

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO**

Scuola di Dottorato in Scienze Biomediche Cliniche e Sperimentali

Dipartimento di Scienze Mediche

Dottorato in Gastroenterologia

(Ciclo XXIII)

Settore Disciplinare Med 12

**VALUTAZIONE DELL'ATTIVITA' E DELLE COMPLICANZE DELLA  
MALATTIA DI CROHN PERIANALE: CONFRONTO TRA  
ECOANGIOGRAFIA PERFUSIONALE, ELASTOGRAFIA ECOGRAFICA E  
RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE.**

***TUTOR:*** Chiar.mo Prof. Giovanni **MACONI**

***COORDINATORE:*** Chiar.mo Prof. Dario **CONTE**

Tesi di Dottorato di:

Elisa **RADICE**

Anno Accademico 2010/2011

## **INDICE**

<b>1. LA MALATTIA PERIANALE NEL MORBO DI CROHN .....</b>	<b>3</b>
1.1 <i>Introduzione .....</i>	3
1.2 <i>Classificazione della malattia perianale .....</i>	4
1.3 <i>Classificazione ed anatomia delle fistole perineali .....</i>	6
1.4 <i>Diagnosi della malattia perianale .....</i>	9
1.5 <i>Terapia della malattia perianale .....</i>	11
<b>2. DIAGNOSTICA PER IMMAGINI DELLA MALATTIA PERIANALE.....</b>	<b>15</b>
2.1 <i>Ecoendoscopia anorettale.....</i>	16
2.2 <i>Risonanza Magnetica.....</i>	18
2.3 <i>Ecografia trans perineale .....</i>	20
2.4 <i>Fistulografia .....</i>	23
2.5 <i>Tomografia Computerizzata .....</i>	23
<b>3. VALUTAZIONE DELL'ATTIVITA' DELLA MALATTIA PERIANALE</b>	<b>25</b>
3.1 <i>Scores clinici di attività perianale .....</i>	26
3.2 <i>Risonanza Magnetica con mezzo di contrasto .....</i>	26
3.3 <i>Ecoendoscopia anorettale computer assisted.....</i>	28
3.4 <i>Prospettive .....</i>	29
<b>4. CONTRIBUTO PERSONALE .....</b>	<b>32</b>
4.1 <i>Introduzione .....</i>	32
4.2 <i>Obiettivi dello studio.....</i>	34
4.3 <i>Materiali e metodi.....</i>	34
4.4 <i>Risultati.....</i>	42
4.5 <i>Discussione .....</i>	44

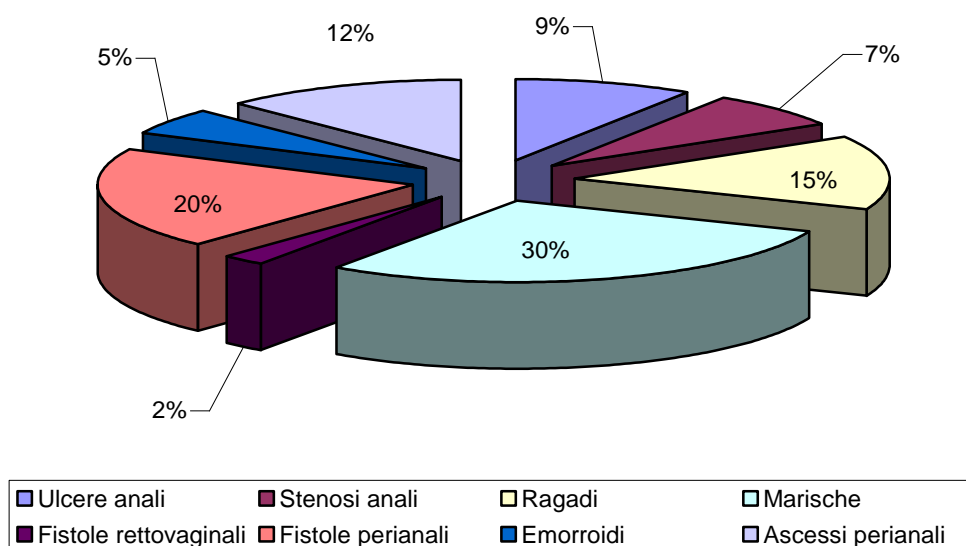
Bibliografia

# 1. LA MALATTIA PERIANALE NEL MORBO DI CROHN

## 1.1 Introduzione

Nella descrizione iniziale del morbo di Crohn (CD), nel 1932, Burrill Crohn non fece riferimento alle complicanze perianali (1) e fu solo diversi anni dopo che Bissell arrivò a definire la correlazione tra enterite regionale e malattia perianale (2).

La malattia perianale rappresenta una sfida impegnativa nella gestione della malattia di Crohn, con un notevole impatto sulla qualità di vita del paziente. Si può presentare con una grande eterogeneità di quadri, da forme lievi ed asintomatiche sino ad arrivare a forme severe condizionanti la compromissione definitiva della regione anorettale. Pazienti affetti da malattia di Crohn possono sviluppare nel corso della propria vita lesioni anali e perianali quali fistole, ulcere, marische e stenosi, con una prevalenza variabile dal 13 al 38% (3) e nel 10% dei casi una fistola perianale può rappresentare la prima manifestazione o precedere di diversi anni l'esordio della patologia (Fig 1).



**Figura 1.** Prevalenza delle lesioni perianali nella malattia di Crohn

La gestione della malattia perianale richiede sempre un approccio congiunto medico e chirurgico: se infatti lesioni quali ragadi, emorroidi o marische possono essere trattate conservativamente, ascessi o fistole complesse richiedono un intervento anche chirurgico, spesso in urgenza. Le complicanze a lungo termine quali

stenosi e neoplasie, sebbene poco frequenti, determinano severa morbidità.

## 1.2 Classificazione della malattia perianale

Le manifestazioni della patologia perianale sono molteplici ed includono marischi, emorroidi, ragadi, ulcere, ascessi, fistole, stenosi e neoplasie.

Per lesioni primarie si intendono ragadi ed ulcere penetranti, mentre le lesioni secondarie sono ascessi, fistole e stenosi (3,4).

*Emorroidi:* le emorroidi sono poco frequenti nei pazienti affetti da morbo di Crohn (7% nei pazienti affetti da CD vs 24% della popolazione generale). Tendenzialmente asintomatiche, possono infiammarsi in caso di diarrea persistente dando sanguinamento e dolore locale. L'approccio terapeutico dovrebbe essere quanto più conservativo, dal momento che è stato osservato un tasso di complicanze post chirurgiche quali ritardo nella cicatrizzazione, infezioni, stenosi della rima anale, superiore a quello della popolazione generale (5).

*Marischi:* sono presenti nel 40-70% dei pazienti affetti da CD e possono variare molto per aspetto, numero e dimensioni, associandosi a ragadi ricorrenti e fistole. Generalmente asintomatiche, soffici al tocco e morbide, in occasione delle recidive di malattia possono infiammarsi ed indurirsi, diventando dolenti (6). Benigne, entrano in diagnosi differenziale con le emorroidi. Se asportate possono esitare in lesioni di difficile cicatrizzazione.

*Ragadi:* rappresentano circa il 20% delle lesioni anali, ed a differenza delle ragadi idiopatiche che si localizzano generalmente sulla linea mediana, quelle nel CD sono posteriori o posterolaterali. Non infrequentemente sono multiple e rappresentano un'ardua sfida terapeutica. In caso di febbre o importante dolore locale è fondamentale escludere come prima cosa una concomitante raccolta ascessuale, che frequentemente si associa causando una clinica sovrapponibile. Il trattamento di scelta è conservativo, con composti a base di nitrati, calcio antagonisti e tossina botulinica, che garantiscono una regressione delle lesioni nel 80% dei casi. In presenza di ragadi recidivanti dovrà essere verificata la concomitante presenza di proctite (7-8).

*Fistole ed ascessi:* la presenza di malattia perianale fistolizzante caratterizza una tipologia di pazienti con decorso più severo di malattia, con maggior tendenza alla corticoresistenza ed a manifestazioni extraintestinali di malattia (9). La localizzazione di malattia intestinale rappresenta un importante fattore predittivo per lo sviluppo ed il tipo di malattia perianale. Indicativamente il rischio aumenta nelle localizzazioni distali, con una prevalenza maggiore nei pazienti con malattia di Crohn localizzata al colon (92%), e minore nei casi a localizzazione ileale (12%) o ileocolica (15%) (10). Come la malattia intestinale è caratterizzata da fasi di remissione alternate a recidive, così anche le fistole presentano andamento cronico recidivante: sebbene infatti nel 50% dei casi possano anche regredire spontaneamente, nel 30% dei pazienti la malattia fistolizzante si ripresenta, in particolare in assenza di adeguata terapia di mantenimento.

L'evoluzione a fistole complesse comporta una progressiva compromissione dello sfintere anale tale da richiedere un approccio chirurgico sino ad arrivare, in situazioni estreme, alla proctocolectomia totale con ileostomia.

La patogenesi delle fistole perianali rimane attualmente oscura, sebbene siano stati ipotizzati due differenti meccanismi (11-13).

E' possibile che la fistola origini da profonde ulcere dell'ano o del retto, per estensione del processo infiammatorio verso i tessuti circostanti. Le feci penetrate nelle ulcere verrebbero spinte dalla pressione della defecazione in profondità, nel sottocute, generando il tramite fistoloso.

La fistola potrebbe però anche originare da ascessi delle ghiandole del canale anale, con successiva estensione nello spazio intersfinterico e da qui verso lo sfintere anale esterno e la cute.

Le fistole perianali possono causare una sintomatologia di entità molto variabile, da forme pauci-asintomatiche a quadri molto impegnati caratterizzati da dolore, soiling, incontinenza o perdita di sangue e muco. Le caratteristiche della fistola condizionano il rischio di ascessualizzazione, maggiore nel caso di fistole complesse. Gli ascessi si sviluppano generalmente in occasione di riattivazioni intestinali della malattia, coinvolgendo nel 40% dei casi il tessuto ischio rettale.

*Stenosi anali e carcinoma:* le stenosi rappresentano l'esito probabilmente di un

quadro infiammatorio cronico e di fistole dell'ano (34%) o del retto (50%) (14). Possono essere molto corte, limitate all'ano, o interessare il retto per un'estensione variabile. Si presentano con difficoltà all'evacuazione, tenesmo, incontinenza o urgenza. Se asintomatiche non richiedono trattamento, altrimenti trova indicazione la dilatazione, che potrà essere manuale sotto anestesia, endoscopica o chirurgica. La presenza di stenosi è un fattore di rischio ben documentato per il tumore dell'ano retto.

Il carcinoma dell'ano retto risulta infatti molto più frequente nei pazienti con:

- colite estesa e con severa attività di malattia;
- patologia anorettale cronica e severa;
- moncone rettale;
- stenosi anali;
- bypass enterici;
- colangite sclerosante primitiva.

Sebbene l'approccio terapeutico sia concettualmente analogo a quello del carcinoma sporadico, il tasso di colectomie totali risulta maggiore in relazione al grado di estensione del morbo di Crohn nel colon. La prognosi risulta invece peggiore, a causa del più avanzato stadio della malattia neoplastica al momento della diagnosi (15).

### **1.3 Classificazione ed anatomia delle fistole perineali**

Il trattamento delle fistole perianali è strettamente correlato al tipo di lesione presente. Per un corretto approccio alla patologia perianale sarà dunque necessario, oltre alla conoscenza delle diverse possibili opzioni mediche e chirurgiche, la precisa definizione anatomica dei tragitti fistolosi e dei loro rapporti con gli sfinteri ed il muscolo elevatore dell'ano. La concomitante presenza di severa attività luminale colica, il tipo d'interessamento dello sfintere anale, la presenza di ascessi o di fistole ramificate condizioneranno infatti in modo significativo il successivo orientamento terapeutico.

Le fistole perianali vengono generalmente classificate in funzione della loro localizzazione. Si distinguono così fistole "alte", poste al di sopra della linea dentata, e fistole "basse", poste al di sotto.

Le classificazioni maggiormente impiegate nei trials clinici sono la classificazione di Parks e la classificazione proposta dall'American Gastroenterological Association (AGA).

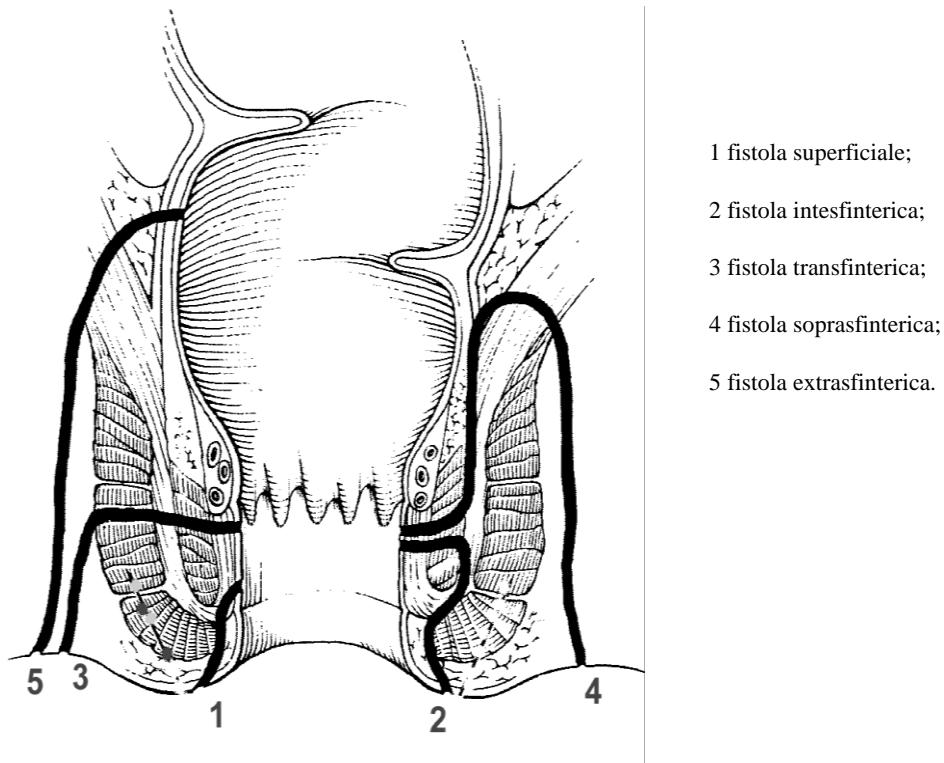
### **Classificazione di Parks**

La classificazione di Parks, è la classificazione anatomica più nota e venne definita nel 1976 con uno studio condotto per 15 anni su di una popolazione di 400 pazienti (16). La classificazione delle fistole è definita in relazione alla posizione anatomica rispetto allo sfintere anale esterno (Fig 2).

Si distinguono dunque 5 tipi di fistole:

- *fistole superficiali*: localizzate distalmente rispetto allo sfintere anale esterno.
- *fistole intersfinteriche*: localizzate tra lo sfintere anale interno e lo sfintere anale esterno;
- *fistole transfinteriche*: attraversano lo spazio intersfinterico e lo sfintere anale esterno;
- *fistole soprasfinteriche*: partono dallo spazio intersfinterico, si dirigono verso l'alto, raggiungono il muscolo elevatore dell'ano per poi aprirsi nell'orifizio cutaneo esterno;
- *fistole extrasfinteriche*: hanno un tragitto che parte al di sopra dello sfintere anale interno e termina nell'orifizio cutaneo esterno.

La classificazione di Parks, seppur precisa dal punto di vista anatomico, non distingue alcune condizioni rilevanti dal punto di vista clinico, come le fistole retto-vaginali o ano-vulvari o la presenza di complicanze concomitanti quali stenosi del canale anale, ascessi o una eventuale localizzazione della malattia a livello rettale.



