



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

MEDICINA MOLECOLARE E BIOTECNOLOGIE

**Dipartimento di Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica avanzata**

Settore scientifico di riferimento: Biofisica Molecolare e Bioimaging

**RUOLO DELL'ELASTOSONOGRAFIA E DELL'ENTERO-RM PER LA  
VALUTAZIONE DEL MESENTERE E DELLA PARETE INTESTINALE  
NEI PAZIENTI CON MORBO DI CROHN**

IL DOTTORE

**Dott. Dario Picone**

IL TUTOR

**Ch.mo Prof. Massimo Midiri**

IL COORDINATORE:

**Ch.mo Prof. Massimo Midiri**

CICLO XXXIII

ANNO CONSEGUIMENTO TITOLO 2018-2019

# **INDICE**

1. Introduzione
2. Elastografia
3. Studio sperimentale:
  - a) Obiettivi
  - b) Pazienti
  - c) Apparecchiature
  - d) Preparazione
  - e) Protocollo
  - f) Analisi delle Immagini
  - g) Analisi statistiche
  - h) Risultati
4. Discussione
5. Conclusioni
6. Iconografia
7. Bibliografia

## **INTRODUZIONE**

Il Morbo di Crohn (MC) è una malattia infiammatoria intestinale, per la presenza di un processo flogistico cronico a carico del tratto gastroenterico, con un andamento clinico di tipo ricorrente. Si sviluppa come un processo flogistico di tipo aspecifico esteso a tutti gli strati della parete intestinale del tratto colpito, con interessamento anche del mesentere e dei linfonodi regionali. L'eziologia del MC rimane tuttora ignota, vi è, tuttavia, accordo sull'ipotesi patogenetica, secondo cui in individui predisposti geneticamente (DR5 e DQ1), sia i fattori esogeni, come gli agenti infettivi e la normale flora intestinale, sia i fattori dell'ospite, come la funzione di barriera dell'epitelio intestinale, la vascolarizzazione e l'attività neuronale, determinino una condizione cronica di alterazione della funzione immunitaria della mucosa, che è sottoposta ad ulteriori modificazioni da parte di specifici fattori ambientali<sup>1</sup>. Comunque, secondo la stessa ipotesi, sono stati inseriti come fattori di possibile interesse eziologico non soltanto i fattori familiari, genetici ed infettivi, ma anche i fattori immunologici e psicologici.

Il MC è stato inizialmente considerato come un'affezione prettamente ad interesse dell'intestino tenue, in particolar modo si presentava più

frequentemente a livello dell'ultima ansa ileale, da questo, infatti, deriva la sua definizione di ileite terminale. In seguito, la patologia fu osservata anche in altre sedi a livello del tubo gastroenterico; in modo del tutto eccezionale sono state riscontrate lesioni da MC anche in sedi extra-digestive come lo scroto, il prepuzio<sup>2</sup>, la cute mammaria<sup>3</sup> e la vulva.<sup>4</sup>

Secondo le più recenti statistiche, oggi sappiamo che il MC può coinvolgere l'intero tratto gastrointestinale dalla bocca alla zona perianale, ed in particolare:

- Circa l'80% dei pazienti ha il coinvolgimento del piccolo intestino, solitamente nell'ileo distale, e circa un terzo dei pazienti presenta esclusivamente ileite.
- Circa il 50% dei pazienti presenta una ileocolite.
- Circa il 20% presenta un interessamento limitato al colon. A differenza dei pazienti affetti da colite ulcerosa, nella metà dei pazienti affetti dal CD non si ha coinvolgimento del retto.
- Circa il 35% dei pazienti ha una malattia perianale.
- Circa il 5% dei pazienti ha un coinvolgimento predominante della bocca o della zona gastroduodenale, mentre un numero

inferiore di pazienti ha un coinvolgimento dell'esofago e dalla parte prossimale del piccolo intestino.

Il quadro anatomico-patologico è uguale sia che la malattia interessi il tenue sia che colpisca il colon. Infatti, il processo flogistico ha una distribuzione tipicamente discontinua e segmentaria, che di fatti viene descritta come lesioni "a salto". Si descrivono, anche, stenosi e dilatazioni del lume enterico. Possiamo ritrovare degli ispessimenti parietali nei quali si associano spesso ulcere serpiginose (aspetto ad acciottolato romano, "*cobblestone*"), che possono tendere alla confluenza, e fissurazioni profonde<sup>5</sup>.

Le manifestazioni cliniche della MC sono più variabili di quelle della colite ulcerosa. I pazienti possono avere sintomi aspecifici per molti anni prima della diagnosi <sup>6 7</sup>.

Stanchezza, diarrea cronica con o senza sanguinamento grave, dolore addominale, perdita di peso e febbre sono i tratti distintivi del MC<sup>8</sup>.

**Dolore addominale** - Dolori addominali tipicamente crampiformi sono una manifestazione comune di MC, indipendentemente dalla localizzazione della malattia. La natura transmurale del processo infiammatorio provoca stenosi fibrotiche.

**Diarrea** – Anche la diarrea è molto comune, ma spesso oscilla su un lungo periodo di tempo. Una storia di diarrea prolungata, senza sanguinamento, ma con altre caratteristiche suggestive di malattia infiammatoria intestinale (IBD) dovrebbero suggerire la diagnosi di MC. La diarrea associata al MC potrebbe avere molteplici cause, tra cui:

- secrezione di fluidi eccessiva e assorbimento di liquidi compromesso dall'infiammazione del piccolo o del grande intestino;
- malassorbimento dei sali biliari a causa di un ileo terminale infiammato;
- steatorrea relativa alla perdita di sali biliari.

**Sanguinamenti** – L'esame delle feci spesso rileva la presenza di sangue occulto; l'ematocheziosi, invece, ha maggiore incidenza nella rettocolite ulcerosa.

**Le fistole** – L'infiammazione transmurale è associata con lo sviluppo di fistole. Generalmente si presentano come processi indolenti, e non con quadri di addome acuto.

In uno studio basato sulla popolazione di pazienti con MC, il rischio

cumulativo di sviluppare una fistola è stato del 33 e del 50 per cento dopo 10 e 20 anni, rispettivamente<sup>9</sup>. Nel 45 per cento dei pazienti con fistola sviluppa in seguito un quadro di MC, e la diagnosi di MC viene posta successivamente alla diagnosi di fistola<sup>10</sup>.

**Ascessi** – Possiamo riscontrare ascessi della parete intestinale, con lo sviluppo successivo, a causa di una loro complicazione, di peritonite localizzata con febbre e dolore addominale. La peritonite diffusa è una complicanza rara che si verifica in caso di perforazione di un ascesso.

**Malattie perianali** - Sintomi e segni legati alla malattia perianale si presentano in più di un terzo dei pazienti con MC e possono predominare il quadro clinico. Queste comprendono dolore perianale, ragadi anali, ascessi e fistole.

**Malassorbimento** - Gli acidi biliari sono normalmente assorbiti nell'ileo distale. Il malassorbimento dei sali biliari si verifica quando 50-60 cm di ileo terminale sono coinvolti dalla malattia e/o asportati. Si ha, dunque, un aumento della sintesi di sali biliari per compensarne la perdita. Tuttavia, il meccanismo di compensazione risulta inadeguato in caso di malattia acuta o resezione di oltre 100 cm di ileo terminale, che porta alla deplezione del pool dei sali biliari e al

malassorbimento dei grassi.

