: 0.1**
- **Sonovue: 4.8ml**
- **Focus: unterhalb Läsion**
- **Clip-Aufzeichnung: 3min**
- **Bilder pro Sekunde: 10-13**

*Abbildung 7: Standardisierung der technischen Einstellungen bezüglich des kontrastmittelverstärkten Ultraschalls für beide Ultraschallgeräte (Toshiba Aplio500 und Siemens AcusonS3000).*

heruntergedreht. Post-examinatorisch konnte der Gain mithilfe der VueBox-Software auf standardisierte 70dB am Tosh500 bzw. 0dB am Siem3000 nachjustiert werden, sodass kein Gain-bedingter Bias zu erwarten ist. Weiterhin galten, nach Rücksprache mit den jeweiligen Applikationsspezialisten, Ultraschallgeräte-spezifische Settings.

So die Verwendung eines 11L4MHz Schallkopfes am Tosh500, mit Adjustierung der Dynamic Range auf 65-75dB und Color map 7, und der eines 9L4 am Siem3000 mit Einstellung der DR auf 80dB und Color map C. Am Tosh500 wurde der „Contrast Harmonic Imaging (CHI)-Modus“ gewählt, „Persistence“ und „Range“ wurden ausgeschaltet. Am Siem3000 fand der Siemens-spezifische Kontrastmodus „Cadence“ in seiner Standardeinstellung Verwendung. Fünf Sekunden nach Injektion des KM´s forderte man den Patienten auf, eine Atempause von 20-40 Sekunden einzuhalten, um die enorm wichtige Wash-in-Phase komplett aufzeichnen zu können. Solange KM-spezifische, nicht-lineare Echosignale zu sehen waren, wurden Clips über eine Dauer von mindestens 180 Sekunden aufgenommen (s. Abbildung 8) und daraufhin automatisch über den Klinikserver auf einen externen Arbeitscomputer exportiert, wo ein sachkundiger Doktorand die DICOM-Clips mit der Quantifizierungssoftware Vuebox® von Bracco (Italy) editierte und evaluierte.

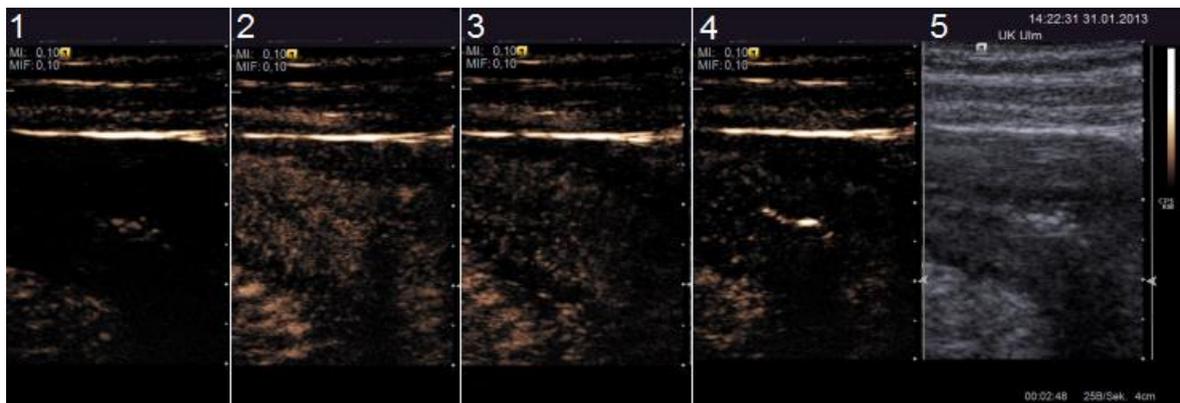


Abbildung 8: CEUS-Untersuchung eines wandverdickten terminalen Ileums: 1: Bildsequenz im Cadence-Modus vor Beginn der Kontrastmittelanflutung; 2: Phase der maximalen Kontrastmittelanreicherung; 3: Abflutungsphase; 4: Ende der Videoaufnahme 180 Sekunden nach Kontrastmittelinjektion; 5: Dual view – Modus mit gleichzeitiger Anzeige des terminalen Ileums in B-Bild-Darstellung.

## 2.5 CEUS-Quantifizierung

Die DICOM-clips wurden mittels der VueBox®-Versionen 4.2 und 4.3 linearisiert und quantifiziert. Version 4.3 ist laut Produktenwicklern der Firma Bracco lediglich eine Erweiterung zur Version 4.2 und bezüglich des Auswertungsalgorithmus und der Berechnung der qn-ps absolut identisch. Ein versionsbedingter Bias kann dementsprechend ausgeschlossen werden. Zunächst musste eine dem Ultraschallsystem und verwendeten Schallkopf entsprechende „calibration file“ angewählt werden. Daraufhin wurde der DICOM-clip editiert. Sequenzen mit Bewegungsartefakten aufgrund von Atembewegungen oder durchgehenden peristaltischen Wellen wurden herausgeschnitten und ein möglichst stabiler Darmabschnitt zur Positionierung der ROI ausgewählt. Ebenso wurden Abschnitte mit temporär auftretenden, harten Luftreflexen aus dem Darmlumen, die das Echosignal artifiziell exorbitant in die Höhe getrieben hätten, eliminiert. Danach zog man die so genannte „Delimitation ROI“. Sie dient der Begrenzung des Verarbeitungsbereichs und soll bias-behaftete, nicht echographische Bildanteile wie z.B. Text oder Nummerierungen ausschließen. Die weiteren ROIs wurden manuell entlang der Randbereiche der entzündeten Darmschlingen gelegt. ROI 2 wurde über die komplette, ROI 3 und 4 in die „hotspots“ (kleinere Bereiche maximaler Kontrastmittelanreicherung, aber keine zuführenden Gefäße) der ventralen und dorsalen Darmwand gelegt. Zusätzlich platzierte man eine Referenz-ROI (ROI 1) im subkutanen Fettgewebe, um artifizielle Echosignalintensitätssteigerungen während der Aufnahme zu erkennen und eine „baseline-ROI“ ohne Kontrastmittelanreicherung als Bezugs-ROI für die quantitative Auswertung zu haben. Die automatische „contrast arrival detection“ des Kontrastmittels wurde berücksichtigt, jedoch bei Abweichungen zum realen Kontrastmittelbedingten Echosignalintensitätsanstieg, manuell adaptiert. Zu Visualisierungszwecken generiert die VueBox „perfusion maps“, um einen schnellen Gesamteindruck von der Durchblutungssituation in der untersuchten Darmschlinge zu erhalten und eventuell nicht erkannte Hot-spots in die Berechnung miteinbeziehen zu können. Daraufhin wurde die Darmdurchblutung entsprechend dem Perfusionsmodell einer „Bolos-Kinetik“ für jede ROI anhand folgender 11 qn-ps der „Zeitintensitätskurve“ (TIC) quantifiziert (Tbl. 2): Den Parametern Rise Time (RT in [s]), Time to Peak (TTP in [s]) und Fall time (FT in [s]), welche die zeitliche Dimension der KM-Anflutung bzw. Abflutung und somit den Blutfluss erfassen. Den Intensitätsparametern, Peak Enhancement

(PE in [a.u.]), Area under the Curve (AUC in [a.u.], Area Under the Curve during wash-in (WiAUC[a.u.]), welche die maximale, initiale und gesamte Echointensität des durchgeströmten KMs und somit das Blutvolumen erfassen. Den kombinierten Parametern Wash-in Rate (maximaler Anstieg in der Anflutungsphase in [a.u.]), Wash-in Perfusion Index (WiPI =  $WiAUC/RT$  in [a.u.]), die den KM-Fluss pro Zeit bemessen. Zusätzlich drückt der "Quality of fit" (QOF in [%]), die Passgenauigkeit der gewählten ROI aus. Die Area (in  $cm^2$ ) gibt die Fläche der gewählten ROI an.

Tabelle 2: Quantitative Parameter der CEUS-Quantifizierungssoftware VueBox 4.2/.3 und ihre Bedeutung. TIC = „Time intensity curve“, KM = Kontrastmittel, [cm<sup>2</sup>] = Quadratzentimeter.

	<b>Quantitative Parameter</b>	<b>Bedeutung</b>
<b>Amplituden- abhängige Parameter in arbitrary units [a.u.]</b>	peak enhancement = <b>PE</b>	Maximaler KM-Signalintensitätsanstieg
	Wash-in = <b>Wi</b> Wash-out = <b>Wo</b> Wash-inWash-out= <b>WiWo</b> Area under the curve = <b>AUC</b>	In der Wi-, Wo-, WiWo-Phase durchflutete KM-Menge
	Wash-in = <b>Wi</b> Wash-out = <b>Wo</b> Rate = <b>R</b>	In der Wi- (aszendierend), Wo- (deszendierend), Phase vorhandene Steigung der TIC
<b>Zeitliche Parameter in Sekunden [s]</b>	Rise Time = <b>RT</b>	Zeitintervall zwischen Beginn der Anflutung und Erreichen des KM-Peaks
	Mean Transit Time = <b>mTTI</b>	Mittlere Zeitdauer der kompletten KM-Durchflutung
	Fall Time = <b>FT</b>	Dauer der KM-Abflutung
<b>Kombinierte Parameter in [a.u.]</b>	Wash-in Perfusion-Index = <b>WiPI</b> (= $WiAUC/RT$ )	Zeigt an wie schnell, wie viel Kontrastmittel anflutet
<b>ROI-bezogene Parameter</b>	<b>Area</b> in [cm <sup>2</sup> ]	ROI-Größe
	Quality of fit = <b>QOF</b> in [%]	Passungsqualität zwischen gemessenem Echo-Signal und der interpolierten TIC

Laut Produktentwicklern der Firma Bracco ist nach firmeninternen Studien bei der VueBox 4.2/4.3 von einem Messfehlerbereich von 15% bei der CEUS-qn auszugehen. Die Resultate der drei ROIs (1, 2, 4) wurden für jedes qn-p gemittelt, um die CEUS-qn unabhängiger von der Lage und der Größe der ROI in der Darmwand zu machen. Die qn-ps wurden anschließend in Absolutzahlen und Relativwerten, in Bezug zur Referenz-ROI, ausgedrückt. Abschließend verglich man die CEUS-qn und CU-Ergebnisse beider Geräte.

Für die Quantifizierungsmessungen unserer Studie verwendeten wir DICOM-Clips anstelle von Rohdaten. Obwohl dies mit einer Reduktion der Datenqualität einhergeht, haben wir uns dafür entschieden, da hiermit ein Datenformat gewählt wurde, welches normalerweise auf allen Ultraschallplattformen Verwendung findet [95].