**Figura 2.** Classificazione di Parks delle fistole perianali nella malattia di Crohn

### **Classificazione dell'American Gastroenterological Association**

Per superare tale limite, l'American Gastroenterological Association ha proposto una nuova classificazione, basata su criteri essenzialmente clinici piuttosto che anatomici (17).

Questa classificazione distingue le fistole in semplici e complesse:

- *Fistola perianale semplice* può essere superficiale, intrasfinterica o transfinterica bassa, con un solo orifizio esterno e non deve essere associata alla presenza di ascessi.
- *Fistola complessa* può essere una transfinterica alta, extrasfinterica o sovrasfinterica, con orifizi multipli, eventualmente associata ad ascessi perineali ed a localizzazione rettale concomitante della malattia di Crohn. Una fistola di tipo rettovaginale o con una stenosi anale è per definizione complessa (18).



## 1.4 Diagnosi della malattia perianale

E' già stata sottolineata l'importanza di un inquadramento completo e preciso del tipo di malattia perianale, sia in corso di diagnosi che nel successivo follow up in corso di trattamento (19,20).

Il primo approccio prevede un'accurata ispezione della regione perineale, con l'esplorazione digitale anorettale.

Le metodiche impiegate per un completo inquadramento della patologia anorettale comprendono l'endoscopia, l'esplorazione sotto anestesia (EUA), la risonanza magnetica nucleare pelvica (MRI), l'eco endoscopia anorettale (EUS), l'ecografia transperineale (TPUS), la fistulografia e la tomografia computerizzata (CT).

Il *dato endoscopico* (rettosigmoidoscopia, o in assenza di un precedente recente, colonscopia completa con ileoscopia) servirà a definire l'estensione della malattia di Crohn, l'eventuale coinvolgimento rettale e l'entità della flogosi in atto. E' noto infatti, che in caso di proctite attiva un approccio chirurgico è gravato da una maggior percentuale di insuccesso.

L'*esplorazione sotto anestesia*, eseguita da un proctologo esperto, è attualmente considerata il gold standard per la valutazione della malattia perianale. La regione anale viene preliminarmente ispezionata, utilizzando eventualmente un anoscopio rigido; il tramite fistoloso può essere meglio evidenziato con l'utilizzo di mezzi di contrasto a base di perossido di idrogeno o blu di metilene diluiti, introdotti con un catetere nella fistola ed il suo percorso potrà essere eventualmente specillato con l'impiego di sonde di varie dimensioni. La palpazione consentirà quindi di valutare l'indurimento tissutale, apprezzando eventuali raccolte ascessuali. Pur rappresentando il gold standard, l'EUA ha un'accuratezza del 90%, a causa di possibili falsi negativi.

Le tecniche di imaging garantiscono una differente accuratezza diagnostica. La *fistulografia* e la *Tomografia Computerizzata* mostrano un'accuratezza troppo bassa per poter essere attualmente utilizzate nella pratica clinica nella valutazione della malattia perianale.

La *MRI* e l'*ecoendoscopia anorettale* sono invece metodiche di prima scelta, garantendo un'accuratezza equivalente di circa il 90%, che può raggiungere il 100% se abbinate all'esplorazione sotto anestesia, come illustrato nella tabella 1 (21). Sebbene la *MRI* sia oggi considerata il gold standard delle tecniche di imaging, si tratta di una metodica costosa, time-consuming, non disponibile in ogni centro. Pertanto le metodiche ecografiche stanno progressivamente prendendo piede, implementando le proprie possibilità con l'utilizzo di mezzi di contrasto locali ed endovenosi, lo sviluppo di nuove sonde, l'utilizzo del 3D, l'impiego dell'elastografia, etc..

L'*ecografia trans perineale* sta emergendo come nuova metodica alternativa alle tecniche ecografiche convenzionali. A basso costo, non invasiva, la TPUS richiede un training relativamente breve e non utilizza una strumentazione specifica o costosa, rendendosi indispensabile in condizioni particolari come alternativa all'*MRI* (ad esempio in pazienti affetti da claustrofobia o con protesi metalliche) ed all'*ecoendoscopia inferiore* (in caso di severo dolore perianale o stenosi del canale anale tali da non consentire l'esecuzione dell'*EUS* senza anestesia).

La scelta dell'iter diagnostico dipenderà comunque principalmente dall'esperienza e dalla disponibilità delle metodiche nelle singole realtà ospedaliere.

	Accuratezza (%)
Esplorazione sotto anestesia	91 (95% CI 75–98%)
Ecoendoscopia	91 (95% CI 75–98%)
Risonanza Magnetica	87 (95% CI 69–96%)
Due metodiche combinate	100

**Tabella 1.** Accuratezza diagnostica nella malattia perianale nel morbo di Crohn

## 1.5 Terapia della malattia perianale

L'obiettivo principale del trattamento della malattia perianale è quello di portare alla completa e definitiva chiusura dei tramiti fistolosi conservando la funzionalità degli sfinteri muscolari e la continenza.

La terapia si basa normalmente su di un approccio congiunto medico e chirurgico.

### Terapia medica

Il trattamento medico delle fistole perineali comprende antibiotici, immunosoppressori ed immunomodulanti.

Basandosi sull'ipotesi che le fistole originino da infezioni sostenute da batteri anaerobi, il primo *antibiotico* testato è stato il Metronidazolo: alla dose di 750-1000 mg/die per un periodo di 4-8 settimane, il metronidazolo determina la chiusura del tramite fistoloso in una percentuale di casi variabile tra il 34% e l'83%, con tuttavia recidiva della fistola nell'arco di 6-8 settimane. Gli effetti collaterali spaziano da quadri di minor rilievo quali gusto metallico, nausea, glossite sino ad una neuropatia periferica severa, rendendo il farmaco di raro impiego nella terapia di mantenimento (22-24). La Ciprofloxacina alla dose di 1000-1500 mg/die rappresenta un'alternativa gravata da effetti collaterali di minore entità, ma anche in questo caso la sospensione del trattamento porta ad una rapida ripresa di malattia.

I principali studi sull'impiego di metronidazolo e ciprofloxacina nella malattia perianale nel morbo di Crohn sono di seguito riportati nella tabella 2.

Gli *immunosoppressori* studiati nella malattia perianale sono l'Azatioprina, la 6 – Mercaptopurina, il Methotrexate, la Ciclosporina ed il Tacrolimus. Nella gestione del paziente con malattia perianale dovrebbero essere introdotti nella fase iniziale della malattia, in associazione a cicli di terapia antibiotica. Non esistono studi che documentino l'efficacia di queste terapie nell'indurre la chiusura completa dei tramiti fistolosi.

Tacrolimus e ciclosporina sono infatti in grado di determinare la guarigione cutanea delle fistole, con tuttavia persistenza del tramite fistoloso e recidiva precoce alla sospensione del farmaco. Tali farmaci non trovano pertanto indicazione nel trattamento di mantenimento a lungo termine (25-29).

<b>Autore</b>	<b>N. pazienti</b>	<b>Trattamento</b>	<b>Risposta</b>
Bernstein 1980	21	MTZ 20 mg/kg/die	Risposta completa 48%
Jakobovits 1984	8	MTZ 1-1.5 g/die	Risposta completa 50%
Dejaco 2003	52	MTZ 1-1.5 g/die e/o CIPRO 0.5-1 g/die	Risposta completa 25%
West 2004	11	CIPRO 1 g/die + antiTNF	Risposta 73%
	13	Placebo + antiTNF	Risposta 39%

**Tabella 2.** Studi clinici che hanno valutato la terapia antibiotica nel morbo di Crohn perianale

Buoni risultati sono stati ottenuti associando steroide, ciclosporina ed azatioprina, proseguendo quindi con la sola azatioprina come terapia di mantenimento una volta ottenuta la guarigione cutanea (30). Analogamente azatioprina o 6 MP possono essere impiegati come mantenimento una volta ottenuta la guarigione mucosa con anticorpi anti TNF alfa; in questo caso la remissione della fistola supera di 6 mesi la remissione ottenuta con la sola terapia immunomodulante (31).

La *terapia immunomodulante* con anti-TNF $\alpha$  è attualmente la scelta più efficace per indurre una rapida e stabile guarigione delle fistole che complicano la malattia di Crohn (32). Dati provenienti sia da studi internazionali che da esperienze italiane, dimostrano che la completa chiusura delle fistole dopo un ciclo induttivo (somministrazione di Infliximab alla dose di 5 mg/kg a 0, 2 e 6 settimane) si verifica nel 44-55% dei pazienti [33-35]. Alla ristadiatione della malattia con risonanza magnetica ed endoscopia transanale, si è tuttavia osservato che dopo terapia biologica e dopo un iniziale miglioramento del quadro, può persistere una infiammazione residua con un quadro infiammatorio variabile a livello del tramite fistoloso che può evolvere con il tempo in una recidiva della fistola o nella comparsa di ascessi [36,37]. Poiché la terapia biologica non sembra modificare, almeno nel breve termine, la storia naturale della malattia perianale e delle fistole in particolare, è stata valutata l'efficacia di un trattamento a lungo termine con anti TNF $\alpha$  o la

possibilità di associare ad un ciclo induttivo di anti TNF $\alpha$  una terapia immunosoppressiva e l'eventuale posizionamento di un setone. Da questi studi è emerso che i pazienti trattati con questi protocolli terapeutici presentano buona risposta al trattamento e periodi di remissione di prolungati, pari al 70-75% ad oltre 1 anno dall'inizio della terapia (33, 38).

Recentemente è stato proposto il trattamento locale delle fistole perianali con infiltrazione/iniezione intrafistolosa di anti TNF, un approccio meno costoso che evita gli effetti collaterali sistemici del farmaco: sono stati attualmente condotti pochi studi con casistica molto limitata, ma i dati preliminari sembrano incoraggianti (39-40).

### **Trattamento chirurgico**

Per la maggior parte dei pazienti con una malattia di Crohn complicata da una fistola perianale, l'obiettivo principale è risolvere o evitare la comparsa di un ascesso perianale. Il drenaggio di un'eventuale raccolta e la prevenzione della sua recidiva si possono realizzare mediante posizionamento di setoni o con la fistulotomia, un intervento relativamente poco usato nonostante il discreto successo riportato in alcuni studi. La scelta di un eventuale trattamento chirurgico ed il tipo di trattamento da adottare dipendono da vari fattori quali la gravità della patologia perianale ed anorettale, l'eventuale coinvolgimento della regione rettale prossimale alla lesione, l'attività della malattia di Crohn a livello rettale, la severità dei sintomi del paziente, la localizzazione ed il tipo di fistola (19,41,42) (fig 3).

Il trattamento chirurgico dovrebbe prevedere un esame obiettivo accurato in anestesia generale, durante il quale il proctologo valuta quale tipo di intervento effettuare.

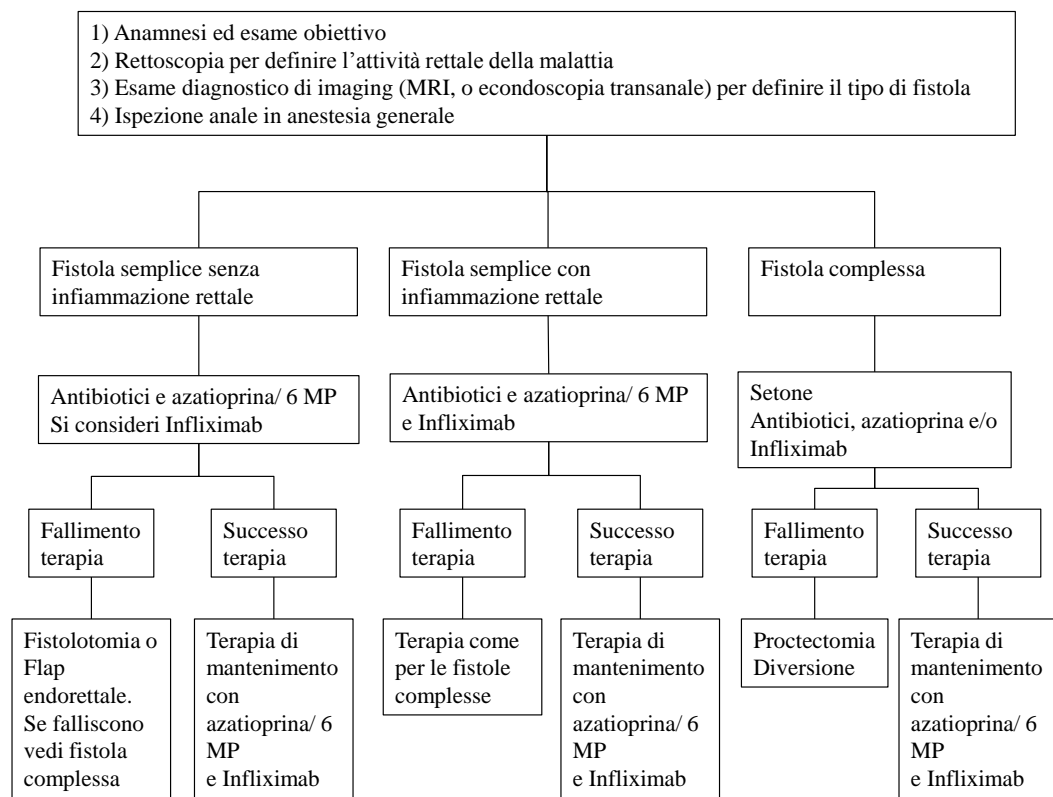
I principali tipi di intervento sono l'incisione ed il drenaggio, il posizionamento di un setone e in casi selezionati la fistulotomia.

La *fistulotomia* è riservata tipicamente ai pazienti con fistole semplici o con fistole che non si approfondano fino allo sfintere anale in assenza di proctite. L'intervento ha un tasso di successo in fase iniziale pari all'80%. Il tasso di incidenza di un'incontinenza fecale conseguente a tale trattamento è tuttavia del 50%.

Il *posizionamento di un setone*, ossia di un elastico attraverso la fistola e l'ano, permette il drenaggio continuo del tramite evitando lo sviluppo di complicanze come la formazione di ascessi. È l'intervento di scelta nelle fistole complesse o nelle

fistole che si approfondano oltre lo sfintere anale. Il tasso di successo di questo intervento è dell'80 % ed ha il vantaggio di contenere l'incidenza di incontinenza fecale.

Altri interventi sono la chiusura della fistola con colla di fibrina, intervento con tasso di guarigione del 31-57% su cui esistono pochi studi, e il *flap endorettale*, che consiste nella ricostruzione della mucosa, della sottomucosa ed occasionalmente della tonaca muscolare circolare dall'orifizio interno della fistola al retto distale. L'intervento è controindicato in caso di proctite. In rari casi, refrattari a qualsiasi tipo di trattamento sono indicati interventi di ileostomia o di proctocolectomia.



**Figura 3.** Algoritmo terapeutico del trattamento delle fistole perianali nella malattia di Crohn

## **2. DIAGNOSTICA PER IMMAGINI DELLA MALATTIA PERIANALE**

Come precedentemente sottolineato, le tecniche di imaging giocano un ruolo fondamentale nella gestione della malattia perianale nel morbo di Crohn.

Sono infatti indispensabili nella fase diagnostica iniziale della malattia, per poter caratterizzare il tipo di lesioni presenti, la presenza di complicanze settiche, la gravità e l'entità della compromissione anatomica, dati che verranno utilizzati in associazione al quadro endoscopico, all'esame obiettivo ed ai dati di laboratorio per indirizzare un primo approccio terapeutico. In una seconda fase, le stesse tecniche troveranno indicazione nella ristadiatione della malattia, andando a definire l'evoluzione del quadro e la risposta al trattamento eseguito, se non direttamente in corso di terapia, in caso di peggioramento della situazione, per verificare l'insorgenza di eventuali complicanze.

Le tecniche di imaging attualmente impiegate sono la *Risonanza Magnetica* (MRI), con e senza mezzo di contrasto, l'*ecoendoscopia anorettale* (EUS), l'*ecografia transperineale* (DTPUS), la *fistulografia* e la *tomografia computerizzata*.

