



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Máster

Título del trabajo:

VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD EN LA ENFERMEDAD DE CROHN. UTILIDAD DE LA ECOGRAFÍA CON CONTRASTE Y ELASTOGRAFÍA

ASSESSMENT OF THE ACTIVITY IN THE CROHN'S DISEASE. UTILITY OF
CONTRAST-ENHANCED ULTRASOUND AND ELASTOGRAPHY

Autor/es

IGNACIO DIESTE GRAÑENA

Director/es

LUIS SARRIA OCTAVIO DE TOLEDO

Facultad / Escuela

FACULTAD DE MEDICINA 2018

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	6-20
✓ Epidemiología	
✓ Etiología	
✓ Valoración de la actividad de la enfermedad	
• Valoración clínico-analítica	
• Valoración con pruebas complementarias	
2. OBJETIVOS E HIPOTESIS	21
3. MATERIAL Y METODOS	22-26
4. RESULTADOS	27-28
5. DISCUSIÓN	29-31
6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	32
7. CONCLUSIONES	33
8. BIBLIOGRAFÍA	34-37
9. ANEXOS	

RESUMEN

Introducción. La enfermedad de Crohn (EC) es una enfermedad crónica de evolución imprevisible que puede presentarse en forma de brotes de diferentes niveles de gravedad, desarrollar un curso prolongado con exacerbaciones y remisiones o bien presentar síntomas de forma continuada que requiere mantener un tratamiento de forma permanente. En su valoración, la TC y la RM han tenido siempre un papel fundamental, pero tienen ciertas limitaciones al valorar la microcirculación y el grado de fibrosis; parámetros que pueden valorarse con la ecografía con contraste (ECC) y la elastografía con técnica *shear-wave* respectivamente.

Objetivo. El objetivo de este trabajo es analizar si la ECC y la elastografía *shear-wave* son dos técnicas de imagen que permiten valorar el grado de actividad de la enfermedad.

Material y métodos. Se realizó un estudio prospectivo observacional durante un periodo de 6 meses en el que se le realizó ECC y elastografía *shear-wave* a todos aquellos pacientes diagnosticados de EC que presentaban criterios clínicos de sospecha de reagudización de la enfermedad para posteriormente correlacionar con datos morfológicos (grosor parietal) y analíticos (calprotectina) de actividad.

Resultados. Para valores clínicamente significativos de calprotectina existe una correlación muy débil directa con cada uno de los valores obtenidos de ECC (PI 0,173; TP 0,235; MT 0,270; AUC 0,230). Para valores por de debajo de la mediana de la elastografía existe una correlación débil inversa con la calprotectina (-0,098) y débil directa con los valores de ECC (PI 0,410; TP 0,118; MT 0,036; AUC 0,445). Sin embargo, todas estas relaciones no son estadísticamente significativas ($p > 0,05$). En la ECC, el PI y el AUC presentan una buena correlación significativa entre ellos.

Conclusiones. En nuestro estudio observamos una correlación débil no significativa entre los hallazgos en la ECC y elastografía respecto a marcadores biológicos.

Palabras clave: ecografía intestinal, ecografía con contraste, elastografía, análisis de curvas, enfermedad de Crohn

SUMMARY

Introduction. Crohn's disease (EC) are a chronic disease with an unpredictable developments that may occur in outbreaks of different severities, develop a prolonged exacerbations and remissions or continued symptoms required to maintain a continuous treatment course. In their assessment, CT and MRI have always played a fundamental role, but they have certain limitations in the evaluation of microcirculation and the degree of fibrosis; parameters that can be assessed with contrast-enhanced ultrasound (ECC) and shear-wave elastography respectively.

Objective. The objective of this work is to analyze if the ECC and the shear-wave elastography are two imaging techniques that allow to assess the degree of activity of the disease

Methods. A prospective observational study was carried out during a period of 6 months in which ECC and shear-wave elastography were performed in all patients diagnosed with EC who presented clinical criteria of active disease to correlate with morphological(wall thickness) and analytical (fecal calprotectin) data of activity.

Results. There is a very weak direct correlation between clinically significant values of calprotectin with each of the values obtained from ECC (PI 0.173, TP 0.235, MT 0.270 and AUC 0.230). What's more, there is a weak inverse correlation between values below the median of the elastography with calprotectin (-0.098) and weak direct with ECC values (PI 0.410, TP 0.188, MT 0.036, AUC 0.445). However, all these relationships are not statistically significant ($p > 0.05$). In the ECC, the PI and the AUC present a very high significant correlation.

Conclusions. In our study, we observed a non-significant weak correlation between the findings in the ECC and elastography in relation to biological markers.

Key-words. Bowel ultrasound, contrast-enhanced ultrasound, ultrasound elastography, Time/intensity curve analysis, Crohn's disease

1.-INTRODUCCIÓN.

1.1.- Epidemiología

Las enfermedades inflamatorias intestinales (EII) consisten en un grupo de trastornos crónicos, en los que encontramos la Enfermedad de Crohn (EC) y la Colitis Ulcerosa (CU), de carácter inmunitario que afectan al intestino que se caracterizan por periodos de actividad y periodos de remisión de manera prácticamente impredecible. Son conocidas por ser una gran enfermedad heterogénea que puede mostrar una gran cantidad de patrones distintos de localización¹, comportamiento clínico y complicaciones de tal manera que cada vez es más difícil poder clasificarla entre los dos grandes entes que incluye, que son la EC y la CU².

La frecuencia con la que se manifiestan, varían según la localización geográfica siendo mayor la frecuencia en Europa, Norteamérica, Reino Unido, Australia y Nueva Zelanda (países con un buen desarrollo económico). La edad de inicio se sitúa preferentemente entre los 15-30 años, produciendo otro pico de incidencia entre los 60-80 años. La proporción entre hombres y mujeres afectados en la EC es 1.8:1 y en la CU de 1:1 aproximadamente³.

La EII tiene cierta predisposición familiar, hasta un 5-10% de probabilidad de padecerla si tiene algún antecedente familiar cercano y si una persona esta afecta, en ausencia de antecedentes familiares, el riesgo que tiene de por vida un familiar de primer grado de padecerla es aproximadamente de un 10%⁴.

1.2.- Etiología

Existen diversas hipótesis para explicar la etiología de este grupo de trastornos crónicos. La más aceptada es la que en las personas en las que existe de base una predisposición genética interactúan una serie de factores exógenos y endógenos (la función de barrera del epitelio intestinal, así como las funciones inmunitarias innatas y adaptativas) del hospedador produciéndose un estado crónico caracterizado por una desregulación de tipo inmunitario en la mucosa

del intestino que puede venir agravada o modificada aún más por determinados factores ambientales. Se produce una alteración en la sensibilidad y de la reactividad del sistema inmunitario hacia la flora exógena que permanece en simbiosis con nuestro organismo en el intestino⁵.

Pero existen cuestiones sin resolver cómo si la inflamación crónica recurrente es el resultado de una infección persistente con un patógeno específico, una exposición exagerada a productos de las bacterias luminales normales debido a un aumento de la permeabilidad intestinal o a la alteración de la composición mucosa, o a una respuesta inmune anormalmente agresiva a la propia microbiota comensal del individuo.

Hasta que no se consiga identificar cuáles son las causas que originan la enfermedad, el tratamiento de esta patología es empírico y dirigido a remitir o controlar los fenómenos inflamatorios que en ella ocurren. En la práctica clínica la indicación de su tratamiento se realiza según la forma de evolución y la gravedad de la actividad inflamatoria que clasifica su gravedad de acuerdo a criterios médicos, biológicos, radiológicos, endoscópicos e histológicos.

1.3.- Valoración de la actividad de la enfermedad.

La EII se caracteriza clínicamente por presentar un curso crónico recidivante que alterna periodos de exacerbación o reactivación con periodos de remisión. La actividad de la enfermedad la marca el proceso inflamatorio, que puede objetivarse por técnicas de imagen e, indirectamente, está reflejada por determinados parámetros bioquímicos⁶.

La gravedad de la enfermedad la define el estado sintomático del paciente y, por lo tanto, viene expresada por los datos clínicos.

No siempre existe una adecuada correlación entre la semiología clínica, los parámetros de laboratorio, los exámenes endoscópicos y radiológicos. Es decir, en ocasiones existe disociación entre actividad inflamatoria y gravedad clínica debido a que pueden aparecer complicaciones (por ejemplo: estenosis, enfermedad perianal) y síntomas (por ejemplo: diarrea postoperatoria) que en ocasiones no se relacionan con la actividad inflamatoria.

