



available at www.sciencedirect.com



journal homepage: www.elsevier.com/locate/jus



L'impiego delle curve di intensità-tempo ottenute con l'ecografia con mezzo di contrasto (CEUS) nella valutazione dei pazienti con malattia di Crohn: correlazioni con gli indici di attività di malattia al momento dell'esame nel follow-up in 30 pazienti

Predictive value of time-intensity curves obtained with contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) in the follow-up of 30 patients with Crohn's disease.

F. Giangregorio^{a*}, A. Bertone^b, L. Fanigliulo^a, G. Comparato^a, G. Aragona^a, M.G. Marinone^a, G. Sbolli^a, P. Tansini^a, F. Fornari^a

^a Unità Operativa di Gastroenterologia, Epatologia ed Endoscopia Digestiva, Ospedale "Guglielmo da Saliceto", Piacenza

^b Unità Operativa di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva, Ospedale "San Giovanni Vecchio", Torino

Indirizzo per corrispondenza. Francesco Giangregorio; Reparto di Gastroenterologia, Epatologia ed Endoscopia Digestiva, Ospedale "Guglielmo da Saliceto", Via Taverna 49, 29100 Piacenza, Italy

E-mail address: f.giangregorio@ausl.pc.it; fam.giangregorio@alice.it

Sommario *Obiettivi:* La CEUS è in grado di quantificare accuratamente la microvascolarizzazione della parete intestinale nel Crohn.

Ipotesi: L'infiammazione della parete intestinale non è correlata con la quantità di parete vascolarizzata (studi di patterns di vascolarizzazione- SPV), ma con il grado di flusso di parete durante un periodo di tempo (studi di intensità-tempo-SIT). Obiettivo è stato capire se gli studi SPV o quelli SIT con CEUS fossero espressione dell'infiammazione vascolare della parete intestinale e fossero correlabili con l'attività clinica di malattia (T0) o nel follow-up (3 e 6 mesi: T3, T6).

Materiali e Metodi: 30 Crohn (M: 12; F: 18; età media: 41.96; terapia: 8 Pts 5-ASA; 13 steroide; 7 ANTI-TNF; 2 azatioprina) sono stati seguiti per almeno 6 mesi e studiati con CEUS SPV e con CEUS SIT. E' stato utilizzato come mezzo di contrasto il SonoVue (BR1, Bracco) ed un ecografo dedicato (TECHNOS MPX, Esaote) con software per curve di time intensity. 4 pattern vascolari (1: tutta la parete vascolarizzata; 2: più del 50% di parete con vascolarizzazione; 3: flusso solo all'interno della sottomucosa; 4: nessun segnale). Un'analisi semiquantitativa è stata ottenuta misurando l'area sotto la curva - AUC- (cut off tra attività ed inattività=15), l'intensità media - MI- (cut off=10). Tutti gli esami sono stati eseguiti per 150 secondi, registrati ed analizzati in modo digitale.

Risultati: T0: CDAI <150 in 22 pts; cDAI > 150 in 8; T3: 22 pts con CDAI<150, 8 con CDAI >150. A T0 sia la CEUS SPV che la SIT hanno ottenuto bassa specificità, accuratezza diagnostica e valore predittivo negativo (p=ns); la CEUS SPV ha dato a T0: 8 VP, 15 VN, 8 FP, 0 FN (sens: 100%; spec: 68,2%; acc diagn: 69,5%; VPP: 100%; VPN: 53.3%); la CEUS SIT ha conseguito a T0: 6 VP, 18 VN, 4 FP, 2 FN (sens: 75%; spec: 81,8%; acc diagn: 75%; VPP: 60%; VPN: 90%). La CEUS SPV ha raggiunto a T3: 8 VP, 12 VN, 7 FP, 3 FN (sens: 72.7%; spec: 63,2%; acc diagn: 50%; VPP:

53,3%; VPN: 80%). La CEUS SIT invece ha invece ottenuto i seguenti risultati: 10 VP, 19 VN, 0 FP, 1 FN (sens: 90,9%; spec: 100%; acc diagn: 96,5%; VPP: 100%; VPN: 95%).

A T3 la CEUS SVP ha una bassa sensibilità ed una bassa accuratezza diagnostica, mentre la SIT è in grado in tutti i casi eccetto uno (che riattiva dopo 6 mesi) di prevedere l'attività clinica durante il follow-up (p=0.001)

Conclusioni: Solo la CEUS-SIT ha dimostrato di essere espressione dell'infiammazione vascolare della parete intestinale del Crohn e capace di predire, nel follow-up, il suo tipo di attività.

Parole Chiave: Malattia di Crohn; Ecografia; Mezzo di contrasto ecografico; Ecografia con mezzo di contrasto; Indice di attività della malattia di Crohn; attività della malattia

Abstract Objectives: CEUS can provide accurate quantitative estimates of intestinal wall microvascularization in Crohn's disease. We hypothesized that inflammation of the intestinal wall is correlated not with the amount of wall vascularization (study of vascularization patterns, SVP) but with the degree of wall flow during a period of time (time-intensity study, TIS). Our objective was to discover whether CEUS-SPV and/or CEUS-TIS reflect(s) vascular inflammation of the intestinal wall and display(s) correlation with clinical activity of the disease at the time of the examination (T0) or at the 3- and 6-month follow-up (T3, T6).

Materials and methods: 30 patients with Crohn's disease (12 men, 18 women, mean age: 41.96 years; treatment: 5-ASA (n=8), steroids (n=13), anti-TNF (n=7), azathioprine (n=2) were studied with CEUS-SPV and CEUS-TIS and followed for at least 6 months. The sonographic examinations were performed with SonoVue (BR1, Bracco) and a dedicated scanner (TECHNOS MPX, Esaote) equipped with software for calculation of time-intensity curves. Four vascular patterns (1: vascularization of the entire wall; 2: vascularization of > 50% of the wall; 3: flow exclusively within the submucosal layer; 4: no signal). The semiquantitative analysis consisted in measurement of the area under the curve (AUC) (cut-off between active and inactive disease, 15), mean intensity (IMA) (cut-off=10). Each examination (180 seconds) was digitally recorded and analyzed.