Sebbene la MRI rappresenti attualmente il gold standard diagnostico, si tratta di una metodica costosa, time consuming, che richiede una grande esperienza da parte dell'operatore. Per questo motivo tecniche ecografiche come l'ecoendoscopia rettale e l'ecografia transperineale stanno progressivamente sviluppandosi, grazie anche all'utilizzo di mezzi di contrasto e di programmi di elaborazione dell'immagine più sofisticati.

Al contrario la CT, e la fistulografia in particolare, trovano indicazioni sempre più limitate.

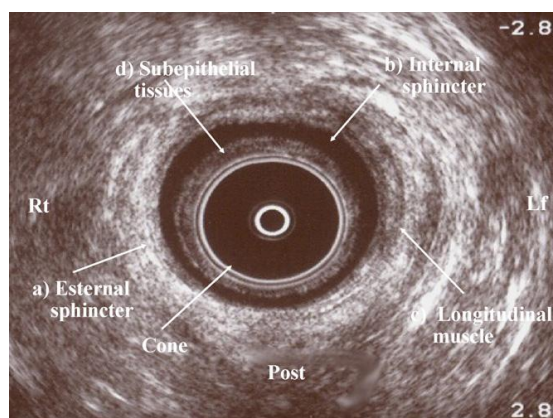
## 2.1 Ecoendoscopia anorettale

Detta anche endosonografia, è stata la prima tecnica impiegata nella valutazione del complesso sfinteriale anale (43).

Richiede un trasduttore con frequenza modulabile da 2.5 a 16 MHz (per consentire sia una valutazione meno dettagliata delle lesioni più profonde che con maggior dettaglio della regione immediatamente adiacente al lume) con visione a 360 gradi.

La metodica viene eseguita con il paziente prono o in decubito laterale, senza necessità di una specifica preparazione intestinale, con una durata di pochi minuti. La sonda, protetta con una guaina di lattice, viene inserita nel canale anale e da qui fatta risalire delicatamente sino al tratto distale del retto. L'indagine viene eseguita con lo strumento in retrazione: verranno quindi inizialmente valutati, sul versante anteriore nel paziente prono, la prostata nell'uomo ed il setto retto vaginale nella donna, quindi l'uretra ed ancora più prossimalmente alla rima anale, il muscolo puborettale, che con il classico aspetto "a fionda" rappresenta un importante repere anatomico.

Lo sfintere anale interno viene visualizzato come un anello ipoecogeno, di spessore omogeneo, mentre lo spazio intersfinterico e lo sfintere anale esterno possono avere ecogenicità mista (Fig 4).



**Figura 4.** Complesso sfinteriale anale normale

I processori di ultima generazione consentono una ricostruzione 3D dello sfintere anale, partendo dai frames ottenuti in 2D nel corso dell'indagine: in questo modo, la rielaborazione dell'immagine può essere eseguita in un secondo tempo, fornendo



immagini molto dettagliate ed osservabili in diverse scansioni, consultabili contemporaneamente da più specialisti evitando così il bias del giudizio operatore dipendente tipico dell'ecografia.

Il 2D può essere ulteriormente combinato con l'impiego di un mezzo di contrasto quale il perossido di idrogeno, direttamente inserito con un catetere nella fistola, così da visualizzare meglio il percorso e le caratteristiche della fistola in modo veloce, economico e sicuro per il paziente.

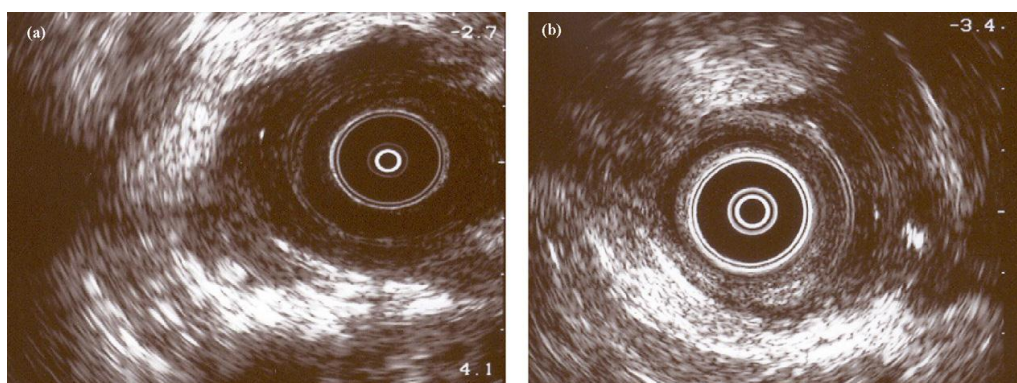
I tramiti fistolosi appaiono come dotti ovalari o rotondi, ipoecogeni, con eventualmente un alone iperecogeno centrale nel caso in cui il lume sia occupato da gas o sia presente una raccolta. Gli ascessi appaiono invece come aree sia anecoiche senza echi interni che ipoecogeni con echi interni, a seconda del grado di evoluzione.

L'EUS trova molteplici applicazioni nella gestione del paziente con malattia perianale, dalla fase diagnostica iniziale al monitoraggio in corso di trattamento, al drenaggio chirurgico di raccolte ascessuali.

L'uso di perossido di idrogeno aumenta sensibilmente la resa diagnostica: l'EUS con mezzo di contrasto è infatti superiore all'esame obiettivo, alla fistolografia ed alla TC, garantendo una valutazione preoperatoria delle fistole particolarmente accurata (44).

Diversi lavori hanno valutato l'accuratezza dell'EUS nella valutazione delle fistole nel morbo di Crohn: uno studio della Mayo Clinic su 34 pazienti con sospetta patologia rettale sottoposti a EUS, MRI ed esplorazione sotto anestesia, ha indicato un'accuratezza del 91% (intervallo di confidenza CI 75-98%), in grado di arrivare al 100% abbinando due delle tre metodiche indicate (21).

Nel trattamento della malattia perianale è noto ormai da anni il ruolo fondamentale della terapia con anticorpi anti TNF alfa, che garantisce la guarigione del 60% delle fistole anorettali e del 30% delle fistole retto vaginali: è tuttavia altresì noto l'elevato tasso sia di recidive di malattia alla sospensione del trattamento (35).



**Figura 5.** Fistole perianali: fistola transfinterica (a), fistola ano-vulvare (b)

Come precedentemente segnalato, il farmaco sembra infatti in grado di portare ad una guarigione dell'orifizio cutaneo, con tuttavia persistenza del dotto interno. In diversi studi è stata utilizzata l'EUS in corso di terapia biologica per seguire l'evoluzione della malattia perianale: è stato così confermato che il tramite fistoloso tende a persistere, seppur con notevole riduzione dell'edema e della flogosi locali, rendendo ragione dunque delle precoci recidive di malattia. In corso di terapia l'EUS risulta molto importante anche per monitorare e diagnosticare precocemente eventuali complicanze quali raccolte.

Un adeguato follow up della malattia perianale aiuta a stabilire il progressivo iter terapeutico del paziente, selezionando i casi con migliore risposta al farmaco ed in grado quindi di interrompere il trattamento, dai casi più severi o nei quali risulta opportuna l'integrazione con terapia antibiotica o immunosoppressori, o una integrazione chirurgica ad esempio con il posizionamento del setone (45).

Non da ultimo l'EUS viene impiegata in sede perioperatoria e per il drenaggio eco guidato delle raccolte (46).

## 2.2 Risonanza Magnetica

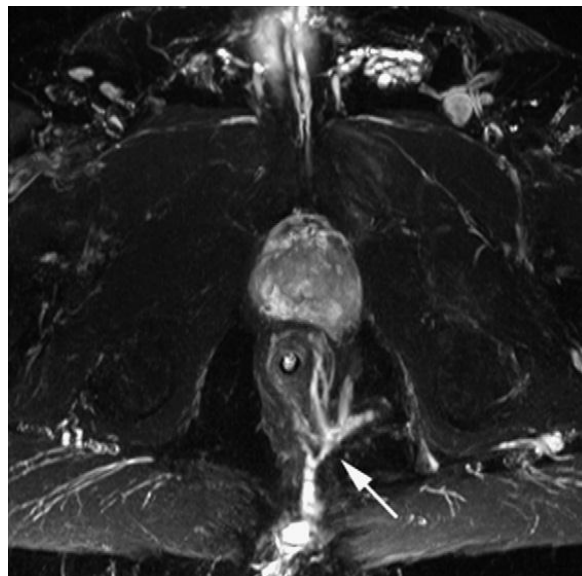
La Risonanza Magnetica pelvica rappresenta uno dei cardini delle tecniche di imaging nella valutazione della patologia perianale. E' possibile avvalersi di particolari sonde endoanali che, offrendo un'elevata risoluzione spaziale, permettono di valutare accuratamente l'orifizio fistoloso interno in particolare nel caso di fistole retto vaginali. A causa di intensa dolorabilità locale o per stenosi anali concomitanti, non sempre è possibile utilizzare questo tipo di sonda: in questi casi è possibile

impiegare sonde sterne superficiali, maggiormente indicate per valutare l'estensione della fistola ed eventuali complicanze concomitanti (47).

A seconda della sequenza impiegata possono essere ottenute differenti informazioni: nelle sequenze pesate T2 le fistole attive, che hanno una parete costituita da tessuto soffice di granulazione talora a contenuto liquido o purulento, appaiono iperintense e ben contrastate, con un tessuto circostante fibroso ed i fasci muscolari sfinteriali ipointensi (Fig 6). Nelle sequenze pesate T1 contrastate con gadolinio e soppressione del tessuto adiposo il tessuto di granulazione appare iperintenso mentre il liquido interno o le raccolte risultano ipointense. Questa sequenza è particolarmente indicata per differenziare tessuto flogistico ed il liquido, entrambe iperintensi nelle sequenze pesate T2 con soppressione del tessuto adiposo.

Dal 1992, l'utilità della RM nella malattia perianale è stata ripetutamente confermata da differenti studi. Accuratezza, sensibilità e specificità sono state confrontate con quelle della valutazione sotto anestesia ed ecoendoscopia rettale, con risultati talvolta contrastanti a seconda di vari fattori quali il tipo di sequenze pesate utilizzate, l'esperienza dell'operatore, etc...

In differenti studi di confronto tra MRI ed EUA nella valutazione di fistole anorettali non nell'ambito di malattia infiammatoria intestinale, il tasso di concordanza è variabile tra il 42 ed il 92%: in diversi casi questo può essere spiegato il relazione all'utilizzo o meno di bobine endorettali (48-50).



**Figura 6.** Fistola transfinterica complessa (freccia), scansione assiale RM, T2-pesata

Come già precedentemente detto, lo studio di Schwartz ha indicato un'accuratezza di EUS, MRI ed EUA rispettivamente del 91, 87 e 91%, sino ad arrivare al 100% combinando due di queste metodiche (21).

Punto di forza della MRI è l'eccellente riproducibilità sia inter che intraosservatore ( $k = 0.92$ ) tra radiologi esperti, mentre le discrepanze tra radiologi più e meno esperti possono essere agevolmente superate con un adeguato training.

Come per l'EUS anche la MRI trova indicazione sia nella fase diagnostica iniziale che nel follow up in corso di terapia farmacologica /chirurgica.

### **2.3 Ecografia trans perineale**

L'ecografia trans perineale (TPUS) rappresenta una metodica emergente e molto promettente.

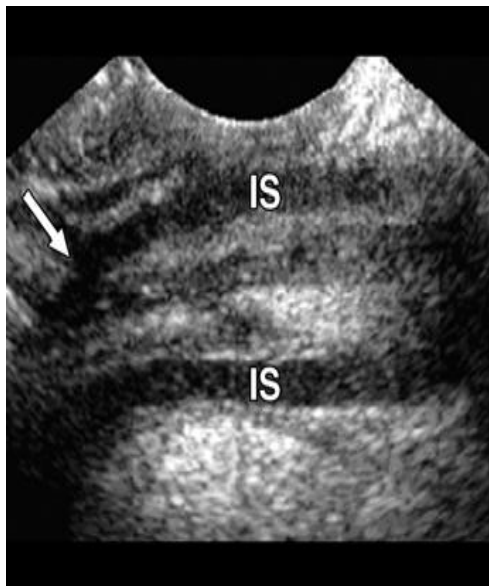
La TPUS prevede l'impiego di sonde convex da 3-5 MHz (adatte alla valutazione statica e dinamica delle strutture profonde) o lineari/microconvex da 4-8 MHz (indicate nello studio statico dettagliato di strutture superficiali). La sonda deve essere rivestita con un condom di lattice di protezione, ponendo un sottile strato di gel tra sonda e lattice e tra lattice e cute per eliminare l'interfaccia di aria; viene quindi direttamente appoggiata sul perineo del paziente, posto in decubito laterale sinistro (fig 7). Per il paziente l'indagine risulta assolutamente indolore, non invasiva e non richiede alcun tipo di preparazione. La durata dell'esame è di pochi minuti, a seconda del quesito diagnostico.

Si possono ottenere scansioni anche contemporanee delle strutture del compartimento pelvico posteriore (ano e retto e spazi perirettali), medio ed anteriore (setto retto vaginale, vescicole seminali, tratto prossimale dello scroto, vescica e vagina) sia in condizioni statiche che dinamiche, chiedendo al paziente di eseguire movimenti di contrazione e ponzamento.



**Figura 7.** La sonda viene appoggiata direttamente sul perineo del paziente, ottenendo scansioni coronali ed assiali.

Le strutture anatomiche muscolari vengono facilmente distinte, in particolare la fionda del muscolo puborettale e lo sfintere anale interno, consentendone una valutazione non solo di integrità, ma anche quantificandone lo spessore, che in vari studi si è mostrato essere un parametro strettamente correlato alla funzionalità (fig 8).



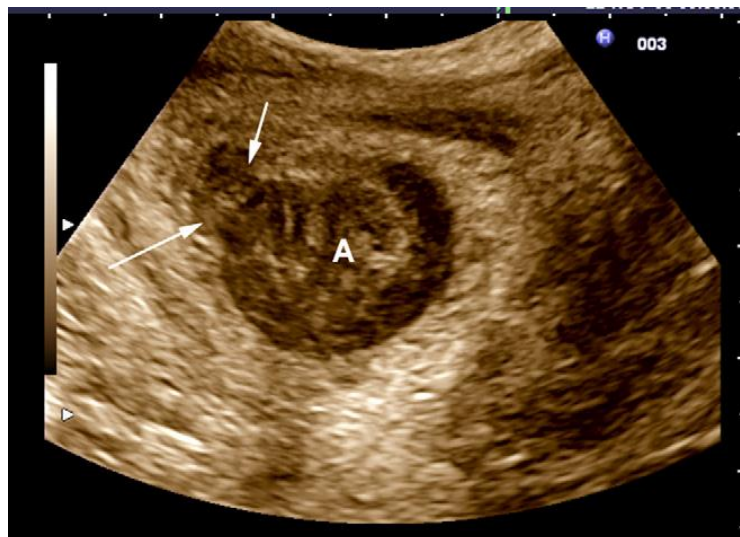
**Figura 8.** Scansioni TPUS longitudinale (a) e coronale (b) del canale anale: si riconosce lo sfintere anale interno (IS), ipoecogeno

La TPUS trova svariate indicazioni: nella patologia funzionale affianca indagini radiologiche e di fisiopatologia nell'inquadramento dei disturbi del pavimento

pelvico quali la dissinergia del muscolo puborettale, invaginazioni e prolapsi anorettali, anismo, stipsi da ostruita defecazione, incontinenza fecale, etc.. con un'ottima accuratezza diagnostica, sovrapponibile a quella della defecografia.

Nell'ambito delle malattie infiammatorie intestinali ed in particolare della malattia perianale fistolizzante, la TPUS consente una accurata valutazione di fistole ed ascessi, con un'accuratezza sovrapponibile alla Risonanza Magnetica (51-53).