## 2.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mittels der Statistik-Software SAS 9.2 (SAS Institute, Cary, NC, USA) durchgeführt. Die Daten wurden zunächst deskriptiv ausgewertet. Kategorielle Variablen wurden mit absoluten und relativen Häufigkeiten dargestellt. Für stetige Variablen wurden Mittelwerte, Standardabweichungen, Median, Minimum und Maximum ermittelt. Zur Untersuchung der Übereinstimmung der Limberg-Klassifikation mit den Ergebnissen des Farb- und Powerdopplers wurde der Kappa-Koeffizient ermittelt und der Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Die Korrelation der CEUS-Parameter zwischen den beiden Geräten wurde mit der Rangkorrelation nach Spearman berechnet. Des Weiteren wurde der CDAI-Score auf einen Zusammenhang mit den CEUS-Parametern geprüft. Alle Tests wurden zweiseitig durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf  $\alpha = 5\%$  festgesetzt.

### 3. Ergebnisse

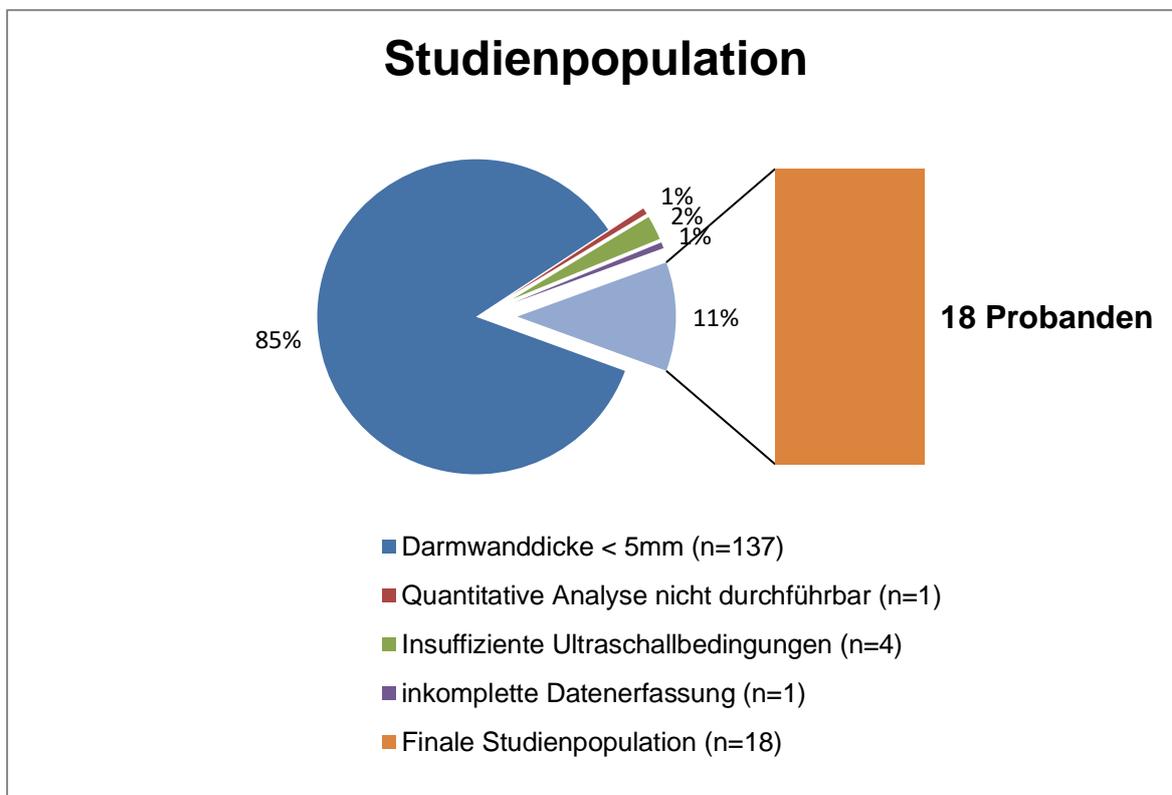


Abbildung 9: Studienpopulation (n = 161) und die nach Anwendung der Ausschlusskriterien (Darmwanddicke < 5mm, quantitative Analyse nicht durchführbar, insuffiziente Ultraschallbedingungen, inkomplette Datenerhebung) resultierende finale Studiengruppe (n = 18 Probanden). Probandenrekrutierung von 11/2012-02/2013 am Universitätsklinikum Ulm.

Insgesamt 161 Crohn-Patienten wurden im Studienzeitraum vom 06.11.12 - 07.02.2013 in der Crohnambulanz vorstellig. Davon erfüllten 24 (36,8% Frauen, 63,2% Männer; Durchschnittsalter  $\pm$  SD, 43,7  $\pm$  14,1 Jahre) die oben genannten Einschlusskriterien. In der vorläufigen Studiengruppe (n= 24) schieden weitere sechs Patienten infolge schlechter Ultraschallbedingungen (n = 4, 16,6 %), inkompletter Datenerfassung (n = 1, 4,2%) und nicht anwendbarer quantitativer-Analyse (n = 1, 4,2 %) aus (s. Abb. 9). Die resultierende finale Studiengruppe von 18 Patienten wurde dem Studienprotokoll zugeführt (Tab.3).

Tabelle 3: Charakteristika der finalen Studienpopulation, die im Zeitraum von 11/2012-02/2013 am Universitätsklinikum Ulm rekrutiert wurde.

### Patientencharakteristika (n=18)

<b>Geschlecht:</b>	36,8% w, 63,2% m
<b>Mittleres Alter:</b>	43,7 ± 14,1 Jahre
<b>Mittlerer BMI:</b>	22,1 ± 2,7 kg/m <sup>2</sup>
<b>Mittlerer CDAI:</b>	132,0 ± 73.2
<b>Mittlere Krankheitsdauer:</b>	12,8 ± 11.5 Jahre
<b>Betroffene Segmente:</b>	Terminales Ileum n = 10 Colon transversum n = 3 Colon descendens n = 2 Colon sigmoideum n = 3

Der durchschnittliche Body Mass Index betrug 22,1 kg/m<sup>2</sup> (± 2,7 kg/m<sup>2</sup>), der durchschnittliche CDAI-Wert lag bei 132,0 (± 73.2) (Tab. 3). Im Falle einer Ileocecalresektion wurde das neoterminal Ileum/Anastomose als gleichwertig mit dem terminalen Ileum der nichtoperierten Patienten angesehen.

Die Ultraschallerhebung inklusive CEUS konnte bei allen Patienten erfolgreich durchgeführt werden. Nach Kontrastmittelgabe zeigten sich bei keinem der untersuchten Studienteilnehmer Anzeichen für kontrastmittelbedingte Nebenwirkungen. In unserer Studienpopulation betrug die durchschnittliche Erkrankungsdauer 12,8 Jahre (Range 1,6 – 39,3 Jahre) (Abb.10).

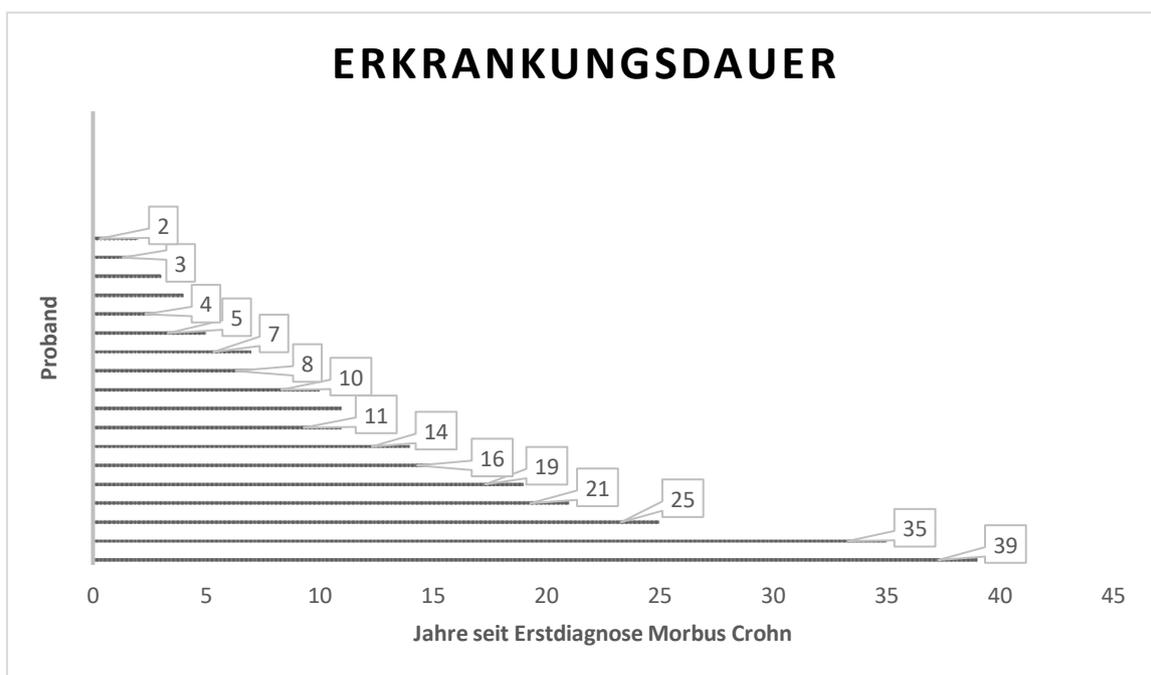


Abbildung 10: Zeitraum seit Erstdiagnose der Morbus Crohn-Erkrankung bei den in die Studie eingeschlossenen Probanden (n=18); Probandenrekrutierung zwischen 06.11.12 - 07.02.2013 über die Ambulanz chronisch entzündlicher Darmerkrankungen am Universitätsklinikum Ulm.

Zum Zeitpunkt der Studienteilnahme waren 8 Patienten voroperiert. Sie hatten sich insgesamt 12 Operationen unterziehen müssen, davon 10 Resektionen des terminalen/neoterminalen Ileums, eine Hemikolektomie rechts und eine Spaltung eines Analabszesses (s. Abb. 11).

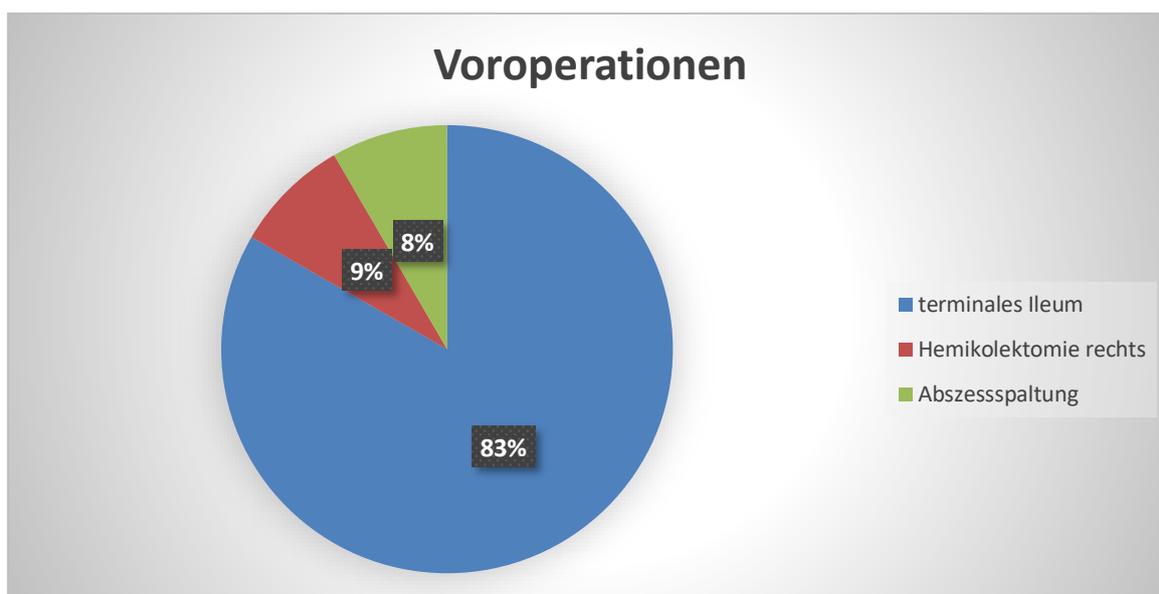


Abbildung 11: Verteilung der intestinalen Voroperationen (insgesamt Voroperationen n = 12), der an der Studie teilnehmenden Probanden zum Zeitpunkt der Datenerhebung (11/2012-02/2013 am Universitätsklinikum Ulm).