Altre manifestazioni extraintestinali e sistemiche tendono essere più frequenti quando vi è un coinvolgimento del colon; esse comprendono:

- **Artrite** - Coinvolge principalmente le grandi articolazioni in circa il 20 per cento dei pazienti senza distruzione sinoviale, l'artrite è la manifestazione extraintestinali più comune.
- **Coinvolgimento oculare** - Circa il 5 per cento dei pazienti presenta uveite, irite ed episclerite.
- **Manifestazioni dermatologiche** - si verificano in circa il 10 per cento dei pazienti e comprendono eritema nodoso e pioderma gangrenoso. Raramente, vi è un coinvolgimento della vulva, che potrebbe manifestarsi con gonfiore, dolore, edema, eritema ed ulcerazione.
- **Colangite sclerosante primaria** – E' presente in circa il 5 per cento dei pazienti affetti da MC, la sierologia dimostra un aumento della concentrazione sierica di fosfatasi alcalina o gamma-glutamyl transpeptidasi.



- **Amiloidosi secondaria** – E' molto rara ma può portare a insufficienza renale e coinvolgimento di altri organi <sup>11</sup>.
- **Tromboembolismo arterioso** – E' derivante da un incremento della coagulabilità<sup>12</sup>.
- **Calcoli renali** – Elevati livelli di ossalato di calcio e di acido urico possono essere causati dalla steatorrea e dalla diarrea<sup>13</sup>.
- **Osteoporosi** - Legata probabilmente all'uso di glucocorticoidi e alterato assorbimento della vitamina D<sup>14</sup>.
- **La carenza di vitamina B12** - Un quadro clinico di anemia perniziosa può derivare da una grave malattia ileale, poiché la vitamina B12 viene assorbita nei 50/60 cm distali dell'ileo<sup>15</sup>.
- **Coinvolgimento polmonare** - Le principali patologie del coinvolgimento polmonare sono bronchiectasie, bronchite cronica, malattia polmonare interstiziale, bronchiolite obliterante con polmonite organizzata (BOOP), sarcoidosi, infiltrati polmonari con eosinofilia (PIE), sierosite, ed embolia polmonare.

La diagnosi di MC è di solito stabilita grazie ai risultati endoscopici e/ o agli studi d'imaging in un paziente con una storia clinica

compatibile. L'esame obiettivo può essere normale o mostrare segni aspecifici (pallore, perdita di peso) suggestivi di MC.

I sintomi di presentazione spesso determinano l'ordine dei successivi test. La colonscopia è la prova iniziale più appropriata per i pazienti che si presentano con diarrea predominante, mentre gli studi di imaging possono essere più appropriati per coloro che si presentano con dolore addominale.

**Esami di laboratorio** – Esami iniziali per pazienti che si presentano con storia ed esame obiettivo tipici di MC dovrebbero includere:

- Esame emocromocitometrico completo (CBC).
- Chimica del sangue compresi gli elettroliti, test di funzionalità renale, enzimi epatici, e di glucosio nel sangue.
- Velocità di eritrosedimentazione (VES).
- Proteina C-reattiva (CRP).
- Livelli di B12 siero ferro e vitamina.
- Calprotectina.
- Ricerca di sangue occulto nelle feci.

Gli esami di routine possono dunque essere normali o possono rivelare anemia, carenza di ferro, elevato numero di globuli bianchi, carenza di vitamina B12, elevato tasso di sedimentazione degli eritrociti o elevata CRP.

**Colonscopia** - Viene utilizzata per stabilire la diagnosi di ileocolite da MC. Ci sono tre principali risultati endoscopici che sono specifici per la diagnosi della MC e aiutano a distinguerlo da RCU<sup>16</sup>:

- **Ulcere aftose** - Piccole ulcere aftose discrete possono essere viste nelle lesioni iniziali (foto 3)<sup>17</sup>. Ulcere più profonde che coinvolgono l'intera parete del colon, in contrasto con le ulcere in pazienti con RCU, che coinvolgono solo la mucosa.

- ***Cobblestoning*** - Ulcere lineari o serpiginose possono essere evidenti per diversi centimetri lungo l'asse longitudinale del colon nella MC (figura 4)<sup>18</sup>. Si ha, quindi, la presenza di ulcere profonde descritte come "crepe" tra le pietre, mentre le aree di tessuto infiammato o normale formano le "pietre".

- **Lesioni discontinue** - Sono tipicamente discontinue. Possono essere adiacenti al tessuto normale, con "jump zone". Al contrario, RCU tende ad essere continua e graduale.

Il rapporto tra gravità del quadro endoscopico e gravità clinica è ad ogni modo relativamente debole, ma statisticamente significativo nella malattia di Crohn<sup>19</sup>.

**Wireless capsula endoscopica** – La capsula endoscopica wireless è sempre più utilizzata per la valutazione del piccolo intestino. Si possono rilevare le lesioni suggestive che non sono visibili ad altri studi. Tuttavia, non è possibile utilizzarla in pazienti con sospetta stenosi intestinale, poiché la capsula potrebbe non essere in grado di passare la stenosi, richiedendo così la rimozione chirurgica<sup>20</sup>.

**Studi di imaging** – Gli studi di imaging sono più utili per valutare il tratto gastrointestinale superiore e permettono di documentare la lunghezza e la posizione di eventuali stenosi nelle zone non accessibili mediante colonscopia.

L'imaging, con radiologia convenzionale, prevede studi con il bario, come clisma opaco. L'ecografia delle anse intestinale è una tecnica, che è utilizzata per una valutazione veloce ed a basso costo per una valutazione preliminare dei pazienti con sospetto MC. L'imaging di ultima generazione si avvale oramai, dell'uso della tomografia computerizzata (TC) e la risonanza magnetica nucleare (RMN), in

particolare con gli studi di entero-TC e entero-RMN, che ormai hanno un ruolo principale nella diagnosi e valutazione del MC.

In particolare la **risonanza magnetica** sta diventando il nuovo gold standard nella diagnosi e follow up del MC<sup>21</sup>, permette la valutazione dello stato di malattia a livello intestinale ed inoltre l'identificazione di complicanze extraluminali. Per eseguire una MRE, come per la CTE, si utilizza un contrasto neutro per una migliore valutazione della parete del piccolo intestino. La MRE ha un'elevata precisione nel rilevare un'inflammatione associata con MC<sup>22</sup>. Tramite le immagini di RM possiamo localizzare e discriminare eventuali stenosi e tratti fistolosi. Di fatto la MRE come strumento diagnostico propone una nuova prospettiva nello studio del MC, grazie alla sua ottima risoluzione di contrasto e alla sua capacità di ottenere immagini multiplanari.