La sonda viene appoggiata al perineo posteriore del paziente, direttamente sull'orifizio esterno della fistola, seguendo quindi in profondità il decorso della lesione. Il tramite si presenta come stria ipoecogena, talora con spots iperecogeni interni dati dalla presenza di aria. Anche in questo caso, come nell'EUS, il perossido di idrogeno può essere utilizzato per contrastare meglio il lume (fig 9).



**Figura 9.** Immagine TPUS di Fistola perianale in scansione assiale

Diversi studi hanno mostrato come la TPUS possa fornire immagini di accuratezza sovrapponibile alla risonanza magnetica ed alla TC nella valutazione della malattia perianale nelle malattie infiammatorie intestinali. Più studi hanno confermato anche recentemente l'utilità della metodica nel definire il numero di fistole, il tramite, il rapporto con gli sfinteri muscolari e le strutture anatomiche adiacenti, permettendo una caratterizzazione delle fistole secondo la classificazione di Parks con una sensibilità superiore all'85% (54-56).

Essendo poco costosa e facilmente ripetibile, potrà essere impiegata anche più volte a brevi intervalli temporali nel follow up del paziente in terapia farmacologica, per seguire l'evoluzione della malattia.

Il suo utilizzo appare particolarmente interessante nei pazienti con controindicazioni alla risonanza magnetica quali claustrofobia, protesi metalliche, allergia al mezzo di contrasto, ed all'ecoendoscopia rettale, ad esempio in situazioni di stenosi anali, intensa dolorabilità locale per concomitanti raccolte ascessuali, etc...

## **2.4 Fistulografia**

La fistulografia con mezzo di contrasto è stata una delle prime metodiche impiegate nello studio delle fistole perianali (57). Essa prevede l'inserzione di un piccolo catetere nell'orifizio esterno del tramite fistoloso, iniettando quindi delicatamente un mezzo di contrasto idrosolubile direttamente all'interno del dotto. La metodica, fastidiosa per il paziente, mostra notevoli limitazioni: in primo luogo, nel caso di fistole con tragitto lungo ed irregolare, può essere difficile una adeguata visualizzazione dell'intero tramite, eventualmente occupato da materiale fecale o purulento ed inoltre, non essendo evidenziati gli sfinteri muscolari ed il piano elevatore, diventa molto difficile ed imprecisa la corretta classificazione delle fistole.

Gli studi condotti in passato hanno dato risultati contrastanti, ma comunque poco soddisfacenti e la metodica, attualmente, non trova indicazione nel work up diagnostico (58-9).

## **2.5 Tomografia Computerizzata**

Il ruolo della tomografia computerizzata nella malattia perianale risulta attualmente secondario: sebbene infatti la metodica permetta di evidenziare con dettaglio eventuali raccolte ascessuali, la sua accuratezza nel definire la malattia fistolizzante risulta modesta.

Dopo i primi risultati promettenti negli anni '80, esperienze successive hanno ridimensionato il ruolo e l'utilità della CT: il limite principale della TC è dato dalla difficoltà nel discriminare il tessuto fistolizzante dal tessuto adiacente muscolare e fibrotico, così che la definizione del tramite o la classificazione in relazione agli sfinteri muscolari risulta molto meno accurata di quanto ottenibile con EUS o MRI (60-62). Non da ultimo, è gravata inoltre da un carico significativo di radiazioni ionizzanti, assenti nelle altre metodiche di imaging precedentemente descritte, dato di non secondaria importanza in particolare considerando che l'elevata percentuale di pazienti da sottoporre ad indagini diagnostiche è in giovane età, in periodo fertile, e

che non raramente si rende necessaria una ristadiatione della malattia più volte in un anno.



### **3. VALUTAZIONE DELL'ATTIVITA' DELLA MALATTIA PERIANALE**

I progressi ottenuti nelle diverse tecniche di imaging consentono attualmente una valutazione estremamente accurata e dettagliata della malattia perianale nel morbo di Crohn, consentendo una caratterizzazione morfologica sia di eventuali tramiti fistolosi che di complicanze ascessualizzanti.

Il loro impiego è attualmente una costante nella diagnosi e nel follow up della malattia perianale, compatibilmente spesso con le disponibilità e l'esperienza degli operatori presenti nella singole realtà nosocomiali.

Accanto tuttavia ad una valutazione prettamente anatomica e morfologica, nella gestione del paziente sono necessarie altre informazioni, in primis l'effettiva attività di malattia.

Attualmente la maggior parte delle decisioni diagnostiche e terapeutiche vengono indicate dal tipo di malattia perianale presente, considerando numero e tipo di fistole o concomitanti raccolte, stenosi del canale anale, etc.. Le più recenti terapie biologiche hanno tuttavia evidenziato una possibile e frequente discrepanza tra il dato clinico e l'imaging, con persistenza del tramite fistoloso nonostante la chiusura dell'orifizio cutaneo esterno della fistola: situazioni del genere, che porterebbero ad interpretare il quadro come remissione di malattia, rappresentano un importante fattore di rischio per le complicanze ascessuali.

Sono stati fatti diversi tentativi per identificare dei criteri in grado di definire, oltre al dato morfologico, l'effettiva attività della malattia perianale: la ricerca si è svolta parallelamente sul piano clinico (scores) e sul piano radiologico (impiego di mezzi di contrasto endovenoso, elastosonografia, etc...), con risultati iniziali promettenti negli studi pilota sino ad ora condotti.

### **3.1 Scores clinici di attività perianale**

Tra gli scores clinici i più utilizzati sia nella pratica che nei trials sono il Fistula Drainage assessment (FDA) ed il Perianal Disease Activity Index (PDAI).

L'*FDA* considera indice di malattia attiva la presenza di secreto purulento dal tramite fistoloso applicando una leggera compressione locale (33, 63-67). Sebbene di immediato riscontro e facile utilizzo, l'indice fornisce una valutazione estremamente limitata della complessità della malattia perianale, non andando a definire l'eventuale presenza ad esempio di raccolte, dato di notevole impatto sulla gestione clinica. Inoltre, come appena accennato, il tramite persiste spesso nonostante la cessazione del drenaggio di materiale.

Molto più accurato risulta essere il *PDAI*: in questo score vengono considerati molteplici aspetti sia obiettivi che soggettivi, relativi alla presenza della malattia perianale, come ad esempio la presenza di drenaggio, il dolore e l'indurimento locale del tessuto, l'impatto sulla vita del paziente (tab 3). Ad ogni parametro viene assegnato un punteggio (da 0 a 4), così da poter ottenere in modo semplice ed immediato una valutazione oggettiva quantitativa (33, 69,70).

Seppur più completo del FDA, anche il PDAI ha diverse debolezze, in primo luogo la notevole soggettività della maggior parte dei parametri considerati, in particolare quelli relativi alla qualità di vita del paziente.

Per superare questi limiti sono stati compiuti ulteriori sforzi in ambito strumentale, sia radiologico che ecografico, ed il parallelo sviluppo di softwares dedicati all'interpretazione qualitativa e quantitativa dei dati.

### **3.2 Risonanza Magnetica con mezzo di contrasto**

Negli ultimi decenni la Risonanza Magnetica è diventata l'indagine di riferimento nello studio della malattia perianale nel morbo di Crohn, dimostrando una elevata accuratezza nel riconoscimento sia delle fistole (sensibilità del 100%, specificità del 86%) che delle raccolte ascessuali (sensibilità 96%, specificità 97%).

Perianal Crohn's Disease Activity Index (PCDAI)		
Item	Score	
Discharge	0	No discharge
	1	Minimal mucous discharge
	2	Moderate mucous or purulent discharge
	3	Substantial discharge
	4	Gross faecal soiling
Pain and restriction of activities	0	No activity restriction
	1	Mild discomfort, no restriction
	2	Moderate discomfort, some limitation activities
	3	Marked discomfort, marked limitation
	4	Severe pain, severe limitation
Restriction of sexual activity	0	No restriction sexual activity
	1	Slight restriction sexual activity
	2	Moderate limitation sexual activity
	3	Marked limitation sexual activity
	4	Unable to engage in sexual activity
Type of perianal disease	0	No perianal disease or skin tags
	1	Anal fissure or mucosal tear
	2	<3 Perianal fistulas
	3	>3 Perianal fistulas
	4	Anal sphincter ulceration of fistula with significant undermining of skin
Degree of induration	0	No induration
	1	Minimal induration
	2	Moderate induration
	3	Substantial induration
	4	Gross fluctuance or abscess
Total		

**Tabella 3.** Perianal Crohn Disease Activity Index (PCDAI)

In particolare la MRI gioca un ruolo fondamentale nel caso di malattia perianale complessa, con tramiti fistolosi ramificati, permettendo di definire con precisione eventuali raccolte extrasfinteriali ed il grado di coinvolgimento/compromissione degli sfinteri anorettali (71-73).

Accanto a dati prettamente morfologici, la MRI consente di ottenere informazioni sull'attività infiammatoria del tessuto, andando a distinguere il tessuto fibrotico dalla sepsi attiva e consentendo di monitorare la risposta alla terapia biologica.

In questo contesto, sono ormai diversi gli studi che hanno utilizzato la risonanza magnetica come tecnica di riferimento per verificare l'effettiva chiusura del tramite fistoloso dopo terapia con Infliximab. Riguardo all'utilizzo del contrasto, è attualmente opinione diffusa e condivisa in ambito radiologico che l'uso di gadolinio consente più facilmente di distinguere il tessuto flogistico dal fluido. Spencer et al,

per primi, in un lavoro del 1996, hanno dimostrato come il mezzo di contrasto permetta di distinguere al meglio le fistole, e che queste presentano una captazione intensa in caso di attività, mentre in fase di guarigione riducono nettamente il proprio enhancement (74). Il dato appare facilmente interpretabile alla luce del fatto che la vascolarizzazione presente nei tessuti affetti da morbo di Crohn risulta nettamente aumentata nelle fasi di recrudescenza della malattia.

Sebbene tutte le reviews più recenti sullo studio della malattia perianale raccomandino ormai l'uso di mezzo di contrasto, non vi sono dati di correlazione tra l'entità di enhancement e grado di flogosi effettivamente presente.

In uno studio recente di Horsthuis, la MRI con gadolinio è stata impiegata su 33 pazienti affetti da CD per definire l'attività della malattia perianale. Nel lavoro i dati della MRI sono stati correlati con scores clinici, dati laboratoristici ed evoluzione clinica del CD: ne è emersa una significativa correlazione tra la velocità di captazione del mdc da parte del tessuto e la severità del CD, come evidenziato ad esempio dai valori di PCR, mentre risulta meno significativa la concordanza con il PDAI o con l'entità massima di captazione del contrasto nel tessuto patologico (75).

Analogamente, uno studio del 2011 di correlazione tra MRI con mdc ed attività clinica di malattia in pazienti affetti da CD con coinvolgimento perianale ha evidenziato una significativa associazione tra i dati clinici quali PDAI ed FDA e la percentuale di incremento delle ROI delle fistole rispetto alle ROI del tessuto adiposo sano circostante (76).

### **3.3 Ecoendoscopia anorettale computer assisted**

Il ruolo dell'ecoendoscopia nell'iter diagnostico della malattia perianale nel CD è già stato ampiamente discusso ed è noto che la metodica offre risultati assolutamente adeguati sia nella fase diagnostica che nel follow up dei pazienti affetti.

Alcuni studi recenti hanno impiegato questa metodica anche per definire il grado di attività della malattia perianale.

In un lavoro del 2009, Losco et al hanno studiato 62 pazienti affetti da CD, confrontando il risultato degli scores clinici (PDAI, FDA) con quelli dell'ecoendoscopia anale con mezzo di contrasto (77). I filmati ottenuti dalle registrazioni delle AUS sono stati quindi analizzati off line estrapolando per ogni

paziente tre frames rispettivamente della porzione superiore, intermedia ed inferiore dello sfintere anale. Le aree di interesse dei singoli frames, comprendenti un numero standard di pixels e solo tessuto patologico, sono state analizzate con un software dedicato, convertendole in scala di grigi, così da andare ad analizzare le variazioni di intensità in una scala da 0 a 255.

Lo studio ha confermato la buona accuratezza di ciascuna delle tre metodiche, ulteriormente migliorabile abbinandone almeno due. Ciascuna metodica si focalizza infatti su aspetti diversi della patologia e soprattutto risente di limitazioni specifiche: ad esempio il PDAI è maggiormente condizionato della soggettività del paziente, mentre il FDA non considera la possibile persistenza del tramite fistoloso nonostante la cessazione del drenaggio o la possibile concomitanza presenza di raccolte profonde.

L'utilizzo della AUS con analisi digitale delle immagini ha permesso di identificare un valore di cut off nella scala dei grigi (117) sovrapponibile a quella ottenuta qualche anno prima dallo stesso gruppo, con operatori e software differenti (78).

### **3.4 Prospettive**

La valutazione dell'attività della parete intestinale nel morbo di Crohn, sebbene di recente interesse, ha portato interessanti sviluppi che potrebbero offrire "spunti" anche nello studio della malattia perianale.

#### **Studio ecografico della vascolarizzazione**

Sappiamo che nei tessuti interessati da malattia in fase attiva si osserva una aumentata neoangiogenesi ed una maggiore vascolarizzazione e diversi studi hanno già correlato l'entità dell'incremento della vascolarizzazione con la severità dello stato flogistico, valutato di volta in volta con scores, dati biochimici, dati strumentali.

In particolare in ambito ecografico, la vascolarizzazione è stata studiata in vari modi, considerando l'indice di resistenza dell'arteria mesenterica superiore, con l'indice di resistenza dell'ansa patologica con una semplice analisi doppler. Negli ultimi anni si sono andati affermando progressivamente i vari mezzi di contrasto di prima e seconda generazione, che tuttavia non erano ancora in grado di fornire una valutazione del microcircolo a differenza di TC ed MRI. I nuovi mezzi di contrasto

hanno superato questo limite, consentendo importanti sviluppi nella CEUS.

In uno studio del 2006, ad esempio, De Pascale et al ha analizzato con studio ecografico color doppler (CPD) e color doppler con mezzo di contrasto (PDCE) la parete intestinale di 15 pazienti affetti da CD, 12 in fase attiva e 3 in fase di remissione (79). I dati ecografici sono stati correlati con dati biochimici (emocromo ed indici infiammatori) e clinici (pazienti definiti in fase attiva sulla base del CDAI, CDAI >150 punti): i pazienti in recidiva sono stati rivalutati con follow up a 20-30 gg e 60-80 gg. I dati ottenuti hanno evidenziato una maggiore attendibilità diagnostica della PDCE rispetto alla CPD, con una modesta correlazione con i dati clinici e bioumorali di attività di malattia. Lo studio ha inoltre evidenziato che nei pazienti in apparente remissione clinica, ma con valori biochimici border line ed evidenza di attività di malattia alla PDCE, si è osservata una recidiva precoce.

Questo stesso dato è stato confermato da un'analogha esperienza condotta da Giangregorio et al. (80). Sapendo che la CEUS può avere dei falsi positivi, in percentuali variabili dal 26.6% al 38.6% (79,81,82), in questo lavoro è stata considerata non la quantità di parete vascolarizzata (studi di patterns di vascolarizzazione, SPV), ma il grado di flusso di parete durante un periodo di tempo (studi di intensità-tempo, SIT). Mentre la CEUS non sembra correlare con il CDAI e con la valutazione semiquantitativa della vascolarizzazione della parete, la CEUS SIT identifica un sottogruppo di pazienti apparentemente in remissione a rischio di recidiva severa di malattia nel breve termine (tre mesi). Il ruolo della CEUS sembra quindi parzialmente ridimensionato, in accordo anche con i risultati ottenuti da Maconi (83), mentre la CEUS SIT rappresenta una importante opzione diagnostica in grado probabilmente di modificare in modo significativo l'iter terapeutico.

