

Aus dem Institut für Röntgendiagnostik  
der Universität Würzburg  
Abteilung für Pädiatrische Radiologie  
Leiter: Prof. Dr. med. K. Darge

**Diagnostik des Vesikoureteralen Reflux:  
In-vitro Vergleich eines Ultraschallkontrastmittels  
der 1. mit einem der 2. Generation**

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Julia Robrecht  
aus Göttingen

Würzburg, November 2006

Referent: Prof. Dr. med. Kassa Darge

Koreferent: Prof. Dr. med. Hans-Michael Straßburg

Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 28. März 2007

Die Promovendin ist Ärztin

Meinen Eltern gewidmet

# 1. Inhaltsverzeichnis

## Abkürzungsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	1
<b>2. Material und Methoden</b>	4
<b>2.1 Herstellen der Lösungen</b>	5
2.1.1 Herstellen der Levovist <sup>®</sup> -suspension	5
2.1.2 Herstellen der Levovist <sup>®</sup> -Lösungen	6
2.1.3 Herstellen der SonoVue <sup>®</sup> -suspension	6
2.1.4 Herstellen der SonoVue <sup>®</sup> -Lösungen	7
<b>2.2 Versuchsaufbau</b>	9
<b>2.3 Versuchsdurchführung</b>	10
2.3.1 Voreinstellungen am Gerät	10
2.3.1.1 Fokus	11
2.3.1.2 Abbildungsmodalitäten	11
2.3.1.3 Sendeleistung	11
2.3.2 Versuchsablauf	12
2.3.3 Versuche zur Dosisfindung von SonoVue <sup>®</sup>	15
2.3.4 Vergleich von SonoVue <sup>®</sup> mit dem Kontrastmittel Levovist <sup>®</sup>	16
2.3.5 Weitere Versuche mit SonoVue <sup>®</sup> bei Einstellen verschiedener Parameter	16
2.3.6 Weitere Versuche mit Levovist <sup>®</sup> bei Einstellen verschiedener Parameter	17
<b>2.4 Versuchsauswertung</b>	18
<b>3. Ergebnisse</b>	19
<b>3.1 Dosisfindung</b>	19

3.1.1 Kontrastdauer von SonoVue® unter Verwendung verschiedener Konzentrationen innerhalb einer Abbildungsmodalität	19
3.1.2 Kontrastdauer von SonoVue® bei Harmonic Imaging beim Umschalten von low MI auf high MI	21
3.1.2.1 Vergleich von ECI low MI und ECI high MI	21
3.1.2.2 Vergleich von THI low MI und THI high MI	21
3.1.3 Vergleich der Kontrastdauer von SonoVue® bei Fundamental und Harmonic Imaging	22
3.1.3.1 Kontrastdauer von SonoVue® unter Verwendung verschiedener Abbildungsmodalitäten innerhalb einer Konzentration [1%]	22
3.1.3.1.1 Vergleich der Abbildungsmodalitäten Fundamental und ECI	23
3.1.3.1.2 Vergleich der Abbildungsmodalitäten Fundamental und THI	23
<b>3.2 SonoVue® im Vergleich zu Levovist®</b>	24
3.2.1 Kontrastdauer von Levovist® unter Verwendung verschiedener Abbildungsmodalitäten innerhalb einer Konzentration [5%]	24
3.2.2 Kontrastdauer von SonoVue® [1%] und Levovist® [5%] im Vergleich	26
<b>3.3 Weitere Versuche mit den Kontrastmitteln SonoVue® und Levovist®</b>	27
3.3.1 Einfluss von Urin auf die Kontrastdauer von SonoVue® [0,25%] und Levovist® [5%]	28
3.3.2 Kontrastdauer von SonoVue® [0,25%] und Levovist® [5%] unter Verwendung von NaCl aus einem Glas- und Plastikbehälter	29
3.3.3 Kontrastdauer im Zeitverlauf von 24h bei SonoVue® [0,25%] und Levovist® [5%] im Vergleich	30

<b>3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse</b>	31
<b>4. Diskussion</b>	33
<b>4.1 Sonographische Refluxprüfung</b>	33
4.1.1 Sonographische Refluxprüfung mit der fundamentalen Abbildungsmodalität im Vergleich zur MCU	33
4.1.2 Vergleich von MUS und MCU	35
4.1.3 Indikationen für die MUS im Vergleich zur MCU	36
<b>4.2 Harmonic Imaging – eine neue Ultraschallmodalität</b>	37
4.2.1 Physikalische und technische Grundlagen von Harmonic Imaging	37
4.2.2 Interaktion von Kontrastmittel und Harmonic Imaging	39
4.2.3 Sonographische Refluxprüfung mit Harmonic Imaging- Vorteile gegenüber der fundamentalen Abbildungsmodalität	42
<b>4.3 Herkömmliche und neue Kontrastmittel in der     Refluxdiagnostik</b>	43
4.3.1 Das Kontrastmittel Levovist®	44
4.3.2 Das Kontrastmittel SonoVue®	45
<b>4.4 Versuchsaufbau</b>	46
<b>4.5 Die Kontrastmittel SonoVue® und Levovist® im Vergleich</b>	46
4.5.1 Dosisfindung: SonoVue®	46
4.5.2 Physiko-chemische Eigenschaften von Levovist® und SonoVue®	47
4.5.3 Stabilität: Kontrastdauer von SonoVue® und Levovist® im Zeitverlauf von 24 Stunden	50
4.5.4 Zusatzversuche	51
4.5.4.1 Interaktion von Kontrastmittel und 0.9 %igem NaCl	51
4.5.4.2 Interaktion von Kontrastmittel und Urin	53

<b>5. Zusammenfassung</b>	54
<b>6. Anhang</b>	57
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	59
<b>Danksagung</b>	
<b>Lebenslauf</b>	

## **Abkürzungsverzeichnis**

CHI	Contrast Harmonic Imaging
ECI	Echo Contrast Imaging
MCU	Miktionscysturethrographie
MI	Mechanical Index
MUS	Miktionsurosonographie
RNC	Radionuklidcystographie
SAE	Stimulierte akustische Emission
THI	Tissue Harmonic Imaging
VUR	Vesikoureteraler Reflux



## 1. EINLEITUNG

Der vesikoureterale Reflux (VUR) ist eine im Kindesalter häufig auftretende Erkrankung. Besonders in Zusammenhang mit Harnwegsinfekten kann er zu Nierenschäden führen [9]. In bis zu 20% der arteriellen Hypertonieerkrankungen und in 15-25% der Fälle von schwerer Niereninsuffizienz im Kindes- und jungen Erwachsenenalter ist die Refluxnephropathie eine mögliche Ursache [33,45]. Daher ist verständlich, dass eine frühe Erkennung sowie adäquate Behandlung des VUR von großer Bedeutung ist.

Zur Zeit ist das führende Verfahren zur Diagnostik eines VUR die Röntgen-Miktionszystourethrographie (MCU). Problem dieser Untersuchungsmethode ist jedoch die hohe zu applizierende Strahlendosis. Durch die Einführung der digitalen und gepulsten Durchleuchtung in den letzten Jahren konnte dabei zwar eine deutliche Reduktion der Strahlendosis erzielt werden, die direkte Lage der Gonaden im Primärstrahlengang ist jedoch nach wie vor nicht zu verhindern [14]. Um jegliche Strahlenexposition zu vermeiden, hat man versucht den Ultraschall, als sogenannte Miktionsurosonographie (MUS), in der Diagnostik des VUR zu etablieren. Zunächst wurden Versuche unternommen, in denen man die Blase mit physiologischer Kochsalzlösung füllte und die jeweilige Erweiterung des Nierenbeckens zur Diagnose nutzte [51,34]. Daneben wurde die Applikation von Luftbläschen untersucht: zum einen wurde physiologische Kochsalzlösung vor Injektion geschüttelt, zum anderen wurde Kochsalzlösung mit Kohlendioxid versetzt [32,27]. Diese Methoden hatten jedoch ihre Einschränkungen besonders in der Erkennung niedriger Refluxgrade sowie in der überzeugenden Darstellung eines Refluxes bzw. eines Refluxausschlusses für nicht bei der Untersuchung anwesenden Personen [18].

Eine Verbesserung der Refluxdiagnostik mittels Miktionsurosonographie (MUS) zeigte sich mit der Einführung von sogenannten Kontrastverstärkern („Ultraschallkontrastmittel“). Die Blase wurde hierzu mit Kontrastmittel und NaCl-Lösung gefüllt und Blase, Harnleiter sowie Niere geschallt. Ein Reflux

wurde dann diagnostiziert, wenn sich Kontrastmittelmikrobläschen im Harnleiter oder Nierenbecken darstellten [18].

Das zunächst getestete Kontrastmittel Echovist<sup>®</sup> (Schering, Berlin, Deutschland) hatte den Nachteil einer sehr kurzen Halbwertszeit, so dass dies in vielen Fällen die Untersuchungsdauer limitierte. Erst mit Einführung von Kontrastmitteln mit stabilisierten Mikrobläschen, wie z.B. Levovist<sup>®</sup>, eröffneten sich neue Perspektiven in der sonographischen Refluxprüfung, da diese Kontrastmittel durch eine erhöhte Stabilität eine längere Untersuchungsdauer ermöglichten [16].

Das Ultraschallkontrastmittel Levovist<sup>®</sup> ist ein auf Galaktose basierendes Kontrastmittel, dessen Mikrobläschen durch Palmitinsäuremoleküle stabilisiert sind [26]. Diese Stabilisierung führt zu einer erhöhten Widerstandsfähigkeit der Mikrobläschen und beugt so deren Zerstörung vor. Die daraus resultierende Kontrastdauer von mehr als einer halben Stunde ermöglichte eine ausreichend lange Untersuchungszeit und führte zu einer deutlichen Erleichterung der Detektion eines VUR mittels MUS, so dass Levovist<sup>®</sup> als Routinekontrastmittel für die MUS eingeführt wurde [18,21]. Hauptnachteil dieses Kontrastmittels sind jedoch die deutlich höheren Kosten im Vergleich zu Röntgenkontrastmitteln. Um dieses Problem zu beheben, sind Versuche unternommen worden, durch Reduktion der Kontrastmitteldosis eine Verringerung der Kosten zu erreichen. Untersucht wurde, ob durch den Einsatz neuer Untersuchungsmethoden, wie z.B. Harmonic Imaging, eine Dosisreduktion erreicht werden kann. Darge et al. zeigten, dass durch Anwendung von Harmonic Imaging die Konzentration von Levovist<sup>®</sup> von 10% des Blasenvolumens auf 5% des Blasenvolumens herabgesetzt werden kann [20].

Eine weitere Dosis- und damit u.a. eine Kostenreduktion erhoffte man sich durch Entwicklung von neuen Kontrastmitteln, sogenannte Kontrastmittel der 2. Generation, wie z.B. SonoVue<sup>®</sup>. Die von einer Phospholipideinzelschicht umgebenen und mit Palmitinsäure stabilisierten Mikrobläschen des 2. Generationskontrastmittels SonoVue<sup>®</sup> bestehen aus dem Gas Schwefelhexafluorid. Dieses Gas ist sehr viel schwerer wasserlöslich als Luft, aus dem die Mikrobläschen von Levovist<sup>®</sup> bestehen, so dass daraus eine

erhöhte Stabilität der Mikrobläschen resultieren soll [48,49]. Darüber hinaus soll SonoVue® bessere akustische Eigenschaften als Levovist® aufweisen. Diese Eigenschaften könnten somit bewirken, dass SonoVue® in einer sehr viel geringeren Dosis verwendet werden kann.

Thema der vorliegenden Arbeit war es nun, dieses neu entwickelte 2. Generationskontrastmittel SonoVue® mit dem in der Routine verwendeten 1. Generationskontrastmittel Levovist® erstmals in-vitro zu vergleichen. Ziel war es hierbei zu untersuchen:

- 1) Ob SonoVue® trotz Verwendung einer deutlich geringeren Dosis als Levovist® eine ausreichend lange in-vitro Kontrastdauer erreicht,
- 2) wie sich die Kontrastdauer im Vergleich zu Levovist® verändert bei Anwendung von Harmonic Imaging bei verschiedenen Einstellungen und
- 3) wie sich die Kontrastdauer in einem Zeitverlauf von 24 Stunden als Maß für die Stabilität der Mikrobläschen verhält.

## 2. MATERIAL UND METHODEN

Die Experimente wurden in-vitro durchgeführt. Dabei wurde die in-vivo durchgeführte Refluxprüfung simuliert. Als Ultraschallkontrastmittel verwendeten wir SonoVue<sup>®</sup> (Bracco, Mailand, Italien) und Levovist<sup>®</sup> (Schering, Berlin, Deutschland). Für die sonographische Untersuchung stand das Ultraschallgerät „Sonoline-Elegra“ der Firma Siemens (Siemens, Issaquah, USA) zur Verfügung. Geschallt wurde kontinuierlich mit einem 7,5 MHz Multifrequenz-Linearschallkopf bei unterschiedlich eingestellten Abbildungsmodalitäten.

Als Vergleichsparameter diente die Kontrastdauer. Diese war definiert als der Zeitraum vom 1. Bild (=100%) bis zu dem Zeitpunkt, an dem auf mehr als 50% der Bildfläche keine echogenen Mikrobläschen mehr nachweisbar waren.

Zunächst wurde eine Dosisfindung für das Kontrastmittel SonoVue<sup>®</sup> vorgenommen. Anschließend wurde der Einfluss verschiedener Parameter auf die Kontrastdauer untersucht. Hierzu wurden verschiedene Lösungen hergestellt, zum einen mit einer 0.9%igen NaCl-Lösung aus Glas- und Plastik-Behältern, zum anderen mit Mittelstrahlurin.

Alle Experimente wurden mittels Zahlen- und Buchstabenkombinationen codiert und archiviert. Eine Buchstabenkombination sah wie folgt aus:

### **Beispiel: Exp.L.F5A.A.:**

Exp.L = Experiment Levovist<sup>®</sup>

F = Abbildungsmodalität: Fundamental

5 = Konzentration: 5%

A = Durchgang 1 [A-F]

## 2.1 Herstellen der Lösungen

### 2.1.1 Herstellen der Levovist®suspension:

Nach Herstellerangaben wurde eine Levovist®suspension mit einer Konzentration von 300 mg/ml hergestellt. Dies entsprach der in-vivo Konzentration für die MUS. Zum Herstellen der Suspension wurden zunächst 7 ml des beigefügten Wassers für Injektionszwecke in die ebenfalls beigefügte Spritze aufgezogen. Anschließend wurde die mit Wasser gefüllte Spritze über einen Minispike (Sterifix, B.Braun, Melsungen, Deutschland) in die Granulatflasche (2,5g Granulat) entleert und durch sofortiges kräftiges Schütteln vermisch. Nach 10 Sekunden Schütteln von Hand wurde die entstehende homogene milchig-weiße Suspension für zwei Minuten stehen gelassen. Das resultierende Gesamtvolumen betrug 8,5 ml.

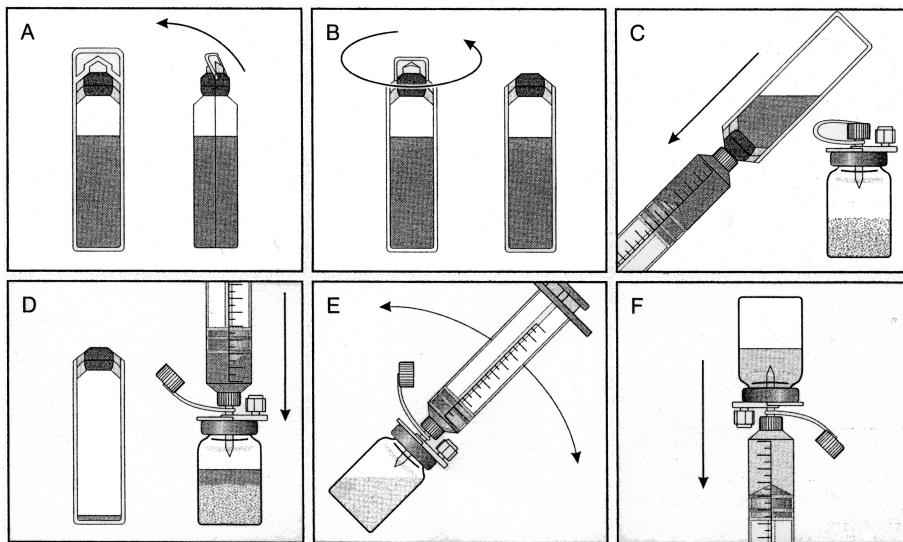


Abb.2.1: Herstellen der Levovist®suspension

## 2.1.2 Herstellen der Levovist®-Lösungen

### a) NaCl aus einem Plastikbehälter

10ml 0.9%iger NaCl-Lösung (Baxter GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) aus einem Plastikbehälter wurden in eine 20ml Perfusorspritze (B.Braun, Melsungen, Deutschland) aufgezogen. Anschließend wurde 1ml der Levovist®suspension dazu gegeben und die Spritze mit 0.9%iger NaCl-Lösung auf ein Gesamtvolumen von 20ml aufgefüllt. Dies entsprach einer Levovist® Konzentration von 5%. Nach Durchmischen der Kochsalzlösung mit der Suspension durch leichtes Schwenken wurden eventuell sichtbare Luftblasen entfernt, um Bildartefakte zu vermeiden. Die Lösung wurde nun entsprechend dem Versuchsaufbau (siehe Abschnitt 2.2) platziert.

### b) NaCl aus einem Glasbehälter

Das Herstellen der Lösung entsprach den Angaben aus a). Anstelle der 0.9%igen NaCl-Lösung aus einem Plastikbehälter wurde hier 0.9%ige NaCl-Lösung aus einem Glasbehälter (Fresenius, Bad Homburg, Deutschland) verwendet.

### c) Herstellen der Levovist®-Urin -Lösung

Das Herstellen der Lösung entsprach den Angaben aus a). Anstelle der 0.9%igen NaCl-Lösung aus einem Plastikbehälter wurde hier Mittelstrahlurin verwendet.

## 2.1.3 Herstellen der SonoVue®suspension:

Nach Herstellerangaben wurde eine SonoVue®suspension mit einer Konzentration von 8 µl/ml hergestellt. Dazu wurde das beigefügte Lösungsmittel (0.9%ige NaCl-Lösung) mit einem Volumen von 5ml über ein MiniSpike Transfer System in die Durchstechflasche entleert. Nach 20 Sekunden kräftigem Schütteln entstand eine milchig-weiße Suspension mit Mikrobäschen des Gases Schwefelhexafluorid. Blieb die Lösung länger als 15 Minuten stehen,

setzten sich die Mikrobläschen an der Oberfläche ab. Vor erneuter Verwendung wurde daher durch Schütteln der Lösung eine homogene milchig-weiße Lösung wiederhergestellt.