In uno studio di Friedrich, Fajfar e Pawlik<sup>23</sup>, quarantaquattro pazienti con morbo di Crohn ileale o ileocolico, sono stati sottoposti sia ad MRE, CTE, ileo-colonscopia per la misurazione dell'attività della malattia e l'individuazione delle complicanze legate al MC. Sia CTE e MRE hanno dimostrato una sensibilità e specificità simile per localizzazione della malattia, per valutare l'ispessimento della parete e

l'enhancement, per la valutazione dei linfonodi, e il coinvolgimento del grasso periviscerale, ma MRE dimostra una maggiore accuratezza nella rilevazione delle stenosi ( $P=0,04$ ). MRE ha anche il vantaggio di evitare l'esposizione a radiazioni. MRE può anche essere utilizzata per monitorare la risposta alla terapia in pazienti con MC. Uno studio prospettico di Ordàs, ha coinvolto quarantotto pazienti con MC attivo e ulcere in almeno un segmento ileocolico<sup>24</sup>. Dopo il completamento del trattamento, la MRE ha rilevato la guarigione dell'ulcera con un'accuratezza del 90 per cento contro una dell'83 della colonscopia. Stanno inoltre riacquistando valenza per MC le metodiche che sfruttano gli ultrasuoni. Il principale vantaggio è rappresentato dalla loro ampia disponibilità sul territorio e dalla loro natura non invasiva. Permettono allo stesso tempo l'interazione diretta con il paziente durante l'esame e la capacità di concentrarsi sulle aree di maggiore sofferenza addominale. Nonostante questi vantaggi, l'ecografia rimane sottoutilizzata in molte parti del mondo poiché tecnica molto "operatore-dipendente". In mani esperte, l'ecografia intestinale associata ad elastografia(USE) è una procedura priva di rischi, economica e utile per il monitoraggio dell'attività della malattia, nella valutazione delle complicanze. Tuttavia ileo, digiuno, colon trasverso,

prossimale e retto possono risultare difficoltosi da indagare, a causa della possibile presenza di grandi quantità di gas o in caso di paziente obeso . Il valore di uno studio con ultrasuoni si evince principalmente nella valutazione dell'ispessimento della parete intestinale e nel rilevamento di una maggiore vascolarizzazione sul Doppler. Risulta peraltro valido nell'identificazione di stenosi, perdita della stratificazione, alterazione delle anse intestinali e lesioni extramurali. Nonostante ciò, il rilevamento della fibrosi intramurale in MC rimane impegnativo.<sup>25</sup>

## **Elastografia**

Da sempre la palpazione manuale è stata utilizzata come fonte di informazioni sullo stato dei tessuti molli e ha permesso il rilevamento di varie malattie accompagnate da cambiamenti di elasticità e consistenza dei tessuti. Nel corso degli ultimi due decenni, la palpazione manuale ha acquisito nuova vita grazie all'avvento dei numerosi studi elastografici. L'USE è una tecnica che permette la valutazione dell'elasticità dei materiali e dei tessuti. Aree di applicazione di EI sono la diagnostica medica e il monitoraggio del trattamento.<sup>26</sup>

### L'elasticità dei materiali

L'elasticità di un materiale descrive la sua tendenza a riprendere la sua forma e dimensione originale dopo essere stato sottoposto ad una forza deformante o stress. I fluidi resistono ad una variazione di volume, ma non di forma: possiedono solo elasticità di volume. I solidi resistono a variazioni di forma e di volume: possiedono rigidità o elasticità di taglio, così come elasticità volume. Il cambiamento di dimensione o forma è noto come **deformazione**, che è espressa come rapporto (esempio: la variazione di lunghezza per unità di lunghezza). La deformazione è prodotta da un sistema di forze; la forza che agisce



su unità di area è nota come stress.<sup>27</sup>

I principi di base di elasticità in sintesi comprendono: per un solido omogeneo, il rapporto di forza/deformazione è una costante, chiamato **modulo di elasticità**.

Tre moduli (con unità di misura N/m<sup>2</sup>, o Pa) sono comunemente usati per definire la sua elasticità:

*il modulo di Young* (elasticità longitudinale),  $E = (\text{stress}) / (\text{deformazione})$ .

A taglio o torsione, modulo di rigidità =  $G$ .

Massa o il modulo di volume (elasticità volume) =  $K$ .

Quando un materiale è posto sotto stress, la sua altezza può contrarsi e la sua lunghezza estendersi. Questo è definito da una costante chiamata rapporto di Poisson, che è dato da:

$$\sigma = \frac{\text{lateral contraction per unit breadth}}{\text{longitudinal extension per unit length}}.$$

Queste costanti sono messe in relazione dalle seguenti espressioni:

$$G = \frac{E}{2(1 + \sigma)}, \quad \sigma = \frac{E}{2G} - 1 \quad K = \frac{E}{3(1 - 2\sigma)}.$$

I solidi possono sopportare onde meccaniche in quattro principali modi, a seconda del modo in cui le particelle si muovono durante la propagazione dell'onda.

- In onde longitudinali (o di compressione), le particelle si muovono nella direzione di propagazione,
- In onde trasversali (o taglio), si muovono nella direzione normale alla direzione di propagazione.
- Le altre due modalità di propagazione d'onda sono onde di superficie e di piastra, ma queste non sono affatto rilevanti per la propagazione in tessuti molli.

Le velocità alla quale le onde meccaniche si propagano in un solido è

data dalle seguenti equazioni:  $c_l = \left(\frac{K}{\rho}\right)^{1/2}$   $c_t = \left(\frac{K}{\rho}\right)^{1/2}$

dove  $c_l$  è la velocità dell'onda longitudinale,  $c_t$  è la velocità delle onde di taglio e  $\rho$  è la densità di massa del tessuto.

Per solidi isotropi omogenei sottoposti ad un aumento della tensione, si applica la legge di Hooke, fino al raggiungimento del limite elastico e, infine, si verifica una frattura.

Alcuni materiali presentano proprietà sia elastiche che viscosi quando

essi sono sottoposti a stress; la relazione tra stress e tensione è tempo dipendente.

Un materiale viscoelastico può essere semplicemente assimilato come una componente elastica accoppiata con una componente viscosa che agisce da ammortizzatore, la quale ritarda la risposta allo stress. Tuttavia, altri materiali presentano proprietà poroelastiche. Un materiale poroso è quello in cui una matrice solida è permeata da una rete di interconnessione di pori pieni di liquido. Quando si considera il rapporto sforzo/deformazione di un materiale poroelastico, la matrice può essere valutata con le proprietà elastiche e il fluido è spazialmente ridistribuito nella trama del materiale al fine di soddisfare la sua deformazione.

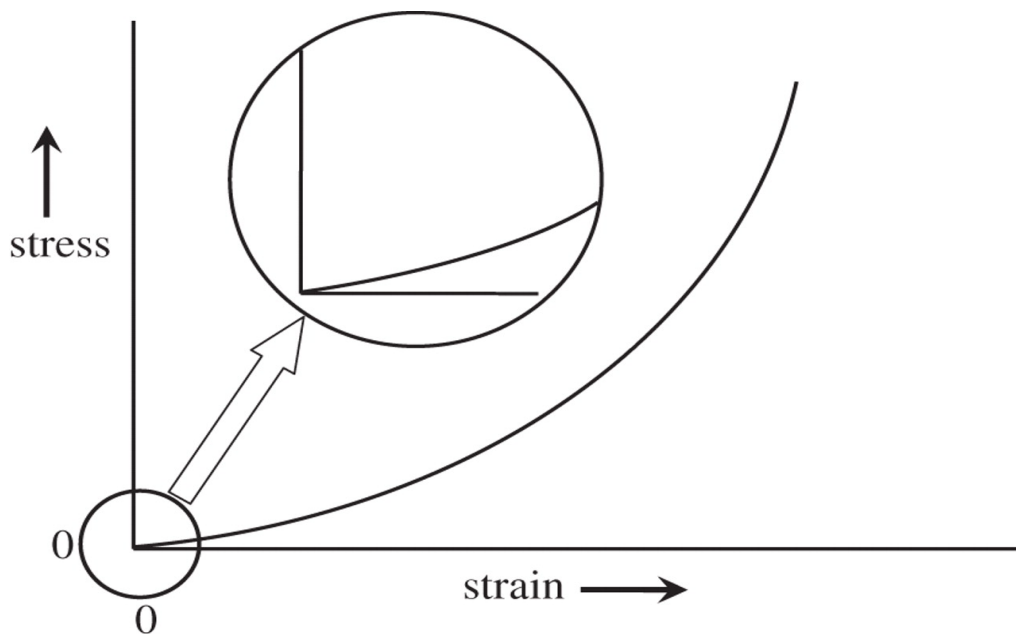
### L'elasticità dei corpi biologici

La componente di base del tessuto biologico è la cellula, che è tipicamente 5-10 micron di diametro. Racchiuso all'interno della parete cellulare vi è il citoplasma, che contiene strutture microscopiche come il nucleo e mitocondri. Ci sono cinque tipi principali di tessuti molli. Questi sono: tessuto epiteliale

(rivestimento), tessuto connettivo, tessuto parenchimale, tessuto muscolare e tessuto nervoso.