Lo studio della vascolarizzazione di parete come indice di attività di malattia è già stato applicato anche nella malattia fistolizzante intestinale: lo studio eco color doppler degli indici di resistenza della parete della fistola risulta essere un parametro riproducibile e correlato ai riscontri clinici e biochimici (84).

### **Elastosonografia**

Una ulteriore innovazione, per il momento ancora poco impiegata nella malattia infiammatoria intestinale, è data dall'elastosonografia.

Si tratta di una nuova metodica real time ecografica che descrive le proprietà meccaniche del tessuto. Simile ad un color Doppler, fornisce un'immagine a colori

sovrapposta all'immagine in B mode traducendo in scala cromatica le diverse resistenze tissutali attraversate dal fascio di ultrasuoni (85).

Può essere eseguita con sonde lineari per uso transcutaneo, sonde endocavitare rigide e ecoendoscopi flessibili. Lesioni della tiroide, della prostata, dei linfonodi, nonché il tessuto miocardico, la parete dei vasi con placche ed eventuali trombi, il linfedema, possono essere studiati con l'elastografia (86-88).

In gastroenterologia la metodica sta portando risultati interessanti nella patologia epatica e pancreatica. Riguardo alle malattie infiammatorie intestinali, vi è un interesse crescente nell'impiego dell'elastografia sia nello studio della parete intestinale che nelle complicanze, a completamento dello studio ecografico ed ecoendoscopico. Ad esempio l'elastografia è stata impiegata per caratterizzare la parete del retto in pazienti con retto colite ulcerosa e morbo di Crohn distale: sono stati infatti osservati valori di strain ratio significativamente diversi tra i pazienti controllo ed i pazienti con malattia infiammatoria ed, all'interno di questi, tra pazienti con CD e colite ulcerosa (89). I valori riportati sono stati discriminanti per distinguere pazienti con malattia in fase attiva da pazienti in remissione, per entrambe le patologie.

Non sono stati condotti attualmente ulteriori studi sul possibile ruolo dell'elastografia nella malattia perianale nel morbo di Crohn.

## **4. CONTRIBUTO PERSONALE**

### **4.1 Introduzione**

La valutazione della malattia fistolizzante perianale rappresenta un elemento di notevole importanza nella gestione clinica del paziente affetto da malattia di Crohn. In particolare è ben documentato come la determinazione dell'attività della complicanza sia in grado di guidare efficacemente durata e tipo della terapia medica e chirurgica, in particolare nel caso di terapie biologiche ed antibiotiche.

La determinazione dell'attività della malattia perianale nella malattia di Crohn si basa essenzialmente sulla valutazione clinica e su indagini diagnostiche strumentali come la risonanza magnetica nucleare (MRI) e l'ecoendoscopia anorettale (AUS).

La valutazione clinica comprende determinazioni standardizzate dall'attività come il Fistula Drainage Assessment (FDA) (33, 63-67, 69, 70) ed il relativamente più complesso Perianal Disease Activity Index (PDAI) (33, 69, 70, 90, 91).

La valutazione mediante FDA prende in considerazione essenzialmente il drenaggio di pus dall'orifizio cutaneo dopo lieve compressione, ma non considera altre condizioni rilevanti come la morbidità associata alla complicanza e la possibile presenza di ascessi perianali.

Il PDAI è un indice molto più complesso che considera la morbidità associata alla malattia perianale come la presenza di drenaggio dall'orifizio fistoloso, di dolore, l'interferenza della malattia sulla normale attività quotidiana e sull'attività sessuale, oltre ad elementi dell'esame obiettivo quali il grado di indurimento ed infiltrazione sottocutanea nella regione della fistola. Questo indice, ampiamente utilizzato sia nella pratica clinica che nei trials, ha mostrato una discreta correlazione con l'attività della malattia perianale valutata mediante risonanza magnetica, ma non è in grado di fornire informazioni sull'entità del danno anatomico della malattia né tantomeno sicure informazioni prognostiche.

Nel tentativo di superare questi limiti, è stata proposta una valutazione strumentale dell'attività della malattia perianale mediante risonanza magnetica nucleare o ecoendoscopia rettale (34, 76-78). Gli studi eseguiti a tale scopo hanno



dimostrato che entrambe le metodiche sono efficaci nel determinare l'attività della malattia perianale nella malattia di Crohn, mostrando significativa correlazione con le valutazioni cliniche dell'attività come FDA e PDAI. Tuttavia, la MRI e l'AUS sono indagini complesse, costose e non ampiamente disponibili, difficili da eseguire e talvolta controindicate in alcune condizioni cliniche come nei pazienti portatori di clips metalliche o claustrofobici, in caso di stenosi anali o di marcato dolore anale (ad es. determinato da ascessi).

Recentemente è stato proposto lo studio delle fistole perianali mediante ecografia transperineale. Una metodica diagnostica economica, non invasiva e semplice, caratterizzata da buona accuratezza diagnostica sia nella diagnosi che nella definizione anatomica dei tramiti fistolosi (55, 92, 93). Il suo impiego si è inoltre dimostrato efficace per definire l'attività delle fistole e valutarne il decorso dopo trattamento con farmaci biologici nella malattia di Crohn perianale (94). Per tale motivo, questa metodica diagnostica potrebbe rappresentare uno strumento efficace nel follow-up dei pazienti affetti da malattia di Crohn perianale in terapia medica. A ciò va aggiunto che la valutazione diagnostica transcutanea con sonde convenzionali, consente anche l'impiego di nuove tecnologie come l'ecoangiografia perfusionale e l'elastografia, con le quali è possibile studiare la vascolarizzazione delle fistole e la loro elasticità, proprietà potenzialmente correlate all'attività malattia perianale.

In particolare, l'ecoangiografia è un'ecografia con mezzo di contrasto endovenoso che fornisce una determinazione accurata dell'angiogenesi (95, 96). Diversamente dalla TC e dalla MRI, la metodica utilizza un mezzo di contrasto che non possiede fase interstiziale e permette di valutare solo la perfusione nei capillari delle pareti della fistola in real-time. Il suo impiego nella malattia di Crohn, si è dimostrato efficace per valutare l'attività endoscopica della malattia (97, 98) e ha mostrato significativa correlazione con i parametri di perfusione della parete intestinale definiti con MRI (99). Attualmente non è noto se la vascolarizzazione delle fistole perianali, definita con la metodica ecografia, sia correlata alla perfusione delle stesse lesioni ottenuta con MRI e se la perfusione di queste lesioni, valutata con entrambe le metodiche, sia correlata all'attività della malattia perianale.

Per quanto riguarda il potenziale ruolo dell'elastografia nella malattia fistolizzante perianale, risultati del tutto preliminari sembrano indicare una significativa correlazione tra attività della colite ulcerosa e determinazione del grado di elasticità della parete intestinale. E' ipotizzabile che quindi anche l'indurimento del tessuto

perianale, legato alla presenza e alla gravità della fistola, possa mostrare significativa correlazione e che tale correlazione possa essere soggetta a valutazione quantitativa con elastografia.

## **4.2 Obiettivi dello studio**

Lo scopo del presente studio è quello di definire l'esistenza di correlazione tra l'attività clinica della malattia perianale nella malattia di Crohn, definita mediante FDA e PDAI, ed i reperti MRI ed ecografici potenzialmente indicativi di attività della malattia come l'enhancement tissutale, la vascolarizzazione della fistola e l'elasticità della lesione.

Lo studio ha inoltre definito la presenza di eventuale correlazione tra i parametri MRI di attività, rappresentato essenzialmente dal rapporto tra l'enhancement della fistola e del tessuto peri-fistoloso ed alcuni parametri ecografici come quelli ottenuti dalla vascolarizzazione della fistola con ecoangiografia perfusionale e con elastografia.

## **4.3 Materiali e metodi**

### **Popolazione**

Sono stati inclusi nello studio 30 pazienti consecutivi affetti da malattia da malattia di Crohn (17 femmine e 13 maschi; età 19-62 anni, media:  $40,6 \pm 12$  anni) valutati nella nostra unità per complicità perianale della malattia, che rispondevano ai seguenti criteri di inclusione ed esclusione:

#### *Criteri di Inclusione*

- diagnosi certa di morbo di Crohn da almeno sei mesi, posta su base clinica, endoscopica ed istologica;
- presenza di malattia perianale fistolizzante con presenza di almeno un tramite fistoloso evidenziabile all'esame obiettivo;
- consenso informato alla partecipazione allo studio, all'esecuzione delle indagini diagnostiche ed alla raccolta dei dati clinici ed anamnestici (lo studio è stato approvato dal comitato etico dell'Ospedale L.Sacco).

### *Criteria di esclusione*

- gravidanza ed allattamento;
- claustrofobia;
- diatesi allergiche per mezzi di contrasto delle rispettive metodiche (esafluoruro di zolfo e gadolinio);
- cardiomiopatia (sindrome coronarica acuta di recente evoluzione o ischemia cardiaca clinicamente instabile, insufficienza cardiaca acuta, insufficienza cardiaca di classe III, IV o aritmie di grado severo, shunts destro-sinistro);
- clips metalliche;
- ipertensione polmonare;
- ipertensione sistemica non controllata;
- sindrome da distress respiratorio dell'adulto;
- recente intervento chirurgico perianale (< 1 mese);

### **Disegno dello studio**

Successivamente all'arruolamento, per ogni paziente sono stati raccolti i dati anamnestici, con particolare riferimento alla malattia perianale, da parte di un clinico esperto. In particolare sono stati chiesti dettagli sulle terapie in atto, su eventuali progressi interventi chirurgici per il trattamento della patologia perianale, sulla progressa esecuzione di indagini relative (ad es. eco endoscopia anorettale, risonanza magnetica, ecografia trans perineale, etc..).

E' stato quindi eseguito un esame obiettivo completo comprensivo di ispezione della regione perianale ed esplorazione rettale, registrando numero e sede di eventuali orifizi fistolosi o raccolte, marishe, ragadi o altri segni di malattia perianale, presenza di setoni ed esiti chirurgici, segni locali di flogosi.

In seguito è stata effettuata una valutazione ecografica mediante ecografia transperineale da parte di un altro medico che, indipendentemente dai dati clinici, ha effettuato valutazione delle fistole perianali mediante elastografia e successivamente con ecoangiografia perfusionale. Infine è stata effettuata, possibilmente nello stesso giorno, o nei giorni immediatamente successivi (range: 0-10 giorni) all'ecografia una MRI della pelvi con mezzo di contrasto.

### **Valutazione dell'attività clinica della malattia**

La valutazione clinica è stata effettuata mediante FDA e PDAI.

- *Fistula Drainage Assessment* (FDA). La malattia perianale è stata considerata attiva in presenza di drenaggio di pus dalla fistola dopo lieve compressione (33).
- *Perianal Disease Activity Index* (PDAI). Il PDAI è stato calcolato utilizzando una scala di 5 punti (da 0, assenza di sintomi a 4, sintomi severi) sulla base degli elementi, forniti dal paziente, relativi al drenaggio perianale (da assente o perdita fecale significativa), dolore locale condizionante restrizione delle attività quotidiane (da assente a dolore severo con limitazione significativa), limitazione dell'attività sessuale (da assente a impossibilità completa).

**Ecografia transperineale:** tutte le ecografie transperineali sono state effettuate da uno stesso operatore che non era al corrente della valutazione clinica e degli score clinici definiti. Le indagini sono state effettuate con ecografo Hitachi Logos H-vision C utilizzando una sonda microconvex da 4-8 MHz con settaggio adeguato per la valutazione della regione perianale (profondità massima: 7 cm). La sonda è stata ricoperta da gel, introdotta in condom per motivi igienici, e ricoperta quindi da gel prima dell'esame. Quest'ultimo è stato effettuato in pazienti in decubito laterale sinistro, posizionando la sonda direttamente sull'ano. La regione anorettale è stata valutata in modo da ottenere immagini ad elevata risoluzione di canale anale, sfinteri anali, muscolo puborettale, setto retto vaginale ed anovulvare, vescica urinaria e la vagina, per definire accuratamente il decorso della fistola. Quest'ultima è stata identificata come struttura di aspetto tubulare o area ipoecogena, senza o con echi interni, ed è stata valutata sia posizionando la sonda inizialmente sull'orifizio cutaneo sia identificandone l'orifizio interno. Le fistole retto-vaginali e ano-vulvari sono state identificate come aree o strutture ipoecogene tra ano e vagina o vulva e valutate preferenzialmente con scansioni trans-labiali trasversali.

Tutte le lesioni identificate mediante ecografia sono state videoregistrate e fotografate per successiva revisione.

**Elastografia:** le lesioni visualizzate nella loro massima estensione, sono state inoltre valutate mediante elastografia real-time mediante medesimo apparecchio ecografico (Hitachi Logos H-Vision C). Mediante questo sistema ciascuna lesione è stata valutata con sonda microconvex e contemporaneamente mediante elastografia Real

Time (RT) ed ecografia convenzionale su video con doppia immagine. La lesione ed il tessuto perianale attiguo sono stati inclusi in una ampia regione di interesse (ROI) configurata per la determinazione elastografica nella quale la distribuzione dell'elasticità era rappresentata da diversi colori (rosso = bassa densità o soffice; blu = alta densità o duro) evidenti dopo lieve compressione operata a mano libera da parte dell'operatore sulla fistola. Per ogni lesione con valutazione ottimizzata (ossia le determinazioni con score  $\geq 3$  su una scala di attendibilità da 0-5 operata da un software dedicato) sono state selezionate ed archiviate 3 immagini consecutive per successiva elaborazione computerizzata. Questa comprendeva la definizione quantitativa del grado di durezza o elevata densità della fistola (grado di blu ed in scala di grigi) mediante software specifico (Photoshop 7.0, Adobe) di 3 ulteriori aree della lesione selezionate in prossimità dell'orifizio interno, dell'orifizio esterno e del tratto intermedio e di un'area nel tessuto sano adiacente. In presenza di più tramiti fistolosi è stata selezionata la fistola di dimensioni maggiori. Di ogni fistola è stata ottenuta la media per ciascuna sede su tre immagini differenti, e calcolata infine la media finale sulle tre sedi della fistola e del tessuto sano.

**Ecoangiografia perfusionale:** la lesione fistolosa precedentemente valutata mediante elastografia è stata quindi rivalutata con ecografia con mezzo di contrasto endovenoso utilizzando un ecografo EsaTune (Esaote Biomedica, Genova, Italia), uno strumento dedicato allo studio del microcircolo, mediante specifico software e l'analisi spettrale della seconda armonica degli echi riflessi dalle microbolle di contrasto endovenoso iniettate dopo insonazione con bassa potenza. Tale metodica consente di rilevare e distinguere gli echi provenienti dal contrasto endovenoso da quello dei tessuti circostanti. Come mezzo di contrasto endovenoso è stato utilizzato il Sonovue® (Bracco, Italia), una soluzione di microbolle di 2.5  $\mu\text{m}$  costituite da un involucro di acido palmitico contenente esafluoruro di zolfo in fisiologica (NaCl 0.9%) alla dose di 4.8 mL, una dose doppia rispetto a quella utilizzata generalmente per lo studio delle lesioni focali epatiche. In tutti i pazienti il mezzo di contrasto è stato iniettato rapidamente in bolo nella vena brachiale, seguito da un bolo altrettanto rapido di soluzione fisiologica (10 ml). La progressiva vascolarizzazione della parete della fistola è stata monitorata in real-time usando un'insonazione a bassa trasmissione (Mechanical Index =0.06-0.08) per 60-120 secondi.