Results: T0: cDAI <150 in 22 pts; cDAI > 150 in 8; T3: 22 pts. with cDAI<150, 8 with cDAI >150. At T0 CEUS-SPV and CEUS-TIS both displayed low specificity, diagnostic accuracy, and negative predictive values (p=ns). At T0, CEUS SPV produced 8 true positives (TP), 15 true negatives (TN), 8 false positives (FP), 0 false negative (FN) (sensitivity: 100%; specificity: 68.2%; diagnostic accuracy: 69.5%; Positive predictive value (PPV): 100%; negative predictive value (NPV: 53.3%), and CEUS TIS produced 6 TP, 18 TN, 4 FP, 2 FN (sensitivity 75%; specificity: 81.8%; diagnostic accuracy: 75%; PPV: 60%; NPV: 90%). At T3, CEUS SPV produced 8 TP, 12 TN, 7 FP, 3 FN (sensitivity: 72.7%; specificity: 63.2%; diagnostic accuracy: 50%; PPV: 53.3%; NPV: 80%), and CEUS SIT produced the following results: 10 TP, 19 TN, 0 FP, 1 FN (sensitivity: 90,9%; specificity: 100%; diagnostic accuracy: 96.5%; PPV: 100%; NPV: 95%).

At T3 CEUS SVP displayed low sensitivity and low diagnostic accuracy, whereas SIT was able to predict clinical activity during follow-up in all but one case (which showed reactivation after 6 months) (p=0.001)

Conclusion: CEUS-TIS alone was found to reflect vascular inflammation of the intestinal wall in Crohn's disease and predicted clinical activity during follow-up.

Key Words: Crohn's disease; Ultrasonography; Contrast-enhanced ultrasonography; CEUS; SonoVue; CDAI (Crohn's Disease Activity Index); Disease activity

Introduzione

L'impiego dell'ecografia B-mode [1-3] come metodica semplice e non invasiva nella diagnosi [4], nella valutazione della sede e dell'estensione, nel follow-up e nella ricerca delle complicanze [5] è un dato consolidato in letteratura; la neovascolarizzazione intestinale è associata a tale patologia,

come dimostrato all'esame anatomico-patologico [6] e dalla presenza di elevati valori sierici di fattori angiogenetici [7]. L'impiego del color- [8] e del power Doppler [9] ha consentito di apprezzare un maggior flusso ematico nei pazienti attivi; l'impiego del Doppler pulsato [8,10,11] ha confermato tale correlazione tra la vascolarizzazione arteriosa di parete e l'intensità di malattia. Precedenti studi [12-16] avevano dimostrato modificazioni dell'attività di malattia studiando il flusso Doppler dell'arteria mesenterica superiore. Il limite di tale metodica, oltre alla variabilità interoperatore e a quella del paziente, è l'impossibilità di studiare la microvascolarizzazione della parete [17].

Anche se sono pubblicate diverse esperienze [18-22], non esiste una concordanza in letteratura sull'impiego dell'ecografia con mezzo di contrasto nella valutazione dell'attività di malattia. Infatti, nonostante sia possibile valutare la microvascolarizzazione della parete intestinale con l'impiego dei mezzi di contrasto ecografici (CEUS) (studi di vascolarizzazione di parete- SVP-), sia di prima [18] che di seconda generazione [19-22], una recente review [5], riprendendo i dati di tali lavori, afferma che esistono falsi positivi in almeno il 30% dei casi, che rendono tale metodica non utilizzabile.

Obiettivi

Sulla base dell'interpretazione dei dati di letteratura disponibili abbiamo ipotizzato che l'infiammazione della parete intestinale non sia correlata al suo grado di vascolarizzazione (SVP), ma alla quantità di flusso all'interno della parete nelle varie fasi vascolari (studi di intensità tempo-SIT-); in altri termini, per poter valutare se la parete intestinale in un morbo di Crohn è infiammata, non dobbiamo cercare la presenza di una vascolarizzazione, ma valutarne l'intensità e la persistenza nelle differenti fasi vascolari (arteriosa, portale e tardiva).

Lo scopo del nostro studio è stato di valutare l'attività della vascolarizzazione all'interno della parete utilizzando la CEUS per comprendere se gli studi della vascolarizzazione di parete (CEUS-SVP) o quelli dell'intensità del flusso nel tempo (CEUS-SIT) erano correlati all'attività clinica al momento dell'esame o nel follow-up a breve termine (3-6 mesi dopo la CEUS).

Materiali e metodi

Sono stati arruolati prospettivamente 30 pazienti con diagnosi istologica di morbo di Crohn presso la Gastroenterologia dell'Ospedale "San Giovanni Vecchio" di Torino e dell'Ospedale "Guglielmo da Saliceto" di Piacenza; di questi 12 erano maschi e 18 femmine; l'età media era 41.9 anni (range 24-71). I pazienti non sono stati selezionati in base all'attività clinica, alla sede della malattia di Crohn (ileale, ileo-colica, solo colica). Le caratteristiche cliniche dei pazienti sono riassunte nella

Tab. 1.

La diagnosi di malattia è stata eseguita in tutti i pazienti con la colonscopia e l'istologia; tutti i pazienti hanno eseguito colonscopia di controllo entro un mese dall'esame CEUS.

Nei giorni precedenti la CEUS i pazienti hanno eseguito emocromo, VES, PCR; prima dell'esame i pazienti hanno compilato un questionario, che comprendeva informazioni cliniche (dolore addominale, la febbre, il numero di scariche giornaliere, la presenza di sangue nelle feci). Sono quindi stati valutati, in base ai dati anamnestici, obiettivi e biumorali disponibili, il CDAI [23,24] ed il DAI [25]

	tot	maschi	femmine
	30	12	18
età media	41,96	43	41,3
Range	24-71	28-71	24-69
SEDE DELLA MALATTIA			
Ileale	6	4	2
ileo-colica	19	6	13
Colica	5	1	4
TIPO DI MALATTIA			
Stenotica	8	6	2
Fistolizzante	11	5	6
Infiammatoria	11	6	5
INDICE DI ATTIVITA' MALATTIA			
CDAI < 150	22	10	12
CDAI >150	8	1	7
DAI			
Remissione	20	9	11
attività lieve	2	1	1
attività moderata	7	1	6
attività severa	1	0	1
pregressi interventi			
NO	22	5	17
SI	8	6	2
Tipo di terapia			
5-ASA	8	4	4
Cortisone	13	2	11
Anti-TNF	7	4	3
Azatioprina	2	1	1

Tab. 1. Caratteristiche cliniche generali dei pazienti

Attrezzatura ecografica

Prima di eseguire la CEUS il paziente è stato sottoposto ad ecografia convenzionale di tutto l'addome impiegando il TECHNOS MPX (Esaote, Italia) con sonda convex da 3.5 MHz e poi sono state studiate le anse intestinali mediante l'impiego di sonda lineare da 7.5 MHz, con cui è stata anche eseguita la CEUS.

