

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN

**SCIENZE MEDICO-CHIRURGICHE, GASTROENTEROLOGICHE
E DEI TRAPIANTI**

Ciclo XXIV

Settore Concorsuale di afferenza: 06/C1

Settore Scientifico disciplinare: MED/18 - MED/09

TITOLO TESI

**ACCURATEZZA DIAGNOSTICA DELL'ECOGRAFIA CON
MEZZO DI CONTRASTO NEL PREDIRE L'EVOLUZIONE A
BREVE TERMINE IN PAZIENTI CON MORBO DI CROHN.**

Presentata da: Dott.ssa Libera Fanigliulo

Coordinatore Dottorato

Prof. Andrea Stella

Coordinatore di Progetto

Prof. Massimo Campieri

Relatore

Prof. Massimo Campieri

Esame finale anno 2012

INTRODUZIONE

La malattia di Crohn è una malattia infiammatoria cronica intestinale con fasi di riacutizzazione clinica; la scelta delle opzioni terapeutiche dipende soprattutto dall'attività della malattia per cui è importante avere a disposizione dei metodi agevoli per effettuare determinazioni ripetute nel tempo dell'attività di infiammazione della parete intestinale. In letteratura, sono presenti numerosi studi che focalizzano l'attenzione sul ruolo dell'ecografia addominale (1-3) come esame strumentale semplice, economico e non invasivo utile nella gestione della malattia di Crohn, soprattutto per definirne l'estensione (4) e per individuarne alcune complicanze (5).

La malattia di Crohn è associata ad una neovascolarizzazione della parete intestinale, come dimostrato da alcune caratteristiche istopatologiche (6) e dalla presenza di elevati livelli plasmatici di fattori angiogenici (7). L'uso delle tecniche ecografiche di color (8) e power-Doppler (9) ha evidenziato un aumentato flusso vascolare nella parete intestinale dei pazienti con malattia di Crohn attiva e la correlazione tra l'attività di malattia e la vascolarizzazione della parete intestinale è stata confermata anche dai risultati ottenuti con il Doppler pulsato (8,10,11); variazioni dell'attività clinica di malattia sono state dimostrate con l'analisi Doppler del flusso attraverso l'arteria mesenterica (12-16). L'approccio ecografico ha, tuttavia, diverse limitazioni compreso l'effetto operatore-dipendente, l'ampia variabilità tra pazienti e l'inadeguata visualizzazione della microvascolarizzazione della parete intestinale (17) che è stata invece resa possibile con l'avvento dell'ecografia con mezzo di contrasto. Sebbene numerosi autori abbiano riportato la loro esperienza personale, non c'è consensus sull'uso dell'ecografia con mezzo di contrasto (CEUS) nel definire l'attività clinica di malattia e si è ancora meno concordi su un suo possibile ruolo come strumento prognostico dell'outcome di malattia a breve termine. Nonostante i mezzi di contrasto di prima (18) e seconda generazione (19-22) siano in grado di visualizzare la microvascolarizzazione della parete intestinale e di definirne il pattern di vascolarizzazione mediante analisi SVP (studi di pattern di vascolarizzazione), una review di Maconi (5) ha riesaminato i dati provenienti da questi studi e ha

rilevato che la correlazione tra attività clinica di malattia e studi di pattern di vascolarizzazione di parete è associata ad un 30% di falsi positivi, e questo rende questo approccio strumentale inutilizzabile nella pratica clinica. Tuttavia, in letteratura, ci sono anche report riguardanti pazienti con malattia di Crohn in fase clinicamente quiescente e con un'intensa vascolarizzazione di parete che hanno sviluppato recidiva clinica di malattia dopo breve periodo di tempo.

SCOPO DELLO STUDIO.

Si tratta di uno studio prospettico basato sull'ipotesi eziopatogenetica che l'infiammazione della parete intestinale non sia correlata tanto alla quantità di parete vascolarizzata (e al pattern di vascolarizzazione) quanto piuttosto all'intensità del flusso attraverso questi vasi. Sono state effettuate misurazioni quantitative del flusso vascolare all'interno della parete intestinale attraverso un particolare software in grado di valutare l'intensità del flusso nel tempo attraverso i piccoli vasi della parete intestinale (studi intensità-tempo, SIT).

Lo scopo di questo studio è quindi quello di valutare la vascolarizzazione di parete mediante CEUS al fine di capire se nel nostro gruppo di pazienti si riscontra una correlazione tra studi del pattern vascolare (SVP) e/o tra studi delle curve intensità-tempo (SIT) e l'attività clinica di malattia al momento dell'esame ecografico (T0) e in un follow-up a 3 mesi (T3).

MATERIALI E METODI

Sono stati arruolati prospettivamente 30 pazienti consecutivi con diagnosi di malattia di Crohn confermata istologicamente, di cui 12 uomini e 18 donne con un'età media di 41.9 anni (range 24-71 anni). Le caratteristiche cliniche di questi pazienti sono riassunte nella tabella 1.

Tabella 1. Caratteristiche cliniche dei pazienti al momento dell'arruolamento.

	Totale	Uomini	Donne
	30	12	18
Età media	41.96	43	41.3
Range	24-71	28-71	24-69
Sede di malattia			
Ileo	6	4	2
Ileo-colon	19	6	13
Colon	5	1	4
Variante malattia			
Stenotica	8	6	2
Fistolizzante	11	5	6
Infiammatoria	11	6	5
CDAI			
CDAI < 150	22	10	12
CDAI > 150	8	1	7
DAI			
Remissione	20	9	11
Lieve attività	2	1	1
Moderata attiv.	7	1	6
Severa attiv.	1	0	1
Pregressa chirurgia			
NO	22	5	17
SI'	8	6	2
Terapia			
5-ASA	8	4	4
Cortisone	13	2	11
Anti-TNF	7	4	3
Azatioprina	2	1	1

Si tratta di pazienti ambulatoriali afferiti presso la nostra Unità Operativa di Gastroenterologia ed Epatologia dell'Ospedale "G. da Saliceto" di Piacenza, ma è importante ricordare che lo studio è stato condotto in collaborazione anche con il Dott. Bertone dell'U.O. di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva dell'Ospedale "S. Giovanni Vecchio" di Torino che ci ha fornito dati su alcuni pazienti.

La diagnosi di malattia di Crohn era stata effettuata con pancoloscopia con ileoscopia con biopsie; al momento dell'arruolamento a T0 i pazienti venivano sottoposti ad un'ecografia standard e poi ad un'ecografia con mezzo di contrasto.

Pochi giorni prima della CEUS, i pazienti avevano eseguito un prelievo per controllo degli esami ematici (emocromo, VES e PCR) e avevano compilato un questionario per valutare i sintomi di malattia (dolori addominali, febbre, numero di evacuazioni giornaliere, proctorragia, mucorrea). Sulla base della storia clinica, dell'esame obiettivo e dei test di laboratorio disponibili, per ciascuno di questi pazienti veniva calcolato il Crohn's Disease Activity Index (CDAI) (23,24) e lo score semplificato Disease Activity Index (DAI) (25). A 3 mesi dalla CEUS veniva effettuata visita di follow-up che includeva una valutazione dell'esame obiettivo, l'esecuzione di un'ecografia addominale convenzionale e il controllo degli stessi esami ematici richiesti a T0.