Valoración clínico-analítica

Existen en la actualidad diversos métodos clínicos, analíticos, endoscópicos o por técnicas de diagnóstico por imagen para determinar el grado de actividad de la enfermedad en la EII. Una de ellas sería a través de métodos clínicos que incluyen índices clínicos⁷ y biomarcadores como la proteína C-reactiva y la calprotectina⁸.

✓ Valoración clínica

Existen una serie de índices clínicos que incluye una serie de criterios que son simples y fáciles de usar y han demostrado ser una guía valiosa de la severidad de la enfermedad a través del tiempo. Para la EC se utiliza el índice de actividad conocido como el CDAI (Crohn's Disease Activity Index), aunque en la práctica diaria se utiliza más el índice de Harvey-Bradshaw por su mayor facilidad y reproductibilidad ya que se puede aplicar de manera retrospectiva. Estos índices clínicos tienen una serie de inconvenientes: elevada subjetividad y por ello su elevada variabilidad interobservador, no incluyen ciertas variables objetivas como pueden ser ciertos parámetros bioquímicos (calprotectina, VSG, PCR, la albúmina, etc..) que podrían ser importantes para cuantificar la actividad inflamatoria, la extensión de las lesiones y, sin embargo, el dolor abdominal y el estado general, datos demasiado subjetivos y por lo tanto mal cuantificables, tiene un peso bastante elevado en la puntuación. Por ello, es un índice más de gravedad clínica que de actividad inflamatoria⁹.

✓ Valoración bioquímica

La valoración de la EII también puede realizarse con determinados parámetros bioquímicos. La utilización de los reactantes de fase aguda, como puede ser la determinación de la PCR y la calprotectina fecal^{9,10}, en la valoración de las recidivas puede ser útil. La calprotectina fecal es una proteína que aparece en la mucosa intestinal cuando existe inflamación y que puede ser detectada en las heces. Es un biomarcador que permite valorar la actividad inflamatoria intestinal en pacientes con EC íleo-cólica y cólica de manera sencilla, rápida y no invasiva, y por lo tanto resulta muy útil en la práctica clínica, para la

evaluación de la respuesta al tratamiento y para predecir el curso de la enfermedad. Se ha demostrado que existe una correlación con la actividad endoscópica y la disminución del valor de calprotectina fecal tras tratamiento médico⁸, que presenta una buena correlación con la respuesta clínica y con la curación mucosa en la EII. Los usos de estos parámetros no tienen valor por sí solos, sino que adquieren valor con la realización de otras pruebas de imagen.

Por tanto, estos métodos clínicos-bioquímicos para la valoración de la enfermedad pueden ser útiles en pacientes con un resultado positivo, pero no siempre son fiables para aquellos pacientes con enfermedad activa¹¹.

Valoración con pruebas complementarias

La actividad inflamatoria de la enfermedad también se puede cuantificar con técnicas de diagnóstico por imagen y endoscópicas.

✓ Valoración endoscópica.

Los índices endoscópicos valoran y cuantifican la presencia de determinadas lesiones en la mucosa cólica. La correlación entre los índices clínico-biológicos y endoscópicos en la enfermedad inflamatoria intestinal es buena, aunque en la EC su cálculo es mucho más complejo. Además, podemos realizar la toma de biopsias que no solo permite el diagnóstico sino que también valoramos la actividad de la enfermedad desde un punto de vista histológico. Sin embargo, la EII es una enfermedad transmural que puede afectar de forma no continua al tubo digestivo (sobre todo en la EC) de tal manera que en ocasiones no permite una valoración global y adecuada^{12,13}.

Otro método diagnóstico sería la cápsula endoscópica. Es una técnica que permite una evaluación de la mucosa del intestino delgado. No obstante, dado que la EC es de afectación transmural no puede valorar, al igual que la endoscopia, el grado de afectación parietal. Además, en caso de estenosis intestinales se puede producir complicaciones tales como la retención de la cápsula¹³.

Técnicas de diagnóstico por imagen

Las técnicas de diagnóstico por imagen pueden demostrar el grado de afectación parietal. Décadas atrás, se usaba el tránsito intestinal con bario con el que se demostraban irregularidades, úlceras, estenosis.... No obstante, actualmente se disponen de técnicas con las que se pueden obtener cortes seccionales del tubo digestivo (TC, RM y ecografía) que han demostrado ser fundamentales para valorar los cambios murales y periviscerales que se producen en la EC¹². Recientes metaanálisis en la literatura afirman que existe una buena correlación, entre las pruebas de imagen anteriormente citadas, tanto en la valoración de la extensión y severidad de la enfermedad como en el diagnóstico de estenosis y complicaciones intraluminales del tubo digestivo ^{12,14}

Según la Organización Europea de Crohn y Colitis, la TC y la RM son considerados el gold standard para la valoración del intestino delgado. La principal limitación de la TC es el uso de radiación ionizante, mientras que en el caso de la RM, dónde no hay riesgos derivados de la radiación, el alto coste y el tiempo elevado de realización hacen que su disponibilidad sea limitada. Ambas requieren una adecuada distensión de asas y el uso de contrastes intravenosos. La ecografía es una prueba no invasiva, no irradiante y bien tolerada siendo muy útil en la valoración del grado de afectación del íleon terminal y pelviano así como parte del colon. Sin embargo en ocasiones, es difícil valorar el íleon proximal y el yeyuno debido a que tienen una localización profunda en la cavidad abdominal o bien por los numerosos bucles que el intestino delgado realiza¹⁵.

A pesar de ello, al caracterizarse la EI por tener un curso natural que fluctúa entre periodos de actividad y de remisión, existen recientes recomendaciones que se decantan más por pruebas de imágenes seguras y no ionizantes, como son en la RM y la ecografía.

✓ Ecografía convencional.

La ecografía convencional es un método de imagen altamente efectivo para detectar actividad en la EC, con una sensibilidad y especificidad de 75-94% y

67-100% respectivamente¹⁶. No solo se utiliza para eso, sino que al ser un método de imagen no ionizante y teniendo en cuenta el curso recidivante de la enfermedad es ideal para el seguimiento, para el control tras tratamiento y para poder identificar posibles complicaciones.

El hallazgo más frecuente que podemos identificar con la ecografía es el engrosamiento de la pared intestinal (3-4 mm es el grosor normal de la pared intestinal)¹⁷. Puede afectar a cualquier parte del tracto gastrointestinal de manera continua e ininterrumpida o de forma intermitente con zonas de intestino respetadas, pero lo más frecuente es que afecte a la zona ileocólica. A parte del engrosamiento de la pared, también encontramos otros datos ecográficos a valorar como su no compresibilidad ante la presión con el transductor. No es infrecuente, encontrar cierta cantidad de líquido libre adyacente al engrosamiento mural de las asas afectadas.

También, otro dato indirecto que nos va indicar actividad de la enfermedad es el aumento de la ecogenicidad respecto a la grasa adyacente, indicativo de edema que aumenta la separación entre las asas intestinales afectadas como consecuencia de la inflamación y fibrosis que se produce en la reactivación¹⁸.



Engrosamiento parietal e hiperrefringencia () de la grasa periintestinal*

Ocasionalmente, también pueden identificarse ulceraciones intramurales, fistulas y abscesos atravesando diferentes capas de la pared intestinal que pueden ser los detonantes de un proceso de reactivación de la enfermedad con su consiguiente reacción inflamatoria. Las fistulas son reconocidas como trayectos de ecogenicidad variable que se extienden desde un asa intestinal hasta un segmento intestinal adyacente o incluso desembocando en otras estructuras vecinas como son la vejiga, la vagina e incluso la piel. Los abscesos suelen presentar como colecciones complejas en las que es importante distinguir la presencia de gas o no en su interior¹⁸.