E' stata studiata la porzione di ansa intestinale (ileale o colica) scegliendo il tratto patologico o clinicamente considerato attivo in quel momento, valutando la sede del dolore e le caratteristiche ecografiche. Nei pazienti clinicamente silenti, è stata studiato il tratto di intestino sede della malattia o, nei casi di sedi multiple, il tratto con le pareti più ispessite. Scelta la sede da studiare, sono state valutate in B-mode lo spessore della parete, la presenza o l'assenza della tristratificazione di parete, l'eventuale presenza di raccolte liquide o saccate, la presenza di eventuali fistole; con il power Doppler è stata valutata la presenza di flusso arterioso all'interno della parete o nel mesentere circostante, utilizzando la scala semiquantitativa già descritta da Esteban [8] (0: assenza di flusso = malattia inattiva; 1: segnale power poco presente = poca attività; 2: elevata intensità di segnale =

malattia attiva); al doppler pulsato è stato misurato l'indice di resistenza (RI), ponendo come cut-off tra i pazienti attivi e gli inattivi un RI pari a 0.65 [8].

Mezzo di contrasto ecografico

L'angiosonografia perfusionale è stata eseguita utilizzando un mezzo di contrasto di II generazione (BR1, SonoVue, Bracco, Italia) ed apparecchiatura ecografica dedicata (Technos MPX, Esaote, Italia), con seconda armonica tissutale in scala di grigi, sviluppata appositamente per l'uso dei mezzi di contrasto di seconda generazione. Con questa tecnica, i segnali provenienti dalle microbolle sono separati dagli echi provenienti dai tessuti operando nel processo di trasformazione del segnale nel dominio della frequenza anziché in quello del tempo. Questo significa che lo strumento, dopo l'emissione di un piccolo segnale a banda larga filtra selettivamente i segnali armonici di ritorno ad una data frequenza e così l'immagine è costituita solo dal segnale armonico del mezzo di contrasto. Grazie all'abilità di questo sistema di non rompere le bolle, la tecnica CnTI (Contrast Tuned Imaging) permette l'identificazione di tutte le fasi vascolari perfusionali del mezzo di contrasto, che consistono in una fase arteriosa (da 15 a 30 secondi dopo l'iniezione del mezzo di contrasto), in una portale (30-60 secondi) ed in una tardiva o parenchimale (60-180 secondi). Questa tecnica è stata ribattezzata "angiosonografia perfusionale" per sottolineare che tale esame è dinamico, consente la valutazione in real-time della perfusione di un nodulo.

E' stata impegnata, per tutti i pazienti, una dose doppia (cioè 4.8 ml di SonoVue, equivalente ad una fiala intera) rispetto a quella necessaria per le infusioni epatiche [26]. Il motivo risiede nella necessità di una perfusione prolungata e dell'impiego di una sonda che lavora con indici meccanici più elevati, determinando una maggior eliminazione di microbolle.

Patterns CEUS

Abbiamo utilizzato la suddivisione dei pattern dell'ansa intestinale patologica, come già segnalato in letteratura [27], in quattro patterns CEUS: il pattern 1 (detto monostratificato) corrispondente ad intenso enhancement che interessa a tutto spessore la parete intestinale; il pattern 2 (bistratificato), corrispondente all'enhancement che interessa la mucosa e la sottomucosa ecografica, con risparmio dello strato esterno muscolare; il pattern 3 (tristratificato), che corrisponde ad assenza di enhancement a livello della mucosa ecografica, presenza di enhancement nella sottomucosa ed assenza di enhancement nella muscolare. Infine, nel pattern 4, evidenziato in pazienti con parete cicatriziale, l'ansa non mostra enhancement (

Fig. 1).

Curve di intensità-tempo

Dopo l'identificazione dell'ansa da studiare, la tecnica consiste nella scansione della regione di interesse per un periodo di 150 secondi dopo l'iniezione del mezzo di contrasto, e il tempo esatto trascorso dall'iniezione del mezzo di contrasto è visualizzabile sullo schermo dell'apparecchio. Una registrazione video dell'esame è stata eseguita simultaneamente ed in modo digitale dall'ecografo.

Durante la registrazione dell'esame l'apparecchio acquisiva anche i dati per l'elaborazione con la tecnica delle curve di Intensità-tempo [28-31].

Per l'analisi delle curve di intensità per il tempo è stato impiegato, offline, il software specifico presente all'interno dell'ecografo (IMAGE-LAB, Esaote, Italia). Sono state impiegate regioni d'interesse (ROI) dello stesso calibro. Le ROI hanno valutato tutta la parete intestinale. Le curve ottenute rappresentano la somma del segnale per ogni singolo pixel per tutta la durata dell'acquisizione del volume campione in base alla durata dell'acquisizione prestabilita.

L'intero esame poteva essere rivisto, punto per punto, lungo la curva e, allo stesso tempo, osservando la corrispondente immagine della CEUS. Questo ha fornito simultaneamente una valutazione grafica e morfologica del transito del mezzo di contrasto, istante per istante. Sono stati misurati i seguenti parametri delle curve intensità-tempo: l'area totale sotto la curva (AUC), l'area sotto la curva in fase diastolica (AUC diast), l'intensità media dell'area sotto la curva (IMA); lo "slope" tra l'origine e il picco sistolico (slope sist) e lo slope tra il picco sistolico e quello diastolico (slope diast).