Esame ecografico convenzionale

I pazienti venivano sottoposti prima a un'ecografia addominale standard con una sonda convessa 3.5 MHz e in un secondo momento ad un'ecografia con sonda lineare 7.5 MHz per lo studio delle anse intestinali. L'esame condotto con sonda lineare si focalizzava sulla porzione malata dell'intestino (ileo o colon) o sul segmento considerato affetto dalla patologia attiva in base alla localizzazione del dolore addominale e alle caratteristiche ecografiche. In pazienti in cui la malattia era clinicamente silente si esaminava la porzione ritenuta malata di intestino o, se più segmenti intestinali erano interessati da malattia, il segmento con il massimo spessore di parete. Per ciascuno

dei segmenti esaminati, veniva valutato lo spessore di parete, la presenza/assenza di tutti e 3 gli strati della parete, la presenza di raccolte fluide e/o di fistole. Il Power Doppler veniva utilizzato per studiare la presenza di flusso vascolare a livello della parete o della vicina arteria mesenterica e i risultati ottenuti si esprimevano usando una scala semiquantitativa descritta da Esteban (8) (0: assenza di flusso = malattia inattiva; 1: segnale scarso: limitata attività; 2: alta intensità di segnale: malattia attiva). Il doppler pulsato veniva effettuato per misurare l'indice di resistenza (IR) e il cut-off utile per distinguere la malattia attiva da quella quiescente era stato definito pari a 0.65 (8).

Ecografia con mezzo di contrasto (CEUS)

La CEUS veniva eseguita con un mezzo di contrasto di seconda generazione (SonoVue) e con uno strumento ecografico dedicato con le armoniche tissutali nella scala del grigio. Con questa tecnica, i segnali che avevano origine dalle microbolle erano separati da quelli prodotti dai tessuti. Il segnale ecografico veniva elaborato in base ai cut-off della frequenza del segnale: quindi, lo scanner emetteva un piccolo segnale a banda larga e filtrava selettivamente i segnali di ritorno per isolare le armoniche tissutali. Questo produceva un'immagine che consisteva nel solo segnale originato dalle microbolle. L'uso di un basso potere acustico eliminava il rischio della rottura delle bolle e permetteva a tutte le fasi vascolari di poter essere analizzate in tempo reale. Questa tecnica è stata definita angiosonografia perfusionale per metterne in luce la sua natura dinamica. Ad ogni paziente veniva infusa una dose di SonoVue di 4.8 ml in bolo endovena, dose più elevata di quella normalmente usata per lo studio delle lesioni focali epatiche (26) perché l'esame richiedeva una prolungata perfusione e perché il trasduttore utilizzato impiegava degli indici meccanici relativamente alti che aumentavano il tasso di rottura delle bolle.

Come descritto in letteratura (27), i pattern di vascolarizzazione possibili erano 4: Pattern 1 (singolo strato) caratterizzato da intenso enhancement a tutto spessore della parete intestinale; Pattern 2 (doppio strato) caratterizzato da un enhancement confinato alla mucosa e alla sottomucosa e che

risparmiava la tonaca muscolare esterna; il Pattern 3 (triplo strato) nel quale la mucosa e gli strati muscolari non assumevano mezzo di contrasto che si accumulava solo nella sottomucosa; Pattern 4 caratterizzato dall'assenza di enhancement in tutti gli strati e che indicava presenza di tessuto cicatriziale. I pattern 1 e 2 erano considerati indicativi di malattia attiva e il pattern 3 e 4 di malattia in remissione.

CURVE INTENSITA'-TEMPO

Dopo l'iniezione del mezzo di contrasto, veniva effettuata una scansione della regione interessata per 180 secondi e lo schermo evidenziava l'esatto numero di secondi che erano intercorsi dall'infusione; l'esame veniva digitalmente registrato e lo scanner acquisiva i dati per l'elaborazione delle curve intensità-tempo (28-31) che venivano poi analizzate da uno specifico software. Venivano poi posizionate regioni di interesse (ROI) dello stesso calibro e le ROIs valutavano l'intera parete intestinale. L'esame veniva revisionato con un'analisi punto-per-punto delle curve di intensità-tempo e delle corrispondenti immagini della CEUS, in maniera tale che si ottenessero contemporaneamente sia determinazioni grafiche che morfologiche del transito del mezzo di contrasto (come evidenziato dalle Figure 1-3 tratte da una pubblicazione di De Franco e collaboratori). Il software calcolava automaticamente diversi parametri tra i quali l'area totale sotto la curva (AUC), l'area durante la fase diastolica AUC_{diast} , l'intensità media dell'AUC (IM), la pendenza del segmento compreso tra l'origine e il picco sistolico (pendenza sistolica) e la pendenza del segmento compreso tra il picco sistolico e diastolico (pendenza diastolica).

L'AUC rappresentava la quantità di mezzo di contrasto che passava attraverso una determinata area in un predefinito intervallo di tempo ed era espressione del flusso vascolare durante lo studio di quantizzazione. L' AUC_{diast} rappresentava il flusso vascolare attraverso la parete intestinale in fase portale e tardiva. L'intensità media dell'AUC (IM) rappresentava l'intensità media di flusso

registrata durante l'esame. Le due pendenze indicavano la velocità di riempimento in fase arteriosa (pendenza sistolica) e di svuotamento durante la fase portale e tardiva (pendenza diastolica).

Figura 1. Malattia di Crohn attiva in un ragazzo di 24 anni con CDAI di 294; alla CEUS progressivo enhancement della parete intestinale; analisi quantitativa indicativa di malattia attiva.