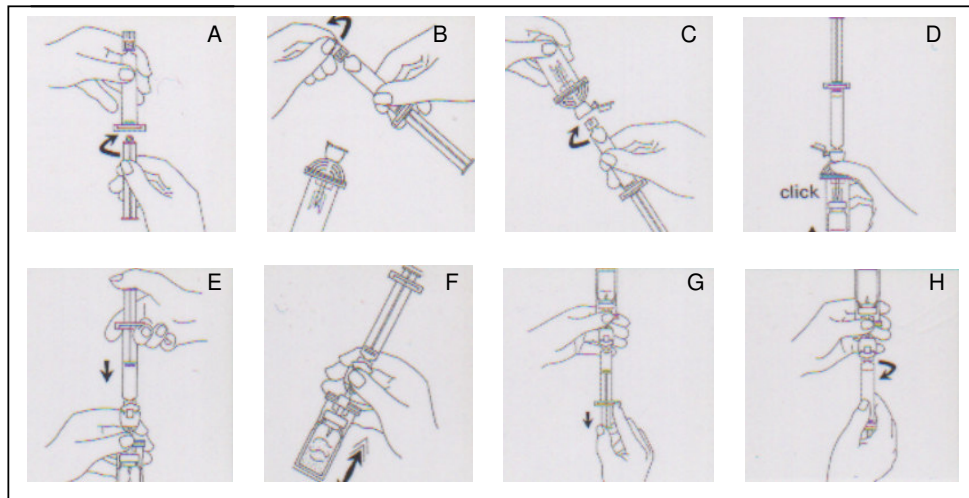


Abb.2.2: Herstellen der SonoVue<sup>®</sup>suspension

### 2.1.4 Herstellen der SonoVue<sup>®</sup>-Lösungen:

#### a) NaCl aus einem Plastikbehälter

Es wurden Lösungen der Konzentrationen 0.25%, 0.5% und 1% erstellt. Dabei wurde wie folgt vorgegangen: in eine 20ml Perfusorspritze wurden 10ml der 0.9%igen NaCl-Lösung aus einem Plastikbehälter aufgezogen. Dann wurde je nach Versuch (siehe Abschnitt 2.3) 50 $\mu$ l, 100 $\mu$ l oder 200 $\mu$ l der SonoVue<sup>®</sup>suspension mittels einer 100 $\mu$ l Pipette (Eppendorf GmbH, Hamburg, Deutschland) dazu gegeben. Dazu wurden zunächst 4 Tropfen des Kontrastmittels in ein Glasgefäß gegeben, von denen wir dann je nach Versuch 50 $\mu$ l, 100 $\mu$ l oder 200 $\mu$ l herauspipetierten und in die 20ml Spritze zur NaCl-Lösung gaben. Anschließend wurde die Spritze mit NaCl-Lösung auf ein Gesamtvolumen von 20ml aufgefüllt, so dass eine SonoVue<sup>®</sup>-Konzentration von 0.25% (=50 $\mu$ l/20ml), 0.5% (=100 $\mu$ l/20ml) oder 1% (=200 $\mu$ l/20ml) entstand. Nach Durchmischen der Kochsalzlösung mit der

Suspension durch leichtes Schwenken, wurden auch hier eventuell sichtbare Luftblasen entfernt, um Bildartefakte zu vermeiden. Die Lösung wurde nun entsprechend dem Versuchsaufbau (siehe Abschnitt 2.2) platziert.

b) NaCl aus einem Glasbehälter

Das Herstellen der Lösung entsprach den Angaben aus a). Anstelle der 0.9%igen NaCl-Lösung aus einem Plastikbehälter wurde hier eine 0.9%ige NaCl-Lösung aus einem Glasbehälter verwendet. SonoVue<sup>®</sup> wurde in einem Volumen von 50µl verwendet, was einer Konzentration von 0.25% entsprach.

c) Herstellen der SonoVue<sup>®</sup>-Urin-Lösung

Das Herstellen der Lösung entsprach den Angaben aus a). Anstelle der NaCl-Lösung aus einem Plastikbehälter wurde hier Mittelstrahlurin verwendet. SonoVue<sup>®</sup> wurde in einem Volumen von 50µl verwendet, was einer Konzentration von 0.25% entsprach.



## 2.2 Versuchsaufbau

Die Spritze wurde in die Klemme am Stativ so eingespannt, dass die Skalierung dem Untersucher zugewandt war. Danach wurde das Stativ einschließlich der Spritze 4x hin und her geschwenkt.

Der mit Ultraschall-Kontaktgel (Caesar&Lorenz, Hilden, Deutschland) bestrichene und in die zweite Klemme eingespannte Schallkopf wurde so unter die Spritze platziert, dass er sich zwischen der Markierung 5ml und 18ml befand (siehe Abb. 2.3).

Die Zeit zwischen Fertigstellen der Lösung und Beginn des Messvorganges betrug etwa 30 Sekunden.



Abb. 2.3: Ausschnitt der Befestigung Spritze und Schallkopf; Spritze mit 0.9%iger NaCl-Lösung gefüllt dargestellt

## 2.3 Versuchsdurchführung

### 2.3.1 Voreinstellungen am Gerät

Die Einstellungsparameter wurden vor Beginn der Untersuchungen am Gerät festgelegt und dann für die gesamten Versuche beibehalten.

Eine Übersicht zeigt Abbildung 2.4 sowie die Tabelle 2.1, in der die Einstellungsparameter der jeweiligen Abbildungsmodalität aufgeführt sind.

Der Oberrand des Bildes ist schallkopfnah, der Unterrand des Bildes ist schallkopffern.

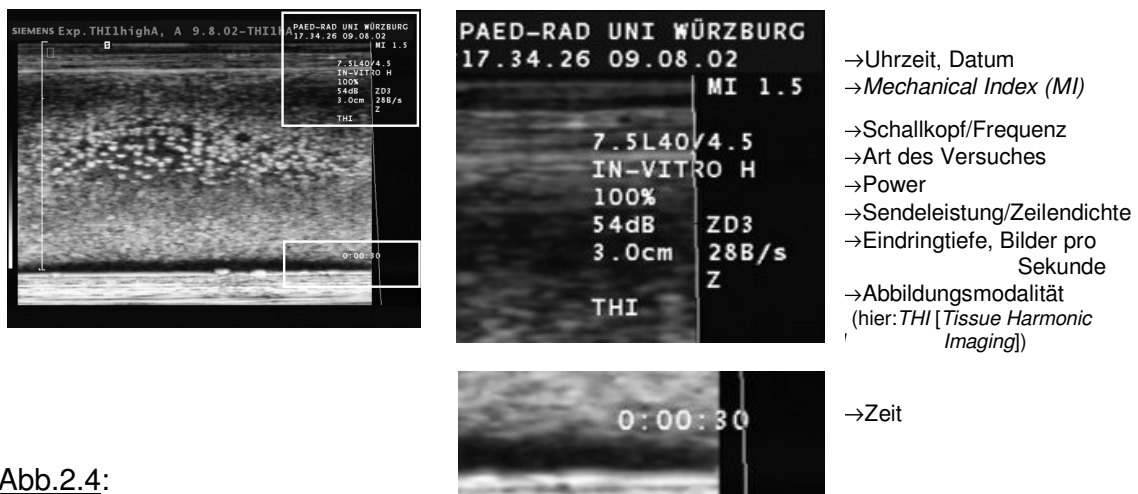


Abb.2.4:

Erklärung der verschiedenen Abkürzungen der einzelnen Einstellungsparameter

Abbildungsmodalität	Power	MI	Frequenz	Bilder pro Sek.	Eindringtiefe
Fundamental	100%	0,4	9,0	58 B/s	3 cm
ECI high MI	100%	1,5	4,5	42 B/s	3 cm
ECI low MI	20%	0,7	4,5	42 B/s	3 cm
THI high MI	100%	1,7	4,5	24 B/s	3 cm
THI low MI	10%	0,5	4,5	24 B/s	3 cm

Tab.2.1: Einstellungsparameter der verschiedenen Ultraschalluntersuchungsmodalitäten

### 2.3.1.1 Fokus

Mit Hilfe einer mit 20ml 0.9%iger NaCl-Lösung gefüllten Spritze wurden Fokus und Zoom für die Experimente so eingestellt, dass sich der Fokus am unteren Bildrand befand.

### 2.3.1.2 Abbildungsmodalitäten

Als Abbildungsmodalitäten wurden Fundamental und Harmonic Imaging verwendet. Bei Harmonic Imaging stand *Tissue Harmonic Imaging (THI)* sowie *Echo Contrast Imaging (ECI)* zur Verfügung. Diese beiden wurden sowohl mit einem niedrigen als auch mit einem hohen *Mechanical Index (MI)* verwendet, d.h. es wurde jeweils entweder der niedrigst oder der höchst mögliche *MI* getestet.

### 2.3.1.3 Sendeleistung (MI)

Bei Einstellen der Abbildungsmodalität *ECI* wurde der niedrige *MI* höher gewählt als bei den übrigen Abbildungsmodalitäten. Grund hierfür war, dass bei einem *MI* von 0,4 (Fundamental) keine ausreichenden Kontraste erreicht werden konnten und somit die Bilder nicht zu beurteilen waren.

In Vorversuchen wurde die Einstellung Power 5%, 10%, 16% und 20% mit dem Kontrastmittel Sonovue<sup>®</sup> in einer Konzentration von 0.25% getestet. (Versuchsablauf siehe Abschnitt 2.4.2; es wurden jeweils vier Bilder gemacht). Bei der Einstellung Power=20%(= Erhöhung des *MI* auf 0.7), wurde ein ausreichender Kontrast erreicht, so dass diese Einstellung für die gesamten Versuche mit *ECI low MI* festgelegt wurde.

Bei *THI low MI* zeigte sich bei Power 10% mit resultierendem *MI* von 0,5 ein ausreichender Kontrast zur Beurteilung der Bilder, so dass dieser für die in-vitro Untersuchungen verwendet wurde.

### 2.3.2 Versuchsablauf

Es wurde kontinuierlich mit einem 7,5 MHz Multifrequenz-Linearschallkopf geschallt. Als Vergleichsparameter diente die Kontrastdauer. Diese wurde definiert als der Zeitraum von der ersten Bildaufnahme bis zu dem Zeitpunkt, an dem auf >50% der Bildfläche keine echogenen Mikrobläschen mehr nachweisbar waren.

Mit Hilfe einer mit 20ml 0.9%iger NaCl-Lösung gefüllten Spritze wurden Fokus und Zoom eingestellt. Anschließend wurde die Geräteoption „Freeze“, d.h. Festhalten des Bildes bei Unterbrechung des Schalls, eingestellt und die NaCl-Spritze mit der zu messenden Lösung ausgetauscht (siehe Abschnitt 2.3).

#### Ablauf des Messvorganges:

- I. „**Defreeze**“ (= Schall setzt ein) → 1.Aufnahme = Startpunkt
- II. Zeit einstellen → alle 30 Sekunden wird ein Bild dokumentiert
- III. Versuchsende (= >50% der Bildfläche ohne echogene Mikrobläschen)
- IV. „**Freeze**“ (= Schall wird unterbrochen).

Für jeden Versuch wurden mindestens 15 Bilder gemacht (Messdauer: 7 Minuten). Bei noch andauerndem Kontrast bzw. noch nicht Erreichen des definierten Endes der Kontrastdauer wurde nach dem gleichen Prinzip weiter gemessen, bis das definierte Ende erreicht wurde.

Beispiele für eine Messreihe zeigen die folgenden zwei Bilderserien:

- a) Kontrastmittel SonoVue® in einer Konzentration von 1% bei Einstellen der Abbildungsmodalität *THI high MI*:

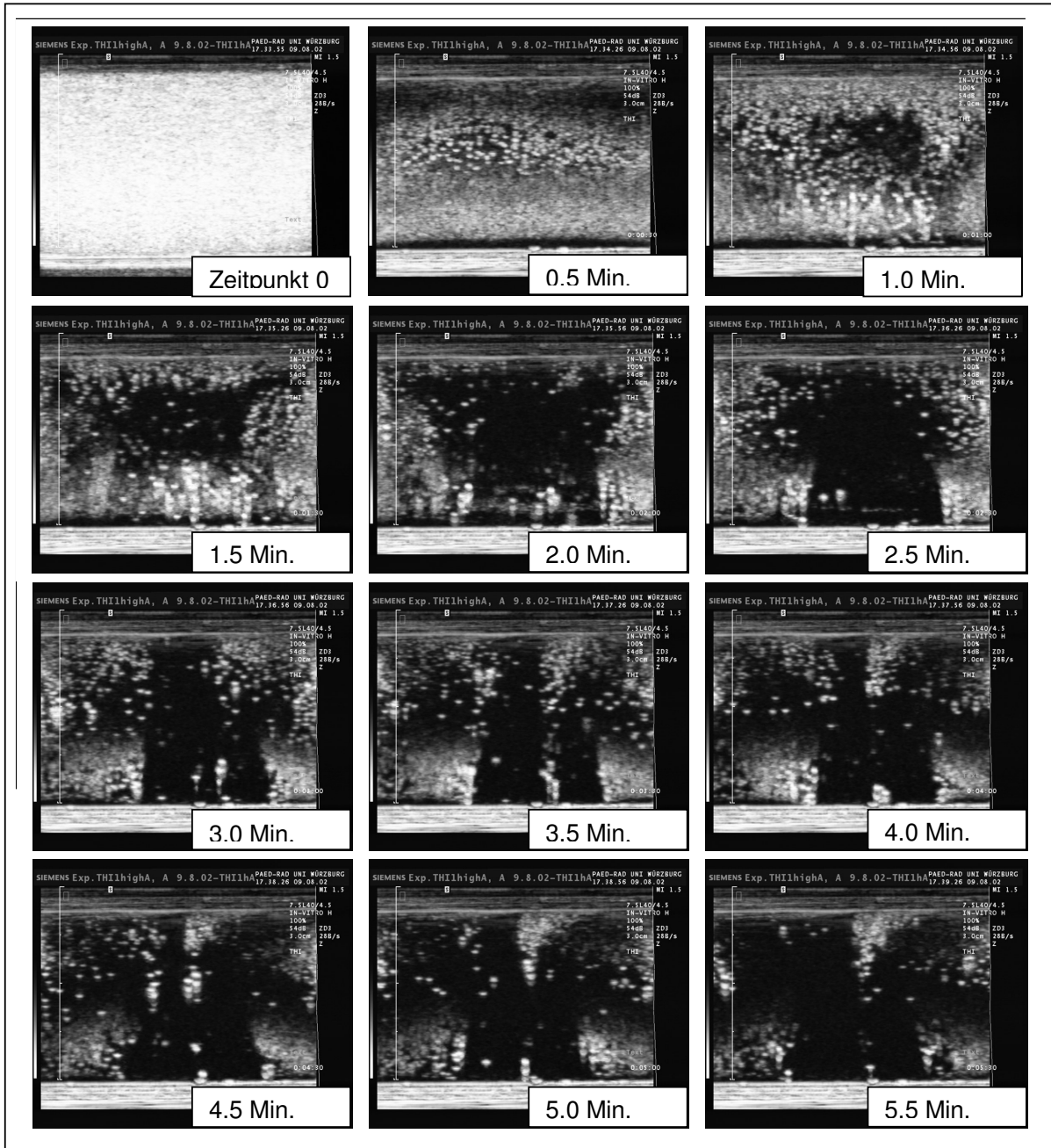


Abb. 2.5: Messreihe von SonoVue® - Kontrastdauer 5,5 Minuten;

Oberrand des Bildes= schallkopfnah,

Unterrand des Bildes= schallkopffern

- b) Kontrastmittel Levovist® in einer Konzentration von 5% bei Einstellen der Abbildungsmodalität *THI high MI*:

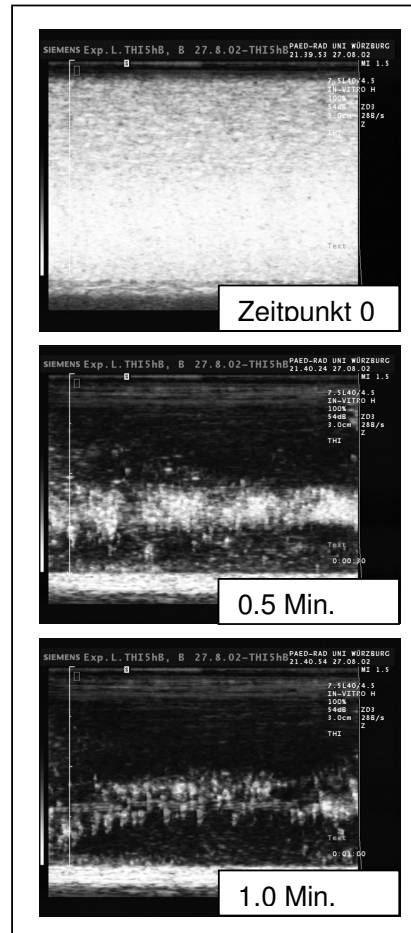


Abb.2.6: Messdauer von Levovist® - Kontrastdauer 1 Minute;  
Oberrand des Bildes= schallkopfnah,  
Unterrand des Bildes= schallkopffern

### 2.3.3 Versuche zur Dosisfindung von SonoVue®

a) Kontrastdauer von SonoVue® unter Verwendung verschiedener Konzentrationen innerhalb einer Abbildungsmodalität

Diese Versuchsreihe wurde zur Dosisfindung für das neue Ultraschallkontrastmittel SonoVue® durchgeführt. Das Kontrastmittel SonoVue® wurde, wie in 2.1.4 beschrieben, in den Konzentrationen 0.25%, 0.5% und 1% getestet. Als Abbildungsmodalität wurde zunächst Fundamental, anschließend Harmonic Imaging gewählt.

Beim Einstellen der Abbildungsmodalität Harmonic Imaging wurde erst *ECl*, im Anschluss daran *THI* untersucht. *ECl* und *THI* wurden jeweils in einem niedrigen- und einem hohen *MI* getestet.

Die Kontrastdauer wurde in den drei Konzentrationen und den fünf zur Verfügung stehenden Abbildungsmodalitäten jeweils 6x gemessen, so dass insgesamt 90 Experimente durchgeführt wurden.

b) Kontrastdauer von SonoVue® bei Harmonic Imaging beim Umschalten von *low MI* auf *high MI*

Bei den Abbildungsmodalitäten *THI low MI* und *ECl low MI* wurde ein zusätzlicher Versuch durchgeführt, bei dem die Einstellung *low MI* und *high MI* sowohl bei der Abbildungsmodalität *ECl* als auch *THI* direkt verglichen wurde. Hierfür wurde SonoVue® in einer Konzentration von 0.5% verwendet.

Zunächst wurde *ECl low MI* am Gerät eingestellt. Der Versuchsablauf entsprach den Angaben aus Abschnitt 2.3.2. Beim Erreichen des definierten Versuchsendes wurde nicht „Freeze“ eingestellt und somit der Schall unterbrochen, sondern es wurde auf *ECl high MI* umgeschaltet, in dem die Einstellung Power auf 100% erhöht wurde. Bei Vorhandensein eines ausreichenden Kontrastes (= <50% der Bildfläche ohne Mikrobäschen) wurde weiter geschallt und alle 30 Sekunden ein Bild gemacht, bis auch hier das definierte Versuchsende erreicht wurde.

Ziel war es hierbei zu untersuchen, ob durch Umschalten von *low MI* auf *high MI* die Sichtbarkeit der Mikrobläschen und somit die Kontrastdauer verlängert werden kann.

Anschließend wurde *THI bei low MI* und *high MI* in gleicher Weise untersucht.

### **2.3.4 Vergleich von SonoVue<sup>®</sup> mit dem Kontrastmittel Levovist<sup>®</sup>**

Um Vergleichswerte zu erhalten, wurde das Kontrastmittel Levovist<sup>®</sup> unter den gleichen Versuchsbedingungen wie das Kontrastmittel SonoVue<sup>®</sup> untersucht.

Levovist<sup>®</sup> wurde in einer Konzentrationen von 5% (=in der klinischen Untersuchung verwendete Konzentration) getestet. Als Abbildungsmodalität wurde auch hier zunächst Fundamental, anschließend Harmonic Imaging untersucht (siehe Abschnitt 2.3.3).

Die Kontrastdauer wurde in den fünf zur Verfügung stehenden Abbildungsmodalitäten jeweils 6x gemessen, so dass insgesamt 30 Experimente durchgeführt wurden.

### **2.3.5 Weitere Versuche mit SonoVue<sup>®</sup> bei Einstellen verschiedener Parameter**

Um den Einfluss verschiedener Parameter auf die Kontrastdauer von SonoVue<sup>®</sup> zu untersuchen, wurden die im Folgenden aufgeführten Zusatzversuche durchgeführt.

Dabei wurde nur eine Abbildungsmodalität in der Konzentration 0,25% getestet. Ausgewählt wurde die Abbildungsmodalität *THI high MI*, da *THI high MI* in den zuvor durchgeführten Untersuchungen die besten Kontrasteffekte zeigte. Des weiteren wurde mit *THI high MI* die kürzeste Kontrastdauer erreicht, so dass daher die Dauer der einzelnen Experimente kurz gehalten werden konnte.



