

Optimierung von Kontrastmittel und Sondentyp zur Darstellung des  
Hirnparenchyms mit B-Bild Sonographie

Inauguraldissertation  
Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereiches Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von Christian Tanislav  
aus Lugosch  
Giessen 2005

**Aus dem Zentrum für Neurologie und Neurochirurgie  
Klinik für Neurologie  
Direktor: Prof. Dr. Manfred Kaps  
des Fachbereiches Medizin der Justus-Liebig-Universität  
Giessen**

Gutachter: PD Dr. M. Jauß  
Gutachter: Prof. Dr. G. Alzen  
Tag der Disputation: 23.11.2005

**Gewidmet Nicole und Klara**

## **Erklärung**

Ich habe die vorliegende Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

## Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

a.u.	acoustic units
AUC	area under the curve
KM	Kontrastmittel
MAX	Maximalwerte
TIA	transitorisch ischämische Attacke
TTP	time to peak
ROI	region of interest

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Sonographie	1
1.2	Ultraschallkontrastmittel und Bildgebung	7
1.3	Ziel und Fragestellung	10
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>13</b>
2.1	Das Ultraschallgerät	13
2.2	Die Sonden	15
2.3	Das Kontrastmittel	16
2.4	Das Studiendesign	17
2.5	Ethische Aspekte	25
2.6	Einverständniserklärung, Versicherungsschein und Ethikvotum im Faksimile	28
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>33</b>
3.1	Studienverlauf	33
3.2	Deskriptive Auswertung	33
3.3	Varianzanalyse	47
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>52</b>
4.1	Vergleich des Kontrastmitteleffektes in den einzelnen ROIs	52
4.2	Vergleich der Sondentypen unter Anwendung verschiedener Kontrastmittel	52
4.3	Kontrastmittelvergleich unter Anwendung verschiedener Sonden	53
4.4	Einfluss der Versuchsvariablen auf die Auswerteparameter	58
4.5	Berücksichtigung der Ergebnisse für die Parenchymperfusion	62
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>64</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>68</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>73</b>
	<b>Lebenslauf</b>	<b>74</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Sonographie

### 1.1.1 Einführung

Die Ultraschalluntersuchungstechnik ist eine nebenwirkungsarme Methode, mit deren Hilfe wichtige diagnostische Daten gewonnen werden können. Im Vergleich zu anderen Methoden, beispielsweise zur Röntgenuntersuchungstechnik, ist diese Technik mit einem wesentlich geringeren technischen und zeitlichen Aufwand verbunden. Breite Anwendung erfährt die Ultraschalluntersuchungstechnik in der Inneren Medizin zur Beurteilung der intraabdominellen Organe oder in der echokardiographischen Untersuchung des Herzens. Je nach Untersuchungstechnik können, über die Darstellung anatomischer Strukturen hinaus, Strömungseigenschaften des Blutflusses (Strömungsrichtung oder Fließgeschwindigkeit) in den jeweils dargestellten Gefäßen mit der Dopplertechnik erfasst werden.

Die transkranielle Sonographie des Gehirns beim Erwachsenen wurde Ende der achtziger Jahre mit Computersonographiegeräten durch den transtemporalen und transnuchalen Zugang eingeführt (Berland et al. 1988, Bogdahn et al. 1990). Diese Methode wurde technisch weiterentwickelt und zu einem zweidimensionalen Schnittbildverfahren verfeinert. Dadurch können anatomische Strukturen gut dargestellt werden und reliable Daten über die hämodynamischen Verhältnisse in den großen basalen Hirnarterien gewonnen werden. Im Vergleich zur Computertomographie oder Angiographie bestand der Vorteil dieser diagnostischen Methode einerseits im geringeren technischen und organisatorischen Aufwand, andererseits kann man die Untersuchung beliebig oft wiederholen. Man war so in der Lage innerhalb kürzester Zeit wichtige Daten zu gewinnen, wodurch die engmaschige Überwachung der Patienten erleichtert wurde. Diese Methode wurde weiterentwickelt und gewann für die Diagnostik zerebrovaskulärer Erkrankungen immer mehr an Bedeutung. Sie ist heute als diagnostisches Verfahren und als „bedside“ Verfahren zur engmaschigen Überwachung am Krankenbett von besonderem Wert.

Darüber hinaus ist eine transkranielle Ultraschalluntersuchung nach dem derzeitigen Wissensstand nebenwirkungsfrei. Trotz intensiver Forschung existiert bis heute kein überzeugender Beweis dafür, dass die in der Sonographie gebräuchlichen Schallintensitäten Schäden im menschlichen Körper verursachen. Negative

Effekte bei der Ultraschallanwendung können in den Strukturen auftreten, in denen unter Ultraschalleinwirkung lokale Temperaturerhöhungen auftreten und diese gegenüber Temperaturschwankungen besonders empfindlich sind. Dies trifft nach heutigem Kenntnisstand im Kopfbereich lediglich auf die Augenlinse zu. Bei Beschallung der Orbitagefäße sollte demnach sowohl die Senderenergie reduziert werden, als auch die Untersuchungszeit beschränkt werden. Die transkranielle farbkodierte Darstellung und die Schnittbildsonographie stellen nach heutigem Kenntnisstand kein Gefahrenpotential dar. Zu einer Erwärmung von Hirnstrukturen kommt es nicht, denn mehr als 90% der Schallenergie gehen beim Durchtritt durch den Schädelknochen verloren. Die bei der transkraniellen Sonographie entstehende Erwärmung des Schädelknochens gilt nach heutigem Kenntnisstand als ungefährlich (B. Widder 1999). Probleme bei dieser diagnostischen Methode treten bei den Patienten auf, die ungünstige Bedingungen im Bereich des „Schallknochenfensters“ aufweisen. Bei etwa 10-20% der Patienten mit zerebrovasulären Erkrankungen ist der transtemporale Zugang zum Gehirn aufgrund einer ungenügenden Schallpenetranz nicht möglich (Halsey 1990).

Neben einer sehr guten diagnostischen Aussagekraft hinsichtlich der zerebralen Makrozirkulation, sind Aussagen über die Hirnperfusion ohne Kontrastmittelgabe nicht möglich. Die Bildqualität bei der Ultraschalluntersuchungsmethode hängt unter anderem davon ab, wie stark die beschallten Strukturen das gesendete Signal zurückstreuen und reflektieren. Bei der Messung der Blutbewegung mittels Dopplerverfahren wird das gesendete Signal größtenteils an Erythrozyten zurückgestreut, diese verhalten sich also wie Streukörper. Im Vergleich zum umgebenden Gewebe können Erythrozyten den Ultraschall nur schwach streuen, Erythrozyten bewirken dadurch ein relativ geringes Signal-Rausch-Verhältnis. Dies erklärt die eingeschränkte Möglichkeit mit der Ultraschalluntersuchungstechnik, Angaben über die Mikrozirkulation abzuleiten. Durch Anwendung von kapillargängigen Ultraschallkontrastverstärkern, die nach intravenöser Injektion die Lunge passieren und dann in der arteriellen Zirkulation erscheinen, kann jedoch das Signal-Rausch-Verhältnis deutlich verbessert werden. Auf diese Weise können schwache Signale verstärkt werden, die durch Schallabsorption der Schädelknochen oder durch geringe Streukörperkonzentrationen pro Volumeneinheit in der Mikrozirkulation bedingt sind. Dadurch ist eine verbesserte transkranielle sonographische Darstellung nicht nur der intrazerebralen Gefäße, sondern auch der Mikrozirkulation möglich (Seidel et al. 1997b).

### 1.1.2 Physikalische und technische Grundlagen

Sonographische Verfahren, welche heutzutage im Klinikalltag verwendet werden, basieren auf dem Prinzip, dass Ultraschall über einen Sender in das Gewebe eingestrahlt wird und die von Gewebsstrukturen zurückgeworfenen Schallanteile von einem Empfänger aufgenommen und dann elektronisch weiterverarbeitet werden. Um eine Ultraschallwelle überhaupt zu erzeugen, behilft man sich des piezoelektrischen Effektes von Keramikkrystallen. Als piezoelektrischer Effekt wird der Umstand bezeichnet, dass bestimmte Stoffe die Fähigkeit besitzen, ihre Form zu ändern, wenn ihnen eine Spannung angelegt wird. Durch Anlegen einer Wechselspannung können die Formveränderungen des Kristalls das Aussenden von Schallwellen erzeugen. Überzieht man die Keramikkrystalle mit einer dünnen leitenden Schicht, bewirkt die Deformierung der Kristalle, verursacht zum Beispiel durch ankommende Schallwellen, die Entstehung einer elektrischen Spannung, welche dann elektronisch weiterverarbeitet werden kann.

Die nach Bestrahlung eines Körperteils zurückgestrahlten Ultraschallsignale entstehen durch Reflexion und Streuung. *Reflexionsphänomene* kommen an Grenzflächen, an denen zwei Gewebestrukturen unterschiedlicher Schalleitfähigkeit (Impedanz) aufeinander treffen, zustande. In Abhängigkeit von der Größe des Impedanzsprungs (zum Beispiel zwischen Liquor und Hirnparenchym) kommt es an der Grenzfläche sowohl zu einer Reflexion der Wellen, als auch zu einer Ablenkung durch Brechung des Schallstrahls. Von Bedeutung ist auch der einfallende Winkel des Schallstrahls zur Grenzfläche. Ist dieser zu steil, wird der reflektierte Anteil an der Sonde vorbeigeleitet, und ist somit für die Sonde nicht mehr zu empfangen. Die Reflexion ist also für die Ultraschallanwendung nur dann von Bedeutung, wenn der Schallstrahl weitgehend senkrecht zur Grenzfläche liegt. Dagegen tritt *Streuung* als diffuse, nach allen Seiten gerichtete Ablenkung an Gewebszellverbänden (das heißt in Strukturen gleicher Impedanz) auf. Letztere besitzt jedoch nur geringe Energie. Auf derartigen Streuungsphänomenen basiert der überwiegende Teil der zurückgestrahlten Ultraschallenergie (Kaarmann et al.1991).

Bei den bildgebenden Verfahren in der Sonographie ist die *Impuls-Echo-Technik* von besonderer Bedeutung. Dabei wird ein piezoelektrisches Element alternierend als Sender und als Empfänger benutzt. Da die Schallgeschwindigkeit im Weichteilgewebe des menschlichen Körpers weitgehend konstant ist (um 1500 m/s), kann man anhand der Laufzeit zwischen Schallsendung und Empfang eines

Echos Informationen darüber bekommen, aus welcher Tiefe im Gewebe das zugestrahlte Echo stammt. Die Länge des gesendeten Impulses sollte möglichst kurz sein, um Überlagerungen mit bereits reflektierten Echos zu vermeiden, und dadurch in Abhängigkeit von der gewählten Laufzeit eine gute lokalisatorische Auflösung in der Tiefe zu erzielen. Dagegen muss die Länge des Impulses bei Doppleranwendungen größer sein und mehrere Sinusschwingungen umfassen, um überhaupt eine Dopplereffrequenzverschiebung berechnen zu können (Sutilov VA, 1984).