Follow up

I pazienti hanno eseguito follow up trimestrali che consistevano nell'esecuzione di una visita, di un'ecografia convenzionale e i medesimi esami bioumorali eseguiti prima della CEUS. E' stato valutato il follow-up a tre mesi (T3)

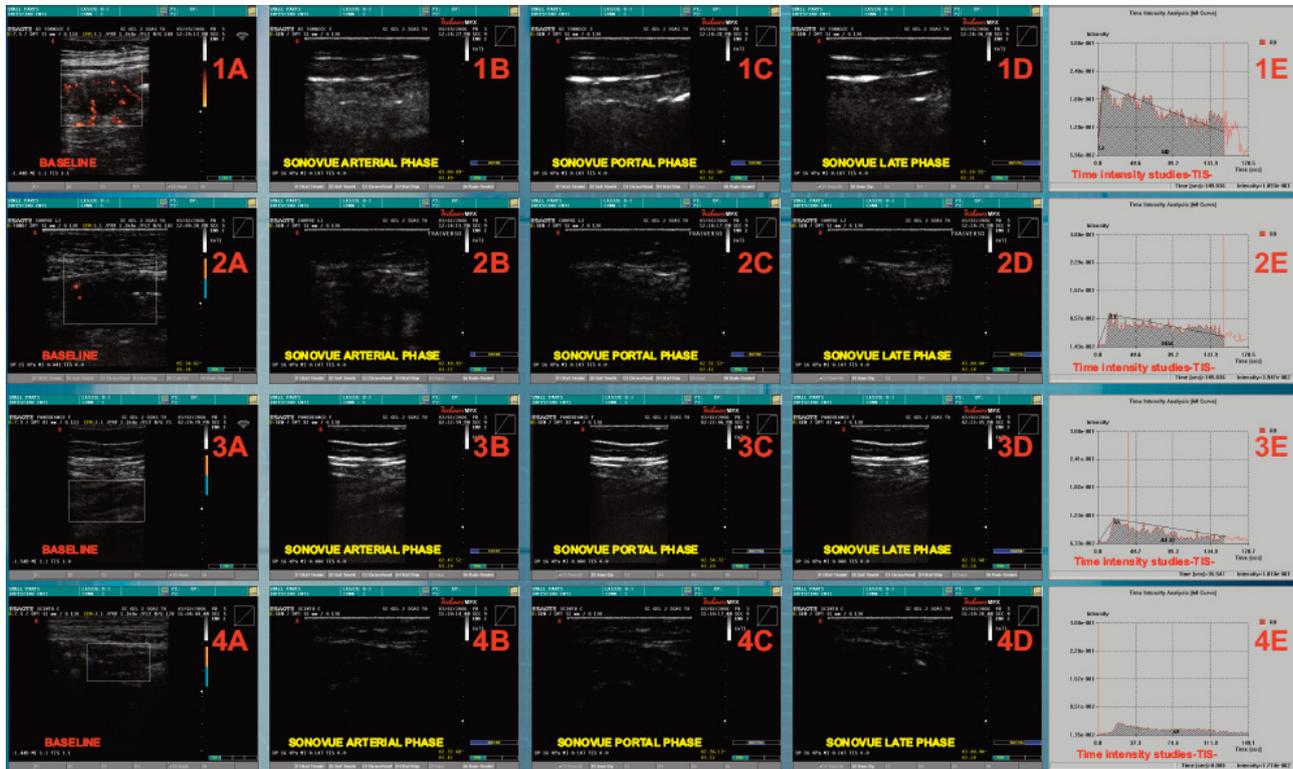


Fig. 1. 1A-D: esami di un Crohn attivo: A: in basale si apprezza una ricca vascolarizzazione di parete; B-D: alla CEUS-SVP si apprezza in tutte le fasi una vascolarizzazione della parete intestinale; tale vascolarizzazione persiste anche in fase tardiva (D) (pattern CEUS 1). 2 A-D: Crohn attivo, ma con vascolarizzazione meno intensa al powerdoppler (2A) e pattern CEUS bistratificato (pattern CEUS 2). 3 A-D: Crohn inattivo: al power (3-A) assenza di vascolarizzazione; alla CEUS (3-B-D) pattern tristratificato (pattern 3). 4 A-D: Crohn inattivo: al powerd. (4-A) assenza di vascoalrizzaione; alla CEUS (4 B-D) vascolarizzazione pressocché assente. 1-4 E: la corrispondente curva alla CEUS-TIS.

Analisi statistica

Sono state calcolate sensibilità, specificità, valore predittivo positivo, valore predittivo negativo, accuratezza diagnostica per i patterns CEUS e per le curve di time-intensity rispetto agli indici di attività clinica confrontandoli sia al momento dell'esecuzione dell'esame (T0) che rispetto al follow-up a breve termine (T3). E' stato calcolato il test T di Student. Per tutti i test, una $p < 0.05$ è stata considerata una differenza statisticamente significativa. E' stato utilizzato un software di statistica (SPSS 13).

Risultati

Al momento dell'esame un CDAI inferiore a 150 era presente in 22 pazienti (DAI corrispondente: da 0 a 3 in 20 pazienti; da 4 a 6 in 2); un CDAI superiore a 150 era presente in 8 pazienti (DAI corrispondente: 7-10 in 7 pazienti, 11-12: 1 paziente). In 19/30 pazienti (63,3%) la malattia era localizzata a livello ileo-colico, in 6/30 (20%) a livello ileale e in 5/30 (16,7%) a livello colico.

Le caratteristiche ecografiche dei pazienti, al momento dell'esame ecografico, confrontate con i due principali indici di attività clinica sono riassunte nella Tab. 2: all'ecografia convenzionale lo spessore medio della parete era maggiore nelle forme attive (8,1) rispetto alle forme quiescenti (7,1). Si poteva apprezzare una tipica tristratificazione di parete in 20 pazienti, in 14 dei quali (70%)

Attività di malattia del Crohn e Ceus

la malattia era quiescente; nei 10 pazienti con parete ipocogena, solo 2 (20%) presentavano segni clinici di attività di malattia. Nessun paziente presentava versamento libero in peritoneo; linfadenopatie erano visualizzabili in 3 pazienti, clinicamente attivi e con fistole interne, come già descritto in letteratura [32]. Al power Doppler erano presenti segnali vascolari in 23 pazienti, ma solo in 4 era visualizzabile una ricca vascolarizzazione di parete.

