

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Fakultät für Medizin

Neurologische Klinik und Poliklinik
des Klinikums rechts der Isar

(Direktor: Univ.-Prof. Dr. Bernhard Hemmer)

Untersuchung der Plaqueneovaskularisierung der A. carotis interna mit kontrastmittelverstärktem Ultraschall

Justus Maximilian Breer

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Ernst J. Rummeny

Prüfer der Dissertation: 1. Priv.-Doz. Dr. Jan Holger Poppert
2. Univ.-Prof. Dr. Claus Zimmer

Die Dissertation wurde am 13.04.2015 bei der Technischen Universität
München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 18.11.2015
angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	4
1 Einleitung	7
1.1 Pathophysiologie der Atherosklerose und Einteilung atherosklerotischer Läsionen nach Stary	8
1.1.1 Bedeutung von atherosklerotischen Veränderungen und Plaqueneovaskularisierung für ischämische Schlaganfälle	10
1.2 Diagnostische Methoden im Bereich der hirnversorgenden Arterien im klinischen Alltag	11
1.2.1 Sonographie	11
1.2.2 Magnetresonanztomographie (MRA)	11
1.2.3 Computertomographische Angiographie (CTA)	12
1.2.4 Digitale Subtraktionsangiographie (DSA)	12
1.2.5 Beschränkungen der etablierten Methoden	13
1.3 Ultraschall	15
1.3.1 Technisches Konzept	15
1.3.1.1 B-Mode/-Bild	16
1.3.1.2 Doppler-Verfahren in der Sonographie	17
- Pulsed-Wave-Doppler (PW-Doppler)	18
- Farbkodierte-Duplex-Sonographie (FKDS)	19
1.3.2 Ultraschallkontrastmittel (USKM)	20
1.3.2.1 Grundlagen und verwendete Substanzen	20
1.3.2.2 Wirkprinzipien	22
- Verstärkte Schallrückstreuung	22
- Nichtlineares Oszillieren	23
- Pulsinversionsverfahren	23
1.3.2.3 Cadence® Contrast Pulse Sequencing (CPS)	24
1.3.2.4 SonoVue®	25
1.3.3 Sonographische Beurteilung des Stenosierungsgrades der Arteria Carotis Interna nach DEGUM-Leitlinien	26
2 Zielsetzung	29
3 Methodik	30
3.1 Klinische Symptomatik	30
3.2 Einschlusskriterien	30
3.3 Risikoprofil	31
3.4 Verwendete Ultraschallgeräte	32
3.5 Ablauf der Untersuchung	32
3.6 Bildanalyse	33
3.6.1 Qualitative Bildanalyse	33
3.6.2 Quantitative Bildanalyse mit Qontrast4®	36
3.7 Datenbank	39
3.8 Statistische Auswertung	40
4 Ergebnisse	41
4.1 Patientendemographie	41
4.1.1 Altersverteilung und Verteilung der zerebrovaskulären Risikofaktoren ..	41
4.2 Klinische Symptomatik und Progredienz	43
4.3 Verteilung von Stenosegraden	43
4.4 Qualitative Bildanalyse: Plaqueechogenität und Plaqueneovaskularisierung	43

4.5	Relative Plaqueintensität – symptomatische und asymptomatische bzw. fortschreitende und nicht fortschreitende Plaques im Vergleich	48
4.6	Vergleich der relativen Plaqueintensität (PVR) mit der Plaqueechogenität	48
4.7	Vergleich der relativen Plaqueintensität mit der visuellen Klassifizierung.....	50
5	Diskussion	52
5.1	Die wichtigsten Erkenntnisse im Überblick.....	52
5.2	Probleme und Beschränkungen der qualitativen bzw. der quantitativen Bildanalyse	52
5.3	Einordnung in die aktuelle Literatur.....	54
6	Zusammenfassung.....	56
7	Anhang	57
7.1	Literaturverzeichnis	57
7.2	Abbildungsverzeichnis.....	64
7.3	Tabellenverzeichnis.....	65
7.4	Standardisierter Fragebogen.....	66
	Danksagung.....	71

Abkürzungen

2D	Zweidimensional
3D	Dreidimensional
A.	Arteria
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ACI	Arteria carotis Interna
AHA	American Heart Association
Asympt.	Asymptomatisch
AVI	Audio Video Interleave
BMI	Body Mass Index
B-Mode	B für Brightness, englisch: Helligkeit
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cm	Zentimeter
CPS	Contrast Pulse Sequencing
CT	Computertomographie
CTA	Computertomographische Angiographie
CW	Continous-Wave
DEGUM	Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin
d.h.	das heißt
DICOM	Digital Imaging and Communications in Medicine
dl	Deziliter
DSA	Digitale Subtraktionsangiographie
ECST	European Carotid Surgery Trial
engl.	englisch
et al.	Et alii (lateinisch für „und andere“)
ΔF	Dopplershiffrequenz
Fe	Echofrequenz
FKDS	Farbkodierte-Duplex-Sonographie
Ft	Transducerfrequenz
Hf	Herzfrequenz

Hg	Quecksilber
i.d.R.	in der Regel
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KHK	Koronare Herzkrankheit
kHz	Kilohertz
KM	Kontrastmittel
LDL	Low Density Lipoprotein
mg	Milligramm
MHz	Mega Hertz
MI	Mechanischer Index
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
MRA	Magnetresonanzangiographie
ms	Millisekunde
mSv	milli Sievert
n	Anzahl
NASCET	North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial
P	Persistenz
pAVK	periphere Arterielle Verschlusskrankheit
PVR	Plaque/Vessel-Ratio
PW	Pulsed-Wave
RBV	Regional blood volume
ROI	Region of interest
RR	Riva-Rocci (Blutdruck)
s	Sekunde
SD	Standardabweichung
SF6	Schwefelhexafluorid
Si max	maximale Signalintensität
Si mean	durchschnittliche Signalintensität

Sympt.	Symptomatisch
TEA	Thrombendarteriektomie
TIA	transitorische ischämische Attacke
TOAST	Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment
TU	Technische Universität
USKM	Ultraschallkontrastmittel
Vg	Schallgeschwindigkeit im Gewebe
Vmax	maximale Strömungsgeschwindigkeit
Vr	Geschwindigkeit des Reflektors
vs.	versus (Lateinisch: gegenüber)
v.a.	vor allem
WHO	World Health Organization
z.B.	zum Beispiel
Z.n.	Zustand nach

1 Einleitung

Schlaganfall ist weltweit die zweithäufigste Todesursache (Donnan et al., 2008) und ist für etwa 10% der Todesfälle verantwortlich (WHO, 2013). In den USA und Europa ist der Schlaganfall der häufigste Grund für Behinderungen beim Erwachsenen (Feigin, 2005) und somit auch gesundheitsökonomisch von herausragender Bedeutung. In Deutschland ereignen sich jährlich zwischen 185000 und 220000 Schlaganfälle, was einer Inzidenz von 1,74 pro 1000 entspricht und es müssen zwischen 650000 und 945000 Patienten wegen der Folgen der Erkrankung behandelt werden (Weimar, 2003).

Schlaganfälle werden nach ihrer Genese zunächst in zwei große Gruppen unterteilt: etwa 90% aller Schlaganfälle sind ischämische Schlaganfälle; dazu kommt es, wenn durch Stenosen oder Occlusionen hirnversorgender Gefäße ischämische Zustände im Hirnparenchym hervorgerufen werden, welche reversibel sein, aber auch zu Nekrosen führen können. Die übrigen ca. 10% sind hämorrhagische Schlaganfälle (Andersen et al., 2009): wegen einer Hämorrhagie kommt es zu Nekrosen von Hirnparenchym.

Die Infarkte lassen sich aufgrund ihrer Genese noch weiter unterscheiden, was von Bedeutung ist, da die Etiologie eines Infarktes die Prognose, das Outcome und die weitere Behandlung beeinflussen. Hierzu werden meist die Kriterien der TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment)-Studie angewandt (Adams et al., 1993), die sich aufgrund langer klinischer Erfahrung, einer einfachen Handhabung und einer guten Interobserver Reliabilität als geeignet erwiesen haben und folgende Unterteilung empfiehlt:

1. Embolie aufgrund von Atherosklerose eines großen hirnversorgenden Gefäßes
2. Kardioembolisch
3. Subkortikale lakunäre Hirninfarkte aufgrund von Mikroangiopathie
4. Eine andere bekannte Ursache (z.B. seltene Ursachen wie nichtatherosklerotische Vasculopathien, hämatologische Erkrankungen, Hyperkoagulabilität)

5. Eine unbekannte Ursache (man findet keine (eindeutige) Ursache, d.h. auch Patienten mit zwei oder mehr möglichen Ursachen)

Etwa 30% der zerebralen Infarkte haben einen arterio-arteriell embolischen Ursprung, ausgehend von artherosklerotischen Plaques der hirnersorgenden Arterien, v.a. der A. carotis interna (ACI) (Petty GW, 1999).

Die erwähnten Zahlen machen deutlich, wie wichtig eine nichtinvasive, zeitsparende und günstige Diagnostik in diesem Bereich ist, um in Zukunft eine individuelle Risikostratifizierung und risikoeffiziente Behandlung zu ermöglichen.

1.1 Pathophysiologie der Atherosklerose und Einteilung atherosklerotischer Läsionen nach Stary

Die häufigste Systemerkrankung der Arterien ist die Atherosklerose. Sie ist bedingt durch einen chronisch fortschreitenden inflammatorischen Prozess (Atheromatose) mit produktiven Veränderungen der Gefäßwand.

Atherosklerose ist ein über Jahre fortschreitender Prozess und beginnt bereits im Kindesalter (Stary et al., 1992). Die Veränderungen (Plaques) haben einen Elastizitätsverlust der Gefäßwand und eine Verengung des Gefäßlumens zur Folge. Nach Stary unterscheidet man verschiedene Stadien von Plaques (Stary et al., 1992; Stary H, 1992; Stary H, 1994; Stary H, 1994; Stary H, 1995) : Von einer initialen Endothelschädigung ausgehend kommt es zu einer vermehrten Aufnahme und damit Einlagerung von LDL-Cholesterin (Low Density Lipoprotein; deutsch: Lipoprotein geringer Dichte) in den subendothelialen Bereich der Gefäßwand. Bei Aufnahme in die Gefäßwand wird das LDL-Cholesterin oxidiert und freie Radikale entstehen. Daraufhin wird eine Entzündungsreaktion, vermittelt durch Zytokine, mit verstärkter Einwanderung von Monozyten und deren Umwandlung in Makrophagen induziert. Das oxidierte LDL wird von den Makrophagen phagozytiert, wodurch diese zu so genannten "Schaumzellen" werden. Viele dieser Schaumzellen aneinander gelagert werden als "fatty streaks" oder "Plaques

vom Typ I" bezeichnet. Mit Fortschreiten der Atherosklerose differenzieren sich die Plaques wie folgt: Typ II Läsionen sind zudem durch Schaumzellschichten, Fetttröpfchen innerhalb der glatten Muskelzellen der Lamina intima (Intima) und wenigen grobkörnigen Partikeln extrazellulären Fetts charakterisiert. Läsionen vom Typ III bilden den Übergang zu fortgeschritteneren Läsionen und haben zusätzlich zu den Eigenschaften der Typ II Läsionen Ansammlungen von extrazellulärem Fett (Stary et al., 1994). Dieses extrazelluläre Fett ist der unmittelbare Vorläufer von größeren, zusammenfließenden Kernen extrazellulären Fetts, welche Typ IV Läsionen charakterisieren.

Abhängig von der Risikokonstellation kann es zu weiteren Umbauvorgängen kommen: Läsionen mit einem Lipidkern enthalten dann oft dicke Bindegewebsschichten zwischen Lumen und Kern (Typ V Läsionen) bzw. entwickeln eine fibröse Kappe. Durch Rarefizierung der glatten Muskelzellen kann es auch zur Beteiligung der Lamina media kommen, bzw. durch Einwanderung von Monozyten und Schaumzellen kann neben der Lamina media auch die Lamina adventitia betroffen sein. Kommt es im weiteren Verlauf zur Ruptur der Plaque und dadurch zur Freisetzung atheromatösen Materials, Hämorrhagien oder Thrombusauflagerungen, spricht man von Klasse VI Läsionen (Strong et al., 1994). Sind die Läsionen größtenteils kalzifiziert werden sie als Typ VII-Läsion bezeichnet. Bestehen die Läsionen hauptsächlich aus fibrösem Gewebe und enthalten wenig oder kein akkumuliertes Lipid oder Kalzium, bezeichnet man sie als Typ VIII-Läsionen (Stary H, 1995; Stary H, 2000).

Bei dieser Einteilung der American Heart Association (AHA) nach Stary handelt es sich um eine primär histomorphologische Einteilung, deren verschiedene Stadien nicht zwangsläufig unidirektional durchlaufen werden. Klinisch von großer Bedeutung ist die Abgrenzung vulnerabler Plaques (Klasse IV,V und besonders VI), also Läsionen, die mit größerer Wahrscheinlichkeit rupturieren und einen Schlaganfall auslösen können (Naghavi M, 2003), von stabilen Plaques (Klasse VII und VIII), also kalzifizierte bzw. bindegewebig durchbaute Plaques, die weniger anfällig für Rupturen sind (Wahlgren et al., 2009).

1.1.1 Bedeutung von atherosklerotischen Veränderungen und Plaqueneovaskularisierung für ischämische Schlaganfälle

Wenngleich es eine statistische Korrelation zwischen dem Grad einer Lumeneinengung einer Stenose, die kürzlich symptomatisch geworden ist und dem Risiko eines Reinfarktes gibt (Incalzi et al., 1998), sind sowohl die Zunahme des Stenosegrades als auch das embolische Ereignis das Ergebnis eines fortgeschrittenen atherosklerotischen Entzündungsprozesses. Plaquerupturen als Grund für arterio-arterielle Embolien sind eine häufige Erscheinung bei niedriggradigen Stenosen (Little WC, 1998; Wasserman BA, 2005).

Es gibt generell keine direkt ableitbare Verbindung zwischen Stenosegrad und Schlaganfallrisiko, außer bei den wenigen Fällen eines hämodynamischen Infarkts. Die Beobachtung einer Häufung weiterer Embolien unmittelbar nach einem ersten embolischen Ereignis, führte schon früh zu der Annahme, dass Plaques unterschiedlich vulnerabel sind, unabhängig vom Stenosegrad. Die Gefahr, die von einer Gefäßstenose ausgeht, wird dabei von der Konsistenz und der Morphologie der atherosklerotischen Läsion bestimmt. Eine dünne oder zerklüftete Kappe, ein großer lipidreicher Nekrosekern und vor allem ein ungünstiges Verhältnis beider Komponenten zueinander gelten als sichere Kennzeichen einer erhöhten Plaquevulnerabilität und folglich als Risiko für eine Erosion oder Ruptur (Golledge J, 2000; Naghavi M, 2003; Stary et al., 1995). Plaquerupturen haben in der Regel ihren Ursprung auf der lumenseitigen Läsionsoberfläche, jedoch können auch primär subendotheliale Einblutungen zu einer vom Inneren der Läsion ausgehenden Ruptur führen. In fortgeschrittenen Stadien der Plaquebildung finden sich solche Einblutungen in Plaques regelmäßig – ausgehend wahrscheinlich von Rupturen feinsten, neugebildeter plaqueversorgender Gefäße (Takaya N, 2005). Gefäßneubildungen oder Neovaskularisierungen in Plaques gelten somit als weiteres Merkmal ausgeprägter Umbauvorgänge („Remodeling“) und kennzeichnen damit entzündungsaktive, instabile Läsionen (Bassiouny HS, 1997; Carr S, 1996; Cola C, 2007; Golledge J, 2000; Naghavi M, 2003; Redgrave JN, 2006; Spagnoli LG, 2004; Virmani R, 2005; Virmani R, 2002),

wobei die Anzahl der Blutgefäße mit der Wahrscheinlichkeit von Einblutungen und konsekutiver Plaqueruptur assoziiert zu sein scheint (Moreno PR, 2004). Neovaskularisierungen scheinen dabei von der Adventitia auszugehen. Histologisch konnte diesbezüglich gezeigt werden, dass eine Vaskularisierung der Intima, die normalerweise durch Diffusion aus dem Lumen mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgt wird, sich physiologischerweise nicht nachweisen lässt (Doyle B, 2007; Geiringer, 1951). Weiterhin scheint es zusätzlich Neovaskularisationen der Gefäßplaques von der Intima her zu geben, welche in Höhe der fibrösen Kappe in die Plaque einstrahlen (Weskott H, 2010). Somit lässt sich vermuten, dass Neovaskularisierungen in Plaques ein Risikofaktor für ischämische Schlaganfälle sein könnten und deren Erfassung für die Risikoeinschätzung bzw. das Therapiemonitoring im klinischen Alltag von erheblichem Nutzen wäre.

1.2 Diagnostische Methoden im Bereich der hirnversorgenden Arterien im klinischen Alltag

1.2.1 Sonographie

Zu Beginn der Diagnostik hirnversorgender Gefäße steht häufig, gerade im Screening von Patienten mit möglichen artherosklerotischen Veränderungen, der Ultraschall mit B-Bild, Continous-Wave-(CW-)Spektral- und Farbdopplersonographie und macht häufig weitere, oft zeit- und kostenintensive, bildgebende Diagnostik überflüssig (Clevart et al., 2011; Eliasziw et al., 1995; Schulte-Altendorneburg and Clevart, 2009).

1.2.2 Magnetresonanztangiographie (MRA)

Die Magnetresonanztangiographie (MRA) hat mit 92,2 % eine geringgradig höhere Sensitivität gegenüber der Duplexsonographie (87,5 %) eine

hochgradige Stenose (70-99%) der ACI zu diagnostizieren (Nederkoorn et al., 2002). Außerdem ermöglicht sie eine Darstellung der Plaquezusammensetzung, da sie Lipidkern, Kalzifizierungen, Hämorrhagien, bindegewebige Strukturen und thrombotisches Material voneinander abgrenzen kann (Cai et al., 2002; Chu et al., 2004). Sie ist jedoch relativ zeit- und kostenintensiv.