Ein weiteres Qualitätsmerkmal in der bildgebenden Sonographie ist das Auflösungsvermögen. Darunter versteht man die kleinstmögliche Diskriminationsfähigkeit zweier Strukturpunkte im untersuchten Gewebe. Es werden zwei Arten der Auflösung unterschieden: die axiale und die laterale Auflösung. Die axiale Auflösung ist die Auflösung in Richtung der Schallausbreitung, die von der Länge des Schallimpulses beeinflusst wird, und im Idealfall in der Größenordnung der Wellenlänge bei 0,2-1 mm liegt. Eine relativ kleine Wellenlänge ergibt also eine gute axiale Auflösung. Folgende mathematische Formel beschreibt den Zusammenhang zwischen der Wellenlänge und der Frequenz:  $\lambda=c/f$ , wobei  $c$  die Schallgeschwindigkeit im Körpergewebe darstellt (ca. 1500 m/s). Das zeigt, dass sich die Frequenz und die Wellenlänge antiproportional zueinander verhalten. Bei gleichbleibenden Untersuchungsbedingungen resultiert daraus, dass eine Erhöhung der Frequenz eine Erniedrigung der Wellenlänge zur Folge hat und damit eine Verbesserung der axialen Auflösung verursacht, da diese sich, wie bereits oben erwähnt, im Bereich der Größenordnung der Wellenlänge befindet. Andererseits ist die Wellenlänge direkt proportional zur Beschallungsenergie, die ihrerseits die Eindringtiefe bestimmt. Dies bedeutet, dass eine Vergrößerung der Wellenlänge zwar eine Steigerung der Eindringtiefe zur Folge hat, dies allerdings auf Kosten der axialen Auflösung. Dagegen ist die laterale Auflösung zwar auch von der Schallfrequenz beziehungsweise von der Wellenlänge abhängig, einen wesentlichen Einfluss hat jedoch auch die Geometrie des Schallwandlers, die eine Fokussierung der ausgesendeten Ultraschallwellen erzeugen muss, um so im Fokusbereich eine bestmögliche laterale Auflösung zu erzielen. Eine relativ große geometrische Fläche der Schallsonde erzeugt eine gute laterale Auflösung im Fokusbereich, allerdings mit zunehmender Größe der Fläche, desto weiter ist der Fokuspunkt von der Sonde entfernt (Kaarmann et al.1991).

Erste Schritte in der Benutzung des Ultraschalls zur Beurteilung intrakranieller Strukturen führten zur Entwicklung der *eindimensionalen Echoenzephalographie*.

Basierend auf dem Echo-Impuls-Prinzip wurden hierbei von einem Impulsgenerator erzeugte elektrische Hochfrequenzimpulse in Schallwellen zwischen 1 und 4 MHz umgewandelt. Dafür verwendet man nur einen piezoelektrischen Kristall, welcher alternierend als Sender und Empfänger dient. So war man in der Lage, ein paralleles Ultraschallbündel zu erzeugen, und damit die Mittellinienstrukturen des Gehirns durch den intakten Schädelknochen zu beschallen. Die Amplituden des an den Grenzflächen (Knochen-Hirngewebe-Liquor) teilreflektierten Ultraschalls konnten auf einem Bildschirm über der Zeitachse sichtbar gemacht werden. Dies ermöglichte die Berechnung des Abstandes zwischen der Ultraschallsonde und den Mittellinienstrukturen des Gehirns; somit konnte die Breite des 3. Ventrikels ermittelt werden. Klinisch relevant wurde dieses eindimensionale sog. Amplituden-Verfahren (A-Mode) in der Diagnostik von zerebralen Raumforderungen und der Untersuchung des Hydrozephalus (Tanaka et al. 1965) eingesetzt.

Der entscheidende Sprung in der bildgebenden Ultraschalldiagnostik kam mit der Entwicklung der *Schnittbildsonographie*. Analog der eindimensionalen Echoenzephalographie arbeitet die Schnittbildsonographie ebenfalls nach dem Echo-Impuls-Prinzip. Jedoch werden hierbei die Ultraschallamplituden des zurückgesendeten Signals computergestützt in Grauabstufungen abgebildet, abhängig von der Signalintensität und Empfängerfunktion, wobei die hohen Amplituden als helle Bildpunkte dargestellt werden (B-Bild Sonographie nach B für brightness). Außerdem werden mehrere Ultraschallwandler benutzt, nach deren Anordnung verschiedene Verfahren der Abtastung unterschieden werden. Bei der mechanischen Abtastung rotieren die einzelnen Ultraschallwandler auf einer Kreisbahn und werden jeweils beim Überstreichen der Schallaustrittsöffnung angesteuert. Dadurch können sektorförmige Ultraschallbilder erzeugt werden. Diese Technik wird in der Praxis bei der Konstruktion der mechanischen Sektorschallköpfe angewandt.

Eine weitere Modifikation stellt die Abtastung durch mehrere parallel angeordnete Schallwandler dar. Damit können parallele Ultraschallbündel ausgesandt werden, wodurch das erzeugte Bild ein rechteckiges Format erhält. Die einzelnen Schallwandler werden nicht alle gleichzeitig angeregt, sondern es wird nur eine Elementgruppe bestehend aus mehreren hintereinander liegenden Schallwandlern angesteuert. Danach wird die nächste Gruppe angeregt, deren Einzelelemente sich zum Teil mit denen der ersten Gruppe überlappen. Dadurch wird eine elektronische Fokussierung in der Schnittbildebene erzielt, was zu einer Verbesserung der latera-

len Auflösung führt. Nach diesem Prinzip arbeiten die Linear-Array-Schallköpfe. Erregt man parallel angeordnete Ultraschallwandler mit Verzögerung einzeln nacheinander, erzeugt man eine Wellenfront, deren Ausbreitungsrichtung anhand der Variation der zeitlichen Verzögerung zu steuern ist. Da einzelne Ultraschallwandler nach allen Seiten hin kugelförmigen Ultraschall aussenden, und bedingt durch die Möglichkeit der zeitlichen Variation des Ansprechens der Einzelwandler, ist es möglich, ein trapezoidförmiges Ultraschallfeld zu generieren. Dadurch ist man in der Lage sektorförmige Schnittbilder abzuleiten. Diese Technik findet sich in den Phased-Array-Schallköpfen wieder. Ferner erlaubt diese Gegebenheit den Bau von Schallköpfen mit einer relativ kleinen Aufliegefläche, was von großem Vorteil in der transkraniellen Sonographie ist. Bei einer Bildwiederholungsrate von bis zu 25 Einzelbildern pro Sekunde entstehen für den Betrachter bewegte Bilder, so dass die transkranielle Schnittbildsonographie auch als Echtzeit-Sonographie bezeichnet wird. Mit diesem Verfahren können Parenchymstrukturen begrenzt auf das mit dem Schallstrahl zu erfassende intrakranielle Abschnitt dargestellt werden.

Mit der Entwicklung von lungengängigen Ultraschallkontrastmitteln ist ein neues Verfahren entwickelt worden, um fließendes Blut darzustellen, das sog. *Harmonic Imaging*, das die Resonanzeigenschaften von Kontrastmittelbläschen als Marker ausnutzt (Burns 1996). Dabei werden die Kontrastmittelbläschen mit niederfrequentem Ultraschall, der im Resonanzbereich der Kontrastmittelbläschen zwischen 1 und 4 MHz liegt, zu Schwingungen angeregt, die ganze Vielfache der Ausgangsfrequenz betragen. Die Sendefrequenzen befinden sich im Bereich zwischen 1,5 und 2,0 MHz, die Empfangsfrequenz im Bereich der ersten Oberschwingung, also im Bereich zwischen 3,0 und 4,0 MHz. Von Vorteil ist die Tatsache, dass sich die Resonanzfrequenzen der Kontrastmittelbläschen deutlich von denen der umgebenden Strukturen unterscheiden, so dass Resonanzphänomene spezifisch und sensitiv für die Kontrastmittelbläschen sind. Dies führt zu einer deutlichen Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses des fließenden Blutes (Seidel et al. 1997). Dieses Verfahren verbessert nicht nur die Darstellung des fließenden Blutes in den hirnersorgenden Gefäßen, sondern es ermöglicht auch eine Erfassung der Mikrozirkulation.

Bei Beschallung der Mikrobläschen mit Schalldrücken zwischen 0,5 und 20,2 MPa werden diese teilweise zerstört. Dies führt zur einer Abnahme des signalverstärkenden Effektes. Bei Untersuchungen der Myokardperfusion konnte gezeigt werden, dass bei einer geringeren Schalleexposition im B-Mode eine stärkere Signal-

anhebung erzielt werden konnte. Diese Methode, bei der nach einem bestimmten Zeitintervall ein Bild abgeleitet wird, bezeichnet man als das transient response imaging. Praktisch wird dies durch eine intermittierende Herzzyklus-getriggerte Schallaussendung realisiert, wodurch nach einer festgelegten Anzahl von Herzschlägen die Ultraschallsonde jeweils ein Bild ableitet (Porter et al. 1996). Dadurch wird ermöglicht, dass in einer Schallpause intakte Bläschen nachfließen können, so dass die Echosignalverstärkerkonzentration im Gewebe wieder ansteigt. Tierexperimentelle Untersuchungen haben gezeigt, dass die optimale Bildwiederholungsrate für eine Untersuchungstiefe zwischen 8 und 10 cm mit 1.8/3.6 MHz Schallkopf zwischen 4:1 und 8:1 liegt; das heißt nach jeweils vier bis acht Herzzyklen wird ein Ultraschallbild abgeleitet (Seidel 1999).