### 3.1 Dopplerverfahren

Bei der Korrelation beider Ultraschallgeräte zeigten sich für die Limberg-Klassifikation bezüglich der Farb- (s. Tab. 4) und Powerdopplersonographie (s. Tab. 5) die gleichen statistischen Resultate. In fünf Fällen kam es bei der Klassifizierung nach Limberg zu keiner Übereinstimmung zwischen dem Tosh500 und dem Siem3000, sodass sich bezüglich der Übereinstimmung der Farb- und Powerdopplersonographie zwischen den beiden Geräten ein p-Wert von 0.6547 und ein kappa-Wert von 0.4444 ergaben.

*Tabelle 4: Korrelation der Farbdoppler-Ergebnisse nach Limberg zwischen Toshiba Aplio 500 und Siemens Acuson S3000 in der Crohn-Studie am Universitätsklinikum Ulm (Erhebungszeitraum 11/2012-02/2013); 0-4 = Limberg Klassifikation; p-Wert = Signifikanzniveau, kappa-Wert = Maß der Interrater-Reliabilität.*

Tosh500/Siem3000	0-1	2-4	p-Wert
0-1	7	3	0,6547
2-4	2	6	
			kappa = 0.4444

*Tabelle 5: Korrelation der Powerdoppler-Ergebnisse nach Limberg zwischen Toshiba Aplio 500 und Siemens Acuson S3000 in der Crohn-Studie am Universitätsklinikum Ulm (Erhebungszeitraum 11/2012-02/2013); 0-4 = Limberg Klassifikation; p-Wert = Signifikanzniveau, kappa-Wert = Maß der Interrater-Reliabilität.*

Tosh500/Siem3000	0-1	2-4	p-Wert
0-1	7	3	0,6547
2-4	2	6	
			kappa = 0.4444

### 3.2 CEUS-Quantifizierung

In Abb. 12 ist der Ergebnis-Screen nach einer CEUS-Quantifizierung per VueBox Version 4.2/4.3 dargestellt.

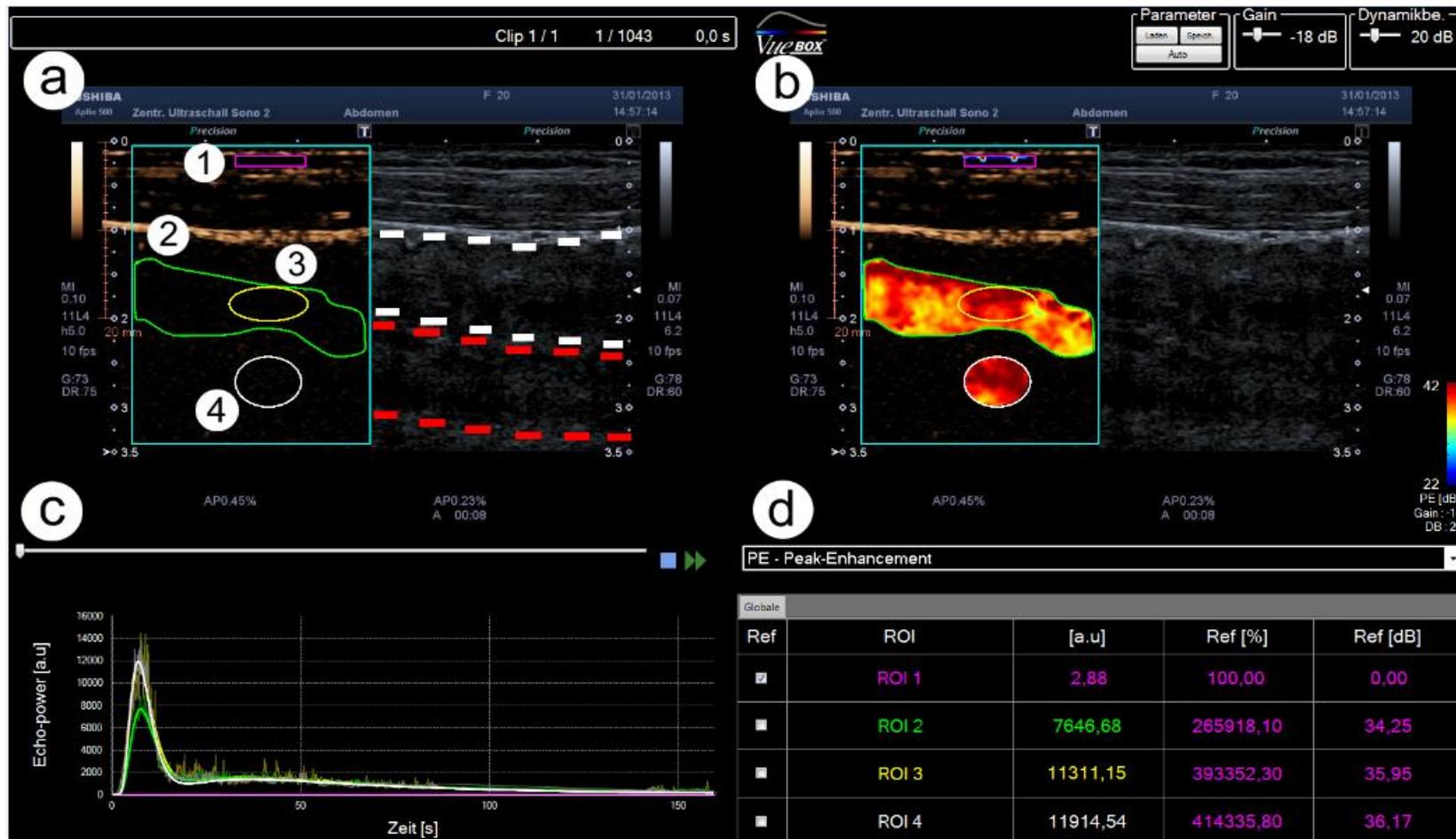


Abbildung 12: Ergebnis-Screen der CEUS-Quantifizierung i.R. der Crohn-Studie am Universitätsklinikum Ulm (Erhebungszeitraum 2012-2013). a) Darstellung eines auf 7 mm verdickten Darmwandabschnittes im Splitmode (CEUS-Quantifizierung/B-mode): 1: Referenz-ROI für die quantitative Auswertung; 2: ROI 2, über der kompletten ventralen Wand (grün); 3: ROI 3 über dem Hotspot der ventralen (gelb), 4: ROI 4, über dem Hot-spot der dorsalen Darmwand; weiß gestrichelte Linie: Abgrenzung der ventralen Darmwand im B-mode; rot gestrichelte Linie: Abgrenzung der dorsalen Darmwand im B-mode; b) Gesamtübersicht der Durchblutungssituation; c) Zeitintensitätskurven (ROI 1=lila, 2=grün, 3=gelb, 4=weiß) für das quantitative Parameter „Peak enhancement“; d) quantitative Ergebnisse für das PE der ROIs 1-4 in „arbitrary units“ [a.u] bezogen auf die Referenz-ROI in Prozent (Ref[%]) und in Absolutzahlen bezogen auf die Referenz-ROI (Ref [dB]). (Zink F. et al.; Ultraschall in Med 2016; 37(01): 74-81)

Für jedes qn-p wurde ein Mittelwert aus den Ergebnissen der ROIs 2-4 eines jeden Patienten gebildet. Die Mittelwerte aller qn-ps wurden dann für jeden Patienten mit dem Ergebnis am anderen Gerät verglichen. Tabelle 7 zeigt die Ergebnisse für beide US-Systeme und deren Korrelation für die jeweiligen qn-ps. Peak enhancement (PE), rise time (RT), wash-in rate (WiR) and quality of fit (QOF) zeigten Signifikanzniveaus von  $p < 0.05$ , während die Wash-in-wash-out area under the curve (WiWoAUC) mit  $p < 0.0001$  hochsignifikante Übereinstimmungen demonstrierte. Unter den weiteren qn-ps verfehlten die Wash-in area under the curve (WiAUC), Wash-in perfusion index (WiPI), Wash-out area under the curve (WoAUC), den definierten statistischen Cut-off knapp ( $p = 0.0537$ ,  $p = 0.0570$ ,  $p = 0.0650$  respektive), während die Mean transit time (mTTI), Wash-out rate (WoR) und Fall time (FT) kamen nicht in die Nähe des Signifikanzniveaus ( $p = 0.0852$ ,  $p = 0.0993$ ,  $p = 0.4243$  respektive (s. Tab. 6).

Die Berechnung der Spearman Korrelation lieferte für die Ergebnisse der CEUS-qn zwischen den beiden Geräten moderate Korrelationen für PE, RT, WiR und QOF ( $r = 0.50$ ,  $0.49$ ,  $0.49$ ,  $0.50$  respektive) und eine starke Korrelation für die WiWoAUC ( $r = 0.89$ ).

Für den Vergleich der quantitativen Ergebnisse relativ zur Referenz-ROI konnte zwischen beiden Geräten für keines der quantitativen Parameter eine signifikante Korrelation nachgewiesen werden [110].

Tabelle 6: Korrelation der Ergebnisse der CEUS-Quantifizierung der Darmwandvaskularisation zwischen dem Aplio500- und dem AcusonS3000-Ultraschallgerät durch Berechnung des Spearman Rank ( $r$  = Korrelationskoeffizient,  $p$  = Signifikanzniveau) aus der Crohn-Studie am Universitätsklinikum Ulm (Erhebungszeitraum 2012-2013). PE = Peak Enhancement, WiAUC = Wash-in Area under the curve, RT=Rise Time, mTTI = Mean Transit Time, WIR = Wash-in Rate, WiPI = Wash-in Perfusion Index, WoAUC = Wash-out AUC, WiWoAUC = Wash-in Wash-out AUC, FT = Fall Time, WoR = Wash-out Rate, QOF = Quality of Fit.