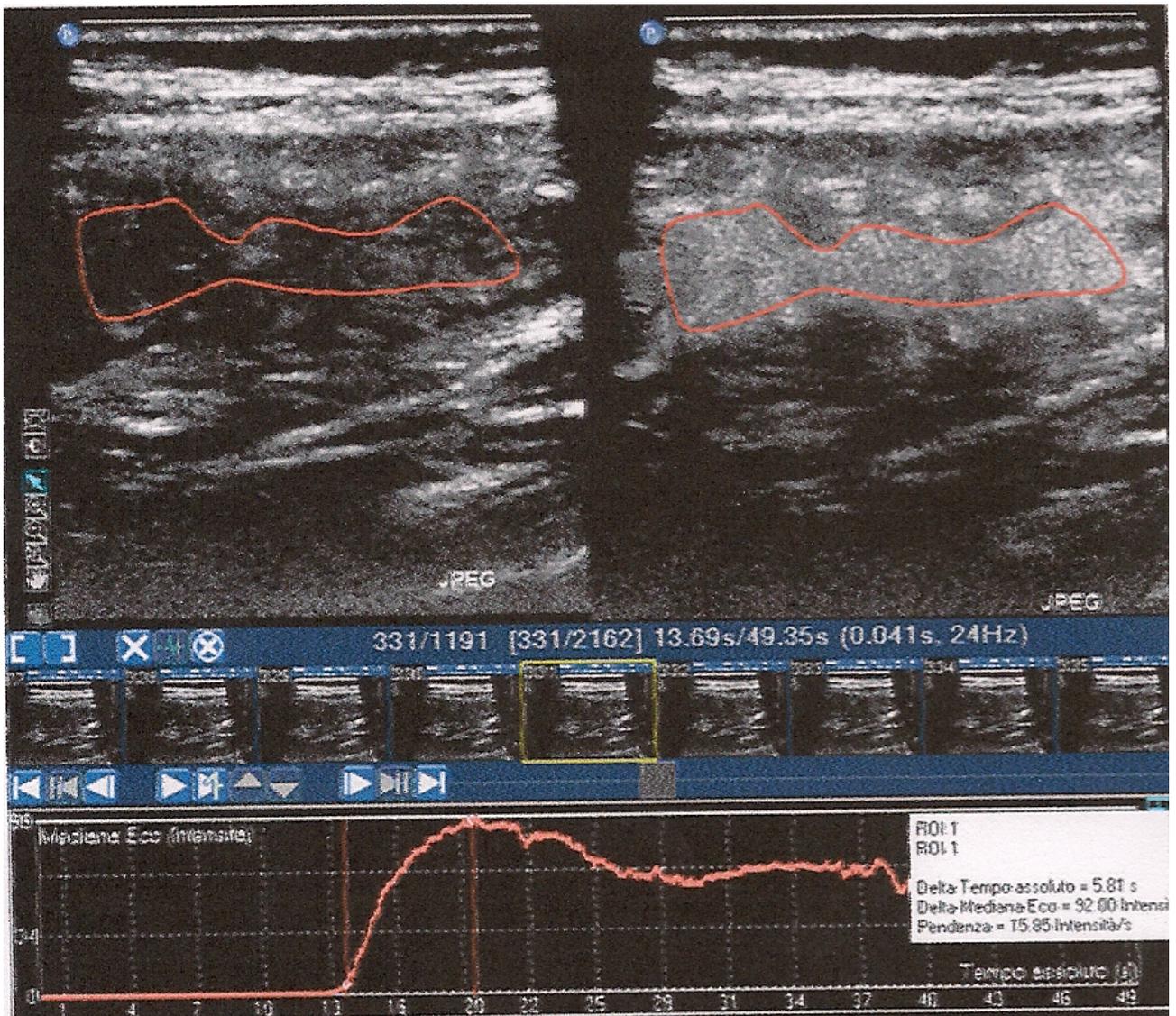


Figura 2. Malattia di Crohn attiva in un uomo di 31 anni con CDAI di 234; alla CEUS progressivo enhancement della parete intestinale; analisi quantitativa indicativa di malattia attiva.

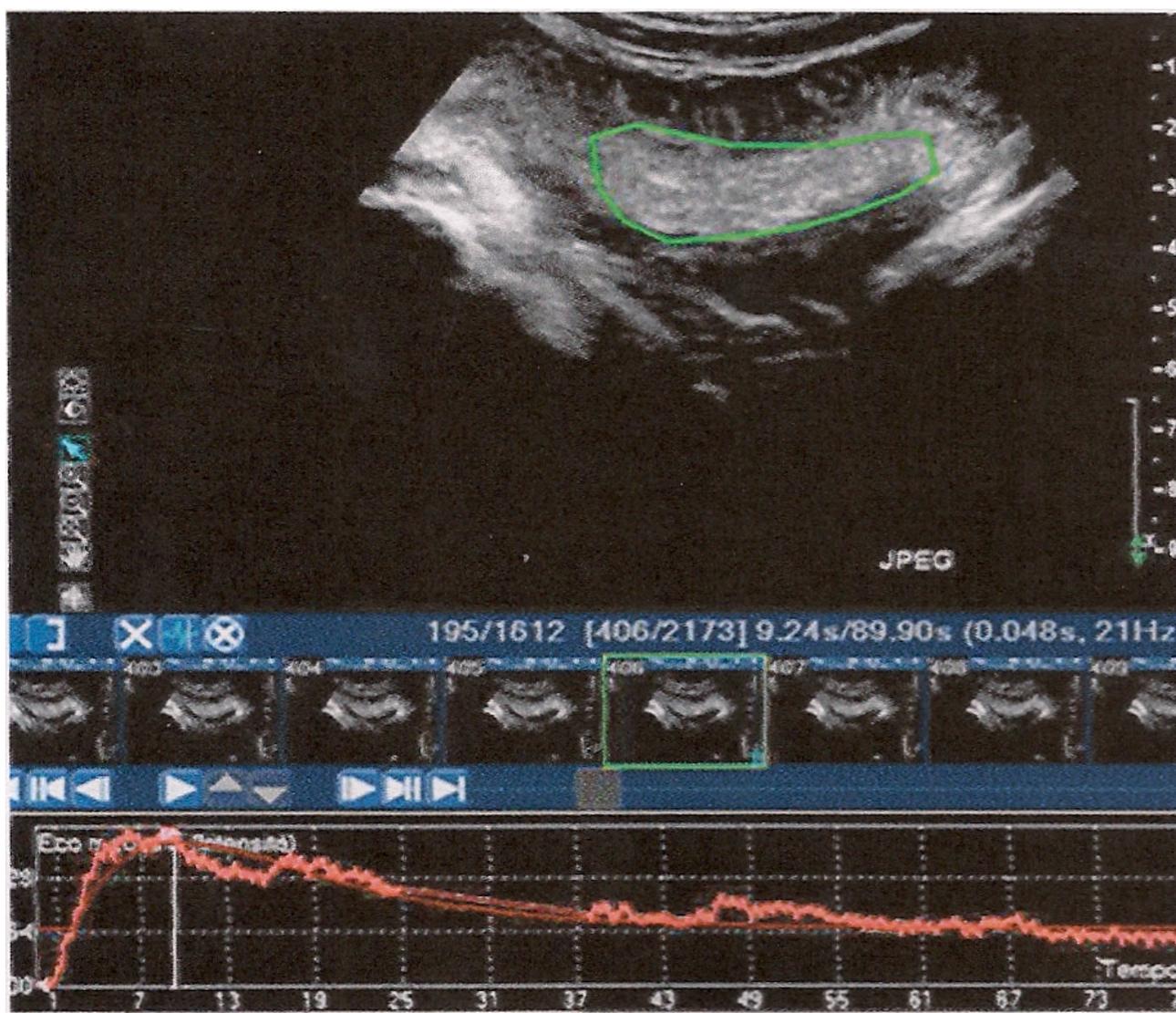
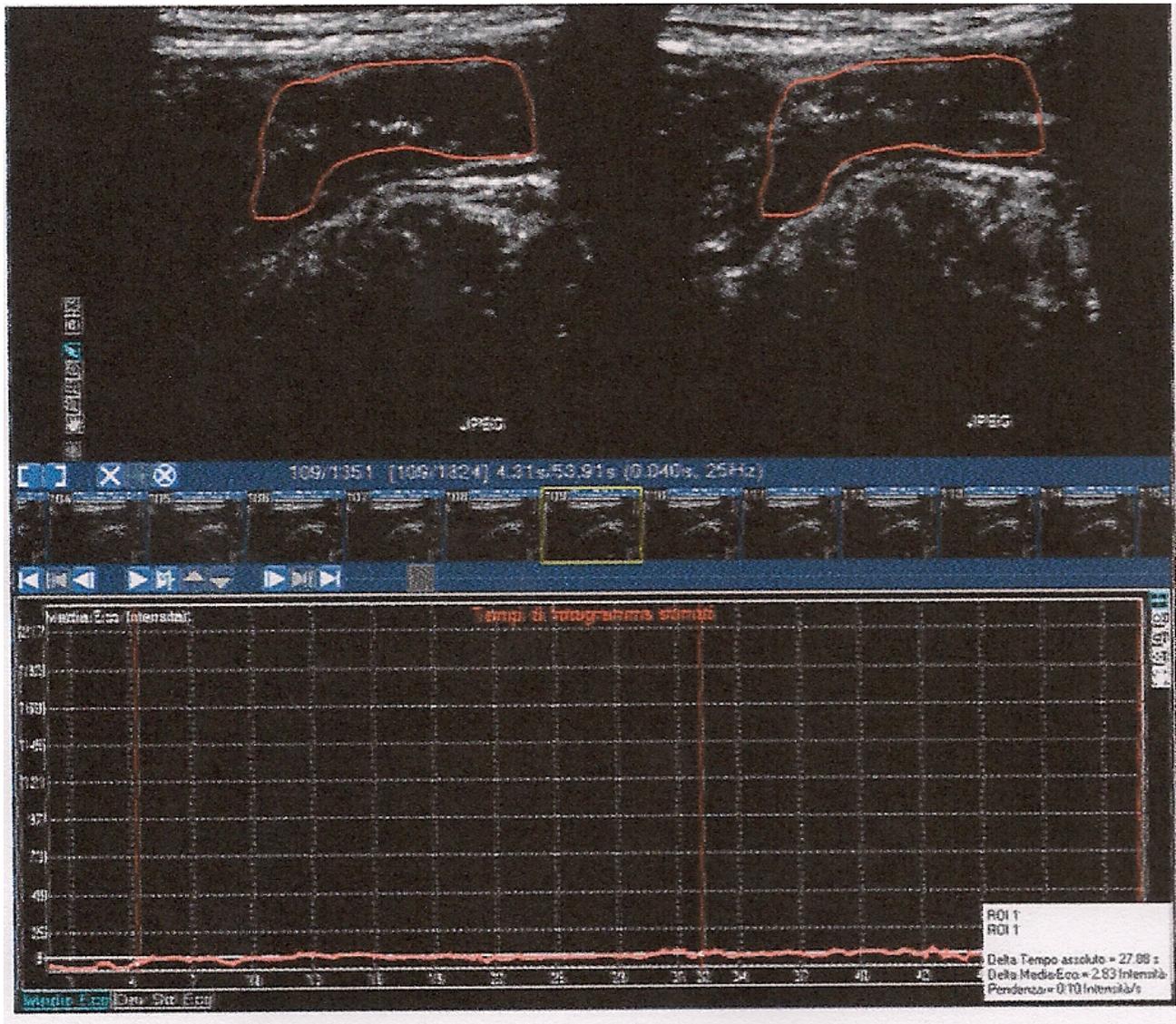