## **1.2 *Ultraschallkontrastmittel und Bildgebung***

Die Echosignalverstärkung der Ultraschallkontrastmittel erfolgt durch das Einbringen mikroskopisch kleiner Gasbläschen in den Blutkreislauf. Sie werden venös appliziert und gelangen nach einer Lungenpassage in das arterielle System. Die Bläschen müssen kapillargängig sein, um die Lungenpassage zu überstehen; das heißt sie müssen einen Durchmesser von weniger als 7  $\mu\text{m}$  haben und zusätzlich wegen der sehr großen Oberflächenspannung durch eine Hülle stabilisiert werden. Eine derartige Stabilisierung der Bläschen verlängert gleichzeitig auch deren Lebensdauer, wodurch diese mehrere Passagen durch die Mikrozirkulation überstehen. Dies führt zu einer Verlängerung des echoverstärkenden Effektes (Bauer et al. 1996). Ein ideales Ultraschallkontrastmittelbläschen sollte sich daher prinzipiell wie ein Erythrozyt verhalten. Damit wäre die Durchgangsrate durch ein Messvolumen direkt mit der Flussrate korreliert (Keller et al. 1998). Außerdem sollte ein Ultraschallkontrastmittel einfach zu applizieren sein, sich schnell und homogen mit dem Blut vermischen, darüber hinaus aber auch ein geringes Volumen im Vergleich zum Blutvolumen besitzen.

Diese Eigenschaften werden von gasgefüllten Mikrobläschen erfüllt. Eine Stabilisierung der Gasbläschen ist wie erwähnt notwendig, um deren Lebensdauer zu erhöhen. Die Stabilität der Mikrobläschen ist abhängig von der Oberflächenspannung, der Sättigung der umgebenden Flüssigkeit und der Diffusionsgeschwindigkeit des Gases (de Jong et al. 1991). Darüber hinaus haben die Eigenschaften der stabili-

sierenden Hülle Einfluss auf die akustischen Eigenschaften des Mikrobläschen (de Jong et al. 1992).

Bei niedriger Beschallungsleistung basiert die Echosignalverstärkung auf der verstärkten Rückstreuung des Ultraschalls an den Mikrobläschen. Dadurch ist es möglich, trotz starker Dämpfung des Ausgangssignals, beispielsweise durch den temporalen Schädelknochen, ein Echosignal zu empfangen, welches bei einer nativen Untersuchung aufgrund der relativ geringen Ultraschallstreuung der Erythrozyten nicht zu empfangen wäre. Es können so auch geringere Flussvolumina und langsamere Flussgeschwindigkeiten detektiert werden. Diese linearen Eigenschaften der

Satz von Rayleigh über den Streuungsrelevanten Querschnitt eines nicht oszillierenden Partikels:

Der Streuungsrelevante Querschnitt eines nicht oszillierenden Partikels  $Q_s$  hängt von dem Partikeldurchmesser, von der Schallfrequenz sowie Kompressibilität und Dichte des Kontrastmittels und des umgebenden Mediums ab.

$$Q_s = 4/9\pi R^6 k^4 \{ [(\kappa_d - \kappa)/\kappa]^2 + 1/3 [3(\rho_d - \rho)/(2\rho_d + \rho)]^2 \}$$

$Q_s$  = Streuungsrelevanter Querschnitt eines nicht oszillierenden Partikels [m<sup>2</sup>]

$R$  = Radius des Partikels [m]

$K$  = Wellennummer (=  $2\pi/\lambda$  mit  $\lambda$  = Wellenlänge [m])

$\kappa_d$  = Kompressibilität des Partikels [m<sup>2</sup>/N]

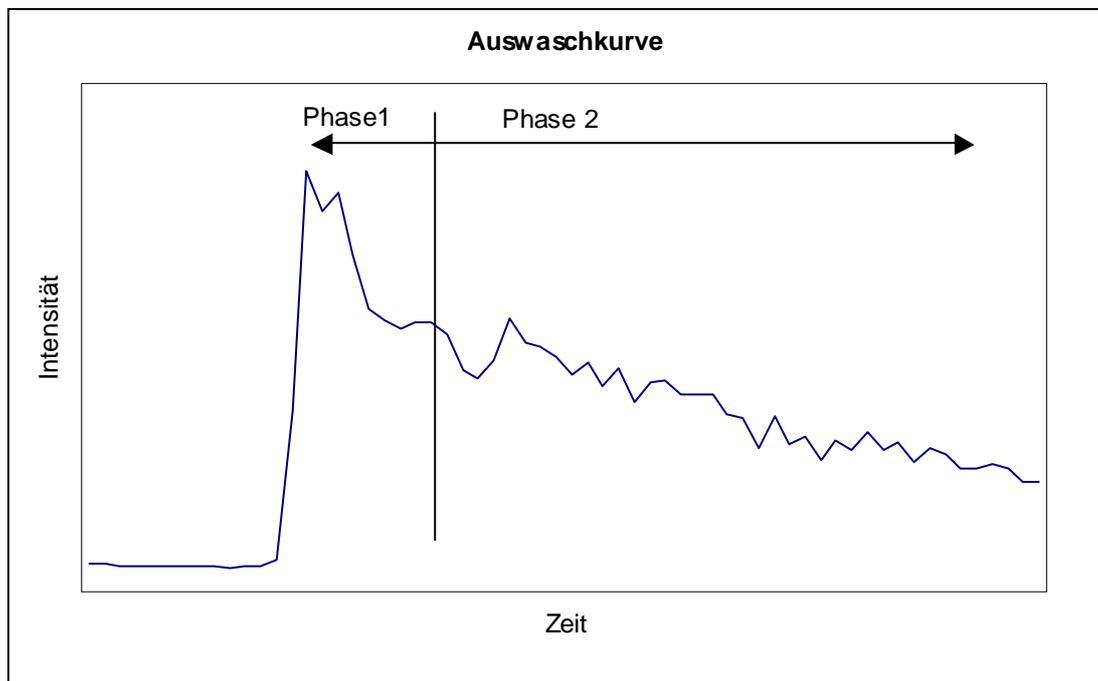
$\kappa$  = Kompressibilität des umgebenden Mediums [m<sup>2</sup>/N]

$\rho_d$  = Dichte des Partikels [kg/m<sup>3</sup>]

$\rho$  = Dichte des umgebenden Mediums [kg/m<sup>3</sup>]

Kontrastmittelbläschen, die zu einer Verbesserung des Signal-Rauschverhältnisses führen, lassen sich physikalisch durch den streuungsrelevanten Querschnitt eines nicht oszillierenden Partikels  $Q_s$  erfassen. Das Gesetz von Rayleigh beschreibt die Abhängigkeit des  $Q_s$  von den Eigenschaften des Partikels und den Eigenschaften des Mediums in dem sich der Partikel befindet (de Jong et al. 1991).

Neben den linearen Eigenschaften treten bei zunehmendem Schalldruck nicht lineare Effekte auf. Dabei geraten die Bläschen in Schwingung. Gleichzeitig



**Abb. 1** Graphische Darstellung einer Auswaschkurve mit Zwei-Phasen Kinetik. In der ersten Phase kommt es nach der Bolusapplikation des Kontrastmittels zu erst zu einem steilen Anstieg der Auswaschkurve. Nach einem kurzem steilen Abfall, kommt es in der zweiten Phase durch Rezirkulationsphänomene zu einem Abflachen der Auswaschkurve.

treten Resonanzphänomene auf, die zu einer Zunahme der Amplitude des Signals der Grundfrequenz und zur Emission von Schallwellen führen, welche ganze Vielfache bzw. ganze Teiler der Grundfrequenz betragen (Hauf et al. 1997, Bauer et al. 1997). Diese harmonischen Schwingungen dienen als Grundlage für das Harmonic Imaging. Bei dieser Methode wird die erste Oberschwingung zum Bildaufbau benutzt, und es kommt dadurch zu einer deutlichen Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses. Das Auftreten von Oszillationen und Resonanzphänomenen hängt von der Beschallungsfrequenz und von den elastischen Eigenschaften des Mikrobläschens ab. Bei der Entwicklung von Kontrastmitteln ist daher zu berücksichtigen, dass die Resonanzfrequenz der Kontrastmittelbläschen im Bereich des in der transkraniellen Sonographie verwendeten Frequenzbandes liegt. Überschreitet die Beschallungsenergie einen kritischen Wert, dann kommt es zum Platzen der Kontrastmittelbläschen und zur Freisetzung von kleinen Gasbläschen, die dann sofort kollabieren. Die dabei freigesetzte Energie lässt sich ebenfalls sonographisch erfassen, allerdings gibt es keine Korrelation zwischen den entstandenen Ultraschallsignalen und dem sie erzeugendem Ultraschallpuls.

Die meisten Ultraschallkontrastmittel bestehen aus zwei Komponenten: Gas und Hülle. Die Art des Gases und die Eigenschaften der Hülle beeinflussen maßgeblich die Kinetik und die Echoverstärkung des Kontrastmittels. Nach intravenöser Bolusapplikation findet man eine 2-Phasen-Kinetik, die für Kontrastmittel allgemein typisch ist. Das zeitabhängige Verhalten des Indikators wird in einer bestimmten Region (ROI = region of interest) analysiert. In der ersten Phase, nach Ablauf einer bestimmten Zeit nach der Kontrastmittelinjektion, kommt es zu einem Konzentrationsanstieg des Indikators bis zum Erreichen eines Maximums. Bei dem anschließenden Konzentrationsabfall kommt es zum Auswaschen des Indikators aus dem Parenchym. In der zweiten Phase der Kontrastmittelkinetik kommt es durch Rezirkulationsphänomene aus den einzelnen Organkreisläufen zu einer Abflachung der Auswaschkurve durch erneutes Anfluten von Kontrastmittelbläschen. Die resultierende Auswaschkurve setzt sich demnach aus der primären Auswaschkurve und den Effekten der Rezirkulation zusammen (siehe Abbildung 1).

Je lipophiler das Gas des Kontrastmittels ist (Perfluoropropan, Sulfurhexafluorid), das heißt je schwieriger es sich im Blut löst, desto stabiler sind auch die Mikrobläschen. Die Echosignalverstärkung hält daher länger an. Dagegen sind luftgefüllte Bläschen etwas instabiler, da Luft sich gut im Blut löst, und das Gas leichter durch die Bläschenhülle ins Blut diffundieren kann. Daraus resultierend verlieren luftgefüllte Kontrastmittel schneller ihre kontrastverstärkende Wirkung. Da dieser Effekt zusätzlich vom Durchmesser der Bläschen abhängt, zeigen Kontrastmittel mit größerem Durchmesser einen stärkeren Kontrastmitteleffekt. Darüber hinaus haben die Eigenschaften der stabilisierenden Hülle Einfluss auf die akustischen Eigenschaften der Mikrobläschen.

### **1.3 Ziel und Fragestellung**

Studien an gesunden Probanden konnten zeigen, dass die Applikation eines Ultraschallkontrastmittels eine starke Echosignalverstärkung des Hirngewebes bewirkt. Der diagnostische Nutzen der Methode zeigte sich in klinischen Studien an Patienten mit akutem Hirninfarkt, bei denen es gelang, durch die Applikation von Ultraschallkontrastverstärkern den Perfusionsdefekt darzustellen. Auf diese Weise konnten wertvolle Informationen über den Zustand des Hirngewebes gewonnen werden, Aussagen über die klinische Prognosen waren möglich, und die Entschei-

dungsfindung zur Auswahl des weiteren therapeutischen Vorgehen wurde erleichtert (Postert et al., 1999).