L'indice di resistenza era superiore a 0.65 in 13 pazienti con CDAI inferiore a 150, inferiore a 0,6 nei pazienti clinicamente attivi ed in 6 pazienti clinicamente inattivi, ma con ripresa di attività nel follow-up. Tale dato presentava una differenza statisticamente significativa ($p < 0.05$) nel differenziare la vascolarizzazione di un'ansa attiva rispetto a quella inattiva; alla CEUS-SVP i patterns vascolari 1 e 2 (quelli che indicano maggior vascolarizzazione) erano presenti in tutti i pazienti clinicamente attivi al momento dell'esame (8/8) ma anche in 7 pazienti con malattia inattiva; di questi 7, solo 2 apparivano attivi nel follow-up; i patterns 3 e 4 (quelli indicanti una minor vascolarizzazione) erano presenti in 15 pazienti clinicamente inattivi al momento dell'esame; nel follow-up 3/15 (20%) pazienti avevano avuto una riacutizzazione. Tale dato dimostra che i patterns della CEUS-SVP non riescono a differenziare l'attività di malattia né al momento dell'esame né nel follow-up, anche se si apprezza un progressivo aumento dei patterns meno vascolarizzati nei pazienti inattivi ($p=ns$).

			TOT	ATTIVITA' DI MALATTIA (CDAI)		ATTIVITA' DI MALATTIA (DAI)				
				REMISSIONE (CDAI < 150)	ATTIVITA' (CDAI > 150)	REMISSIONE (0-3)	LIEVE (4-6)	MODERATA (7-10)	SEVERA (11-12)	
B-MODE		Ileale	6	4	2	4	0	2	0	
	Sede	Colica	5	2	3	2	0	3	0	
		ileo-colica	9	6	3	14	2	2	1	
		TRISTRATIFICAZIONE	PRESENTE	20	14	6	12	2	5	1
			ASSENTE	10	8	2	8	0	2	0
		SPESSORE MEDIO PARETE		7,4	7,1	8,1	7,2	6,5	8,2	7
POWERD.		ASSENTE	7	7	0	6	1	0	0	
	VASCOLARIZZAZIONE	SEGNALE MODESTO	9	13	6	12	1	5	1	
		SEGNALE INTENSO	4	2	2	2	0	2	0	
DOPPLER PULSATO		RIMEDIO	0,8	0,72	0,52	0,72	0,72	0,53	0,56	
CEUS		PATTERN 1	3	1	2	0	1	2	0	
	STUDI DI VASCOLARIZZ. DELLA PARETE (SVP)	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	
		AUC (media)	12,4	10,9	16,5	10,98	10,32	16,84	12,41	
	STUDIO CURVE	AUC DIAST (media)*	12,3	11,4	15	11,7	13,4	14,9	14,39	
	INTENSITA' -TEMPO (SIT)	IMA (media)*	8,5	7,6	11	7,7	6,67	11,2	9,65	
		SLOPE SIST (media)*	11	10,8	11,6	11,4	6,7	11,6	0**	
		SLOPE DIAST (media)*	12,5	11,8	14,5	12,2	6,5	14,5	0**	

Tab. 2. Caratteristiche ecografiche dei pazienti confrontate con i due principali punteggi clinici di valutazione dell'attività di malattia: il CDAI [23,24] ed il DAI [25].

*: in 10 pazienti non era misurabile un picco sistolico

** : dato nullo perché il paziente non presentava un picco sistolico

La CEUS-SIT al momento dell'esame presentava un'AUC media nelle forme inattive di 10,9 (range: 2,9-19) e nelle forme attive un'AUC media di 16,5 (range: 10,4-23,5); inoltre l'intensità

media dell'area (IMA) aveva un valore medio di 7,2 (range: 1,6-10,81) nei pazienti inattivi ed un valore medio di 11 (range: 7-15,6) in quelle attive.

Gli studi delle curve intensità-tempo (SIT) nel follow-up hanno dimostrato la presenza di “valori soglia” che potevano far distinguere i pazienti attivi da quelli inattivi: l'area sotto la curva (AUC) ha evidenziato un valore soglia pari a 15 (in un solo caso un valore lievemente inferiore a 15 aveva presentato un'attività clinica nel follow-up) (Fig. 2); per l'intensità media (IMA) un valore soglia pari a 10 (la stessa paziente aveva presentato un valore soglia lievemente inferiore a 10 con un'attività nel follow-up) (Fig. 3). Gli altri indicatori non sono poi stati considerati perché in un terzo (10/30) dei pazienti non si apprezzavano picchi sistolici che potessero consentire di calcolare i valori degli altri indici (AUC diast, slope sist e slope diast).

Rivalutando la CEUS-SIT in base ai cut-off prestabili e suddividendo i pazienti sia in base al CDAI (

Tabella 3) che al DAI (

Tab. 4), al momento della CEUS (T0), abbiamo osservato che nelle forme inattive l'AUC era inferiore a 15 (e l'IMA inferiore a 10) rispettivamente nel 90% (18/20 in base al CDAI) o nel 85% (17/20 in base al DAI); come nel caso della CEUS-SVP, anche l'AUC superiore a 15 (ed il corrispondente IMA superiore a 10) era presente nel 75% (6/8 in base al CDAI) o nel 85% (17/20 in base al DAI) dei pazienti attivi, ma anche nel 22,2% (4/18 in base al CDAI) o nel 17,6% (3/17 in base al DAI) di quelli inattivi.

Nel follow-up dei tre mesi successivi 22 presentavano una remissione clinica, mentre 11 pazienti erano clinicamente attivi; di questi 5 (45,45%) al momento della CEUS presentavano criteri clinici (CDAI e DAI) di quiescenza clinica; all'ecografia tutti presentavano segnali al powerdoppler, ma con indici di resistenza superiori a 0.65. Alla CEUS 2 presentavano segni di attività (1 pattern 1 e 1 pattern 2) e 3 patterns di inattività (tipo 3); alla CEUS-SIT 4 pazienti presentavano un'AUC superiore a 15 ed una IMA superiore a 10. Solo in un caso i valori di AUC e di IMA erano solo lievemente inferiori al cut-off prestabilito. Negli altri 6 pazienti attivi al momento dell'esame ecografico e nel follow-up all'ecografia convenzionale solo in 2 erano presenti segnali doppler di vascolarizzazione, mentre solo in 3 erano presenti patterns CEUS di attività (pattern 1). In tutti alla CEUS-SIT era presente un'AUC superiore a 15 ed un IMA superiore a 10.