Figura 3. Malattia di Crohn in fase di remissione in ragazzo di 27 anni con CDAI < 150; alla CEUS assenza di enhancement della parete intestinale; analisi quantitativa indicativa di malattia silente.



Le figure 1, 2 e 3 sono state tratte dall'articolo "Ileal Crohn Disease: mural microvascularity quantified with contrast-enhanced US correlates with disease activity" di De Franco e collaboratori pubblicato su Radiology 2012; 262 (2): 680-688.

ANALISI STATISTICA

La sensibilità, la specificità, i valori predittivi positivi e negativi e l'accuratezza diagnostica venivano calcolati sia per la CEUS-SVP che per la CEUS-SIT al fine di predire l'attività clinica di malattia a T0 e a 3 mesi di follow-up. I dati venivano analizzati con un test "t-Student" e in tutte le analisi una P con un valore < 0.05 era considerata statisticamente significativa. I dati venivano estrapolati con l'aiuto del software SPSS 13.

RISULTATI

Al momento dell'esame (T0), 22 pazienti avevano un CDAI inferiore a 150 (corrispondenti DAI: 0-3 in 20 pazienti e 4-6 in 2 pazienti) e 8 avevano un CDAI superiore a 150 (corrispondenti DAI: 7-10 in 7 pazienti; 11-12 in 1 paziente). Diciannove pazienti (63.3%) avevano malattia ileocolica, 6 pazienti (20%) avevano malattia ileale e 5 (16.7%) avevano malattia localizzata al colon. La tabella 2 mostra le caratteristiche ecografiche confrontate con i due principali score di attività di malattia.

Lo spessore medio della parete intestinale misurato durante l'ecografia convenzionale era più alto nel gruppo con malattia attiva (8.1 mm) rispetto allo spessore medio della parete intestinale nei pazienti con malattia in remissione (7.1 mm).

La tipica struttura di parete a 3 strati veniva riscontrata in 20 pazienti, di cui 14 (70%) aveva una malattia quiescente. Dei dieci pazienti le cui pareti intestinali apparivano ipoecogene, solo 2 (20%) presentavano segni clinici di malattia. Nessuno dei pazienti aveva raccolte fluide nella cavità addominale; venivano individuate linfadenopatie in 3 pazienti con malattia attiva e fistole interne, come già descritto in letteratura (32).

Tabella 2. Caratteristiche ecografiche e cliniche di attività di malattia nei 30 pazienti a T0.

			Totale	CDAI < 150	CDAI > 150	DAI (0-3)	DAI (4-6)	DAI (7-10)	DAI (11-12)
Ecografia B-mode	Sede di malattia	Ileo	6	4	2	4	0	2	0
		Colon	5	2	3	2	0	3	0
		Ileo-colon	19	16	3	14	2	2	1
	Triplo strato	Presente	20	14	6	12	2	5	1
		Assente	10	8	2	8	0	2	0
Power	Vascularizzazione	Assente	7	7	0	6	1	0	0
		Moderata intensità	19	13	6	12	1	5	1
		Alta intensità	4	2	2	2	0	2	0
Doppler pulsato		IR medio	0.8	0.72	0.52	0.72	0.72	0.53	0.56
CEUS	SVP	Pattern 1	3	1	2	0	1	2	0
		Pattern 2	12	6	6	6	0	5	1
		Pattern 3	13	13	0	12	1	0	0
		Pattern 4	2	2	0	2	0	0	0
	SIT	AUC media	12.4	10.9	16.5	10.98	10.32	16.84	12.41
		IM media	8.5	7.6	11	7.7	6.67	11.2	9.65

Il power Doppler rilevava presenza di segnale vascolare in 23 pazienti ma un'intensa vascularizzazione in realtà si riscontrava solo in 4 pazienti (di cui due con malattia attiva e due con malattia silente).

Indici di resistenza superiori a 0.65 si registravano in 13 pazienti con malattia di Crohn in remissione ed indici di resistenza inferiori a 0.65 nei pazienti con malattia clinicamente attiva e in 6

pazienti con malattia silente a T0 e che avrebbero presentato recidiva da lì a 3 mesi. Il parametro dell'indice di resistenza presentava una significatività statistica ($p < 0.05$) nel permettere di distinguere la vascolarizzazione di un'ansa intestinale con malattia attiva da quella di una con malattia silente.