### a) Einfluss von Urin auf die Kontrastdauer von SonoVue®

Untersucht wurde der Einfluss von Urin auf die Kontrastdauer von SonoVue®. Dazu wurde eine SonoVue®-Urin Lösung (siehe Abschnitt 2.1.4) hergestellt und die Kontrastdauer bei Einstellen der Abbildungsmodalität *THI high MI* gemessen.

Es wurden 6 Versuchsabläufe durchgeführt.

### b) Kontrastdauer von SonoVue® unter Verwendung von NaCl aus einem Glasbehälter

Anstelle der Verwendung von NaCl-Lösung aus einem Plastikbehälter wurde hier NaCl-Lösung aus einem Glasbehälter verwendet. Nach Herstellen der NaCl-SonoVue®-Lösung (siehe Abschnitt 2.1.4) wurde die Kontrastdauer bei Einstellen der Abbildungsmodalität *THI high MI* gemessen.

Es wurden auch hier 6 Versuchsabläufe durchgeführt.

### c) Kontrastdauer von SonoVue® in einem Zeitverlauf von 24 Stunden

Zur Untersuchung der Stabilität der Mikrobläschen wurde die Kontrastdauer von SonoVue® in einer Konzentration von 0.25% in einem Zeitverlauf von 24 Stunden getestet.

Dazu wurde die Kontrastdauer in definierten Zeitabständen nach Herstellen der SonoVue®suspension bei Einstellen der Abbildungsmodalität *THI high MI* gemessen. Es wurde direkt nach Herstellen der Lösung, dann nach 30 Minuten, 1 Stunde, 2 Stunden, 4 Stunden, 6 Stunden, 8 Stunden und nach 24 Stunden gemessen.

Es wurden jeweils 3 Versuchsdurchgänge durchgeführt.

## **2.3.6 Weitere Versuche mit Levovist® bei Einstellen verschiedener Parameter**

Um den Einfluss verschiedener Parameter auf die Kontrastdauer von Levovist® zu untersuchen und mit SonoVue® zu vergleichen, wurden auch hier folgende

Zusatzuntersuchungen durchgeführt. Levovist<sup>®</sup> wurde bei diesen Versuchen in einer Konzentration von 5% verwendet:

a) Einfluss von Urin auf die Kontrastdauer von Levovist<sup>®</sup>

Die Versuchsdurchführung entsprach den Angaben aus Abschnitt 2.3.2. Anstelle der SonoVue<sup>®</sup>-Urin Lösung wurde hier eine Levovist<sup>®</sup>-Urin-Lösung (siehe Abschnitt 2.1.2) verwendet.

b) Kontrastdauer von Levovist<sup>®</sup> unter Verwendung von NaCl aus einem Glasbehälter

Die Versuchsdurchführung entsprach den Angaben aus Abschnitt 2.3.2. Anstelle der NaCl-SonoVue<sup>®</sup>-Lösung wurde hier eine NaCl-Levovist<sup>®</sup>-Lösung (siehe Abschnitt 2.1.2) verwendet.

c) Kontrastdauer von Levovist<sup>®</sup> in einem Zeitverlauf von 24 Stunden

Die Versuchsdurchführung entsprach den Angaben aus Abschnitt 2.3.2. Anstelle der SonoVue<sup>®</sup>-Suspension wurde eine Levovist<sup>®</sup>-Suspension verwendet.

## **2.4 Versuchsauswertung**

Die Kontrastdauer wurde für jedes Experiment durch eine subjektive Beurteilung der auf Laserfilm dokumentierten Bilder von einem erfahrenen Kinderradiologen festgelegt. Dabei wusste der Betrachter weder, um welches Kontrastmittel es sich handelte, noch in welcher Konzentration das Kontrastmittel verwendet wurde oder welche Untersuchungsparameter eingestellt wurden.

Die statistische Auswertung der jeweils gemessenen Kontrastdauer erfolgte mit dem Programm SPSS 10.0 für Windows (Microsoft Deutschland GmbH). Verwendet wurden der *t*-Test für unabhängige Stichproben sowie der *t*-Test für abhängige Stichproben. Berechnet wurde jeweils der Mittelwert. Als Signifikanzniveau wurde *p*-Wert<0.05 festgelegt.

### 3. ERGEBNISSE

Der erste Teil der Studie beschäftigte sich mit der Dosisfindung für das Kontrastmittel SonoVue®. Untersucht wurde die Kontrastdauer bei unterschiedlichen Konzentrationen mit dem Ziel die Konzentration zu finden, bei der eine für die klinische Untersuchung ausreichend lange Untersuchungszeit erreicht werden kann. Dazu wurden verschiedene Konzentrationen in unterschiedlichen Abbildungsmodalitäten getestet.

Im zweiten Teil der Studie wurde SonoVue® mit dem in der Routine verwendeten Kontrastmittel Levovist® verglichen. Dazu wurde der Einfluss verschiedener Parameter auf die zu untersuchenden Kontrastmittel getestet. Zusätzlich wurde hier die Stabilität der Mikrobläschen untersucht, außerdem wie sich die Kontrastdauer verhält, wenn man anstelle von Fundamental Harmonic Imaging einsetzt.

#### 3.1 Dosisfindung

Bei den Untersuchungen zur Dosisfindung konnten folgende Beobachtungen gemacht werden:

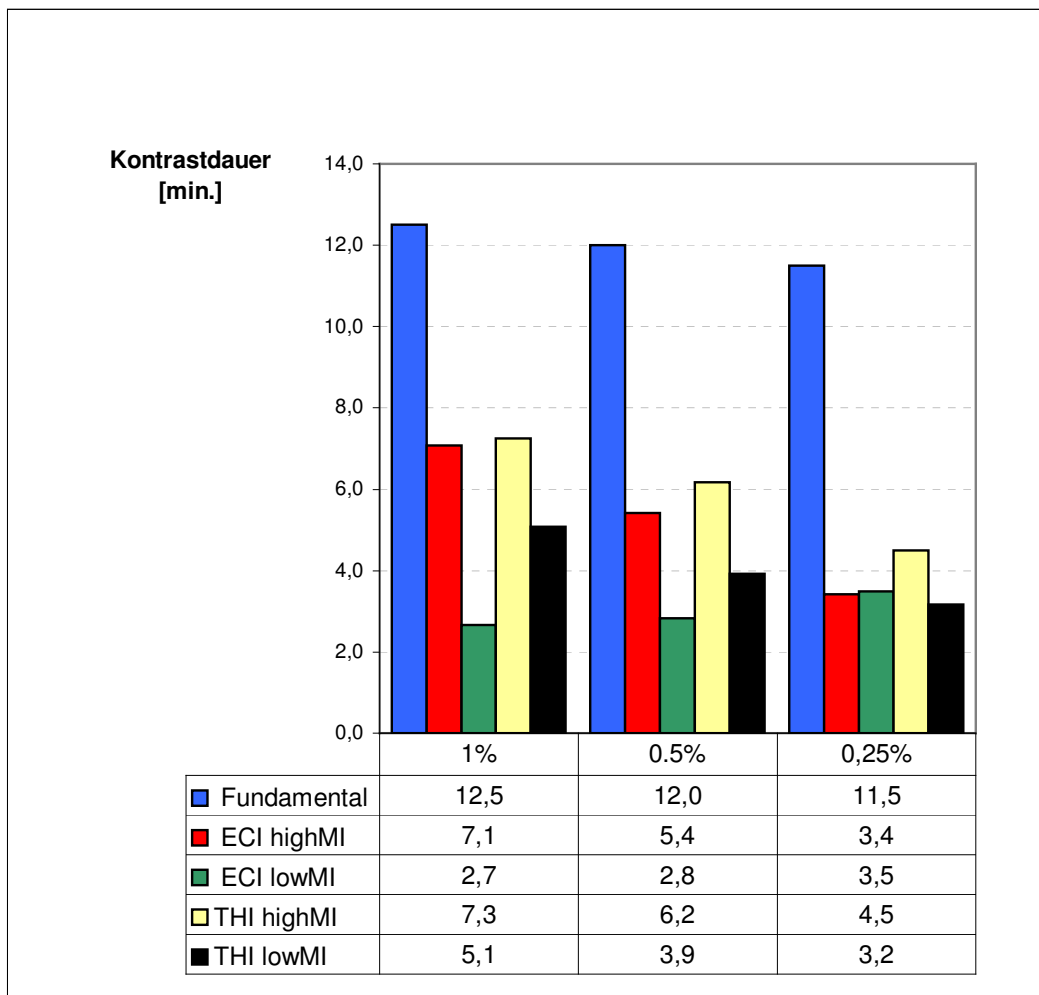
##### **3.1.1 Kontrastdauer von SonoVue® unter Verwendung verschiedener Konzentrationen innerhalb einer Abbildungsmodalität**

Untersucht wurden die Konzentrationen 1%, 0,5% und 0,25% mit den fünf Abbildungsmodalitäten Fundamental, *ECl high MI*, *ECl low MI*, *THI high MI* sowie *THI low MI*.

Innerhalb einer Abbildungsmodalität hatte die Änderung der Konzentration keinen entscheidenden Einfluss auf die Kontrastdauer von SonoVue®, d.h. es konnte keine signifikante Reduktion der Kontrastdauer festgestellt werden, wenn die Konzentration verringert wurde (siehe Abb. 3.1).

Signifikante Tendenzen zeigten sich lediglich bei Betrachtung der Abbildungsmodalität *THI high MI* beim Vergleich von 0,5% und 0,25%. Hier zeigte sich eine Reduktion der Kontrastdauer um 27,4% bei der niedrigeren Konzentration ( $p=0.05$ ).

Des Weiteren geht aus Abbildung 3.1 hervor, dass sich die Kontrastdauer unter Verwendung der Abbildungsmodalität *ECl low MI* bei Verringerung der Konzentration erhöhte. Verwendete man statt einer 0,5%igen Lösung eine 0,25%ige Lösung so verlängerte sich die Kontrastdauer um 20%, wobei dies nicht statistisch signifikant war.



**Abb.3.1:** Kontrastdauer von SonoVue® bei verschiedenen Konzentrationen und Abbildungsmodalitäten.

### **3.1.2 Kontrastdauer von SonoVue® bei Harmonic Imaging beim Umschalten von *low MI* auf *high MI***

Ziel der Untersuchung war es festzustellen, ob sich durch Umschalten von der Abbildungsmodalität *low MI* auf *high MI* die Kontrastdauer verändert. (siehe Abschnitt 2.3.3).

#### **3.1.2.1 Vergleich von *ECI low MI* und *ECI high MI***

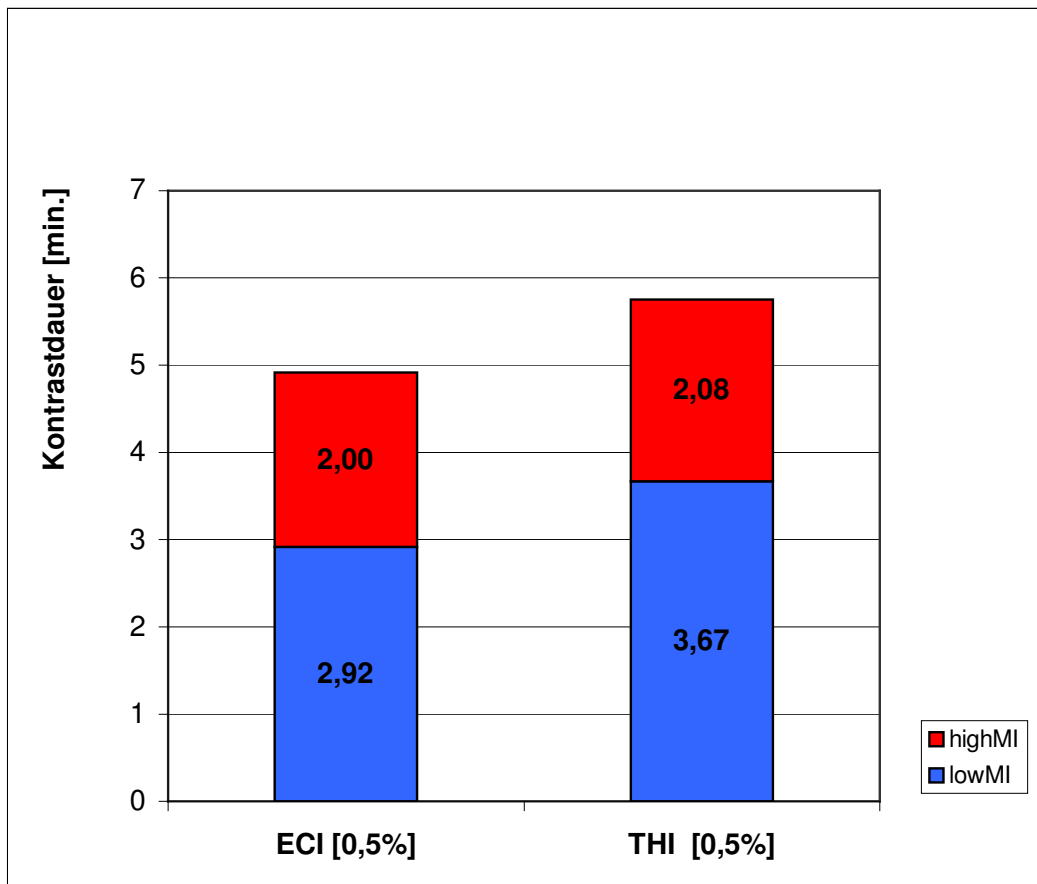
Mit der Einstellung *ECI low MI* erreichten wir im Durchschnitt eine Kontrastdauer von 2,9 Minuten. Beim Umschalten auf die Abbildungsmodalität *ECI high MI* konnte die Kontrastdauer auf 4,9 Minuten verlängert werden. Dies bedeutet eine Verlängerung der Kontrastdauer um 40,7% (siehe Abb. 3.2).

#### **3.1.2.2 Vergleich von *THI low MI* und *THI high MI***

Ähnliche Beobachtungen konnten beim Einstellen der Abbildungsmodalität *THI* gemacht werden:

Die Kontrastdauer betrug bei *THI low MI* 3,7 Minuten und konnte bei Umschalten auf *THI high MI* auf 5,8 Minuten verlängert werden. Dies entsprach einer Verlängerung der Sichtbarkeit der Mikrobläschen um 36,2%.

Bei beiden Einstellungen erwies sich die Verlängerung der Kontrastdauer als signifikant ( $p < 0,01$ ).



**Abb. 3.2:** Verlängerung der Kontrastdauer bei Umschalten von *low MI* auf *high MI* bei Verwendung der Modalität *ECI* und *THI*

### 3.1.3 Vergleich der Kontrastdauer von SonoVue® bei Fundamental und Harmonic Imaging

#### 3.1.3.1 Kontrastdauer von SonoVue® unter Verwendung verschiedener Abbildungsmodalitäten innerhalb einer Konzentration [1%]

Untersucht wurde der Einfluss verschiedener Abbildungsmodalitäten auf die Kontrastdauer von SonoVue®. Folgende Beobachtungen konnten gemacht werden:

### 3.1.3.1.1 Vergleich der Abbildungsmodalitäten Fundamental und ECI

Wie in Abb. 3.3 dargestellt, zeigte sich beim Vergleich der Abbildungsmodalität Fundamental mit sowohl *ECI high MI* als auch *ECI low MI* eine deutliche Reduktion der Kontrastdauer.

Bei Verwendung der Abbildungsmodalität *ECI high MI* reduzierte sich die Kontrastdauer von 12,5 Minuten [Fundamental] auf eine Zeit von 7,1 Minuten. Dies entsprach einer Verkürzung der Kontrastdauer um 43%. ( $p \sim 0,05$ )

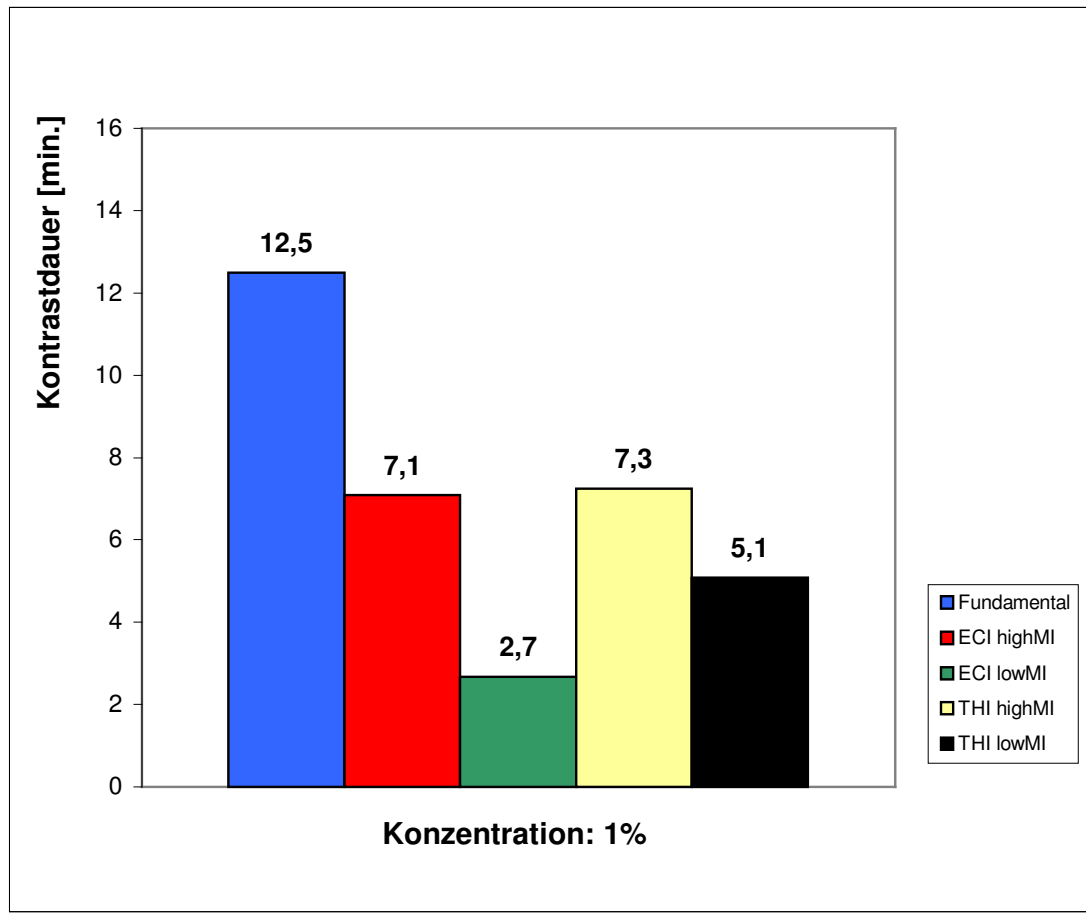
Betrachtet man die Abbildungsmodalität *ECI low MI*, zeigte sich die Reduktion der Kontrastdauer noch deutlicher. Die Kontrastdauer verkürzte sich hier im Durchschnitt von 12,5 Minuten auf 2,7 Minuten, was einer Reduktion von 78,4% entsprach ( $p \sim 0.005$ ).

### 3.1.3.1.2 Vergleich der Abbildungsmodalitäten Fundamental und THI

Auch im Vergleich der Abbildungsmodalität Fundamental mit *THI high MI* und *low MI* zeigte sich ein deutlicher Unterschied in der Kontrastdauer, welcher jedoch nicht so stark ausgeprägt war wie bei der Abbildungsmodalität *ECI*. Verwendete man statt der Abbildungsmodalität Fundamental die Modalität *THI high MI* verkürzte sich die Kontrastdauer um 40%. Anstelle einer durchschnittlichen Kontrastdauer von 12,5 Minuten [Fundamental] konnte mit *THI high MI* nur eine durchschnittliche Kontrastdauer von 7,3 Minuten erreicht werden ( $p \sim 0,053$ ).

Eine noch deutlichere Reduktion zeigte sich bei Verwendung der Abbildungsmodalität *THI low MI*. Hier konnte statt 12,5 Minuten [Fundamental] nur eine Kontrastdauer von 5,1 Minuten erreicht werden. Somit nahm die Kontrastdauer um 59,2% ab ( $p \sim 0.016$ ).