1.2.3 Computertomographische Angiographie (CTA)

In der klinischen Routine kommt der CT bzw. CTA-Bildgebung besonders in der Notfalldiagnostik eine wichtige Rolle zu: In einigen großen Schlaganfall Zentren wird versucht bei allen Notfallpatienten mit dem Verdacht auf Schlaganfall eine CTA durchzuführen um eine mögliche Gefäßstenose oder -verschluss zeitsparend und sicher zu diagnostizieren. Nachteile der CT-Diagnostik sind die Verwendung jodhaltiger Kontrastmittel und die Strahlenbelastung: so liegt die effektive Strahlendosis für ein nativ CT des Kopfes bei etwa 1,7 mSv, für eine CTA intrakranieller Gefäße bei etwa 1,9 mSv und für eine CTA zervikaler Gefäße bei etwa 2,8 mSv (Cohnen et al., 2006), diese Angaben sind natürlich sehr abhängig von dem jeweils verwendeten Gerät und Programm. Eine CTA-Bildgebung kommt bei der Entscheidungsfindung, ob eine höchstgradige Karotisstenose vorliegt, bzw. ob eine Karotis-Endarteriektomie oder ein Karotisstenting indiziert ist, zum Einsatz, falls Kontraindikationen für eine MRA-Bildgebung vorliegen, oder sich MRA und Ultraschallbildgebung widersprechen.

1.2.4 Digitale Subtraktionsangiographie (DSA)

Der Goldstandard zur Darstellung stenosierender Läsionen in hirnversorgenden Gefäßen war lange Zeit die Digitale Subtraktionsangiographie (DSA) (Nederkoorn et al., 2002), welche jedoch invasiv und deshalb mit gewissen Risiken für Morbidität und Mortalität

verbunden ist, was letztlich den möglichen Gesamt-Benefit einer Thrombendarteriektomie senkt: In der Literatur wird das Risiko während einer DSA eine TIA (transitorische ischämische Attacke) zu erleiden mit 0,4%, einen Schlaganfall zu erleiden mit 0,5% beschrieben (Johnston et al., 2001). Weitere Nachteile sind die Verwendung jodhaltiger Kontrastmittel und ebenfalls die Strahlenbelastung. Sie wird nicht für Screening- oder Verlaufsuntersuchungen durchgeführt.

1.2.5 Beschränkungen der etablierten Methoden

Die beschriebenen etablierten Methoden sind vor allem dazu geeignet den Stenosegrad eines hirnversorgenden Gefäßes zu diagnostizieren. Ihre Vor- und Nachteile sind auch noch einmal in Tabelle 1 übersichtlich zusammengefasst.

Eine sichere Detektion von Mikrogefäßen war in vivo jedoch lange Zeit nicht möglich: weder die konventionelle Angiographie noch eine kontrastmittelverstärkte kernspin- oder computertomographische Gefäßlumendarstellung erlauben zum jetzigen Stand eine ausreichende Beurteilung. Für eine direkte Darstellung der Arterienwand und atherosklerotischen Plaques wird im klinischen Alltag vor allem die B-Mode Ultraschalltechnik angewandt. Mittlerweile erlauben zwar auch hochauflösende Kernspintomographen und in gewissen Grenzen die Computertomographie eine Matrixdarstellung von atherosklerotischen Plaques, dabei handelt es sich jedoch noch nicht um etablierte Routineuntersuchungen. Bei der Kontrastmittel-Sonographie handelt es sich um eine vielversprechende Methode zur nicht-invasiven Darstellung der Neovaskularisation innerhalb von Gefäßplaques (Feinstein, 2006; Magnoni M, 2009; Papaioannou et al., 2009; Vavuranakis M, 2008; Vicenzini et al., 2007). Mit Hilfe neuer Ultraschallgeräte und entsprechenden Software-Algorithmen kann intravenös appliziertes Ultraschallkontrastmittel hochsensitiv selbst in kleinsten Gefäßen, also auch in neovaskularisierten Plaques detektiert werden.

Tabelle 1: Vor- und Nachteile der verschiedenen Untersuchungen

Bildgebendes Verfahren	Vorteile	Nachteile
Sonographie	<ul style="list-style-type: none"> • Schnell • Niedrige Kosten • Hohe Verfügbarkeit • Frei von Nebenwirkungen • Dynamische Darstellung von Blutströmen • Direkte Plaquedarstellung 	<ul style="list-style-type: none"> • Ergebnisse sehr abhängig vom Untersucher
(KM-)MRA	<ul style="list-style-type: none"> • Höchste Sensitivität und Spezifität eine 70-99% Stenose der Carotis zu diagnostizieren(Wardlaw et al., 2006) • Darstellung der Plaquezusammensetzung 	<ul style="list-style-type: none"> • Langsam • Hohe Kosten • Eingeschränkte Verfügbarkeit • Kontraindikationen: Implantate, Schrittmacher, Klaustrophobie
CTA	<ul style="list-style-type: none"> • Schnell 	<ul style="list-style-type: none"> • Strahlenbelastung • Jodhaltige KM
DSA	<ul style="list-style-type: none"> • Exakte Bestimmung des Stenosegrades und Beschreibung der Stenoseoberfläche • Meist geringere KM-Dosen nötig als bei CTA 	<ul style="list-style-type: none"> • Invasiv – Komplikationen • Strahlenbelastung • Jodhaltige KM

1.3 Ultraschall

Schall mit Frequenzen oberhalb des menschlichen Hörfrequenzbereichs (>16 kHz) bezeichnet man als Ultraschall. In der Medizin ist die Ultraschall Diagnostik ein sehr verbreitetes bildgebendes Verfahren, das aufgrund vieler Vorteile beinahe in jeder Fachdisziplin regelmäßig genutzt wird: Im Gegensatz zur Röntgen- und CT-Diagnostik kommt es bei der Ultraschalldiagnostik zu keiner Strahlenexposition. Die Dopplersonografie kann zudem, als einzige im Klinikalltag etablierte Methode, Blutströme in Gefäßen dynamisch darstellen. In der Medizin verwendete Ultraschallgeräte haben meist einen Frequenzbereich zwischen 2 und 20 MHz (Gross, 2007; Huck, 2005).

1.3.1 Technisches Konzept

Die Ultraschallwellen (wie alle Schallwellen eine Form von kinetischer Energie) werden durch mechanische Schwingungen von Kristallen im Schallkopf generiert.

Die Erzeugung der Schallwellen geschieht durch das piezoelektrische Prinzip: die Elemente werden durch elektrische Impulse angeregt, vibrieren (durch die elektrisch induzierte Druckänderung kommt es zu raschen Änderung des Kristallvolumens) und werden so zu Schallquellen.

Über ein periodisches Zusammenschieben und Auseinanderziehen der Moleküle führt die Vibration der Schallquelle zur Schallausbreitung im jeweiligen Ausbreitungsmedium (Luft, Flüssigkeiten, feste Körper). Ein Teil der Schallenergie wird zurück zum Schallkopf reflektiert. Die reflektierten Schallwellen wiederum lösen beim Auftreffen auf den Schallkopf einen elektrischen Impuls aus, der sich proportional zur reflektierten Schallenergie verhält und entsprechend dem Ort seiner Entstehung bzw. entsprechend seiner Intensität auf einem Monitor in Graustufen dargestellt wird: Je höher die reflektierte Energie, desto heller der Grauton (Starke Reflektoren sind zum Beispiel Kalk oder Grenzflächen zwischen Material unterschiedlicher Impedanz). Schwarz dagegen werden Flüssigkeiten dargestellt, die keine Reflektoren aufweisen (z.B. Wasser oder Urin).

Der Schallkopf erfüllt demnach zwei Funktionen: er sendet und empfängt Schallwellen. Direkt nachdem eine Schallwelle (Puls) abgegeben wurde, wird der Schallkopf auf Empfangen umgestellt um auch von sehr nahe gelegenen Strukturen reflektierte Echos empfangen zu können, was auch als Puls-Echo-Prinzip bezeichnet wird.

Die verwendeten Frequenzen sind für die Bildqualität von Bedeutung: Je höher die Frequenzen, desto größer ist der Energieverlust der Schallwellen im Gewebe und desto schlechter lassen sich tiefgelegene Strukturen darstellen. Durch die kürzeren Wellenlängen bei hohen Frequenzen wird jedoch die räumliche Auflösung verbessert, weshalb man Schallköpfe mit höheren Frequenzen bevorzugt (Gross, 2007; Huck, 2005).

1.3.1.1 *B-Mode/-Bild*

Der B-Mode Ultraschall (B für Brightness, engl. Helligkeit) ist die in der Medizin am weitesten verbreitete Variante. Es handelt sich dabei um 2-dimensionale Schnittbilder, die durch Verarbeitung der Eindringtiefe und der Echostärke (Amplitudenwert) generiert werden. Jedem Amplitudenwert wird ein Helligkeitswert zugeordnet (zwischen schwarz und weiß zum Beispiel). Somit wird aus der Kurve der Echoamplituden eine Linie aus dunklen und hellen Punkten. Viele dieser Linien verschiedener Grautöne zusammengesetzt ergaben früher, als Schallköpfe nur einen Piezokristall enthielten, die ersten Ultraschallschnittbilder, so genannte Compound-Scans (engl. compound = zusammengesetzt), allerdings erst nach Ausführung der Schallkopfbewegung.

Heutige moderne Ultraschallgeräte können viel mehr Daten in kürzerer Zeit verarbeiten und somit in Echtzeit Schnittbilder liefern (Gross, 2007; Huck, 2005).

1.3.1.2 *Doppler-Verfahren in der Sonographie*

Wenn Sender und Empfänger einer Welle sich relativ zueinander bewegen, kommt es zum Dopplereffekt (nach dem österreichischen Physiker und Mathematiker Johann Christian Doppler), nämlich zu einer Änderung der Frequenz. Dieser Effekt wird bei der Dopplersonographie genutzt um Strukturen, die sich bewegen (im Gefäß-Doppler zelluläre Bestandteile des Blutes) zu erfassen und damit die Flußgeschwindigkeit des Blutes zu berechnen.

Ultraschallwellen, die von fließenden Erythrozyten reflektiert werden, haben eine andere Frequenz als die ausgesandte: fließen die Erythrozyten auf den Schallkopf zu, wird die Frequenz größer, fließen sie vom Schallkopf gesehen weg, nimmt die Frequenz ab.

Durch die Bewegung eines Reflektors kommt es zur Änderung der Wellenlänge, weil die Ausbreitungsgeschwindigkeit konstant bleibt, ändert sich somit die Frequenz. Als Dopplerschiffrequenz (ΔF) bezeichnet man die Differenz zwischen Sende- und Echofrequenz:

$$\Delta F = F_e - F_t$$

F_e : Echofrequenz

F_t : Transducerfrequenz

Die Schifffrequenz nimmt mit größer werdendem Einstrahlwinkel der Schallwellen ab. Bei einem 0° Winkel ist sie am größten. Die Geschwindigkeit des Blutstroms bzw. der darin enthaltenen Blutkörperchen kann man erst mit Kenntnis des Einstrahlwinkels ($\cos \varphi$) berechnen. Es besteht dann eine direkte, proportionale Beziehung zwischen Blutflußgeschwindigkeit und Dopplerfrequenzshift was sich durch die Dopplergleichung ausdrücken lässt:

$$\Delta F = F_t \times (2 \times V_r) / V_g \times \cos \varphi$$

F_t : Transducerfrequenz

V_r : Geschwindigkeit des Reflektors (Erythrozyten)

V_g : Schallgeschwindigkeit im Gewebe (1540 m/s)

$\cos \varphi$: Winkel zwischen ausgesandtem Ultraschallstrahl und Blutflussrichtung

Der Faktor 2 kommt wie folgt zustande: Schallquelle und -empfänger sind identisch. Der Schall erfährt den Dopplereffekt zweimal: einmal auf dem Weg vom Schallkopf zum Blutkörperchen und einmal auf dem Weg zum Schallkopf zurück.

Für die Berechnung der Blutgeschwindigkeit sind, außer dem Winkel zwischen Ultraschallstrahl und Blutflussrichtung, welcher durch eine optische Hilfslinie im B-Bild bestimmt werden kann, alle der oben genannten Größen bekannt.

Aus der Tatsache, dass für einen Winkel von 90° $\cos \varphi = 0$ wird, ergibt sich, dass eine Flußgeschwindigkeitsberechnung bei einem senkrecht zum Gefäß aufgesetzten Schallkopf nicht möglich ist. Weiter kann man der Dopplergleichung entnehmen, dass zwischen Winkel und Flußgeschwindigkeit keine Linearität besteht, was in der Praxis von großer Bedeutung ist: Wählt man den Winkel nicht richtig, wirkt es sich bei kleinen Winkelgraden zwar nur gering auf die berechnete Geschwindigkeit aus, kann bei Einfallswinkeln von über 45° jedoch schon schwere Messfehler nach sich ziehen (Gross, 2007; Huck, 2005).

- Pulsed-Wave-Doppler (PW-Doppler)

Ein PW-Doppler ist ein System, das durch periodisches Aussenden und Empfangen von Schallwellen in der Lage ist, eine Ableitung des Dopplersignals aus einer bestimmten Tiefe des Gewebes zu registrieren. Es kann ein einzelner Kristall verwendet werden, der durch eine Art elektronische Torschaltung das Ausmaß an Informationen auf eine „Messprobe“ (engl. Sample Volume) in einer bestimmten Tiefe im Gewebe beschränkt.

Da es sich um eine gepulste und nicht kontinuierliche Informationsübermittlung handelt, kann über die Laufzeit des Echos eine räumliche Einordnung der Messprobe erfolgen.

Die PW-Dopplersonographie findet, wie die CW-Dopplersonographie, in der Neurologie als transkranielle Dopplersonographie auch ohne visuelle Kontrolle der Untersuchung Verwendung. In der Angiologie dagegen wird sie meist in Kombination mit einem B-Bild, als sogenannte Duplex Sonographie verwendet: Neben einer Echtzeit Darstellung des anatomischen Gebietes wird eine fortlaufende grafische Aufzeichnung der Doppler-Frequenzanalyse wiedergegeben. Diese Art der Darstellung ermöglicht die genaue Positionierung des Sample Volumes in das zu untersuchende Gefäß. (Gross, 2007; Huck, 2005)

- Farbkodierte-Duplex-Sonographie (FKDS)

Die FKDS ist ein vielkanaliges gepulstes System in Verbindung mit B-Bild-Sonographie. Es handelt sich, wie auch bei der Duplexsonographie, um eine morphologische und funktionelle Diagnostik. Anders als bei der „einfachen“ Duplex-Sonographie, bei der B-Bild und Doppler-Sonographie intermittierend arbeiten, werden bei der FKDS aus demselben Signal die Informationen für den B-Bild Aufbau als auch für die Bestimmung der Dopplerfrequenzen gezogen. Die Signale ohne Dopplershift dienen dem Aufbau des B-Bildes, die mit Dopplershift werden durch ein spezielles Auswerteverfahren dazu genutzt, eine momentane mittlere Dopplerfrequenz für jedes Sample Volume zu berechnen. Diese kann dann als Farbwert im B-Bild am Ort der Messprobenentnahme wiedergegeben werden. Um die Strömung im Gefäß flächendeckend farbkodiert abzubilden, werden an vielen Orten Messproben genommen. Die verschiedenen Shiftfrequenzen werden schließlich richtungsabhängig mit Farbwerten aus zwei (meist rot und blau) Farbskalierungen umgesetzt, wichtig ist dabei, dass unbewegte stationäre Echos einen Grauwert, und keinen Farbwert zugeordnet bekommen. Die

farbliche Kodierung bezieht sich dabei vor allem auf die Flußrichtung in Bezug zum Schallkopf: rot bedeutet i. d. R., dass das Blut, bzw. dessen korpuskulären Anteile auf den Schallkopf zufließen, blau, dass das Blut vom Schallkopf wegfließt. Außerdem gibt es noch Helligkeitsabstufungen, die sich nach der Flussgeschwindigkeit richten: Je heller die Farben dargestellt werden, desto schneller fließt das Blut, dunklere Farben dagegen stehen für niedrigere Flußgeschwindigkeiten. Diese Art des Dopplerultraschalls bietet viele Vorteile: Die ausgewählte Gefäßschnittfläche kann direkt mit dazugehörigen Dopplerinformationen durch den Untersucher beurteilt werden. Außerdem erleichtert die FKDS die Orientierung, welche besonders bei anatomischen Varianten oft erschwert sein kann (Gross, 2007; Huck, 2005).

1.3.2 Ultraschallkontrastmittel (USKM)

Die Verwendung von USKM auf der Basis von Mikrobläschen (engl. Mikrobubbles) geht auf Erkenntnisse aus dem Jahr 1968 zurück, als bei der Injektion von Kochsalzlösung, während eines Herzkatheters, erstmals Kontrastphänomene beobachtet wurden (Gramiak and Shah, 1968). Seitdem wurde ein sehr großer Aufwand betrieben, in der Klinik verwendbare USKM auf der Basis von Mikrobläschen zu entwickeln, welche möglichst folgende Eigenschaften besitzen: eine hohe Stabilität sollen sie haben, um bei den hohen Drücken im Blutkreislauf nicht sofort zu zerplatzen. Sehr klein müssen sie sein, d.h. $< 8\text{--}10\ \mu\text{m}$, damit sie auch Kapillaren passieren können und natürlich müssen sie ein sehr gutes Sicherheitsprofil aufweisen bzw. am besten inert sein (Huck, 2005; Quايا, 2005).