Oltre ai tessuti molli, esistono diversi tipi di tessuti duri, fra questi il principale è il tessuto osseo.<sup>28</sup> I tessuti rigidi non sono facilmente suscettibili alla misurazione ad ultrasuoni.

La figura mostra la relazione tipica tra stress e deformazione nei tessuti molli. Con lo stress crescente da zero, la deformazione aumenta rapidamente ed il fluido libero trasuda, il rapporto di stress su deformità (modulo di Young) può essere considerato lineare per piccole variazioni (cioè per deformità di meno di qualche punto percentuale), ma il modulo elastico diventa progressivamente maggiore con l'aumento della deformazione. Di conseguenza, le condizioni in cui ogni particolare è stato misurato devono essere specificate. Un'ulteriore complicazione è che il tessuto può essere viscoelastico, poroelastico, anisotropo o contrattile, o qualsiasi combinazione di questi, oltre a essere normale o modificato da una patologia. Altri fattori che possono essere rilevanti sono l'età del tessuto, la sua temperatura, e se è in vivo, in vitro o fisso.



### Principi fisici degli ultrasuoni<sup>29 30</sup>

Per essere clinicamente utile, un sistema di imaging ad ultrasuoni, in genere deve essere in grado di visualizzare strutture di circa un millimetro in profondità fino a circa 150 mm. Gli ultrasuoni viaggiano ad una velocità di circa  $1500 \text{ ms}^{-1}$  nei tessuti molli; la frequenza deve essere nella gamma bassa dei megahertz perché la lunghezza d'onda, che è uno dei fattori che determinano la risoluzione spaziale è inversamente proporzionale alla frequenza. Un fascio di ultrasuoni è irradiato da una apertura, che è, per esempio, almeno 10 volte la lunghezza d'onda di taglio; un trasduttore, tipicamente polarizzato titanato zirconato di piombo, produce un impulso di ultrasuoni quando

eccitato da un breve impulso elettrico. Il tessuto da acquisire contiene riflettori e diffusori che danno origine a echi che possono essere rilevati dal trasduttore, ritardato nel tempo secondo le loro distanze dal trasduttore (cioè da circa  $1,33 \text{ ms mm}^{-1}$ ).

Così, immagini ecografiche pulse-echo si basano sul principio che si può generare un fascio direzionale di ultrasuoni pulsato e che gli echi possono essere rilevati dai riflettori e diffusori all'interno del fascio, ritardati nel tempo secondo loro profondità.

Se il fascio viene riflesso o disperso da bersagli con una componente di movimento lungo l'asse del fascio di ultrasuoni, gli echi ricevuti sono spostati in frequenza dall'effetto Doppler. La frequenza Doppler si trova nella gamma udibile.

La riflessione e la dispersione degli ultrasuoni nelle tecniche ad impulsi-eco e Doppler dipende dal punto (a seconda delle dimensioni del bersaglio in relazione alla lunghezza d'onda degli ultrasuoni) in cui vi sono cambiamenti nell'impedenza caratteristica dei costituenti del tessuto. L'impedenza caratteristica di un materiale è uguale a  $\rho c_l$ , dove  $\rho$  è la sua densità e  $c_l$  è la velocità dell'onda longitudinale. Il concetto fondamentale è che, come mostra sopra l'equazione, la velocità del suono  $c_l$  dipende dalla massa modulo di  $K$  e non dal modulo di taglio

G, quindi il contrasto nelle immagini impulsi-echo trasmette informazioni dirette circa il modulo di Young.

Tecniche per l'imaging ad ultrasuoni della deformazione dei tessuti molli ed elastografia(USE).

La prima fase dell'USE comporta l'eccitazione dei tessuti. L'eccitazione può essere generata tramite forza meccanica o tramite forze di radiazione ultrasonica. Il risultato dell'eccitazione in tessuti (quasi)statici o dinamici, è la generazione di onde di taglio, che vengono trasformate in immagini.

Solitamente, l'USE<sup>31</sup> può essere utilizzata in associazione con B-scan, che facilita l'identificazione delle strutture anatomiche a cui si fa riferimento.

Se si sospetta la malignità di una lesione è solitamente necessaria una biopsia che ci permetta di ottenere una diagnosi definitiva.

I limiti delle tecniche di imaging hanno stimolato la ricerca di potenziali vantaggi clinici dell'USE nel contesto di lesioni asintomatiche e sintomatiche.

Grazie alla combinazione delle due tecniche ultrasonografiche (USE e B-scan), il 73% dei fibroadenomi e il 56% delle lesioni benigne solide

possono essere distinte da lesioni maligne, valutando la luminosità della lesione e la differenza di dimensioni. Alcuni tipi di lesioni che appaiono come aree d'ombra con la normale ecografia, appaiono come masse ben distinte in USE.



## **Studio Sperimentale**

### **Obiettivi**

Le sequenze in DWI hanno assunto già da qualche anno un ruolo importante nell'individuazione della componente flogistica di parete. Le informazioni rilevabili presentano caratteristiche non più esclusivamente “quantitative”, ma anche “qualitative”, con la valutazione delle mappe di ADC.

Oggi, in accordo con questa tendenza, anche l’elastosonografia (USE) acquista un ruolo diagnostico nella valutazione e nel monitoraggio delle anse intestinali e delle modificazioni del mesentere in senso edematoso-infiammatorio e fibrotico, che sono presenti nella storia naturale della MC.

Scopo del presente studio è pertanto quello di inquadrare il ruolo diagnostico dell’elastosonografia (USE) nella valutazione dei cambiamenti dell’adipe mesenteriale e della parete intestinale e la correlazione con le mappe di ADC, al fine di poter fornire una valutazione “qualitativa e quantitativa” dello stato della malattia e nel differenziare i cambiamenti in senso infiammatorio/fibrotico ed

infiammatorio/edematoso del mesentere e della parete intestinale in pazienti con malattia di Crohn.

## **Pazienti**

Dal Gennaio 2017 al Marzo 2019 sono stati ritenuti idonei e reclutati nello studio, 35 pazienti (16 maschi e 19 femmine; età media 33.12 anni; range 9-59 anni)

In 33 pazienti i pazienti sono giunti alla nostra osservazione con diagnosi accertata di MC mediante colonscopi ed esame biotico. Nei restanti 2 casi sono giunti alla nostra osservazione con l'ipotesi di sospetta MC; in uno di questi casi l'esame radiologico é stato seguito dall'esame colonscopico e biotico, mentre nell'altro caso non é stato eseguito alcun esame colonscopico.