Gli studi di pattern vascolare CEUS-SVP riscontravano pattern vascolari di tipo 1 e 2 in tutti e 8 i pazienti con malattia clinicamente attiva e in 7 pazienti con malattia silente; solo 2 di questi 7 pazienti avrebbero presentato riattivazione di malattia durante il follow-up. I pattern 3 e 4 venivano identificati in 15 pazienti con malattia attiva a T0 e tre di questi pazienti (20%) avrebbero sperimentato una recidiva durante il follow-up. I pattern vascolari identificati con la CEUS-SVP non sembravano in grado, nella nostra esperienza, di discriminare tra pazienti con malattia di Crohn attiva al momento dell'esame e quelli che invece avrebbero subito una recidiva di malattia in corso di follow-up, sebbene sia giusto ricordare che un modesto aumento, seppur non significativo, dei pattern meno vascolarizzati 3 e 4, sia stato registrato tra i pazienti con malattia clinicamente non attiva ($p = ns$).

Le analisi delle curve intensità-tempo degli studi CEUS-SIT a T0 rilevavano valori medi di AUC pari a 10.9 (range 2.9-19) in pazienti con malattia non attiva al momento dell'esame e valori medi di 16.5 (range: 10.4-23.5) in pazienti con malattia attiva. I valori medi di IM per questi due sottogruppi erano rispettivamente di 7.2 (range: 1.6-10.81) e di 11 (range: 7-15.6). I valori di AUC ottenuti dagli studi CEUS-SIT a T0 venivano analizzati e si identificavano i valori cut-off per distinguere tra malattia attiva e quiescente. Il valore cut-off dell'AUC per malattia in remissione era di 15: solo un paziente con un AUC leggermente più bassa di 15 aveva presentato segni di malattia attiva in corso di follow-up. Il valore cut-off dell'IM era di 10: lo stesso paziente aveva valori di IM a T0 leggermente inferiori a 10 e presentò riacutizzazione clinica durante il follow-up.

Gli altri parametri quantitativi non venivano considerati perché in un terzo dei pazienti (10/30) non si era riusciti ad identificare il picco sistolico e conseguentemente l' AUC_{diast} , la pendenza sistolica e diastolica. Tra i pazienti stratificati in base al CDAI (Tabella 3) e in base al DAI (Tabella 4) a T0,

l' 82% (18/22) dei pazienti con CDAI e l'85% di quelli con DAI indicativi di malattia silente aveva un AUC inferiore a 15 e un' IM inferiore a 10 alla CEUS; il 75% (6/8) dei pazienti con CDAI e il 70% dei pazienti con DAI indicativi di malattia attiva aveva AUC superiori a 15 e IM superiore a 10; tuttavia, si registrava a T0 un' AUC superiore a 15 anche in una percentuale non trascurabile di pazienti con malattia quiescente (18% dei pazienti con CDAI e il 15% di quelli con DAI di malattia in remissione).

Tabella 3. Correlazione tra le caratteristiche ecografiche CEUS a T0 e l'attività clinica di malattia valutata con il CDAI a T0 e a T3.

	T0	T0	T3	T3
	CDAI < 150	CDAI > 150	CDAI < 150	CDAI > 150
	22	8	19	11
Pattern (SVP)				
Pattern 1	1	2	0	3
Pattern 2	6	6	7	5
Pattern 3	13	0	10	3
Pattern 4	2	0	2	0
Curve intensità-tempo				
AUC < 15 IM < 10	18	2	19	1
AUC > 15 IM > 10	4	6	0	10

Tabella 4. Correlazione tra le caratteristiche ecografiche CEUS a T0 e l'attività clinica di malattia valutata con il DAI a T0 e a T3.

	T0	T0	T3	T3
DAI	REMISSIONE	ATTIVITA'	REMISSIONE	ATTIVITA'
Pattern (SVP)				
Pattern 1	0	3	0	3
Pattern 2	6	6	7	5
Pattern 3	12	1	10	3
Pattern 4	2	0	2	0
Curve intensità-tempo				
AUC < 15 IM < 10	17	3	19	1
AUC > 15 IM > 10	3	7	0	10

Alla visita di follow-up a 3 mesi, diciannove pazienti erano in remissione clinica ed 11 presentavano segni di malattia clinicamente attiva; 5 di questi 11 pazienti (45%) a T0 avevano sia il CDAI che il DAI indicativi di malattia silente. In tutti e 5 casi, al power Doppler vi era stata evidenza di segnale vascolare ma gli indici di resistenza erano superiori a 0.65. In 3 dei 5 pazienti, la CEUS a T0 aveva mostrato un pattern vascolare 3 mentre negli altri 2 casi il pattern vascolare era quello di una malattia attiva (Pattern 1 in un caso e Pattern 2 nell'altro caso). La CEUS-SIT aveva rivelato che 4 dei 5 pazienti a T0 aveva AUC superiore a 15 e IM superiore a 10; il quinto paziente aveva valori di AUC e di IM lievemente inferiori rispettivamente a 15 e a 10. Gli altri 6 pazienti con malattia attiva a T3 avevano presentato malattia attiva già a T0. Solo due di questi pazienti a T0 avevano mostrato segnale Doppler indicativo di vascolarizzazione e solo 3 avevano alla CEUS a T0 un Pattern 1 indicativo di malattia attiva; mentre tutti e 6 i pazienti a T0 avevano alla CEUS-SIT, valori di AUC e di IM superiori rispettivamente a 15 e a 10.

La tabella 5 mostra i valori prognostici degli studi CEUS-SVP e CEUS-SIT nel predire lo stato di attività della malattia di Crohn rispetto al CDAI o al DAI calcolato al momento dell'esame (T0) ed a 3 mesi di follow-up (T3).

Tabella 5. Valori prognostici degli studi SVP e SIT mediante CEUS nel predire l'attività clinica della malattia di Cron calcolata in base al CDAI e al DAI a T0 e a T3.

	Malattia attiva	Remissione	SVP Veri positivi	SVP Falsi positivi	SVP Falsi negativi	SVP Veri negativi	SVP SENS	SVP SPEC	SVP AD	SVP VPP	SVP VPN
CDAI T0	8	22	8	7	0	15	100	68.2	69.5	53.3	100
DAI T0	10	20	9	6	1	14	90	70	69.5	60	93.3
CDAI T3	11	19	8	7	3	12	72.7	63.2	50	53.2	80
DAI T3	11	19	10	0	1	19	90.9	100	95.5	100	95
	Malattia attiva	Remissione	SIT Veri positivi	SIT Falsi positivi	SIT Falsi negativi	SIT Veri negativi	SIT SENS	SIT SPEC	SIT AD	SIT VPP	SIT VPN
CDAI T0	8	22	6	4	2	18	75	81.8	75	60	90
DAI T0	10	20	7	3	3	17	70	85	75	70	85
CDAI T3	11	19	10	0	1	19	90.9	100	96.55	100	95
DAI T3	11	19	10	0	1	19	90.9	100	96.55	100	95

Legenda: SENS: sensibilità; SPEC: specificità; AD: accuratezza diagnostica; VPP: valore predittivo positivo; VPN: valore predittivo negativo.