1.3.2.1 Grundlagen und verwendete Substanzen

Die heute als USKM verwendeten Substanzen basieren alle auf Mikrobläschen. Diese haben sich gegenüber kolloidalen Suspensionen, wässrigen Lösungen und Emulsionen durchgesetzt. Ausschlaggebend dafür

ist der hohe Unterschied des Schallwiderstands zwischen Gas und dem umgebenden Gewebe, was für eine suffiziente Rückstreuung des Ultraschalls von entscheidender Bedeutung ist. Zudem sind Gasbläschen kompressibel, was für resonanzbasierte Ultraschallverfahren wichtig ist, bei denen die Bläschen, angeregt durch Ultraschallwellen, beginnen zu oszillieren und somit selbst zu Ultraschallsendern werden.

Erste Versuche, basierend auf den Beobachtungen von Gramiak und Shah (Gramiak and Shah, 1968), Mikroluftbläschen in die Blutbahn zu injizieren, waren nur bedingt erfolgreich, da die eingeschlossene Luft sofort ins Blut diffundiert, was zur Auflösung der Bläschen führt. Um dieses Problem zu lösen, stellte man Stickstoffgasbläschen mit Gelatine kapsel her (Carroll et al., 1980), welche schon viel stabiler waren, jedoch mit einem Durchmesser von ca. 80 µm deutlich zu groß waren um Lungenkapillaren zu passieren.

Nach diesen Erkenntnissen teilt man die verwendeten USKM in zwei Generationen ein: die erste Generation umfasst Verbindungen aus Luftbläschen stabilisiert mit z. B. menschlichem Serum Albumin (Albunex®) oder D-Galaktose (Levovist®) (Goldberg et al., 1994; Nanda, 1997). Zur zweiten Generation gehören Verbindungen, die aus stabilisierten Mikrobläschen von Gasen mit hochmolekularem Gewicht und einer geringen Löslichkeit in Wasser bestehen, was eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Druck zur Folge hat (Correas and Quay, 1996; Schneider et al., 1995; Skyba et al., 1996). Dadurch haben USKM der zweiten Generation eine deutlich längere Haltbarkeit im Blut.

Dies lässt sich auch mit folgender Formel für die Persistenz (P) von Gasbläschen erklären:

$$P = (\text{Radius} \times \text{Dichte}) / (\text{Diffusionsvermögen} \times \text{Sättigungskonstante})$$

- Der Radius ist aufgrund der Kapillargröße begrenzt.
- Je höher die Dichte
- und je niedriger das Diffusionsvermögen und die Sättigungskonstante sind desto größer ist die Lebensdauer von Gasbläschen im Blut.

Neben den Gasmikrobläschen spielen noch Stabilisatoren eine wichtige Rolle: sie reduzieren die Oberflächenspannung und bilden eine Art Kapsel um die Stabilität der Bläschen zu erhöhen. Wurden in der ersten Generation noch menschliches Serum Albumin oder Galaktose verwendet, werden in USKM der zweiten Generation vor allem Phospholipide (SonoVue®) als Stabilisatoren eingesetzt (Quaia, 2005).

1.3.2.2 *Wirkprinzipien*

- Verstärkte Schallrückstreuung

Ist die ausgesendete Schallenergie ((dimensionsloser) mechanischer Index : MI) niedrig, werden die Mikrobläschen wegen des hohen Impedanzsprungs zwischen umgebendem Gewebe/Blut und Gas zu starken Schallrückstreuern. Der MI-Wert stellt dabei einen schallkopfspezifischen Wert dar, welcher im Phantomversuch ermittelt wurde und deshalb nur bedingt auf beschalltes Gewebe übertragbar ist. Zusätzlich zu dem akustischen Dichteunterschied beeinflusst der Unterschied der Kompressibilität zwischen umgebendem Gewebe/Blut und Gas, der Bläschenradius (in der 6. Potenz) und die Sendefrequenz (in der 4. Potenz) die Schallrückstreuung. So würden z.B. größere Bläschen die Schallrückstreuung sehr effektiv steigern, was in der Praxis jedoch, aufgrund der geforderten Lungengängigkeit, begrenzt ist. Es kommt physikalisch zu einer Streuung der Ultraschallwellen und weniger zu einer Reflexion, da die Wellenlänge des eingesetzten Ultraschalls vielfach größer ist, als der Mikrobläschendurchmesser.

Schon bei geringer Schallenergie können Mikrobläschen zu oszillieren beginnen: Sie werden in der positiven Phase der akustischen Druckwelle komprimiert und können in der negativen Phase wieder expandieren, so werden sie selbst zu „Ultraschallsendern“. Ihre Frequenz entspricht dabei der, die das Ultraschallgerät sendet (Fundamentalfrequenz). Dieses so genannte lineare Oszillieren zeigen Mikrobläschen v. a. wenn sie mit einer für sie optimalen Frequenz (Resonanzfrequenz) angeregt werden, welche umso

höher ist, je kleiner der Durchmesser der Mikrobläschen ist (Huck, 2005; Quiaia, 2005).

- Nichtlineares Oszillieren

Steigert man die Schallenergie, bleibt in der positiven Phase der akustischen Druckwelle die Kompression der Gasbläschen zeitlich gegenüber der Expansion in der negativen Phase zurück. Somit verhält sich das Oszillieren nicht mehr linear zum akustischen Schalldruck der Resonanzfrequenz, welche die Schwingung anregt. Die Gasbläschen oszillieren dabei neben der Anregungsfrequenz (Fundamentalfrequenz) zusätzlich in Vielfachen von dieser, also in harmonischen Oberfrequenzen. Ein wichtiger Punkt für die KM-verstärkte Bildgebung ist die kontinuierliche Detektion der von den Mikrobläschen ausgehenden harmonischen Frequenz, die eine für die Bildgebung ausreichend hohe Schallenergie besitzt. Ein weiterer wichtiger Punkt ist die Unterscheidung zwischen von den Bläschen abgegebenen harmonischen Frequenzen, welche nur eine geringe Schallenergie aufweisen, und Gewebecho, die ihrerseits harmonische Frequenzen abgeben, was mit dem Pulsinversionsverfahren ermöglicht wird (Huck, 2005; Quiaia, 2005).

- Pulsinversionsverfahren

Bei dem Pulsinversionsverfahren, welches niedrige MI-Werte für die Bildgebung verwendet (engl. Low MI imaging), werden vom Schallkopf zwei um 180° phaseninvertierte Schallpulse abgegeben. Die daraufhin empfangenen harmonischen Frequenzsignale der stationären Gewebecho heben sich dabei im Idealfall vollständig auf. Die Kurven der Bläschenechos hingegen weisen eine asymmetrische Form auf, da das Bläschenvolumen durch die Schallimpulse nichtlinear ab- bzw. zunimmt. Bei ihrer Summation kommt es somit nicht zur Aufhebung der beiden Echos, sondern zu einer bläschenspezifischen Frequenzantwort (Huck, 2005; Quiaia, 2005).

- Bläschenzerstörung

Wird die Schallenergie noch weiter erhöht, kommt es schließlich zum Zerplatzen der Bläschenkapsel bzw. -hülle, auch als Resonanzkatastrophe bezeichnet, und zum Austritt des Gases ins Plasma. Dabei kommt es zu einem kurzen, starken Signalanstieg. Durch die Bläschenzerstörung werden zwar Ultraschallverfahren limitiert, welche auf die oben erwähnten Wirkprinzipien aufbauen, jedoch ergeben sich durch den kurzen starken Signalanstieg neue Möglichkeiten USKM und ihre Verteilungen im Gewebe mit hoher Sensitivität nachzuweisen. (Huck, 2005; Quiaia, 2005)

1.3.2.3 *Cadence® Contrast Pulse Sequencing (CPS)*

Die verschiedenen Hersteller von Ultraschallgeräten haben eigene Programme und Technologien entwickelt, um die Empfindlichkeit und Spezifität der Untersuchung für Kontrastmittelsignale zu erhöhen. Das von uns verwendete Siemens Gerät verwendet dazu die Cadence® CPS-Technologie. Durch das CPS-Verfahren, eine sequenziell unterschiedliche Verarbeitung der empfangenen Echosignale und eine optimierte Anregungssequenz wird die Trennung von Kontrastmittel- und Gewebesignalen deutlich verbessert. Damit wird eine differenziertere Untersuchung möglich: man kann nur die Echosignale der Bläschen, nur die Gewebeechos oder beide zusammen darstellen. Dieses Verfahren basiert auf der Eigenschaft der Mikrobläschen nichtlinear auf Druckunterschiede zu reagieren (Bsp.: Der Durchmesser eines Bläschens halbiert sich nicht bei doppeltem Druck), dementsprechend verhält es sich auch mit den dazugehörigen Bläschen-Echos.

Durch Phasen- und Amplitudenmodulation kann man im Vergleich zum reinen Phaseninversionsverfahren noch genauer zwischen Bläschenechos und Gewebeechos unterscheiden:

-Phasenmodulation: Bläschenechos sind, im Gegensatz zu Gewebeechos, bei verschobenen Phasen von ausgesandten Impulsen nicht einfach

invertierte Kopien voneinander. Aufgrund ihrer nichtlinearen Ausdehnung bzw. Kompression entsteht ein ganz eigenes Pulsecho, je nachdem welche Phase des ausgesendeten Impulses das Bläschen zuerst trifft.

-Amplitudenmodulation: Bei unterschiedlich großen Amplituden, d. h. unterschiedlich starken Sendeimpulsen, verhalten sich Bläschenechos nicht proportional zu einander, was sie ebenfalls von Gewebeechos unterscheidet. Die Cadence® CPS Technologie kombiniert unterschiedliche Sendeimpulse mit verschiedenen Phasen und Amplituden um mehrere nichtlineare Bläschensignale zu generieren bzw. aus der Gesamtheit der empfangenen Echos zu extrahieren (Huck, 2005; Philipps, 2001; Philips and Paul, 2005).

1.3.2.4 SonoVue®

Bei dem in dieser Studie verwendeten SonoVue® (BR1, Bracco SpA, Mailand, Italien) handelt es sich um ein USKM der zweiten Generation, das in Deutschland für folgende Indikationen zugelassen ist: Herz (Endokarderkennung), Gefäße (Makrovaskulatur), Vaskularisierung parenchymatöser Organe (Mikrovaskulatur) / Charakterisierung von Läsionen (Leber und Mamma) (Dietrich, 2008).

Es ist eine wässrige Suspension von Schwefelhexafluorid (SF₆) Mikrobbläschen mit einem flexiblen Phospholipid-Oberflächenstabilisator. Schwefelhexafluorid zeichnet sich durch eine hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber Druck und seiner guten Verträglichkeit im klinischen Alltag aus (Lester and Greenberg, 1950; Ostlund et al., 1992), zudem hat es eine geringe Löslichkeit in Wasser und ein geringes Diffusionsvermögen in Blut (Morel et al., 2000). Folglich bleiben die SonoVue® -Mikrobbläschen nach i.v. Injektion viel länger im Blutkreislauf als Luftbläschen ähnlicher Größe (Schneider et al., 1996). Das USKM liegt zunächst als lyophilisiertes Pulver (25mg) vor, dem man zunächst 5 ml physiologische Kochsalzlösung hinzufügt und es dann sorgfältig schüttelt, wodurch eine weiße, milchige, auf 5 mg/ml verdünnte Suspension entsteht. Diese enthält pro Milliliter ca 8 µl Schwefelhexafluoridgas als fein verteilte Mikrobbläschen. Die Mikrobbläschen,

welche einen mittleren Durchmesser von ca. 3 µm haben und von denen etwa 90% < 8 µm sind, zirkulieren im intravaskulären Raum und können sowohl pulmonale als auch systemische Kapillaren problemlos passieren (Morel et al., 2000). Die SF6-Mikrobläschen haben im Blutkreislauf die gleichen kinetischen Eigenschaften wie rote Blutkörperchen (Lindner et al., 2002), d. h. sie verbleiben intravasal und werden weder biliär noch renal ausgeschieden. Die Kontrastmittelhülle wird über die Leber eliminiert, während der gashaltige Kern vermutlich überwiegend pulmonal eliminiert wird. Dies geschieht zügig und vollständig, selbst bei eingeschränkter Lungenfunktion (Morel et al., 2000).

Die Applikation von SonoVue® kann als Bolusgabe oder kontinuierliche Infusion erfolgen: für eine Bolusinjektion legt man einen 16–20 Gauge I.v.–Zugang in eine periphere Vene z. B. am Handrücken oder der Ellenbeuge. An diesem wird ein Drei-Wege-Hahn angebracht, wobei ein Anschluss für die Spritze mit der SonoVue™-Lösung vorgesehen ist während der verbliebene dritte Anschluss für eine Spritze mit 5 ml physiologischer Kochsalzlösung verwendet wird, welche direkt nach der Bolusinjektion gespritzt wird um im Zugang verbliebene Mikrobläschen nachzuspülen. Es wird eine Injektionsgeschwindigkeit von 1 ml/s empfohlen. Ein Intensitätsmaximum in hirnersorgenden Arterien wird konstitutionsabhängig nach 10–20s erreicht mit anschließend linearem Abfall über ca. 10 Minuten.

Bei der Infusion wird eine Geschwindigkeit von 1,2 ml/min empfohlen mit der nach ca. zwei bis drei Minuten eine vergleichbar hohe Intensität wie nach einer Bolusinjektion erreicht wird.

1.3.3 Sonographische Beurteilung des Stenosierungsgrades der Arteria Carotis Interna nach DEGUM-Leitlinien

Der Stenosegrad, welcher ein Hauptkriterium für die Indikationsstellung einer invasiven Behandlung extrakranieller Stenosen der ACI ist (Naylor, 2011), wird entweder nach den Kriterien des European Carotid Surgery Trial (ECST) oder denen des North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) ermittelt (Eliasziw et al., 1995; European Carotid Surgery Trialists´

Collaborative Group, 1998). Nach NASCET wird der Stenosegrad in Relation zum distalen Lumen, nach ECST in Relation zum ursprünglichen Lumen der Arteria carotis interna bestimmt. In Deutschland wurde bei der Ultraschalldiagnostik lange Zeit die Graduierung nach ECST benutzt, da sich jedoch international und auch in Deutschland für die radiologische Stenosegraduierung (mit DSA, CTA und MRA) die NASCET-Graduierung durchgesetzt hat, werden in den DEGUM Leitlinien nur noch die NASCET-Definitionen verwendet (Arning et al., 2010), um Missverständnisse oder falsch gestellte Indikationen zu vermeiden. Abbildung 1 veranschaulicht die zwei verschiedenen Methoden.

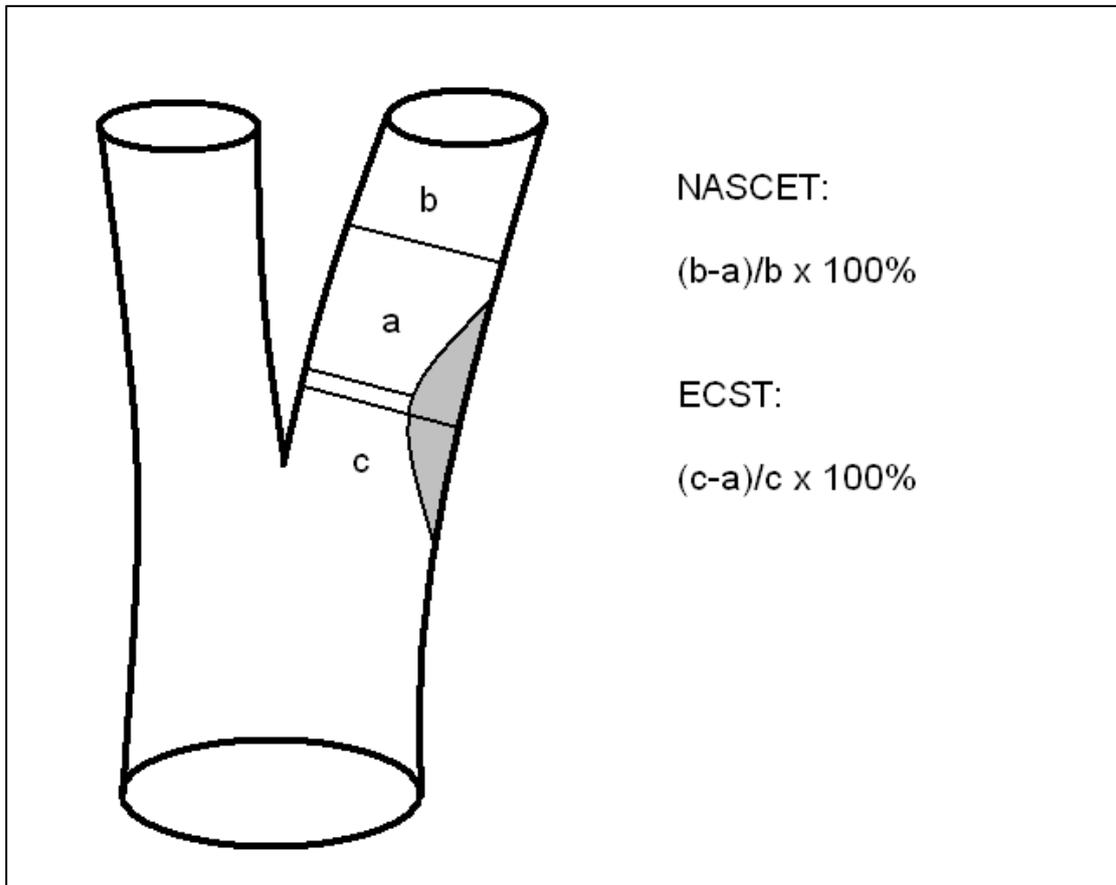


Abbildung 1: Beurteilung des Stenosegrades nach NASCET bzw. ECST

2 Zielsetzung

Ziele dieser Arbeit sind:

1. Die Evaluierung der Darstellbarkeit von Plaqueneovaskularisierung in der ACI mithilfe von Kontrastmittel-verstärktem Ultraschall.
2. Überprüfung der These, dass in der qualitativen Bildanalyse der KM-verstärkten Ultraschalluntersuchungen eine Plaque-Vaskularisierung (Grad 1 und 2) häufiger in symptomatischen Plaques zu finden ist, als in asymptomatischen.
3. Überprüfung der These, dass in der qualitativen Bildanalyse der KM-verstärkten Ultraschalluntersuchungen eine Plaque-Vaskularisierung (Grad 1 und 2) häufiger bei Patienten mit einer Stenoseprogredienz zu finden ist, als bei Patienten ohne Stenoseprogredienz.
4. Überprüfung der These, dass Plaques mit Grad 2 Vaskularisierung (qualitative Bildanalyse) in der quantitativen Bildanalyse durchschnittlich höhere Intensitäten aufweisen, als Plaques mit Grad 0 und Grad 1.
5. Beantwortung der Frage, ob die verwendete softwarebasierte Quantifizierung eine präzise und reliable Beurteilung der Gefäßdicke erlaubt.
6. Überprüfung der These, dass mit der software-unterstützten Quantifizierung Neovaskularisationen (in Form von höheren Intensitäten) häufiger in ACI-Plaques bei symptomatischen Patienten, als bei asymptomatischen zu finden sind.
7. Überprüfung der These, dass mit der software-unterstützten Quantifizierung Neovaskularisationen häufiger in ACI-Plaques von Patienten mit einer Stenoseprogredienz zu finden sind, als bei Patienten ohne Stenoseprogredienz.