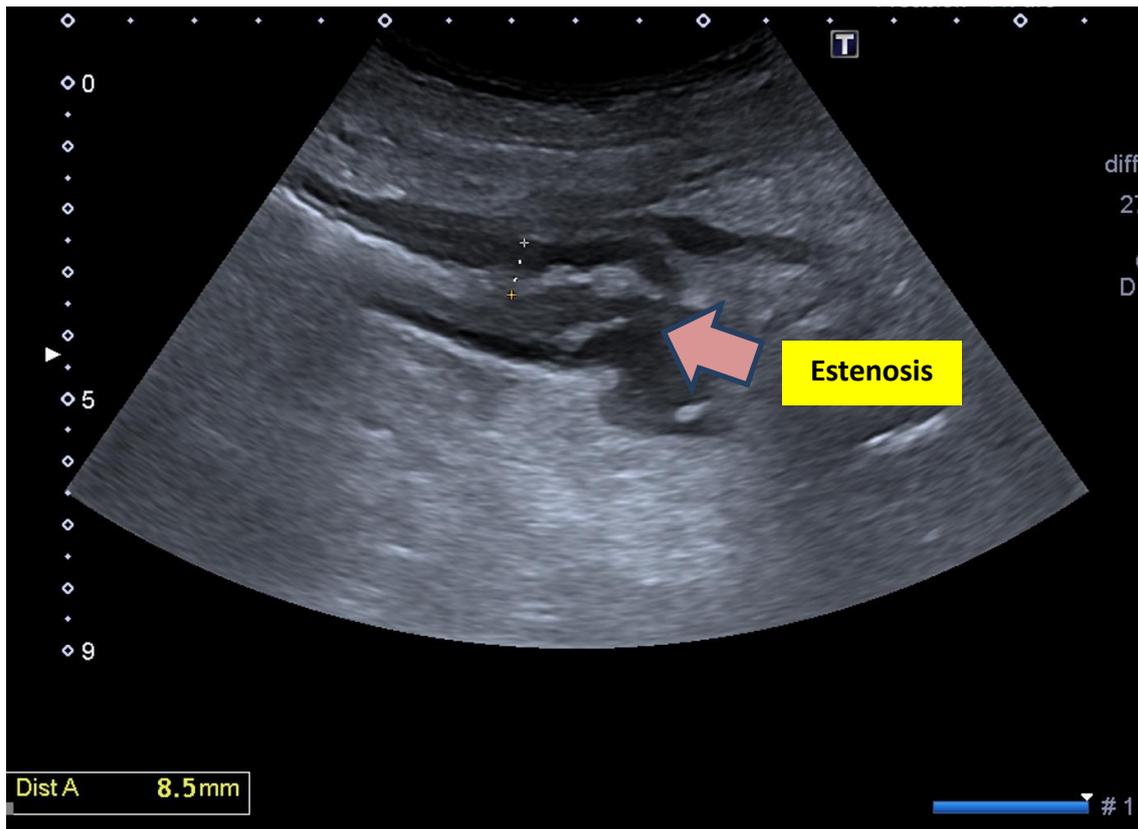
Como consecuencia de su afectación transmural, pueden verse afectadas las células intersticiales de Cajal las cuáles son consideradas como las células marcapasos del tracto gastrointestinal. Ecográficamente se va a expresar como una disminución de los movimientos peristálticos de las asas intestinales pudiendo llegar a la aperistaltisis. La afectación de los movimientos peristálticos

de las asas intestinales, por tanto, nos debe de hacer sospechar de una posible reactivación de la enfermedad¹⁸

La morfología de la pared intestinal, desde el punto de vista ecográfico, está formada por una serie de fases ecogénicas e hipoecogénicas que se van alternando que estas descritas en la literatura como “gut signature”. De dentro a fuera, encontramos una fase ecogénica que representa la mucosa luminal. Adyacente encontramos una fase hipoecogénica que representa la muscular de la mucosa, rodeada por una interfase ecogénica que corresponde a la submucosa. A su vez, rodeada por otra interfase hipoecogénica que representa la capa muscular y por último termina con otra fase ecogénica que representa a la serosa¹⁹.

Al ser la EC una enfermedad con afectación transmural, podríamos pensar que habría una pérdida de la diferenciación de las diferentes capas que forman la pared intestinal, sin embargo en la mayor parte de los pacientes están conservadas. Algunos autores han demostrado, mediante el análisis ecográfico del tracto gastrointestinal resecionado en pacientes con EC candidatos a cirugía, que la pérdida de la morfología estructural de la pared intestinal está relacionado con grados altos de actividad que se traducen en cambios histológicos inflamatorios²⁰. Sin embargo, a pesar de que muestre buena correlación con cambios endoscópicos e histológicos no siempre se correlacionan bien con la presentación clínica del paciente. Por tanto, no existe evidencia suficiente como para considerar la pérdida de la morfología estructural de la pared como un signo pronóstico.

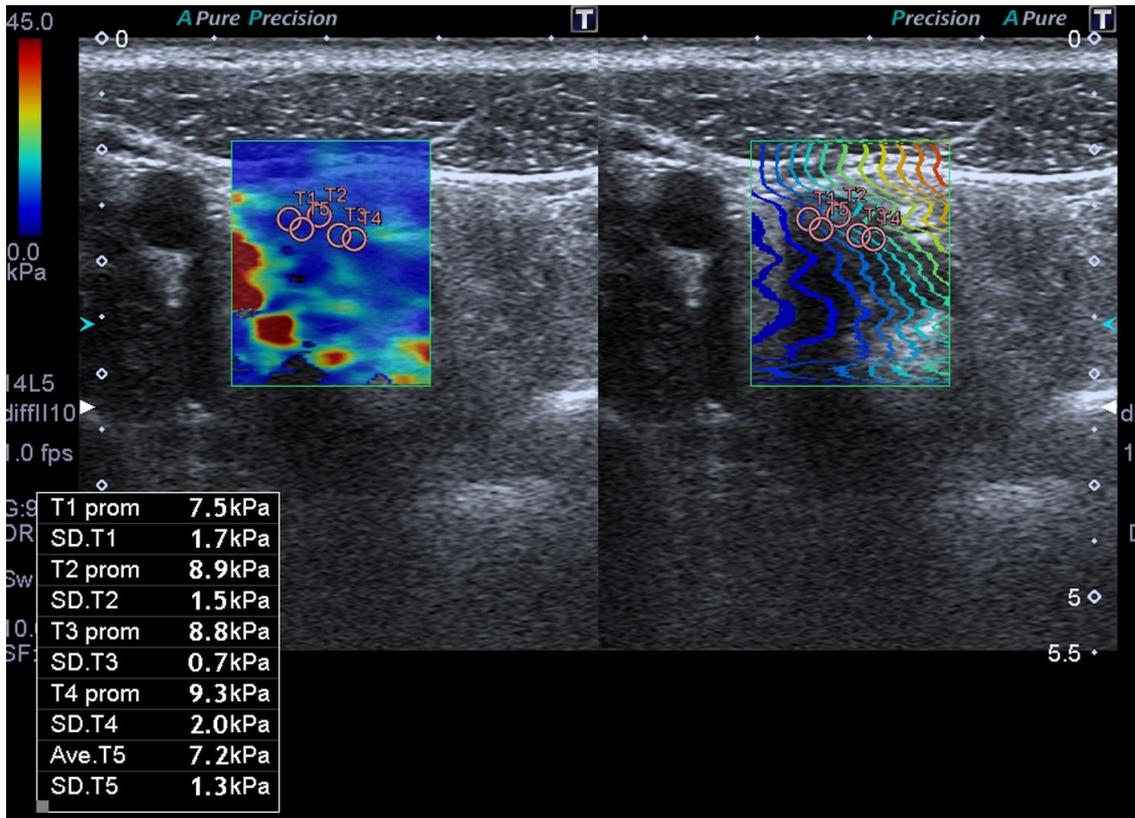
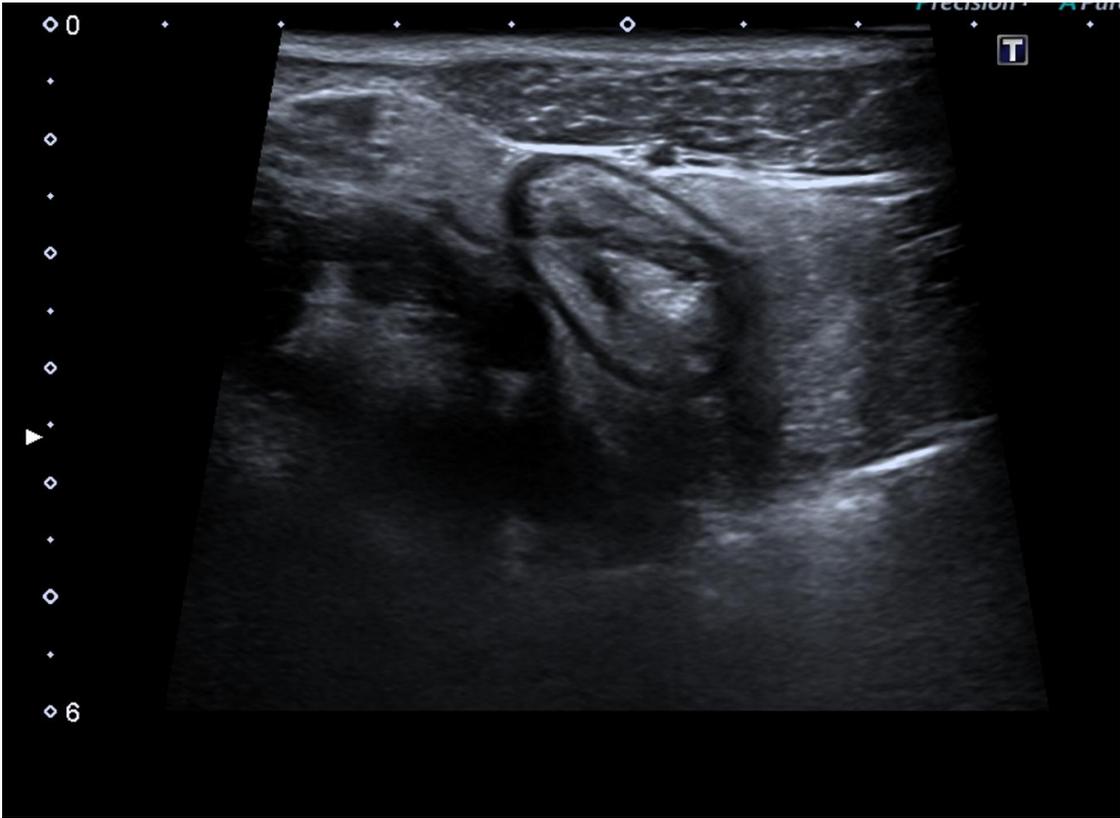
Otra complicación de la EC son las estenosis. El estrechamiento de la luz de la pared intestinal puede ocurrir por dos motivos: por un aumento excesivo del grosor de la pared debido a la inflamación o bien por cambios fibróticos. No siempre es fácil mediante los métodos de imagen poder hacer esta diferencia, pero se acepta que generalmente en aquellos estrechamientos fibróticos se mantiene la morfología de la pared estructural mientras que si es de origen inflamatorio se pierde¹⁸.