Durch die Entwicklung der Ultraschallkontrastverstärker gewinnt die Darstellung des Hirnparenchymperfusion in der transkraniellen Sonographie immer mehr an Bedeutung. Darüber hinaus ist die transkranielle Sonographie ein etabliertes Verfahren, dessen Anwendung verlässliche Daten nicht nur über die anatomischen Strukturen, sondern auch über die hämodynamischen Verhältnisse in den großen basalen Hirnarterien in kürzester Zeit liefern kann.

Es ist bisher noch nicht systematisch untersucht worden, mit welchem Sondentyp in Kombination mit welchem Kontrastmittel die beste Bildqualität in der Parenchympdarstellung erzielt wird.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, Möglichkeiten der Optimierung der Darstellung der Hirnparenchymperfusion unter Verwendung verschiedener Kontrastmittel im Zusammenspiel mit verschiedenen Sondentypen zu untersuchen. Zusätzlich sollen die probandenabhängigen Einflüsse auf die Qualität der Kontrastmitteldarstellung untersucht werden.

Wie bereits in den vorhergehenden Kapiteln erwähnt, ist die Echosignalverstärkung von mehreren Faktoren abhängig. Die signalverstärkenden Eigenschaften eines Kontrastmittelbläschens hängen einerseits von den Eigenschaften des Kontrastmittelbläschens selbst ab, wie Stabilität der Hülle, Gasinhalt, Durchmesser des Bläschens sowie von den Beschallungsparametern, wie Schallfrequenz und Wellenlänge. Durch Änderung der verschiedenen Parameter, zum Beispiel Änderung der Beschallungseigenschaften durch Wahl unterschiedlicher Sondentypen oder die Wahl verschiedener Echosignalverstärker mit unterschiedlichen Charakteristika, sind unterschiedliche Ergebnisse in der Darstellung der Hirnperfusion zu erwarten.

Unter Berücksichtigung der genannten technisch-physikalischen Gegebenheiten untersucht die hier vorliegende Arbeit die Darstellung des Hirnparenchyms mittels unterschiedlicher Sondentypen (Beschallungsparameter: Beschallungsfrequenz, Empfangsfrequenz) jeweils in Verbindung mit der Applikation zweier unterschiedlicher Kontrastmittel (Optison und Levovist). Das Ziel der Arbeit ist es herauszufinden, welche Kombination Sonde/Kontrastmittel die besten diagnostischen Ergebnisse erzielt. Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie lässt sich somit eine Optimierung der transkraniellen Sonographie erzielen, indem die optimale Kombination aus Sondentyp und Kontrastmittel für die Parenchympdarstellung ermittelt wird.

Es wurden daher 16 gesunde Probanden im Rahmen einer prospektiven unizentrischen Studie mit zwei Sondentypen (S4: 1.8/3.6 MHz ; S3: 1.6/3.2 MHz) des Ultraschallgerätes Hewlett Packard SONOS 5500 (Philips Medizin Systeme, Hamburg) untersucht. Die Ableitung der Sonogramme zur Parenchyndarstellung erfolgte mit der transient response imaging Methode und einer mit der Herzaktion synchronisierten Bildaufbaurrate nach jeder 4. Herzaktion. Es wurden die zum Untersuchungszeitpunkt erhältlichen Ultraschallkontrastmittel untersucht: Optison®, (Malinkrodt Medical GmbH, 53773 Hennef, Deutschland) und Levovist®, (Schering AG Berlin).

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Das Ultraschallgerät

Das in der hier vorgestellten Studie verwendete Ultraschallgerät ist das HP SONOS 5500 (Philips Medizin Systeme, Hamburg), welches mit den zwei verwendeten Sondentypen S4 (1.8/3.6 MHz) und S3 (1.6/3.2 MHz) ausgestattet wurde. Die wichtigsten Geräteparameter und Bestandteile bzw. deren Zusammenspiel vom Schallkopf bis zum Bildschirm werden im nächsten Abschnitt erläutert. Darüber hinaus wird der Einfluss der einzelnen Bestandteile auf den Datenfluss bis zur Bildgebung beschrieben.

Über ein Steuerungspult ist es dem Untersucher möglich, die Funktion der einzelnen Stationen in der Datenverarbeitung zu beeinflussen, von der Schallausendung bzw. Schallempfang am Sondenkopf bis zur Bildgenerierung am Monitor.

Die *Frontend* Station stellt einerseits die zentrale Verbindungsstelle zwischen der Steuerung und dem Schallkopf dar, andererseits ist hier die erste Station in der Datenverarbeitung der Signale, welche am Schallkopf durch den Empfang von Echos entstehen. Von hier aus werden die einzelnen Piezoelemente der Schallsonde angesteuert, das heißt für jedes Piezoelement besteht eine individuelle Verbindung zum Frontend. In Abhängigkeit von der Einstellung am Steuerungspult werden hier beispielsweise die Latenzzeiten zwischen Impulsaussendung und Echoempfang festgelegt. Ferner wird hier die zeitlich verzögerte Ansteuerung der Array Elemente bzw. des entsprechenden phasenverzögerten Empfanges bei den Phased-Array-Schallköpfen koordiniert. Gleichzeitig treffen hier auch Signale vom Schallkopf ein, die durch empfangene Echos generiert wurden. Als Station der Datenverarbeitung der empfangenen Signale erfüllt das Frontend einerseits die Funktion der Anpassung der Array-Elemente an die Verarbeitungskanäle des Gerätes, andererseits werden hier die analogen Signale bereits in digitale Signale umgewandelt.

Diese digitalen Signale werden an die nächste Station weitergeleitet, an die *Signalvorverarbeitung*. Hier findet eine Modulation des Signals statt, durch digitale Filterung, Tiefen- und Dynamikanpassung. Es werden beispielsweise durch Verwendung von Hochpassfiltern Bewegungsartefakte oder niederfrequentes Rauschen unterdrückt. Signale aus tiefen Bildabschnitten werden in Abhängigkeit von der Tiefe, in der das Signal lokalisiert ist, verstärkt, da Echos aus tieferen Bereichen durch Absorption, Reflexion und Streuung an Intensität verlieren. Bei einem primär schwa-

chen Ultraschallsignal, zum Beispiel durch ein schlecht zu penetrierendes Knochenfenster, wird eine gleichmäßige Anhebung aller empfangenen Ultraschallsignale vorgenommen.

Das auf diese Weise verarbeitete Signal wird nun weiter an die nächste Station der Datenverarbeitung, die *Preprocessing* Station, zur so genannten „Log Compression“ geleitet. Hier findet eine Dynamikanpassung der am Frontend empfangenen Signale an den Dynamikbereich des Rechners statt. Die am Frontend empfangenen Signale besitzen eine viel höhere Signaldynamik als der Dynamikbereich des digitalen Rechnerspeichers, so dass eine nichtlineare, wählbare Zuordnung der rohen, bereits digitalisierten Werte zu digitalen Werten entlang einer gewählten Kennlinie, die dem Dynamikbereich des Rechners entspricht, notwendig ist, sofern diese Zuordnung nicht durch das Frontend bereits vorgegeben ist. Durch die Anpassung an die Speichermatrix des Rechners tritt oft ein großer Informationsverlust auf. Anhand unterschiedlich konfigurierter Kennlinien, die der Untersucher beeinflussen kann, wird auf die Differenzierung der eingehenden Impulse maßgeblich Einfluss genommen. Kleine Unterschiede werden hervorgehoben, große Differenzen werden verkleinert, wodurch eine Kontrastanhebung bzw. eine Kontrastsenkung im späterem Grauwertbild erzielt werden kann (Klews 1993).

Weiter muss das so verarbeitete Signal in eine fernsehgerechte bzw. videogerechte Form umsortiert werden. Dies geschieht im Zwischenspeicher oder *Scan converter*. Die Daten eines Bildereignisses werden zuerst gesammelt und anschließend in ein kartesisches Koordinatensystem für die spätere Abbildung umsortiert. Danach erfolgt hier die Anpassung der gewonnenen Bilddaten an die Fernsehnorm, indem der Zwischenspeicher mit der der Bildschirmdarstellung angepassten Frequenz (25 HZ) ausgelesen wird, und an die *Postprocessing* Station weitergeleitet wird (Widder, B 1993).

Beim *Postprocessing* (Nachverarbeitung) werden allen Bilddaten über die Echoamplituden aus dem Zwischenspeicher Grauwerte auf dem Monitor zugeordnet. Analog zum *Preprocessing* kann dieser Vorgang auch nichtlinear, nach exponentiellen bzw. selbstdefinierten Nachverarbeitungscurven durchgeführt werden. Dadurch ist es möglich, gezielt kleine Echosignale im Bild anzuheben bzw. abzusenken (Klews 1993).

Zusätzlich besteht die Möglichkeit, durchgeführte Untersuchungen auf verschiedene Weisen zu Dokumentationszwecken festzuhalten. Zum einen können die

Bilderreihen einer Untersuchung auf einer magnetooptischen Platte (MOD) gespeichert werden, zum anderen bietet das Gerät die Möglichkeit eine komplette Untersuchung auf eine Videokassette aufzunehmen, wobei zusätzlich akustische Signale aus der Umgebung auf das Band aufgenommen werden können. In dieser Arbeit wurde die verlustfreie Speicherung der Bilddaten mit den Dichtewerten auf einer magnetooptischen Platte (MOD) gewählt.

## **2.2 Die Sonden**

Bei der Durchführung der Studie verwendeten wir die Sektorsonden S3(1,6 MHz / 3,2 MHz) und S4(1,8 MHz / 3,6 MHz) des Gerätes Hewlett Packard SONOS 5500.

Beide Sonden sind Phased-Array-Schallköpfe, die aufgrund ihrer kleinen Auf-  
liegefläche besonders für die transkranielle Sonographie geeignet sind. Die einzelnen Piezoelemente haben eine feste Anordnung auf der Sondenoberfläche, und jedes Element hat eine eigene Verbindung zum Frontend des Ultraschallgerätes, sodass jedes einzelne Element individuell und unabhängig von den anderen angesteuert werden kann. Die zeitverzögerte Ansteuerung ihrer fest angeordneten Einzelemente ermöglichen eine Steuerung des generierten Schallstrahls. Neben der Möglichkeit einer Steuerung der Richtung des Ultraschallbündels ist es möglich, anhand der Variation der zeitlichen Verzögerung eine Fokussierung in der Bildebene zu erzielen. Durch diese Merkmale ist es dem Untersucher möglich, die Sonde so einzustellen, dass sie gezielt das zu untersuchende Gebiet abtastet (Kaarmann et al. 1991).