3 Methodik

Die prospektiv angelegte Studie wurde durch die Ethikkommission des Klinikums rechts der Isar der TU München genehmigt. Alle Patienten wurden vor Aufnahme in die Studie aufgeklärt und erhielten ein Informationsschreiben und eine schriftliche Einwilligung. Zudem wurde mittels eines standardisierten Fragebogens das Risikoprofil und die Anamnese der Patienten erhoben. Es wurden Patienten mit symptomatischer oder asymptomatischer atherosklerotisch bedingter Stenose der ACI untersucht. Zum Teil handelte es sich um eine Follow-up Untersuchung mit der Frage nach einer Progredienz der Stenose. Die Patienten wurden über die neurologische Gefäßambulanz sowie die Stroke Unit der Neurologie rekrutiert.

3.1 Klinische Symptomatik

Ein Plaque wurde als symptomatisch eingeordnet, wenn sich in den letzten drei Monaten vor Einschluss in die Studie im entsprechenden Versorgungsgebiet Symptome wie ein vollendeter zerebraler Infarkt oder eine transitorische ischämische Attacke (TIA) einschließlich einer Amaurosis fugax ereignet hatten.

3.2 Einschlusskriterien

Einschlusskriterien waren eine atherosklerotische Plaque der ACI von mindestens 2 mm Dicke, die Lokalisation des Stenosemaximums innerhalb von 1 cm proximal bis 2 cm distal der Karotisbifurkation, ein Alter ≥ 18 Jahre sowie die Fähigkeit zur Einwilligung in die Untersuchung. Ausschlusskriterien waren eine mögliche Schwangerschaft und vorangegangene Operationen oder Angioplastien an der ACI. Weiterhin erfolgte kein Einschluss in die Studie bei bestehenden Kontraindikationen gegen die Verabreichung von

Sonovue®, wie bekannter Überempfindlichkeit gegen Schwefelhexafluorid sowie schweren kardialen Vorerkrankungen.

Der Stenosegrad wurde in Anlehnung an die in der NASCET-Studie verwendete Graduierungssystematik (distaler Stenosegrad) bestimmt (Arning C, 2010; Barnett HJ, 1998). Anhand der Strömungsgeschwindigkeit wurden die Stenosen in vier Kategorien eingeteilt:

- geringgradig ($<50\%$, $<200\text{cm/s}$)
- mittel- bis hochgradig ($50\text{--}69\%$, $\geq 200\text{--}300\text{cm/s}$)
- hochgradig ($70\text{--}80\%$, $>300\text{--}349\text{cm/s}$)
- höchstgradig ($\geq 80\%$, $\geq 350\text{cm/s}$ oder Reduktion der Strömungsgeschwindigkeit)

Eine Stenose wurde als progredient eingestuft, wenn sich in der Messung der Verlaufsuntersuchung eine Zunahme der maximalen Plaquedicke von mindestens 10 % nachweisen ließ (Arning C, 2010; Barnett HJ, 1998).

3.3 Risikoprofil

An zerebrovaskulären Risikofaktoren wurden erfasst: das Vorliegen einer arteriellen Hypertonie, eines Diabetes mellitus, einer Hyperlipidämie, eines Nikotinabusus, das Vorliegen von Übergewicht sowie einer positiven Familienanamnese in Bezug auf vaskuläre Erkrankungen. Als arterielle Hypertonie wurde hierbei gewertet, wenn die bei indirekter Blutdruckmessung ermittelten systolischen und/oder diastolischen Blutdruckwerte bei mindestens 3 Messungen ≥ 140 mmHg und ≥ 90 mmHg betragen bzw. sich anamnestisch eruieren ließen (Whitworth J and Group, 2003) oder wenn die Patienten eine antihypertensive Medikation einnahmen. Als Diabetes mellitus wurde eine Nüchtern-Glukose von $> 7,0$ mmol/l (> 126 mg/dl) bzw. eine Nicht-Nüchtern-Glukose von $> 11,1$ mmol/l (> 200 mg/dl), eine bestehende antidiabetische Behandlung oder die Kombination von beidem definiert

(American Diabetes Association, 2002). Als Nikotinabusus wurde ein aktueller oder stattgehabter Nikotinkonsum eingestuft. Als Hyperlipidämie wurde eine Nüchtern-Gesamtcholesterinkonzentration von $> 11,1$ mmol/l (> 200 mg/dl) (Law M, 1999), bzw. eine bereits diagnostizierte Hyperlipidämie in der Anamnese gewertet. Der Bodymass-Index (BMI) wurde zur Definition des Risikofaktors Übergewicht herangezogen. Die Patienten wurden ab einem BMI von 25 kg/m² (Übergewicht bzw. Präadipositas) als gefährdet eingestuft (WHO, 1995). An Vorerkrankungen wurden ein stattgehabter zerebraler Infarkt oder eine transitorische ischämische Attacke (TIA), eine koronare Herzkrankheit (KHK) sowie eine periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) aufgezeichnet.

3.4 Verwendete Ultraschallgeräte

Die Screening Untersuchungen einschließlich der Bewertung der Arteria carotis communis, dem Bulbus, der proximalen und distalen ACI sowie der A. carotis externa wurden zunächst mit einem Acuson/Siemens Antares Ultraschallgerät im Ultraschalllabor der Neurologischen Klinik durchgeführt. Die kontrastverstärkten Untersuchungen wurden in einem zweiten Schritt mit einem Acuson/Siemens Sequoia 512 Ultraschallgerät und einem linearen Schallkopf vom Typ 9L4 (Frequenzen zwischen neun und vier MHz) unter Verwendung eines kontrastspezifischen Darstellungsverfahrens („Cadence® Contrast Pulse Sequencing“/CPS) durchgeführt.

3.5 Ablauf der Untersuchung

Zunächst erfolgte eine bilaterale Darstellung der Karotisbifurkation sowie der Arteria carotis interna im B-Bild, farbkodierten Doppler und pulsed-wave (pw)-Doppler. Im Anschluss wurde eine kontrastmittelgestützte Sonographie mit speziellem Augenmerk auf die zuvor identifizierten Läsionen durchgeführt.

Als Ultraschallkontrastmittel wurde SonoVue® (Bracco Altana Pharma, Konstanz, Deutschland) verwendet.

Nach Punktion einer Vene in der Ellenbeuge mit einer Venenverweilkanüle der Größe 20 Gauge erfolgte die Injektion eines Bolus von 2,5 ml Sonovue® mit nachfolgender Gabe von 5 ml Kochsalzlösung. Dies wurde bei Bedarf im Intervall wiederholt. Jenseits von zwei Minuten nach der Bolusinjektion wurde die Untersuchung nicht mehr zur Beurteilung herangezogen. Für eine einzelne Untersuchung wurden nicht mehr als 5 ml Sonovue® verwendet. Die Videodokumentation der Untersuchung wurde digital als DICOM-Datei (Digital Imaging and Communications in Medicine) für spätere Auswertungen gespeichert. Die Patienten wurden im Anschluss für 30 Minuten klinisch beobachtet.

3.6 Bildanalyse

3.6.1 Qualitative Bildanalyse

Native und kontrastmittelverstärkte Untersuchungen wurden nach Export als Filme im Audio Video Interleave (AVI) Video-Containerformat retrospektiv von vier unabhängigen Untersuchern (CW, KS, JB, HP) ausgewertet. Jede Plaque wurde zunächst in Anlehnung an ein Standardklassifikationsschema anhand ihrer Echogenität eingeordnet (De Bray JM, 1997):

Klasse I: einheitlich echoarm

Klasse II: vorwiegend echoarm

Klasse III: vorwiegend echoreich

Klasse IV: einheitlich echoreich

Klasse V: ausgeprägte Kalzifikation mit Schallschatten.

Der Stenosegrad wurde anhand der aktuellen Leitlinien, nach Kriterien des North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET), bestimmt (Arning C, 2010; Barnett HJ, 1998).

Im Anschluss erfolgte die Analyse der Kontrastmittelverstärkten Aufnahmen. Im Kontrastmittelmodus erscheinen Plaques aufgrund der Gewebesignalunterdrückung dunkel und echoarm. Die Adventitia stellt sich als helle echogene Grenzlinie dar. Punktförmige, echoreiche Signale nach Kontrastmittelgabe mit Migration in die Plaque oder auf der adventitialen Seite der Plaque wurden als Kontrastmittel-bubble-Signal und somit als Zeichen einer Plaqueneovaskularisierung eingestuft. Im Gegensatz dazu wurden, beim Vergleich mit den B-Bild-Aufnahmen, stationäre echogene Punkte als Gewebestruktur bzw. Ultraschallartefakte bewertet, was mittels Umschalten in einen attenuierten B-Mode verifiziert werden konnte.

Für jede Plaque wurde die Kontrastmittelverstärkte Anreicherung (Neovaskularisierung) visuell beurteilt und folgendermaßen kategorisiert (Coli et al., 2008):

- Grad 0: Keine Bubbles innerhalb der Plaque nachweisbar
- Grad 1: Bubbles, die auf die Adventitiaseite und/oder die Plaque-Schulter beschränkt sind.
- Grad 2: Sichtbare Bubbles, die den Plaquekern erreichen und/oder ausgedehnter Kontrastmittelnachweis in der ganzen Plaque

Diese ordinalskalierte Einordnung basiert auf der Theorie, dass eine Plaqueneovaskularisation hauptsächlich von der Adventitia ausgeht und sich von den äußeren Schichten der Gefäßwand in den Plaquekern hinein entwickelt. Die Abbildungen 2–4 zeigen Beispiel-Bilder zu den verschiedenen Graden. Bei unterschiedlichen Meinungen der Untersucher wurde ein Konsensus gefunden.

Statistisch prüften wir anhand der qualitativen Bildanalyse unsere These, dass eine Grad 2 - Vaskularisierung häufiger in symptomatischen als in asymptomatischen Plaques vorkommt, bzw. häufiger in progredienten als in nicht progredienten.

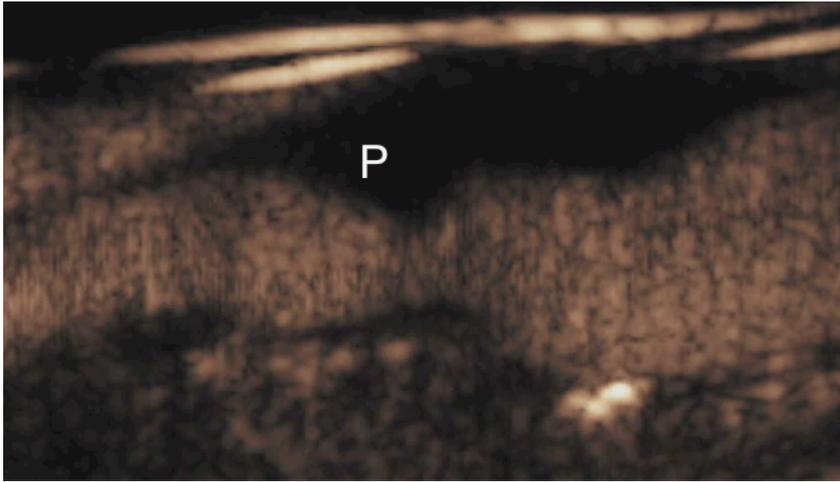


Abbildung 2: Vaskularisierung Grad 0: Keine Bubbles in der Plaque (P) sichtbar

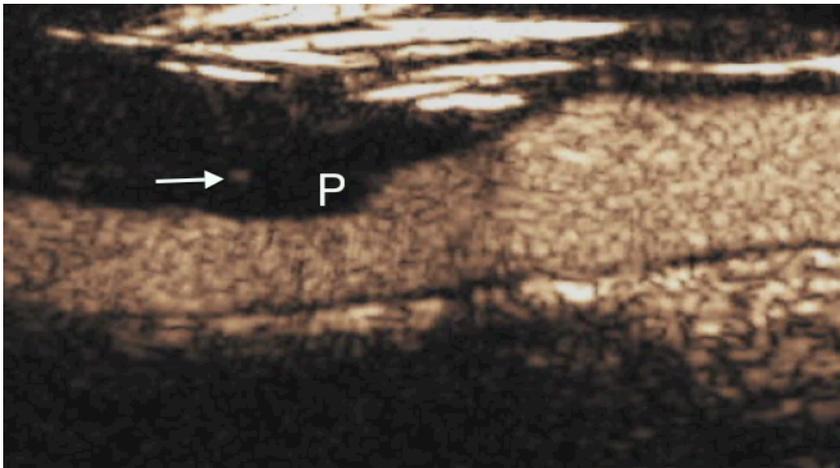


Abbildung 3: Vaskularisierung Grad 1: Plaque (P) mit einzelner Bubble (→)

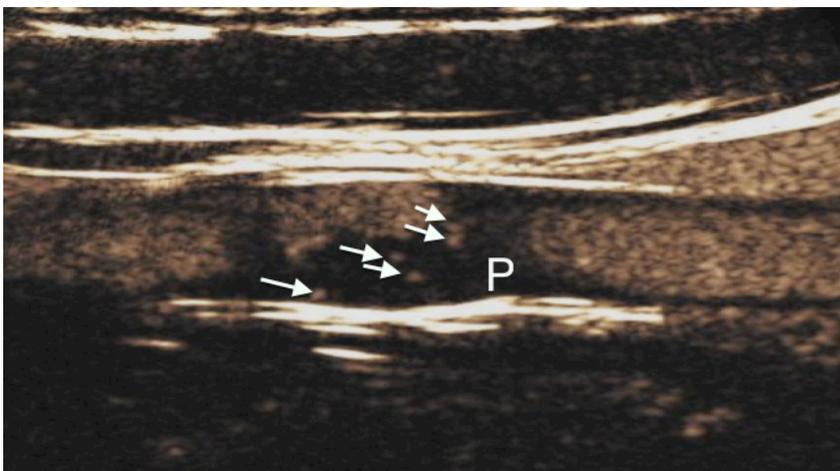


Abbildung 4: Vaskularisierung Grad 2: Ausgedehnter KM-Nachweis(→) in der gesamten Plaque (P)

3.6.2 Quantitative Bildanalyse mit Qontrast4®

Zusätzlich wurde eine quantitative Bewertung der Perfusion innerhalb einer atherosklerotischen Läsion durchgeführt, indem die relative Signalintensität in Prozent (%) im Vergleich zum Gefäßlumen bestimmt wurde. Hierfür wurde das Computer-Programm Qontrast4® der Firma Bracco verwendet, mit dem eine Analyse der Plaqueperfusion anhand von zeitlichen Veränderungen der Videointensität durchgeführt wurde. Höhere Intensitäten entstehen vor allem durch USKM-Signale, können jedoch auch Folge von Überstrahlungsartefakten sein. Zunächst wurde ein gut zu beurteilender Videoausschnitt mit einer standardisierten Länge von 10 ms ausgewählt. In diesem erfolgte die Festlegung einer geeigneten ROI (region of interest) in Plaque und Gefäß (**Abbildung 5**): zunächst wurde die Plaque, unter Ausschluss kalzifizierter Anteile und Überstrahlungsartefakten, markiert; daraufhin wurde eine annähernd flächenidentische ROI im Gefäßlumen ausgewählt. Kalzifizierte Anteile der Plaque und Überstrahlungsartefakte wurden vor Festlegung der ROI im B-Bild und KM-Ultraschallbild identifiziert (Abbildung 6). Die Software berechnete Zeit-Intensitätskurven auf einer Pixel per Pixel-Basis, welche dann als farbkodierte parametrische Karten dargestellt wurden. Neben der durchschnittlichen Signalintensität wurde auch die maximale Signalintensität und das regionale Blutvolumen [regional blood volume (RBV)], das annähernd der mittleren Signalintensität entspricht, erfasst. Der entscheidende Wert für die Auswertung war jedoch die durchschnittliche Signalintensität (Si mean), welche jeweils für die ROI im Plaque bzw. im Gefäßlumen durch die Software über die Zeit des verwendeten Videoausschnitts (10 ms) gemittelt berechnet wurde. Diese Werte setzten wir ins Verhältnis zueinander: wir teilten die in der Plaque gemessenen durchschnittliche Signalintensität durch die im Gefäßlumen gemessene Signalintensität (welche wir als 100 % festsetzten), um einen relativen Wert der Plaqueintensität zu erhalten. Diesen bezeichneten wir als Plaque/Vessel-Ratio (PVR). **Abbildung 7** zeigt eine quantitative Bildanalyse mit Qontrast4®.