**Acquisizione dell'immagine ed elaborazione computerizzata:** i parametri tecnici utilizzati sono stati: range dinamico 65 dB, risoluzione temporale fra 75 e 100 ms (10-13 frames al secondo); il segnale eco è stato ottenuto eliminando il rumore di fondo. I filmati (2 clip di 60 secondi) e le immagini in formato digitale sono state archiviate in un computer e su un DVD e sono state analizzate da ecografista esperto. La vascolarizzazione delle pareti è stata quantificata mediante software dedicato (Q-ontrast; Advanced Medical Imaging Development, Bracco, Milan, Italy) su una regione di interesse (ROI) ottenuta manualmente che includeva 3 diverse aree della parete della fistola. Il software permette di quantificare l'enhancement contrastografico a partire dai frames in cui comincia la perfusione e di generare una mappa cromatica, che permette un'immediata valutazione della perfusione della regione di interesse selezionata all'operatore. La procedura di quantificazione del flusso ha valutato ogni frame compreso nella ROI e tutti i singoli frames durante il periodo selezionato. L'intensità del segnale è stata calcolata secondo la scala dei livelli di grigi, da 0 (pixel neri) a 255 (pixel bianchi), attraverso istogrammi che esprimono la media+/- deviazione standard dell'intensità di pixel compresi in ogni regione di interesse. Mediante l'utilizzo di questo software è stata ottenuta una immagine colorata virtuale delle pareti della fistola, composta da una scala di colori primari variabili fra il rosso (massima intensità di segnale) al blu (minima intensità di segnale). La mappa cromatica è quindi composta da vari colori che corrispondono alle varie intensità di segnale ed in particolare è stata analizzata l'intensità di segnale della parete. Muovendo il cursore lungo il margine, è possibile selezionare varie zone di colore e ottenere, in ogni punto, il valore numerico e l'intensità di segnale espresso con una percentuale (massima intensità =100%). Sono state quindi costruite curve intensità tempo e sono stati ottenuti i valori di perfusione vascolare.

In particolare valutate i seguenti parametri PEAK, RBV (regional blood volume), TTP (time to peak), RBF (regional blood flow), utilizzando come modello di curva parametrica quello tipo gamma-variata corretto (figura 10).

**PEAK:** Massimo valore della video intensità di segnale raggiunta al passaggio del bolo di mezzo di contrasto al tempo  $t$  uguale al tempo di arrivo al picco (**TTP**).

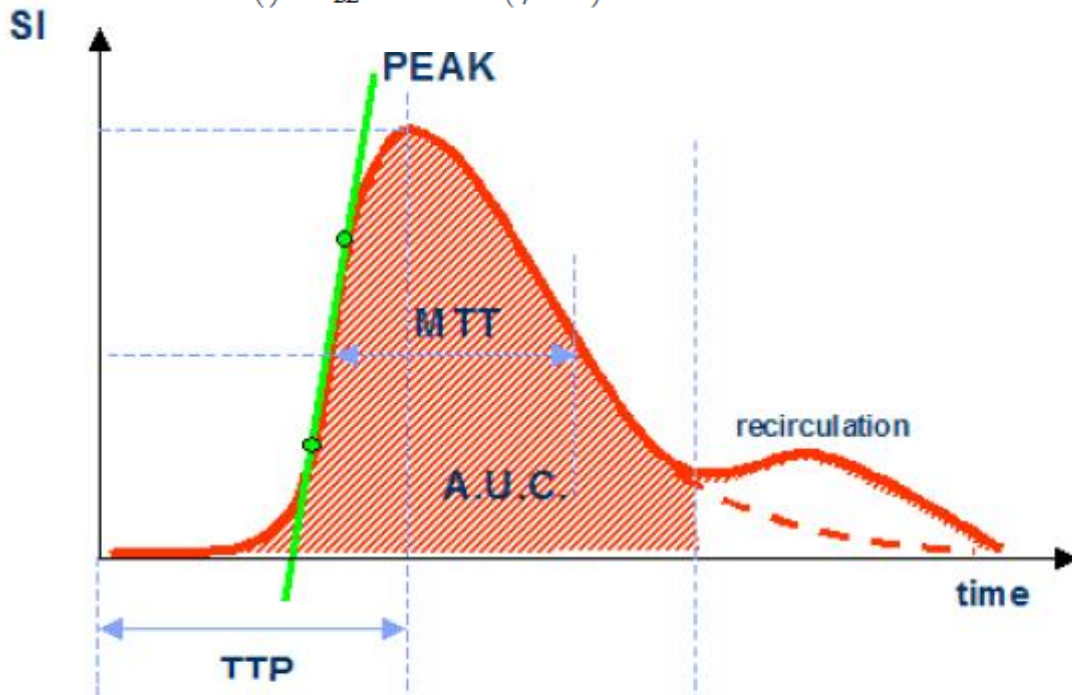
**TTP** (Time-To-Peak): tempo di arrivo del mezzo di contrasto al suo massimo valore di video intensità (SI)

**RBV** (Regional Blood Volume): corrisponde al volume ematico regionale ed è proporzionale all'area sotto la curva (A.U.C.)

**RBF** (Regional Blood Flow): flusso ematico regionale; si ottiene dal rapporto tra volume ematico regionale e tempo di transito medio (RBV/MTT)

**Modello Gamma-Variata Corretto:**

$$SI(t) = SI_{BL} + PEAK * (t/TTP)^{(\beta * TTP)} e^{-\beta * (t - TTP)}$$



**Figura 10.** Modello-Gamma variata corretto del m.d.c in bolo nell'ecoangiografia perfusionale

**Risonanza magnetica con mdc:** le fistole perianali sono state valutate mediante MRI realizzata con una risonanza da 1.0 T (Philips NT Intera, Philips Medical Systems, Best, Netherlands). Per ogni analisi è stato utilizzato un protocollo di esame standardizzato, le cui sequenze sono specificate nella tabella 3. Le sequenze sono state ottenute in scansione trasversale e coronale orientate rispettivamente ortogonalmente e parallelamente allo sfintere anale, utilizzando un'immagine mediale sagittale.

Completata questa serie, è stato iniettato un mezzo di contrasto paramagnetico endovenoso (Gd-BOPTA, 0.5 M, Multihance, Bracco, 0.2 ml per kilogrammo di peso corporeo) e sono state ripetute le sequenze pesate in T1 SPIR su piani trasversali e coronali. Il protocollo utilizzato ha una durata di circa 20 minuti, l'intero esame circa 30 minuti.

**Analisi dei risultati della MRI:** tutte le immagini MRI sono state valutate da due consulenti radiologi esperti (GP and GF) con un precedente ampio training nello studio MRI della patologia pelvica in collaborazione con un nostro radiologo in fase di formazione sull'imaging del tratto gastroenterico (CV). Una volta identificata la presenza della malattia perianale, le fistole sono state descritte secondo la classificazione di Parks per definirne morfologia e relazione anatomica con lo sfintere anale ed il muscolo elevatore dell'ano. E' stata inoltre valutata la complessità del tramite fistoloso (semplice o ramificato).

L'orifizio interno del tramite fistoloso principale è stato identificato su una scansione assiale utilizzando la descrizione chirurgica "anal clock" dove a ore 12 si osserva il perineo anteriore ed a ore 6 quello posteriore, ad ore 3 il lato sinistro, ad ore 9 il destro. Sono stati definiti, ove valutabili o presenti, il tramite esterno, ogni possibile ramificazione fistolosa ed eventuali raccolte. Sono state quindi selezionate le sequenze T1 pesate con mezzo di contrasto nelle quali le fistole fossero meglio visibili, al fine di determinare l'attività della malattia.

Sono state tracciate a mano tre aree ellittiche di regioni di interesse (ROI) delle dimensioni di  $5 \text{ mm}^2$  nel tratto intermedio della fistola e per ogni ROI è stato calcolato il valore medio; quindi è stata calcolata la media di questi valori, come stima quantitativa dell'intensità del segnale della fistola ( $S_f$ ) dopo somministrazione di contrasto. Analogamente, sulle stesse sequenze sono state tracciate a mano altre tre ROI di  $10 \text{ mm}^2$  posizionate sul tessuto sano del grasso mesenterico locale, sia della fossa ischioanale che del gluteo, ed è stata calcolata la media dei valori come stima dell'intensità del segnale nel tessuto sano dopo somministrazione di mezzo di contrasto ( $S_{hf}$ ).

E' stato quindi determinata la percentuale di incremento (PI) dell'intensità del segnale della fistola rapportata all'intensità di segnale del tessuto sano, indicato come  $PI = (S_f - S_{hf}) \times 100 / S_{hf}$ . Questo parametro è stato elaborato e proposto dagli autori per esprimere il grado di concordanza dell'enhancement del mezzo di contrasto della fistola in relazione a quello del tessuto perianale sano. Nei pazienti con più di una fistola è stato calcolato il PI di ciascun tramite, posto  $S_f$  di ciascun tramite fosse diverso e considerando lo stesso  $S_{hf}$ .



	<b>TR/TE</b>	<b>thickness/GAP</b>	<b>FOV</b>	<b>MATRIX</b>	<b>FLIP ANGLE</b>	<b>SCAN TIME</b>
<b>T2 SAG TSE</b>	3385/100	6/0.6	375	256 x 512	90	2.36
<b>T2 TRA TSE</b>	3808/100	6/0.6	375	256 x 512	90	3.52
<b>T1 COR SE</b>	495/15	6/0.6	380	256 x 512	90	1.47
<b>T2 TRA TSE SPIR</b>	4276/100	6/0.6	375	256 x 512	90	4.20
<b>T2 COR TSE SPIR</b>	4276/100	6/0.6	380	256 x 512	90	2.38
<b>T1 TRA SE SPIR</b>	495/15	6/0.6	375	256 x 512	90	3.35
<b>T1 COR SE SPIR</b>	495/15	6/0.6	380	256 x 512	90	3.35

**Tabella 4.** Protocollo MRI. TSE, turbo spin echo; SE, spin echo; SPIR, spectral presaturation inversion recovery; TR/TE, repetition time(msec)/echo time(msec); FOV, field of view (mm); slice thickness (mm); scan time (minutes).

#### **Analisi statistica**

I risultati sono stati espressi come medie e deviazioni standard e come mediana. Il confronto tra i valori di attività della malattia perianali valutati con risonanza magnetica ed ecografia (elastografia e CEUS) nei pazienti con FDA attiva ed in remissione è stato determinato mediante Test di Mann Whitney.

La correlazione tra l'attività clinica della malattia perianale valutata con PDAI e l'attività definita con risonanza magnetica ed ecografia, e la correlazione tra l'attività rilevata risonanza magnetica e con i vari parametri ecografici è stata determinata mediante coefficiente di correlazione dei ranghi di Spearman. Il valore di  $p < 0.05$  è stato considerato significativo.

E' stato inoltre determinato il grado di concordanza tra le varie determinazioni ecografiche per ognuno dei parametri CEUS ed elastografici considerati utilizzando test correlazione lineare di Pearson, confrontando a coppie i risultati delle varie misurazioni ed ottenendone la media delle 3 correlazioni. Inoltre per ogni variabile considerata è calcolato il coefficiente di variazione (Deviazione Standard / Media).

#### 4.4 Risultati

Sono stati inclusi nello studio 30 pazienti consecutivi. Tuttavia, è stato possibile effettuare un'indagine elastografica qualitativamente soddisfacente in 28 pazienti e la valutazione ecografica con contrasto in 23 pazienti. Dei restanti 7 pazienti non è stato possibile ottenere adeguata valutazione per problemi tecnici (ad es. impossibilità ad eseguire l'esame per assenza di adeguato accesso venoso, mancata o incompleta archiviazione del video-clip, scadente qualità delle immagini tale da pregiudicare la valutazione dell'enhancement contrasto grafico).

Analogamente, anche la MRI è risultata valutabile in 23 pazienti in quanto, in 7 di essi, la fistola risultava non visualizzabile o visualizzabile con immagini non ottimali per un'appropriata valutazione dell'attività.

Le caratteristiche cliniche dei pazienti inclusi nello studio sono elencate in tabella 5.

	n° pazienti	Percentuale (%)
<b>Terapie in atto</b>		
Osservazione clinica	19	63.3
Azatioprina	7	23.3
Terapia biologica	3	10
Immunosoppressori e biologici	1	3.3
Antibiotici a cicli	6	20
<b>Chirurgia</b>		
Posizionamento setone	6	20
<b>Attività di malattia</b>		
CDAI>150	6	20
Indici biochimici (PCR) elevati	6	20
FDA attiva	18	60

**Tabella 5.** Caratteristiche cliniche dei pazienti arruolati

Diciannove pazienti erano in regime di osservazione clinica, 7 in trattamento con immunosoppressori e 3 in trattamento con farmaci biologici, 1 con entrambe queste terapie. Sei pazienti assumevano al momento delle indagini trattamento antibiotico a

cicli, mentre 6 avevano già subito un intervento chirurgico per la malattia perianale ed erano portatori di setone.

La malattia intestinale si presentava attiva dal punto di vista clinico con Crohn Disease Activity Index (CDAI) > 150 in 6 pazienti e attiva dal punto di vista biochimico (PCR > 0.5 mg dl) in 6 pazienti.

### **FDA**

La malattia perianale si mostrava attiva secondo il FDA in 18 pazienti. La valutazione dell'attività clinica definita mediante MRI ha mostrato valori significativamente maggiori nei pazienti con fistola attiva rispetto ai pazienti con fistola quiescente (p=0.02). Allo stesso modo, i pazienti con fistola attiva presentavano all'elastografia un rapporto tra grado di densità della fistola rispetto al tessuto perianale significativamente inferiore rispetto a quella dei pazienti con malattia perianale inattiva (p=0.039). Al contrario le fistole attive non presentavano significative differenze per quanto riguarda i parametri di perfusione alla CEUS rispetto alle fistole non attive (Tabella 6).

	<b>Malattia attiva</b>	<b>Malattia quiescente</b>	<b>Valore di p</b>
<b>MRI Incremento %</b>	425 ± 146; 383	287 ± 260; 162	0.026
<b>CEUS Peak</b>	44.2 ± 30.8; 36.4	28.7 ± 14.1; 29.4	0.220
<b>CEUS TTP</b>	16.3 ± 10.8; 12.6	15.6 ± 6.15; 15.4	n.s.
<b>CEUS RBV</b>	454.5 ± 450.6; 483	479.1 ± 613; 339.1	n.s.
<b>CEUS RBF</b>	36.9 ± 35.4; 37.8	22.5 ± 22.5; 17.3	n.s.
<b>US Elasto – Blu</b>	0.60 ± 0.27; 0.53	0.97 ± 0.48; 1.01	0.039
<b>US – Grigio</b>	0.65 ± 0.2; 0.59	0.71 ± 0.32; 0.55	n.s.

**Tabella 6.** Parametri strumentali di attività di malattia perianale in pazienti con malattia perianale attiva e quiescente valutata mediante FDA (media ± DS, mediana).

## **PDAI**

La valutazione complessiva della malattia perianale definita mediante PDAI ha mostrato significativa correlazione solo con l'attività alla MRI ( $r=0.66$ ;  $p<0.05$ ) mentre non è emersa alcuna significativa correlazione con i parametri di perfusione alla CEUS e all'elastografia.

## **Valutazione CEUS ed elastografica, correlazione con MRI**

Nella valutazione CEUS dell'attività delle fistole perianali, abbiamo osservato marcata variabilità e modesta concordanza nella misurazione dei vari parametri considerati.

In particolare il parametro intensità dell'enhancement al picco (PEAK) mostrava variabilità media del 41%, con un range compreso tra 2 e 136%, e scarso coefficiente di correlazione medio (sec. Pearson) di 0.45.

Il parametro CEUS corrispondente al TTP mostra migliore variabilità media (28%, range 2-126%) e miglior, sebbene modesto, coefficiente di correlazione (0.82).

Anche i restanti parametri CEUS, RBV ed RBF, mostravano valori di variabilità da modesti a scarsi, compresi rispettivamente tra il 40% ed il 48%, e coefficiente di correlazione medio pari rispettivamente a 0.72 e 0.43.