	Aplio500	Acuson S3000	<b>r</b>	<b>p</b>
	Median (Range)			
<b>PE</b>	2519.1 (52.0-116077.6)	658.4 (11.6-7044.1)	<b>0.50000</b>	<b>0.0293</b>
WiAUC	9988.8 (814.2-114547.1)	3904.2 (19.9-24304.8)	0.44912	0.0537
<b>RT</b>	6.1 (3.4-23.1)	5.7 (3.2-13.3)	<b>0.48947</b>	<b>0.0334</b>
mTTI	51.4 (19.3-183.2)	54.7 (22.9-329.5)	0.40526	0.0852
<b>WIR</b>	506.3 (3.6-7211.1)	123.6 (9.7-1866.7)	<b>0.48947</b>	<b>0.0334</b>
WiPI	1626.3 (34.0-19478.3)	423.8 (7.9-4392.1)	0.44386	0.0570

Fortsetzung Tabelle 6 auf S.36

Fortsetzung Tabelle 6: Korrelation der Ergebnisse der CEUS-Quantifizierung der Darmwandvaskularisation zwischen dem Aplio500- und dem Acuson S3000-Ultraschallgerät durch Berechnung des Spearman Rank ( $r$  = Korrelationskoeffizient,  $p$  = Signifikanzniveau) aus der Crohn-Studie am Universitätsklinikum Ulm (Erhebungszeitraum 2012/2013). PE = Peak Enhancement, WiAUC = Wash-in Area under the curve, RT = Rise Time, mTTI = Mean Transit Time, WIR = Wash-in Rate, WiPI = Wash-in Perfusion Index, WoAUC = Wash-out AUC, WiWoAUC = Wash-in Wash-out AUC, FT = Fall Time, WoR = Wash-out Rate, QOF = Quality of Fit.

	Aplio500	Acuson S3000		
	Median (Range)		r	p
WoAUC	19161.3 (1473.1-186324.9)	7410.5 (79.1-39092.9)	0.43158	0.0650
<b>WiWoAUC</b>	29150.1 (2287.3-302871.8)	20320.6 (2379.0-124327.0)	<b>0.89298</b>	<b>&lt;.0001</b>
FT	13.2 (7.1-44.7)	12.1 (8.2-40.6)	<b>0.19474</b>	<b>0.4243</b>
WoR	378.6 (1.8-3559.0)	65.0 (2.1-1010.9)	0.38947	0.0993
QOF	86,6 (45.6-96.3)	85,3 (28.4-97.4 )	<b>0.50000</b>	<b>0.0293</b>

### 3.3 Acoustic Structure Quantification

Bei der ASQ-Messung wurden in Tab.7 dargestellte Ergebnisse produziert.

*Tabelle 7: Quantitative Ergebnisse der „Acoustic Structure Quantification“-Messungen am Darm und ihre Korrelationen; dorsal = dorsale Messung, ventral = ventrale Messung, Average = durchschnittlicher C2-Wert, Standard Deviation = Standard Abweichung, FD-Ratio = Quotient aus der „Area under the curve“ im Rayleighverteilten Histogramm geteilt durch die „Area under the curve“ der gemessenen „Probability density function“ aus den Erhebungen der Crohn-Studie am Universitätsklinikum Ulm (Erhebungszeitraum 2012-2013).*

	1. Messung	2. Messung	p-Wert	r
<b>Dorsal</b>				
Mode	131,1 ± 21,4	135,3 ± 26,8	0,6333	0,23994
Average	141,7 ± 20,2	147,4 ± 21,4	0,2978	0,61777
Standard Deviation	20,7 ± 8,6	21,5 ± 10,4	0,7419	0,61086
FD-Ratio	2,1 ± 1,0	1,9 ± 1,1	0,6082	0,41674
<b>Ventral</b>				
Mode	137,4 ± 25,8	138,9 ± 26,8	0,7289	0,84621
Average	142,0 ± 26,4	144,3 ± 27,2	0,4762	0,92286
Standard Deviation	18,9 ± 4,5	20,9 ± 7,9	0,2893	0,62036
FD-Ratio	1,9 ± 1,0	1,7 ± 0,9	0,5320	0,68106

Die Messungen in der ventralen Darmwand zeigten deutliche Zusammenhänge für die Standard Deviation ( $r=0.62$ ) und die FD-Ratio ( $r=0.68$ ), für die Mode ( $r=0.85$ ) und Average ( $r=0.93$ ) sogar sehr hohe Zusammenhänge. Dorsale Vergleichsmessungen wiesen hingegen niedrigere Korrelationskoeffizienten auf (Mode:  $r = 0,24$ ; Ratio:  $r = 0.42$ ; Standard Deviation:  $r = 0.61$ ; Average:  $r = 0.62$ ). Das Parameter Average demonstrierte im Vergleich der quantitativen Parameter ventral wie dorsal den höchsten Korrelationskoeffizienten.

## 4. Diskussion

Die Eignung der Ultraschall-spezifischen Charakteristika „nicht-invasiv, strahlenfrei, kostengünstig und gut tolerabel“ weisen unbestritten, und im Gegensatz zu den anderen diagnostischen Verfahren CT und MRT, eine Eigenschaftskombination auf, die eine Überwachung und damit vielfach wiederholbare Untersuchung des Krankheitszustandes einschränkungsfrei ermöglichen.

Ein zu Recht immer wieder aufgegriffener Kritikpunkt der Ultraschalluntersuchung ist die eingeschränkte Nachvollziehbarkeit der Befundung. Um diesen Aspekt auszubauen, muss eine Standardisierung der technischen Einstellungen erfolgen, wodurch die Ergebnisse reliabler und damit reproduzierbarer gemacht würden. Dies gilt insbesondere für die CEUS-qn, die prinzipiell das Potential hat, äußerst objektive Ergebnisse zu liefern, jedoch nur bei gegebener Standardisierung der technischen Einstellungen.

### 4.1 Patientenkollektiv

Das harte Einschlusskriterium einer Darmwandverdickung von  $> 5\text{mm}$  machte die Probandenrekrutierung schwierig, sodass im Endeffekt nur 18 Patienten in die Studie eingeschlossen werden konnten. Damit sollte die Wahrscheinlichkeit auf das Vorliegen eines akuten entzündlichen Schubes gesteigert werden. Wie in den Patientencharakteristika zu ersehen, lag der Mittelwert aller Probanden bezüglich des CDAI allerdings nur bei 132, was nach Stange et al. einer Crohn-Aktivität in Remission gleichsteht. Demnach befanden sich bei Eintritt in unsere Studie nach CDAI-Klassifikation nur 5 Patienten im akuten Schub einer Crohn-Erkrankung. Diese Tatsache weist entweder auf die Unzulänglichkeit des klinischen Scores in der Anfangsphase des Entzündungsschubes oder die Unzulänglichkeit der Messung der Darmwandverdickung als direktem Aktivitätsparameter hin. Schlussendlich erschwert die eingeschränkte Zahl eindeutiger akuter Schübe die Differenzierung des Aktivitätszustandes der Crohn'schen Erkrankung mittels CEUS-qn. Auch wenn unsere Studienpopulation mit  $n=18$  relativ klein ist, kann davon ausgegangen werden, dass eine Steigerung der Zahl der Studienteilnehmer zwar eventuell weitere qn-ps mit einem Signifikanzniveau  $< 0.05$  geliefert hätte, nicht aber zu einer Verbesserung

der Korrelationskoeffizienten geführt hätte. Insofern erlauben wir uns trotz der niedrigen Fallzahl, die Studie wie folgt zu interpretieren.

## 4.2 Dopplerverfahren

Die Dopplermethoden Farb- und insbesondere Powerdoppler, der auch langsame, geringe Flüsse in der Darmwand zu detektieren vermag, sind in der klinischen Anwendung zur Bestimmung der Krankheitsaktivität bei Morbus Crohn etablierte Verfahren und kommen aufgrund ihrer schnellen Durchführbarkeit routinemäßig zum Einsatz. Sie ermöglichen es, zunächst einen groben Eindruck von der Durchblutungs- und eventuellen Entzündungssituation im verdickten Darmabschnitt zu erhalten [50, 99]. Vielfach wurde die Korrelation von Limberg-Klassifikation und tatsächlicher Krankheitsaktivität untersucht, mit dem Ergebnis, dass die dopplersonographische Untersuchung und Einteilung nach Limberg durchaus ihre Berechtigung bei der Sammlung diagnostischer Hinweise für einen Krankheitsschub besitzt. Speziell eine Hypervaskularisation ist als indikativ für ein Entzündungsgeschehen zu sehen [38].

Unsere Untersuchungen machen allerdings auch deutlich, dass eine trennscharfe Klassifizierung oftmals nicht gelingt. Die moderate Übereinstimmung mit  $\kappa = 0.444$  sowohl für den Farb- als auch den Powerdoppler zwischen den beiden Ultraschallgeräten zeigt, dass auch moderne Ultraschallsysteme, trotz gesteigerter räumlicher und zeitlicher Auflösung, mit diesem Verfahren keine eindeutige Abgrenzung der einzelnen Limberg-Grade zu leisten vermögen. Immer wieder kommt es zu Grenzfällen, bei denen diese semiquantitative Methode an ihre eigenen Grenzen stößt und es unabhängig von der Erfahrung des Untersuchers zu einer Einzelfallentscheidung wird, wie die Entzündungssituation bei gegebenem Patienten zu klassifizieren ist.

Nichts desto trotz liefern die Dopplerverfahren einen wertvollen Beitrag im mosaikartigen Aufbau eines Gesamtbilds bei der Determinierung der Entzündungssituation bei Crohn-Patienten und werden angesichts ihrer kostengünstigen und schnellen Verfügbarkeit vermutlich noch einige Jahre Teil Crohn-spezifischer Diagnostik bleiben.

### 4.3 CEUS-Quantifizierung

Zu dem Ansatz einer objektiven Quantifizierung der Darmwanddurchblutung zur Diagnosestellung und Verlaufskontrolle von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wird schon lange geforscht. Doch erst die technischen Innovationen der letzten Jahre scheinen dies möglich zu machen.

Bereits mehrfach konnte eine hervorragende Korrelation zwischen CEUS-qn und dem momentanen Goldstandard in Diagnosestellung und Aktivitätsbestimmung bei MC, der Endoskopie und Histologie, nachgewiesen werden. So zeigten kürzlich Ripolles et al., dass speziell die CEUS-qn in der Unterscheidung entzündlicher gegenüber fibrostenotischer Läsionen signifikanzsteigernd ist. Die Assoziation mit histopathologischen Scores ergab eine deutliche Steigerung des Signifikanzniveaus für die CEUS-qn ( $p = 0.005$ ) gegenüber transmuralen Komplikationen (Abszesse und Fisteln) und dem Farbdopplergrad ( $p = 0.018$  und  $p = 0.036$ ) [75].

Paredes et al. konnten Anfang 2013 für die Diagnose postoperativer endoskopischer Rezidiven mittels CEUS-qn bei einer prozentualen Kontrastverstärkung  $> 46\%$  eine Sensitivität, Spezifität und diagnostische Genauigkeit von 98%, 100% and 98.3% proklamieren. Mit dieser ausgezeichneten diagnostischen Präzision lassen Paredes et al. verlauten, dass sich die CEUS-qn schon im Frühstadium dazu eignet, postoperative Rezidiven bei Morbus Crohn zu erkennen und zur Verbesserung der diagnostischen Power des Ultraschalls bei der Bestimmung der Krankheitsaktivität beiträgt [65].