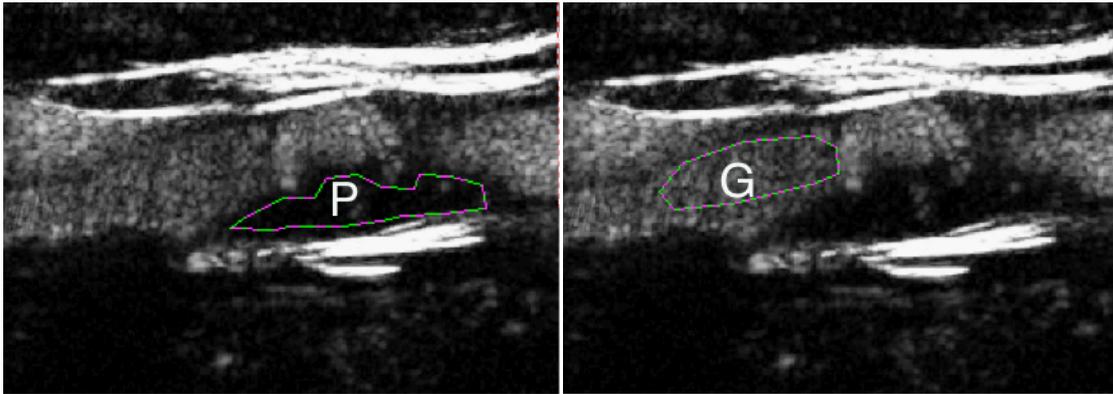


Abbildung 5: Festlegung einer geeigneten ROI in Plaque (P) und Gefäß (G).

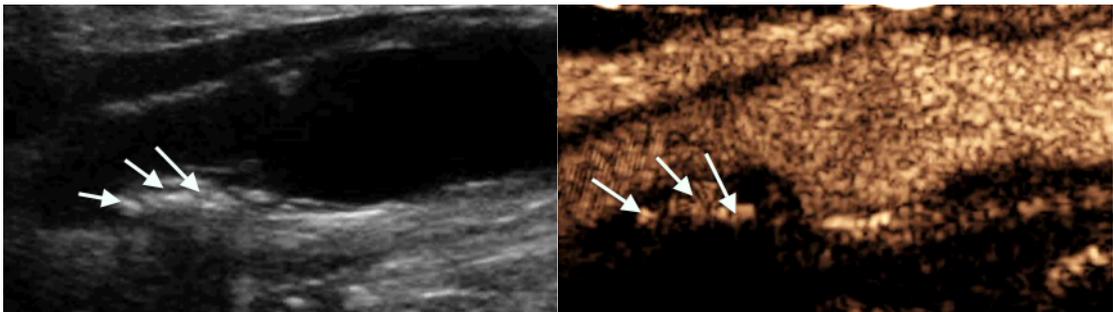


Abbildung 6: Identifizierung kalzifizierter Areale(→) mittels B-Bild (links) und KM-Ultraschallbild (rechts).

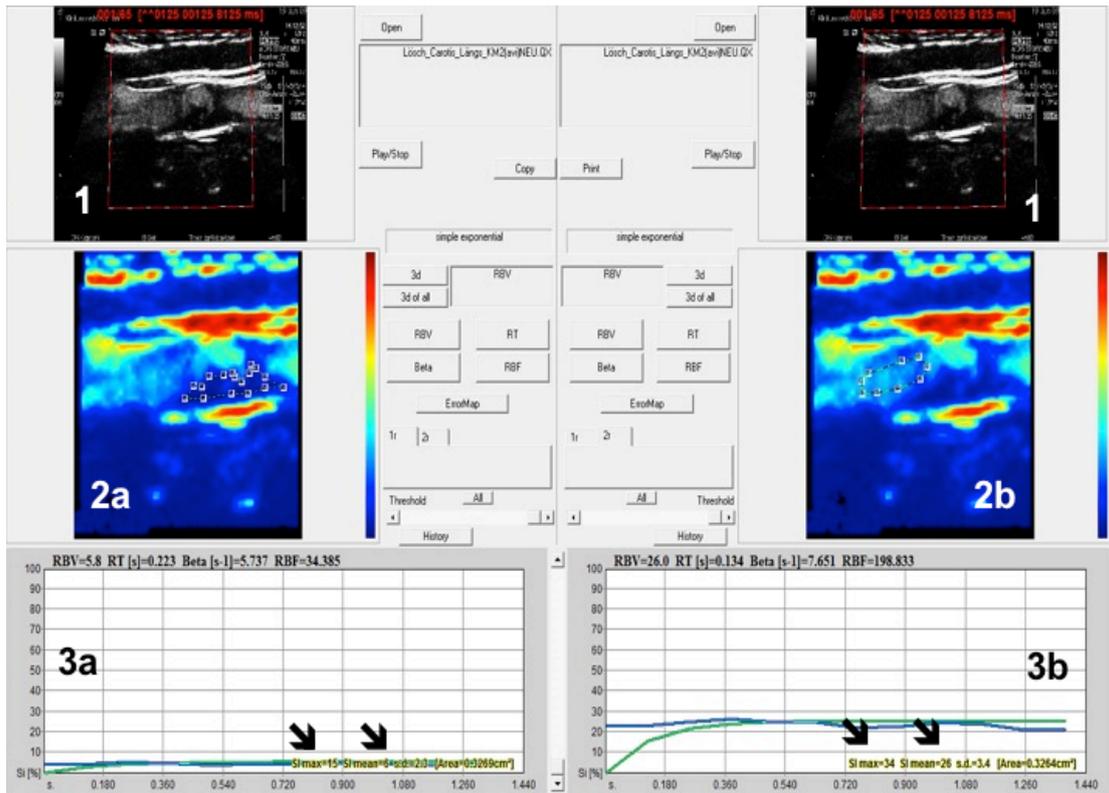


Abbildung 7: Quantitative Bildanalyse mit Qontrast4@: **1:** verwendeter Videoausschnitt / **2:** Festlegung der ROI in farbkodierter parametrischer Karte in der Plaque(**2a**) und im Gefäß(**2b**) / **3:** Zeit-Intensitätskurven der Plaque (**3a**) und des Gefäßes (**3b**) / \blacktriangledown : Si max = maximale Signalintensität, Si mean = durchschnittliche Signalintensität

3.7 Datenbank

Die von den 42 Patienten erhobenen Daten wurden zunächst in einer Excel-Datenbank erfasst. Neben den Daten der qualitativen und quantitativen Bildanalyse wurden Patientenmerkmale, kardiovaskuläre Risikofaktoren und eingenommenen Medikamente aufgenommen und so für jeden Teilnehmer insgesamt 99 Variablen aufgezeichnet. Tabelle 2 gibt einen Überblick über die wichtigsten erhobenen Daten.

Tabelle 2: Erhobene Daten

Patientendaten	Name, Geschlecht, Geburtsdatum, Alter, Größe, Gewicht, Untersuchungsdatum
Stenose	Stenosegrad, Symptomatik, Follow-up, Progredienz, Vmax, Seite
Vaskuläre Vorerkrankungen	Z.n. zerebralem Infarkt, Z.n. TIA, Koronare Herzkrankheit, periphere arterielle Verschlusskrankheit, Vorhofflimmern
Zerebrovaskuläre Risikofaktoren	Arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Familiäre Disposition, Adipositas, Nikotinabusus, Hyperlipidämie
Medikamente	Antihypertensive & Antidiabetische Medikation, Statine, Thrombozytenaggregationshemmer, Hemmer der plasmatischen Blutgerinnung, Insulin

3.8 Statistische Auswertung

Die statistischen Analysen der Daten erfolgten mittels PASW Statistics18 Software (SPSS Inc., Chicago, Illinois). Zur Darstellung von metrischen Daten wurden Histogramme verwendet. Normalverteilte Daten wurden als Mittelwert mit Standardabweichung angegeben. Die Vergleiche der Plaqueintensität als Zeichen der Mikrogefäßdichte zwischen den einzelnen Gruppen erfolgten durch den Mann-Whitney-U-Test. Für Vergleiche von kategorialen Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test durchgeführt, wenn notwendig der exakte Test nach Fisher. Ein p-Wert von <0.05 wurde als signifikant gewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Patientendemographie

4.1.1 Altersverteilung und Verteilung der zerebrovaskulären Risikofaktoren

In die Studie wurden insgesamt 42 Patienten eingeschlossen, davon waren 30 (71,4%) Männer. Keiner der Patienten zeigte eine Nebenwirkung auf das Ultraschallkontrastmittel. Das durchschnittliche Alter war 67 Jahre (± 8 Jahre), wie Abbildung 8 deutlich macht. Alle Studienpatienten zeigten unabhängig vom Geschlecht und klinischer Symptomatik ein erhöhtes zerebrovaskuläres Risikoprofil mit durchschnittlich fünf Risikofaktoren (Tabelle 3).

Tabelle 3: Patientendemographie

(Werte beziehen sich auf die Anzahl von Patienten, in Klammern die jeweiligen Prozentzahlen, mit Ausnahme der Zeile „Alter“: Zahl gibt durchschnittliches Alter \pm SD an)

	Gesamt (n=42)	Asymptomatisch (n=27)	Symptomatisch (n=15)	p
Alter (Jahre \pm SD)	67 \pm 8	67 \pm 9	67 \pm 7	0.8
Männlich	30 (71%)	20 (74%)	10 (67%)	0.6
Hypertonie	39 (93%)	24 (89%)	15 (100%)	0.08
Fettstoffwechselstörung	38 (90%)	24 (89%)	14 (93%)	0.6
Diabetes mellitus	12 (29%)	7 (26%)	5 (33%)	0.6
Nikotinabusus	38 (90%)	24 (89%)	14 (93%)	0.5
Familiäre Disposition	13 (31%)	10 (37%)	3 (20%)	0.2
Adipositas	30 (71%)	21 (78%)	9 (60%)	0.3

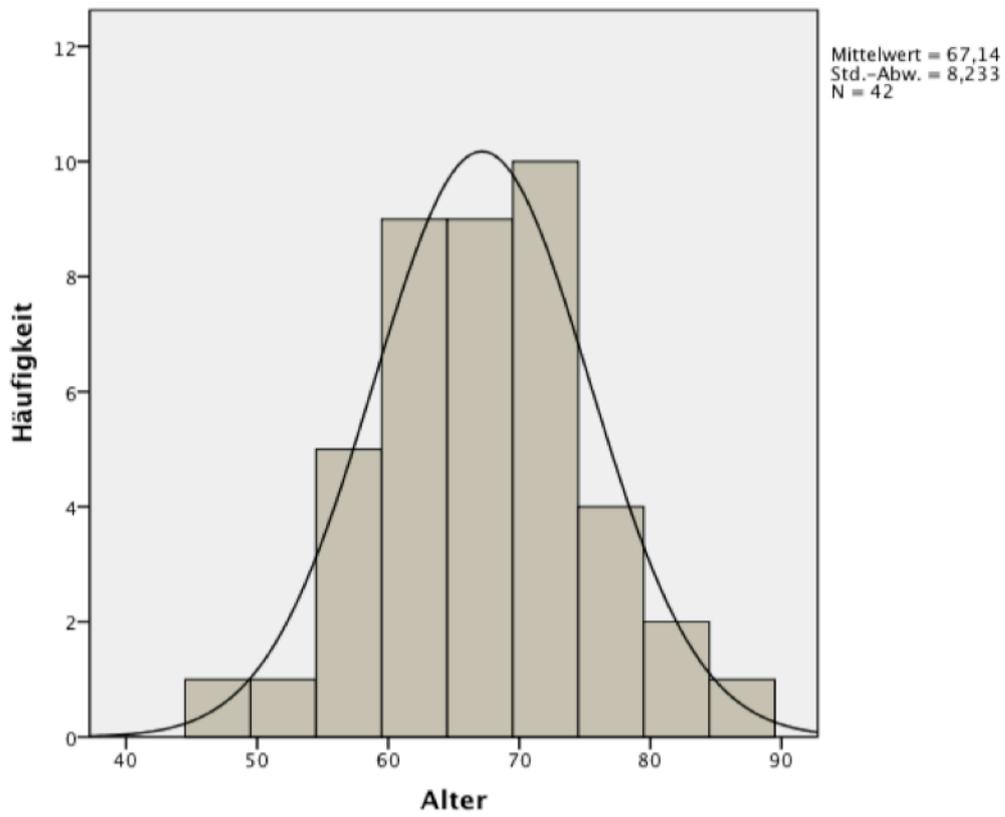


Abbildung 8: Altersverteilung

4.2 Klinische Symptomatik und Progredienz

Von den 42 Studienpatienten wiesen 15 (35,7%) eine symptomatische Plaque auf. Von den 31 Patienten, die in einer Follow-up-Untersuchung reevaluiert wurden zeigten 8 (26%) eine Progredienz der Stenose.

4.3 Verteilung von Stenosegraden

Wie in Tabelle 4 zu sehen ist, waren die Stenosegrade von asymptomatischen und symptomatischen Patienten sehr ähnlich verteilt, es zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Ein Patient hatte eine höchstgradige Stenose (80%), kein Patient hatte eine Occlusion. Auch der Vergleich zwischen progredienten und nicht-progredienten Stenosen zeigte keinen signifikanten Unterschied.

4.4 Qualitative Bildanalyse: Plaqueechogenität und Plaqueneovaskularisierung

Bei 26 (62%) Studienteilnehmern wurde die untersuchte Plaque als gemischt echogen (Klasse II oder Klasse III) eingestuft. Von den symptomatischen Plaques waren prozentual mehr echoarm bzw. vorwiegend echoarm (Klasse I oder Klasse II) als bei den asymptomatischen Plaques (Abbildung 9). Ausgeprägte Kalzifikationen mit Schallschatten (Klasse V) traten bei 6 (22%) der asymptomatischen Plaques tendentiell häufiger auf als bei symptomatischen Patienten (2 / 13%) auf ($p=0.69$), siehe Abbildung 10.

Bei der qualitativen Beurteilung von Plaqueneovaskularisierungen zeigten sich in 13 (86%) symptomatischen Plaques prozentual häufiger Vaskularisierungen (Grad 1 oder Grad 2) als in asymptomatischen Plaques, bei denen in 18 Fällen (67%) eine Vaskularisierung vorlag (Abbildung 11). Statistisch war der Unterschied jedoch nicht signifikant ($p=0.27$). Bei dem Vergleich der Häufigkeiten von Vaskularisierungen zwischen progredienten

(25%) und nicht-progredienten Plaques (34,8%) ließ sich kein Unterschied nachweisen ($p=1.0$).

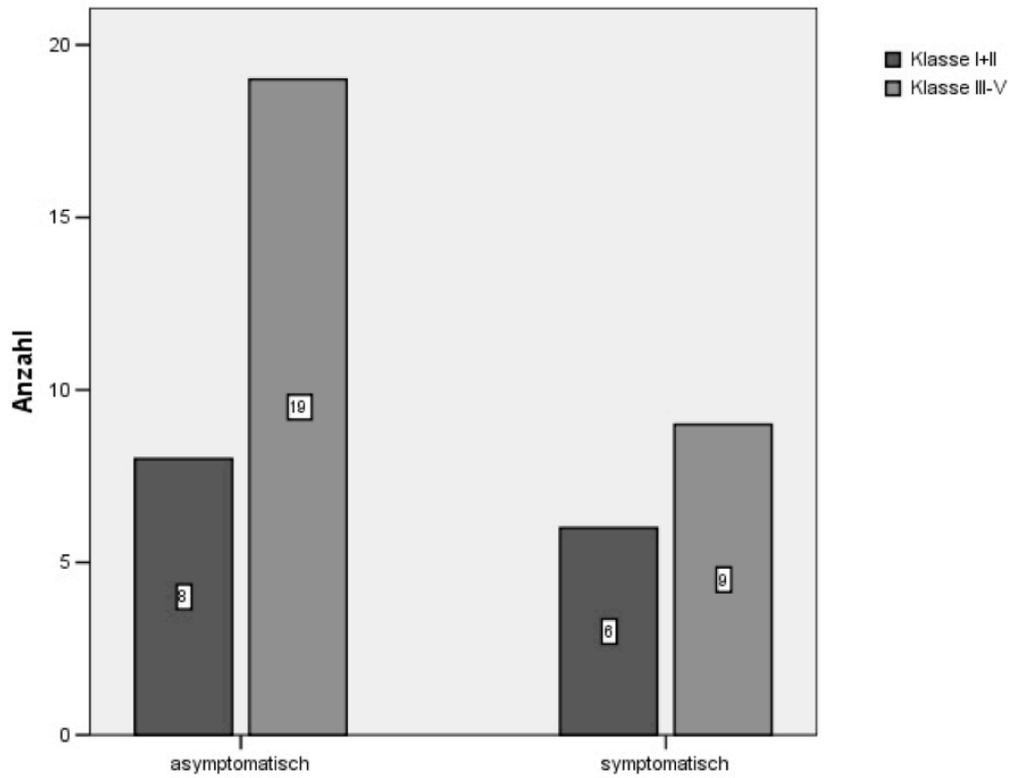


Abbildung 9: Plaqueechogenität asymptomatischer und symptomatischer Plaques im Vergleich