Estenosis parietal

✓ Ecografía con elastografía *shear-wave*

La presencia de mayor o menor componente fibrótico o de inflamación puede determinarse mediante elastografía con técnica ecográfica *shear-wave*. Es un método ecográfico a través del cual podemos conocer la rigidez de un tejido y por tanto establecer si predomina el componente fibrótico. Se basa en la aplicación de ondas a una determinada energía generadas por el ecógrafo sobre la pared del tubo digestivo. Dichas ondas “deforman” a los tejidos en múltiples planos geométricos propagándose de manera más rápida en aquellos tejidos que son más duros y densos, es decir en aquellos que tiene mayor componente fibrótico. Se suelen medir la resistencia del paso en kPa o bien en m/s^{15} .



		Speed[m/s]		Elasticity[kPa]		Depth[cm]
		Average	SD	Average	SD	
<input checked="" type="checkbox"/>	1	1.59	0.17	7.5	1.7	1.6
<input checked="" type="checkbox"/>	2	1.73	0.14	8.9	1.5	1.6
<input checked="" type="checkbox"/>	3	1.73	0.06	8.8	0.7	1.8
<input checked="" type="checkbox"/>	4	1.76	0.18	9.3	2.0	1.8
<input checked="" type="checkbox"/>	5	1.55	0.14	7.2	1.3	1.7

Mean	1.67	8.3
SD	0.08	0.8
Median	1.73	8.8
IQR	0.18	1.7

Elastografía shear-wave

La fibrosis intestinal es una de las principales causas de aumento de morbimortalidad en lo pacientes con EC ya que es el paso inicial para la aparición de complicaciones como son estenosis y fistulas lo que aumenta la probabilidad de hospitalización y de ser subsidiario de un tratamiento quirúrgico²¹. El desarrollo de la fibrosis tiene importantes implicaciones terapéuticas, ya que el predominio de lesiones fibrosas tiene menos probabilidad de responder al tratamiento antiinflamatorio, incluyendo fármacos biológicos, y responden mejor al tratamiento quirúrgico que al médico. El poder ser capaces de diferenciar o establecer una proporción entre el componente fibrótico y el inflamatorio es fundamental para un manejo terapéutico adecuado y poder optimizar los recursos²².

✓ Ecografía Doppler

El uso del Doppler-color también se ha demostrado que es útil en la valoración de la actividad debido a que la activación de la angiogénesis es la base para la aparición de la inflamación de la pared intestinal. Estudios histológicos han demostrado que la neovascularización de la pared intestinal, consistente en el desarrollo de nuevos vasos en la lámina propia y submucosas, es uno de los cambios más precoces que ocurren en aquellos pacientes con EC activa²³. Se ha demostrado que existe una buena correlación entre los valores del Doppler-color, demostrando un aumento de la vascularización de la pared, con hallazgos endoscópicos e histológicos que demuestran evidencia de actividad. Además, en pacientes que han finalizado su tratamiento médico tras una exarcebación la demostración de hiperemia a través del color-Doppler está relacionado con un aumento de las probabilidades de recaída. Sin embargo, esta técnica tiene una débil correlación con parámetros clínicos y/o bioquímicos que expresan actividad de la enfermedad²⁴. Otros de los inconvenientes es que a pesar de que el color-Doppler es una técnica que contribuye a la valoración global de la actividad de la enfermedad siempre debe de estar acompañada de una exploración en modo convencional. Datos aislados del color-Doppler no aportan demasiada información²³.

✓ Ecografía con contraste

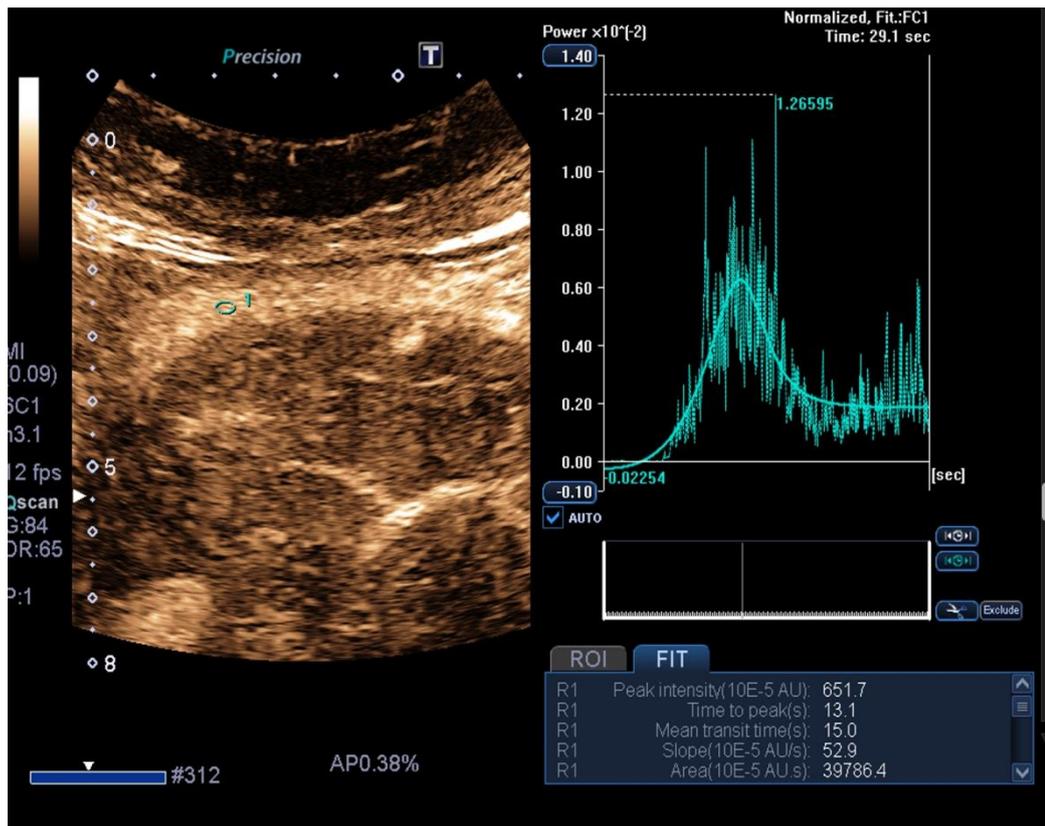
En la actualidad para una valoración más precisa de las alteraciones que se producen en la vascularización de la pared intestinal del tubo digestivo, disponemos de la ecografía con contraste (ECC).