Schon 2011 hatten Girlich et al. eine starke negative Korrelation zwischen histopathologischem Score und der "Time to Peak" ( $r = -0.677$ ,  $p < 0.01$ ) nachweisen können und empfahlen die CEUS-qn dementsprechend als bevorzugte Methode für die Bestimmung der Entzündungsaktivität bei MC [30]. Auch die Korrelation qn-ps mit klinischen Aktivitätsindizes ist vielfach untermauert [12, 55, 56, 70].

Genannte Studien exhibieren das diagnostische Potential der CEUS-qn für die Bestimmung der Entzündungsaktivität bei Morbus Crohn. Jedoch herrscht Unstimmigkeit zum einen darüber, welche quantitativen Parameter die höchste Aussagekraft bezüglich der Ausprägung der entzündungsbedingten muralen Hyperperfusion besitzen. Zum anderen gibt es unseres Wissens nach keine klinische Studien, die

überhaupt die geräteübergreifende Reproduzierbarkeit der qn-ps am Darm im Rahmen chronisch entzündlicher Darmerkrankungen prüft.

Die Ergebnisse unserer Studie wecken starke Zweifel an der Möglichkeit der geräteübergreifenden CEUS-qn mit der von uns gewählten Methode der technischen Standardisierung und Verwendung einer Referenz-ROI im subkutanen Fettgewebe [110]. Zum Beispiel suggeriert die moderate Korrelation des PE das Potential geräteübergreifender CEUS-qn anhand absoluter qn-ps, doch ist ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0.5$  bei einem Gerätevergleich definitiv nicht ausreichend, um die Methode für die geräteübergreifende Verwendung zu empfehlen, da bei durchgeführtem Gerätevergleich ein Korrelationskoeffizient von nahezu  $r = 1$  zu erwarten wäre. Indirekt abhängig vom PE sind auch die Steigung der WiR und die Anflutungsdauer der RT, welche beide ebenfalls moderate Korrelationen zeigten. Mögliche Erklärung für die Varianz der qn-ps ist zum einen die nicht identische Frequenzbreite der beiden für die CEUS-qn verwendeten Linearschallköpfe, welche einen möglichen Bias darstellt. Dies war uns aufgrund der herstellereigenen Produktlinien allerdings nicht möglich zu standardisieren. Zum anderen ist auch keine absolut identische Standardisierung der Dynamic Range erfolgt, was ebenfalls zu einer gewissen Beeinflussung v.a. der "amplitude-related qn-ps" geführt haben könnte [26]. Und nicht zuletzt ist es nicht auszuschließen, dass es aufgrund der komplexen, eventuell nicht uniformen Perfusionssituation in der Darmwand, z.B. mesenterial vermehrte Gefäßneubildung, und der vermutlich nicht identischen Lage der ROIs in der Darmwand, zur Auswertung nicht identischer fokaler Perfusionen kam [7]. Dies wären mögliche Erklärungen für die Varianz, insbesondere der RT welche in vitro als am wenigsten abhängig von technischen Veränderungen am US-Gerät gilt [26].

Die Wash-in-wash-out area under the curve (WiWoAUC) scheint nach unserer Studie das stabilste quantitative Parameter zu bilden, da es alle amplituden-abhängigen qn-ps in sich vereint und als Gesamteindruck über das perfundierte Blutvolumen erachtet werden kann [110]. Zudem ist die WiWoAUC unabhängig von der Blut-Transitzeit, die ihrerseits von der lokalen Vasodilatation und Gefäßkonfiguration abhängt und sich womöglich lokal unterscheidet, was die oben genannten zeitlichen Parameter, nicht aber die WiWoAUC, zu beeinflussen scheint. Weiterhin ist sie für einzelne Streuwerte und Bewegungsartefakte weniger anfällig als z.B. die zeitlichen Parameter oder das PE.

Eine mögliche Erklärung für die Varianz der Mean transit time (mTTI), Wash-out rate (WoR) und Fall time (FT) könnte die Schwierigkeit der Bestimmung des “bottom point” in der Wash-out-Phase sein, da die deszendierende Kurve sehr langsam abfällt. Aufgrund des langsamen Wash-out erfährt die X-Achse durch die Bestimmung des “bottom point” große Varianzen und mit ihr, abgesehen von der RT, insbesondere die zeitlichen qn-ps, was die extreme Varianz von FT, mTTI und indirekt auch der WoR erklären könnte.

Die große Variabilität der zeitlichen Parameter, v.a. auch der RT, kann ich weiterhin nur teilweise erklären. Es wurde versucht, die beeinflussenden Faktoren der Injektionsgeschwindigkeit, die nach menschlichem Ermessen auf 2 Sekunden normiert wurde, und der “arterial input function”, die bei gleichem Patienten, ergo gleichem Gefäßbaum und gleichgehaltenen externen Untersuchungsbedingungen soweit wie möglich standardisiert wurden, zu kontrollieren. Eine weitere mögliche Fehlerquelle mag die Festlegung des manuell bestimmten Anflutungsbeginns sein, was die Streuung in diesem Ausmaß allerdings nicht erklärt. Spekulativer Natur ist der Erklärungsansatz für die Varianz, v.a. der RT, mittels der nicht identischen Lage der ROIs in der Darmwand, die aufgrund lokaler Vasodilatation-/konstriktion und unterschiedlicher Gefäßkonfiguration, fokal unterschiedliche Perfusionssituationen abbilden. Für die Varianz der mTTI und FT insistiere ich auf der Schwierigkeit der Festlegung des “bottom point”, welche bei geringer Abweichung starke Auswirkungen auf die x-Achsen-abhängigen zeitlichen Parameter hat.

Die fehlende Korrelation der relativen qn-p-Ergebnisse (nicht aufgeführt) zwischen den Ultraschallsystemen untermauert die schon vermutete Unzulänglichkeit der Auswahl einer adäquaten Referenz-ROI am Darm. Da kein gesundes Darmparenchym als Referenzgewebe abzugrenzen ist, wird bis dato das Setzen einer Referenz-ROI im subkutanen Fettgewebe empfohlen. Nach unseren Erfahrungen zeigt dieses Gewebe aufgrund von Bindegewebsartefakten jedoch eine erhebliche Streubreite, was es als Referenzgewebe hinfällig macht.

#### 4.4 ASQ

Für die Acoustic Structure Quantification können wir für unseren Untersuchungsalgorithmus die erfolgreiche und einfach implementierbare Anwendbarkeit der Methode am Darm proklamieren. Insbesondere die Messungen in der ventralen Darmwand indizieren eine suffiziente Reliabilität der Vergleichsmessungen (Mode  $r = 0.85$ ; Average  $r = 0.93$ ; Standard Deviation  $r = 0.62$ ; Ratio  $r = 0.68$ ). Jedoch konnten wir aufgrund interner Organisationsunzulänglichkeiten nur für 12 Probanden ASQ-Ergebnisse fabrizieren. Weitere Forschung sollte dahingehend abzielen diese erfolgreich initiierte Methode an einer größeren Studienpopulation zu erproben und die Zusammenhänge zu klinisch-laborchemischen und endoskopischen Aktivitätsindices zu eruieren. Sollte dies gelingen, könnte die ASQ-Methode in Zukunft eventuell auch hinsichtlich der Differenzierung fibrotischer gegenüber entzündlich verdickter Darmschlingen, einfach und schnell anwendbar, wichtige Informationen liefern.

#### 4.5 Ausblick

Die technischen Innovationen der letzten Jahre im Ultraschall scheinen vielversprechend. So ist die breite Anwendung kontrastverstärkten Ultraschalls aus der experimentellen Phase im universitären Setting über diese Grenzen hinaus bis in städtische Kliniken und Kreiskliniken fortgeschritten. In vielen Bereichen, z.B. der Befundung und Differenzierung von Raumforderungen in Schilddrüse, Leber oder Niere, ist CEUS bereits fester Bestandteil leitliniengerechter Diagnostik.

Im Bereich chronisch entzündlicher Darmerkrankungen hat sich die CEUS-Untersuchung noch nicht durchgesetzt. Jedoch scheint die technisch ausgeklügelte CEUS-Quantifizierung ein großer Schritt in Richtung der erfolgreichen Bestimmung der entzündungsbedingt gesteigerten Vaskularisation der Darmwand. Andererseits bedarf es hinsichtlich der nicht eindeutigen Studienlage und schon in vitro festgestellten multiplen Einflussfaktoren auf die quantitativen Parameter der CEUS-Examinierung weiterer Forschung und Herausarbeitung der Störgrößen bei der CEUS-Quantifizierung. Nachdem diese eruiert sind, müssen Leitlinien zu standardisierten tech-

nischen Einstellungen und ein Auswertungsalgorithmus bezüglich der CEUS-Quantifizierung formuliert werden, um diese hochentwickelte Methode beherrschbar und breit verfügbar zu machen.

Bis zum validen, multizentrischen, geräteübergreifenden Einsatz der CEUS-qn am Darm scheint es noch ein weiter Weg. Aber die technischen Möglichkeiten sind vorhanden, sodass die zukünftige, nicht-invasive, strahlenfreie, kostengünstige, frei wiederholbare, objektive und valide Beurteilung der Entzündungsaktivität bei Patienten mit Morbus Crohn, ohne ultraschallaffinen Fanatismus, realisierbar erscheint.

## 5. Zusammenfassung

Primäres Ziel der Studie war es, die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse quantitativen kontrastverstärkten Ultraschalls (CEUS-qn) an zwei unterschiedlichen High-End Ultraschallgeräten bei Morbus Crohn - Patienten zu untersuchen. Es konnten 18 Patienten (36.8 % Frauen, 63.2 % Männer; mittleres Alter  $43.7 \pm 14.1$  Jahre) mit histologisch nachgewiesenem Morbus Crohn und Darmwandverdickungen  $> 5$  mm für die Studie rekrutiert werden. Mit zwei High-End Ultraschallgeräten, dem Toshiba Aplio500 und dem Siemens Acuson S3000, wurden unter standardisierten technischen Einstellungen die CEUS-Quantifizierung und eine konventionelle Ultraschalluntersuchung durchgeführt. Für die CEUS-Quantifizierung wurde ein niedriger mechanischer Index von 0.1 unter Applikation von 4.8 ml des Kontrastmittels SonoVue® gewählt. Ausgewertet wurden die aufgenommenen DICOM-clips mittels VueBox-Version 4.3, welche 11 quantitative Parameter kalkuliert. Abschließend wurden die Ergebnisse der konventionellen Ultraschalluntersuchung und die quantitativen CEUS-Ergebnisse ausgewertet. Im Vergleich der quantitativen Ergebnisse beider Ultraschallgeräte ergaben sich für Peak enhancement (PE), Rise time (RT), Wash-in rate (WiR) und Quality of fit (QOF) signifikante (jeweils  $p < 0.05$ ), für die WiWoAUC hochsignifikante ( $p < 0.0001$ ) Korrelationen. Im Spearman Rank Test zeigte sich für PE, RT, WiR und QOF eine mäßige ( $r = 0.5, 0.49, 0.49$  und  $0.5$  respektive), für WiWoAUC eine deutliche ( $r = 0.89$ ) Korrelation zwischen den Ergebnissen beider Ultraschallgeräte [110]. Trotz hinlänglicher Standardisierung von Gain, mechanischem Index, Kontrastmittel-Bolus, Fokus, externen Untersuchungsbedingungen, patientenspezifisch morphologischen Gegebenheiten (akustisches Fenster, arterial input function) und dem Setzen einer Referenz-ROI im subkutanen Fettgewebe ist uns die geräteübergreifende CEUS-qn per VueBox am Darm mittels der von uns gewählten Methode und Standardisierung nicht zufriedenstellend gelungen [110]. Folglich können die in unserer Studie angewandten Verfahren aktuell noch nicht als schallkopf- und geräteunabhängige Methoden im Rahmen von quantifizierten kontrastverstärkten multizentrischen Studien empfohlen werden [110]. Vielversprechender erscheinen hier andere Ansatzpunkte wie z.B. der einer patienteninternen Referenz-Skalierung anhand von AIF-ROIs mit der Berechnung absoluter quantitativer Parameter, wie von Jirik et al. vorgeschlagen.