A T0, l'analisi SPV aveva prodotto 8 veri positivi, 15 veri negativi, 7 falsi positivi e 0 falsi negativi e risultava avere sensibilità del 100% e specificità del 68.2%, un' accuratezza diagnostica bassa del 69.5%, un valore predittivo negativo del 100% e un valore predittivo positivo del 53.3%. L' analisi SIT produceva tra i risultati 6 veri positivi, 18 veri negativi, 4 falsi positivi e 2 falsi negativi e risultava avere sensibilità del 75% e specificità del 81.8%, un'accuratezza diagnostica del 75%, un valore predittivo positivo del 60% e un valore predittivo negativo del 90%. A T3, l'analisi SVP rilevava 8 veri positivi, 12 veri negativi, 7 falsi positivi e 3 falsi negativi attestandosi intorno a una sensibilità del 72.7% e a una specificità del 63.2%, un'accuratezza diagnostica del 50%, un valore predittivo positivo del 53.2% e un valore predittivo negativo dell' 80%. A T3, gli studi CEUS-SIT individuavano 10 veri positivi, 19 veri negativi, 0 falsi positivi e 1 falso negativo attestandosi intorno a una sensibilità del 90.9%, specificità del 100%, un'accuratezza diagnostica del 96.5%, un valore predittivo positivo del 100% e un valore predittivo negativo del 95%. Gli studi di pattern vascolare CEUS-SVP mostravano quindi un'alta sensibilità (100%) e una bassa specificità (68%) nel predire l'attività di malattia al momento dell'esame (T0) e la loro accuratezza diagnostica nel predire lo stato dell'attività di malattia nel follow-up a breve termine risultava essere bassa. Invece, gli studi delle curve intensità-tempo CEUS-SIT non apparivano né sensibili né specifici nella determinazione dell'attività di malattia a T0 ma la loro accuratezza diagnostica nel predire lo stato di attività di malattia a 3 mesi di follow-up era elevata e pari al 96.5%.

DISCUSSIONE

La malattia di Crohn è una malattia infiammatoria cronica intestinale caratterizzata da fasi di recidiva clinica alternati a fasi di remissione. La maggior parte dei pazienti richiede ripetute valutazioni dell'attività di infiammazione transmurale per poter ottimizzare il trattamento (33). Il Cronhn's Disease Acitivity Index (CDAI) è un indice che si basa sulla condizione soggettiva del paziente e viene utilizzato di solito nei trial terapeutici per monitorare l'attività clinica di malattia (34-39). Altri score come il DAI sono stati usati ma nessuno di questi approcci riesce a fornire una stadiazione ottimale della malattia né tanto meno a predire l'evoluzione della malattia a breve termine. Dopo l'avvento degli immunosoppressori e della terapia biologica, l'obiettivo della terapia medica è diventata la guarigione mucosale che sembra essere associata ad una diminuita frequenza di ospedalizzazioni e di interventi chirurgici (40,41). L'esame endoscopico è tuttavia invasivo, poco piacevole, non può essere continuamente ripetuto e non permette lo studio dei segmenti prossimali dell'intestino. Il processo infiammatorio attiva la microcircolazione intramurale e stimola l'angiogenesi all'interno delle anse intestinali ispessite: l'ipervascolarizzazione di parete può essere individuata con la tomografia computerizzata (TC), in grado di fornire dati che ben correlano con quelli che si possono ottenere con l'endoscopia (42). Anche la risonanza magnetica con gadolinio garantisce una buona descrizione dell'angiogenesi e dell'infiammazione della parete intestinale rispetto a quello che è il quadro clinico ed istologico (43). Sia la tomografia computerizzata che la risonanza magnetica non possono essere utilizzati per ottenere ripetute determinazioni dell'attività di malattia, la prima per l'eccessiva dose di radiazioni a cui i pazienti sarebbero esposti (44) e la seconda per i costi elevati e per la complessità della tecnologia. Servono quindi metodiche alternative riproducibili e oggettive per misurare l'attività infiammatoria della parete intestinale. Alcuni studi hanno evidenziato che lo spessore della parete intestinale misurato con un'ecografia addominale e l'analisi della vascolarizzazione mediante color Doppler sembrano correlare con gli indici di attività clinica di malattia (8,9) e di attività endoscopica (11,45) in pazienti con malattia di

Crohn attiva e in caso di risposta alla terapia medica (46,47). Il grado di vascolarizzazione della parete intestinale è stato misurato in diversi modi in corso di ecografia convenzionale B-mode attraverso il calcolo dell'indice di resistenza nell'arteria mesenterica superiore (12-16), attraverso l'analisi degli indici di resistenza delle arterie localizzate all'interno del segmento intestinale affetto da malattia (8-11,18) e attraverso l'uso di power Doppler combinato all'ecografia con mezzi di contrasto di prima generazione ma nessuno di questi metodi fornisce informazioni sulla microvascolarizzazione della parete intestinale. La recente introduzione di mezzi di contrasto di seconda generazione permette la visualizzazione in real-time dei piccoli vasi della parete intestinale infiammata ottenendo immagini con una risoluzione simile a quella della TC e della RM (48). Il problema che è emerso dagli studi che hanno analizzato il pattern vascolare di pazienti con malattia di Crohn è che un intenso enhancement della parete intestinale si è riscontrato dal 36.5% (19/52 pazienti) (19) al 38.6% (8/21) (20) di pazienti con malattia attiva ma anche nel 26.6% (4/15) (22) dei pazienti in remissione. Anche nella nostra esperienza, su 15 pazienti con pattern vascolare di tipo 1 e 2, 7 pazienti (46.6%) in realtà aveva una malattia clinicamente silente. Maconi e colleghi, per questo fattore confondente, ritengono che vi sia una limitata correlazione tra il tipo di pattern vascolare del segmento intestinale affetto da malattia e l'attività della malattia di Crohn (5). Una conferma aggiuntiva deriva da un'analisi semiquantitativa che non ha individuato un'associazione tra il CDAI e la quantità di parete vascolarizzata in corso di malattia di Crohn (20). Uno studio di Ripollès condotto su 61 pazienti, ha evidenziato invece un aumento significativo del contrast-enhancement della parete intestinale in pazienti che avevano una malattia endoscopicamente attiva rispetto a pazienti con una parete intestinale endoscopicamente normale ($p < .001$) (49). Vista la discrepanza dei dati presenti in letteratura, si è ipotizzato che il problema di questi approcci sia il fatto che la valutazione dell'enhancement di parete sia una valutazione soggettiva e che forse le analisi quantitative avrebbero potuto permettere una misura oggettiva della vascolarizzazione della parete intestinale con l'aiuto dei mezzi di contrasto (20,48). Nello studio della Serra e colleghi, 48 pazienti con malattia di Crohn dell'ileo terminale venivano sottoposti a CEUS e la presenza di

“abbondante” o di “debole” enhancement era indicatore di attività di malattia (intesa come CDAI > 150) con una sensibilità dell’ 81% e specificità del 63% (27). Gli stessi autori svilupparono un parametro quantitativo che era il rapporto E/W (dove E era il massimo ispessimento dello strato con enhancement e W era l’ispessimento complessivo della parete intestinale) ma questa misura quantitativa garantiva sensibilità dell’ 81% e specificità comunque bassa del 55% nel predire l’attività di malattia (27). Migaletto e colleghi hanno sviluppato uno score semiquantitativo di attività infiammatoria legata ad alcune caratteristiche del tipo di contrast-enhancement durante CEUS: questo score ha mostrato ottime correlazioni con il CDAI e con caratteristiche endoscopiche ed istologiche di attività di malattia (50). Un recente studio di De Franco condotto su 54 pazienti con malattia di Crohn dell’ileo terminale ha sottolineato una forte associazione tra due parametri quantitativi ottenuti mediante CEUS (cioè l’ IMP che è il picco di intensità media e il coefficiente beta che è il coefficiente di pendenza del riempimento del mezzo di contrasto) e l’attività di malattia; tra i due parametri l’ IMP esprime migliori performance soprattutto in termini di valori predittivi positivi e negativi e gli autori hanno elaborato delle curve luminosità-tempo e calcolato l’AUC (51).