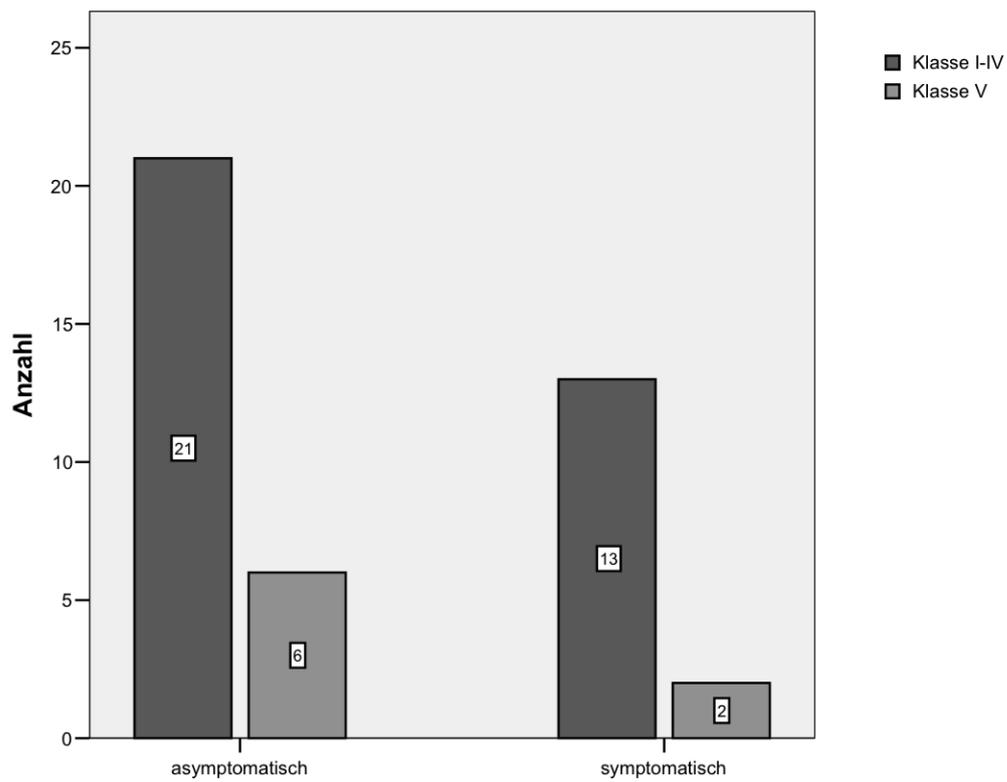


Abbildung 10: Verteilung kalzifizierter Plaques auf asymptomatische und symptomatische Plaques

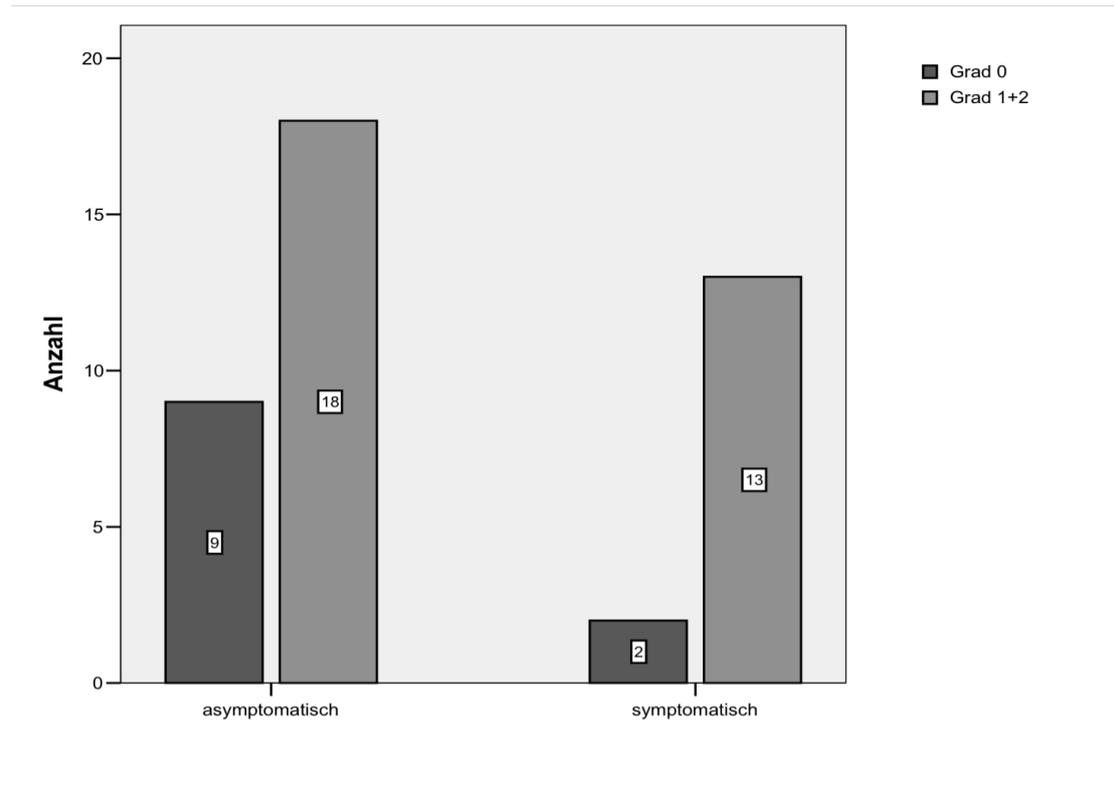


Abbildung 11: Plaqueneovaskularisierung asymptomatischer und symptomatischer Plaques im Vergleich

Tabelle 4: Verteilung von Stenosegraden, Plaqueechogenität und Plaqueneovaskularisierung (Werte beziehen sich auf die Anzahl von Patienten, in Klammern die jeweiligen Prozentzahlen)

	Gesamt (n = 42)	Asympt. (n = 27)	Sympt. (n = 15)	p-Werte
Stenosegrad				
Geringgradig(< 50%)	32 (76)	21 (78)	11 (73)	p=0.76
Mittel- bis hochgradig (50-69%)	6 (14)	4 (15)	2 (13)	
Hochgradig (≥ 70%)	3 (7)	2 (7.4)	1 (7)	
Höchstgradig (≥ 80%)	1 (2)	0 (0)	1 (7)	
Plaqueechogenität				
Klasse I	1 (2)	0 (0)	1 (7)	I+II vs. III,IV,V p=0.52
Klasse II	13 (31)	8 (30)	5 (33)	
Klasse III	13 (31)	7 (26)	6 (40)	
Klasse IV	7 (17)	6 (22)	1 (7)	I-IV vs. V p=0.69
Klasse V	8 (19)	6 (22)	2 (13)	
Plaqueneovaskularisierung				
Grad 0	11 (26)	9 (33)	2 (13)	0 vs 1+2 p=0.27
Grad 1	5 (12)	3 (11)	2 (13)	
Grad 2	26 (62)	15 (56)	11 (73)	

4.5 Relative Plaqueintensität – symptomatische und asymptomatische bzw. fortschreitende und nicht fortschreitende Plaques im Vergleich

Wie bei dieser Methode zu erwarten war, zeigten sich im Gefäßlumen immer höhere Intensitäten als in den Plaques. Die relative Plaqueintensität (PVR) betrug durchschnittlich 22%. In asymptomatischen Plaques wurden mit 23% kein relevanter Unterschied gegenüber symptomatischen Plaques gemessen, in denen eine durchschnittliche PVR von 21% vorlag ($p=0.58$). Ebenso verhielt es sich zwischen progredienten und nicht progredienten Plaques (17% vs. 22%, $p=0.28$).

4.6 Vergleich der relativen Plaqueintensität (PVR) mit der Plaqueechogenität

Beim Vergleich der relativen Plaqueintensität (PVR) der verschiedenen Klassen von Plaqueechogenitäten ließ sich keine eindeutige Tendenz erkennen (Tabelle 5). Die durchschnittliche PVR wird von Klasse I (17%) bis Klasse IV (31%) größer, in den kalzifizierten Plaques (Klasse V) ist die PVR dann im Durchschnitt wieder etwas niedriger (24%), siehe auch Abbildung 12. Die Fallzahlen sind jedoch zu klein um statistisch signifikante Unterschiede auszumachen.

Tabelle 5: Vergleich zwischen relativer Plaqueintensität und Plaqueechogenität

Morphologie	I (n=1)	II (n=13)	III (n=13)	IV (n=7)	V (n=8)	p
Plaque/Vessel-Ratio						
Mittlere Intensität	17%	19%	22%	31%	24%	0.31

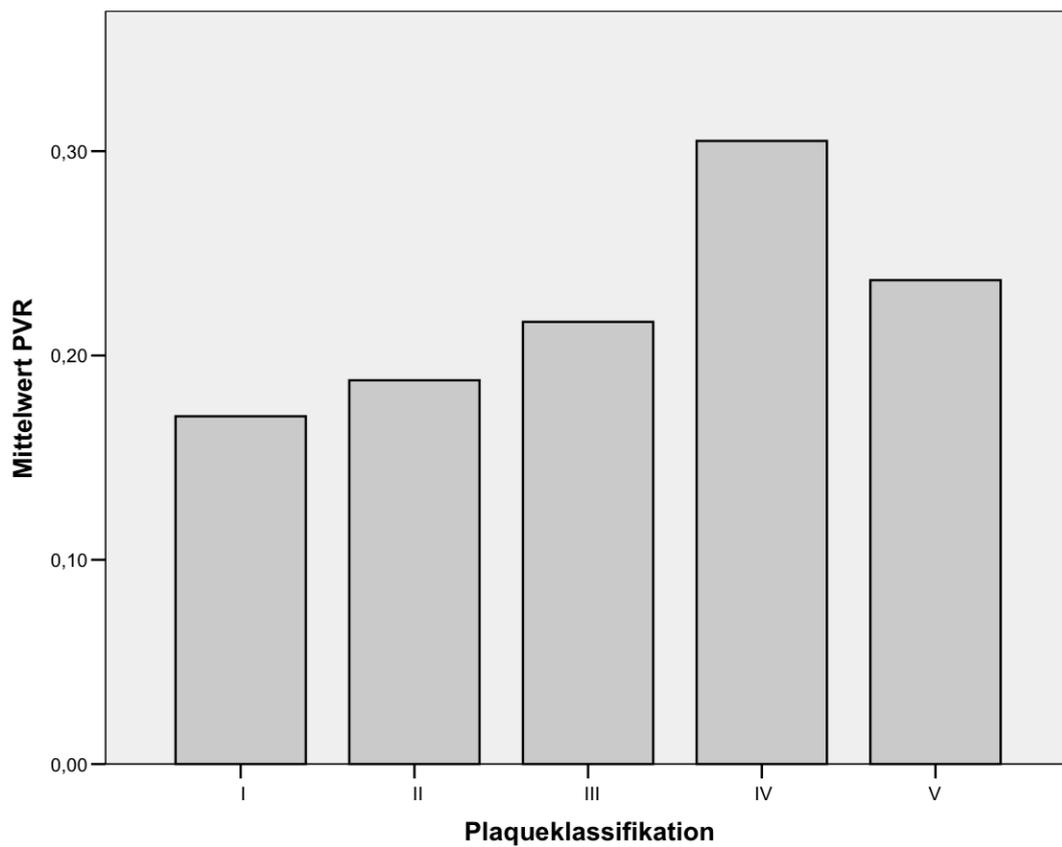


Abbildung 12: Durchschnittliche PVR der Plaquesklassen

4.7 Vergleich der relativen Plaqueintensität mit der visuellen Klassifizierung

Vergleicht man die durchschnittlichen PVR-Werte der Plaques, unterteilt nach ihren Vaskularisierungsgraden, wird deutlich, dass Plaques mit ausgeprägter Vaskularisierung (Grad 2) mit durchschnittlich 26% deutlich höhere Werte aufweisen als Plaques der Grade 0 und 1, mit durchschnittlich 17% ($p=0.021$), siehe dazu auch **Tabelle 6**. Dieser Unterschied wird auch in **Abbildung 13** deutlich sichtbar dargestellt.

Tabelle 6: Vergleich zwischen relativer Plaqueintensität und Neovaskularisierung

Neovaskularisierung	Grad 0	Grad 1	Grad 2
Plaque/Vessel-Ratio			
Mittlere Intensität	17%	16%	26%

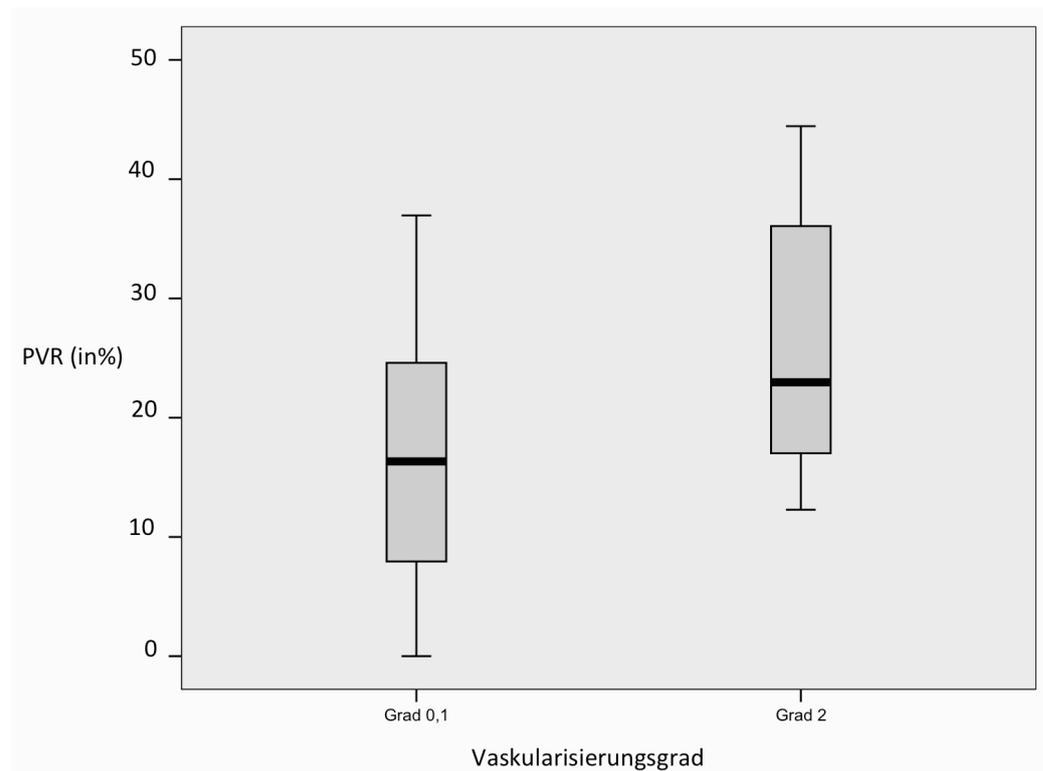


Abbildung 13: Durchschnittliche PVR der Vaskularisierungsgrade im Vergleich

5 Diskussion

5.1 Die wichtigsten Erkenntnisse im Überblick

1. Die Darstellbarkeit von Plaqueneovaskularisierungen in der ACI mithilfe von Kontrastmittel-verstärktem Ultraschall gelang bei größeren Plaques gut (Abbildung 4). Man konnte deutliche USKM-Signale entlang von Neovaskularisierungen erkennen.
2. In der qualitativen Bildanalyse unseres Patientenkollektivs wiesen symptomatischen Plaques, mit 86% tendenziell häufiger Vaskularisierungen (Grad 1 oder Grad 2) auf als asymptomatische Plaques, bei denen in 18 Fällen (67%) eine Vaskularisierung vorlag. Statistisch war der Unterschied jedoch nicht signifikant ($p=0.27$).
3. Die Ergebnisse des Vergleichs zwischen relativer Plaqueintensität und der visuellen Klassifizierung zeigten, dass Plaques mit einer Grad-2-Vaskularisierung im Durchschnitt mit 26% eine signifikant höhere PVR hatten als Plaques ohne ausgeprägte Vaskularisation (Grad 0/1) mit 17% ($p=0.021$).
4. Die verwendete softwarebasierte Quantifizierung erlaubt unserer Ansicht nach keine präzise und reliable Beurteilung der Gefäßdicke einer Plaque, siehe dazu Abschnitt 5.2.
5. Bei dem Vergleich von asymptomatischen und symptomatischen Plaques in der rein quantitativen Bildanalyse mithilfe des Computer-Programmes Qontrast4® zeigte sich kein signifikanter Unterschied.

5.2 Probleme und Beschränkungen der qualitativen bzw. der quantitativen Bildanalyse

Die insgesamt relativ kleine Stichprobengröße stellt bei der Bewertung beider Arten der Bildanalyse eine klare Beschränkung dar: Die Ergebnisse sind unserer Ansicht nach nur bedingt repräsentativ für Vergleiche zwischen den Gruppen symptomatische gegenüber asymptomatischen Patienten, bzw.

progrediente gegenüber nicht-progredienten Stenosen. Man brauchte hierzu eine größere Anzahl an Fällen für eine statistisch relevante Beurteilung. Ein weiteres gemeinsames Problem besteht unserer Ansicht nach darin, dass die Plaquevaskularisierung bzw. die berechneten -intensitäten, nur für große Plaques, die ins Gefäßlumen hineinreichen, aussagekräftig beurteilt werden können. Bei langstreckigen, flachen Stenosen können keine verlässlichen Aussagen bezüglich einer eventuellen Neovaskularisierung getroffen werden. Hinzu kommt, dass man mit den verwendeten Ultraschalltechniken immer nur einen relativ kleinen Anteil (2D-Schnittbild) einer Plaque beurteilen kann, welcher nicht unbedingt repräsentativ für die gesamte Plaque ist. 3D-Ultraschall-Modi könnten in Zukunft aussagekräftigere Ergebnisse liefern. Ausserdem beeinflussen sowohl atmungs- als auch pulswellenbedingte Artefakte, welche nur teilweise durch eine softwarebasierte Kompensation aufgehoben werden können, die absoluten Werte. Besonders in der quantitativen Bildanalyse wird das Problem relevant, dass eine Signalunterdrückung von starken Reflektoren wie Kalzifizierungen bisher nicht möglich ist: Diese stationären Plaquebestandteile leuchten im Kontrastmittelmodus auf, obwohl sie kein Kontrastmittel aufnehmen, was zu der falschen Annahme führen kann, dass diese Strukturen vaskularisiert seien. Es wurde versucht dieses Problem methodisch zu beheben, indem bei der Festlegung der ROI in der Plaque kalzifizierte Anteile ausgeschlossen wurden (durch den direkten Vergleich der B-Mode Bilder). Dies führte jedoch dazu, dass die ROI, welche softwarebasiert ausgewertet wurde, noch kleiner und damit noch weniger repräsentativ für die gesamte Plaquevaskularisierung wurde. Um die Vergleichbarkeit verschiedener Patienten zu gewährleisten und die eigenen Quantifizierungsmethoden zu überprüfen, muss immer auch ein Vergleich zwischen Plaqueintensität und der Intensität des Gefäßlumens gemacht werden, da der Einstrom des USKM in das Gefäßssystem variieren kann, z.B. aufgrund der verabreichten Dosis oder unterschiedlicher Kreislaufzeiten, was folglich die Plaqueperfusion beeinflusst. Die im Gefäßlumen gemessene Intensität, während USKM durchfließt, sollte immer größer sein als die im Plaque gemessene Intensität, da nicht zu erwarten ist, dass der Blutfluss durch eine Plaque, selbst bei ausgedehnter Neovaskularisierung, das Volumen an Blut im Gefäßlumen übertrifft. Falls

jedoch kalzifizierte Anteile von Läsionen mit einem starken Signal eingeschlossen werden, kann das schnell zu falsch-hohen Intensitäten bei der Quantifizierung führen, die weit über den im Gefäßlumen gemessenen Intensitäten liegen. Durch verbesserte Ultraschall-Modi bzw. Software-Algorithmen könnte eine Signalunterdrückung von starken statischen Reflektoren, wie Kalzifizierungen, erreicht werden, sodass tatsächlich nur USKM-Signale in die Quantifizierung mit eingerechnet werden. Das von uns verwendete Quantifizierungsprogramm Qontrast4® ist unserer Meinung nach nicht für Untersuchungen von so kleinen Gebieten wie ACI-Plaques geeignet, da kleinste Veränderungen der ROI zu stark veränderten Ergebnissen führen können.