Als sekundäres Ziel der Studie konnten wir für die Acoustic Structure Quantification am Toshiba Aplio500 erfolgreich einen Erhebungsalgorithmus erarbeiten, der insbesondere in der ventralen Darmwand reproduzierbare Ergebnisse liefert. Für 12 Patienten ist uns dies mit der ASQ-Methode mit suffizienter Reliabilität der Vergleichsmessungen (Mode  $r = 0.85$ ; Average  $r = 0.93$ ; Standard Deviation  $r = 0.62$ ; Ratio  $r = 0.68$ ) gelungen. Hier gilt es zukünftig, die Ergebnisse klinisch einzuordnen und auf Korrelation mit Krankheitszeichen des Morbus Crohn hin zu untersuchen.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Ansari A, Soon S Y, Saunders B P, Sanderson J D: A prospective study of the technical feasibility of ileoscopy at colonoscopy. *Scand.J.Gastroenterol.*, 38: 1184-1186(2003)
2. Baert F, Moortgat L, Van Assche G, Caenepeel P, Vergauwe P, De Vos M, Stokkers P, Hommes D, Rutgeerts P, Vermeire S, D'Haens G, Belgian Inflammatory Bowel Disease Research Group, North-Holland Gut Club: Mucosal healing predicts sustained clinical remission in patients with early-stage Crohn's disease. *Gastroenterology*, 138: 463-8; quiz e10-1(2010)
3. J. Bleck. Acoustic Structure Quantication (ASQ) - A new diagnostic tool in ultrasonography of the liver. Toshiba Medical Systems, 2010
4. Blomley M J, Cooke J C, Unger E C, Monaghan M J, Cosgrove D O: Microbubble contrast agents: a new era in ultrasound. *BMJ*, 322: 1222-1225(2001)
5. Bodily K D, Fletcher J G, Solem C A, Johnson C D, Fidler J L, Barlow J M, Bruesewitz M R, McCollough C H, Sandborn W J, Loftus E V, Jr, Harmsen W S, Crownhart B S: Crohn Disease: mural attenuation and thickness at contrast-enhanced CT Enterography--correlation with endoscopic and histologic findings of inflammation. *Radiology*, 238: 505-516(2006)
6. Brahme F: Mesenteric angiography in regional enterocolitis. *Radiology*, 87: 1037-1042(1966)
7. Brahme F, Lindstrom C: A comparative radiographic and pathological study of intestinal vaso-architecture in Crohn's disease and in ulcerative colitis. *Gut*, 11: 928-940(1970)
8. Campani R, Calliada F, Bottinelli O, Bozzini A, Sommaruga M G, Draghi F, Anguissola R: Contrast enhancing agents in ultrasonography: clinical applications. *Eur.J.Radiol.*, 27 Suppl 2: S161-70(1998)
9. Caroline D F, Friedman A C: The radiology of inflammatory bowel disease. *Med.Clin.North Am.*, 78: 1353-1385(1994)
10. Colombel J F, Solem C A, Sandborn W J, Booya F, Loftus E V, Jr, Harmsen W S, Zinsmeister A R, Bodily K D, Fletcher J G: Quantitative measurement and visual assessment of ileal Crohn's disease activity by computed tomography enterography: correlation with endoscopic severity and C reactive protein. *Gut*, 55: 1561-1567(2006)
11. De Franco A, Di Veronica A, Armuzzi A, Roberto I, Marzo M, De Pascalis B, De Vitis I, Papa A, Bock E, Danza F M, Bonomo L, Guidi L: Ileal Crohn disease: mural microvascularity quantified with contrast-enhanced US correlates with disease activity. *Radiology*, 262: 680-688(2012)

12. De Franco A, Marzo M, Felice C, Pugliese D, Veronica A D, Bonomo L, Armuzzi A, Guidi L: Ileal Crohn's disease: CEUS determination of activity. *Abdom.Imaging*, (2012)
13. Di Sabatino A, Fulle I, Ciccocioppo R, Ricevuti L, Tinozzi F P, Tinozzi S, Campani R, Corazza G R: Doppler enhancement after intravenous levovist injection in Crohn's disease. *Inflamm.Bowel Dis.*, 8: 251-257(2002)
14. Dietrich C F, Jedrzejczyk M, Ignee A: Sonographic assessment of splanchnic arteries and the bowel wall. *Eur.J.Radiol.*, 64: 202-212(2007)
15. Dijkstra J, Reeders J W, Tytgat G N: Idiopathic inflammatory bowel disease: endoscopic-radiologic correlation. *Radiology*, 197: 369-375(1995)
16. Dinter D J, Chakraborty A, Brade J, Back W, Neff K W, Singer M V, Bocker U: Endoscopy and magnetic resonance imaging in patients with Crohn's disease: a retrospective single-centre comparative study. *Scand.J.Gastroenterol.*, 43: 207-216(2008)
17. Drews B H, Barth T F, Hanle M M, Akinli A S, Mason R A, Muche R, Thiel R, Pauls S, Klaus J, von Boyen G, Kratzer W: Comparison of sonographically measured bowel wall vascularity, histology, and disease activity in Crohn's disease. *Eur.Radiol.*, 19: 1379-1386(2009)
18. Efthymiou A, Viazis N, Mantzaris G, Papadimitriou N, Tzourmakliotis D, Raptis S, Karamanolis D G: Does clinical response correlate with mucosal healing in patients with Crohn's disease of the small bowel? A prospective, case-series study using wireless capsule endoscopy. *Inflamm.Bowel Dis.*, 14: 1542-1547(2008)
19. Esteban J M, Aleixandre A, Hurtado M J, Maldonado L, Mora F J, Nogues E: Contrast-enhanced power Doppler ultrasound in the diagnosis and follow-up of inflammatory abdominal masses in Crohn's disease. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.*, 15: 253-259(2003)
20. Farmer R G, Hawk W A, Turnbull R B, Jr: Clinical patterns in Crohn's disease: a statistical study of 615 cases. *Gastroenterology*, 68: 627-635(1975)
21. Forsberg F: Science to practice: Can contrast-enhanced US of targeted microbubbles be used to monitor and quantify inflammation in patients with inflammatory bowel disease? *Radiology*, 262: 1-2(2012)
22. Fraquelli M, Colli A, Casazza G, Paggi S, Colucci A, Massironi S, Duca P, Conte D: Role of US in detection of Crohn disease: meta-analysis. *Radiology*, 236: 95-101(2005)
23. Gasche C, Moser G, Turetschek K, Schober E, Moeschl P, Oberhuber G: Transabdominal bowel sonography for the detection of intestinal complications in Crohn's disease. *Gut*, 44: 112-117(1999)

24. Gauthier M, Leguerney I, Thalmensi J, Chebil M, Parisot S, Peronneau P, Roche A, Lassau N: Estimation of intra-operator variability in perfusion parameter measurements using DCE-US. *World J.Radiol.*, 3: 70-81(2011)
25. Gauthier M, Pitre-Champagnat S, Tabarout F, Leguerney I, Polrot M, Lassau N: Impact of the arterial input function on microvascularization parameter measurements using dynamic contrast-enhanced ultrasonography. *World J.Radiol.*, 4: 291-301(2012)
26. Gauthier M, Tabarout F, Leguerney I, Polrot M, Pitre S, Peronneau P, Lassau N: Assessment of quantitative perfusion parameters by dynamic contrast-enhanced sonography using a deconvolution method: an in vitro and in vivo study. *J.Ultrasound Med.*, 31: 595-608(2012)
27. Gauthier T P, Chebil M, Peronneau P, Lassau N: In vitro evaluation of the impact of ultrasound scanner settings and contrast bolus volume on time-intensity curves. *Ultrasonics*, 52: 12-19(2012)
28. Geleijnse M L, Nemes A, Vletter W B, Michels M, Soliman O I, Caliskan K, Galema T W, ten Cate F J: Adverse reactions after the use of sulphur hexafluoride (SonoVue) echo contrast agent. *J.Cardiovasc.Med.(Hagerstown)*, 10: 75-77(2009)
29. Giesel F L, Delorme S, Sibbel R, Kauczor H U, Krix M: Contrast-enhanced ultrasound for the characterization of incidental liver lesions - an economical evaluation in comparison with multi-phase computed tomography. *Ultraschall Med.*, 30: 259-268(2009)
30. Girlich C, Schacherer D, Jung E M, Schreyer A, Buttner R: Comparison between a clinical activity index (Harvey-Bradshaw-Index), laboratory inflammation markers and quantitative assessment of bowel wall vascularization by contrast-enhanced ultrasound in Crohn's disease. *Eur.J.Radiol.*, 81: 1105-1109(2012)
31. Girlich C, Schacherer D, Lamby P, Scherer M N, Schreyer A G, Jung E M: Innovations in contrast enhanced high resolution ultrasound improve sonographic imaging of the intestine. *Clin.Hemorheol.Microcirc.*, 45: 207-215(2010)
32. Goldberg B B, Liu J B, Forsberg F: Ultrasound contrast agents: a review. *Ultrasound Med.Biol.*, 20: 319-333(1994)
33. Gorce J M, Arditi M, Schneider M: Influence of bubble size distribution on the echogenicity of ultrasound contrast agents: a study of SonoVue. *Invest.Radiol.*, 35: 661-671(2000)
34. Greis C: Technology overview: SonoVue (Bracco, Milan). *Eur.Radiol.*, 14 Suppl 8: P11-5(2004)
35. Guidi L, De Franco A, De Vitis I, Armuzzi A, Semeraro S, Roberto I, Papa A, Bock E, Gasbarrini G, Fedeli G: Contrast-enhanced ultrasonography with SonoVue after infliximab therapy in Crohn's disease. *Eur.Rev.Med.Pharmacol.Sci.*, 10: 23-26(2006)