(siehe Abb. 3.3)



**Abb.3.3:** Kontrastdauer von SonoVue<sup>®</sup> bei verschiedenen Abbildungsmodalitäten [Fundamental, *ECI high MI*, *ECI low MI*, *THI high MI*, *THI low MI*] innerhalb der Konzentration [1%].

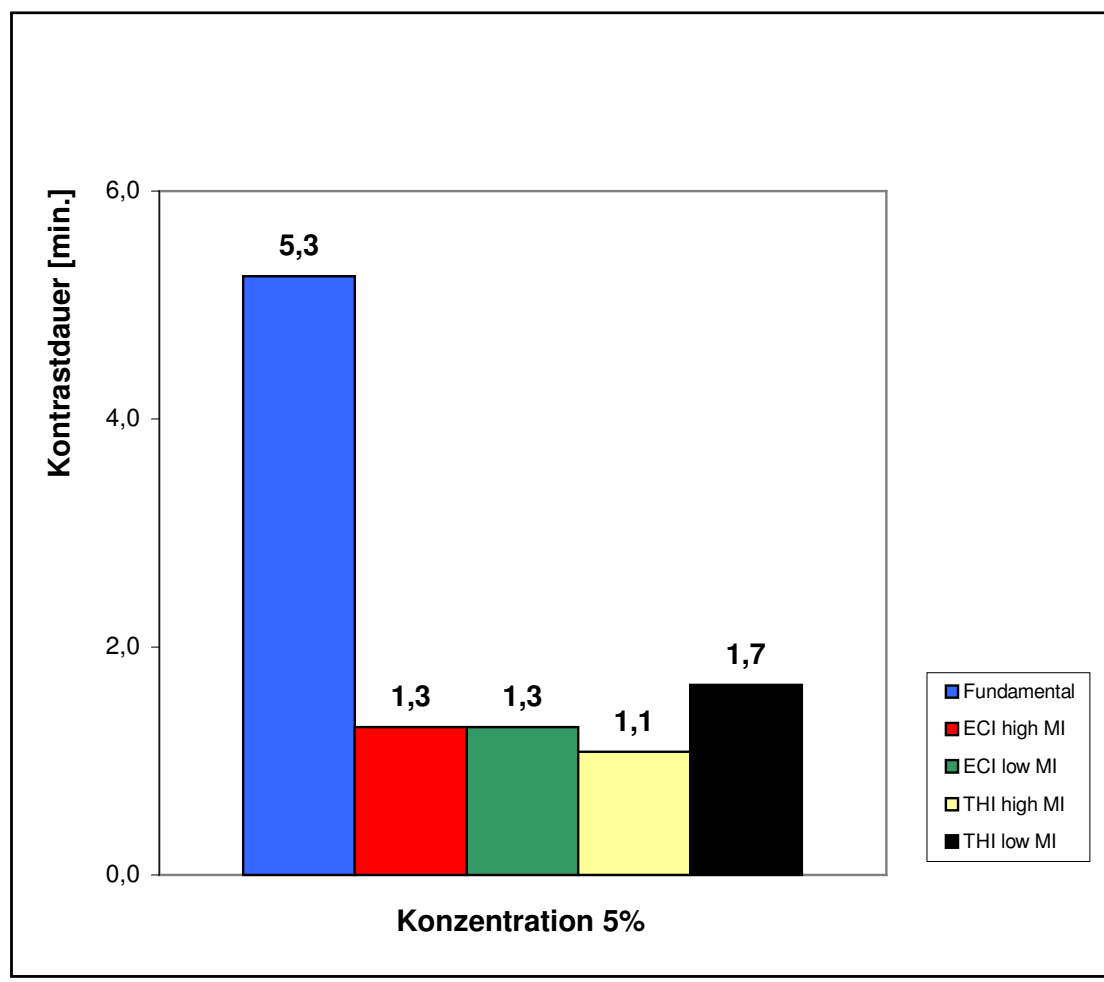
### **3.2 SonoVue<sup>®</sup> im Vergleich zu Levovist<sup>®</sup>**

#### **3.2.1 Kontrastdauer von Levovist<sup>®</sup> unter Verwendung verschiedener Abbildungsmodalitäten innerhalb einer Konzentration [5%]**

Die Untersuchungsergebnisse zeigten, dass die Kontrastdauer von Levovist<sup>®</sup> bei Einstellen der Abbildungsmodalitäten Harmonic Imaging anstelle von Fundamental signifikant reduziert wurde [  $p < 0,001$  ].



Im Einzelnen bedeutet dies, dass bei Verwendung der Abbildungsmodalität *ECl low MI* und *ECl high MI* die Kontrastdauer um 75,5% verkürzt wurde. Statt einer Kontrastdauer von 5,3 Minuten [Fundamental] wurde sowohl unter *ECl low MI* als auch *ECl high MI* eine Kontrastdauer von 1,3 Minuten erreicht. Ähnliche Ergebnisse erhielten wir bei der Untersuchung der Abbildungsmodalität *THI*. Hier zeigte sich, dass beim Einstellen der Abbildungsmodalität *THI high MI* die Kontrastdauer um 79,3% und beim Einstellen der Abbildungsmodalität *THI low MI* um 68% verringert wurde.



**Abb.3.4:** Kontrastdauer von Levovist® bei verschiedenen Abbildungsmodalitäten [Fundamental, *ECl high MI*, *ECl low MI*, *THI high MI*, *THI low MI*] innerhalb der Konzentration 5%.

### 3.2.2 Kontrastdauer von SonoVue® [1%] und Levovist [5%] im Vergleich

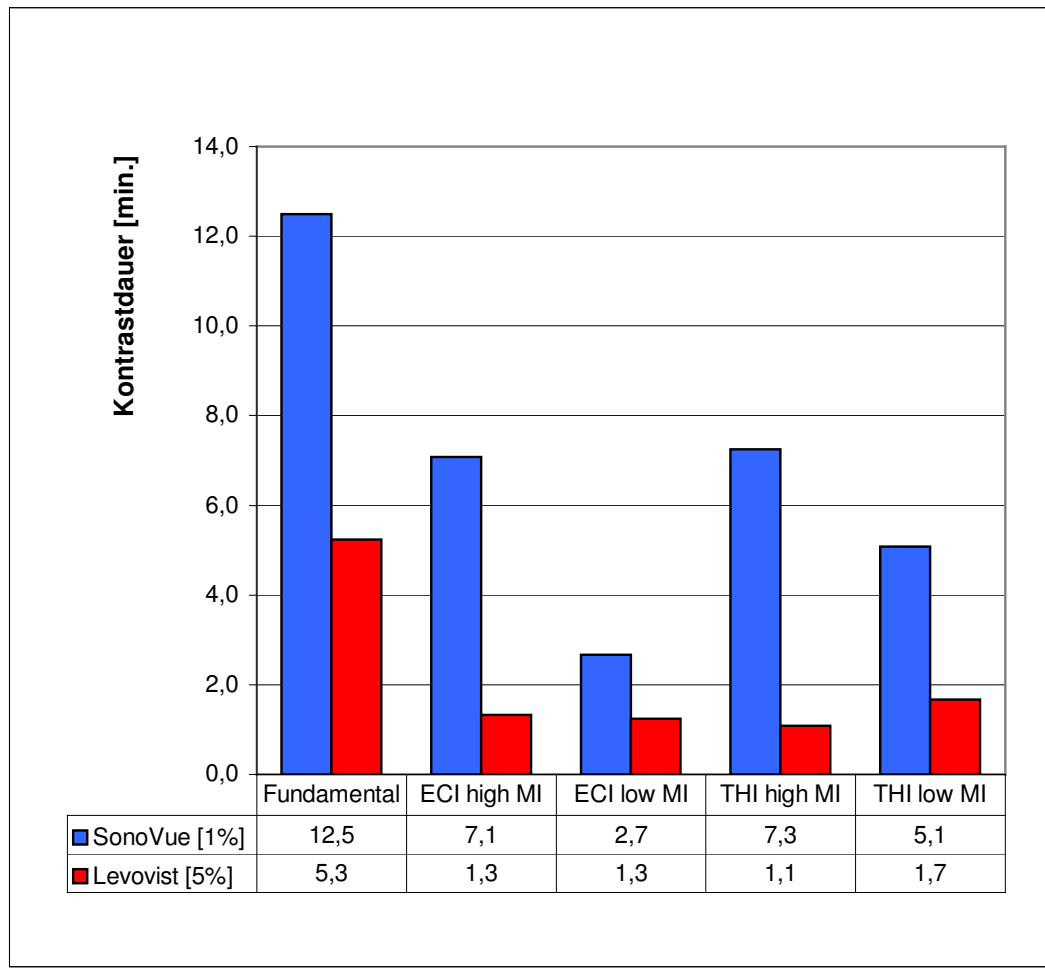
Betrachtet man nun die zu untersuchenden Kontrastmittel SonoVue® und Levovist® im Vergleich, so zeigt sich eine signifikant längere Kontrastdauer bei Verwendung des Kontrastmittels SonoVue®, auch wenn dieses in einer fünffach geringeren Konzentration verwendet wurde (siehe Abb. 3.5).

Bei Verwendung des Kontrastmittels SonoVue® und Einstellen der Abbildungsmodalität Fundamental zeigte sich in vitro eine Kontrastdauer von 12,5 Minuten. Im Gegensatz dazu verringerte sich bei Verwendung des Kontrastmittels Levovist® bei gleichen Einstellungen und gleichen Bedingungen die Kontrastdauer im Durchschnitt auf eine Zeit von 5,3 Minuten ( $p=0,017$ ) trotz fünffach höherer Konzentration. Dies bedeutet, dass bei SonoVue® eine um 57,6% längere Kontrastdauer als bei Verwendung von Levovist® erreicht werden kann.

Noch deutlicher wird dies, wenn man die Abbildungsmodalität *THI high MI* betrachtet. Bei Einstellen dieser Abbildungsmodalität liegt die Kontrastdauer von SonoVue® bei 7,3 Minuten, während sie bei Levovist® bei einer Zeit von lediglich 1,1 Minuten liegt ( $p<0,001$ ). Hier war somit die Kontrastdauer von SonoVue® um 84,9% länger als bei Levovist®.

Ähnliche Beobachtungen konnten gemacht werden bei Verwendung der Abbildungsmodalität *THI low MI* sowie *ECI high- und low MI*. Bei Verwendung von *THI low MI* war die Kontrastdauer um 66,7%, bei Verwendung von *ECI high MI* um 81,7% und bei *ECI low MI* um 51,9% länger als bei Levovist®.

Die in-vitro Experimente zeigten, dass bei Verwendung von SonoVue® eine deutlich längere Kontrastdauer als mit Levovist® bei verschiedenen Abbildungsmodalitäten erreicht werden konnte.



**Abb.3.5:** Vergleich der Kontrastdauer von SonoVue® [1%] und Levovist® [5%] unter Verwendung der Abbildungsmodalitäten: Fundamental, *ECI high MI*, *ECI low MI*, *THI high MI* und *THI low MI*.

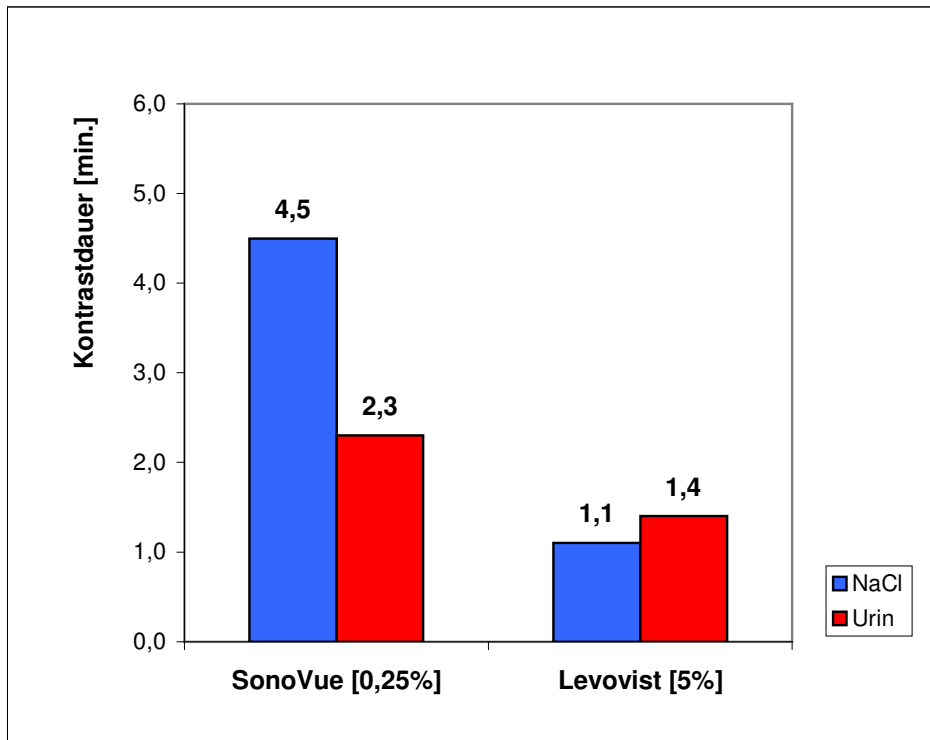
### **3.3 Weitere Versuche mit den Kontrastmitteln SonoVue® und Levovist®**

Wir untersuchten sowohl den Einfluss von Urin als auch die Verwendung einer NaCl-Lösung aus einem Glas- anstelle aus einem Plastikbehälter auf die Kontrastdauer beider Kontrastmittel. Zusätzlich untersuchten wir deren Stabilität in einem Zeitverlauf von 24 Stunden.

### 3.3.1 Einfluss von Urin auf die Kontrastdauer von SonoVue® [0,25%] und Levovist® [5%]

Wie in Abb. 3.6 dargestellt, verlängerte sich die Levovist®-Kontrastdauer bei Verwendung einer Urin-Levovist®-Lösung von 1.1 Minuten auf 1.4 Minuten. Die Verlängerung der Kontrastdauer war jedoch nicht signifikant ( $p>0.05$ ).

Die SonoVue®-Kontrastdauer verkürzte sich hingegen bei Verwendung einer Urin-SonoVue®-Lösung von 4.5 Minuten auf 2.3 Minuten. Auch hier zeigte sich keine Signifikanz ( $p>0.05$ ).



**Abb.3.6** : Einfluss von Urin auf die Kontrastdauer von SonoVue® [0,25%] und Levovist® [5%] im Vergleich zu NaCl.

### 3.3.2 Kontrastdauer von SonoVue® [0,25%] und Levovist® [5%] unter Verwendung von NaCl aus einem Glas- und Plastikbehälter

Untersucht wurde in diesem Experiment, ob es bezüglich der Kontrastdauer einen Unterschied macht, wenn man das Verdünnungsmittel NaCl aus einem Glas- anstelle aus einem Plastikbehälter verwendet.

Beim Kontrastmittel SonoVue® zeigte sich bei Verwendung von NaCl aus einem Glasbehälter eine Abnahme der Kontrastdauer um 26,7%. Die Veränderung der Kontrastdauer war jedoch nicht signifikant ( $p > 0,05$ ).

Beim Kontrastmittel Levovist® hingegen zeigte sich keine Veränderung der Kontrastdauer bei Verwendung von NaCl aus einem Glasbehälter. Die Kontrastdauer betrug in beiden Fällen 1,1 Minuten (Abb. 3.7).

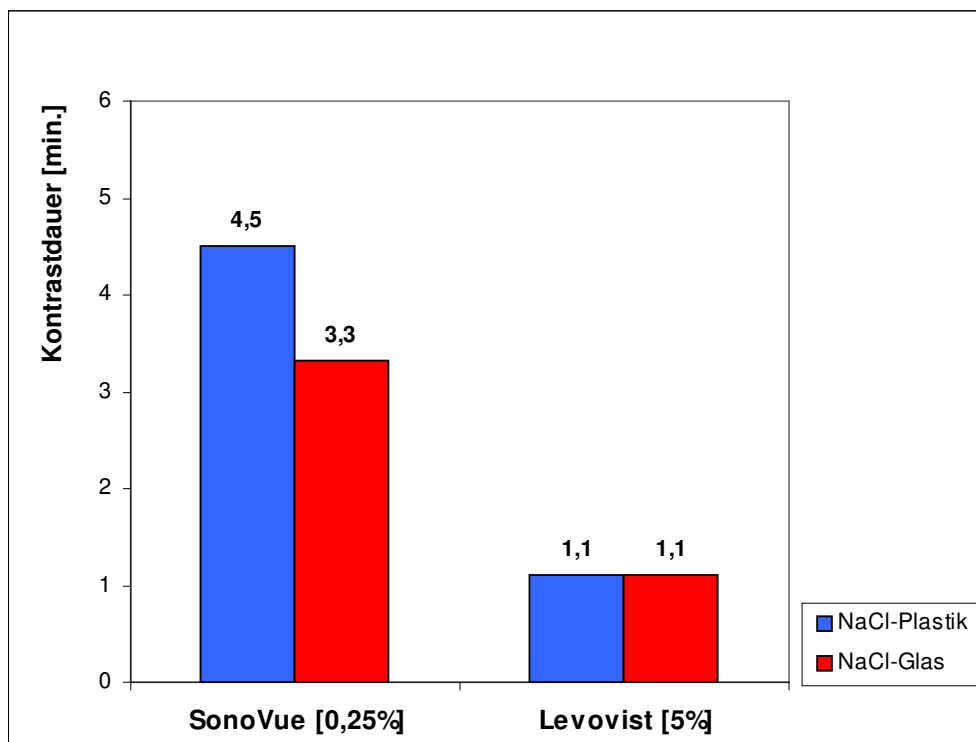


Abb.3.7: Vergleich der Kontrastdauerdauer von SonoVue® [0,25%] und Levovist® [5%] unter Verwendung von NaCl aus einem Plastik- und einem Glasbehälter.

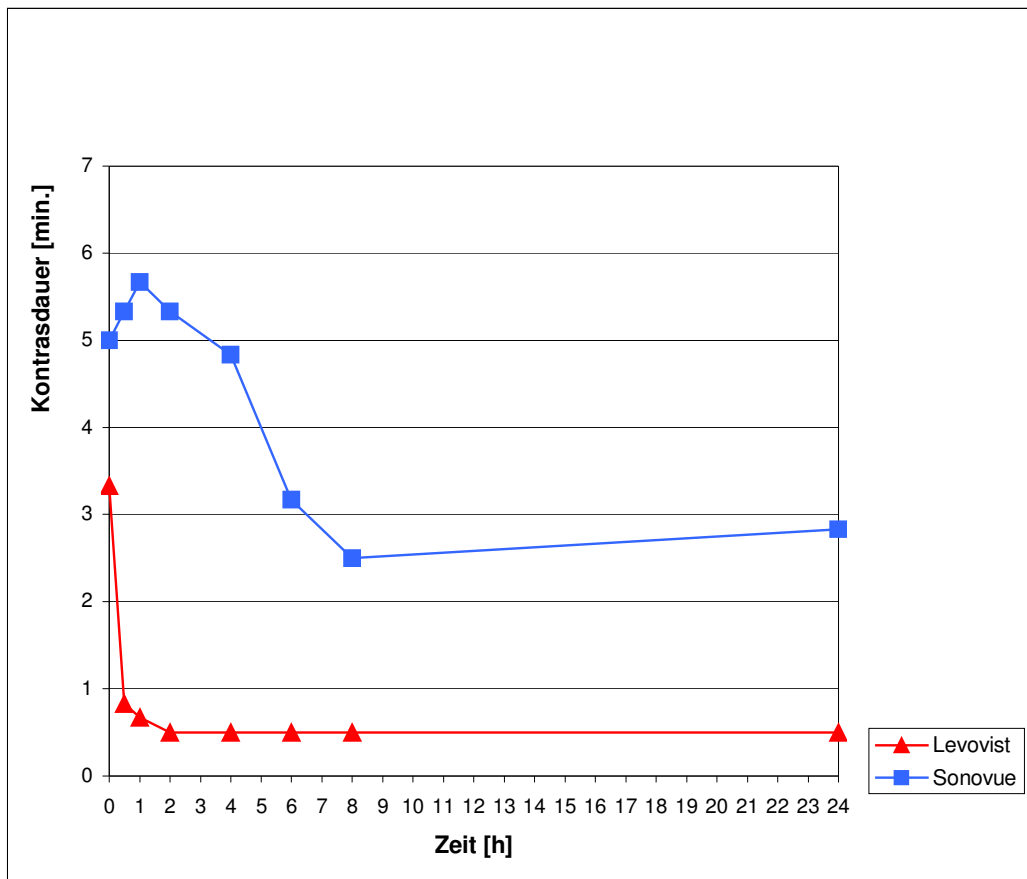
### **3.3.3 Kontrastdauer im Zeitverlauf von 24h bei SonoVue® [0,25%] und Levovist® [5%] im Vergleich**

Um die Stabilität der Kontrastmittel SonoVue® und Levovist® zu untersuchen, wurde die Kontrastdauer in einem Zeitverlauf von 24 Stunden getestet.