Die Sonden werden frei durch die Hand des Untersuchers geführt. Nach Einstellung der gewünschten Untersuchungsebene wird beim Harmonic Imaging Verfahren die Sonde für die Dauer der Untersuchung in der ursprünglich eingestellten Position festgehalten.

Von besonderer Bedeutung bei der Anwendung des Harmonic Imaging Verfahrens ist die Fähigkeit der Sonden eine bestimmte Frequenz auszusenden und eine ganz bestimmte Frequenz zu empfangen. Bei der S4-Sonde ist es eine Aussendefrequenz von 1,8 MHz und eine Empfangsfrequenz von 3,6 MHz im Falle der S3-Sonde eine Aussendefrequenz von 1,6 MHz bzw. eine Empfangsfrequenz von 3,2 MHz.

## 2.3 *Das Kontrastmittel*

Die in der transkraniellen Sonographie verwendeten Kontrastmittel sind lungengängige Gasbläschen, die einen Durchmesser von weniger als 7  $\mu\text{m}$  aufweisen müssen, um die Kapillarpassage durch die Lunge zu überstehen. Aufgrund einer großen Oberflächenspannung müssen die Bläschen von einer Hülle stabilisiert werden. Von den Eigenschaften der stabilisierenden Hülle hängt die Lebensdauer der Gasbläschen ab, die wiederum die Dauer des Kontrastmitteleffekts bestimmt. Weitere Faktoren, die die Stabilität der Gasbläschen beeinflussen, sind die Diffusionseigenschaften des Gases und die Sättigung der umgebenden Flüssigkeit. Je geringer die Löslichkeit eines Gases im Blut ist, desto stabiler sind die Kontrastmittelbläschen.

In der von uns durchgeführten Studie verwendeten wir die Kontrastmittel Optison® (Mallinkrodt Medical GmbH, 53773 Hennef) und Levovist®, (Schering AG Berlin).

### 2.3.1 *Das Ultraschallkontrastmittel Levovist®*

Die Bläschen von Levovist sind luftgefüllt und werden durch eine aus Palmitinsäure bestehende sehr dünne Fettsäureschicht stabilisiert. Die Bläschen sind an Galaktosemikropartikel angelagert und erfahren dadurch eine zusätzliche Stabilisierung. Die Kontrastmittelbläschen sind lungengängig und führen nicht zu einer relevanten Änderung der Blutviskosität (Schlief et al. 1993, Jung et al. 1995).

Levovist ist für die ein- und zweidimensionale dopplersonographische Darstellung der Hämodynamik bei Patienten mit unzureichenden Dopplerintensitäten bei Erkrankungen im Bereich des linken Herzens, Erkrankungen peripherer Arterien und Venen, wie Stenosen hirnversorgender Arterien, Stenosen oder Veränderungen der Gefäße des Abdomens und kleinen Beckens sowie der Extremitäten zugelassen.

Levovist wird intravenös in Form einer Suspension bestehend aus 99,9% Galaktose und 0,1% Palmitinsäure als Trägersubstanz luftgefüllter Mikrobläschen appliziert.

Wir applizierten das Levovist als Bolus von 5 ml in einer Verdünnung von 400 mg/ml Suspension.

### 2.3.2 *Das Ultraschallkontrastmittel Optison®*

Im Gegensatz zu Levovist wirkt bei Optison nicht Luft als Streuungsmedium sondern Oktafluorpropangas, dessen Löslichkeit im Blut im Vergleich zu Luft viel geringer ist. Zusätzlich weisen oktafluorpropangasgefüllte Bläschen eine größere

Druckresistenz auf, die bei der Herzpassage entscheidend ist für die Stabilität der Mikrobläschen. Diese Eigenschaften führen bei Optison zu einer protrahierten Eliminationskinetik (Goldberg et al. 1994, Schneider et al. 1997).

Die Hülle besteht aus hitzebehandeltem Humanalbumin, welches in einer 1%-igen Albuminlösung als Trägersubstanz für die oktafluorpropangasgefüllten Mikrobläschen dient. Die durchschnittliche Menge an Oktafluorpropangas beträgt 0,22 mg/ml Optison. Weitere Bestandteile von Optison sind Natriumchloridlösung, N(2)-Acetyl-Tryophan, Octansäure, Natriumhydroxid und Wasser zu Injektionszwecken.

Optison ist in der Echokardiographie zugelassen und in Form von 3ml Durchstechflaschen kommerziell erhältlich. Die maximale, als Bolus applizierbare Menge beträgt 8,7 ml pro Patient. Eine Zulassung zur Darstellung der hirnversorgenden Arterien besteht nicht. Dies wurde bei der Prüfung der Studie durch die Ethikkommission berücksichtigt.

Wir applizierten das Optison als Bolus in einer Dosierung von 1,5 ml als Suspension, angefertigt kurz vor Injektion entsprechend den Angaben des Herstellers.

## **2.4 Das Studiendesign**

### *2.4.1 Versuchsplanung*

Die von uns durchgeführte Studie ist eine prospektive, unizentrische Untersuchung zur Analyse der Hirnperfusion bei Applikation der zwei oben genannten Ultraschallkontrastmittel (Optison®, Levovist®) an gesunden Probanden, unter Verwendung der zwei oben genannten Sondentypen S3 und S4 des Gerätes HP SONOS 5500.

Um jede Kombination von Proband, Sondentyp und Kontrastmittel abzudecken, ergibt sich unter Verwendung von vier lateinischen Quadraten mit je vier Sequenzen ein Stichprobenumfang von  $n=16$ . Innerhalb einer Sequenz führten wir die vier Untersuchungen der vier Probanden gestaffelt hintereinander durch, wobei für den Untersucher durch die Staffelung nach dem lateinischen Quadrat bewirkt wurde, dass jeweils die nächste Untersuchung eine andere Kombination aus Sondentyp und Kontrastmittel ergab. Somit sollte der Einfluss möglicher systematischer Fehler auf das Ergebnis vermieden werden, um dadurch bei der Versuchsanordnung die Anzahl von Probanden zu bestimmen, die mindestens notwendig ist, um verwertbare Ergebnisse zu erzielen.

Die Teilnahme an der Studie war auf freiwilliger Basis. Einschluss, Aufklärung, Durchführung und Dokumentation der Studie erfolgten nach den ICH / GCP Kriterien. Nach Abschluss einer Probandenversicherung wurde das Protokoll der Ethikkommission des Universitätsklinikums Giessen (Vorsitz: Prof. Federlin) vorgelegt. Diese stimmte der geplanten Studiendurchführung zu (Aktenzeichen 092384903284 / 019).

Die im Folgenden ausgewählten Probanden mussten folgende Einschlusskriterien erfüllen: das Mindestalter durfte 18 Jahre nicht unterschreiten, die Einwilligungsfähigkeit der Probanden und ein suffizientes akustisches Knochenschallfenster waren Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie. Auf ein suffizientes Knochenschallfenster untersuchten wir die Probanden bereits im Vorfeld der Studie. Darüber hinaus erhoben wir einen Status der äußeren hirnersorgenden Arterien und leiteten ein EKG ab. Ausschlusskriterien waren die Unverträglichkeit von Galaktose, Humanalbumin, Levovist, Optison und schwere allergische Reaktionen in der Vorgeschichte.

Nach einem ausführlichen, schriftlich festgehaltenen Aufklärungsgespräch über den Zweck der Untersuchung sowie Risiken und Nebenwirkungen, Einholung der schriftlichen Einwilligungserklärung sowie Vorlage der Probandenversicherung, wurde der Proband mit einem venösem Zugang versorgt und an das EKG des Ultraschallgerätes angeschlossen.

Zur Einstellung der Sonde auf die Untersuchungsebene, die diencephale Ebene in axialer Ausrichtung, wurden zunächst nativ farbduplexsonographische Bilder der Hirngefäße abgeleitet (Seidel et al. 1999). Nach Einstellung der Untersuchungsebene wurde das Ultraschallgerät auf den Harmonic acoustic densitometry Modus umgeschaltet; das heißt das Gerät arbeitete dann nach dem transient response harmonic imaging Verfahren. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, werden hierbei Ultraschallbilder im B-Mode herzzzyklusgetriggert abgeleitet. Entsprechend tierexperimenteller Untersuchungen, welche nachweisen konnten, dass die optimale Bildwiederholungsrate bei einer Untersuchungstiefe zwischen 8 und 10 cm, wie in unserem Fall zwischen 4:1 und 8:1 liegt, wurde in unserem Protokoll ein Bild bei jedem 4. Herzzzyklus erstellt (Seidel 1999).

Jede Untersuchung erfolgte durch die gleiche Person, um eine zusätzliche Varianz zu vermeiden. Eine Blindung während der Datenerfassung war nicht möglich, da Merkmale des Kontrastmittels für den Untersucher im Ultraschallbild währ-

**Tab. 1** Einstellung des Gerätes während der Studie.

Parameter	Harmonic acoustic densitometry S4 (kardiolog. Quick Set)	Harmonic acoustic densitometry S3 (kardiolog. Quick Set)
Fokus	Mittellinie (8 cm)	Mittellinie (8 cm)
Gain	≈ 60% (einzelne Graustufen)	≈ 60% (einzelne Graustufen)
MI	maximal	maximal
Tiefe [cm]	10 cm	10 cm
Trigger	Jeder 4. Herzzyklus	Jeder 4. Herzzyklus
Preprocessing	2	2
Postprocessing	A	A
Palette (Farbe)	F3	F3
Filter	low	low
Frequenz	Harmonic B[1,8 + 3,6Mhz]	Harmonic B[1,6 + 3,2MHz]

rend der Untersuchung erkennbar waren. Da die Auswertung jedoch automatisiert erfolgte, wurde das Fehlen der Verblindung als irrelevant eingestuft. Die Geräteeinstellung des Ultraschallgerätes wurde während der gesamten Studie nicht verändert. Tabelle 1 zeigt die eingestellten Geräteparameter des HP SONOS 5500, die während der Studie verwendet wurden.