36. Hansen T S, Jess T, Vind I, Elkjaer M, Nielsen M F, Gomborg M, Munkholm P: Environmental factors in inflammatory bowel disease: a case-control study based on a Danish inception cohort. *J.Crohns Colitis*, 5: 577-584(2011)
37. Harvey C J, Blomley M J, Eckersley R J, Cosgrove D O: Developments in ultrasound contrast media. *Eur.Radiol.*, 11: 675-689(2001)
38. Heyne R, Rickes S, Bock P, Schreiber S, Wermke W, Lochs H: Non-invasive evaluation of activity in inflammatory bowel disease by power Doppler sonography. *Z.Gastroenterol.*, 40: 171-175(2002)
39. Hoffmann J C, Preiss J C, Autschbach F, Buhr H J, Hauser W, Herrlinger K, Hohne W, Koletzko S, Krieglstein C F, Kruis W, Matthes H, Moser G, Reinshagen M, Rogler G, Schreiber S, Schreyer A G, Sido B, Siegmund B, Stallmach A, Bokemeyer B, Stange E F, Zeitz M: Clinical practice guideline on diagnosis and treatment of Crohn's disease. *Z.Gastroenterol.*, 46: 1094-1146(2008)
40. Jirik R, Nylund K, Gilja O H, Mezl M, Harabis V, Kolar R, Standara M, Taxt T: Ultrasound perfusion analysis combining bolus-tracking and burst-replenishment. *IEEE Trans.Ultrason.Ferroelectr.Freq.Control*, 60: 310-319(2013)
41. Jussila A, Virta L J, Kautiainen H, Rekiaro M, Nieminen U, Farkkila M A: Increasing incidence of inflammatory bowel diseases between 2000 and 2007: a nationwide register study in Finland. *Inflamm.Bowel Dis.*, 18: 555-561(2012)
42. Kim S W, Kim E S, Moon C M, Park J J, Kim T I, Kim W H, Cheon J H: Genetic polymorphisms of IL-23R and IL-17A and novel insights into their associations with inflammatory bowel disease. *Gut*, 60: 1527-1536(2011)
43. Kratzer W, Foeller T, Kaechele V, Reinshagen M, Tirpitz C V, Haenle M M: Intestinal wall vascularisation in Crohn's disease. *Z.Gastroenterol.*, 42: 973-978(2004;)
44. Kratzer W, von Tirpitz C, Mason R, Reinshagen M, Adler G, Moller P, Rieber A, Kachele V: Contrast-enhanced power Doppler sonography of the intestinal wall in the differentiation of hypervascularized and hypovascularized intestinal obstructions in patients with Crohn's disease. *J.Ultrasound Med.*, 21: 149-57; quiz 158-9(2002)
45. Kuroda H, Kakisaka K, Kamiyama N, Oikawa T, Onodera M, Sawara K, Oikawa K, Endo R, Takikawa Y, Suzuki K: Non-invasive determination of hepatic steatosis by acoustic structure quantification from ultrasound echo amplitude. *World J.Gastroenterol.*, 18: 3889-3895(2012)
46. Lakatos L, Pandur T, Erdelyi Z, Mester G, Balogh M: Is smoking still an important environmental factor in inflammatory bowel diseases? Results from a population-based incident cohort. Abstract of the 7th Congress of ECCO, Barcelona, page 173, P411, (2012)
47. Lassau N, Chapotot L, Benatsou B, Vilgrain V, Kind M, Lacroix J, Cuinet M, Taieb S, Aziza R, Sarran A, Labbe C, Gallix B, Lucidarme O, Ptak Y, Rocher L,

Caquot L M, Chagnon S, Marion D, Luciani A, Uzan-Augui J, Koscielny S: Standardization of dynamic contrast-enhanced ultrasound for the evaluation of antiangiogenic therapies: the French multicenter Support for Innovative and Expensive Techniques Study. *Invest.Radiol.*, 47: 711-716(2012)

48. Lennard-Jones J E, Shivananda S: Clinical uniformity of inflammatory bowel disease a presentation and during the first year of disease in the north and south of Europe. EC-IBD Study Group. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.*, 9: 353-359(1997)

49. Loftus E V,Jr, Silverstein M D, Sandborn W J, Tremaine W J, Harmsen W S, Zinsmeister A R: Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota, 1940-1993: incidence, prevalence, and survival. *Gastroenterology*, 114: 1161-1168(1998)

50. Ludwig D, Wiener S, Bruning A, Schwarting K, Jantschek G, Stange E F: Mesenteric blood flow is related to disease activity and risk of relapse in Crohn's disease: a prospective follow-up study. *Am.J.Gastroenterol.*, 94: 2942-2950(1999)

51. Lunderquist A, Knutsson H: Angiography in Crohn's disease of the small bowel and colon. *Am.J.Roentgenol.Radium Ther.Nucl.Med.*, 101: 338-344(1967)

52. Maconi G, Parente F, Bollani S, Cesana B, Bianchi Porro G: Abdominal ultrasound in the assessment of extent and activity of Crohn's disease: clinical significance and implication of bowel wall thickening. *Am.J.Gastroenterol.*, 91: 1604-1609(1996)

53. Maconi G, Sampietro G M, Parente F, Pompili G, Russo A, Cristaldi M, Arborio G, Ardizzone S, Matacena G, Taschieri A M, Bianchi Porro G: Contrast radiology, computed tomography and ultrasonography in detecting internal fistulas and intra-abdominal abscesses in Crohn's disease: a prospective comparative study. *Am.J.Gastroenterol.*, 98: 1545-1555(2003)

54. Maconi G, Sampietro G M, Sartani A, Bianchi Porro G: Bowel ultrasound in Crohn's disease: surgical perspective. *Int.J.Colorectal Dis.*, 23: 339-347(2008)

55. Migaleddu V, Quaia E, Scanu D, Carla S, Bertolotto M, Campisi G, Sirigu D, Virgilio G: Inflammatory activity in Crohn's disease: CE-US. *Abdom.Imaging*, 36: 142-148(2011)

56. Migaleddu V, Scanu A M, Quaia E, Rocca P C, Dore M P, Scanu D, Azzali L, Virgilio G: Contrast-enhanced ultrasonographic evaluation of inflammatory activity in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 137: 43-52(2009)

57. Migaleddu V, Scanu A M, Quaia E, Rocca P C, Dore M P et al.: Contrast-enhanced ultrasonographic evaluation of inflammatory activity in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 137: 43-52(2009)

58. Minderhoud I M, Samsom M, Oldenburg B: What predicts mucosal inflammation in Crohn's disease patients? *Inflamm.Bowel Dis.*, 13: 1567-1572(2007)

Mittrach, Christoph (2009): Quantitative Bestimmung der Darmwandvaskularisation bei Morbus Crohn mit kontrastverstärktem Ultraschall. Open Access Repository der Universität Ulm. Dissertation. <http://dx.doi.org/10.18725/OPARU-1651>

59. Molodecky N A, Soon I S, Rabi D M, Ghali W A, Ferris M, Chernoff G, Benchimol E I, Panaccione R, Ghosh S, Barkema H W, Kaplan G G: Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*, 142: 46-54.e42; quiz e30(2012)

60. Nemeč U, Nemeč S F, Novotný C, Weber M, Czerný C, Krestan C R: Quantitative evaluation of contrast-enhanced ultrasound after intravenous administration of a microbubble contrast agent for differentiation of benign and malignant thyroid nodules: assessment of diagnostic accuracy. *Eur.Radiol.*, (2012)

61. Nurnberg D, Jung A, Schmieder C, Schmidt M, Holle A: What's the price of routine sonography--results of an analysis of costs and processes in a district hospital. *Ultraschall Med.*, 29: 405-417(2008)

62. Nylund K, Jirik R, Mezl M, Leh S, Hausken T, Pfeffer F, Odegaard S, Taxt T, Gilja O H: Quantitative contrast-enhanced ultrasound comparison between inflammatory and fibrotic lesions in patients with Crohn's disease. *Ultrasound Med.Biol.*, 39: 1197-1206(2013)

63. Okazaki T, Wang M H, Rawsthorne P, Sargent M, Datta L W, Shugart Y Y, Bernstein C N, Brant S R: Contributions of IBD5, IL23R, ATG16L1, and NOD2 to Crohn's disease risk in a population-based case-control study: evidence of gene-gene interactions. *Inflamm.Bowel Dis.*, 14: 1528-1541(2008)

64. Papay P, Ignjatovic A, Karmiris K, Amarante H, Milheller P, Feagan B, D'Haens G, Marteau P, Reinisch W, Sturm A, Steinwurz F, Egan L, Panes J, Louis E, Colombel J F, Panaccione R: Optimising monitoring in the management of Crohn's disease: a physician's perspective. *J.Crohns Colitis*, 7: 653-669(2013)

65. Paredes J M, Ripolles T, Cortes X, Moreno N, Martinez M J, Bustamante-Balen M, Delgado F, Moreno-Osset E: Contrast-enhanced ultrasonography: usefulness in the assessment of postoperative recurrence of Crohn's disease. *J.Crohns Colitis*, 7: 192-201(2013)

66. Piscaglia F, Bolondi L, Italian Society for Ultrasound in Medicine and Biology (SIUMB) Study Group on Ultrasound Contrast Agents: The safety of Sonovue in abdominal applications: retrospective analysis of 23188 investigations. *Ultrasound Med.Biol.*, 32: 1369-1375(2006)

67. Piscaglia F, Nolsoe C, Dietrich C F, Cosgrove D O, Gilja O H, Bachmann Nielsen M, Albrecht T, Barozzi L, Bertolotto M, Catalano O, Claudon M, Clevert D A, Correas J M, D'Onofrio M, Drudi F M, Eyding J, Giovannini M, Hocke M, Ignee A, Jung E M, Klauser A S, Lassau N, Leen E, Mathis G, Saftoiu A, Seidel G, Sidhu P S, ter Haar G, Timmerman D, Weskott H P: The EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Practice of Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS): update 2011 on non-hepatic applications. *Ultraschall Med.*, 33: 33-59(2012)