Es una técnica ecográfica que permite una evaluación exhaustiva de la perfusión de la pared intestinal y de los tejidos periféricos mediante la administración intravenosa de un agente de contraste compuesto de microburbujas permitiendo una exploración en tiempo real. Los agentes de contraste utilizados en la ECC, son una sustancias exógenas formadas por microburbujas con un tamaño medio entre unos 2-6 μm de diámetro rellenas de gas y tapizadas por un caparazón que está compuesto de diversos

lípidos/polímeros que se encargan de potenciar las señales acústicas. Tanto el tipo de gas como los diferentes polímeros/lípidos que componen estas microburbujas van a determinar su vida media y su capacidad para potenciar la señal acústica. Este tipo de contraste, por sus características, tiene la ventaja de que su metabolización es por vía respiratoria (una media de 15 minutos desde que entra en contacto con la circulación), es decir, no produce nefrotoxicidad por lo tanto puede utilizarse en todos los pacientes independientemente de sus niveles de creatinina. Además, es un tipo de contraste no ionizante y el número de reacciones adversas registradas por este tipo de contraste es muchísimo menor (actualmente se usa el Sonovue® compuesto por microburbujas de hexafluoruro de azufre) respecto a los agentes de contraste utilizados en otras pruebas de imagen como son la TC y la RM²³.

El procedimiento consta de dos pasos:

1. Examinación ecográfica en modo convencional o modo-B junto con el color-Doppler para detectar las zonas de máxima afectación y su extensión para posteriormente proceder a la evaluación de la/s zonas de interés con la ECC.
2. Ecografía con contraste (ECC). Una vez localizadas la zona de máxima afectación con la ecografía convencional se procede a la introducción del contraste en forma de bolo (la cantidad depende del protocolo establecido) seguido de una cantidad de suero salino. Es importante tener en cuenta que el uso de grandes dosis de contraste no va a mejorar la imagen obtenida o alterar los valores medidos con este procedimiento.
3. Unos pocos segundos después de haber introducido el contraste, se produce la grabación durante 60 segundos para la valoración de la perfusión y obtención de una serie de datos que demuestran cómo se comporta el tubo digestivo respecto al contraste. Con esos datos “brutos”, seleccionando aquellas zonas de la pared intestinal donde la captación de contraste es más ávida (región of interest - *ROI*) se obtendrá una serie de curvas a partir de las cuales se pueden obtener una serie de datos cuantitativos²³.



Curva de la ECC

La utilización de la ECC tiene una serie de ventajas sobre el color-Doppler²³:

- ✓ Por un lado, la resolución del color-Doppler para la valoración de los pequeños vasos es limitada
- ✓ No se realizan las medidas en función del número de vasos (medidas semicuantitativas) sino que a través del software del ecógrafo podemos tener medidas más exactas a través de una serie de curvas de perfusión.
- ✓ Los resultados no se ven alterados por artefactos que pueden producir la presencia de contenido en el interior de las asas o por las alteraciones del peristaltismo como ocurre en el caso del color-Doppler.

Existen estudios en la literatura que demuestran que existe una correlación entre los realces que se visualizan en la ECC y la RM con contraste (que junto con la TC con contraste son considerados el gold-standar) lo que confirman

que ambas son buenas técnicas para evaluar el incremento de vascularización de la pared intestinal sugestivo de enfermedad activa^{25,26}.

Sin embargo, la evaluación de la perfusión de la pared intestinal tiene un componente subjetivo. La medida del *ROI* y su colocación sobre la zona de mayor realce de la pared intestinal depende del radiólogo lo que provoca la aparición de una variabilidad interobservador. Todos los métodos ecográficos tienen una serie de limitaciones inherentes a la técnica. La ecografía es una prueba de imagen operador-dependiente y la sensibilidad de la prueba viene condicionada por las características del paciente (constitución física, etc...). Además, el desarrollo tecnológico ha provocado que numerosas casas comerciales entre en el mercado de la ecografía, desarrollando cada una diferentes métodos y análisis de distintos parámetros para la cuantificación de las características de los tejidos a examinar haciendo más difícil su reproductibilidad y generalización entre diferentes poblaciones¹⁵.

El objetivo de nuestro estudio es valorar prospectivamente si los datos obtenidos mediante la ecografía con contraste y la elastografía con método *shear-wave* muestran correlación con datos morfológicos y bioquímicos de la EC y por tanto son dos técnicas que nos permiten realizar una correcta valoración de la actividad de la enfermedad que será fundamental para determinar el manejo terapéutico de estos pacientes.

2.- HIPÓTESIS

- H_0 : la ecografía con contraste (ECC) junto con la elastografía no permiten determinar el grado de actividad de la enfermedad
- H_1 : la ecografía con contraste (ECC) junto con la elastografía permiten determinar el grado de actividad de la enfermedad

OBJETIVOS

1. Valorar si existe correlación entre los hallazgos y datos obtenidos con la ECC y parámetros biológicos de actividad (calprotectina)
2. Correlacionar los hallazgos obtenidos en la elastografía con parámetros biológicos de actividad (calprotectina)
3. Correlacionar los datos obtenidos con la ECC y la elastografía.
4. Comprobar si existe una relación entre datos morfológicos de la enfermedad (grosor de la pared intestinal) con los hallazgos obtenidos en la ECC y la elastografía.

3.- MATERIAL Y MÉTODOS.

Pacientes

Se realiza un estudio prospectivo observacional durante un periodo de 6 meses, desde el 1 de Enero de 2018 a Junio de 2018, en el que se le realizó ecografía con contraste (ECC) y elastografía *shear-wave* a todos aquellos pacientes diagnosticados de Enfermedad de Crohn (EC) que presentaban criterios clínicos de sospecha de reagudización de la enfermedad. En nuestro centro, el Hospital Universitario Miguel Servet, por protocolo los pacientes con EC pueden ser valorados mediante dos técnicas de imagen: la RM con contraste y la CEUS, dependiendo de las características evolutivas del paciente y de la disponibilidad de la técnica, siendo esta última sobre la cual centraremos nuestro estudio.

Se aplicaron los siguientes criterios de selección a nuestra población:

Criterios de inclusión

- ✓ Mayor de 16 años y encontrarse en un periodo de exacerbación de la actividad inflamatoria.
- ✓ Signos morfológicos en ecografía modo B de actividad: engrosamiento parietal superior a 3 mm.

Criterios de exclusión

- ✓ Contraindicación en el uso de contraste ecográfico [hexafloruro de azufre (SonoVue[®]): embarazo, lactancia o cualquier otra contraindicación para su uso como síndrome coronario agudo, insuficiencia cardiaca, trastornos del ritmo cardiaco, hipertensión arterial sistémica y pulmonar o antecedente de síndrome de distres respiratorio agudo.
- ✓ Pacientes que a pesar de estar diagnosticados de EC su clínica no se explicaba por una reactivación del curso de la enfermedad (ej: ileítis).

Técnica ecográfica

La exploración ecográfica se lleva a cabo con el siguiente equipo: Toshiba Aplio 500 (Otawara-shi, Japón)

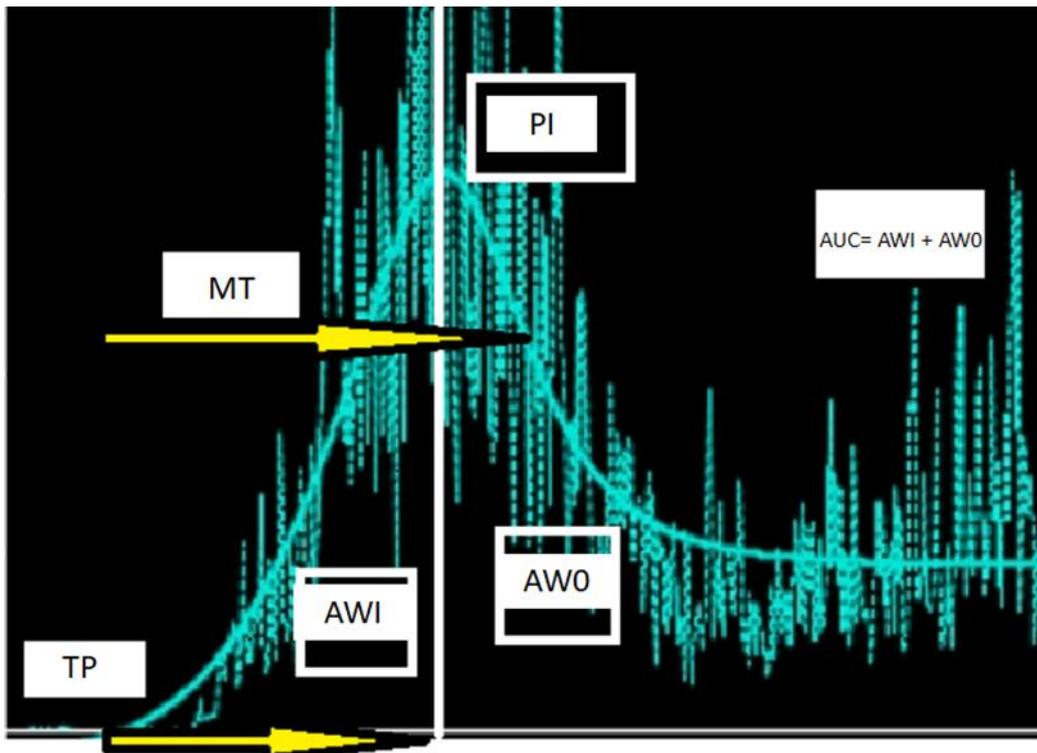
Modo B- convencional. En el modo B-convencional de la ecografía se localiza la zona de mayor grosor de la pared intestinal, midiendo el grosor de la pared a nivel del muro anterior de la pared considerándose patológico por encima de 3 mm. También se valora el resto de estructuras para descartar la aparición de otros procesos relacionados con la enfermedad como son la presencia de fístulas, ulceraciones intramurales o la aparición de zonas estenóticas en el tubo digestivo.