5.3 Einordnung in die aktuelle Literatur

In ähnlichen Studien wurden verschiedene Methoden der Bildanalyse verwendet: von rein deskriptiv-visueller Beurteilung (Staub et al., 2010; Vicenzini et al., 2007) über statische Graustufenanalysen für die Beurteilung der Plaqueechogenität (Owen DR, 2010; Papaioannou et al., 2009) bis hin zu der Beurteilung von Einströmungscharakteristiken. Die Beurteilung der Anflutungscharakteristik des USKM in Plaques der ACI ist unserer Ansicht nach, anders als z.B. bei Ultraschalluntersuchungen der Leber, keine nützliche Methode aufgrund der vergleichbar geringen Plaquesdurchmesser und der damit verbundenen extrem kurzen Anflutungszeit. Wir analysierten die Plaquevaskularisierung ebenfalls deskriptiv-visuell, führten jedoch zusätzlich mit Hilfe des Computerprogrammes Qontrast4® eine softwarebasierte Quantifizierung durch. Wir fanden, wie auch schon frühere Untersuchungen (Vicenzini et al., 2007) Neovaskularisierungen auch in niedrig bis mittelgradigen Stenosen und in klinisch asymptomatischen Patienten und nicht nur in instabilen Plaques mit hochgradigen Stenosen. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass schon in geringgradigen Stenosen Umbauvorgänge stattfinden, welche jedoch nicht unbedingt mit einer häufig vermuteten Instabilität assoziiert sein müssen. Vielmehr legen die Ergebnisse

unserer Studie die Vermutung nahe, dass eine Vaskularisierung durchaus sinnvoll, vielleicht sogar notwendig für stabilisierende Reparaturvorgänge ist. Das lässt bei der aktuellen Datenlage zur Korrelation zwischen Plaquevaskularisierung und Vulnerabilität auch die Frage aufkommen, ob ein gewisser Publikationsbias vorliegen könnte. Unser Ansatz, die Neovaskularisierung softwarebasiert zu quantifizieren um die Vergleichbarkeit von Daten zu verbessern und letztlich eine genauere Prognose- bzw. Indikationsstellung zur Carotis-TEA oder zum Carotisstenting zu gewährleisten, erbrachte in unserer Studie keine neuen Erkenntnisse. Möglicherweise können verbesserte Softwarealgorithmen bzw. 3D-Ultraschall-Modi in Zukunft aussagekräftigere Daten liefern. Unsere Methode der Quantifizierung mit Qontrast® ist dafür ungeeignet.

6 Zusammenfassung

Die in der Neurologie etablierten bildgebenden Verfahren wie B-Mode Ultraschall, CT, MRT oder Angiographie erlauben nur begrenzte Aussagen zur Stabilität von Plaques der Karotiden als Prädiktor für zerebrovaskuläre Infarkte. Das relativ neue Verfahren der Kontrastmittelsonographie hat sich schon in vielen anderen Fachrichtungen etabliert, da es eine sehr sichere Detektion von Mikrogefäßen und Neovaskularisierungen in vivo ermöglicht. Wie in bisher wenigen Studien gezeigt werden konnte, stellt die kontrastmittelverstärkte Sonographie eine elegante Möglichkeit dar, Neovaskularisationen darzustellen (Clevvert et al., 2011; Feinstein, 2006; Magnoni M, 2009; Papaioannou et al., 2009; Vicenzini, 2009). Im Vergleich zu vorherigen Studien führten wir neben einer rein visuellen Quantifizierung der Neovaskularisierung, zusätzlich eine softwarebasierte Quantifizierung durch, von der wir uns neue Erkenntnisse, bzw. besser vergleichbare Werte erhofften, z.B. für die Indikationsstellung ob ein Patient konservativ oder operativ behandelt werden sollte. Die softwarebasierte Quantifizierung unserer Studie ergab, aufgrund diverser Beschränkungen der Methode, keine für die Patientenbehandlung relevanten Ergebnisse. Jedoch stellen einige Ergebnisse unserer Studie die oft postulierte Korrelation zwischen Plaquevaskularisierung und Plaquevulnerabilität in Frage und lassen bei derzeitiger Datenlage einen Publikationsbias zumindest möglich erscheinen.

7 Anhang

7.1 Literaturverzeichnis

- ADAMS, H. P., JR., BENDIXEN, B. H., KAPPELLE, L. J., BILLER, J., LOVE, B. B., GORDON, D. L. & MARSH, E. E., 3RD 1993. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 24, 35-41.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION 2002. Screening for Diabetes. *Diabetes Care* 2002, 25, 21S-24.
- ANDERSEN, K. K., OLSEN, T. S., DEHLENDORFF, C. & KAMMERSGAARD, L. P. 2009. Hemorrhagic and ischemic strokes compared: stroke severity, mortality, and risk factors. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 40, 2068-72.
- ARNING, C., WIDDER, B., VON REUTERN, G. M., STIEGLER, H., GÖRTLER, M. 2010. Revision of DEGUM Ultrasound Criteria for Grading Internal Carotid Artery Stenoses and Transfer to NASCET Measurement. *Ultraschall in Med*, 31, 251-257.
- BARNETT, H. J., TAYLOR, D. W., ELIASZIW, M., FOX, A.J., FERGUSON, G.G., HAYNES, R. B., RANKIN, R. N., CLAGETT, G. P., HACHINSKI, V. C., SACKETT, D. L., THORPE, K. E., MELDRUM, H. E, SPENCE, J.D. 1998. Benefit of carotid endarterectomy in patients with symptomatic moderate or severe stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. *N Engl J Med*, 339, 1415-25.
- BASSIOUNY, H. S., SAKAGUCHI, Y., MIKUCKI, S. A., MCKINSEY, J.F., PIANO, G., GEWERTZ, B.L., GLAGOV, S. 1997. Juxtalumenal location of plaque necrosis and neof ormation in symptomatic carotid stenosis. *J Vasc Surg*, 26, 285-594.
- CAI, J. M., HATSUKAMI, T. S., FERGUSON, M. S., SMALL, R., POLISSAR, N. L. & YUAN, C. 2002. Classification of human carotid atherosclerotic lesions with in vivo multicontrast magnetic resonance imaging. *Circulation*, 106, 1368-73.
- CARR S, F. A., PEARCE WH, VIRMANI R, YAO JS 1996. Atherosclerotic plaque rupture in symptomatic carotid artery stenosis. *J Vasc Surg.*, 23, 755-765; discussion 765-756.
- CARROLL, B. A., TURNER, R. J., TICKNER, E. G., BOYLE, D. B. & YOUNG, S. W. 1980. Gelatin encapsulated nitrogen microbubbles as ultrasonic contrast agents. *Investigative radiology*, 15, 260-6.
- CHU, B., HATSUKAMI, T. S., POLISSAR, N. L., ZHAO, X. Q., KRAISS, L. W., PARKER, D. L., WATERTON, J. C., RAICHLIN, J. S., HAMAR, W. & YUAN, C. 2004. Determination of carotid artery atherosclerotic lesion type and distribution in hypercholesterolemic patients with moderate carotid stenosis using noninvasive magnetic resonance imaging. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 35, 2444-8.

- CLEVERT, D. A., HELCK, A., PAPROTTKA, P. M., REISER, M. F. & JUNG, E. M. 2011. [Contrast-enhanced ultrasound imaging of the carotid artery]. *Der Radiologe*, 51, 483-9.
- COHNEN, M., WITTSACK, H. J., ASSADI, S., MUSKALLA, K., RINGELSTEIN, A., POLL, L. W., SALEH, A. & MODDER, U. 2006. Radiation exposure of patients in comprehensive computed tomography of the head in acute stroke. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 27, 1741-5.
- COLA, C., CLEMENTI, E., BIONDI-ZOCCAI, G., SANGIORGI, G. 2007. From carotid plaque biology to serologic markers of vulnerability to predict the risk of cerebrovascular events. *Acta Chir Belg.*, 107, 129-142.
- COLI, S., MAGNONI, M., SANGIORGI, G., MARROCCO-TRISCHITTA, M. M., MELISURGO, G., MAURIELLO, A., SPAGNOLI, L., CHIESA, R., CIANFLONE, D. & MASERI, A. 2008. Contrast-Enhanced Ultrasound Imaging of Intraplaque Neovascularization in Carotid Arteries: Correlation With Histology and Plaque Echogenicity. *JACC*, 52, 223-230.
- CORREAS, J. M. & QUAY, S. D. 1996. EchoGen emulsion: a new ultrasound contrast agent based on phase shift colloids. *Clinical radiology*, 51 Suppl 1, 11-4.
- DE BRAY, J. M., BAUD, J. M., DAUZAT, M. 1997. Consensus concerning the morphology and the risk of carotid plaques. *Cerebrovasc Dis*, 7, 289-96.
- DIETRICH, C. F. 2008. *Endosonographie - Lehrbuch und Atlas des endoskopischen Ultraschalls*, Stuttgart, Thieme Verlag.
- DONNAN, G. A., FISHER, M., MACLEOD, M. & DAVIS, S. M. 2008. Stroke. *Lancet*, 371, 1612-23.
- DOYLE, B., CAPLICE, N. 2007. Plaque neovascularization and antiangiogenic therapy for atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*, 49, 2073-2080.
- ELIASZIW, M., RANKIN, R. N., FOX, A. J., HAYNES, R. B. & BARNETT, H. J. 1995. Accuracy and prognostic consequences of ultrasonography in identifying severe carotid artery stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) Group. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 26, 1747-52.
- EUROPEAN CAROTID SURGERY TRIALISTS' COLLABORATIVE GROUP 1998. Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet*, 351, 1379-1387.
- FEIGIN, V. L. 2005. Stroke epidemiology in the developing world. *Lancet*, 365, 2160-1.
- FEINSTEIN, S. B. 2006. Contrast Ultrasound Imaging of the Carotid Artery Vasa Vasorum and Atherosclerotic Plaque Neovascularization. *JACC*, 48, 236-243.
- GEIRINGER, E. 1951. Intimal vascularisation and atherosclerosis. Histologic characteristics of carotid atherosclerotic plaque. *J Pathol Bacteriol*, 63, 201-211.
- GOLDBERG, B. B., LIU, J. B. & FORSBERG, F. 1994. Ultrasound contrast agents: a review. *Ultrasound in medicine & biology*, 20, 319-33.
- GOLLEDGE J, G. R., DAVIES AH 2000. The symptomatic carotid plaque. *Stroke*, 31, 774-781.
- GRAMIAK, R. & SHAH, P. M. 1968. Echocardiography of the aortic root. *Investigative radiology*, 3, 356-66.

- GROSS, M. 2007. *Sonographie: Schritt für Schritt zur Diagnose*, München, Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag.
- HUCK, K. 2005. *Kursbuch Doppler und Duplexsonographie - Nach den Richtlinien der DEGUM und der KBV*, Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- INCALZI, R. A., GEMMA, A., LANDI, F. & CARBONIN, P. U. 1998. Endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis. *The Lancet*, 352, 143-143.
- JOHNSTON, D. C., CHAPMAN, K. M. & GOLDSTEIN, L. B. 2001. Low rate of complications of cerebral angiography in routine clinical practice. *Neurology*, 57, 2012-4.
- LAW, M., WALD, N., STAMPFER, M., RIMM, E., BARKER, D. J. P., MACKENBACH, J. P., KUNST, A. E. 1999. Why heart disease mortality is low in France: the time lag explanation. *BMJ*, 318, 1471-80.
- LESTER, D. & GREENBERG, L. A. 1950. The toxicity of sulfur hexafluoride. *Archives of industrial hygiene and occupational medicine*, 2, 348-9.
- LINDNER, J. R., SONG, J., JAYAWEEERA, A. R., SKLENAR, J. & KAUL, S. 2002. Microvascular rheology of Definity microbubbles after intra-arterial and intravenous administration. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*, 15, 396-403.
- LITTLE, W. C., CONSTANTINESCU, M., APPLGATE, R. J., KUTCHER, M. A., BURROWS, M. T., KAHL, F. R., SANTAMORE, W. P. 1998. Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease? *Circulation*, 78 (5 Pt 1), 1157-1166.
- MAGNONI, M., COLI, S., MARROCCO-TRISCHITTA, M. M., MELISURGO, G., DE DOMINICIS, D., CIANFLONE, D., CHIESA, R., FEINSTEIN, S.B., MASERI, A. 2009. Contrast-enhanced ultrasound imaging of periadventitial vasa vasorum in human carotid arteries. *Eur J Echocardiogr.*, 10, 260-264.
- MOREL, D. R., SCHWIEGER, I., HOHN, L., TERRETTAZ, J., LLULL, J. B., CORNIOLEY, Y.A., SCHNEIDER, M. 2000. Human pharmacokinetics and safety evaluation of SonoVue, a new contrast agent for ultrasound imaging. *Investigative radiology*, 35, 80-5.
- MORENO, P.R., PURUSHOTHAMAN, K.R., FUSTER, V., ECHEVERRI, D., TRUSZCZYNSKA, H., SHARMA, S. K., BADIMON, J. J., O'CONNOR, W. N. 2004. Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation*, 110, 2032-2038.
- NAGHAVI M, LIBBY P., FALK E, CASSCELLS SW, LITOVSKY S, RUMBERGER J, BADIMON JJ, STEFANADIS C, MORENO P, PASTERKAMP G, FAYAD Z, STONE PH, WAXMAN S, RAGGI P, MADJID M, ZARRABI A, BURKE A, YUAN C, FITZGERALD PJ, SISCOVICK DS, DE KORTE CL, AIKAWA M, JUHANI AIRAKSINEN KE, ASSMANN G, BECKER CR, CHESEBRO JH, FARB A, GALIS ZS, JACKSON C, JANG IK, KOENIG W, LODDER RA, MARCH K, DEMIROVIC J, NAVAB M, PRIORI SG, REKHTER MD, BAHR R, GRUNDY SM, MEHRAN R, COLOMBO A, BOERWINKLE E, BALLANTYNE C, INSULL W, JR., SCHWARTZ RS, VOGEL R, SERRUYS PW, HANSSON GK, FAXON DP, KAUL S, DREXLER H, GREENLAND P, MULLER JE, VIRMANI R, RIDKER PM, ZIPES DP, SHAH PK, WILLERSON JT. 2003. From vulnerable plaque to

- vulnerable patient: A call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation*, 108, 1664-1672.
- NANDA, N. C. 1997. History of echocardiographic contrast agents. *Clinical cardiology*, 20, 17-11.
- NAYLOR, A. R. 2011. What is the current status of invasive treatment of extracranial carotid artery disease? *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 42, 2080-5.
- NEDERKOORN, P. J., MALI, W. P., EIKELBOOM, B. C., ELGERSMA, O. E., BUSKENS, E., HUNINK, M. G., KAPPELLE, L. J., BUIJS, P. C., WUST, A. F., VAN DER LUGT, A. & VAN DER GRAAF, Y. 2002. Preoperative diagnosis of carotid artery stenosis: accuracy of noninvasive testing. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 33, 2003-8.
- OSTLUND, A., SPORRONG, A., LINNARSSON, D. & LIND, F. 1992. Effects of sulphur hexafluoride on psychomotor performance. *Clinical physiology*, 12, 409-18.
- OWEN, D. R., SHALHOUB, J., MILLER, S., GAUTHIER, T., DORYFOROU, O., DAVIES, A., LEEN, E.L. 2010. Inflammation within Carotid Atherosclerotic Plaque: Assessment with Late-Phase Contrast-enhanced US. *Radiology*, 255, 638-644.
- PAPAIIOANNOU, T. G., VAVURANAKIS, M., ANDROULAKIS, A., LAZAROS, G., KAKADIARIS, I., VLASEROS, I., NAGHAVI, M., KALLIKAZAROS, I. & STEFANADIS, C. 2009. In-vivo imaging of carotid plaque neoangiogenesis with contrast-enhanced harmonic ultrasound. *International Journal of Cardiology*, 134, e110-e112.
- PETTY, G. W., BROWN, R.D. Jr., WHISNANT, J. P., SICKS, J. D., O'FALLON, W. M., WIEBERS, D. O. 1999. Ischemic stroke subtypes: a population-based study of incidence and risk factors. *Stroke*, 30, 2513-2516.
- PHILIPPS, P. J. 2001. Contrast pulse sequences (CPS): imaging nonlinear microbubbles. *Ultrasonics Symposium, 2001 IEEE*.
- PHILIPS, P. J. & PAUL, D. 2005. *Cadence Contrast Agent Imaging Technology on the ACUSON Sequoia Ultrasound Platform* [Online]. Available: https://http://www.medical.siemens.com/siemens/en_GLOBAL/gg_us_FBAs/files/option_portal/whitepapers/Cadence_Whitepaper.pdf [Accessed 21.11.2013 2013].
- QUAIA, E. 2005. *Contrast Media in Ultrasonography*, Berlin, Springer Verlag.
- REDGRAVE, J.N., LOVETT, J. K., GALLAGHER, P. J., ROTHWELL, P. M. 2006. Histological assessment of 526 symptomatic carotid plaques in relation to the nature and timing of ischemic symptoms: The oxford plaque study. *Circulation*, 113, 2320-2328.
- SCHNEIDER, M., ARDITI, M., BARRAU, M. B., BROCHOT, J., BROILLET, A., VENTRONE, R. & YAN, F. 1995. BR1: a new ultrasonographic contrast agent based on sulfur hexafluoride-filled microbubbles. *Investigative radiology*, 30, 451-7.
- SCHNEIDER, M., BROILLET, A., ARDITI, M., VENTRONE, R. & PUGINIER, J. 1996. Doppler intensitometry with BR1, a sonographic contrast agent. *Academic radiology*, 3 Suppl 2, S308-11.
- SCHULTE-ALTEDORNEBURG, G. & CLEVERT, D. A. 2009. [Color duplex sonography of extracranial brain-supplying arteries]. *Der Radiologe*, 49, 1016-23.