Es zeigte sich, wie auch in Abschnitt 1.5 erläutert, eine deutlich höhere Kontrastdauer bei Verwendung von SonoVue® anstelle von Levovist® (siehe Abb. 3.8). Schon nach einer halben Stunde lag die Kontrastdauer von SonoVue® um 84,4% über der Kontrastdauer von Levovist®.

Beobachtet man nun die einzelnen Kurven, so erkennt man, dass die Kontrastdauer von SonoVue® in den ersten 4 Stunden im Durchschnitt bei 5 Minuten lag und erst dann langsam abnahm. Nach 6 Stunden hatte SonoVue® immer noch eine Kontrastdauer von 3,2 Minuten, was zeigt, dass SonoVue® über diesen Zeitraum relativ stabil blieb. Auch 24 Stunden nach Herstellen der Lösung, konnte hier noch eine Kontrastdauer von 2,8 Minuten erreicht werden.

Im Gegensatz dazu nahm die Kontrastdauer von Levovist® innerhalb der ersten 30 Minuten um 75% ab. Direkt nach Herstellen der Lösung zeigte sich eine Kontrastdauer von 3,3 Minuten, nach 30 Minuten lag die Kontrastdauer nur noch bei 0,8 Minuten. In den folgenden 2 Stunden fiel die Kontrastdauer weiter ab und erreichte 2 Stunden nach Herstellen der Lösung nur noch eine Kontrastdauer von 0,5 Minuten.



**Abb.3.8:** Kontrastdauer von SonoVue<sup>®</sup> [0,25%] und Levovist<sup>®</sup> [5%] in einem Zeitverlauf von 24 Stunden; gemessen wurde direkt nach Herstellen der Lösungen, nach 30 Minuten, 1 Stunde, 2 Stunden, 4 Stunden, 6 Stunden, 8 Stunden und nach 24 Stunden in der Abbildungsmodalität THI high MI.

### 3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Änderung der Konzentration von SonoVue<sup>®</sup> (zwischen 0,25% und 1%) hat keinen signifikanten Einfluss auf die Kontrastdauer. Des weiteren konnte durch Umschalten von der Abbildungsmodalität *low MI* auf *high MI* bei sowohl *ECl* als auch *THI* die Kontrastdauer von SonoVue<sup>®</sup> signifikant verlängert werden.

Beim Vergleich von Levovist<sup>®</sup> und SonoVue<sup>®</sup> ergaben die Untersuchungen, dass mit dem Kontrastmittel SonoVue<sup>®</sup> eine signifikant längere Kontrastdauer im Vergleich zu Levovist<sup>®</sup> erreicht werden kann. Diese Ergebnisse wurden erreicht trotz Verwendung einer fünffach geringeren Konzentration von SonoVue<sup>®</sup>.

In zusätzlichen Versuchen zeigte sich, dass das Kontrastmittel SonoVue<sup>®</sup> über einen Zeitraum von 6 Stunden stabil blieb, während Levovist<sup>®</sup> schon nach 0,5 Stunden eine deutliche Reduktion der Kontrastdauer zeigte.



## **4. DISKUSSION**

### **4.1 Sonographische Refluxprüfung**

Das führende diagnostische Procedere des vesikoureteralen Reflux ist die Miktionscysturothographie (MCU). In der pädiatrischen Radiologie ist die MCU die am häufigsten durchgeführte Durchleuchtung [47]. Hauptnachteil dieser Methode ist jedoch die hohe zu applizierende Strahlendosis. Mit Einführung der digitalen Durchleuchtung konnte die Strahlendosis deutlich reduziert werden, auch die Entwicklung der gepulsten Durchleuchtung führte zu einer weiteren Reduktion der Strahlendosis. Die Lage der Gonaden im Primärstrahlengang bedeutet jedoch eine hohe nicht zu vermeidende Strahlendosis für das Kind [14]. Abhängig von der Expositionszeit und der Ausstattung des Gerätes beträgt die Strahlendosis 0,2-1 mSv [43]. Zu dieser Strahlendosis durch das Gerät muss allerdings noch die natürliche Strahlendosis der Umgebung mit bedacht werden. Die effektive jährliche natürliche Strahlung beträgt in Deutschland 1,5 mSv und die artifizielle Strahlung beträgt 2,5 mSv [13]. Vergegenwärtigt man sich dies, so ist verständlich warum versucht wird zusätzliche Strahlung zu vermeiden. Um jegliche Strahlendosis zu vermeiden und somit dem größten Nachteil der MCU entgegenzuwirken wurde versucht die Miktionsurosonographie (MUS) in der Diagnostik des vesikoureteralen Reflux zu etablieren.

#### **4.1.1 Sonographische Refluxprüfung mit der fundamentalen Abbildungsmodalität im Vergleich zur MCU**

Die sonographische Refluxprüfung (MUS) wird in zwei Schritten durchgeführt. Zunächst erfolgt eine Standardsonographie des Harntraktes in Bauch- und anschließend in Rückenlage mit Dokumentation des Retrovesikalraumes und beider Nierenbecken [18]. Ein großer Vorteil dieses Untersuchungsschrittes ist, dass der Harntrakt auch ohne Kontrastmittel beurteilt werden kann. Das heißt Dilatationen der Harnleiter sowie Abnormalitäten der Nieren, z.B. Doppelnieren, können schon im Vorfeld beurteilt bzw. diagnostiziert werden. In diesem Punkt

ist die MUS der MCU überlegen, da bei Abwesenheit eines Refluxes die Beurteilung des Harntraktes mit der MCU nicht oder nur gering möglich ist [22]. Nach Beurteilung des Harntraktes in der Standardsonographie erfolgt eine transurethrale Katheterisierung der Harnblase. Dies ist auch wie in der MCU in der MUS nicht zu vermeiden, was einer der großen Nachteile beider Methoden ist.

Nach transurethraler Katheterisierung wird nun unter sonographischer Kontrolle die Blase mit vorgewärmter physiologischer Kochsalzlösung langsam gefüllt und daraufhin die Levovist<sup>®</sup>-suspension in einer Konzentration von 10% des Blasenvolumens (=300mg/ml) appliziert [18,21,19,15,24]. Hierbei muss darauf geachtet werden, dass die Levovist<sup>®</sup>-suspension zunächst sehr langsam injiziert wird, da eine zu hohe Levovist<sup>®</sup>-Konzentration eine Schallauslöschung des Retrovesikalraumes verursachen kann. Ist der Retrovesikalraum während der Anflutungsphase des Signalverstärkers nicht zu beurteilen, so erfolgt nach einigen Minuten der Verteilung eine erneute Beurteilung [18].

Es schließt sich nun eine Sonographie der Nierenbecken von ventral und dorsal in gleicher Schnittebene wie vor der Kontrastmittelgabe an. In Bauchlage, d.h. im Gegensatz zur Schräglage bei MCU, wird das Kind bei noch liegendem Katheter aufgefordert zu miktieren, alternativ auch in Rücken- oder sitzender Lage. Währenddessen werden die Nierenbecken sonographiert. Ein Reflux wird dann diagnostiziert, wenn Mikrobläschen im Ureter oder im Nierenbecken nachweisbar sind [22].

Die durchschnittliche Dauer der Untersuchungen beträgt ohne Berücksichtigung der Katheterisierung für die MUS 22 (+/-5) min., für die MCU jedoch nur 9 (+/-4) min [Darge K 1998]. Dies bedeutet, die MUS dauert im Durchschnitt doppelt so lang wie die MCU, was ein Nachteil der MUS gegenüber der MCU zu sein scheint, da gerade bei jüngeren Kindern die Untersuchungsbedingungen durch mangelnde Compliance erschwert sein können.

Da jedoch auch das Kontrastmittel Levovist<sup>®</sup> über einen Zeitraum von mind. 30 Minuten stabil ist, beeinflussen diese verlängerten Untersuchungszeiten nicht die Refluxprüfung. [18].

Demgegenüber stehen die höheren Kosten der Ultraschallkontrastmittel im Vergleich zu den bei der MCU verwendeten Röntgenkontrastmittel.

### **4.1.2 Vergleich von MUS und MCU**

Zur besseren Auswertbarkeit werden die zur Berechnung verwendeten Zahlen nicht auf die Anzahl der Kinder bezogen, sondern auf sogenannte Nieren-Harnleiter-Einheiten. Dabei entsprechen Doppelnieren zwei Nieren-Harnleiter-Einheiten, Einzel- oder Transplantatnieren einer Nieren-Harnleiter-Einheit. Auf diese Weise untersuchten Darge et al. insgesamt 226 Nieren-Harnleiter-Einheiten [18]. In 208 Nieren-Harnleiter-Einheiten wurde der Reflux sowohl mit der MUS als auch mit der MCU diagnostiziert oder ausgeschlossen. In 15 Nieren-Harnleiter-Einheiten wurde ein Reflux nur in der MUS, in 3 Nieren-Harnleiter-Einheiten nur in der MCU festgestellt. Des weiteren zeigte sich, dass in 7 Nieren-Harnleiter-Einheiten in der MUS ein höhergradiger Reflux als mit der MCU diagnostiziert werden konnte [18,21]. So fand sich in 16 Nieren-Harnleiter-Einheiten in der MCU ein Grad I-Reflux, während in der MUS bereits Mikrobläschen im Nierenbecken nachgewiesen werden konnten, was mindestens einem Grad II-Reflux in der MUS entsprach [22]. Auch Berrocal et al. berichteten über vergleichbare Resultate. In ihrer Studie zeigte sich in einem Großteil der Untersuchungen eine Übereinstimmung zwischen MUS und MCU. Jedoch konnte in 29 Einheiten ein Reflux nur in der MUS nachgewiesen werden, während dieser Fall in der MCU nur in 10 Einheiten eintrat. Auch in dieser Studie zeigte sich in mehreren Untersuchungen ein höhergradiger Reflux in der MUS im Vergleich zur MCU [10]. In einer im Vergleich dazu kleineren Studie konnten auch Mentzel et al. sowie Klauser et al. über dementsprechende Ergebnisse berichten [40,38]. Zusammenfassend bedeutet dies, wenn diskrepante Befunde zwischen MUS und MCU vorlagen, dass in 60% der Fälle nur der Reflux in der MUS darstellbar war [15]. Außerdem konnte in mehreren Untersuchungen in der MUS ein höhergradiger Reflux im Vergleich zur MCU diagnostiziert werden.

Die hier beschriebenen Ergebnisse legen nahe, dass die MUS etwas sensitiver als die MCU zu sein scheint, zumindest dieser Methode aber ebenbürtig ist.

Grund hierfür könnte sein, dass der Beobachtungszeitraum bei der MUS sehr viel länger als bei der MCU ist. Dadurch könnten auch intermittierende Refluxes erfasst werden. Darüber hinaus können die Mikrobläschen des Kontrastverstärkers bei der MUS bereits in sehr geringen Mengen gesehen werden, wohingegen beim Röntgen eine gewisse Kontrastdichte zur Wahrnehmung notwendig ist [22]. Des Weiteren bietet die Mitbeurteilbarkeit der Harnleiterweite retrovesikal, der Nierenbecken vor Kontrastierung und der Nierenparenchymstruktur Vorteile für die kontrastverstärkte MUS.

### **4.1.3 Indikationen für die MUS im Vergleich zur MCU**

Die häufigsten Indikationen für die MUS sind die Erstuntersuchungen bei Mädchen, Kontrolluntersuchungen sowie das Screening von Risikogruppen wie z.B. nahen Verwandten von Refluxpatienten und Patienten mit Transplantatnieren, Einzelnieren oder multizystisch dysplastische Nieren [37,42]. Einschränkungen in der alleinigen Anwendung der kontrastverstärkten MUS bestehen, wenn die Nieren oder Nierenbecken der Patienten von Anfang an nicht ausreichend eingesehen werden können, z.B. bei dystopen Lagen, bei stark hyperechogenen, kleinen Nieren mit kaum darstellbarem Hohlsystem oder bei sehr unkooperativen Kindern. Auch die Darstellung der Harnröhre in der klinischen Routine verlangt nach wie vor eine MCU, da in der MUS die Harnröhre nur mit sehr hohem Aufwand zu beurteilen ist.

Betrachtet man die hier erläuterten Indikationen, so zeigt sich, dass durch die Einführung der MUS eine enorme Reduktion der MCU und somit der Strahlendosis für das Kind erreicht werden kann. Mit der Einführung der MUS konnte der Anteil der MCU signifikant gesenkt werden. Unter Berücksichtigung der oben genannten Indikationen reduzierte sich der Anteil der Röntgenuntersuchungen um 53% [19].

## 4.2 Harmonic Imaging - eine neue Ultraschallmodalität

### 4.2.1 Physikalische und technische Grundlagen von Harmonic Imaging

Harmonic Imaging basiert auf der Tatsache, dass Echosignale von Strukturen des Körpers nicht nur die Grundfrequenzen des Sendeimpulses enthalten, sondern auch das Vielfache dieser Frequenzen [29], d.h. eine reflektierte Schallwelle besteht nicht nur aus ihrer eigentlichen Grundfrequenz sondern es sind ihr sogenannte Ober- und Untertöne beigemischt, die dem Vielfachen der Grundfrequenz entsprechen [8]. Somit werden harmonische Echofrequenzen durch nicht-lineare Effekte bei der Durchdringung des Gewebes mit Ultraschallwellen verursacht.

In der nichtlinearen Bildgebung gilt also:

$$f_{\text{empfangen}} = f_{\text{senden}} + f_{2\text{senden}} + f_{3\text{senden}} \dots$$

Wobei gilt:

$f_2$  = zweite harmonische,

$f_3$  = dritte harmonische Frequenz u.s.w.,

In der konventionellen bzw. fundamentalen Bildgebung werden hingegen die linearen Effekte beim Durchdringen des Gewebes verwendet, d.h. die Echofrequenzen sind mit den Sendefrequenzen identisch. Somit gilt für die lineare Bilddarstellung:

$$f_{\text{empfangen}} = f_{\text{senden}}.$$

Es gibt zwei Anwendungsbereiche des Harmonic Imaging, das Eine für Gewebe optimiert (= *THI*) und das Andere für Kontrastmittel optimiert (= *CHI*).

*THI* basiert auf dem Effekt, dass Ultraschallsignale beim Durchdringen von Gewebe, welches wechselnde akustische Eigenschaften aufweist, verzerrt werden. Diese Verzerrung entsteht, weil das Gewebe durch das Einwirken der Ultraschallwelle, die physikalisch gesehen aus einer Druckwelle besteht, entweder komprimiert oder dekomprimiert wird. Die dabei entstehende Verzerrung der Wellenform führt zu harmonischen Schwingungen. Dabei gilt: je höher der Schalldruck, desto stärker wird der harmonische Anteil. Der Effekt ist

akkumulativ, so dass er mit fortschreitender Eindringtiefe wächst bis ein tieferes Eindringen durch die zunehmende Absorption begrenzt wird [29,30]. Dies erklärt, dass der harmonische Effekt an der Körperoberfläche praktisch null ist. Folgender Vorteil lässt sich nun daraus ableiten: Bildartefakte entstehen v.a. an der Körperoberfläche durch Streuung des Ultraschallstrahls an der Haut und anderen oberflächlichen Gewebsstrukturen, wie z.B. Fett. Da die harmonischen Frequenzen jedoch im tieferliegendem Gewebe erzeugt werden und Nebenkeulenartefakte hierzu kaum etwas beitragen, wird die Bildgebung und damit die Abgrenzbarkeit einzelner Strukturen deutlich verbessert. Auch die Visualisierung tieferer Strukturen kann durch *THI* deutlich verbessert werden [8,44,52].

Beim *CHI* reagiert jedes Mikrobäschen, unabhängig von seiner Lokalisation in der Gewebstiefe, auf die Über- und Unterdruckamplituden des Sendeimpulses mit fundamentalen und harmonischen Schwingungen, die sich auf das Echosignal übertragen. Dieser Prozess beginnt bereits bei deutlich niedrigeren Schalldrücken als beim *THI* und entfaltet seine größte Wirkung bei mittleren Schalldrücken. Bei hohen Schalldrücken kommt es zur stimulierten akustischen Emission (=SAE), d.h. die Mikrobäschen zerplatzen und führen dabei zu einem kurzfristigen hohen Echosignal mit Steigerung des Bildkontrastes [30].

Zwei Methoden verwendet man, um harmonische Ultraschallwellen von den fundamentalen Schallwellen zu trennen. Bei der ersten Methode wird ein Filter benutzt, der die fundamentalen Anteile herausfiltert, so dass lediglich die harmonischen Anteile zur Bildgebung zur Verfügung stehen. Dies ist notwendig, da sich ansonsten die fundamentalen und harmonischen Signale so gegenseitig beeinflussen bzw. stören, dass dies zu einer Verschlechterung der Bildqualität von Harmonic Imaging führt. Problem ist jedoch, dass der Filter in sich überlappenden Anteilen nicht zwischen fundamentalen und harmonischen Anteilen unterscheiden kann, so dass auch harmonische Anteile verloren gehen [52,29]. Daher benötigt man eine schmale Sendefrequenzbreite, um die Grundfrequenz sinnvoll herauszufiltern. Dies wiederum reduziert jedoch die räumliche Auflösung mit der Folge der schlechteren Bildqualität [29].

Anders ist dies bei der zweiten Methode: Sie funktioniert mit der Technik der Puls- bzw. Phaseninversion. Dabei werden zwei Pulse aufeinanderfolgend in den Körper ausgesandt, wobei der zweite Puls dem ersten um  $180^\circ$  entgegengesetzt ist. Als Resultat dieser Phasenverschiebung um  $180^\circ$  werden die fundamentalen Anteile „herausgelöscht“, während die harmonischen Signalanteile verstärkt werden [52]. Dies bedeutet, dass während in der ersten Methode durch den Filter auch harmonische Anteile verloren gehen, erreicht man durch Puls- bzw. Phaseninversion, dass sich durch die entgegengesetzten Pulse nur die fundamentalen Anteile selbst „herauslöschen“, so dass die harmonischen Anteile im Gesamten zur Bildgebung zur Verfügung stehen. In einer Vergleichsstudie dieser beiden Methoden des Harmonic Imaging zeigten Bauer et al., dass die Signalintensität von Puls- bzw. Phaseninversion bei jeder von ihnen getesteten Sendeleistung (1, 10, 25 und 100%) deutlich über der bei Verwendung eines Filters lag [4]. Daher entstehen mittels Puls- bzw. Phaseninversion Bilder mit einer deutlichen Verbesserung der Kontrast- und räumlichen Auflösung [29]. Die Bilder erscheinen somit klarer und zeigen weniger Artefakte.