Analoga ampia variabilità è stata anche riscontrata nella determinazione elastografica dell'elasticità cromatica, con coefficienti di correlazione medi rispettivamente pari a 59% e 38% e 27% e 19%.

La valutazione MRI dell'attività delle fistole perianali non presentava significativa correlazione con nessuno dei parametri CEUS considerati e con la valutazione elastografica o colorimetrica definite ecograficamente.

## **4.5 Discussione**

La gestione clinica del paziente affetto da morbo di Crohn perianale risulta notevolmente facilitata dall'identificazione delle fasi di attività di malattia: la valutazione morfologica e la definizione del grado di flogosi sono infatti elementi determinanti per l'impostazione del successivo programma terapeutico, per ottenere informazioni sulla risposta alla terapia o identificare situazioni tali da rendere necessario un approccio combinato farmacologico e chirurgico.

L'attività della malattia perianale può essere valutata con scores clinici quali PDAI ed FDA, che si basano sui dati clinici e sull'esplorazione perianale, o con metodiche strumentali quali risonanza magnetica con mezzo di contrasto e l'ecoendoscopia anorettale.

La Risonanza Magnetica è stata già da tempo riconosciuta come metodica di riferimento nella definizione anatomica e morfologica della patologia perianale e delle fistole ano/retto vaginali (75). Un incremento dell'enhancement nelle sequenze T1 pesate dopo somministrazione endovenosa di gadolinio è risultato indice affidabile di flogosi del tessuto in esame (100,101), rivelando l'aumentata perfusione tissutale e la maggiore permeabilità vascolare caratteristiche degli stati flogistici (102-103).

Anche con l'ecoendoscopia sono stati raggiunti risultati molto interessanti ed è stata già evidenziata la possibilità di ottenere informazioni sovrapponibili alla risonanza magnetica (77,78).

Rimanendo nel panorama ecografico, l'ecografia trans perineale si è recentemente affiancata alle tradizionali metodiche di imaging della regione perianale con dati preliminari sicuramente promettenti; metodica non invasiva, di facile accesso, con necessità di training relativamente breve, la TPUS consente di arricchire lo studio morfologico eseguito in condizioni basali con i dati della vascolarizzazione tissutale, mediante l'impiego di mezzo di contrasto per via endovenosa. Sono ormai diverse le esperienze che hanno impiegato l'ecografia con mezzo di contrasto (CEUS) per lo studio della parete intestinale nelle malattie infiammatorie intestinali, in particolare abbinando l'impiego di software dedicati in grado di fornire una valutazione anche quantitativa dei dati ottenuti, analogamente alla risonanza magnetica.

L'elastografia consente invece una valutazione dell'elasticità del tessuto, un parametro differente, ma comunque indicativo dello stato flogistico e già ampiamente utilizzato in altri settori.

Attualmente in letteratura non sono riportati studi che abbiano utilizzato l'ecografia trans perineale con studio contrastografico ed elastografia per definire l'attività della malattia perianale. Non è altresì noto se i dati sulla vascolarizzazione ottenuti con ecografia siano confrontabili con quelli ottenuti con MRI e se la perfusione di queste lesioni, valutata con entrambe le metodiche, sia legata all'attività della malattia perianale.

Con questo lavoro abbiamo indagato la possibile correlazione tra l'attività clinica

della malattia perianale nella malattia di Crohn, definita mediante FDA e PDAI, ed i reperti MRI ed ecografici potenzialmente indicativi di attività della malattia come l'enhancement tissutale e vascolarizzazione della fistola e l'elasticità della lesione.

Diversamente dalla risonanza magnetica, la CEUS con mezzo di contrasto, non possedendo fase interstiziale, valuta direttamente la perfusione nei capillari delle pareti della fistola in real-time. Con questa metodica sono stati considerati diversi parametri, quali il PEAK, valore massimo dell'intensità del segnale al passaggio del bolo di mezzo di contrasto, il TTP (Time-To-Peak), tempo di arrivo del mezzo di contrasto al suo massimo valore di video intensità (SI), l'RBV (Regional Blood Volume) corrispondente al volume ematico regionale, proporzionale all'area sotto la curva (A.U.C.) e da ultimo l'RBF (Regional Blood Flow), il flusso ematico regionale dato dal rapporto tra volume ematico regionale e tempo di transito medio. Tutti i parametri considerati hanno mostrato una ampia variabilità, tra il 40 ed il 48% per PEAK, RBV ed RBF, leggermente migliore per il TTP, con una variabilità media del 28%. Allo stesso modo anche la riproducibilità è risultata poco soddisfacente, andando da valori scarsi per il PEAK (coefficiente di correlazione medio secondo Pearson di 0.45) a valori modesti per il TTP (coefficiente di correlazione 0.82).

Naturalmente l'ampia variabilità e la bassa riproducibilità dei parametri più significativi inficia notevolmente le possibilità di valutazione con tale metodica: sebbene le esperienze con la CEUS nell'ambito delle malattie infiammatorie intestinali, sia nella malattia perianale che nello studio della parete intestinale, siano ancora relativamente circoscritte, si tratta di un dato mai riportato precedentemente e di notevole rilevanza, che impone la necessità di ricercare altri parametri o differenti tecniche di valutazione standardizzate e riproducibili.

Riguardo alla correlazione tra l'attività clinica ed i reperti MRI ed ecografici, è emersa una corrispondenza significativa tra FDA, PDAI e la risonanza magnetica, mentre l'elastografia correla soltanto con l'FDA.

Per ciò che riguarda la risonanza magnetica, la corrispondenza tra l'entità dell'enhancement delle lesioni ed il quadro clinico è già noto dalla letteratura e diversi lavori hanno anche recentemente confermato il ruolo della MRI nella valutazione della malattia perianale sia per la caratterizzazione morfologica delle lesioni e delle complicanze che per la valutazione dell'attività di malattia (75,76). Le scansioni ottenute generalmente nelle fasi tardive della vascolarizzazione offrono

pochi spunti per interpretare l'attività del tessuto, dal momento che il m.d.c. è già molto diluito e travasato nel letto interstiziale. Nella dynamic contrast material-enhanced MR, le immagini vengono invece acquisite nella fase di perfusione del tessuto, evidenziando dunque la risposta dinamica della lesione al m.d.c nella fase di wash-in e nella successiva distribuzione nello spazio extracellulare. E' stato osservato che le variazioni tempo-dipendenti del segnale correlano significativamente con vari indici di attività: l'entità massima dell'enhancement ad esempio, così come il volume della regione a maggiore captazione di contrasto, correlano infatti con l'attività biochimica stimata tramite PCR, e sono i pazienti con enhancement maggiore per intensità ed estensione dell'area interessata a mostrare un decorso di malattia più severo, con necessità di variazioni terapeutiche successive ed aumentato rischio di sviluppare ascessi. La MRI potrebbe quindi trovare indicazione non solo nella valutazione morfologica e di attività della malattia in un dato momento, ma anche per stratificare i pazienti in relazione ai parametri predittivi di recidiva.

Nel caso dell'elastografia, il PDAI non presenta una correlazione significativa, a differenza del FDA che correla significativamente sia con le variazioni dell'enhancement valutate in MRI, che con la densità del tessuto fistoloso definito mediante elastografia.

Nell'elastografia le lesioni attive secondo il FDA mostrano infatti una densità inferiore rispetto al tessuto circostante: il dato è sicuramente originale, ma comprensibile se consideriamo che la fistola è costituita da edema e tessuto di granulazione, ossia vasi e sangue, meno densi rispetto al tessuto circostante (adipe o muscolo). L'entità dell'elasticità tissutale viene resa visivamente con una mappa cromatica sovrapposta all'immagine ecografica statica: è possibile ottenere anche una valutazione quantitativa con specifici software di elaborazione, elemento questo rilevante per futuri studi.

Al contrario dell'FDA, il PDAI non trova alcuna correlazione con i dati elastografici. Questo potrebbe forse dipendere dal fatto che il PDAI fornisce una valutazione più completa della malattia perianale, che non si limita (come nel FDA) al semplice esame obiettivo perianale con presenza/assenza di drenaggio dalla fistola. Nel punteggio vengono infatti considerati anche altri fattori, solo indirettamente legati alla fistola ed assolutamente soggettivi, quali la limitazione dell'attività fisica o sessuale. Questo arricchisce il significato dello score nella gestione della malattia, ma

allontana dal dato obiettivo e diretto di valutazione della lesione isolata.

L'analisi elastografica è stata eseguita con due differenti valutazioni, analizzando l'immagine elastografica sia tradotta in scala di blu che in scala di grigi, senza trovare tuttavia una correlazione con il dato cromatico dei grigi. Il dato risulta in contrasto con quanto pubblicato in letteratura in due differenti esperienze, rispettivamente di Losco e Caprioli, che hanno utilizzato questo stesso metodo di analisi dell'immagine per valutare l'attività della malattia perianale con EUS.

Vanno tuttavia segnalate importanti differenze nei disegni degli studi: nel nostro lavoro è stata infatti utilizzata una casistica consecutiva, con inclusione anche di lesioni ascessuali. Inoltre, sebbene sia l'ecografia trans perineale che la AUS siano metodiche ecografiche, si tratta di indagini assolutamente differenti. Non da ultimo, in questo lavoro abbiamo considerato i dati relativi al tessuto patologico sempre e solo come rapporto con il tessuto sano circostante (grigio di fistola/grigio perifistola), così da evitare un possibile bias metodologico.

In conclusione, la risonanza magnetica con m.d.c. rappresenta attualmente la metodica più affidabile per la valutazione dell'attività della malattia perianale, con una correlazione ottima con i vari scores clinici e gli indici biochimici di malattia.

L'ecografia trans perineale rappresenta tuttavia una metodica con possibili importanti sviluppi nello studio dell'attività della patologia perianale nel morbo di Crohn. Lo studio della vascolarizzazione con m.d.c. della CEUS presenta attualmente l'importante limitazione di basarsi su parametri poco riproducibili e con eccessiva variabilità. Questo deve rappresentare uno stimolo sia per valutare eventuali ulteriori parametri impiegabili con la stessa metodica, o per identificare nuovi metodi ecografici per lo studio della vascolarizzazione tissutale.

Al contrario l'elastografia mostra risultati preliminari sicuramente già molto promettenti. L'indagine consente una valutazione real time, non invasiva, indolore, senza necessità di apparecchiature specifiche e soprattutto senza impiego di m.d.c. nonché a basso costo, ideale quindi nella gestione ambulatoriale del paziente. Saranno sicuramente necessari ulteriori esperienze con casistiche maggiori per poter confermare la nostra esperienza preliminare.



## ***Bibliografia***

1. Crohn BB, Ginzburg L, Oppenheimer GD. Regional ileitis: a pathologic and clinical entity. *J Am Med Assoc* 1932; 99: 1323–8.
2. Bissell AD. Localised chronic ulcerative colitis. *Ann Surg* 1934; 99 :957–66.
3. S. Vermeire, G. Van Assche, P. Rutgeerts. Perianal Crohn's disease: Classification and clinical evaluation. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 959–62.
4. Ingle SB, Loftus EV Jr. The natural history of perianal Crohn's disease. *Dig Liver Dis*. 2007; 39: 963-9.
5. Jeffery PJ, Parks AG, Ritchie JK. Treatment of hemorrhoids in patients with inflammatory bowel disease. *Lancet* 1977; 1: 1084–5.
6. Alexander-Williams J, Buchmann P. Perianal Crohn's disease. *World J Surg*. 1980; 4: 203-8
7. Keighley MR, Allan RN. Current status and influence of operation on perianal Crohn's disease. *Int J Colorectal Dis* 1986; 1: 104–7.
8. Madoff RD, Fleshman JW. AGA technical review on the diagnosis and care of patients with anal fissure. *Gastroenterology* 2003; 124: 235–45.
9. Gelbmann CM, Rogler G, Gross V, Gierend M, Bregenzer N, Andus T, Schölmerich J. Prior bowel resections, perianal disease, and a high initial Crohn's disease activity index are associated with corticosteroid resistance in active Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*. 2002; 97: 1438-45.
10. Schwartz DA, Loftus EV Jr, Tremaine WJ, Panaccione R, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. The natural history of fistulizing Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology* 2002; 122: 875-80.
11. Sandborn WJ, Fazio VW, Feagan BG, Hanauer SB. American gastroenterological association clinical practice committee AGA technical review on perianal Crohn's disease. *Gastroenterology* 2003; 125: 1508–30.
12. Parks A. The pathogenesis and treatment of fistula-in-ano. *Br Med J* 1961; 1: 463–9.
13. Hughes LE. Surgical pathology and management of ano-rectal Crohn's disease. *J R Soc Med* 1978; 71: 644–51.
14. Lewis RT, Maron DJ. Anorectal Crohn's disease. *Surg Clin North Am*. 2010; 90: 83-97.

15. Sjodahl RI, Myrelid P, Soderholm JD. Anal and rectal cancer in Crohn's disease. *Colorectal Dis* 2003; 5: 490–5.
16. Parks AG, Gordon PH, Hardcastle JD. A classification of fistula-in-ano. *Br J Surg* 1976; 63: 1–12.
17. American Gastroenterological Association Medical Position Statement: perianal Crohn's disease. *Gastroenterology* 2003; 125: 1503–7.
18. Sandborn WJ, Fazio VW, Feagan BG, Hanauer SB. AGA technical review on perianal Crohn's disease. *Gastroenterology* 2003; 125: 1508-30.
19. Wise PE, Schwartz DA. Management of perianal Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 426-30.
20. Ardizzone S, Bianchi Porro G. Perianal Crohn's disease: Overview. *Dig Liver Dis* 2007; 37: 957–8.
21. Schwartz DA, Wiersema MJ, Dudiak KM, Fletcher JC, Clain J, Tremaine WJ, Zinsmeister AR, Norton ID, Boardman LA, Devine RM, Wolff BG, Young-Fadok TM, Diehl NN, Pemberton JH, Sandborn WJ. A Comparison of endoscopic ultrasound, magnetic resonance imaging, and exam under anesthesia for evaluation of Crohn's disease fistulas. *Gastroenterology* 2001; 121: 1064-72.
22. Bernstein LH, Frank MS, Brandt LJ, et al. Healing of perineal Crohn's disease with metronidazole. *Gastroenterology* 1980; 79: 357–65.
23. Jakobovits J, Schuster MM. Metronidazole therapy for Crohn's disease and associated fistulae. *Am J Gastroenterol* 1984; 79: 533–40.
24. Brandt LJ, Bernstein LH, Boley SJ, Frank MS. Metronidazole therapy for perineal Crohn's disease: a follow-up study. *Gastroenterology* 1982; 83: 383-7.
25. Sandborn WJ, Present DH, Isaacs KL, Wolf DC, Greenberg E, Hanauer SB, Feagan BG, Mayer L, Johnson T, Galanko J, Martin C, Sandler RS. Tacrolimus for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease: a randomized, placebo- controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 125: 380–8.
26. Hart AL, Plamondon S, Kamm MA. Topical tacrolimus in the treatment of perianal Crohn's disease: exploratory randomized controlled trial. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 245–53.
27. Hanauer SB, Smith MB. Rapid closure of Crohn's disease fistulas with continuous intravenous cyclosporin A. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 646–9.