Die Bilder wurden von transtemporal rechts abgeleitet. Die ersten zehn Bilder wurden ohne Kontrastmittel abgeleitet und dienten später bei der Auswertung als Referenzwert, als so genannte „Baseline“, mit deren Beginn die Aufzeichnung der Bilderserien startete. Nach dem zehnten Ultraschallbild wurde die Bolusapplikation des Kontrastmittels durchgeführt. Die Kontrastmittelapplikation wurde stets von der selben Person durchgeführt. Die Applikationsreihenfolge verlief nach folgendem Protokoll:

- A. Bolusinfusion mit 400 mg Levovist, Untersuchung mit der S4-Sonde anschließend 10 min. Pause
- B. Bolusinfusion mit 1,5 ml Optison, Untersuchung mit der S4-Sonde anschließend 20 min. Pause
- C. Bolusinfusion mit 400 mg Levovist, Untersuchung mit der S3-Sonde anschließend 10 min. Pause

D. Bolusinfusion mit 1,5 ml Optison, Untersuchung mit der S3-Sonde  
anschließend 20 min. Pause

Injektionsmodus mit Optison:

Optison 1,5 ml als Bolus, direkt gefolgt von 10 ml NaCl-Lösung als Bolus.

Injektionsmodus mit Levovist:

Levovist 400 mg/ml als Bolus, direkt gefolgt von 10 ml NaCl-Lösung als Bolus.

Die längere Pause nach der Optison Applikation erklärt sich dadurch, dass Optison stärkere Rezirkulationsphänomene zeigt und somit länger im Blutkreislauf verweilt, bedingt durch einen anderen Aufbau der Kontrastmittelbläschen (Postert et al. 1999);

Entsprechend dem lateinischen Quadrat begann der zweite Proband mit Punkt B des Protokolls, setzte die Untersuchung mit C fort, dann D und schließlich Punkt A am Ende. Der dritte Proband erhielt dementsprechend die Protokollkombination C, D, A, B, der vierte die Protokollkombination D, A, B, C. Tabelle 2 verdeutlicht die Versuchsanordnung entsprechend eines der vier verwendeten lateinischen Quadrate.

Insgesamt wurden pro Untersuchung 62 Bilder abgeleitet, wobei die Bolusapplikation nach 10 abgeleiteten Bildern erfolgte, die in der späteren Auswertung als „Baseline“ dienten. Alle Bilder wurden auf eine optomagnetische Platte (zur digitalen Speicherung) und auf ein Videoband aufgezeichnet. Es wurde eine anonymisierte Dokumentation der personenbezogenen Daten und des sonographischen Befundes sowie der Bilddaten auf den Speichermedien vorgenommen.

**Tab. 2** Beispiel der Probandenstaffelung nach dem lateinischen Quadrat.

	1. Untersuchung	2. Untersuchung	3. Untersuchung	4. Untersuchung
Proband 1	A	B	C	D
Proband 2	B	C	D	A
Proband 3	C	D	A	B
Proband 4	D	A	B	C

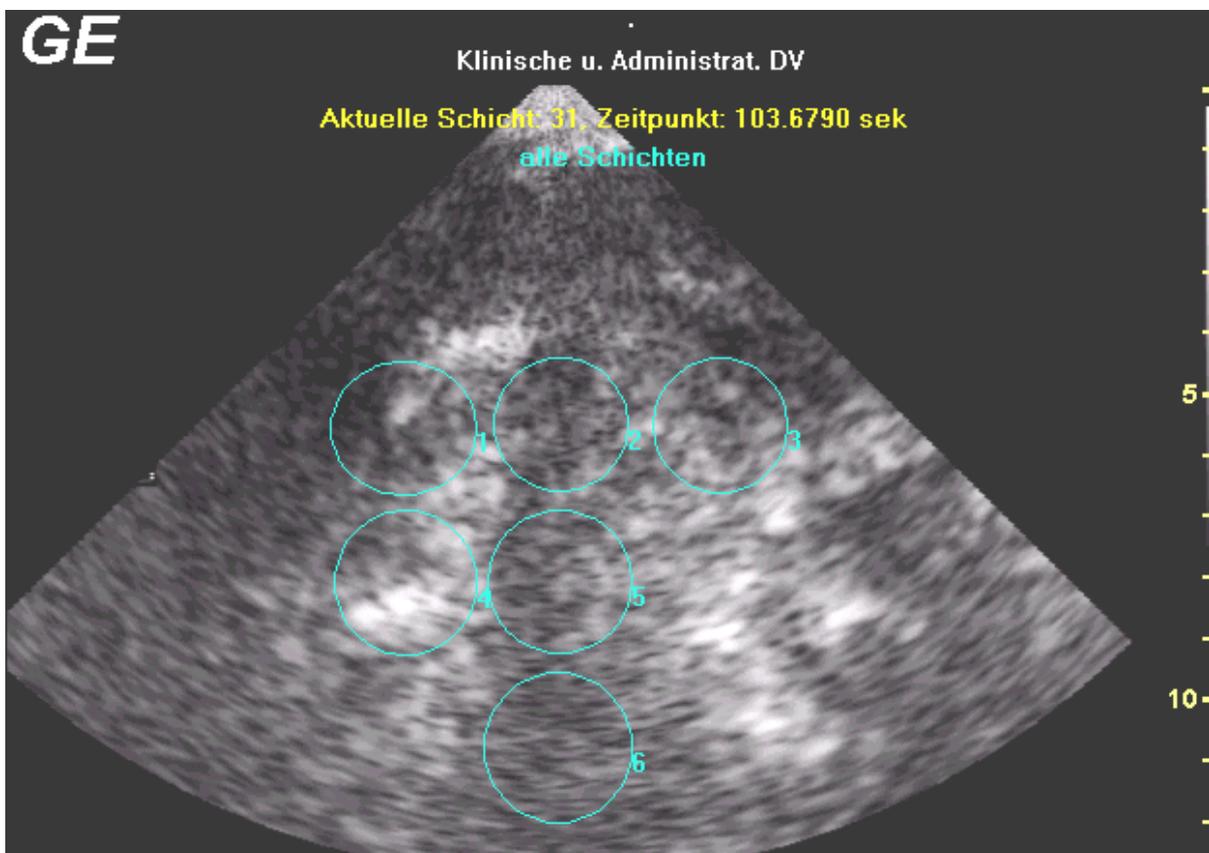
Jeder Proband blieb nach der Durchführung der vier Untersuchungen noch zwei Stunden unter ärztlicher Aufsicht, um eventuelle allergische Reaktionen auf das Kontrastmittel entsprechend zu behandeln.

### 2.4.2 Auswertung

Die Bilderserien von der optomagnetischen Platte wurden in eine Auswertesoftware (QuantiCon© Echo Tech 3D Imaging, Hallbergmoos) eingespielt.

Mit Hilfe dieser Software ist es möglich, innerhalb einer freiwählbaren ROI (Region of interest) den mittleren Grauwert pro Einzelbild zu errechnen. Wir wählten 6 verschiedene ROIs wie in Abbildung 2 gezeigt.

Die Position der einzelnen ROIs zueinander wurde zu Beginn des Auswertevorgangs festgelegt, so dass bei der Auswertung der nächsten Bilderreihe die ROI-Gruppe mit den einzelnen 6 ROIs nur eingefügt werden musste. Als Orientierung beim Einfügen der ROI-Gruppe dienten die Mittellinienstrukturen des Gehirns, die Begrenzung des dritten Ventrikels und der Thalamus.



**Abb. 2** Anordnung der 6 ROIs, ROI 1-3 entspricht der Marklagerregion, ROI 4 entspricht dem Linsenkern, ROI 5 und 6 dem Thalamus ipsi- und kontralateral.

Dadurch erfolgte die Auswertung automatisiert durch die Bestimmung von Grauwerten unbeeinflusst vom Auswerter. Die einzelnen ROIs waren identisch in ihrer Größe und kreisförmig mit einem Durchmesser von 1cm.

Bei der Auswertung einer Bilderreihe von 62 Einzelbildern einer Untersuchung wurden für jede ROI der mittlere Grauwert ermittelt. Jedem Grauwert wurde das Zeitintervall von der Bolusapplikation bis zur Ableitung des Sonograms, aus dem

der jeweilige Grauwert der ROI stammt, zugeordnet. Die so ermittelten Werte wurden im Excel™ Format (Microsoft®) digital gespeichert und konnten so für automatische statistische Analysen weiterverwendet werden. Tabelle 3 zeigt anhand einer der 64 durchgeführten Untersuchungen wie sich das Ergebnis der Auswertung mittels Quanticon darstellen lässt.

Die gesamte Auswertung wurde von der selben Person durchgeführt. Zusätzlich war der Auswerter geblendet gegenüber der Auswahl des Kontrastmittels und dem Sondentyp (Auswahl der Datei, Aufrufen der Berechnung).

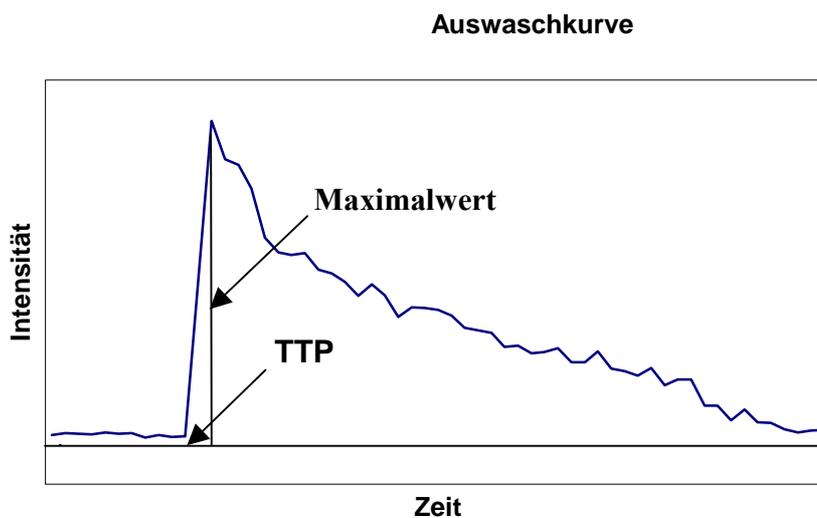
**Tab. 3** Rohdatenauswertung der einzelnen ROIs anhand eines Beispiels.  
 Proband X, Probe Optison/Sonde S3