### **4.2.2 Interaktion von Kontrastmittel und Harmonic Imaging**

Die Aufgabe von Kontrastmitteln in der Ultraschalldiagnostik besteht darin das Echo von Flüssigkeiten zu verstärken, indem sie den Anteil der Rückstreuung der Ultraschallwelle erhöhen. Dies wird dadurch ermöglicht, dass die Mikrobubbles viele kleine Grenzflächen schaffen, woraus eine hohe Echogenität resultiert. Durch die Anwesenheit von Kontrastmitteln wird somit ein größerer Teil der Ultraschallwelle reflektiert als durch die Flüssigkeit allein und daher ein stärkeres Echo vom Schallkopf empfangen [46]. Daraus resultiert eine bessere Darstellbarkeit der Flüssigkeit. Dies ist Grundlage der fundamentalen Bildgebung.

Grundlage für die Bildgebung von Harmonic Imaging ist eine weitere akustische Eigenschaft von Kontrastmitteln. Diese besteht darin, dass die Mikrobubbles durch Anregung der Sendefrequenz in Schwingungen versetzt werden und sie dadurch zusätzlich zu der linearen Sendefrequenz Rückstreusignale mit

Frequenzanteilen aussenden, die nicht-linear im Vergleich zu der ausgesendeten Ultraschallfrequenz sind [7]. Darüber hinaus entstehen diese harmonischen Anteile, da die Mikrobläschen ähnlich wie das Gewebe auf die Druckwelle des Ultraschalls mit Kompression oder Dekompression reagieren und somit ihre Größe verändern. Die Wellenform wird dadurch verzerrt, was dann die harmonischen Schwingungen erzeugt [4].

Diese Merkmale tragen im wesentlichen dazu bei, dass durch die kombinierte Anwendung von Kontrastmitteln und Harmonic Imaging deutlich bessere Bildkontraste erreicht werden können. In der vorliegenden Studie konnte dies bestätigt werden. In allen Experimenten zeigte sich, dass bei Anwendung von Harmonic Imaging in Kombination mit Levovist<sup>®</sup> bzw. SonoVue<sup>®</sup> deutlich bessere Kontraste erreicht werden konnten als in der fundamentalen Bildgebung. Nachteil ist jedoch, dass durch Anwendung von Harmonic Imaging die Kontrastdauer deutlich reduziert wurde. Die durchschnittliche Kontrastdauer reduzierte sich bei Levovist<sup>®</sup> um 74% und bei SonoVue<sup>®</sup> um 55%.

Um dies zu erklären ist folgender Zusammenhang zu beachten: das Streuverhalten der Mikrobläschen ist von der Höhe des  $MI$  abhängig. Bei niedrigem  $MI$  schwingen die Mikrobläschen fast ausschließlich linear, so dass der harmonische Anteil sehr gering ist. Mit steigendem  $MI$  beginnen die Mikrobläschen stärker und nicht-linearer zu schwingen, so dass der Anteil an harmonischen Schwingungen immer mehr zunimmt [7], was zu verstärkten Echos führt und demnach auch zu einer verbesserten Bilddarstellung [7]. Hieraus ergibt sich, dass bei Harmonic Imaging ein höherer  $MI$  notwendig ist als bei der fundamentalen Bildgebung. Dies führt jedoch zu zwei Problemen. Zum einen kommt es bei einem hohen  $MI$  zum Zerplatzen der Mikrobläschen, was eine Reduktion von Mikrobläschen im entstehenden Bild und damit eine Reduktion der Kontrastdauer bedeutet. Zum anderen führt der erhöhte  $MI$  nicht nur zu einer Steigerung der nicht-linearen Rückstreuung des Mikrobläschens selbst, sondern auch zu einer nicht-linearen Schwingung des umliegenden Gewebes. Dadurch erhöhen sich auch die Kontraste der umliegenden Gewebsstrukturen, so dass die Differenz der Kontraste zwischen Mikrobläschen und umliegendem Gewebe abnimmt. Resultat daraus wäre, dass die



Mikrobläschen von den umliegenden Gewebsstrukturen nicht mehr so gut abgrenzbar sind [4]. Dies dürfte zwar in den von uns durchgeführten in-vitro Experimenten eine untergeordnete Rolle gespielt haben, da in unserem Versuchsaufbau neben der Flüssigkeit kein weiteres „Gewebe“ vorhanden war. Bei klinischer Anwendung sollte dies jedoch berücksichtigt werden.

In den Experimenten zeigte sich jedoch bei dem Kontrastmittel SonoVue<sup>®</sup> bei Harmonic Imaging mit einem hohen *MI*, sowohl bei *THI* als auch bei *ECI*, eine geringere Abnahme der Kontrastdauer als bei einem niedrigen *MI*. Normalerweise wäre es nach dem oben Erläuterten genau andersherum zu erwarten gewesen. Auf Grundlage des bereits Beschriebenen könnte man dies damit erklären, dass bei einem niedrigen *MI* die Mikrobläschen sehr viel geringer in Schwingungen versetzt werden und daher die ausgesendeten harmonischen Echos sehr viel geringer sind. Daraus ergeben sich sehr viel geringere Bildkontraste und damit eine schwierigere Unterscheidung zwischen Mikrobläschen und umgebener Flüssigkeit, woraus eine vermeintlich geringere Kontrastdauer resultiert, da im zeitlichen Verlauf die Anzahl der Mikrobläschen immer mehr abnimmt und somit auch der Kontrast. Stützen könnte dies die Beobachtungen im Experiment, bei dem die Kontrastdauer von SonoVue<sup>®</sup> gemessen wurde bei Umschalten von Harmonic Imaging mit einem niedrigen *MI* auf einen hohen *MI*. Hier zeigte sich, dass durch das Umschalten von *low MI* auf *high MI* die Kontrastdauer signifikant verlängert werden konnte.

Wichtig in diesem Zusammenhang ist auch die Zusammensetzung der Mikrobläschen von SonoVue<sup>®</sup>. Diese bestehen aus dem Gas Schwefelhexafluorid, welches eine sehr geringe Tendenz hat aus der Hülle herauszudiffundieren. Daraus resultiert eine hohe Stabilität auch bei einem hohen *MI* und somit eine längere Kontrastdauer. Auf diesen Aspekt wird in Abschnitt 4.5.3 näher eingegangen.

Eine weitere Beobachtung, die in den SonoVue<sup>®</sup>-Experimenten zu Harmonic Imaging gemacht wurde, war, dass bei Einstellen der Abbildungsmodalität *ECI/low MI* bei steigender Konzentration die Kontrastdauer abnahm. Aufgrund der starken Wechselwirkungen zwischen Mikrobläschen und Ultraschall kann es bei

hohen Konzentrationen zu einer starken Signalsättigung bzw. zu einer Übersteuerung kommen, was zu Artefakten bzw. Schallschatten und somit zu einer schlechteren Bildqualität führt [7,8]. Dadurch könnten die Bilder schlechter beurteilt werden und sich so die Kontrastdauer verfälschen. Fraglich ist jedoch, ob solche kleinen Konzentrationsunterschiede, wie im vorliegendem Experiment, einen derartigen Effekt haben können. Daher stellt sich hier vielmehr die Frage, ob dieses Ergebnis nicht Folge der kleinen Stichprobe ist.

Zusammenfassend bedeutet dies, dass bei der klinischen Anwendung von Harmonic Imaging in Kombination mit Kontrastmitteln, ein optimaler *MI* gefunden werden sollte, bei dem zum Einen ein guter Kontrast gewährleistet ist und zum anderen die Mikrobläschenzerstörung möglichst gering bleibt.

### **4.2.3 Sonographische Refluxprüfung mit Harmonic Imaging- Vorteile gegenüber der fundamentalen Abbildungs- modalität**

In einer Studie zum Vergleich der fundamentalen Modalität mit Harmonic Imaging zeigte sich, dass durch den Einsatz von Harmonic Imaging die Darstellung des Nierenbeckens und das Erkennen des Ultraschallkontrastmittels, in diesem Fall Levovist<sup>®</sup>, signifikant verbessert werden konnte, so dass die Detektion von Refluxen erleichtert wurde [23,25]. In 8 von 27 Nieren-Harnleiter-Einheiten konnte der Reflux sogar ausschließlich in den Harmonic Imaging Modalitäten nachgewiesen werden. Die Abgrenzbarkeit sowohl des Retrovesicalraumes als auch des Nierenbeckens wurde mit *Tissue Harmonic Imaging* im Vergleich zu *Contrast Harmonic Imaging* und Fundamentaler Modalität als am besten bewertet [25,23]. In einer vergleichbaren Studie erhielten Kopitzko et al. ähnliche Ergebnisse. Sie zeigten, dass durch den Einsatz von Harmonic Imaging eine stärkere Signalsteigerung sowie eine bessere Bildqualität erreicht werden kann [39]. Auch Ascenti et al. zeigten, dass Harmonic Imaging der Fundamentalen Modalität deutlich überlegen ist [2]. Im Unterschied zur Studie von Darge et al. sowie Kopitzko et

al., wurde hier anstelle des Kontrastmittels Levovist<sup>®</sup> das Kontrastmittel SonoVue<sup>®</sup> verabreicht.

Vergegenwärtigt man sich die Entstehung der Bildkontraste bei Verwendung von Harmonic Imaging, welche bereits im vorhergehenden Abschnitt erläutert wurden, so überrascht die Überlegenheit des *Tissue Harmonic Imaging* gegenüber der fundamentalen Bildgebung in der Abgrenzbarkeit des Retrovesicalraumes und des Nierenbeckens nicht [31].

Die Verwendung von Harmonic Imaging in der Refluxdiagnostik führt daher zu einer verbesserten Sensitivität. Folge hieraus könnte zum einen eine Reduktion der Kontrastmitteldosis und somit der Kosten, zum anderen eine Verkürzung der Untersuchungszeit sein [25,23]. In einer kürzlich veröffentlichten Studie zeigten Kopitzko et al., dass durch Einsatz von Harmonic Imaging die Kontrastmitteldosis um 35% reduziert werden konnte [39]. In einer vergleichbaren Studie wurde gezeigt, dass bei Anwendung von Harmonic Imaging, die Kontrastmitteldosis von Levovist<sup>®</sup> von 10% des Blasenvolumens auf 5% des Blasenvolumens herabgesetzt werden konnte, ohne dass sich Einschränkungen in der Detektion von Refluxen im Vergleich zur MCU ergaben [20]. Jedoch könnten kürzlich eingeführte Kontrastmittel der 2. Generation, wie z.B. SonoVue<sup>®</sup>, weitere Vorteile in der Refluxdiagnostik bieten, da sie sehr viel stabiler zu sein scheinen und in einer signifikant geringeren Dosis als Levovist<sup>®</sup> verwendet werden können [2].

### **4.3 Herkömmliche und neue Kontrastmittel in der Refluxdiagnostik**

Zum ersten Mal berichteten 1994 Kaneko et al. über den Einsatz von Kontrastmitteln in der Refluxdiagnostik. Sie verwendeten das Kontrastmittel Albunex<sup>®</sup> (Molekular Biosystems, San Diego, USA), mit dem sie die Diagnose eines Refluxes bei einem Kind stellten [36]. Atala et al. setzten dasselbe Kontrastmittel ein, um die sonographische Methode mit der MCU und der Radionuklidcystographie (RNC) in einer kleinen Gruppe von Patienten zu

vergleichen [3]. Es zeigte sich eine hohe Sensitivität und Spezifität der Ultraschallmethode im Vergleich zur MCU und RNC.

Ein weiteres Ultraschallkontrastmittel, welches getestet wurde, war das auf Galaktose basierende Kontrastmittel Echovist<sup>®</sup> (Schering, Berlin, Deutschland). Von Rohden et al. testeten die kontrastverstärkte sonographische Refluxprüfung mit Echovist<sup>®</sup> im Vergleich zur MCU und erhielten eine hohe Übereinstimmung der Ergebnisse beider Verfahren [53]. Auch Darge et al. erhielten in einer vergleichbaren kleineren Studie ähnliche Ergebnisse [18]. Problem dieses Kontrastmittels war jedoch die sehr kurze Kontrastdauer von ungefähr 5 Minuten, was den Einsatz des Kontrastmittels für die Routinediagnostik stark einschränkte.

Durch die Einführung von Kontrastmitteln mit stabilisierten Mikrobläschen Mitte der 90iger Jahre, wie z.B. Levovist<sup>®</sup>, eröffneten sich neue Perspektiven in der sonographischen Refluxprüfung. Grund hierfür war, dass diese Kontrastmittel eine längere Untersuchungsdauer durch eine erhöhte Stabilität zeigten [15,16]. Nachteil dieser Kontrastmittel sind jedoch die deutlich höheren Kosten im Vergleich zu Röntgenkontrastmitteln. Um dieses Problem zu beheben, sind Versuche unternommen worden, neue Kontrastmittel, sogenannte Kontrastmittel der zweiten Generation, beispielsweise SonoVue<sup>®</sup>, einzusetzen, von denen man sich eine deutlich niedrigere zu verwendende Dosis erhofft, wodurch eine Reduktion der Kosten erreicht werden könnte.

### **4.3.1 Das Kontrastmittel Levovist<sup>®</sup>**

Levovist<sup>®</sup> ist eines der ersten Kontrastmittel, deren Mikrobläschen stabilisiert sind. Die aus Luft bestehenden und mit Galaktose umgebenden Mikrobläschen sind stabilisiert durch 0,1% Palmitinsäure, die sich als dünner Mantel um die Mikrobläschen schließt. 99% der Mikrobläschen sind kleiner als 8µm und haben einen Durchmesser von durchschnittlich 2-3µm. Durch die Stabilisierung mit Palmitinsäure einerseits und die Größe der Mikrobläschen kleiner als 8µm andererseits ist eine Lungenpassage der Mikrobläschen gewährleistet, was besonders für die echokardiographische Untersuchung sowie in der

Abdominalsonographie bedeutend ist [26,11]. Auch in der Refluxdiagnostik hat sich Levovist<sup>®</sup> als Ultraschallkontrastmittel etabliert. In einigen Abteilungen ist Levovist<sup>®</sup> in die Routinediagnostik für Reflux integriert worden. Mit Levovist<sup>®</sup> ist eine Diagnose aller Refluxgrade möglich. Die Mikrobläschen verursachen keinen deutlichen oder lang bestehenden Schallschatten in der Blase, so dass es möglich ist, den Mikrobläschenrückfluss in die Harnleiter sowie die Nierenbecken zu beobachten. Die Kontrastdauer von Levovist<sup>®</sup> beträgt mehr als eine halbe Stunde, so dass die Refluxprüfung nicht eingeschränkt wird [21,24]. Die in der Refluxprüfung verwendete Konzentration von Levovist<sup>®</sup> beträgt bei Anwendung der fundamentalen Bildgebung 10% des Blasenvolumens. Bei Anwendung von Harmonic Imaging kann diese Konzentration auf 5% des Blasenvolumens herabgesetzt werden [18].

### **4.3.2 Das Kontrastmittel SonoVue<sup>®</sup>**

Die Mikrobläschen des 2. Generationskontrastmittels SonoVue<sup>®</sup> bestehen aus dem Gas Schwefelhexafluorid. Schwefelhexafluorid ist ein für die klinische Anwendung gut verträgliches Gas [12]. Umgeben sind die Mikrobläschen von einer Phospholipideinzelschicht und stabilisiert durch Palmitinsäuremoleküle. Auch bei SonoVue<sup>®</sup> sind mehr als 90% der Mikrobläschen kleiner als 8µm und haben einen mittleren Durchmesser von 2,5µm, so dass bei diesem Kontrastmittel ähnlich wie bei Levovist<sup>®</sup> eine Lungenpassage gewährleistet ist. [48,49]. Erste klinische Erfahrungen über die Anwendung von SonoVue<sup>®</sup> in der Refluxdiagnostik sind bekannt. Ascenti et al. führten eine Studie durch, in der sie die MUS unter Anwendung von Harmonic Imaging mit der MCU verglichen. Sie erhielten hohe Übereinstimmung beider Verfahren. In drei Nieren-Harnleiter-Einheiten konnte sogar der Reflux lediglich in der MUS festgestellt werden. Auch konnte in einigen Untersuchungen in der MUS ein höhergradiger Reflux als mit der MCU diagnostiziert werden [2].

#### **4.4 Versuchsaufbau**

Der in Abschnitt 2.2 vorgestellte Versuchsaufbau wurde entwickelt, um eine Simulation der klinischen Refluxprüfung zu erreichen. Dieser Versuchsaufbau erwies, entsprechend der Studie von Darge et al., ein einfaches „handling“ sowie wenig Störfaktoren [17]. Da die Mikrobläschen von SonoVue<sup>®</sup> sehr stabil sind [48], konnte kontinuierlich geschallt werden. Geschallt wurde mit einem 7,5 MHz Linearschallkopf. Dieser wurde aus zwei Gründen gewählt. Zum einen verwendeten auch Schneider et al. in ihren in-vitro Untersuchungen mit dem Kontrastmittel SonoVue<sup>®</sup> diesen Schallkopf, zum anderen ist das zu durchdringende Gewebe, in diesem Fall die Wand der verwendeten Spritze, sehr gering, so dass sich ein Schallkopf mit hoher Frequenz anbietet, da gilt: je höher die Frequenz eines Schallkopfes, desto geringer ist die Eindringtiefe [48]. Somit entstehen optimale Bilder nahe der Oberfläche. Darüber hinaus konnte dieser Linearschallkopf sowohl für die fundamentale Bildgebung als auch für Harmonic Imaging verwendet werden, so dass dieser für alle Experimente gleichermaßen eingesetzt werden konnte, was Unterschiede im Versuchsaufbau und somit Störfaktoren verhinderte. Um die Bilder weiter zu optimieren wurde der Bildfocus so eingestellt, dass er sich bei allen Experimenten im unteren Drittel des Bildes befand.

#### **4.5 Die Kontrastmittel Levovist<sup>®</sup> und SonoVue<sup>®</sup> im Vergleich**

##### **4.5.1 Dosisfindung: SonoVue<sup>®</sup>**

In Experimenten zur Dosisfindung von SonoVue<sup>®</sup> zeigten Schneider et al., dass bei einer SonoVue<sup>®</sup> Konzentration von 0.03ml/kg Körpergewicht eine ausreichend hohe Echogenität von SonoVue<sup>®</sup> erreicht wird. Sie testeten Meerschweinchen mit einem durchschnittlichen Gewicht von 10kg, so dass sich ein absolutes SonoVue<sup>®</sup>volumen von durchschnittlich 0,3ml ergab [48]. Von diesen Beobachtungen sind wir ausgegangen und haben zunächst dieses Volumen von 0,3ml auf das physiologische Blasenvolumen von 100ml bezogen: gibt man in ein Blasenvolumen von 100ml SonoVue<sup>®</sup> eine Dosis von 0,3ml, so

entspricht dies 0,3%. Von dieser Prozentangabe sind wir als Richtwert ausgegangen und verwendeten SonoVue® in einer Konzentration von 0,25%, um zu sehen, ob auch in einer niedrigeren Konzentration eine ausreichend hohe Echogenität erreicht wird und gleichzeitig eine ausreichend lange Kontrastdauer resultiert. Anschließend testeten wir SonoVue® in einer doppelten und vierfachen Konzentration (0,5% und 1%), um zu sehen, wie sich die Kontrastdauer bei steigender Konzentration verhält. Zu einem besseren „handling“ haben wir statt einem Gesamtvolumen von 100ml ein Gesamtvolumen von 20ml verwendet. Die Untersuchungen zeigten, dass die Veränderung der Konzentration innerhalb einer Abbildungsmodalität zu keiner signifikanten Reduktion der Kontrastdauer führte. Signifikante Tendenzen zeigten sich lediglich bei Betrachtung der Abbildungsmodalität *THI high MI* beim Vergleich von 0,5% und 0,25%. Hier zeigte sich eine Reduktion der Kontrastdauer um 27,4% bei der niedrigeren Konzentration ( $p=0.05$ ).

Daher ist für die in-vivo Untersuchungen eine Konzentration von mindestens 0,5% des Blasenvolumens zu empfehlen. In dieser Konzentration kann eine ausreichende Echogenität erreicht werden und gleichzeitig eine ausreichend lange Kontrastdauer bzw. Untersuchungszeit gewährleistet werden. In einer ersten klinischen Studie von Ascenti et al. konnte dies bestätigt werden. Bei Verwendung von SonoVue® in einer Konzentration von 0,5% und Anwendung von Harmonic Imaging zeigte sich eine hohe Übereinstimmung in der Detektion von Refluxen beim Vergleich von MUS und MCU [2].