Nel nostro studio, il 18% dei pazienti (4/22), in cui le analisi delle curve intensità-tempo mostravano un’AUC superiore a 15 e un’IM superiore a 10, erano in realtà in fase di remissione clinica e quindi la CEUS non sembrava fornire una dettagliata e adeguata rappresentazione dell’attività di malattia soprattutto nelle forme quiescenti di malattia di Crohn (come indicato dalla sua bassa specificità). Dati molto simili sono stati pubblicati da Heine e collaboratori (10) che suggeriscono che la presenza di flusso individuata con il color-Doppler possa correlare con l’attività di malattia in pazienti con rettocolite ulcerosa ma non in pazienti con malattia di Crohn.

Tuttavia, nella pratica clinica, è frequente osservare come la presenza di vascolarizzazione della parete intestinale in pazienti con malattia di Crohn in fase quiescente possa essere un fattore prognostico di un’imminente recidiva di malattia. La nostra esperienza ha evidenziato che nel sottogruppo di pazienti con malattia clinicamente silente ma con intensa vascolarizzazione della

parete intestinale si possa verificare una recidiva clinica di malattia entro 3 mesi e che l'accuratezza diagnostica delle curve intensità-tempo nel prevedere una recidiva clinica a breve termine è del 96.5%.

De Pascale e colleghi descrissero 4 su 15 pazienti con malattia di Crohn in remissione al momento della CEUS in cui era evidente la vascolarizzazione della parete intestinale e in cui si verificò una recidiva in circa 3 mesi; questi autori riportarono un falso positivo (22) . Nel nostro studio, c'è un falso negativo che è il paziente con malattia clinicamente silente che ha sviluppato una recidiva a 3 mesi in cui i valori di AUC e IM alla CEUS erano solo lievemente inferiori al cut-off.

Il limite del nostro studio è ovviamente l'esiguo numero di pazienti arruolati e per questo motivo altri studi di conferma saranno necessari. Un altro limite è legato al segmento intestinale da andare ad analizzare anche se è importante ricordare che in questi pazienti, di solito, si conosce il sito o i siti di interessamento della malattia e che, se c'è una localizzazione di malattia in più sedi, si possono effettuare anche più determinazioni ecografiche. Il terzo limite è lo standard di riferimento cioè il CDAI e il DAI che non rappresentano un quadro globale della malattia e soprattutto non ci forniscono informazioni sulle caratteristiche endoscopiche di malattia.

In conclusione, l'attività di malattia in pazienti con morbo di Crohn è definita sulla base delle condizioni cliniche generali del paziente insieme ad alcuni importanti dati di laboratorio, di imaging ed endoscopici. L'ecografia con mezzo di contrasto potrebbe rappresentare un ottimo strumento da utilizzare nella gestione del follow-up dei pazienti con malattia di Crohn: essa rappresenta un metodo non invasivo e permette una visione panoramica del piccolo intestino; inoltre, fornisce una valutazione quantitativa oggettiva dello stato della microcircolazione intramurale che sembra riflettere l'intensità dell'attività infiammatoria durante le esacerbazioni acute di malattia (48). Nei pazienti che sembrano essere in remissione, se l'ecografia con mezzo di contrasto documenta un'aumentata vascolarizzazione di parete potrebbe essere indicativa di una possibile prossima recidiva di malattia (8,48,52,53). Il nostro studio ha confermato l'uso della CEUS nella gestione dei pazienti con malattia di Crohn auspicando l'utilizzo delle curve intensità-tempo che sembrano

possedere un'elevata accuratezza diagnostica nel predire l'outcome a breve termine della malattia e la possibilità di eventuali recidive cliniche.

BIBLIOGRAFIA

1. Sonnenberg A, Erckenbrecht J, Peter P, Niederau C. Detection of Crohn's disease by ultrasound. *Gastroenterology* 1982; 83 (2): 430-434.
2. Pera A, Cammarota T, Comino E et al. Ultrasonography in the detection of Crohn's disease and in the differential diagnosis of inflammatory bowel disease, *Digestion* 1988; 41 (3): 180-184.
3. Worliceck H, Lutz H, Heyder N, Matek W. Ultrasound findings in Crohn's disease and ulcerative colitis: a prospective study. *J Clin Ultrasound* 1987; 15 (3): 153-163.
4. Fraquelli M, Colli A, Casazza G et al. Role of US in detection of Crohn's disease: meta-analysis. *Radiology* 2005; 236 (1): 95-101.
5. Maconi G, Radice E, Greco S, Bianchi Porro GB. Bowel ultrasound in Crohn's disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20 (1): 93-112.
6. Wakefield AJ, Sawyerr Am, Dhillon Ap et al. Pathogenesis of Crohn's disease: multifocal gastrointestinal infarction. *Lancet* 1989; 2 (8671): 1057-1062.
7. Bousvaros A, Zurakowski D, Fishman SJ et al. Serum basic fibroblast growth factor in pediatric Crohn's disease. Implications for wound healing. *Dig Dis Sci* 1997; 42 (2): 378-386.
8. Esteban JM, Maldonado L, Sanchiz V et al. Activity of Crohn's disease assessed by color Doppler ultrasound analysis of the affected loops. *Eur Radiol* 2001; 11 (8): 1423-1428.
9. Spalinger J, Patriquin H Miron MC et al. Doppler US in patients with Crohn's disease: vessel density in the diseased bowel reflects disease activity. *Radiology* 2000; 217 (3): 787-791.
10. Heyne R, Rickes S, Bock P et al. Non-invasive evaluation of criteria for the activity of Crohn's disease by power Doppler sonography. *Z Gastroenterol* 2002; 40 (3): 171-175.

11. Neye H, Voderholzer W, Rickes S et al. Evaluation of criteria for the activity of Crohn's disease by power Doppler sonography. *Dig Dis* 2004; 22 (1): 67-72.
12. Bolondi L, Gaiani S, Brignola C et al. Changes in splanchnic hemodynamics in inflammatory bowel disease. Non-invasive assessment by Doppler ultrasound flowmetry. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27 (6): 501-507.
13. Maconi G, Imbesi V, Bianchi Porro GB. Doppler ultrasound measurement of intestinal blood flow in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31 (6): 645-650.
14. Van Oostayen JA, Wasser MN, van Hogezaand RA et al. 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. *Am J Roentgenol* 1997; 168 (2): 429-433.
15. Maconi G, Parente F, Bollani S et al. Factors affecting splanchnic hemodynamics in Crohn's disease: a prospective controlled study using Doppler ultrasound. *Gut* 1998; 43 (5): 645-650.
16. Yekeler E, Danalioglu A, Movasseghi B et al. Crohn disease activity evaluated by Doppler ultrasonography of the superior mesenteric artery and the affected small-bowel segments. *J Ultrasound Med* 2005; 21 (1): 59-65.
17. MacKalski BA, Bernstein CN. New diagnostic imaging tools for inflammatory bowel disease. *Gut* 2006; 55 (5): 733-741.
18. Di Sabatino A, Armellini E, Corazza GR. Doppler sonography in the diagnosis of inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2004; 22 (1): 63-66.
19. Robotti D, Cammarota T, Debani P et al. Activity of Crohn's disease: value of Color-Power Doppler and contrast-enhanced ultrasonography. *Abdom Imaging* 2004; 29 (6): 648-652.
20. Kratzer W, Schmidt SA, Mittrach C et al. Contrast-enhanced wideband harmonic imaging ultrasound (SonoVue): a new technique for quantifying bowel wall vascularity in Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40 (8): 985-991.