In base ai dati sopra riassunti, abbiamo potuto ottenere i valori di sensibilità, specificità, accuratezza diagnostica, valori predittivo positivo e negativo della CEUS-SVP e della CEUS-SIT (

Tabella 5)

Sebbene la CEUS abbia una sensibilità del 100% nella detection di forme attive, non è però in grado di distinguerle da quelle inattive sia al T0 che nel follow-up (T3). Solo la CEUS-SIT ha dimostrato un'accuratezza diagnostica complessiva del 96,5% nella distinzione tra le forme inattive e quelle attive nel follow-up.

Attività di malattia del Crohn e Ceus

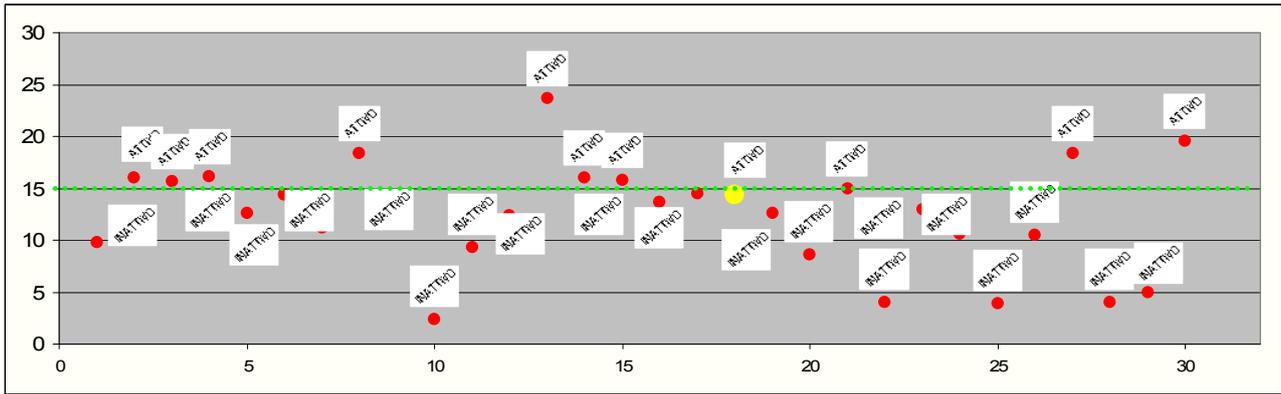


Fig. 2. È stato possibile osservare che i valori di AUC inferiori a 15 al momento della CEUS individuavano i pazienti che nel follow-up a breve termine sarebbero stati in remissione clinica, mentre valori superiori individuavano pazienti clinicamente attivi nel follow-up. In un unico caso il valore di AUC lievemente inferiore a 15 apparteneva ad una paziente che nel follow-up aveva presentato una recidiva (caso segnato in giallo).

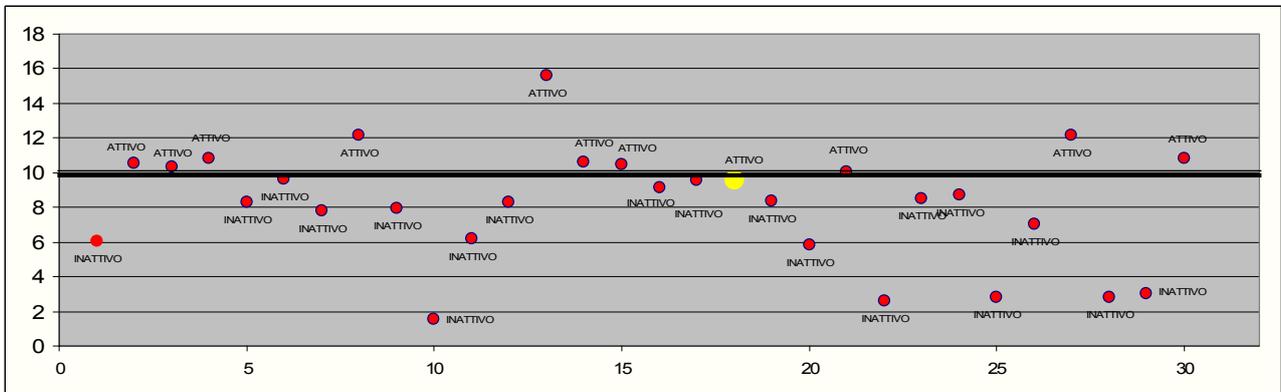


Fig. 3. È stato possibile osservare che i valori di IMA inferiori a 10 al momento della CEUS individuavano i pazienti che nel follow-up a breve termine sarebbero stati in remissione clinica, mentre valori superiori individuavano pazienti clinicamente attivi nel follow-up. Nel medesimo caso della Fig. 2 il valore di IMA lievemente inferiore a 10 apparteneva ad una paziente che nel follow-up aveva presentato una recidiva (caso segnato in giallo).

CDAI			CDAI		
T0			T3		
CEUS PATTERN	REMISSIONE	ATTIVO	CEUS PATTERN	REMISSIONE	ATTIVO
1	1	2	1	0	3
2	6	6	2	7	5
3	13	0	3	10	3
4	2	0	4	2	0
AREA UNDER THE CURVE (AUC)	REMISSIONE	ATTIVO	AREA UNDER THE CURVE	REMISSIONE	ATTIVO
MENO DI 15 (intensità media < 10)	18	2	MENO DI 15 (intensità media < 10)	19	1
PIU' DI 15 (intensità media > 10)	4	6	PIU' DI 15 (intensità media > 10)	0	10

Tabella 3: dati riassuntivi dei patterns della CEUS-SVP e della CEUS-SIT in base all'attività di malattia descritta dal CDAI.

Attività di malattia del Crohn e Ceus

DAI								
T0				T3				
CEUS PATTERN	REMISSIONE	ATTIVITA' LIEVE	ATTIVITA' MODERATA	ATTIVITA' SEVERA	PATTERN CEUS	ATTIVO	INATTIVO	
1	0	1	2	0	1	3	0	
2	6	0	5	1	2	5	7	
3	12	1	0	0	3	3	10	
4	2	0	0	0	4	0	2	
AREA UNDER THE CURVE MENO DI 15 (intensità media < 10)	REMISSIONE	ATTIVITA' LIEVE	ATTIVITA' MODERATA	ATTIVITA' SEVERA	AREA UNDER THE CURVE MENO DI 15 (intensità media < 10)	REMISSIONE	ATTIVITA'	
	17	1	1	1		19	1	
PIU' DI 15 (intensità media > 10)	3	1	6	0	PIU' DI 15 (intensità media > 10)	0	10	

Tab. 4. Dati riassuntivi dei patterns della CEUS-SVP e della CEUS-SIT in base all'attività di malattia descritta dal DAI.