### **4.5.2 Physiko-chemische Eigenschaften von Levovist® und SonoVue®**

Die speziellen Interaktionen zwischen Kontrastmittel und Harmonic Imaging wurden bereits in Abschnitt 4.2.2 näher erläutert.

Ultraschallkontrastmittel weisen zwei wesentliche akustische Eigenschaften auf. Die erste akustische Eigenschaft ist, dass Ultraschallkontrastmittel sehr viel stärker schallreflektierend wirken als Flüssigkeiten (z.B. Blutbestandteile oder Urin). Dies geschieht folgendermaßen: werden die Mikrobläschen von einer eintreffenden Ultraschallwelle getroffen, so wird diese von der Oberfläche

reflektiert. Dabei besitzt die rückgestreute Schallwelle die gleiche Wellenlänge wie die angekommene Schallwelle, so dass man von einem Linearverhalten der Mikrobläschen spricht. Durch dieses Linearverhalten kann durch Vorhandensein der Mikrobläschen die Signalintensität um bis zu 23db gesteigert werden, was sicherlich ein großer Vorteil ist. Sowohl nach intravesikaler als auch nach intravenöser Gabe verbleiben die Mikrobläschen am Ort der Applikation, d.h. in der Blase bzw. im Gefäßlumen. Dadurch wird hier eine maximale Signalsteigerung erreicht [46].

Die zweite akustische Eigenschaft der Mikrobläschen besteht nun darin, dass sie durch Anregung der eintreffenden Ultraschallwelle in Schwingungen versetzt werden und dabei selbst Rückstreusignale aussenden, sogenannte harmonische Signalanteile, die nichtlinear im Vergleich zu der ausgesendeten Ultraschallfrequenz sind. Dieses Verhalten ist jedoch abhängig vom  $MI$  als Maß für die Sendeleistung. Bei niedrigem  $MI$  schwingen die Mikrobläschen v.a. linear, so dass die harmonische Antwort sehr gering ist. Mit steigendem  $MI$  tritt mehr und mehr ein nichtlineares Verhalten der Mikrobläschen ein, so dass die harmonische Antwort zunimmt und damit die Bildkontraste. Problem ist jedoch, dass bei zunehmenden  $MI$  die Mikrobläschen platzen. Dabei senden sie kurzzeitig ein hochenergetisches Signal aus, eine sogenannte Stimulierte Akustische Emission (=SAE) [Becker D 2002, 1999]. Dieses Verhalten zeigen prinzipiell alle Ultraschallkontrastmittel. Jedoch ist von Kontrastmittel zu Kontrastmittel verschieden, bei welchem  $MI$  sie harmonische Anteile aussenden bzw. bei welchem  $MI$  die Zerstörung der Mikrobläschen einsetzt. Beachten muss man jedoch, dass die Mikrobläschenzerstörung und damit die Kontrastdauer nicht allein vom  $MI$  abhängig ist, sondern auch eine Reihe anderer Faktoren (weitere Einstellungsparameter am Gerät, Eigenschaften des zu untersuchenden Gewebes) eine wesentliche Rolle bei der Zerstörung der Mikrobläschen spielen [28]

Die Mikrobläschen des Kontrastmittels SonoVue<sup>®</sup> sind von einer Phospholipideinzelschicht umgeben. Diese sehr flexible Hülle bewirkt, dass die Mikrobläschen schon bei einem sehr niedrigem  $MI$  in Schwingungen versetzt werden und dadurch ein ausgeprägtes harmonisches Verhalten zeigen. Die



Mikrobläschen führen somit zu einer kontinuierlichen Emission von harmonischen Anteilen [50]. Im Gegensatz dazu besitzen die Mikrobläschen des Kontrastmittels Levovist<sup>®</sup> eine sehr viel „starrere“ Hülle, so dass hier ein sehr viel höherer *MI* notwendig ist, um die Mikrobläschen in Schwingungen zu versetzen. Der Kontrasteffekt bei Levovist<sup>®</sup> besteht v.a. in der Aussendung eines hochenergetischen Signals bei Zerstörung der Mikrobläschen. Somit benötigt der Kontrasteffekt bei Levovist<sup>®</sup> eine hohe Sendeleistung, woraus jedoch eine hohe Mikrobläschenzerstörung resultiert [6]. Um dies zu vermeiden, empfiehlt sich ein intermittierendes Schallen, da so ein ausreichend hoher *MI* verwendet werden kann und gleichzeitig die Zerstörung der Mikrobläschen möglichst gering gehalten werden kann [6,35,41]. Hierbei stellt sich die Frage, warum die Zerstörung der Mikrobläschen möglichst gering gehalten werden soll, wenn doch die Mikrobläschenzerstörung den Kontrasteffekt bewirkt. Dies kann man mit zwei Beobachtungen erklären. Zum einen kann es bei starker Mikrobläschenzerstörung zu einem „überschießenden“ Kontrasteffekt kommen, aus dem Artefakte resultieren. Man spricht von einem sogenannten Blooming [8]. Zum anderen ist der Kontrasteffekt nur einmal nachweisbar, da er durch die Zerstörung verursacht wird, d.h. sind die Mikrobläschen zerstört, so ist der Effekt nicht mehr nachweisbar [6].

Der Vorteil von SonoVue<sup>®</sup> besteht nun darin, dass die Mikrobläschen gute Kontrasteffekte auch bei einem niedrigem *MI* zeigen [5], so dass die Mikrobläschenzerstörung möglichst gering gehalten wird. Daher bietet sich bei Verwendung von SonoVue<sup>®</sup> ein kontinuierliches Schallen an. Ein weiterer Vorteil von SonoVue<sup>®</sup> besteht darin, dass die Mikrobläschen eine hohe Druckresistenz aufweisen, so dass die Mikrobläschenzerstörung auch bei hohem *MI* im Vergleich zu Levovist<sup>®</sup> sehr gering ist. Vergewahrtigt man sich dies, so wird deutlich warum die Kontrastdauer von SonoVue<sup>®</sup> bei Verwendung von Harmonic Imaging in den hier vorliegenden Experimenten signifikant höher war als bei Levovist<sup>®</sup>, trotz einer Dosisreduktion um 80%. Besonders bei Verwendung von einem hohen *MI* wird dies deutlich. Die Kontrastdauer bei *THI high MI* lag bei SonoVue<sup>®</sup> bei 7,3 Minuten, während sie bei Levovist<sup>®</sup> nur 1,1

Minuten betrug. Auch bei Verwendung der fundamentalen Abbildungsmodalität ergab sich eine signifikant längere Kontrastdauer.

Ein weiterer wichtiger Punkt, der diese Beobachtungen erklären könnte, sind die bereits oben erwähnten hohen Schwingungseigenschaften von SonoVue®. Durch das ausgeprägte harmonische Verhalten von SonoVue® zeigen sich bereits bei niedrigem *MI* hohe Kontrasteffekte im Vergleich zu Levovist®. Daraus könnte sich ergeben, dass Levovist®-Mikrobläschen zwar noch im Bild vorhanden sind, jedoch durch die geringen Kontraste von der umgebenden Flüssigkeit nicht zu unterscheiden sind, so dass eine vermeintlich geringere Kontrastdauer resultiert. Dies könnte die sehr viel geringere Kontrastdauer von Levovist® bei Verwendung von Harmonic Imaging mit einem niedrigen *MI* im Vergleich zu SonoVue® zusätzlich erklären.

### **4.5.3 Stabilität: Kontrastdauer von SonoVue® und Levovist® im Zeitverlauf von 24 Stunden**

Die in der vorliegenden Studie durchgeführten Experimente zur Stabilität der Kontrastmittel Levovist® und SonoVue® zeigten, dass die Kontrastdauer bei Verwendung des Kontrastmittels SonoVue® über einen Zeitraum von 6 Stunden weitgehend konstant blieb, während sich die Kontrastdauer bei Verwendung von Levovist® schon nach einer halben Stunde um mehr als 70% reduzierte. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass die aus Schwefelhexafluorid (=SF<sub>6</sub>) bestehenden Mikrobläschen von SonoVue® eine sehr viel geringere Wasserlöslichkeit aufweisen, als die aus Luft bestehenden Mikrobläschen von Levovist® (Luft= 0,0167; SF<sub>6</sub>= 0,005). Aufgrund der geringeren Wasserlöslichkeit von Schwefelhexafluorid ist nun die Tendenz dieses Gases aus der Hülle zu diffundieren sehr gering. Das Gas verbleibt daher in der Hülle und die Mikrobläschen werden somit nicht instabil und platzen. Daraus ergibt sich eine erhöhte Stabilität dieser Mikrobläschen. Ein weiterer wichtiger Punkt ist, dass das Molekulargewicht der Mikrobläschen von SonoVue® sehr viel höher ist als das von Levovist® (Luft=29g, SF<sub>6</sub>=146g). Aufgrund des höheren Molekulargewichtes einerseits sowie der geringeren Wasserlöslichkeit von Schwefelhexafluorid andererseits resultiert eine sehr viel höhere Druckresistenz

der Mikrobläschen von SonoVue<sup>®</sup>. Der kritische Druck, d.h. der Druck bei dem mehr als 50% der Mikrobläschen zerstört sind, beträgt bei SonoVue<sup>®</sup> 127 mmHg, während er bei Levovist<sup>®</sup> nur 43 mmHg beträgt [48]. Diese hohe Druckresistenz von SonoVue<sup>®</sup> im Vergleich zu Levovist<sup>®</sup> ist besonders entscheidend für die in diesem Experiment verwendete Einstellungsmodalität *THI high MI*. Wie bereits erläutert, ist die Mikrobläschenzerstörung gerade bei einem hohen *MI* sehr hoch. Zeigen jedoch die Mikrobläschen wie bei SonoVue<sup>®</sup> eine hohe Druckresistenz, wird die Mikrobläschenzerstörung gering gehalten, woraus eine längere Kontrastdauer trotz Verwendung des hohen *MI* resultiert.

Aufgrund dieser Erläuterungen ist leicht zu verstehen, warum die Mikrobläschen von SonoVue<sup>®</sup> sehr viel stabiler sind als die von Levovist<sup>®</sup> und so eine signifikant längere Kontrastdauer resultiert (siehe Abschnitt 4.5.2). Ähnliche Ergebnisse erhielten auch Schneider et al. Sie berichteten sogar von einer Stabilität der Mikrobläschen von 8 Stunden [48].

Zusammenfassend ergibt sich, dass SonoVue<sup>®</sup> sowohl eine sehr viel höhere Stabilität aufweist als Levovist<sup>®</sup>, als auch in einer signifikant geringeren Dosis verwendet werden kann. Überträgt man dies auf die klinische Refluxprüfung, so könnte die Verwendung von SonoVue<sup>®</sup> zu einer deutlichen Reduktion der Kosten führen, da mit einer Flasche SonoVue<sup>®</sup> (5ml) mehrere Untersuchungen über einen langen Zeitraum eingeplant werden können. So konnten Ascenti et al. mit einer Flasche SonoVue<sup>®</sup> fünf Untersuchungen durchführen [2]. Im Vergleich dazu ist mit einer Flasche Levovist<sup>®</sup> aufgrund der höheren zu verwendenden Dosis nicht mehr als eine Untersuchung möglich. Bei vergleichbaren Anschaffungskosten für SonoVue<sup>®</sup> und Levovist<sup>®</sup> [1] bedeutet dies, dass sich durch Verwendung von SonoVue<sup>®</sup> die Kosten auf  $\frac{1}{4}$  reduzieren könnten.

### **4.5.4 Zusatzversuche**

#### **4.5.4.1 Interaktion von Kontrastmittel und 0.9 %igem NaCl**

In Studien zur Interaktion von NaCl und Ultraschallkontrastmitteln wurde gezeigt, dass die Kontrastdauer von Levovist<sup>®</sup> signifikant verlängert werden

kann, wenn man vakuumfrei abgefüllte NaCl-Lösungen mit einem hohen  $pO_2$  verwendet. Diese Beobachtung erklärten sie folgendermaßen: die aus Luft bestehenden Mikrobläschen von Levovist<sup>®</sup> sind umgeben von Galaktose und Palmitinsäure, die permeabel für Luft ist. Hat nun die umgebene NaCl-Lösung einen niedrigen  $pO_2$ , d.h. sie hat eine geringe  $O_2$ -Sättigung, so findet eine Gasdiffusion aus den Mikrobläschen statt bis ein Gleichgewicht von  $O_2$  mit der umgebenen Flüssigkeit erreicht ist. Dies führt zu einem Kollaps der Mikrobläschen und somit zu einer Verkürzung der Kontrastdauer. Ist die Lösung jedoch mit  $O_2$  gesättigt, so ist das Bestreben des Gases aus der Hülle zu diffundieren sehr gering, so dass die Mikrobläschen eine höhere Stabilität aufweisen, wodurch eine längere Kontrastdauer resultiert. Demnach ist verständlich, warum NaCl-Lösungen mit einem hohen  $pO_2$  verwendet werden sollten. Diese Voraussetzung erfüllen NaCl-Lösungen aus Plastikbehälter. Sie sind aufgrund der vakuumfreien Abfüllung sowie der Tatsache, dass Plastik luftdurchlässig ist, mit  $O_2$  aufgesättigt, so dass sie einen hohen  $pO_2$  aufweisen. Im Gegensatz dazu sind NaCl-Lösungen aus den meisten Glasbehältern ungenügend mit  $O_2$  gesättigt, da sie in der Regel unter Vakuum abgefüllt werden und Glas luftundurchlässig ist. Daher ist zu empfehlen NaCl-Lösung aus Plastikbehältern zu verwenden [17].

Auf Grundlage dieser Beobachtungen wurde auch in der vorliegenden Studie NaCl-Lösungen aus Plastikbehältern verwendet.

In unserem zusätzlichen Versuch zur Interaktion von Levovist<sup>®</sup> und SonoVue<sup>®</sup> mit NaCl-Lösung aus einem Glasbehälter im Vergleich zu einem Plastikbehälter erhielten wir jedoch abweichende Ergebnisse. Bei SonoVue<sup>®</sup> zeigte sich keine signifikante Reduktion der Kontrastdauer wenn man anstelle von NaCl aus einem Plastikbehälter NaCl aus einem Glasbehälter verwendete. Überraschenderweise blieb bei Levovist<sup>®</sup> die Kontrastdauer in beiden Fällen gleich. Eine Erklärung für diese abweichenden Ergebnisse könnte die verhältnismäßig kleine Stichprobe im Vergleich zu der Studie von Darge et al. sein. Außerdem war die Meßmethode nicht sensitiv genug, da der Abstand der einzelnen zur Dokumentation gemachten Bilder 30 Sekunden betrug und so

Veränderungen der Kontrastdauer, die sich in dieser Zeit abspielten, nicht erfasst wurden.

Die bei diesem Experiment erreichte sehr kurze Kontrastdauer bei Verwendung von Levovist® kann neben der kleinen Stichprobe und der Sensitivität der Meßmethode auch mit den hier verwendeten Einstellungsparametern erklärt werden. Das kontinuierliche Schallen sowie die Verwendung von Harmonic Imaging mit einem hohen *MI* könnten negativen Einfluss auf die zu erreichende Kontrastdauer von Levovist® gehabt haben, wenn man die bereits erläuterten Eigenschaften berücksichtigt.

### 4.5.4.2 Interaktion von Kontrastmittel und Urin

Die in der vorliegenden Studie durchgeführten Experimente zur Interaktion von SonoVue® bzw. Levovist® mit Urin zeigten, dass die Verwendung von Urin anstelle von NaCl zu keiner signifikanten Änderung der Kontrastdauer führt. Urin scheint daher (selbst unverdünnt) keinen negativen Einfluß auf die Kontrastdauer zu haben. In der klinischen Refluxprüfung wird zunächst die Blase entleert und dann mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt, so dass die verbleibende Urinmenge in der Blase vernachlässigbar ist. Daher ist nach dem oben beschriebenen auch bei der klinischen Refluxprüfung zu erwarten, dass der in der Blase verbliebene Urin ebenfalls keinen Einfluss auf die Kontrastdauer von SonoVue® und Levovist® hat und somit auch keinen Störfaktor darstellt.

## 5. Zusammenfassung

Die Miktionsurosonographie (MUS) ist zu einem festen Bestandteil in der Diagnostik des vesikoureteralen Reflux geworden. Als Ultraschallkontrastmittel wird das 1. Generationskontrastmittel Levovist<sup>®</sup> eingesetzt, welches eines der ersten Kontrastmittel war, deren Mikrobläschen stabilisiert sind. Dadurch wurde die Refluxdiagnostik mittels MUS deutlich erleichtert, so dass diese in einigen Abteilungen in die Routinediagnostik integriert wurde. Ein großer Nachteil dieses Kontrastmittels sind jedoch die im Vergleich zu Röntgenkontrastmitteln deutlich höheren Kosten. Um diesem Problem entgegenzuwirken hat man versucht neue Kontrastmittel, sogenannte Kontrastmittel der 2. Generation, wie z.B. SonoVue<sup>®</sup>, einzusetzen, von denen man sich eine deutlich geringere zu verwendende Dosis erhoffte, was zu einer Senkung der Kosten führen könnte.

Thema der vorliegenden Arbeit war es nun, dieses neu entwickelte 2. Generationskontrastmittel SonoVue<sup>®</sup> mit dem in der Routine verwendeten 1. Generationskontrastmittel Levovist<sup>®</sup> in in-vitro Versuchen zu vergleichen. Ziel war hierbei zunächst eine Dosisfindung für SonoVue<sup>®</sup> durchzuführen und im Anschluss daran zu untersuchen, ob SonoVue<sup>®</sup> trotz Verwendung einer signifikant geringeren Dosis als Levovist<sup>®</sup> eine ausreichend lange in-vitro Kontrastdauer erreicht. Dazu wurde die Kontrastdauer, die als Vergleichsparameter diente, bei Einstellen verschiedener Abbildungsmodalitäten (Fundamental und Harmonic Imaging) für Levovist<sup>®</sup> und SonoVue<sup>®</sup> gemessen. Der verwendete Versuchsaufbau simulierte dabei die klinische Refluxprüfung.

Die in-vitro durchgeführten Experimente zur Dosisfindung von SonoVue<sup>®</sup> zeigten, dass die Veränderung der Konzentration innerhalb einer Abbildungsmodalität zu keiner signifikanten Reduktion der Kontrastdauer führte. Signifikante Tendenzen zeigten sich lediglich bei Betrachtung der Abbildungsmodalität THI high MI beim Vergleich von 0,5% und 0,25%. Daher ist für die in-vivo Untersuchungen eine Konzentration von mindestens 0,5% des Blasenvolumens zu empfehlen. Beim Vergleich der Kontrastmittel SonoVue<sup>®</sup>

und Levovist<sup>®</sup> zeigte sich, dass mit SonoVue<sup>®</sup> eine signifikant längere Kontrastdauer im Vergleich zu Levovist<sup>®</sup> erreicht werden konnte, trotz Verwendung einer um 80% reduzierten Dosis. Bei Verwendung der Abbildungsmodalität Fundamental war die Kontrastdauer von SonoVue<sup>®</sup> um 50% länger als die von Levovist<sup>®</sup>. Auch bei Einstellen von Harmonic Imaging wurde eine deutlich längere Kontrastdauer als mit Levovist<sup>®</sup> erreicht. Betrachtet man nur die Modalität THI mit hohem MI, welche routinemäßig bei Levovist<sup>®</sup> angewendet wird, so zeigte sich, dass die Kontrastdauer bei Levovist<sup>®</sup> in einer Konzentration von 5% bei 1,1 Minuten lag, während SonoVue<sup>®</sup> bei einer Konzentration von 1% eine Kontrastdauer von 7,3 Minuten, bei 0,5% eine Kontrastdauer von 6,2 Minuten und bei 0,25% eine Kontrastdauer von 4,5 Minuten erreichte. Dies bedeutet, dass trotz einer Dosisreduktion von 80% bei Verwendung von SonoVue<sup>®</sup> die Kontrastdauer in-vitro um das 7-fache verlängert werden kann. Des Weiteren zeigte sich, dass SonoVue<sup>®</sup> über einen Zeitraum von 6 Stunden stabil blieb, während Levovist<sup>®</sup> schon nach 0,5 Stunden eine deutliche Reduktion der Kontrastdauer zeigte.