Elastografía. Posteriormente, en la misma zona, se procede a valorar la pared intestinal con la técnica *shear wave*, usando el transductor tipo lineal de 14-7,2 MHz. La valoración se hace en la porción del tubo digestivo con mayor grosor de la pared y en el plano axial. En el plano axial se colocará el ROI (*predetermined region of interest*), con un área de 4-5 mm², en la submucosa de la pared intestinal tomando varias mediciones para englobar la mayor extensión de pared posible obteniendo una mediana de todas las mediciones realizadas. El software del ecógrafo genera un mapa de color en el que las áreas de mayor rigidez aparecen en azul, las zonas intermedias de color verde y las zonas más blandas en color rojo. Las adquisiciones obtenidas se considerarán aceptables por el ecografista cuando la región de interés este llena de color y se mantengan de forma constante y no se observen artefactos.

Los datos obtenidos con el *shear wave* están medidos en kPa (el Kilopascal es la medida más extendida aunque también puede medirse en m/sg). Para asegurar la calidad de los datos obtenidos valoramos el IQR. El IQR es una medida estadística de dispersión entre los percentiles superiores e inferiores. Un IQR/mediana < 0.30 sugiere que los datos medidos tienen una calidad suficiente. Por tanto, un criterio de exclusión en nuestro estudio sería un IQR/mediana > 0.30.

Ecografía con contraste intravenoso (ECC). Para ello, realizamos inmediatamente después la valoración ecográfica en modo convencional (sobre el mismo sitio donde hemos valorado el shear wave) con el transductor tipo convex de 6-1,9 MHz. El estudio de perfusión de las asas intestinales patológicas se lleva a cabo mediante la administración de contraste intravenoso compuesto por microburbujas de hexafluoruro de azufre (SonoVue), inyectado en forma de bolo de 4 cm³ a través de una vena periférica del brazo seguido de 5 ml de suero salino al 0,9%. Es importante tener en cuenta que el uso de grandes dosis de contraste no va a mejorar la imagen obtenida o alterar los valores medidos con este procedimiento.

La finalización de la inyección del contraste se considera el punto de partida para grabar y almacenar los datos de realce de la pared intestinal en un formato de imágenes intermedias con una duración de unos 60 segundos aproximadamente. El registro de imágenes intermedias es mandado al sistema de almacenamiento de información radiológica del HUMS (PACS). Para la valoración de la perfusión de las asas intestinales patológicas, se realiza un análisis del comportamiento de realce de dichas asas mediante una serie de curvas de perfusión, al menos dos con un ROI de 3-4 mm² de área, en las zonas más ecogénicas de la pared intestinal tras la administración de contraste. Con esos datos “brutos”, seleccionando aquellas zonas de la pared intestinal donde la captación de contraste es más intensa (*ROI*) se obtendrá una serie de curvas a partir de las cuales se pueden obtener una serie de datos cuantitativos. En ellas se analizaron los siguientes valores proporcionados por el software del ecógrafo: el pico de intensidad (*peak intensity - PI*), el tiempo que tarda en alcanzarlo (*time to peak - TP*), el tiempo de tránsito medio (*mean to transit - MT*) curva total bajo la curva (*AUC*), área bajo la curva de realce (*wash-in / AWI*) y área bajo la curva de lavado (*wash-out / AWO*). De acuerdo al protocolo del HUMS, todos los pacientes firmaron el consentimiento informado antes de la realización de la prueba (ver Anexo II).



MT es el tiempo que tarda en alcanzar
 $\frac{1}{2}$ de AUC

Calprotectina

Siguiendo el protocolo de la EC de nuestro centro, a todos los pacientes que se encuentran en fase de actividad de la enfermedad se les solicita biomarcadores fecales (concretamente calprotectina) que son útiles para la valoración de las recidivas pero que aisladamente no tienen ningún significado y deben complementarse con la realización de otras pruebas. En nuestro estudio, se solicita en un plazo no superior a 1 semana entre ambas pruebas (calprotectina y ECC).

Analíticamente se considera que los valores de calprotectina están alterados cuando son superiores a 27 $\mu\text{g/g}$, aunque los especialistas de Digestivo de nuestro centro empiezan a considerarla cuando presenta unos valores por encima de 200 $\mu\text{g/g}$.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó usando el programa informático estadístico IBM SPSS Statistics 22.

Se llevó a cabo un análisis descriptivo de las variables sexo y edad en la muestra de la población estudiada. El resto de variables recogidas fueron sometidas a un test de normalidad para saber si seguían una distribución normal o no y poder aplicar métodos estadísticos paramétricos o no paramétricos. Al ser una muestra con una $N < 50$, se utilizó el test de Shapiro-Wilk. Al demostrarse que los datos no siguen una distribución normal y ser variables cuantitativas se utiliza el coeficiente de correlación de Spearman para analizar las posibles relaciones entre ellos.

4.- RESULTADOS

Estadística descriptiva (ver Anexo I)

Durante 6 meses se les realizó ECC en la sección de Radiología Digestiva del HUMS a todos aquellos pacientes con EC que presentaban actividad clínica reclutándose 38 pacientes. Al estar ante una población pequeña y heterogénea preferimos usar la mediana y los percentiles 25 (P25) y 75 (P75) como medidas de dispersión central para describir a la población. El 50% de la muestra son hombres y el otro 50% son mujeres. La mediana de la población estudiada fue de 46 años con un P25-P75 entre 26 y 59 años respectivamente. La mediana de la edad para los hombres fue de 45 y de 55 en el caso de las mujeres.

Para el grosor de la pared encontramos una mediana de 5,85 mm con un P25-P75 entre 4,42 y 7,02 mm. En el caso de la elastografía con técnica *shear-wave* la mediana es de 13,10 kPa con P25-P75 entre 9,21 y 17,05 kPa. Finalmente, para la calprotectina la mediana es de 272 µg/g con P25-P75 entre 98 y 666,50 µg/g.

Los valores obtenidos de la relación entre las diferentes variables medidas en nuestro estudio quedan recogidos en el anexo I.

Correlaciones generales (ver tabla 2)

Existe una correlación directa baja entre el grosor parietal y los niveles de calprotectina ($r=0,325$ con $p<0,05$). Entre el grosor y la elasticidad existe una correlación directa muy baja ($r= 0,319$ con $p>0,05$) pero no es estadísticamente significativa. Entre la elasticidad y la calprotectina la relación es prácticamente nula ($r=0,021$ con $p >0,05$). Se observa una correlación directa muy alta entre el PI con el Área bajo la curva ($r= 0.935$ con $p <0,05$) (ver gráficos) y, por tanto, con el AWI ($r=0,938$ con $p <0,05$) y AWO ($r= 0,952$ con $p < 0,05$) respectivamente. También, existe una correlación directa moderada entre el TP y el MT ($r= 0,600$ con $p < 0,05$).

Correlaciones estratificadas

Se analizan también los resultados utilizando diferentes puntos de corte para determinados valores, concretamente para la calprotectina y la elasticidad.

1. Correlaciones con calprotectina > 200 µg/g (ver tabla 3)

En aquellos pacientes con una calprotectina por >200 µg/g se ve una correlación directa muy alta entre el PI con el Área bajo la curva ($r= 0.962$ con $p < 0,05$) y por tanto con el AWI ($r=0,933$ con $p < 0,05$) y AWO ($r= 0,953$ con $p < 0,05$) respectivamente (ver tabla 2). También se observa una correlación directa baja entre el grosor y la elasticidad ($r=0,43$ con $p < 0,05$). En el caso de la calprotectina y la elasticidad la correlación es prácticamente nula y no significativa ($r= 0,053$ con $p > 0,05$).