Criteri di esclusione sono stati: IRC, stato di gravidanza, claustrofobia, pregressi episodi allergici al mdc paramagnetico ed incapacità nel mantenimento dell'apnea per un periodo di almeno 20 secondi.

Criteri d'inclusioni sono stati: la sottoscrizione del consenso informato per lo studio sperimentale precedentemente approvato dal comitato etico, il sospetto di MC, la precedente diagnosi di MC,

l'assenza di trattamenti chirurgici di resezione di tratti gastrointestinali.

Le caratteristiche tipiche di MC in Entero-RM sono state definite, in accordo con la letteratura, l'ispessimento di parete ( $> 1\text{cm}$ ) e l'enhancement post-contrastografico, mentre l'interessamento extramurale è stato definito dalla proliferazione fibroadiposa del mesentere e l'ingorgo vascolare.

Mentre, il tipico imaging in US è l'ispessimento parietale ( $> 3\text{mm}$ ), la riduzione o perdita della normale ecostruttura della parete intestinale, e l'interessamento extramurale è stato definito dalla presenza di versamento fluido periviscerale ed il "*creeping fat*".

## **Apparecchiature**

Lo studio è stato condotto con:

- RM: apparecchiatura Philips Achieva 1.5 T (Philips Healthcare, Best, Netherlands) con bobina addome phased array (8 canali).

Lo studio in diffusione è stato realizzato con sequenze Breath-hold single-shot-spin-echo EPI, utilizzando come parametri di acquisizione: TR 1400, TE minimo, slice 5/mm, nex 5. Quindi

è stato ottenuto un set di 8 immagini usando 3 diversi b-value (0, 500 e 800 s/mm<sup>2</sup>).

- Elastosonorografia: apparecchiatura SAMSUNG UGEO RS80A. La resistenza dei tessuti è stata evidenziata con scala a colori con agli estremi rosso (soft) e blu (hard).

## **Preparazione**

Tutti i pazienti hanno seguito una dieta priva di scorie nei tre giorni precedenti l'esame, il giorno precedente è stata eseguita preparazione catartica mediante la assunzione una soluzione acquosa da 4000 ml di polietilenglicole, al fine di eliminare i residui fecali ed agevolare la progressione del m.d.c. per os.

E' stato rispettato un digiuno di almeno 6 ore precedenti l'esame.

E' stata ottenuta la distensione delle anse intestinali mediante somministrazione per o.s., nei 30 minuti precedenti l'esecuzione dell'esame, di una soluzione acquosa di 2000 ml di Onli-Peg (macrogol 4000, Promefarm S.r.l., Milano, Italia).

Tutti gli esami sono stati acquisiti in posizione prona, al fine di ridurre gli artefatti da movimento e da respiro e allo stesso tempo,

ridurre il tempo d'acquisizione dell'esame, riducendo lo “spessore” del volume corporeo da acquisire nelle scansioni coronali.

Per ridurre la peristalsi intestinale, sono stati somministrati per via e.v. tra 10 e 20 mg (in ragione del peso corporeo dei pazienti) di N-butilbromuro di joscina, la cui somministrazione è stata immediatamente precedente all'inizio delle acquisizioni con il m.d.c. e.v..

## **Protocollo**

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad entero-RM, alla fine dell'esame, è stata effettuata l'elastosonografia. I valori delle mappe ADC sono stati calcolati nel mesentere dell'ileo patologico, nel mesentere normale, nella parete ileale patologica e nella parete ileale normale selezionando simultaneamente le immagini in b-value 0, 500 e 800 s/mm<sup>2</sup>. Sono stati confrontati tramite l'uso delle scale a colore nella stessa posizione.

A livello delle medesime sedi sono state acquisite le immagini USE per la valutazione del parametro elastonografico.

## **Analisi delle immagini**

Le immagini di Entero-RM sono state analizzate su workstation dedicate. Sono stati calcolati i valori di ADC sulle mappe, disegnando per ogni paziente quattro ROI, una nell'adipe mesenteriale in adiacenza all'ultima ansa intestinale, una nell'adipe mesenteriale in corrispondenza dell'ipocondrio sinistro, una nella parete intestinale patologica ed una nell'ansa intestinale sana.

Le immagini di Elastosonografia, eseguite in ogni paziente nell'adipe mesenteriale in adiacenza all'ultima ansa intestinale, nell'adipe mesenteriale in corrispondenza dell'ipocondrio sinistro, nella parete intestinale patologica ed nell'ansa intestinale sana, sono state analizzate e valutate attribuendo un valore numerico da 1 a 5 ai diversi aspetti cromatici: colorazione blu 1, colorazione blu-verde 2, colorazione verde-giallo 3, colorazione giallo rosso 4, colorazione rosso 5.

## **Analisi statistiche**

I dati sono stati raggruppati ed analizzati attraverso l'utilizzo di Microsoft Excel 2010.

I dati statistici sono stati analizzati usando il Test esatto di Fischer.

## **Risultati**

Tutti i pazienti hanno ben tollerato l'intero protocollo di studio, dalla preparazione all'esecuzione degli esami di entero-RM e di Elastosonografia. In 35 pazienti è stato possibile evidenziare la presenza di MC in sede intestinale, con ottimale concordanza con i reperti ileo-colonscopici e bioumorali.

Un totale di 41 tratti di anse intestinale sono state definite patologiche (35 ileali e 6 coliche) e 35 segmenti ileali sono stati identificati. Sono stati identificati quindi 29 pazienti con ansa ileale patologica e 6 con interessamento sia ileale sia colico. La media del tratto intestinale interessato da malattia nei 35 pazienti è stata calcolata in 25.17 cm e lo spessore medio di parete del tratto interessato era di circa 1.2 cm.

Tutti i pazienti con interessamento dell'ultima ansa ileale presentavano estensione della malattia sino alla valvola ileo-cecale.

In 17/35 pazienti è stata rilevata la presenza nell'ansa patologica di pseudopolipi ed ulcere sottominate. In particolare le immagini ottenute hanno anche permesso di evidenziare la presenza di formazioni pseudopolipoidi di parete e l'interessamento a tutto spessore delle anse coinvolte.

In 9/35 pazienti il coinvolgimento della parete ileale presentava inoltre la presenza di ascessi di parete; mentre in 8/35 pazienti sono state documentate come complicanza la presenza di tramiti fistolosi entero-enterici. In 13/35 pazienti l'entero-RM ha evidenziato un aspetto substenotico dell'ultima ansa con distensione a monte.

Un aspetto fibrotico del mesentere e dell'ansa intestinale è stato riscontrato nell'Entero-RM e nell'USE rispettivamente in 12/35 (34,29%), in 23/35 (42,85%), in 15/35 (65,17%) e in 20/35 (57,15%).

Mentre, nell'ansa intestinale normale e nel relativo adipe mesenteriale adiacente, l'USE color-scale mostrava una variazione colorimetrica sul rosso e/o giallo. L'intensità di segnale nell'ansa intestinale e nel relativo adipe mesenteriale adiacente era iso/ipointenso nelle sequenze T2w nel pattern fibrotico (23/35 e 12/35 pazienti) e iperintenso nelle sequenze T2w nel pattern edematoso (12/35 e 23/35 pazienti). I risultati mostrano una correlazione statisticamente significativa tra l'USE color-scale ed il segnale T2w ( $p < 0,05$ ).