Bilder-Reihenfolge	Zeit[sec]	ROI 1	ROI 2	ROI 3	ROI 4	ROI 5	ROI 6
1	0	2,44	2,44	3,14	5,01	3,91	2,58
2	3,44	2,36	2,36	3,06	5,06	4,00	2,55
3	7,13	2,63	2,63	2,91	4,92	3,87	2,54
4	10,46	2,59	2,59	2,82	5,13	3,86	2,59
5	14,05	2,65	2,65	2,96	5,30	3,94	2,56
6	17,73	2,71	2,71	2,84	5,32	3,93	2,49
7	21,20	2,77	2,77	2,80	5,25	3,74	2,59
8	24,81	2,67	2,67	2,86	5,47	3,87	2,38
9	28,34	2,59	2,59	2,93	5,49	3,72	2,55
10	31,77	2,51	2,51	2,82	5,41	3,58	2,44
11	35,12	2,68	2,68	2,49	5,50	3,70	2,57
12	38,48	2,56	2,56	2,80	5,44	3,68	2,49
13	41,82	2,71	2,71	2,60	5,55	3,65	2,47
14	45,09	2,72	2,72	2,64	5,49	3,74	2,42
15	48,22	8,91	8,91	6,23	13,92	6,93	3,07
16	51,34	21,63	21,63	15,04	60,48	18,00	6,89
17	54,63	28,59	28,59	22,75	62,01	23,17	8,34
18	57,72	26,45	26,45	21,10	65,32	23,75	10,47
19	60,88	24,49	24,49	20,21	75,54	30,08	9,93
20	64,38	24,90	24,90	21,01	66,08	23,05	9,41
21	67,64	23,50	23,50	17,61	60,94	23,15	9,63
22	70,86	22,48	22,48	16,88	68,75	22,21	8,58
23	74,05	20,72	20,72	16,26	65,97	21,66	9,80
24	77,22	19,69	19,69	11,99	66,26	19,43	10,64
25	80,38	19,31	19,31	14,12	68,63	20,44	7,89
26	83,68	18,33	18,33	13,94	61,42	17,75	8,39
27	87,08	17,72	17,72	14,44	58,37	18,53	8,18
28	90,27	16,02	16,02	13,72	60,40	17,30	8,48
29	93,77	17,73	17,73	13,50	57,83	16,23	8,43
30	97,04	18,02	18,02	11,97	70,19	16,52	7,52
31	100,26	17,38	17,38	14,95	51,28	16,54	7,37
32	103,66	16,41	16,41	12,18	55,18	16,19	7,42
33	106,91	15,49	15,49	12,60	56,37	14,69	7,11
34	110,20	14,57	14,57	11,10	51,35	13,55	6,44
35	113,36	16,89	16,89	11,50	47,26	13,84	5,61
36	116,63	14,38	14,38	10,86	47,63	12,61	7,26
37	120,08	14,87	14,87	10,54	45,54	13,00	5,92
38	123,16	13,47	13,47	8,21	50,65	13,45	5,89
39	126,23	15,82	15,82	9,65	40,37	13,58	5,90
40	129,45	12,39	12,39	9,17	37,19	13,60	6,59
41	132,58	13,96	13,96	8,35	40,55	12,54	6,10
42	135,72	13,66	13,66	8,05	37,58	13,12	5,21
43	138,88	13,08	13,08	7,93	42,25	10,58	4,97
44	142,23	11,15	11,15	7,95	32,48	10,39	5,99
45	145,50	10,17	10,17	8,97	32,57	9,55	5,91
46	148,84	11,81	11,81	9,39	34,36	9,85	5,01
47	152,24	10,94	10,94	6,55	31,60	10,33	4,24
48	155,41	10,77	10,77	7,54	28,97	8,90	4,43
49	158,98	10,27	10,27	6,80	31,13	9,83	4,73
50	162,58	10,36	10,36	6,89	26,92	9,74	4,48
51	165,88	10,33	10,33	6,21	32,23	10,09	4,37
52	169,08	10,73	10,73	6,90	28,85	9,46	4,14
53	172,55	9,87	9,87	7,23	25,24	8,27	4,61
54	175,73	9,62	9,62	6,10	21,56	8,74	4,04
55	179,05	9,92	9,92	5,99	24,33	8,44	3,85
56	182,34	8,90	8,90	4,66	19,07	7,91	3,68
57	185,86	9,37	9,37	8,89	23,23	7,03	4,33
58	189,30	7,85	7,85	6,18	24,79	7,21	3,88
59	192,70	8,63	8,63	4,98	22,48	6,23	4,09
60	196,13	8,78	8,78	6,64	21,10	7,35	3,41
61	199,63	8,42	8,42	6,49	21,39	6,79	4,15
62	203,22	8,60	8,60	5,77	22,78	6,51	4,29

### 2.4.3 Statistisches Programm

Die mit Quanticon ermittelten Rohdaten wurden in ein statistisches Auswertprogramm übertragen (SAS System Version 6.12, Cary,NC / USA) und die weitere statistische Auswertung vorgenommen. Zunächst wurden für jede ROI der Maximalwert, die Zeit bis zum Erreichen des Maximalwertes (time-to-peak) und das Integral der Boluskinetik (area-under-the-curve [AUC]) erfasst. Alle drei Auswerteparameter wurden im Bezug zur Baseline bestimmt, die durch die Mittelung der ersten 10 Werte errechnet wurde. Die folgenden Graphiken verdeutlichen anhand einer Auswaschkurve wie sich die drei Auswerteparameter anschaulich darstellen lassen.

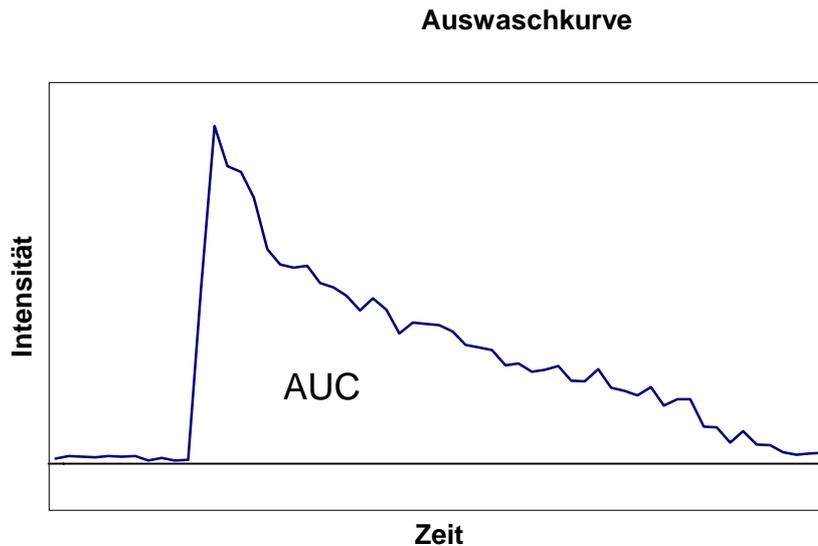
Alle drei Auswerteparameter kennzeichnen ein ganz bestimmtes Gütekriterium der gewählten Sonden-Kontrastmittelkombination. Der Maximalwert steht für die Stärke des erreichten Kontrastmitteleffektes. Mit der time-to-peak wird die Zeit bis zum Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffektes erfasst. Sie gibt damit die



**Abb. 3** Graphische Darstellung des Maximalwertes und TTP (time-to-peak) anhand einer Auswaschkurve.

Zeit wieder, die benötigt wird, um im Gewebe anzufluten. Dagegen charakterisiert die AUC den Kontrastmitteleffekt für die Dauer des Kontrastmitteleffektes insgesamt.

Die erzielten Werte für die drei Auswerteparameter (Maximalwert, time-to-peak, AUC) wurden nach ROI und Sonden-Kontrastmittelkombination sortiert, und aus den dadurch erzielten Zahlen wurden Mittelwerte, Medianwerte und 0-, 25-, 75-



**Abb. 4** Graphische Darstellung der AUC (area under the curve) anhand einer Auswaschkurve.

und 100-Perzentilen bestimmt. Die weitere Auswertung erfolgte mit dem Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben und durch Varianzanalyse.

## 2.5 Ethische Aspekte

An dieser Stelle wird noch mal auf die Risiken und Nebenwirkungen hingewiesen, die bei einer Kontrastmittel Untersuchung mit den zwei von uns in der Studie verwendeten Kontrastmitteln auftreten können.

In Rücksprache mit der Statistischen Abteilung unserer Universität wurde die Mindestprobandenzahl von 16 Teilnehmern unter Zuhilfenahme von vier lateinischen Quadraten zu je vier Sequenzen bestimmt. Dadurch sollten mittels einer zahlenmäßig so niedrig wie möglich gehaltenen Probandengruppe dennoch aussagekräftige Ergebnisse erzielt werden. Im Vorfeld der Studie wurden die Probanden genau anamnestiziert und ausführlich über die möglichen Nebenwirkungen und Risiken der von uns in der Studie durchgeführten Untersuchungen aufgeklärt. Jeder Proband bekam einen Aufklärungsbogen (siehe Abb.5), in dem alle relevanten Aspekte verzeichnet waren, und in welchem er seine Zustimmung schriftlich bestätigen konnte. Darüber hinaus bestand die Möglichkeit, die Unterlagen bezüglich der Zustimmung der Ethikkommission zur Durchführung der Studie (siehe Abb. 6) und über die abgeschlossene Probandenversicherung in Vorfeld der Studie (siehe Abb. 7) einzusehen.

### 2.5.1 Nebenwirkungen von Optison

Unerwünschte Reaktionen auf Optison sind selten und in der Regel nicht schwerwiegend. Die unerwünschten Wirkungen, die nach der Anwendung von Optison in klinischen Studien der Phase III am Menschen beschrieben wurden, waren leicht bis mittelschwer mit vollständiger Remission. Die häufigsten unerwünschten Wirkungen im Zusammenhang mit Optison waren eine vorübergehende Geschmacksveränderung (2,5%), Kopfschmerzen (2%), Wärmeempfinden/ Gesichtsröte (2%) und vorübergehende Atemnot in 1% der Fälle. In jeweils 0,5% der Fälle kam es zu Brustschmerzen und zu einer Vermehrung der eosinophilen Blutzellen. Die Erfahrungen bei der Anwendung von Optison bei Patienten mit schwerwiegenden Erkrankungen, insbesondere schweren Herz-, Lungen-, Nieren-, Blut- und Lebererkrankungen, sind begrenzt. Bei diesen Patienten sollte Optison nur nach sorgfältiger Abwägung angewendet werden, wobei während der Untersuchung der Patient überwacht werden sollte. Dazu gehört unter anderem das Atemnotsyndrom des Erwachsenen (ARDS), schwere Herzinsuffizienz (NYHA IV), Myokarditis, terminale Nieren- und Leberinsuffizienz und ein bekanntes hyperkoagulables Gerinnungssystem und/oder rezidivierende Thrombembolien. Optison darf nicht bei Verdacht auf oder bei bekannter Überempfindlichkeit gegenüber einem der Bestandteile von Optison angewendet werden sowie bei Patienten mit schwerem Lungenhochdruck.