21. Guidi L, et al. Contrast-enhanced ultrasonography with SonoVue after infliximab therapy in Crohn's disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2006; 10 (1): 23-26.
22. De Pascale A, Garofalo G, Perna M et al. Contrast-enhanced ultrasonography in Crohn's disease. *Radiol Med* 2006; 111 (4): 539-550.
23. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *Br Med J* 1995; 2 (4947): 1041-1048.
24. Best WR, Beckett JM, Singleton JW. Rederived values of the eight coefficients of the Crohn's Disease Activity Index (CDAI). *Gastroenterology* 1979; 77 (4 Pt 2): 843-846.
25. Schroeder KW, Tremaine WJ, Ilstrup DM. Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis. A randomized study. *N Engl J Med* 1987; 317 (26): 1625-1629.
26. Bokor D. Diagnostic efficacy of SonoVue. *Am J Cardiol* 2000; 86 (4A): 19G-24G.
27. Serra C, Menozzi G, Labate Am et a. 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* 2007; 62 (1): 114-121.
28. Li J, Dong BW, Yu XL et al. Time-intensity-based quantification of vascularity with single-level dynamic contrast-enhanced ultrasonography: a pilot animal study. *J Ultrasound Med* 2005; 24 (7): 975-983.
29. Krix M, Plathow C, Kiessling F et al. Quantification of perfusion of liver tissue and metastases using a multivessel model for replenishment kinetics of ultrasound contrast agents. *Ultrasound Med Biol* 2004; 30 (10): 1355-1363.
30. Zhou X, Strobel D, Haensler J, Bernatik T. Hepatic transit time: indicator of the therapeutic response to radiofrequency ablation of liver tumours. *Br J Radiol* 2005; 78 (929): 433-436.

31. Metoki R, Moriyasu F, Kamiyama N et al. Quantification of hepatic parenchymal blood flow by contrast ultrasonography with flash-replenishment imaging. *Ultrasound Med Biol* 2006; 32 (10): 1459-1466.
32. Maconi G, Di Sabatino A, Ardizzone S et al. Prevalent and clinical significance of sonographic detection of enlarged regional lymph nodes in Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40 (11): 1328-1333.
33. Stange EF, Travis SP, Vermeire S et al. European evidence-based consensus on the diagnosis and the management of Crohn's disease: definition and diagnosis. *Gut* 2006; 55 (Suppl) 1: i1-i15.
34. Otley A, Steinhart AH. Budesonide for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (4). CD000296.
35. MacDonald J, Feagan BG, Jewell D et al. Cyclosporine for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (2): CD000297.
36. Alfadhli AA, McDonald JW, Feagan BG. Methotrexate for induction of remission in refractory Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (1). CD003459.
37. MacDonald J. Natalizumab for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; (1). CD006097.
38. Rolfe VE, Fortun PJ, Hawkey CJ et al. Probiotics for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; (4). CD004826.
39. Cellier C, Sahnoud T, Froguel E et al. Correlations between clinical activity, endoscopic severity and biological parameters in colonic or ileocolonic Crohn's disease. A prospective multicentre study of 121 cases. The Groupe d'Etudes Therapeutiques des Affections Inflammatoires Digestives. *Gut* 1994; 35 (2): 231-235.
40. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P et al. Altering the natural history of Crohn's disease: evidence for and against current therapies. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25 (1): 3-12.

41. Froslic KF, Johnsen J, Moum BA et al; Ibsen Group. Mucosal healing in inflammatory bowel disease: results from a Norwegian population-based cohort. *Gastroenterology* 2007; 133: 412-422.
42. Colombel JF, Solem CA, Sandborn WJ et al. Quantitative measurement and visual assessment of ileal Crohn's disease activity by computed tomography enterography: correlation with endoscopic severity and C reactive protein. *Gut* 2006; 55 (11): 1561-1567.
43. Taylor SA, Punwani S, Rodriguez-Justo M et al. Mural Crohn's disease: correlation of dynamic contrast-enhanced MR imaging findings with angiogenesis and inflammation at histologic examination-pilot study. *Radiology* 2009; 251 (2): 369-379.
44. Allen BC, Baker ME, Einstein DM et al. Effect of altering automatic exposure control settings and quality reference mAs on radiation dose, image quality, and diagnostic efficacy in MDCT enterography of active inflammatory Crohn's disease. *AM J Roentgenol* 2010; 195 (1): 89-100.
45. Haber HP, Busch A, Ziebach R et al. Ultrasonographic findings correspond to clinical, endoscopic, and histologic findings in inflammatory bowel disease and other enterocolitides. *J Ultrasound Med* 2002; 21: 375-382.
46. Ruess L, Nusbamm AR, Bulas D et al. Inflammatory bowel disease in children and young adults: correlation of sonographic and clinical parameters during treatment. *Am J Roentgenol* 2000; 175: 79-84.
47. Ripolles T, Martinez MJ, Barrachina M. Crohn's disease and color Doppler sonography: response to treatment and its relationship with long-term prognosis. *J Clin Ultrasound* 2008; 36: 267-272.
48. Pauls S, Gabelmann A, Schmidt SA et al. Evaluating bowel wall vascularity in Crohn's disease: a comparison of dynamic MRI and wideband harmonic imaging contrast-enhanced low MI ultrasound. *Eur Radiol* 2006; 16: 2410-2417.

49. Ripolles T, Martinez MJ, Paredes JM et al. Crohn disease: correlation of findings at contrast-enhanced US with severity at endoscopy. *Radiology* 2009; 253 (1): 241-248.
50. Migaleddu V, Scanu AM, Quaia E et al. Contrast-enhanced ultrasonographic evaluation of inflammatory activity in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2009; 137 (1): 43-52.
51. De Franco A, Di Veronica A, Armuzzi A et al. Ileal Crohn Disease: mural microvascularity quantified with contrast-enhanced US correlates with disease activity. *Radiology* 2012; 262 (2): 680-688.
52. Ludwig D, Wiener S, Bruning A et al. Mesenteric blood flow is related to disease activity and risk of relapse in Crohn's disease: a prospective follow-up study. *Am J Gastroenterol* 1999; 94 (10): 2942-2950.
53. Schlotmann K, Kratzer W, Scholmerich J. Doppler ultrasound and intravenous contrast agents in gastrointestinal tract disorders: current role and future implications. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17(3): 263-275.