C'era una restrizione del segnale in DWI significativa in 18 pazienti con malattia in fase attiva (mean ADC nei pazienti con pattern fibrotico  $2,58 \pm 0,33 \times 10^{-3}$ , valori medi di ADC nei pazienti con pattern infiammatorio-edematoso:  $2,14 \pm 0,28 \times 10^{-3}$ ). I risultati



mostrano una correlazione statisticamente significativa tra l'USE color-scale ed la mappa ADC ( $p < 0,05$ ).

Nessuna restrizione del segnale in DWI è stata riscontrata nelle sedi sane dei 35 pazienti (valori medi di ADC:  $2,92 \pm 0,15 \times 10^{-3}$ ).

E' stata trovata una correlazione statisticamente significativa tra la presenza di linfonodi aumentati di volume ed il pattern edematoso ( $p < 0,05$ ) e tra la presenza di stenosi ed il pattern fibrotico ( $p < 0,05$ ).

## **Discussione**

La diagnosi radiologica di MC é oggi ben codificata da metodiche quali l'enteroclisma convenzionale del tenue, il Clisma-TC e/o la stessa enteroclisi-RM.

I dati suggeriscono che tutte le anse patologiche, nelle quali sia in atto uno stato edematoso o fibrotico, mostrano una restrizione della diffusione differente e che sia da un punto di vista qualitativo (aumentata intensità di segnale in DWI), sia da quello quantitativo (riduzione dei valori di ADC) vi sia concordanza.

La distensione delle anse intestinali si é dimostrata un aspetto molto importante per visualizzare e quindi stabilire l'estensione delle anse patologiche. Infatti, i piani coronali e la panoramica della metodica consentono di individuare la dilatazione prestenotica e la stenosi luminale. La distensione delle anse intestinali permette di valutare anche con l'ecografia l'ispessimento dell'ansa patologica e il mesentere contiguo. L'integrazione con la tecnica di elastosonografia permette di valutare la natura tissutale dell'adipe ed il suo cambiamento in senso fibrotico ed edematoso.

Nelle immagini RM le anse intestinali interessate dal processo patologico si presentano con un ispessimento parietale, visualizzato

anche dalle scansioni ecografiche, che si può evidenziare in modo chiaro con qualsiasi sequenza RM, in presenza di anse intestinali adeguatamente distese. Si nota inoltre che l'ispessimento parietale in assenza di esteso edema ha segnale basso o moderato nella sequenza FIESTA. Anche il mesentere interessato prevede una ipointensità nelle sequenze FIESTA, in condizione di cambiamento fibrotico. Mentre nelle condizioni infiammatorie edematose il segnale, nelle sequenze FIESTA, si presenta moderatamente iperintenso, in considerazione dell'aumento del contenuto fluido.

Grazie ai software dedicati, questo tipo di reperto patologico può essere inoltre descritto nella sua lunghezza e nel suo spessore.

Con le sequenze FIESTA possiamo valutare l'estensione della proliferazione fibroadiposa, che si può presentare con "lesioni occupanti spazio". Inoltre, avendo una visione d'insieme delle anse intestinali possiamo documentare l'effetto della presenza delle "lesioni occupanti spazio" sulla posizione fisiologica delle anse intestinali. Infatti si può riconoscere l'alterata distribuzione delle anse intestinali.

Inoltre, nelle sequenze FIESTA, i tramiti fistolosi sono evidenziati come strie di ipersegnale. Questo è dovuto al loro contenuto fluido.

Per una migliore visualizzazione dei tramiti fistolosi sono necessarie, comunque, le ricostruzioni multiplanari. Anche gli ascessi possono essere riconosciuti per il loro contenuto fluido e per l'impregnazione parietale.

Nel contesto del mesentere sono individuabili i piccoli linfonodi, che hanno una bassa intensità di segnale all'interno dell'iperintensità del grasso nelle sequenze FIESTA.

Nel caso del nostro studio, la ragione per la quale si abbia una restrizione della diffusione in corso di MC in fase attiva - come per altri stati flogistici - non è ancora chiaramente dimostrata, necessitando di ulteriori studi. Infatti ad oggi sono possibili semplicemente delle ipotesi. Tuttavia la letteratura mostra che tale restrizione è comune a molte altre condizioni infiammatorie acute cerebrali quali le encefaliti virali e batteriche e le formazioni ascessuali cerebrali, secondo alcuni autori a causa dell'aumento di viscosità e di cellularità nel pus.

Restrizioni "focali" sono state riportate anche in corso di pielonefriti e di ascessi renali; mentre in alcuni pazienti con epatite virale, i valori di ADC sono stati inversamente proporzionali al grado di infiammazione.

Nel MC in fase attiva, la lamina propria e la sottomucosa sono riccamente infarcite da cellule infiammatorie. Le stesse ulcere aftoidi, caratteristiche come manifestazioni precoci di malattia, sono fortemente associate ad aggregati linfocitari che a loro volta contribuiscono alla riduzione dello spazio extracellulare e unitamente alla ipercellularità indotta dall'infarcimento degli elementi flogistici potrebbero essere responsabili della ridotta diffusione libera delle molecole d'acqua.

I quadri radiologici caratteristici della patologia, segni coinvolgenti la mucosa, la sottomucosa e più in generale la parete del viscere interessato alla patologia (ulcere aftoidi, pseudopolipi infiammatori, aspetto ad “acciottolato”, stenosi, aderenze, fistole per citare alcuni esempi non di certo con intenti esaustivi in questa sede) come pure l'interessamento delle strutture prossimali ad esso (comb sign, mesentere, linfonodi) offrono aspetti assolutamente noti che permettono con buona confidenza, almeno nella maggior parte dei casi, di effettuare diagnosi di MC.

Al momento , tuttavia, i reperti di immagine ottenuti in uno studio per MC sono generalmente di tipo “quantitativo”.

Un primo, valido, approccio per ottenere anche informazioni di tipo “qualitativo” è possibile dallo studio della motilità del viscere (dirimente in caso di sospetta stenosi, patologica o da normale contrazione peristaltica) e dallo studio dell'apporto ematico alle pareti del viscere e dalla stratificazione dello stesso (iperemia) ottenibili nel primo caso attraverso l'enteroclisi convenzionale e/o attraverso le sequenze CINE RM e con l'ecografia, e nel secondo caso attraverso la somministrazione di m.d.c. e.v. in corso di entero-RM (oltre che, naturalmente, in uno studio Clisma-TC).

L'impiego delle sequenze DWI e della mappatura ADC offrono un importante contributo per uno studio “qualitativo” del MC, in particolare nella differenziazione tra stato cronico e stato attivo di malattia (in concomitanza, ma anche precedentemente le manifestazioni cliniche della stessa) e nel monitoraggio della risposta al trattamento farmacologico.

Inoltre la possibilità di calcolare i parametri “quantitativi” quali i valori di ADC permette una valutazione più obiettiva dello stato di malattia.