- SKYBA, D. M., CAMARANO, G., GOODMAN, N. C., PRICE, R. J., SKALAK, T. C. & KAUL, S. 1996. Hemodynamic characteristics, myocardial kinetics and microvascular rheology of FS-069, a second-generation echocardiographic contrast agent capable of producing myocardial opacification from a venous injection. *Journal of the American College of Cardiology*, 28, 1292-300.
- SPAGNOLI, L.G., MAURIELLO, A., SANGIORGI, G., FRATONI, S., BONANNO, E., SCHWARTZ, R.S., PIEPGRAS, D.G., PISTOLESE, R., IPPOLITI, A., HOLMES, D.R. JR. 2004. Extracranial thrombotically active carotid plaque as a risk factor for ischemic stroke. *Jama*, 292, 1845-1852.
- STARY, H. C. 1992. Composition and classification of human atherosclerotic lesions. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*, 421, 277-90.
- STARY, H. C., CHANDLER, A.B., GLAGOV, S., GUYTON, J., 1994. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Special report. *J. Arterioscler Thromb*, 840-56.
- STARY, H. C. 1994. Changes in components and structure of atherosclerotic lesions developing from childhood to middle age in coronary arteries. *Basics Re Cardiol*, 89 (suppl 1), 17-32.
- STARY, H. C. 2000. Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: an update. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 20, 1177-8.
- STARY, H. C., BLANKENHORN, D. H., CHANDLER, A. B., GLAGOV, S., INSULL, W., JR., RICHARDSON, M., ROSENFELD, M. E., SCHAFFER, S. A., SCHWARTZ, C. J., WAGNER, W. D., WISSLER, R.W. 1992. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*, 85, 391-405.
- STARY, H. C., CHANDLER, A.B., DINSMORE RE, FUSTER V, GLAGOV S, INSULL W, JR., ROSENFELD ME, SCHWARTZ CJ, WAGNER WD, WISSLER RW 1995. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis, american heart association. *Circulation*, 92, 1355-1374.
- STARY, H. C., CHANDLER, A. B., DINSMORE, R. E., FUSTER, V., GLAGOV, S., INSULL, W., JR., ROSENFELD, M. E., SCHWARTZ, C. J., WAGNER, W. D. & WISSLER, R. W. 1995. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 15, 1512-31.
- STARY, H. C., CHANDLER, A. B., GLAGOV, S., GUYTON, J. R., INSULL, W., JR., ROSENFELD, M. E., SCHAFFER, S. A., SCHWARTZ, C. J., WAGNER, W. D. & WISSLER, R. W. 1994. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*, 89, 2462-78.

- STAUB, D., PATEL, M. B., TIBREWALA, A., LUDDEN, D., JOHNSON, M., ESPINOSA, P., COLL, B., JAEGER, K. A. & FEINSTEIN, S. B. 2010. Vasa Vasorum and Plaque Neovascularization on Contrast-Enhanced Carotid Ultrasound Imaging Correlates With Cardiovascular Disease and Past Cardiovascular Events. *Stroke*, 41, 41-47.
- STRONG, J. P., BHATTACHARYYA, A. K., EGGEN, D. A., STARY, H. C., MALCOM, G. T., NEWMAN, W. P., 3RD & RESTREPO, C. 1994. Long-term induction and regression of diet-induced atherosclerotic lesions in rhesus monkeys. II. Morphometric evaluation of lesions by light microscopy in coronary and carotid arteries. *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology / American Heart Association*, 14, 2007-16.
- TAKAYA, N., YUAN, C., CHU, B., SAAM, T., POLISSAR, N.L., JARVIK, G.P., ISAAC, C., MCDONOUGH, J., NATIELLO, C., SMALL, R., FERGUSON, M.S., HATSUKAMI, T.S. 2005. Presence of intraplaque hemorrhage stimulates progression of carotid atherosclerotic plaques: A high-resolution magnetic resonance imaging study. *Circulation*, 111, 2768-2775.
- VAVURANAKIS, M., KAKADIARIS, I. A., O'MALLEY, S.M., PAPAIOANNOU, T.G., SANIDAS, E.A., NAGHAVI, M., CARLIER, S., TOUSOULIS, D., STEFANADIS, C. 2008. A new method for assessment of plaque vulnerability based on vasa vasorum imaging, by using contrast enhanced intravascular ultrasound and differential image analysis. *Int J Cardiol*, 130, 23-29.
- VICENZINI, E., GIANNONI, M. F., PUCCINELLI, F., RICCIARDI, M. C., ALTIERI, M., DI PIERO, V., GOSSETTI, B., BENEDETTI VALENTINI, F. & LENZI, G. L. 2007. Detection of Carotid Adventitial Vasa Vasorum and Plaque Vascularization With Ultrasound Cadence Contrast Pulse Sequencing Technique and Echo-Contrast Agent. *Stroke*, 38, 2841-2843.
- VICENZINI, E., GIANNONI, M.F., BENEDETTI-VALENTINI, F., LENZI, G.L. 2009. Imaging of Carotid Plaque Angiogenesis. *Cerebrovascular diseases*, 27(Suppl.2), 48-54.
- VIRMANI, R., BURKE, A.P., KOLODZIE, F.D., FARB, A. 2002. Pathology of the unstable plaque. *Prog Cardiovasc Dis*, 44, 349-356.
- VIRMANI, R., KOLODZIE, F. D., BURKE, A. P., FINN, A. V., GOLD, H. K., TULENKO, T. N., WRENN, S. P., NARULA, J. 2005. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: Angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 25, 2054-2061.
- WAHLGREN, C. M., ZHENG, W., SHAALAN, W., TANG, J. & BASSIOUNY, H. S. 2009. Human carotid plaque calcification and vulnerability. Relationship between degree of plaque calcification, fibrous cap inflammatory gene expression and symptomatology. *Cerebrovascular diseases*, 27, 193-200.
- WARDLAW, J. M., CHAPPELL, F. M., BEST, J. J., WARTOLOWSKA, K. & BERRY, E. 2006. Non-invasive imaging compared with intra-arterial angiography in the diagnosis of symptomatic carotid stenosis: a meta-analysis. *Lancet*, 367, 1503-12.
- WASSERMAN, B.A., WITYK, R.J., TROUT, H.H., VIRMANI, R. 2005. Low-grade carotid stenosis: looking beyond the lumen with MRI. *Stroke*, 36, 2504-2513.
- WEIMAR, C. D., HANS-CHRISTOPH 2003. Diagnose und Therapie der Schlaganfallbehandlung in Deutschland: Ergebnisse der deutschen

- Schlaganfalldatenbank. *Dtsch Ärztebl*, 100(40), A-2576 / B-2148 / C-2022.
- WESKOTT, H. P. 2010. Neue Trends in der Ultraschalldiagnostik der Karotisstenose. *Der Radiologe*, 50, 591-596.
- WHITWORTH, J., W. H. O., INTERNATIONAL SOCIETY OF HYPERTENSION WRITING & GROUP 2003. World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. *J Hypertens*, 21, 1983-92.
- WHO 1995. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. *WHO Technical Report Series 854*. Geneva: World Health Organization.
- WHO. 2013. *The top 10 causes of death* [Online]. WHO. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/> [Accessed 20.11.2013 2013].

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Beurteilung des Stenosegrades nach NASCET bzw. ECST...	28
Abbildung 2: Vaskularisierung Grad 0.....	35
Abbildung 3: Vaskularisierung Grad 1.....	35
Abbildung 4: Vaskularisierung Grad 2.....	35
Abbildung 5: Festlegung einer geeigneten ROI in Plaque und Gefäß	37
Abbildung 6: Identifizierung kalzifizierter Areale mittels B-Bild und KM- Ultraschallbild.....	37
Abbildung 7: Quantitative Bildanalyse mit Qontrast4®	38
Abbildung 8: Altersverteilung	42
Abbildung 9: Plaqueechogenität asymptomatischer und symptomatischer Plaques im Vergleich	44
Abbildung 10: Verteilung kalzifizierter Plaques auf asymptomatische und symptomatische Plaques	45
Abbildung 11: Plaqueneovaskularisierung asymptomatischer und symptomatischer Plaques im Vergleich	46
Abbildung 12: Durchschnittliche PVR der Plaqueklassen	49
Abbildung 13: Durchschnittliche PVR der Vaskularisierungsgrade im Vergleich	51

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Vor- und Nachteile der verschiedenen Untersuchungen	14
Tabelle 2: Erhobene Daten	39
Tabelle 3: Patientendemographie	41
Tabelle 4: Verteilung von Stenosegraden, Plaqueechogenität und Plaqueneovaskularisierung	47
Tabelle 5: Vergleich zwischen relativer Plaqueintensität und Plaqueechogenität	49
Tabelle 6: Vergleich zwischen relativer Plaqueintensität und Neovaskularisierung	51

7.4 Standardisierter Fragebogen

Untersuchungsdatum __.__.20__

Name _____ Vorname _____

Geburtsdatum _____ Geschlecht _____

A: Kardio- und Zerebrovaskuläre Vorerkrankungen

1. Hatten Sie jemals einen Schlaganfall mit Beschwerden, die länger als 24 Stunden angehalten haben?

Ja
 Nein

Wenn Schlaganfall, wieviele und wann?

2. Hatten Sie jemals einen Schlaganfall mit Beschwerden, die kürzer als 24 Stunden angehalten haben, oder plötzlichen Sehverlust über weniger als 24 Stunden?

Ja
 Nein

Wenn ja, wieviele und wann?

3. Sind Ihre Halsschlagadern operiert oder mittels Katheter aufgedehnt?

Ja
 Nein

Wenn ja, wann?

4. Hatten Sie jemals einen Herzinfarkt, eine Bypass-Operation oder eine Aufdehnung von Herzkranzgefäßen mittels Herzkatheter?

Ja
 Nein

Wenn Herzinfarkt, wieviele und wann?

5. Ist bei Ihnen eine Koronare Herzkrankheit (KHK / eine Verengung der Herzkranzgefäße) bekannt?

Ja, Jahr der Erstdiagnose : _____
 Nein

6. Leiden Sie unter Angina pectoris?

- Ja, Seit: _____
 Nein

7. Ist bei Ihnen Vorhofflimmern bekannt?

- Ja, Jahr der Erstdiagnose : _____
 Nein

8. Ist bei Ihnen eine Erkrankung der Herzklappen bekannt?

- Ja, Jahr der Erstdiagnose : _____
 Nein

9. Ist bei Ihnen eine periphere arterielle Verschlusskrankheit (PAVK / Durchblutungsstörung der Beine) bekannt ?

- Ja, Jahr der Erstdiagnose : _____
 Nein

10. Sind Ihre Becken- oder Beinschlagadern mittels Bypass operiert oder aufgedehnt?

- Ja, Datum der OP: _____
 Nein

11. Kam es bei Ihnen schon einmal zu einer tiefen Venenthrombose?

- Ja, Datum: _____
 Nein

12. Ist bei Ihnen eine Blutgerinnungsstörung bekannt?

- Ja, _____
 Nein

B: Allgemeine Risikofaktoren/Körperliche Aktivität

13. Leiden sie unter Bluthochdruck?

- Ja, Jahr der Erstdiagnose : _____
 Nein

14. Ist bei Ihnen ein Diabetes mellitus bekannt?

- Ja, Jahr der Erstdiagnose: _____
 Nein (*weiter mit Frage 16.*)

15. Wie ist der Diabetes mellitus behandelt?

- Insulin
- Blutzuckersenkende Tabletten (_____)
- Diät

16. Rauchen Sie aktuell?

- Ja (*weiter mit Frage 18.*)
- Nein

17. Haben Sie jemals geraucht?

- Ja (Zigaretten mit Filter Zigaretten ohne Filter Zigarillos/Zigarren)
- Nein (*weiter mit Frage 21.*)

18. Seit Wievielen Jahren rauchen Sie bzw. wieviele Jahre haben Sie insgesamt geraucht?

_____ Jahre

19. Wieviele Päckchen durchschnittlich pro Tag?

_____ Pack Years

20. Wann haben Sie die letzte Zigarette geraucht? _____

- a. Blutentnahme Uhrzeit _____
- b. Letzte Zigarette vor Blutentnahme _____
- c. Gesamtzahl an Zigaretten vor Blutentnahme _____

21. Wenn Sie das letzte Jahr betrachten, wie viele Gläser Alkohol haben Sie durchschnittlich pro Woche, also von Montag bis Sonntag, getrunken? Wir betrachten 0,35 l Bier, 0,120 l (ein „Achtel“) Wein oder 45 ml Spirituosen als ein Glas Alkohol.

Gesamt _____ Gläser
 Bier _____ Gläser
 Rotwein _____ Gläser
 Weißwein _____ Gläser
 Spirituosen _____ Gläser

22. An wie vielen Tagen der Woche betätigen Sie sich mindestens 30 Minuten sportlich in einem Ausmaß, dass Sie ins Schwitzen kommen?

_____ (*falls „0“, weiter Frage 23.*)

23. Welche Sportarten betreiben Sie hierbei mindestens einmal die Woche?

C: Andere Erkrankungen

24. Ist bei Ihnen eine bösartige Tumorerkrankung oder eine chronische Entzündungserkrankung, etwa eine chronische Darmentzündung oder eine chronische Leberentzündung bekannt?

- Ja: _____
 Nein

25. Leiden Sie unter Migräne?

- Ja, Jahr der Erstdiagnose : ____ /Häufigkeit: _____
 Nein

26. Leiden Sie unter einer Erkrankung der Nieren?

- Ja, Jahr der Erstdiagnose : _____
Art der Erkrankung: _____
 Nein

27. Hatten Sie in den letzten fünf Tagen einen akuten Infekt?

- Ja
 Nein

D: Familienanamnese

28. Hat Ihr Vater oder Ihre Mutter einen Herzinfarkt oder einen Schlaganfall vor dem 60. Lebensjahr erlitten?

- Ja
 Nein

29. Hat eines oder mehrere Ihrer Geschwister einen Herzinfarkt oder einen Schlaganfall vor dem 60. Lebensjahr erlitten?

- Ja
 Nein

E: Medikamente

30. Nehmen Sie regelmäßig (seit mindestens 14 Tagen täglich) oder gelegentlich (mindestens einmal in den letzten 14 Tagen) Medikamente ein?

- Ja
 Nein

	Präparat	Dosis
Statine		
Beta-Blocker		
ACE-Hemmer		
Diuretika		
Heparin		
Thrombozytenaggr.hemmer		
Sartane		
Sonstige Medikamente		

F: Untersuchung

31. Waren Sie bei der Blutabnahme nüchtern?

- Ja
 Nein

RR/Puls:

Nach 5 Minuten Ruhe

RR: ____ / ____ (rechts) ____ / ____ (links)

HF: ____

Größe/Gewicht:

Körpergröße (ohne Schuhe, in m) _____

Körpergewicht (leicht bekleidet, in kg) _____

BMI _____

Hüftumfang (in cm) _____

Bauchumfang (in cm) _____

Hip-Waist-Ratio _____

Serum-Datenbank:

Seren vorhanden:

Seren – Entnahmezeitpunkt: _____

Seren – Ort: _____

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Priv.-Doz. Dr. Holger Poppert für die Überlassung des sehr spannenden Themas und die Betreuung während der Arbeit sowie bei Herrn Univ.-Prof. Bernhard Hemmer für die Durchführung der Arbeit in der Neurologischen Klinik der Technischen Universität München. Des Weiteren gilt mein Dank meiner Betreuerin Frau Dr. Claudia Seiler, und Herrn Dr. Konrad Stock für die jederzeit hilfsbereite und umfangreiche Begleitung während der praktischen und theoretischen Arbeiten.

Darüberhinaus will ich mich bei Frau Claudia Leege und Beate Eckenweber aus der Dopplerambulanz bedanken.

Ganz besonders will ich aber auch meiner Mutter Dr. Kornelia Breer danken, die mich immer mit voller Kraft unterstützt. Widmen möchte ich diese Dissertation meinem verstorbenen Vater Dr. Hermann Breer.