Zurückzuführen ist dies auf zwei Beobachtungen: Zum Einen bestehen die Mikrobläschen von SonoVue<sup>®</sup> aus dem Gas Schwefelhexafluorid (SF<sub>6</sub>). Schwefelhexafluorid weist eine sehr viel geringere Wasserlöslichkeit auf als die aus Luft bestehenden Mikrobläschen von Levovist<sup>®</sup>, so dass die Tendenz dieses Gases aus der Hülle zu diffundieren sehr gering ist, woraus eine erhöhte Stabilität dieser Mikrobläschen resultiert. Zum Anderen ist das Molekulargewicht der Mikrobläschen von SonoVue<sup>®</sup> sehr viel höher als das der Levovist<sup>®</sup> Mikrobläschen. Das höhere Molekulargewicht sowie die vorher genannte geringere Wasserlöslichkeit von Schwefelhexafluorid, führen zu einer sehr viel höheren Druckresistenz der Mikrobläschen von SonoVue<sup>®</sup>. Der kritische Druck, d.h. der Druck bei dem mehr als 50% der Mikrobläschen zerstört sind, beträgt bei SonoVue<sup>®</sup> 127 mmHg, während er bei Levovist<sup>®</sup> nur 43 mmHg beträgt. Aufgrund dieser Differenz sind die Mikrobläschen von SonoVue<sup>®</sup> sehr viel stabiler und somit resultiert eine deutlich längere Kontrastdauer.

Daher ist zu erwarten, dass SonoVue® auch in-vivo Applikationen in einer signifikant geringeren Dosis als das routinemäßig eingesetzte Kontrastmittel Levovist® verwendet werden kann, so dass dies zu einer Reduktion der Kosten führen könnte. Bei vergleichbaren Anschaffungskosten für SonoVue® und Levovist® bedeutet dies, dass sich durch Verwendung von SonoVue® [1%] die Kosten auf  $\frac{1}{4}$  reduzieren könnten.



## **6. Anhang:**

Die auf der folgenden Seite dargestellte Tabelle zeigt die durchgeführten Experimente in einer Übersicht.

Dargestellt ist die für das jeweilige Experiment verwendete Abbildungsmodalität und die daraus resultierte Kontrastdauer. Darüber hinaus zeigt die Tabelle die aus dem Experiment errechnete Signifikanz.

Experimentziel	Abbildungsmodalität	Ergebnis [min.]	Vergleich	Ergebnis [min]	Signifikanz
Kontrastdauer von SonoVue® bei versch. Konzentrationen und Abbildungsmodalitäten:	Fundamental 1%	12,5	Fundamental 0,5%	12,0	
	Fundamental 0,5%	12,0	Fundamental 0,25%	11,5	
	ECI highMI 1%	7,1	ECI highMI 0,5%	5,4	
	ECI highMI 0,5%	5,4	ECI highMI 0,25%	3,4	
	ECI lowMI 1%	2,7	ECI lowMI 0,5%	2,8	
	ECI lowMI 0,5%	2,8	ECI lowMI 0,25%	3,5	
	THI highMI 1%	7,3	THI highMI 0,5%	6,2	p>0,05
	THI highMI 0,5%	6,2	THI highMI 0,25%	4,5	p~0,05
Kontrastzeitverlängerung von SonoVue® [0,5%] bei Umschalten von lowMI auf highMI:	ECI low MI	2,9	ECI highMI [ Zeitdiff. =2,08 ]	4,9	p=0,001
	THI lowMI	3,7	THI highMI [ Zeitdiff. =2,00 ]	5,8	p<0,001
Kontrastdauer von SonoVue® bei versch. Abbildungsmodalitäten innerhalb einer Konz. [1%]:	Fundamental 1%	12,5	ECI highMI 1%	7,1	p~0,05
	Fundamental 1%	12,5	ECI lowMI 1%	2,7	p~0,005
	Fundamental 1%	12,5	THI highMI 1%	7,3	p~0,053
	Fundamental 1%	12,5	THI lowMI 1%	5,1	p~0,016
	ECI highMI 1%	7,1	ECI lowMI 1%	2,7	p<0,001
	THI highMI 1%	7,3	THI lowMI 1%	5,1	p~0,007
Kontrastdauer von Levovist® bei versch. Abbildungsmodalitäten innerhalb einer Konz. [5%]:	Fundamental 1%	5,3	ECI highMI 1%	1,3	p<0,001
	Fundamental 1%	5,3	ECI lowMI 1%	1,3	p<0,001
	Fundamental 1%	5,3	THI highMI 1%	1,1	p<0,001
	Fundamental 1%	5,3	THI lowMI 1%	1,7	p<0,001
	ECI highMI 1%	1,3	ECI lowMI	1,3	p>0,05
	THI highMI	1,1	THI lowMI	1,7	p<0,001
Kontrastdauer von SonoVue® [1%] und Levovist® [5%] im Vergleich:	S. Fundamental	12,5	L. Fundamental	5,3	p=0,017
	S. ECI highMI	7,1	L. ECI highMI	1,3	p<0,001
	S. ECI lowMI	2,7	L. ECI lowMI	1,3	p=0,023
	S. THI highMI	7,3	L. THI highMI	1,1	p<0,001
	S. THI lowMI	5,1	L. THI lowMI	1,7	p<0,001
Einfluß von Urin auf die Kontrastdauer von SonoVue® und Levovist®	S. 0,25% - Urin	2,3	S. 0,25%- NaCl	4,5	p>0,05
	L. 5%-Urin	1,4	L. 5%- NaCl	1,1	p>0,05
Kontrastdauer unter Verwendung von NaCl aus Glas -und Plastikbehälter bei jeweils SonoVue® und Levovist®:	S. 0,25%-Glas	3,3	S. 0,25%- Plastik	4,5	
	L. 5%-Glas	1,1	L. 5%- Plastik	1,1	
Kontrastdauer im Zeitverlauf von 24h bei SonoVue® [0,25%] und Levovist® [5%] im Vergleich:	S:THI highMI-direkt	5,0	L:THI highMI-direkt	3,3	
	S:THI highMI-30Min.	5,3	L:THI highMI-30Min.	0,8	
	S:THI highMI-1h	5,7	L:THI highMI-1h	0,7	
	S:THI highMI-2h	5,3	L:THI highMI-2h	0,5	
	S:THI highMI-4h	4,8	L:THI highMI-4h	0,5	
	S:THI highMI-6h	3,2	L:THI highMI-6h	0,5	
	S:THI highMI-8h	2,5	L:THI highMI-8h	0,5	
	S:THI highMI-24h	2,8	L:THI highMI-24h	0,5	

## 7. Literaturverzeichnis

- 1) Apotheke Uniklinik Würzburg  
Persönliche Mitteilung
- 2) Ascenti G, Zimbaro G, Mazziotti S, Chimenz R, Fede C, Visalli C, Scribano E (2004)  
Harmonic US imaging of vesicoureteric reflux in children: usefulness of second generation US contrast agent.  
Pediatr Radiol 34:481-487
- 3) Atala A, Ellsworth P, Share J, Paltiel H, Dixon Walker R, Retik AB (1998)  
Comparison of sonicated albumin enhanced sonography to fluoroscopic and radionuclide voiding cystography for detecting vesicoureteral reflux.  
J Urol;160:1820-1822
- 4) Bauer A, Hauff P, Lazenby J, von Behren P, Zomack M, Reinhardt M, Schlieff R (1999)  
Wideband harmonic imaging: A novel contrast ultrasound imaging technique.  
Eur.Radiol.9 (Suppl.3):364-367
- 5) Bauer A, Solbiati L, Weissman N (2002)  
Ultrasound Imaging with SonoVue: Low Mechanical Index Real-Time Imaging.  
Acad Radiol 9(suppl 2): 282-284
- 6) Becker D (2002)  
Kontrastmittelsonographie der Leber mit niedriger Sendeleistung- was ist neu?  
Ultraschall in Med 23:397-402
- 7) Becker D, Jenett M, von Behren P, Norka V, Lowery C (1999)  
"Ensemble<sup>TM</sup> Contrast Imaging in der Ultraschall-Diagnostik"-  
Technologie und klinische Anwendung.  
Electromedica 67 Heft 2
- 8) Becker D, Strobel D, Hahn EG (2000)  
Tissue harmonic imaging and Contrast harmonic imaging- Verbesserung der Diagnose von Lebermetastasen.  
Internist 41: 17-23
- 9) Belmann BA (1995)  
A perspective on vesicoureteral reflux.  
Urol Clin North Am 22:139-1590

- 10) Berrocal T, Gaya F, Arjonilla A, Lonergan GJ (2001)  
Vesicoureteral reflux : diagnosis and grading with echo-enhanced  
cystosonography versus voiding cysturethrography.  
Radiology 221:359-365
- 11) Blomley MJK, Albrecht T, Cosgrove DO, Patel N, Jayaram V, Butler-  
Barnes J, Eckersley RJ, Bauer A, Schlieff R (1999)  
Improved Imaging of Liver Metastases with Stimulated Acoustic Emission  
in the Late Phase of Enhancement with the US Contrast Agent SH U  
508A: Early Experience.  
Radiology 210:409-416
- 12) Bokor D, Chambers JB, Rees PJ, Mant TGK, Luzzani F, Spinazzi A  
(2001)  
Clinical Safety of SonoVue[™], a New Contrast Agent for Ultrasound  
Imaging, in Healthy Volunteers and in Patients with Chronic Obstructive  
Pulmonary Disease.  
Investigative Radiology 36:104-109
- 13) Bundesamt für Strahlenschutz (1993)  
Mean effective dose of the population in the year 1991  
Bfs-ISH 162/93
- 14) Cleveland RH, Constantinou C, Blickmann JG, Jaramillo D, Webster E  
(1992)  
Voiding cystourethrography in children: value of digital fluoroscopy in  
reducing radiation dose.  
AJR 158:137-142
- 15) Darge K (2002)  
Diagnosis of vesicoureteral reflux with ultrasonography.  
Paediatr Nephrol 17:52-60
- 16) Darge K, Beer M (2003)  
Fortschritte in der pädiatrischen Sonographie.  
Radiologe 43:813-822
- 17) Darge K, Bruchelt W, Roessling G, Troeger J (2003)  
Interaction of normal saline solution with ultrasound contrast medium:  
significant implication for sonographic diagnosis of vesicoureteral reflux.  
Eur Radiol 13:213-218
- 18) Darge K, Dütting T, Zieger B, Möhring K, Rohrschneider W, Tröger J  
(1998)  
Diagnostik des vesicoureteralen Refluxes mit der echoverstärkten  
Miktionsurosonographie.  
Radiologe 38:405-409

- 19) Darge K, Ghods S, Zieger B, Rohrschneider W, Troeger J (2001)  
Reduction in voiding cystourethrographies after the introduction of contrast enhanced sonographic reflux diagnosis.  
Pediatr Radiol 31:790-795
- 20) Darge K, Moeller RT, Trusen A, Butter F, Gordjani N, Riedmiller H (2005)  
Diagnosis of vesicoureteric reflux with low-dose contrast-enhanced harmonic ultrasound imaging.  
Paediatr Radiol 35(11): 73-78
- 21) Darge K, Troeger J, Duetting T, Zieger B, Rohrschneider W, Moehring K, Weber C, Toenshoff B (1999)  
Reflux in young patients: comparison of voiding US of the bladder and retrovesical space with echo enhancement versus voiding cystourethrography for diagnosis.  
Radiology 210:201-207
- 22) Darge K, Tröger J (2002)  
Vesicoureteral reflux grading in contrast-enhanced voiding urosonography. European Journal of Radiology 43:122-128
- 23) Darge K, Trusen A, Riedmiller H, Tröger J (2002)  
Kontrastverstärkte sonographische Diagnose des vesikoureteralen Refluxes mittels „Harmonic Imaging“.  
Aktuel Urol 33:540-545
- 24) Darge K, Trusen A, Troeger J (2002)  
Diagnostic Imaging of vesicoureteral reflux.  
Rays 27:99-106
- 25) Darge K, Zieger B, Rohrschneider W, Ghods S, Wunsch R, Troeger J (2001)  
Contrast-Enhanced Harmonic Imaging for Diagnosis of Vesicoureteral Reflux in Pediatric Patients.  
AJR 177:1411-1415
- 26) Echo-Enhancing Agents  
Schering
- 27) Eggart G, Schlickerieder JHM, Hautmann R (1987)  
Diagnosis of reflux in children with CO<sub>2</sub> and ultrasound-preliminary results.  
Urologe 25:329-332
- 28) Forsberg F, Merton DA, Goldberg BB (2006)  
In Vivo Destruction of Ultrasound Contrast Microbubbles Is Independent of the Mechanical Index  
J Ultrasound Med 25:141-144

- 29) Haerten R (1999)  
Innovationen in Technik und Anwendung des Ultraschalls.  
Sonderdruck aus Ultraschall in Med. 20:119-122
- 30) Haerten R, Lowery C, Becker G, Gebel M, Rosenthal S, Sauerbrei E (1999)  
Ensemble™ Tissue Harmonic Imaging, Technologie und klinischer Nutzen.  
Sonderdruck aus electromedica 67, Heft 1:56-62
- 31) Hann LE, Bach AM, Cramer LD, Siegel D, Yoo HH, Garcia R (1999)  
Hepatic Sonography: Comparison of Tissue Harmonic and Standard Sonography Techniques.  
AJR 173:201-206
- 32) Harbury DC, Coulden RA, Farman P, Sherwood T (1990)  
Ultrasound cystography in the diagnosis of vesicoureteric reflux.  
Br J Urol 65:250-253
- 33) Hellerstein S (1995)  
Urinary tract infections- old and new concepts.  
Pediatr Clin North Am 42:1433-1457
- 34) Jequier S, Jequier J (1989)  
Reliability of voiding cystourethrography to detect reflux  
AJR 153:807-810
- 35) Kamiyama N, Moriyasu F, Kono Y (1996)  
Investigation of the "Flash Echo" signal associated with a US contrast agent.  
Radiology 201(P): 158
- 36) Kaneko K, Kuwatsuru R, Fukuda Y, Yamataka A, Yabuta K, Katayama H, Miyano T (1994)  
Contrast sonography for detection of vesicoureteral reflux.  
Lancet 344:687
- 37) Karmazyn B, Zerlin JM (1997)  
Lower urinary tract abnormalities in children with multicystic dysplastic kidney.  
Radiology 203:223-226
- 38) Klauser A, Frauscher F, Helweg F, Amort B, Radmayr C, Bartsch G, Zur Nedden D (1999)  
Sonographic diagnosis of vesicoureteral reflux using an ultrasound contrast agent (abstract).  
AJR 173:[Suppl] 45

- 39) Kopitzko A, Cornely D, Reither K, Wolf KJ, Albrecht T (2004)  
Low contrast dose voiding urosonography in children with phase inversion imaging.  
Eur Radiol 14(12): 2290-2296
- 40) Mentzel HJ, Vogt S, Patzer L, Schubert R, John B, Misselwitz J, Kaiser WA (1999)  
Contrast-enhanced sonography of vesicoureteral reflux in children: preliminary results.  
AJR 173:737-740
- 41) Moriyasu F, Kono Y, Nada T (1996)  
Flash Echo (passiv cavitation) imaging of the liver by using US contrast agents and intermittent scanning sequence.  
Radiology 201 (P):196
- 42) Neuhaus TJ, Schwöbel M, Schlumpf R, Offner G, Leumann E, Willi U (1997)  
Pyelonephritis and vesicoureteral reflux after renal transplantation in young children.  
J Urol 157:1400-1403
- 43) Reither M (1985)  
The radiation exposure of our children.  
Kinderarzt 16:319-325
- 44) Riccabona M (2002)  
Potential of modern sonographic techniques in paediatric urology  
European Journal of Radiology 43:110-121
- 45) Roberts JA (1991)  
Etiology and pathophysiology of pyelonephritis.  
Am J Kidney Dis 17:1-9
- 46) Schlieff R, Bauer A (1996)  
Ultraschallkontrastmittel.  
Radiologe 36:51-57.
- 47) Schneider K, Ernst G, Krüger I, Kohn MM (1997)  
Paediatric fluoroscopy – result of an European-wide survey.  
Paediatr Radiol 27:469
- 48) Schneider M, Arditi M, Barrau MB, Brochot J, Broillet A, Ventrone R., Yan F (1995)  
BR1: A new ultrasonographic Contrast Agent based on sulfur hexafluoride-filled microbubbles.  
Investigative Radiology 30 (8): 451-457

- 49) Schneider M. (1999)  
Characteristics of SonoVue®.  
Echocardiographie 16 (7) Part 2:743-746
- 50) Schneider M. (2000)  
Design of an ultrasound contrast agent for myocardial perfusion.  
Echocardiography 17 (6) Part 2:11-16
- 51) Siampelis D, Vasiou K, Giarmenitis S, Frimas K, Zavras G, Fezoulidis I (1996)  
Sonographic detection of vesicoureteral reflux with fluid and air cystography: comparison with VCUG.  
Röfo Fortschr Geb Roentgenstr neuen Bildgeb verfahr 165:166-169
- 52) Tranquart F, Grenier N, Eder V, Puorcelot L (1999)  
Clinical use of ultrasound tissue harmonic imaging.  
Ultrasound Med Biol 25(6):889-894
- 53) Von Rohden L, Bosse U, Wiemann D (1995)  
Refluxsonographie bei Kindern mit einem Ultraschallkontrastmittel im Vergleich zur Röntgen-Miktionszysturographie.  
Paediatr Prax 49:49-58



## Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. K. Darge für die Überlassung des Themas und für die hervorragende Betreuung der Arbeit. Er verstand es, mich immer wieder von neuem für diese Arbeit zu begeistern und stand mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite.

Ich bedanke mich ganz herzlich bei den Mitarbeitern der Abteilung für pädiatrische Radiologie der Universitätsklinik Würzburg für Ihre Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Experimente.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. Füller, Labor Universitätskinderklinik Würzburg, der mir die Materialien für den Versuchsaufbau zur Verfügung stellte.

Bedanken möchte ich mich bei Herrn A. Schäfer für die große Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten.

Bei Herrn Prof. Dr. med. H. M. Straßburg bedanke ich mich ganz herzlich für die Übernahme des Koreferates.

Ich bedanke mich bei meinen Eltern, bei meiner Schwester Katharina und meinem Freund Joachim, die mich bei der Durchführung der Arbeit auf vielfältigste Weise unterstützten.

## Lebenslauf

05. März 1978	geboren in Göttingen/ Niedersachsen
08/1984 – 07/1986	Besuch der Brüder-Grimm-Grundschule Göttingen
08/1986 – 07/1988	Besuch der Hainbund-Grundschule Göttingen
08/1988 – 07/1990	Besuch der Orientierungsstufe Nord Göttingen
08/1990 – 06/1997	Besuch des Hainberg-Gymnasium Göttingen
06/1997	Abitur
08/1997 – 12/1998	Aushilfstätigkeit an der Universitätsklinik Göttingen- Bereich Humanmedizin
05/1999 – 11/2005	Studium der Humanmedizin an der Julius- Maximilians-Universität Würzburg
03/2001	Ärztliche Vorprüfung
03/2002	Ärztliche Prüfung (Erster Abschnitt)
09/2004	Ärztliche Prüfung (Zweiter Abschnitt)
11/2005	Ärztliche Prüfung (Dritter Abschnitt)
11/2005	Approbation als Ärztin
Seit 01/2006	Beschäftigung als Assistenzärztin an der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe des Leopoldina Krankenhauses Schweinfurt unter Leitung von Prof. Dr. med. M. Weigel