28. Lowry PW, Weaver AL, Tremaine WJ, Sandborn WJ. Combination therapy with oral tacrolimus (FK506) and azathioprine or 6-mercaptopurine for treatment-refractory Crohn's disease perianal fistulae. *Inflamm Bowel Dis* 1999; 5: 239–45.
29. Present D, Lichtiger SL. Efficacy of cyclosporine in treatment of fistula of Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 374–80.
30. Hinterleitner TA, Petritsch W, Aichbichler B, Fickert P, Ranner G, Krejs GJ. Combination of cyclosporine, azathioprine and prednisolone for perianal fistulas in Crohn's disease. *Z Gastroenterol* 1997; 35: 603–8.
31. Ochsenkuhn T, Goke B, Sackmann M. Combining infliximab with 6-mercaptopurine/azathioprine for fistula therapy in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2022–5.
32. Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, et al. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. *Lancet* 2002; 359: 1541–9.
33. Present DH, Rutgeerts P, Targan S, et al. Infliximab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 1398–405.
34. Ardizzone S, Colombo E, Maconi G, Bollani S, Manzionna G, Petrone MC, Bianchi Porro G. Infliximab in treatment of Crohn's disease: the Milan experience. *Dig Liver Dis* 2002; 34: 411-8
35. Orlando A, Colombo E, Kohn A, Biancone L, Rizzello F, Viscido A, Sostegni R, Benazzato L, Castiglione F, Papi C, Meucci G, Riegler G, Mocciaro F, Cassinotti A, Cosentino R, Geremia A, Morselli C, Angelucci E, Lavagna A, Rispo A, Bossa F, Scimeca D, Cottone M; Italian Multicentric Study Group on Infliximab. Infliximab in the treatment of Crohn's disease: predictors of response in an Italian multicentric open study. *Dig Liver Dis*. 2005; 37: 577-83.
36. Van Assche G, Vanbeckevoort D, Bielen D, Coremans G, Aerden I, Noman M, D'Hoore A, Penninckx F, Marchal G, Cornillie F, Rutgeerts P. Magnetic resonance imaging of the effects of infliximab on perianal fistulizing Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 332-9.
37. Ardizzone S, Maconi G, Colombo E, Manzionna G, Bollani S, Bianchi Porro G. Perianal fistulae following infliximab treatment: clinical and endosonographic outcome. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 91-6.

38. Regueiro M, Mardini H. Treatment of perianal fistulizing Crohn's disease with infliximab alone or as an adjunct to exam under anesthesia with seton placement. *Inflamm Bowel Dis* 2003; 9: 98-103.
39. Lichtiger SI. Healing of perianal fistulae by local injection of antibody to TNF. *Gastroenterology* 2008; 120(suppl):A3154.
40. Poggioli G, Laureti S, Pierangeli F, Rizzello F, Ugolini F, Gionchetti P, Campieri M. Local injection of Infliximab for the treatment of perianal Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 768-74.
41. Sandborn WJ, Fazio VW, Feagan BG, Hanauer SB. AGA technical review on perianal Crohn's disease. *Gastroenterology* 2003; 125: 1508-30.
42. Rutgeerts P. Review article: treatment of perianal fistulizing Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 Suppl 4: 106-10.
43. Ardizzone S, Maconi G, Cassinotti A, Massari A, Bianchi Porro G. Imaging of perianal Crohn's disease. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 970-8.
44. West RL, Dwarkasing S, Schouten WR, Hop WC, Hussain SM, Kuipers EJ. Hydrogen peroxide-enhanced three-dimensional endoanal ultrasonography and endoanal magnetic resonance imaging in evaluating perianal fistulas: agreement and patient preference. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 1319-24.
45. Schwartz DA, White CM, Wise PE, Herline AJ. Use of endoscopic ultrasound to guide combination medical and surgical therapy or patients with Crohn's perianal fistulas. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 727-32.
46. Giovannini M, Bories E, Moutardier V, Pesenti C, Guillemin A, Lelong B, Delpéro JR. Drainage of deep pelvic abscesses using therapeutic echo endoscopy. *Endoscopy* 2003; 35: 511-4.
47. Stoker J, Rociu E, Schouten WR, Lameris JS. Anovaginal and rectovaginal fistulas: endoluminal sonography versus endoluminal MR imaging. *Am J Roentgenol* 2002; 178: 737-41.
48. Scholefield JH, Berry DP, Armitage NC, Wastie ML. Magnetic resonance imaging in the management of fistula in ano. *Int J Colorectal Dis* 1997; 12: 276-9.
49. Buchanan GN, Halligan S, Taylor S, Williams A, Cohen R, Bartram C. MRI of fistula in ano: inter- and intraobserver agreement and effects of directed education. *Am J Roentgenol* 2004; 183: 135-40.

50. Mahjoubi B, Haizadch Kharazi H, Mirzaei R, Moghimi A, Changizi A. Diagnostic accuracy of body coil MRI in describing the characteristics of perianal fistulas. *Colorectal Dis* 2006; 8: 202–7.
51. Maconi G, Ardizzone S, Greco S, Radice E, Bezzio C, Bianchi Porro G. Transperineal Ultrasound in the Detection of Perianal and Rectovaginal Fistulae in Crohn's Disease. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2214–9.
52. Kleinübing H Jr, Jannini JF, Campos ACL, Pinho M, Ferreira LC. The role of transperineal ultrasonography in the assessment of the internal opening of cryptogenic anal fistula. *Tech Coloproctol* 2007; 11: 327–31.
53. Stewart LK, McGee J, Wilson SR. Transperineal and transvaginal sonography of perianal inflammatory disease. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 177: 627–32.
54. Mallouhi A, Bonatti H, Peer S, Lugger P, Conrad F, Bodner G. Detection and characterization of perianal inflammatory disease: accuracy of transperineal combined gray scale and colour Doppler sonography. *J Ultrasound Med* 2004; 23: 19–27.
55. Zbar AP, Oyetunji RO, Gill R. Transperineal versus hydrogen peroxide-enhanced endoanal ultrasonography in never operated and recurrent cryptogenic fistula-in-ano: a pilot study. *Tech Coloproctol* 2006; 10: 297–302.
56. Domkundwar SV, Shinagare AB. Role of transcutaneous perianal ultrasonography in evaluation of fistulas in ano. *J Ultrasound Med* 2007; 26: 29–36.
57. Halligan S, Stoker J. Imaging of fistula in ano. *Radiology* 2006; 239: 18–33.
58. Kuijpers HC, Schulpen T. Fistulography for fistula-in-ano. Is it useful? *Dis Colon Rectum* 1985; 28: 103–4.
59. Weisman RI, Orsay CP, Pearl RK, Abcarian H. The role of fistulography in fistula-in-ano. Report of five cases. *Dis Colon Rectum* 1991; 34: 181–4.
60. Guillaumin E, Jeffrey RB, Shea WJ, Asling CW, Goldberg HI. Perirectal inflammatory disease: CT findings. *Radiology* 1986; 161: 153–7.
61. Fishman EK, Wolf EJ, Jones B, Bayless TM, Siegelman SS. CT evaluation of Crohn's disease: effect on patient management. *Am J Roentgenol* 1987; 148: 537–40.
62. Yousem DM, Fishman EK, Jones B. Crohn's disease: perirectal and perianal findings at CT. *Radiology* 1988; 167: 331–4.

63. Mahadevan U, Marion JF, Present DH. Fistula response to methotrexate in Crohn's disease: a case series. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003; 18: 1003–8.
64. Bell SJ, Halligan S, Windsor ACJ, Williams AB, Wiesel P, Kamm MA. Response of fistulating Crohn's disease to infliximab treatment assessed by magnetic resonance imaging. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 387–93.
65. Topstad DR, Panaccione R, Heine JA, Johnson DR, MacLean AR, Buie WD. Combined seton placement, infliximab, and maintenance immunosuppressives improve healing rate in fistulizing anorectal Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 577–83.
66. Schroder O, Blumenstein I, Schulte-Bockholt A, Stein J. Combining infliximab and methotrexate in fistulizing Crohn's disease resistant or intolerant to azathioprine. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 295–301.
67. Talbot C, Sagar SM, Johnston MJ, Finan PJ, Burke D. Infliximab in the surgical management of complex fistulating anal Crohn's disease. *Colorectal Dis* 2005; 7: 164–8.
68. Allan A, Linares L, Spooner HA, Alexander-Williams J. Clinical index to quantitate symptoms of perianal Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 1992; 35: 656–61.
69. Dejaco C, Harrer M, Waldhoer T, Miehsler W, Vogelsang H, Reinisch W. Antibiotics and azathioprine for the treatment of perianal fistulas in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 1113–20.
70. Gonzalez-lama Y, Abreu L, Vera MI, Pastrana M, Tabernero S, Revilla J, Durán JG, Escartin P. Long-term oral tacrolimus therapy in refractory to infliximab fistulizing Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 8–15.
71. Caprilli R, Gassull MA, Escher JC, Moser G, Munkholm P, Forbes A, Hommes DW, Lochs H, Angelucci E, Cocco A, Vucelic B, Hildebrand H, Kolacek S, Riis L, Lukas M, de Franchis R, Hamilton M, Jantschek G, Michetti P, O'Morain C, Anwar MM, Freitas JL, Mouzas IA, Baert F, Mitchell R, Hawkey CJ; European Crohn's and Colitis Organisation. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: special situations. *Gut* 2006; 55(Suppl. 1): i36–58.
72. Beets-Tan RG, Beets GL, van der Hoop AG, Kessels AG, Vliegen RF, Baeten CG, van Engelshoven JM. Preoperative MR imaging of anal fistulas: does it really help the surgeon? *Radiology* 2001; 218: 75–84.

73. Sahni VA, Ahmad R, Burling D. Which method is best for imaging of perianal fistula? *Abdom Imaging* 2008; 33: 26–30.
74. Spencer JA, Ward J, Beckingham IJ, Adams C, Ambrose NS. Dynamic contrast-enhanced MR imaging of perianal fistulas. *Am J Roentgenol* 1996; 167: 735–41.
75. Horsthuis K, Lavini C, Bipat S, Stokkers PC, Stoker J. Perianal Crohn disease: evaluation of dynamic contrast-enhanced MR imaging as an indicator of disease activity. *Radiology* 2009; 251: 380–7.
76. Villa C, Pompili G, Franceschelli G, Munari A, Radaelli G, Maconi G, Cornalba GP. Role of magnetic resonance imaging in evaluation of the activity of perianal Crohn's disease. *European Journal of Radiology* 2011. In press.
77. Losco A, Viganò C, Conte D, Cesana BM, Basilisco G. Assessing the activity of perianal Crohn's disease: comparison of clinical indices and computer-assisted anal ultrasound. *Infamm Bowel Dis* 2009; 15: 742-9.
78. Caprioli F, Losco A, Viganò C, Conte D, Biondetti P, Forzenigo LV, Basilisco G. Computer-assisted evaluation of perianal fistula activity by means of anal ultrasound in patients with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1551–8.
79. De Pascale A, Garofalo G, Perna M, Priola S, Fava C. Utilità del mezzo di contrasto nel monitoraggio ecografico dei pazienti affetti da morbo di Crohn. *Radiol Med* 2006; 111: 539-50.
80. Giangregorio F, Bertone A, Fanigliulo L, Comparato G, Aragona G, Marinone MG, Sbolli G, Tansini P, Fornari F. Predictive value of time intensity curves obtained with contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) in the follow up of 30 patients with Crohn's disease. *Journal of Ultrasound*
81. Kratzer W, Schmidt SA, Mittrach C, Haenle MM, Mason RA, Von Tirpitz C, Pauls S. Contrast-enhanced wideband harmonic imaging ultrasound (SonoVue): a new technique for quantifying bowel wall vascularity in Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 985-91.
82. Robotti D, Cammarota T, Deboni P, Sarno A, Astegiano M. Activity of Crohn disease: value of Color-Power-Doppler and contrast-enhanced ultrasonography. *Abdom Imaging* 2004; 29: 648-52.
83. Maconi G, Radice E, Greco S, Bianchi Porro G. Bowel ultrasound in Crohn's disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 93-112.

84. Maconi G, Sampietro GM, Russo A, Bollani S, Cristaldi M, Parente F, Dottorini F, Bianchi Porro G. The vascularity of internal fistulae in Crohn's disease: an in vivo power Doppler ultrasonography assessment. *Gut* 2002; 50: 496–500.
85. Janssen J. (E)US elastography: current status and perspectives. *Z Gastroenterol* 2008; 46: 572-9.
86. Janssen J, Dietrich CF, Will U, Greiner L. Endosonographic elastography in the diagnosis of mediastinal lymph nodes. *Endoscopy* 2007; 39:952-7.
87. Itoh A, Ueno E, Tohno E, Kamma H, Takahashi H, Shiina T, Yamakawa M, Matsumura T. Breast disease: clinical application of US elastography for diagnosis. *Radiology* 2006; 239: 341-50.
88. Giovannini M, Hookey LC, Bories E, Pesenti C, Monges G, Delpero JR. Endoscopic ultrasound elastography: the first step towards virtual biopsy? Preliminary results in 49 patients. *Endoscopy* 2006; 38: 344-8.
89. Rustemovic N, Cukovic-Cavka S, Brinar M, Radić D, Opacic M, Ostojic R, Vucelic B. A pilot study of transrectal endoscopic ultrasound elastography in inflammatory bowel disease. *BMC Gastroenterol.* 2011; 11: 113.
90. West RL, van der Woude CJ, Hansen BE, Felt-Bersma RJ, van Tilburg AJ, Drapers JA, Kuipers EJ. Clinical and endosonographic effect of ciprofloxacin on the treatment of perianal fistulae in Crohn's disease with infliximab: a double-blind placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 1329–36.
91. Hyder SA, Travis SPL, Jewell DP, McC Mortensen NJ, George BD. Fistulating anal Crohn's disease: results of combined surgical and infliximab treatment. *Dis Colon Rectum* 2006; 49: 1–5.
92. Maconi G, Ardizzone S, Greco S, Radice E, Bezzio C, Bianchi Porro G. Transperineal ultrasound in the detection of perianal and rectovaginal fistulae in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2214-9.
93. Zbar AP, Yeh D. Advantages and pitfalls in transperineal sonography for complicated perirectal sepsis. *Tech Coloproctol.* 2008; 12: 264-5.
94. Rasul I, Wilson SR, MacRae H, Irwin S, Greenberg GR. Clinical and radiological responses after infliximab treatment for perianal fistulizing Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 82-8.



95. Wilson SR, Burns PN. Microbubble contrast for radiological imaging: 2. Applications. *Ultrasound Q* 2006; 22: 15-8.
96. Burns PN, Wilson SR. Microbubble contrast for radiological imaging: 1. Principles. *Ultrasound Q* 2006; 22: 5-13.
97. Migaleddu V, Scanu AM, Quiaia E, Rocca PC, Dore MP, Scanu D, Azzali L, Virgilio G. Contrast-enhanced ultrasonographic evaluation of inflammatory activity in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2009; 137: 43-52.
98. Ripollés T, Martínez MJ, Paredes JM, Blanc E, Flors L, Delgado F. Crohn disease: correlation of findings at contrast-enhanced US with severity at endoscopy. *Radiology* 2009; 253: 241-8.
99. Pauls S, Gabelmann A, Schmidt SA, Rieber A, Mittrach C, Haenle MM, Brambs HJ, Kratzer W. Evaluating bowel wall vascularity in Crohn's disease: a comparison of dynamic MRI and wideband harmonic imaging contrast-enhanced low MI ultrasound. *Eur Radiol* 2006; 16: 2410-7.
100. Spencer JA, Ward J, Beckingham IJ, Adams C, Ambrose NS. Dynamic contrast-enhanced MR imaging of perianal fistulas. *AJR Am J Roentgenol* 1996;167:735–741.
101. Halligan S, Stoker J. Imaging of fistula in ano. *Radiology* 2006; 239: 18–33.
102. Weinmann HJ, Brasch RC, Press WR, Wesbye GE. Characteristics of gadolinium- DTPA complex: a potential NMR contrast agent. *AJR Am J Roentgenol* 1984; 142: 619–24.
103. Brahme F, Lindstrom C. A comparative radiographic and pathological study of intestinal vaso-architecture in Crohn's disease and in ulcerative colitis. *Gut* 1970; 11: 928–40.

*Un ringraziamento di tutto cuore*

*a Gianni, per la sua pazienza e disponibilità,*

*a mio marito Roberto, che per la terza volta mi ha supportato/sopportato nella stesura di una tesi,*

*ed al mio piccolo Bo, che mi ha tenuto compagnia, a modo suo...*