2. Correlaciones con elastografía < 13,10 kPa (ver tabla 4)

En el caso de la elastografía se toma como referencia la mediana. En aquellos pacientes con valores <13,10 kPa también se demostró una correlación directa muy alta entre el PI con el Área bajo la curva ($r= 0.920$ con $p < 0,05$) y por tanto con el AWI ($r=0,957$ con $p < 0,05$) y AWO ($r= 0,917$ con $p < 0,05$) respectivamente (ver tabla 3). Se observa un coeficiente de correlación muy débil negativo con el grosor ($r= -0,12$) y la calprotectina ($r= -0,98$) pero no es estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

3.- Correlaciones con elastografía > 13,10 kPa (ver tabla 5)

Para valores >13,10 kPa, existe una correlación prácticamente nula positiva en el caso del grosor ($r= 0,099$) y negativa para la calprotectina ($r= -0,079$) ambas estadísticamente no significativas. También se observan que todos los valores que se obtiene de la ECC presentan una correlación negativa baja no estadísticamente significativa para valores altos de la elastografía.

5.- DISCUSIÓN

En el año 2011, la Federación Europea de Sociedades de ecografía en Medicina y Biología (EFSUMB) ²⁷ ya sugirió en sus guías el uso de la ECC en la EII. Más adelante, diversos metaánalisis²⁸⁻²⁹ analizaron la sensibilidad (93-94%) y la especificidad (78-87%) de la ECC en la precisión diagnóstica de EII. En 2017, la Organización Europea de Enfermedad de Crohn y Colitis (ECCO)³⁰ establecía el papel de la ECC como un complemento de la ecografía convencional para la determinación de la actividad inflamatoria e incluso para la caracterización de las estenosis intestinales.

El aumento del grosor de la pared es el parámetro más usado para determinar si existe actividad. Un grosor inferior a los 3 mm descarta prácticamente la existencia de enfermedad siempre que estemos en pacientes con una alta probabilidad pre-prueba. Existen estudios en la literatura en los que se pone de manifiesto de que existe relación entre el grosor de la pared e índices clínicos de actividad, el índice de actividad de la enfermedad de Crohn (CAI) o el índice de Harvey Bradshaw (HBI), y en relación con los hallazgos endoscópicos²⁴. Esto explicaría la correlación directa baja entre el grosor parietal y la calprotectina en nuestro estudio, ya que la calprotectina es un biomarcador que ha mostrado tener una gran correlación con índices de actividad endoscópicos. No solo el grosor parietal está aumentado en la enfermedad aguda sino que también esta aumentado en la enfermedad crónica y en la fibrosis³¹. Es decir, el grosor parietal no muestra demasiada asociación con el grado de actividad de la enfermedad, en otras palabras, nos indica que hay enfermedad pero no el grado de gravedad lo que estaría en relación con no haber encontrado en nuestro estudio una correlación estadísticamente significativa entre los valores cuantitativos de la ECC con el grosor parietal.

Poder diferenciar entre actividad inflamatoria y la presencia de lesiones fibróticas en los pacientes con EC es crucial para poder planificar el tratamiento bien hacia un manejo clínico o hacía un manejo quirúrgico y poder actuar de forma más agresiva desde el inicio de la enfermedad y evitar el avance inevitable que lleva a la fibrosis debido a situación continua de inflamación. En

la actualidad, tanto la TC como la RM tienen que mejorar en este aspecto pero en cambio existen estudios que han determinado que ciertos parámetros de perfusión obtenidos mediante la ECC pueden ser útiles para poder realizar esta diferenciación. Tanto el flujo como el volumen sanguíneo parece ser que están disminuidos en aquellos pacientes con lesiones fibroticas parietales³². Quiaia et al³³. afirman que las lesiones fibróticas presentan un menor pico de intensidad y un menor área bajo la curva respecto a las lesiones fibrosas. También, con la elastografía con técnica *shear-wave* se ha descrito la posibilidad de valorar el grado de fibrosis (“dureza”) de un tejido³⁴. Valores altos de esta técnica ecográfica se ha correlacionado con un componente predominante de fibrosis y de hipertrofia muscular³⁵.

En nuestro estudio, al ser una muestra de la población pequeña, hicimos dos grupos tomando la mediana de los valores numéricos obtenidos de la elastografía con técnica *shear-wave* (véase tabla 4 y 5). En los pacientes con valores por encima de la mediana, aquellos que probablemente tuviesen mayor componente fibrótico, se obtuvo una correlación inversa débil entre los valores de la elastografía con técnica *shear-wave* y el pico de intensidad (PI) y el área bajo la curva (AUC); mientras que en aquellos que tenían valores por debajo de la mediana, probablemente aquellos en los que predominase el componente inflamatorio, se obtuvo una correlación directa débil. En ambos casos, las correlaciones no fueron estadísticamente significativas seguramente debido a contar con una muestra muy pequeña y que el transcurso de la EC lleva inexorablemente a una convivencia mixta entre lesiones inflamatorias y fibróticas.

Como no hemos correlacionado los resultados de la elastografía con la técnica *shear-wave* con datos histológicos, entendemos como asa con predominio del componente fibroso aquella que tiene un engrosamiento parietal significativo (> 3 mm) con unos niveles bajos de calprotectina (lo que indicaría un predominio del componente inflamatorio). Sin embargo, otra vez, el curso natural de la EC también explicaría la ausencia de una correlación estadísticamente significativa

entre el grosor y la calprotectina con los valores obtenidos de la elastografía con técnica *shear-wave*.

En nuestro centro, se considera que una calprotectina por encima de 200 µg/g es un valor a tener en cuenta para enfermedad activa. Analizando los valores cuantitativos que nos proporciona la ECC, existe una correlación directa débil no estadísticamente significativa con la calprotectina. Mientras que existe una correlación directa muy fuerte, acorde con lo demostrado por Quiaia et al^{33,36}. entre los valores del pico de intensidad y el área debajo de la curva entre sí lo que parece indicar que son los valores de la ECC que mejor reflejan el estado inflamatorio. Sin embargo, a diferencia de otros estudios de la literatura donde se afirma que existe una asociación inversa entre la actividad clínica y la calprotectina con el tiempo que tarda en alcanzar el pico (*time to peak – TP*)³⁷ no la hemos encontrado en nuestro estudio.

6.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Existen algunos sesgos en nuestro estudio. Uno de ellos sería que nos hemos correlacionado ni con hallazgos endoscópicos, ni hallazgos histológicos ni con índices clínicos. Solo hemos correlacionado con la calprotectina (como dato indicativo de actividad) respecto a los hallazgos ecográficos.

Además, el tener una muestra tan pequeña puede provocar la infraestimación de las correlaciones que puedan existir entre las diferentes variables. Otro inconveniente de tener una muestra pequeña y unos criterios de inclusión no muy estrictos en la posible heterogeneidad de la muestra que va a provocar que no se puedan generalizar los datos.

El propio curso de la enfermedad también dificulta la interpretación de los datos. La mayor parte de los pacientes con EC tiene tanto componente inflamatorio como fibrótico lo que dificulta el análisis de las posibles correlaciones entre las variables.

Otra limitación de nuestro estudio preliminar sería la gran variabilidad interobservador que existe en la ecografía al seleccionar cual es el punto de la pared intestinal que más realce para obtener las curvas ROC de donde se extraen luego todos los valores cuantitativos de la ECC y que hace que sea más difícil poder sacar conclusiones entre diferentes estudios.

7.- CONCLUSIONES

Con los resultados de nuestro estudio preliminar no podemos afirmar que la ECC junto con la elastografía con técnica *shear-wave* podamos determinar el grado de actividad de la enfermedad.

Sin embargo cuando realizamos análisis estratificados sí que encontramos algunas conclusiones interesantes, que no son estadísticamente significativas debido a la utilización de una muestra pequeña y heterogénea, como:

1. Para niveles de calprotectina significativos ($> 200 \mu\text{g/g}$) y de la elastografía $<13,10 \text{ kPa}$ (predominio del componente inflamatorio), el PI y el AUC presentan una buena correlación entre ellos indicando que son los dos valores más fiables de la ECC para valorar el grado de inflamación.
2. Para niveles de elastografía altos $>13,10 \text{ kPa}$ (donde predomina el componente fibrótico) presenta una correlación inversa débil con los niveles de calprotectina lo que estaría a favor de que la elastografía con técnica *shear-wave* sería útil para la valorar el grado de fibrosis.