Lo studio del mesentere e successivamente della parete delle anse intestinali con l'elastosonografia é una tecnica affascinante. Grazie

alla facile esecuzione ed alla mancanza di radiazioni ionizzanti, é anch'essa una tecnica fondamentale nella diagnosi e nel monitoraggio dei pazienti affetti da MC. La valutazione del tessuto con questa tecnica permette, idealmente, di valutare il grado di elasticità del tessuto, in considerazione dei suoi cambiamenti durante la storia naturale della MC. Un cambiamento in senso fibrotico del tessuto mesenteriale, come spesso avviene nel corso del MC, determina un determinato grado di riduzione dell'elasticità del tessuto; mentre un infarcimento edematoso prevede una variazione con un grado differente. L'elastosonografia, teoricamente, dovrebbe permettere di valutare il grado di variazione dell'elasticità del tessuto e discriminarli. Dai risultati ottenuti dal nostro studio, questa metodica permette di comprendere una variazione dell'elasticità, tra i pazienti patologici e i non patologici. Il discernimento tra il cambiamento in senso fibrotico ed il cambiamento in senso edematoso, é in futuro molto plausibile, anche grazie all'introduzione di parametri quantitativi con i futuri software. Infatti dai nostri risultati si evince come tra le due modificazioni del parenchima vi sia una differenza statisticamente significativa nelle mappe colorimetriche;

l'associazione con le mappe di ADC ha permesso inoltre di porre una diagnosi multiparametrica.



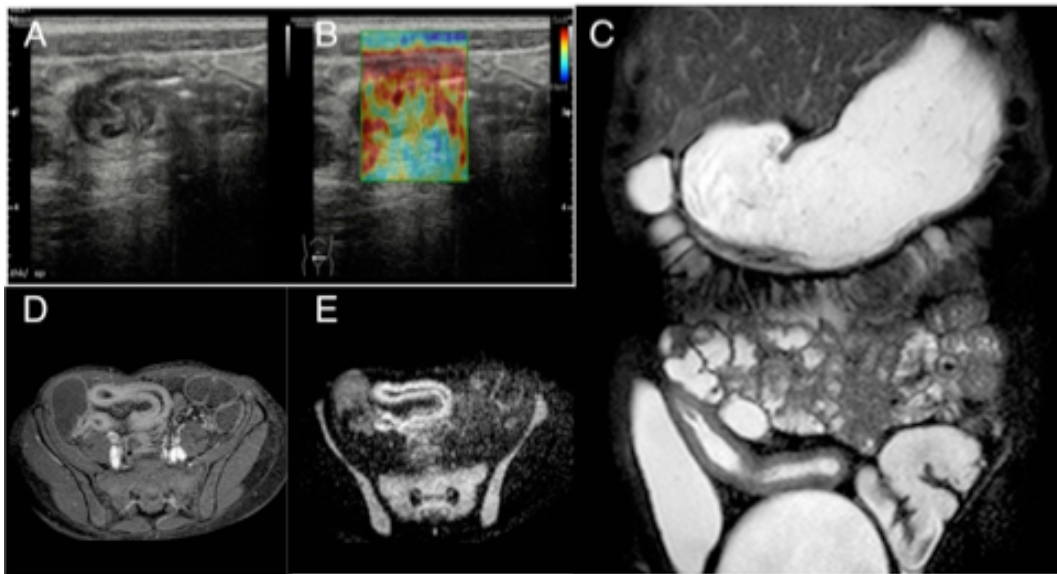
## **Conclusioni**

La nostra esperienza suggerisce che, se opportunamente eseguita, l'integrazione con USE e la successiva mappatura colorimetrica forniscono importanti informazioni addizionali nello studio e nella diagnosi di MC, potendo dimostrare anche il pattern del cambiamento del mesentere e della parete intestinale. Tuttavia, affinché si possa evidenziare all'USE una differenza significativa, tra il gruppo studio ed il gruppo controllo, è necessaria una considerevole modificazione della densità del parenchima in esame.

In considerazione del fatto che l'applicazione dell'USE e l'elaborazione delle mappa colorimetriche non allungano significativamente i tempi d'esame, ci sembra di poter affermare che l'introduzione di questa integrazione nello studio del MC possa contribuire ad uno studio qualitativo oltre che quantitativo della MC, anche perchè la MC non colpisce unicamente le pareti del tubo gastro-intestinale, ma si estende interessando anche l'adipe mesenteriale.

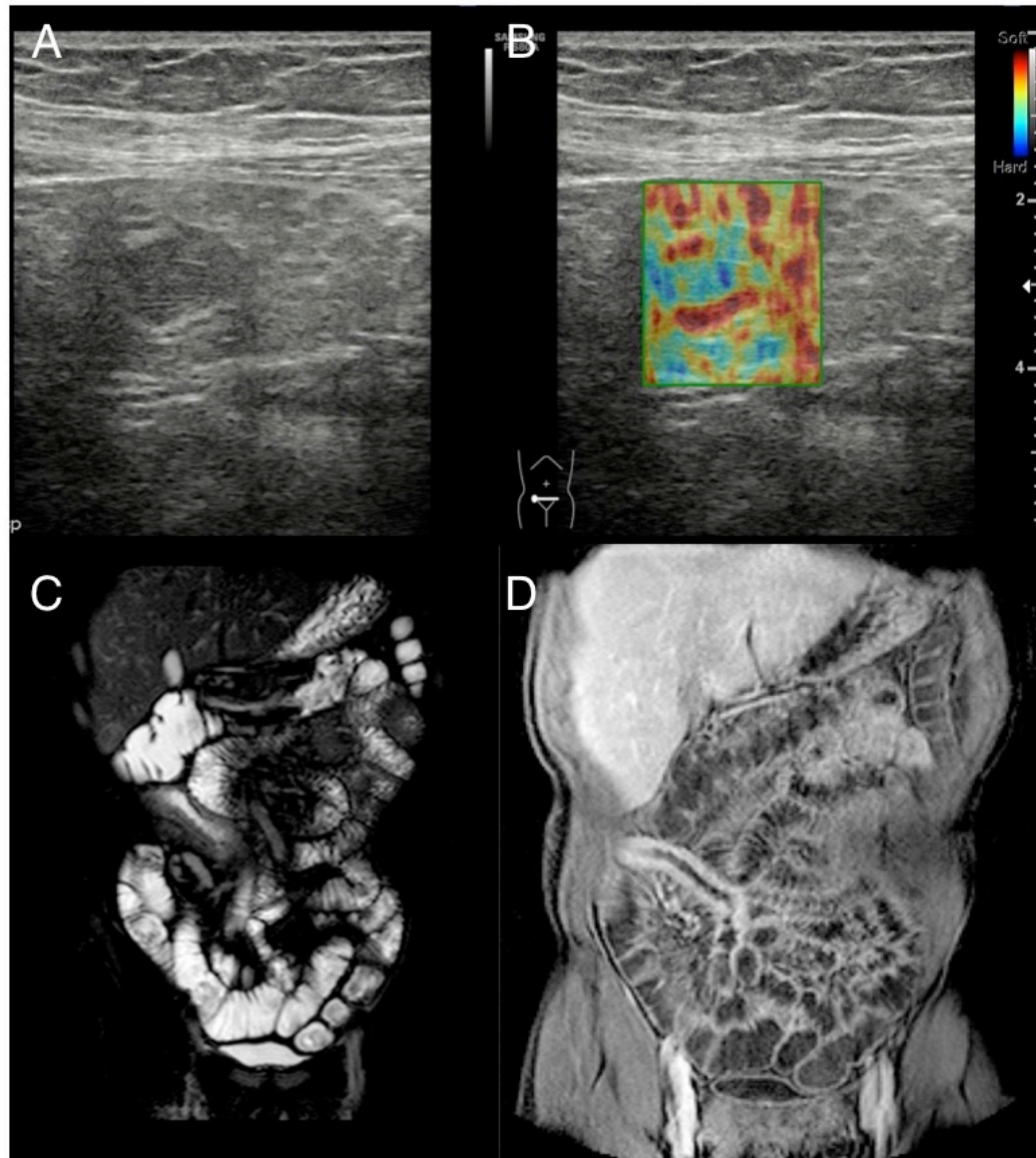
## Iconografia

Figura 1:



Immagini ecografica con scansione longitudinale dell'ultima ansa ileale in un maschio di 33 anni mostra ispessimento della parete con la prominente della sottomucosa e aspetto iperecogeno del grasso periviscerale (A); immagine dell'US-SE corrispondente (B). Lo studio RM (C, D, E) ha confermato i sospetti di pattern infiammatorio: la sequenza T2-pesata (C) sul piano coronale ha evidenziato iperintensità della parete intestinale, la sequenza T1-pesata sul piano assiale post-contrasto(D) ha mostrato la stratificazione della parete intestinale, la sequenza DWI con b-value 800 (E) ha mostrato iperintensità della parete intestinale e un aspetto dell'ultima ansa ileale molto simile ai risultati dell'US.