CEUS (SVP)							SENS	SPEC	ODA	PPV	NPV
	ATTIVO	INATTIVO	VERI+	FALSI+	FALSI-	VERI-					
CDAI-CEUS T0	8	22	8	7	0	15	100	68,2	69,5	53,3	100
DAI-CEUS T0	10	20	9	6	1	14	90	70	69,5	60	93,3
CDAI-CEUS T3	11	19	8	7	3	12	72,7	63,2	50	53,2	80
DAI-CEUS T3	11	19	10	0	1	19	90,9	100	95,5	100	95
CEUS (SIT)											
							SENS	SPEC	ODA	PPV	NPV
CDAI-CEUS T0	8	22	6	4	2	18	75	81,8	75	60	90
DAI-CEUS T0	10	20	7	3	3	17	70	85	75	70	85
CDAI-CEUS T3	11	19	10	0	1	19	90,9	100	96,55	90,9	100
DAI-CEUS T3	11	19	10	0	1	19	90,9	100	96,55	90,9	100

Tabella 5: valori di sensibilità (sens) specificità (SPEC), accuratezza diagnostica complessiva (ODA), valore predittivo positivo (PPV) e negativo (NPV) della CEUS-SVP e della CEUS-SIT

Discussione

Diversi lavori d'imaging (ecografia, TC, RM) hanno correlato l'attività di malattia con una valutazione non invasiva del flusso ematico quale espressione "dell'attività di infiammazione" del morbo di Crohn: tale necessità deriva dal fatto che non esistono sistemi gold standard di riferimento per la valutazione dell'attività di malattia: il più noto, il CDAI, è stato ampiamente discusso ed è ancora oggetto di critiche, sebbene in molti importanti trias clinici [33-39] sia stato impiegato come sistema di riferimento. Altri sistemi a punteggio come il DAI sono stati impiegati. Nessuno però è in grado di inquadrare al meglio questa malattia né tanto meno è in grado di predire l'outcome clinico. Con l'impiego dell'ecografia, metodica non invasiva, è stata trovata una correlazione fra la l'attività infiammatoria della malattia e il grado di vascolarizzazione: tale dato è stato diversamente misurato: attraverso la valutazione dell'indice di resistenza dell'arteria mesenterica superiore [12-16], attraverso lo studio dell'indice di resistenza delle arterie all'interno dell'ansa patologica [8-11,18], mediante l'impiego del segnale power-doppler amplificato dai nuovi mezzi di contrasto ecografici di prima e di seconda generazione. Tutti questi sistemi non erano però in grado di valutare la microvascolarizzazione, a differenza di TC o RM.

Recentemente, l'introduzione dei mezzi di contrasto in ecografia, ha consentito finalmente anche all'ecografia di studiare la microvascolarizzazione della parete intestinale, come possono eseguire

TC e RM. Ad oggi, tre studi che hanno valutato la correlazione tra mezzo di contrasto ecografico e attività di malattia hanno dimostrato che nei pazienti con attività di malattia si apprezza un intenso contrast-enhancement di parete, ma tale reperto è presente anche nel 36,5% (19/52) [19], nel 38,6% (8/21) [20], nel 26,6% (4/15) [22] dei pazienti inattivi. Anche nella nostra esperienza, il 46,6% (7/15) dei pazienti clinicamente inattivi, hanno presentato una vascolarizzazione di parete importante. Per la presenza di questo elemento confondente, Maconi [5] considera di limitato valore lo studio della parete dell'ansa patologica con CEUS. Un'ulteriore conferma è giunta anche eseguendo uno studio semiquantitativo del flusso di parete [20], che non ha trovato alcuna correlazione tra il CDAI e la valutazione quantitativa della vascolarizzazione di parete. Questo dato emerge anche dalla nostra esperienza, in cui il 30% (3/10) dei pazienti con un valore di curve di intensità-tempo che indica attività di malattia ($AUC \geq 15$; $IMA \geq 10$) erano clinicamente silenti. Dati analoghi erano inoltre stati presentati anche da Heyne e coll⁽¹⁰⁾, impiegando il color Doppler: l'autore aveva notato che mentre per i pazienti con rettocolite ulcerosa la presenza di flusso correlava con l'attività di malattia, nei pazienti con Crohn non esisteva alcuna correlazione, cioè, nelle fasi attive di malattia, la parete era sempre vascolarizzata, ma nelle fasi quiescenti si poteva notare ugualmente una vascolarizzazione. Inoltre, la correlazione fra la vascolarizzazione locale dell'ansa patologica e l'attività di malattia valutata con CDAI rimane contraddittoria per tutte le tecniche d'immagine endoscopiche [40] e radiologiche (TC [41,42]; RMN [43,44]).

Nella nostra esperienza preliminare abbiamo osservato che quel sottotipo di pazienti, clinicamente inattivi, ma con una vascolarizzazione di parete tipica da infiammazione, nell'arco medio di tre mesi circa, presentavano una recidiva clinicamente importante; tale dato è statisticamente significativo ($p < 0.001$) e presenta un'accuratezza diagnostica pari al 96,5% (con una sensibilità superiore al 90% ed una specificità del 100%). Un dato simile si evince da un altro lavoro italiano, dove De Pascale e coll [22] hanno descritto un subset di 4/15 pazienti, al momento della CEUS clinicamente inattivi, ma con vascolarizzazione presente e con recidiva clinica nel follow-up dopo circa 3 mesi. E' stato inoltre descritto da questi autori un falso positivo. Nella nostra esperienza abbiamo invece osservato solo un falso negativo, cioè una paziente clinicamente silente e con valori, alla CEUS-SIT, di AUC e di IMA solo lievemente inferiori al cut-off, ma con comparsa di recidiva clinica nel follow-up. Non abbiamo al momento una spiegazione di tale dato.