Tanto la ECC como el uso de la elastografía con técnica *shear-wave* son métodos no invasivos, no ionizantes, fácilmente repetibles, bien tolerados por los pacientes y que pueden aportarnos datos objetivos sobre la actividad y complicaciones de la EC que tendrá implicaciones positivas tanto en el manejo terapéutico como en el seguimiento y monitorización de la enfermedad. La obtención de valores numéricos permite poder hacer comparaciones en el tiempo teniendo una potencial aplicación en la valoración de un mismo paciente en diferentes momentos del curso evolutivo de su enfermedad, sin embargo para poder hacer comparaciones entre pacientes hacen faltan más estudios en la literatura con mayor número de pacientes. La variabilidad interobservador es el principal escollo a superar por lo que harán falta estudios prospectivos para desarrollar un índice ecográfico que integre y estandarice todos estos parámetros numéricos para evitar valoraciones subjetivas

Es necesario, por tanto, el análisis de estos datos de un grupo más amplio así como valorar el grado de correlación intra e interobservador.

8.- BIBLIOGRAFÍA

1. Cosnes J, Gower– Rousseau C, Seksik P, et al. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel dis-eases. *Gastroenterology* 2011;140:1785–1794
2. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, et al. The Mon-treal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut* 2006; 55:749–753
3. Friedman S, S.Blumberg R. Enfermedad inflamatoria intestinal. En: Longo DL, Fauci AS, et al, editores. En: Harrison principios de medicina interna. Vol 2.18 ed. Mexico: McGraw-Hill ; 2012.p 2477-2495.
4. Rosenstiel P, Sina C, Franke A, Schreiber S: Towards a molecular risk map–recent advances on the etiology of inflammatory bowel disease. *Semin Immunol* 2009; 21: 334–345.
5. Moussata D, Goetz M, Gloeckner A, et al.: Confocal laser endomicroscopy is a new imaging modality for recognition of intramucosal bacteria in inflammatory bowel disease in vivo. *Gut* 2011; 60: 26–33
6. Sandborn WJ, Hanauer S, Van Assche G, et al.Treating beyond symptoms with a view to improving patient outcomes in inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis* 2014; 8:927–935.
7. Vilela EG, Torres HODG, Martins FP, Ferrari MD,Andrade MM, Da Cunha AS. Evaluation of inflammatory activity in Crohn’s disease and ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18:872–881
8. Van de Bruaene C, De Looze D, Hindryckx P. Small bowel capsule endoscopy: where are we after almost 15 years of use? *World J Gastrointest Endosc* 2015; 7:13–36.
9. Nos Mateu P. Índices de actividad en la enfermedad inflamatoria intestinal. En: Angel M, Gomollon F, Hinojosa J, Obrador A, Editores. *Enfermedad Inflamatoria Intestinal*. 3º ed. Madrid: ARAN; 2007. p. 199-208
- 10.Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 661-5.

11. 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. *Gut* 1994; 35:231–235.
12. Horsthuis K, Bipat S, Bennink R, Stoker J. Inflammatory bowel disease diagnosed with US, MR, scintigraphy, and CT: meta-analysis of prospective studies. *Radiology* 2008; 247:64–79.
13. Medellin-Kowalewski A, Wilkens R, Wilson A, Ruan J, Wilson SR. Quantitative Contrast-Enhanced Ultrasound Parameters in Crohn Disease: Their Role in Disease Activity Determination With Ultrasound. *AJR Am J Roentgenol*. 2016 Jan;206(1):64-73
14. Panés J, Bouzas R, Chaparro M et al (2011) Systematic review: the use of ultrasonography, computed tomography and magnetic resonance imaging for the diagnosis, assessment of activity and abdominal complications of Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 34:125–145.
15. Pita I, Magro F. Advanced imaging techniques for small bowel Crohn's disease: what does the future hold? *Therap Adv Gastroenterol*. 2018 Feb 12;11:1756283X18757185.
16. Fraquelli M, Colli A, Casazza G, et al. Role of US in detection of Crohn disease: meta-analysis. *Radiology* 2005;236 (1):95–101
17. Olivier I, Théodorou V, Valet P, et al. Is Crohn's creeping fat an adipose tissue? *Inflamm Bowel Dis* 2011;17(3): 747–757.
18. Muradali D, Goldberg DR. US of gastrointestinal tract disease. *Radiographics*. 2015 Jan-Feb;35(1):50-68.
19. Ledermann HP, Börner N, Strunk H, Bongartz G, Zollkofer C, Stuckmann G. Bowel wall thickening on transabdominal sonography. *AJR Am J Roentgenol* 2000;174 (1):107–117.
20. Maconi G, Radice E, Greco S, Bianchi Porro G. Bowel ultrasound in Crohn's disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006;20(1):93–112
21. Orlando S, Fraquelli M, Coletta M, Branchi F, Magarotto A, Conti CB, Mazza S, Conte D, Basilisco G, Caprioli F. Ultrasound Elasticity Imaging Predicts Therapeutic Outcomes of Patients With Crohn's Disease Treated With Anti-Tumour Necrosis Factor Antibodies. *J Crohns Colitis*. 2018 Jan 5;12(1):63-70.

22. Rieder F, Fiocchi C, Rogler G. Mechanisms, management, and treatment of fibrosis in patients with inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2017;152:340–50.
23. Ripollés T, Martínez-Pérez MJ, Blanc E, Delgado F, Vizuete J, Paredes JM, Vilar J. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in Crohn's disease: technique, image interpretation and clinical applications. *Insights Imaging*. 2011 Dec;2(6):639-652.
24. Drews BH, Barth TFE, Hänle MM, et al. Comparison of sonographically measured bowel wall vascularity, histology, and disease activity in Crohn's disease. *Eur Radiol* 2009;19 (6):1379–1386.
25. Bodily KD, Fletcher JG, Solem CA et al (2006) Crohn disease: mural attenuation and thickness at contrast-enhanced CT enterography. Correlation with endoscopic and histologic findings of inflammation. *Radiology* 238:505–516.
26. Sempere JGA, Martínez-Sanjuán V, Medina E et al (2005) MRI evaluation of inflammatory activity in Crohn's disease. *Am J Roentgenol* 184:1829–1835.
27. Piscaglia F, Nolsøe C, Dietrich CF, Cosgrove DO, Gilja OH et al (2011) The EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical practice of contrast enhanced ultrasound (CEUS): update 2011 on non-hepatic applications. *Ultraschall Med* 33(1):33–59
28. Ma X, Li Y, Jia H, Zhang J, Wang G, Liu X, Song Y (2015) Contrast-enhanced ultrasound in the diagnosis of patients suspected of having active Crohn's disease: meta-analysis. *Ultrasound Med Biol* 41(3):659–668
29. Serafin Z, Bialecki M, Bialecka A, Sconfienza LM, Klopocka M (2016) Contrast enhanced ultrasound for detection of Crohn's disease activity: systematic review and meta-analysis. *J Crohns Colitis* 10:354–362
30. Gomollon F, Dignass A, Annese V, Tilg H, Van Assche G, Lindsay JO et al (2017) 3rd European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease 2016: part 1: diagnosis and medical management. *J Crohns Colitis* 11(1):3–25
31. Wilkens R, Hagemann-Madsen RH, Peters DA, Nielsen AH, Nørager CB, Glerup H, Krogh K. Validity of Contrast-enhanced Ultrasonography

- and Dynamic Contrast-enhanced MR Enterography in the Assessment of Transmural Activity and Fibrosis in Crohn's Disease. *J Crohns Colitis*. 2018 Jan 5;12(1):48-56
32. Nylund K, Jirik R, Mezl M et al (2013) Quantitative contrast-enhanced ultrasound comparison between inflammatory and fibrotic lesions in patients with Crohn's disease. *Ultrasound Med Biol* 39:1197–1206
33. Quaia E, De Paoli L, Stocca T et al (2012) The value of small bowel wall contrast enhancement after sulfur hexafluoride-filled microbubble injection to differentiate inflammatory from fibrotic strictures in patients with Crohn's disease. *Ultrasound Med Biol* 38:1324–1332
34. Mocchi G, Migaleddu V, Cabras F, Sirigu D, Scanu D, Virgilio G, Marzo M. SICUS and CEUS imaging in Crohn's disease: an update. *J Ultrasound*. 2017 Jan 2;20(1):1-9.
35. Lu C, Gui X, Chen W, Fung T, Novak K, Wilson SR. Ultrasound Shear Wave Elastography and Contrast Enhancement: Effective Biomarkers in Crohn's Disease Strictures. *Inflamm Bowel Dis*. 2017 Mar;23(3):421-430.
36. De Franco A, Di Veronica A, Armuzzi A et al (2012) Ileal Crohn disease: mural microvascularity quantified with contrast-enhanced US correlates with disease activity. *Radiology* 262:680–688.
37. Girlich C, Schacherer D, Jung EM et al (2012) 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.