68. Pugazhendhi S, Sahu M K, Subramanian V, Pulimood A, Ramakrishna B S: Environmental factors associated with Crohn's disease in India. *Indian J.Gastroenterol.*, 30: 264-269(2011)
69. Quaia E: Microbubble ultrasound contrast agents: an update. *Eur.Radiol.*, 17: 1995-2008(2007)
70. Quaia E, Migaleddu V, Baratella E, Pizzolato R, Rossi A, Grotto M, Cova M A: The diagnostic value of small bowel wall vascularity after sulfur hexafluoride-filled microbubble injection in patients with Crohn's disease. Correlation with the therapeutic effectiveness of specific anti-inflammatory treatment. *Eur.J.Radiol.*, 69: 438-444(2009)
71. Rapaccini G L, Pompili M, Orefice R, Covino M, Riccardi L, Cedrone A, Gasbarrini G: Contrast-enhanced power doppler of the intestinal wall in the evaluation of patients with Crohn disease. *Scand.J.Gastroenterol.*, 39: 188-194(2004)
72. Regueiro M, Kip K E, Schraut W, Baidoo L, Sepulveda A R, Pesci M, El-Hachem S, Harrison J, Binion D: Crohn's disease activity index does not correlate with endoscopic recurrence one year after ileocolonic resection. *Inflamm.Bowel Dis.*, 17: 118-126(2011)
73. Rigazio C, Ercole E, Laudi C, Daperno M, Lavagna A, Crocella L, Bertolino F, Viganò L, Sostegni R, Pera A, Rocca R: Abdominal bowel ultrasound can predict the risk of surgery in Crohn's disease: proposal of an ultrasonographic score. *Scand.J.Gastroenterol.*, 44: 585-593(2009)
74. Ripolles T, Martínez M J, Paredes J M, Blanc E, Flors L, Delgado F: Crohn disease: correlation of findings at contrast-enhanced US with severity at endoscopy. *Radiology*, 253: 241-248(2009)
75. Ripolles T, Rausell N, Paredes J M, Grau E, Martínez M J, Vizuete J: Effectiveness of contrast-enhanced ultrasound for characterisation of intestinal inflammation in Crohn's disease: a comparison with surgical histopathology analysis. *J.Crohns Colitis*, 7: 120-128(2013)
76. Robotti D, Cammarota T, Deboni P, Sarno A, Astegiano M: Activity of Crohn disease: value of Color-Power-Doppler and contrast-enhanced ultrasonography. *Abdom.Imaging*, 29: 648-652(2004)
77. Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G, Beyls J, Kerremans R, Hiele M: Predictability of the postoperative course of Crohn's disease. *Gastroenterology*, 99: 956-963(1990)
78. Sallomi D F: The use of contrast-enhanced power Doppler ultrasound in the diagnosis and follow-up of inflammatory abdominal masses associated with Crohn's disease. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.*, 15: 249-251(2003)
79. Sandborn W J, Feagan B G, Hanauer S B, Lochs H, Lofberg R, Modigliani R, Present D H, Rutgeerts P, Scholmerich J, Stange E F, Sutherland L R: A review

of activity indices and efficacy endpoints for clinical trials of medical therapy in adults with Crohn's disease. *Gastroenterology*, 122: 512-530(2002)

80. Sarrazin J, Wilson S R: Manifestations of Crohn disease at US. *Radiographics*, 16: 499-520; discussion 520-1(1996)

81. Schirin-Sokhan R, Winograd R, Tischendorf S, Wasmuth H E, Streetz K, Tacke F, Trautwein C, Tischendorf J J: Assessment of inflammatory and fibrotic stenoses in patients with Crohn's disease using contrast-enhanced ultrasound and computerized algorithm: a pilot study. *Digestion*, 83: 263-268(2011)

82. Schlottmann K, Kratzer W, Scholmerich J: Doppler ultrasound and intravenous contrast agents in gastrointestinal tract disorders: current role and future implications. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.*, 17: 263-275(2005)

83. Schmidt T, Reinshagen M, Brambs H J, Adler G, Rieber A, V Tirpitz C, Kratzer W: Comparison of conventional enteroclysis, intestinal ultrasound and MRI-enteroclysis for determining changes in the small intestine and complications in patients with Crohn's disease. *Z.Gastroenterol.*, 41: 641-648(2003)

84. Schnitzler F, Fidder H, Ferrante M, Noman M, Arijs I, Van Assche G, Hoffman I, Van Steen K, Vermeire S, Rutgeerts P: Mucosal healing predicts long-term outcome of maintenance therapy with infliximab in Crohn's disease. *Inflamm.Bowel Dis.*, 15: 1295-1301(2009)

85. Schreyer A G, Finkenzeller T, Gossmann H, Daneschnejad M, Muller-Wille R, Schacherer D, Zuber-Jerger I, Strauch U, Feuerbach S, Jung E M: Microcirculation and perfusion with contrast enhanced ultrasound (CEUS) in Crohn's disease: first results with linear contrast harmonic imaging (CHI). *Clin.Hemorheol.Microcirc.*, 40: 143-155(2008)

86. Schreyer A G, Landfried K, Zorger N, Hoffstetter P, Ammer J, Fellner C, Friedrich C, Andreesen R, Holler E, Jung E M: Transmural penetration of intravenously applied microbubbles during contrast-enhanced ultrasound as a new diagnostic feature in patients with GVHD of the bowel. *Bone Marrow Transplant.*, 46: 1006-1011(2011)

87. Schuler A, Reuss J, Delorme S, Hagendorff A, Giesel F: Costs of clinical ultrasound examinations - an economical cost calculation and analysis. *Ultraschall Med.*, 31: 379-386(2010)

88. Serra C, Menozzi G, Labate A M, Giangregorio F, Gionchetti P, Beltrami M, Robotti D, Fornari F, Cammarota T: Ultrasound assessment of vascularization of the thickened terminal ileum wall in Crohn's disease patients using a low-mechanical index real-time scanning technique with a second generation ultrasound contrast agent. *Eur.J.Radiol.*, 62: 114-121(2007)

89. Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L, van Blankenstein M: Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut*, 39: 690-697(1996)

90. Sostegni R, Daperno M, Scaglione N, Lavagna A, Rocca R, Pera A: Review article: Crohn's disease: monitoring disease activity. *Aliment.Pharmacol.Ther.*, 17 Suppl 2: 11-17(2003)
91. Stange E F, Travis S P, Vermeire S, Beglinger C, Kupcinkas L, Geboes K, Barakauskiene A, Villanacci V, Von Herbay A, Warren B F, Gasche C, Tilg H, Schreiber S W, Scholmerich J, Reinisch W, European Crohn's and Colitis Organisation: European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *Gut*, 55 Suppl 1: i1-15(2006)
92. Timmer A, Breuer-Katschinski B, Goebell H: Time trends in the incidence and disease location of Crohn's disease 1980-1995: a prospective analysis in an urban population in Germany. *Inflamm.Bowel Dis.*, 5: 79-84(1999)
93. Torzilli G: Adverse effects associated with SonoVue use. *Expert Opin.Drug Saf.*, 4: 399-401(2005)
94. Toyoda H, Kumada T, Kamiyama N, Shiraki K, Takase K, Yamaguchi T, Hachiya H: B-mode ultrasound with algorithm based on statistical analysis of signals: evaluation of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *AJR Am.J.Roentgenol.*, 193: 1037-1043(2009)
95. Tranquart F, Mercier L, Frinking P, Gaud E, Arditi M: Perfusion quantification in contrast-enhanced ultrasound (CEUS)--ready for research projects and routine clinical use. *Ultraschall Med.*, 33 Suppl 1: S31-8(2012)
96. Tsianos E V, Katsanos K H, Tsianos V E: Role of genetics in the diagnosis and prognosis of Crohn's disease. *World J.Gastroenterol.*, 18: 105-118(2012)
97. van der Kant R, Vriend G: Alpha-bulges in G protein-coupled receptors. *Int.J.Mol.Sci.*, 15: 7841-7864(2014)
98. Van Kruiningen H J, Joossens M, Vermeire S, Joossens S, Debeugny S, Gower-Rousseau C, Cortot A, Colombel J F, Rutgeerts P, Vlietinck R: Familial Crohn's disease in Belgium: pedigrees, temporal relationships among cases, and family histories. *J.Clin.Gastroenterol.*, 41: 583-590(2007)
99. van Oostayen J A, Wasser M N, van Hogezaand R A, Griffioen G, Biemond I, Lamers C B, de Roos A: Doppler sonography evaluation of superior mesenteric artery flow to assess Crohn's disease activity: correlation with clinical evaluation, Crohn's disease activity index, and alpha 1-antitrypsin clearance in feces. *AJR Am.J.Roentgenol.*, 168: 429-433(1997)
100. Veen A, Simm C, Stavenuiter R, Slump K, Lovink A, Toshiba study group: An exploratory research on the reproducibility of Acoustic Structure Quantification on the liver, Finding the best protocol to perform an ASQ measurement of the liver. University of Twente, Unpublished paper of Toshiba, (2012)
101. Vind I, Riis L, Jess T, Knudsen E, Pedersen N, Elkjaer M, Bak Andersen I, Wewer V, Norregaard P, Moesgaard F, Bendtsen F, Munkholm P, DCCD study

group: Increasing incidences of inflammatory bowel disease and decreasing surgery rates in Copenhagen City and County, 2003-2005: a population-based study from the Danish Crohn colitis database. *Am.J.Gastroenterol.*, 101: 1274-1282(2006)

102. Vogel R, Indermuhle A, Reinhardt J, Meier P, Siegrist P T, Namdar M, Kaufmann P A, Seiler C: The quantification of absolute myocardial perfusion in humans by contrast echocardiography: algorithm and validation. *J.Am.Coll.Cardiol.*, 45: 754-762(2005)

103. Wakefield A J, Sawyerr A M, Dhillon A P, Pittilo R M, Rowles P M, Lewis A A, Pounder R E: Pathogenesis of Crohn's disease: multifocal gastrointestinal infarction. *Lancet*, 2: 1057-1062(1989)

104. Wejman J, Pyzlak M, Szukiewicz D, Jarosz D, Tarnowski W, Szewczyk G: Thrombospondin and VEGF-R: is there a correlation in inflammatory bowel disease? *Mediators Inflamm.*, 2013: 908259(2013)

105. Wilson S R, Burns P N: Microbubble-enhanced US in body imaging: what role? *Radiology*, 257: 24-39(2010)

106. Wilson B, Lonnfors S, Hommes D.W, Vermiere S, Greco M: A european Crohn's and ulcerative colitis patient life IMPACT survey. Abstract at the 7th congress of ECCO, Barcelona, page 171, P406, (2012)

107. Wong D D, Forbes G M, Zelesco M, Mason R, Pawlik J, Mendelson R M: Crohn's disease activity: quantitative contrast-enhanced ultrasound assessment. *Abdom.Imaging*,(2011)

108. Yang S K, Yun S, Kim J H, Park J Y, Kim H Y, Kim Y H, Chang D K, Kim J S, Song I S, Park J B, Park E R, Kim K J, Moon G, Yang S H: Epidemiology of inflammatory bowel disease in the Songpa-Kangdong district, Seoul, Korea, 1986-2005: a KASID study. *Inflamm.Bowel Dis.*, 14: 542-549(2008)

109. Zheng J J, Shi X H, Zhu X S, Huangfu Z, Guo Z R: A comparative study of incidence and prevalence of Crohn's disease in mainland China in different periods. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, 50: 597-600(2011)

110. Zink F, Kratzer W, Schmidt S, Oeztuerk S, Mason RA, Prozner M, Klaus J, Haenle MM, Graeter T: Comparison of two High-End Ultrasound Systems for contrast-enhanced ultrasound quantification of mural microvascularity in Crohn's disease. *Ultraschall Med.*;37(1):74-81. doi: 10.1055/s-0034-1398746. Epub 2015 Aug 7, (2016)

Danksagung aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

Lebenslauf aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

Lebenslauf aus Gründen des Datenschutzes entfernt.