Figura 2:



Immagini ecografica con scansione trasversale dell'ultima ansa ileale in una femmina di 26 anni mostra un ispessimento della parete in cui la stratificazione era completamente persa e l'aspetto ipoecogeno del grasso periviscerale. I risultati della scala di grigi (A) e l'aspetto dell'US-SE (B) eseguiti a questo livello sono

indicativi di pattern fibrotico. Lo studio RM (C e D) ha confermato tali sospetti: la sequenza T2-pesata sul piano coronale (C) ha rivelato ipointensità della parete intestinale, la sequenza T1-pesata sul piano coronale post-contrasto (D) ha mostrato enhancement della parete intestinale, senza stratificazione.

## Bibliografia

- <sup>1</sup> Kasper D, Fauci A, Longo D, Braunwald E, Hauser S, Jameson J (2005). Harrison's Principi di Medicina Interna. McGraw Hill (2005); 2003-2016.
- <sup>2</sup> Atherton DJ, Massam M, Wells RS et al (1978) Genital Crohn's disease in a 6-year-old boy. Br Med J 1 (6112): 552.
- <sup>3</sup> Mountain JC (1970) Cutaneous ulceration in Crohn's disease. Gut 11(1): 18-26.
- <sup>4</sup> Lavery HA, Pinkerton JH, Sloan J (1985) Crohn's disease of the vulva-two further cases. Br J Dermatol 113 (3): 359-363.
- <sup>5</sup> Gore RM, Levine MS et al (2000) Textbook of gastrointestinal radiology. 2nd ed. Philadelphia, Pa: Saunders; 726-745
- <sup>6</sup> Mekhjian HS, Switz DM, Melnyk CS, et al. Clinical features and natural history of Crohn's disease. Gastroenterology 1979; 77:898.
- <sup>7</sup> Farmer RG, Hawk WA, Turnbull RB Jr. Clinical patterns in Crohn's disease: a statistical study of 615 cases. Gastroenterology 1975; 68:627.

- <sup>8</sup> Mekhjian HS, Switz DM, Melnyk CS, et al. Clinical features and natural history of Crohn's disease. *Gastroenterology* 1979; 77:898.
- <sup>9</sup> Schwartz DA, Loftus EV Jr, Tremaine WJ, et al. The natural history of fistulizing Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology* 2002; 122:875.
- <sup>10</sup> Lichtenstein GR, Hanauer SB, Sandborn WJ, Practice Parameters Committee of American College of Gastroenterology. Management of Crohn's disease in adults. *Am J Gastroenterol* 2009; 104:465.
- <sup>11</sup> Levesque BG, Cipriano LE, Chang SL, et al. Cost effectiveness of alternative imaging strategies for the diagnosis of small-bowel Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8:261.
- <sup>12</sup> Bernstein CN, Blanchard JF, Houston DS, Wajda A. The incidence of deep venous thrombosis and pulmonary embolism among patients with inflammatory bowel disease: a population-based cohort study. *Thromb Haemost* 2001; 85:430.

- <sup>13</sup> Obialo CI, Clayman RV, Matts JP, et al. Pathogenesis of nephrolithiasis post-partial ileal bypass surgery: case-control study. The POSCH Group. *Kidney Int* 1991; 39:1249.
- <sup>14</sup> Silvennoinen JA, Karttunen TJ, Niemelä SE, et al. A controlled study of bone mineral density in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1995; 37:71.
- <sup>15</sup> Headstrom PD, Rulyak SJ, Lee SD. Prevalence of and risk factors for vitamin B(12) deficiency in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14:217.
- <sup>16</sup> Pera A, Bellando P, Caldera D, et al. Colonoscopy in inflammatory bowel disease. Diagnostic accuracy and proposal of an endoscopic score. *Gastroenterology* 1987; 92:181.
- <sup>17</sup> Waye JD. Endoscopy in inflammatory bowel disease: indications and differential diagnosis. *Med Clin North Am* 1990; 74:51.
- <sup>18</sup> Waye JD. The role of colonoscopy in the differential diagnosis of inflammatory bowel disease. *Gastrointest Endosc* 1977; 23:150.

- <sup>19</sup> 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 Thérapeutiques des Affections Inflammatoires Digestives. Gut 1994; 35:231.
- <sup>20</sup> Levesque BG, Cipriano LE, Chang SL, et al. Cost effectiveness of alternative imaging strategies for the diagnosis of small-bowel Crohn's disease. Clin Gastroenterol Hepatol 2010; 8:261.
- <sup>21</sup> Masselli G, Casciani E, Poletti E, Gualdi G. Comparison of MR enteroclysis with MR enterography and conventional enteroclysis in patients with Crohn's disease. Eur Radiol 2008; 18:438.
- <sup>22</sup> Fiorino G, Bonifacio C, Peyrin-Biroulet L, et al. Prospective comparison of computed tomography enterography and magnetic resonance enterography for assessment of disease activity and complications in ileocolonic Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis 2011; 17:1073.



- <sup>23</sup> Friedrich C, Fajfar A, Pawlik M, et al. Magnetic resonance enterography with and without biphasic contrast agent enema compared to conventional ileocolonoscopy in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18:1842.
- <sup>24</sup> Ordás I, Rimola J, Rodríguez S, et al. Accuracy of magnetic resonance enterography in assessing response to therapy and mucosal healing in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2014; 146:374.
- <sup>25</sup> Friedrich C, Fajfar A, Pawlik M, et al. Magnetic resonance enterography with and without biphasic contrast agent enema compared to conventional ileocolonoscopy in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18:1842.
- <sup>26</sup> Peter N.T. Wells, Hai-Dong Liang J.R. Soc., interface 2011 8 1521\*1549; DOI 10.1098/rsif.2011.0054. Published 26 September 2011.
- <sup>27</sup> Callister W. D. 2000 *Materials science and engineering: an introduction*, 2nd edn. New York, NY: Wiley.
- <sup>28</sup> Currey J. D. 1998 Mechanical properties of vertebrate hard tissues. *J. Eng. Med.: Proc. IMechE* 212, 399–412. doi:10.1243/0954411981534178

- <sup>29</sup> Wells P. N. T. 2006 Ultrasound imaging. *Phys. Med. Biol.* 51, R83–R98. doi:10.1088/0031-9155/51/13/R06
- <sup>30</sup> Wells P. N. T. 2006 Ultrasound imaging. *Phys. Med. Biol.* 51, R83–R98. doi:10.1088/0031-9155/51/13/R06
- <sup>31</sup> Wells P. N. T. 1982 *Scientific basis of medical imaging*. Edinburgh, UK: Churchill Livingstone.