Anche se preliminari, questi dati sono incoraggianti e potrebbero aprire una nuova applicazione della CEUS nella valutazione dell'attività di malattia, in un modo clinicamente utile, cioè la possibilità di predire, a breve termine, una possibile ripresa di malattia. Questo consentirebbe di ampliare l'utilizzo di tale metodica (semplice, relativamente poco costosa e ripetibile) nel follow-up dei pazienti con malattia di Crohn.

Conclusioni

Questo lavoro preliminare serve a valutare l'opportunità di impiegare l'ecografia con mezzo di contrasto in una valutazione oggettiva dell'attività vascolare della parete intestinale patologica nei pazienti affetti da morbo di Crohn, potendo prevedere una eventuale ripresa di malattia nei pazienti clinicamente inattivi ma con segni CEUS di attività di malattia.

Bibliografia

- [1] Sonnenberg A, Erckenbrecht J, Peter P, Niederau C. Detection of Crohn's disease by ultrasound. *Gastroenterology* 1982 August;83(2):430-4.
- [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):180-4.
- [3] Worlicek H, Lutz H, Heyder N, Matek W. Ultrasound findings in Crohn's disease and ulcerative colitis: a prospective study. *J Clin Ultrasound* 1987 March;15(3):153-63.

- [4] Fraquelli M, Colli A, Casazza G et al. Role of US in detection of Crohn disease: meta-analysis. *Radiology* 2005 July;236(1):95-101.
- [5] Maconi G, Radice E, Greco S, Bianchi PG. Bowel ultrasound in Crohn's disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006 February;20(1):93-112.
- [6] Wakefield AJ, Sawyerr AM, Dhillon AP et al. Pathogenesis of Crohn's disease: multifocal gastrointestinal infarction. *Lancet* 1989 November 4;2(8671):1057-62.
- [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 February;42(2):378-86.
- [8] Esteban JM, Maldonado L, Sanchiz V et al. Activity of Crohn's disease assessed by colour Doppler ultrasound analysis of the affected loops. *Eur Radiol* 2001;11(8):1423-8.
- [9] Spalinger J, Patriquin H, Miron MC et al. Doppler US in patients with crohn disease: vessel density in the diseased bowel reflects disease activity. *Radiology* 2000 December;217(3):787-91.
- [10] Heyne R, Rickes S, Bock P et al. Non-invasive evaluation of activity in inflammatory bowel disease by power Doppler sonography. *Z Gastroenterol* 2002 March;40(3):171-5.
- [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 June;27(6):501-7.
- [13] Maconi G, Imbesi V, Bianchi PG. Doppler ultrasound measurement of intestinal blood flow in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1996 June;31(6):590-3.
- [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. *AJR Am J Roentgenol* 1997 February;168(2):429-33.
- [15] Maconi G, Parente F, Bollani S et al. Factors affecting splanchnic haemodynamics in Crohn's disease: a prospective controlled study using Doppler ultrasound. *Gut* 1998 November;43(5):645-50.
- [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 January;24(1):59-65.
- [17] MacKalski BA, Bernstein CN. New diagnostic imaging tools for inflammatory bowel disease. *Gut* 2006 May 1;55(5):733-41.
- [18] Di Sabatino A., Armellini E, Corazza GR. Doppler sonography in the diagnosis of inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2004;22(1):63-6.
- [19] Robotti D, Cammarota T, Debanì P et al. Activity of Crohn disease: value of Color-Power-Doppler and contrast-enhanced ultrasonography. *Abdom Imaging* 2004 November;29(6):648-52.
- [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 August;40(8):985-91.
- [21] Guidi L, De FA, De V, I et al. Contrast-enhanced ultrasonography with SonoVue after infliximab therapy in Crohn's disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2006 January;10(1):23-6.
- [22] De Pascale A., Garofalo G, Perna M et al. Contrast-enhanced ultrasonography in Crohn's disease. *Radiol Med (Torino)* 2006 June;111(4):539-50.
- [23] Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *Br Med J* 1955 October 29;2(4947):1041-8.
- [24] Best WR, Beckett JM, Singleton JW. Rederived values of the eight coefficients of the Crohn's Disease Activity Index (CDAI). *Gastroenterology* 1979 October;77(4 Pt 2):843-6.

- [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 December 24;317(26):1625-9.
- [26] Bokor D. Diagnostic efficacy of SonoVue. *Am J Cardiol* 2000 August 17;86(4A):19G-24G.
- [27] Serra C, Menozzi G, Labate AM et al. 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 April;62(1):114-21.
- [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 July;24(7):975-83.
- [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 October;30(10):1355-63.
- [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 May;78(929):433-6.
- [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 October;32(10):1459-66.
- [32] Maconi G, Di Sabatino A., Ardizzone S et al. Prevalence and clinical significance of sonographic detection of enlarged regional lymph nodes in Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2005 November;40(11):1328-33.
- [33] Otley A, Steinhart AH. Budesonide for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2005 October;19;(4):CD000296.
- [34] McDonald JW, Feagan BG, Jewell D et al. Cyclosporine for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2005 April 18;(2):CD000297.
- [35] Alfadhli AA, McDonald JW, Feagan BG. Methotrexate for induction of remission in refractory Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2005 January 25;(1):CD003459.
- [36] Macdonald J, McDonald J. Natalizumab for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2007 January 24;(1):CD006097.
- [37] Rolfe VE, Fortun PJ, Hawkey CJ, Bath-Hextall F. Probiotics for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2006 October 18;(4):CD004826.
- [38] Cellier C, Sahmoud 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 February;35(2):231-5.
- [39] Rollandi GA, Curone PF, Biscaldi E et al. Spiral CT of the abdomen after distention of small bowel loops with transparent enema in patients with Crohn's disease. *Abdom Imaging* 1999 November;24(6):544-9.
- [40] Lee SS, Ha HK, Yang SK et al. CT of prominent pericolic or perienteric vasculature in patients with Crohn's disease: correlation with clinical disease activity and findings on barium studies. *AJR Am J Roentgenol* 2002 October;179(4):1029-36.
- [41] Futagami Y, Haruma K, Hata J et al. Development and validation of an ultrasonographic activity index of Crohn's disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999 September;11(9):1007-12.
- [42] Chunk K, Kern A, Oberholzer K et al. Hydro-MRI in Crohn's disease: appraisal of disease activity. *Invest Radiol* 2000 July;35(7):431-7.