Neben dem Risiko akuter internistischer Komplikationen können bei der Anwendung von Produkten, die unter Verwendung von menschlichem Blut oder Plasma hergestellt werden, Übertragungen von infektiösem Material nicht völlig ausgeschlossen werden. Dies gilt auch für Krankheitserreger von bisher ungeklärter Herkunft. Die gegenwärtig angewendeten Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln, die aus menschlichem Blut oder Plasma hergestellt werden, sind wirksam gegen Viren, die von einer Hülle umgeben sind, wie zum Beispiel HI-, Hepatitis B- und C-Viren. Diese Verfahren sind von begrenzter Wirksamkeit gegenüber Viren, die von keiner Hülle umgeben werden, wie zum Beispiel das Hepatitis A-Virus. Da Optison hauptsächlich aus Humanalbumin besteht, sind Auswirkungen auf die Schwangerschaft unwahrscheinlich. Es ist nicht bekannt, ob Optison in die Muttermilch übertritt. Auswirkungen auf die Verkehrstüchtigkeit und das Bedienen von Maschinen sind nicht bekannt.

### 2.5.2 Nebenwirkungen von Levovist

Da Levovist keine Eiweißverbindungen enthält, ist eine allergische Reaktion aus theoretischen Überlegungen ausgeschlossen und auch noch nicht beschrieben worden. Ausgewiesene Kontraindikationen sind Galaktosämie, schwere Herzinsuffizienz der Stadien III und IV, 14 Tage nach einem Myokardinfarkt und schwere Lungenerkrankungen. An Nebenwirkungen werden gelegentlich vorübergehende Schmerzen während oder kurz nach der Injektion im Bereich des Injektionsortes sowie ein Wärme- und Kältegefühl beschrieben. In Einzelfällen treten Geschmacksstörungen, Luftnot, Änderungen von Blutdruck oder Puls, Übelkeit und Erbrechen, Hauterscheinungen, Schwindel sowie Kopfschmerzen auf. Aufgrund der hohen Osmolalität der Levovistsuspension können unspezifische Irritationen des Gefäßendothels auftreten. Bei paravasaler Injektion kann es zu Schmerzen und Gewebereizungen kommen. Das akzidentelle Intoxikationsrisiko durch Injizieren großer Mengen Levovist wird als gering eingestuft. Bei gleichzeitiger osmotischer Diurese sind Serumelektrolyte und intravasales Volumen zu überwachen und gegebenenfalls zu substituieren. Bei Symptomen, die auf eine Hypervolämie hinweisen, können Diuretika (zum Beispiel Furosemid) intravenös verabreicht werden.

## 2.6 Einverständniserklärung, Versicherungsschein und Ethikvotum im Faksimile

Studie zur Hirngewebsperfusion mit den Ultraschallkontrastmitteln Levovist und Op-  
tison

### EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG ZUR STUDIE

Name:

Vorname:

Geburtsdatum:

Ich bin damit einverstanden, an der Untersuchung teilzunehmen.

Ich bin aufgeklärt worden über ihr Ziel, die praktische Durchführung, den zu erwartenden Nutzen, die möglichen Risiken und die mit ihr verbundenen Belastungen.

Ich bin darüber informiert worden, dass die erhaltenen Daten den Bestimmungen des Datenschutzgesetzes unterliegen. Ich stimme ihrer Veröffentlichung unter der Voraussetzung zu, dass jeder Bezug zu meiner Person unkenntlich gemacht ist.

Ich bin damit einverstanden, dass die im Rahmen der Studie erhobenen Daten aufgezeichnet, von einem zur Verschwiegenheit verpflichteten Mitarbeiter oder Beauftragten der fördernden Einrichtung eingesehen bzw. abgefragt und in anonymisierter Form an die zuständige Überwachungsbehörde oder die zuständige Bundesoberbehörde weitergegeben, wissenschaftlich ausgewertet und den gesetzlichen Bestimmungen entsprechend archiviert werden. Mir ist außerdem bekannt, dass in seltenen Ausnahmefällen und nur unter Wahrung meiner Persönlichkeitsrechte eine Weitergabe nicht anonymisierter Daten erforderlich sein kann.

Ich konnte Fragen stellen. Sie wurden zu meiner Zufriedenheit beantwortet. Über das Vorliegen einer Probandenversicherung wurde ich informiert und konnte die Versicherungsunterlagen einsehen.

Über die Nebenwirkungen der verwendeten Kontrastmittel bin ich informiert worden, diese werden im folgenden aufgeführt:

Seite 1

**Nebenwirkungen von Levovist®**

Da Levovist keine Eiweissverbindungen enthält, ist eine allergische Reaktion unwahrscheinlich und noch nicht beschrieben. Ausgewiesene Gegenanzeigen sind Galaktosämie, schwere Herzinsuffizienz der Stadien NYHA III und IV, 14 Tage nach einem Myocardinfarkt, schwere Lungenerkrankungen, insb. schwere obstruktive Lungenerkrankungen. An Nebenwirkungen werden beschrieben: Gelegentl. vorübergehende Schmerzen während oder kurz nach der Inj. im Bereich des Injektionsortes sowie Wärme- und Kältegefühl. Einzelfälle: Geschmackempfinden, Luftnot, Änderungen von Blutdruck oder Puls, Übelkeit und Erbrechen sowie Kopfschmerz, Schwindel und Hauterscheinungen. Vorübergehend können wegen der Hyperosmolalität der Levovist-Susp. unspezifische Irritationen des Gefäßendothels auftreten. Bei paravasaler Inj. kann es zu Schmerzen und Gewebereizungen kommen. Das akzidentelle Intoxikationsrisiko durch Injizieren größerer Mengen Levovist wird als gering eingestuft. Bei osmotischer Diurese sind Serum-Elektrolyte und intravasales Volumen zu überwachen und ggf. zu substituieren. Bei Symptomen, die auf eine Hypervolämie hinweisen, können Diuretika (z. B. Furosemid) intravenös verabreicht werden.

**Nebenwirkungen von Optison®**

Optison wird gut vertragen. Unerwünschte Reaktionen sind selten und in der Regel nicht schwerwiegend. Die unerwünschten Wirkungen, die nach der Anwendung von Optison® in klinischen Studien Phase III am Menschen berichtet wurden, waren leicht bis mittelschwer mit nachfolgender vollständiger Wiederherstellung des Patienten. Die häufigste unerwünschte Wirkung in Zusammenhang mit Optison waren eine vorübergehende Geschmackveränderung (2,5%), Kopfschmerzen (2,0%) Wärmeempfinden/Gesichtsröte (2%), und vorübergehende Atemnot in (1%) der Patienten. In jeweils 0,5% kam es zu Brustschmerzen und zu einer Vermehrung der eosinophilen Blutzellen. Die Erfahrung bei der Anwendung von Optison bei Patienten mit schwerwiegenden Erkrankungen, insbesondere schweren Herz-, Lungen-, Nieren- und Lebererkrankungen, sind begrenzt. Dazu gehört u.a. das Atemnotsyndrom des Erwachsenen (ARDS), schwere Herzinsuffizienz (NYHA IV), Myokarditis, terminale Nieren- und Leberinsuffizienz und ein bekanntes hyperkoagulables System und/oder rezidivierende Thrombembolien. Optison sollte bei diesen Patientengruppen nur nach sorgfältiger Abwägung angewendet werden, wobei die Patienten während der Untersuchung zu überwachen sind. Optison darf nicht bei Verdacht auf oder bei bekannter Überempfindlichkeit gegenüber einem der Bestandteile von Optison angewendet werden, sowie bei Patienten mit schwerem Lungenhochdruck (systolischer Druck der Lungenarterien über 90 mmHg). Im Rahmen dieser Studie ist jedoch die Untersuchung dieser internistisch instabiler Patienten nicht vorgesehen (siehe Ausschlusskriterien). Neben dem Risiko akuter internistischer Komplikationen können bei Anwendung von Produkten, die unter Verwendung von menschlichen Blut oder Plasma hergestellt werden, Übertragung von infektiösem Material nicht völlig ausgeschlossen werden. Dies gilt für Krankheitserreger von bisher unbekannter Herkunft. Die gegenwärtig angewendeten Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln, die aus menschlichem Blut oder Plasma gewonnen werden, sind wirksam gegen Viren, die von einer Hülle umgeben sind, wie z.B. Hepatitis B und C Viren. Diese Verfahren sind von begrenzter Wirksamkeit gegenüber Viren, die nicht von einer Hülle umgeben werden, wie z.B. Hepatitis A Virus. Da Optison hauptsächlich aus Humanalbumin besteht, sind Auswirkungen auf die Schwangerschaft unwahrscheinlich. Es ist nicht bekannt, ob Optison in die Muttermilch übertritt. Auswirkungen auf Verkehrstüchtigkeit und das Bedienen von Maschinen sind nicht bekannt.

Ich habe keine weiteren Fragen mehr.  
Ich habe eine Kopie der schriftlichen Aufklärung und dieser  
Einverständniserklärung erhalten.  
Giessen, den .....

Unterschrift des Probanden .....

Unterschrift des Studienleiters.....

Bzw. seines Stellvertreters.....

Seite 3

**Abb. 5** Aufklärungsbogen

## JUSTUS-LIEBIG-

UNIVERSITÄT  
GIESSENKlinikum  
ETHIK-KOMMISSION  
am FB HumanmedizinEthik-Kommission, Gaffkystr. 11c, D-35385 GießenHerrn  
Dr. M. Jauss  
Zentrum für Neurologie  
Am Steg

Hauspost

Vorsitzender:  
Prof. Dr. E. Habermann  
Gaffkystr. 11c  
D-35385 Gießen  
Tel.: (0641)99-47660/42470Gießen, den 15.01.2001  
Az.: Prof. Ha/ErbUnser Zeichen: 114/00  
Sitzung am: 11.01.2001**Titel:** *Vergleich von Untersuchungsmodalitäten und Echosignalverstärkern bei transkranialer Farbduplexsonographie.*Es handelt sich um eine Erstbegutachtung für den Leiter der Klinischen Prüfung (LKP)   
Es handelt sich um eine Anschlussbegutachtung 

Eingesandte Unterlagen:

- Vorbegutachtung(en) durch andere Ethik-Kommissionen
- Formalisierter Antrag
- Ausführliche Darstellung des Vorhabens
- Information und Einwilligungserklärung der Patienten/Probanden
- Nachweis der Versicherung

Der Antrag wurde unter ethischen, medizinisch-wissenschaftlichen und rechtlichen Gesichtspunkten geprüft. Soweit betreffend, wurde **das auf Seite 2 wiedergegebene Protokoll** unter Berücksichtigung des Good Clinical Practice for Trials on Medicinal Products in the European Community erstellt. Es bezieht sich auf die vorgelegte Fassung des Antrags.

Forderungen der Ethik-Kommission, soweit darin aufgeführt, wurden inzwischen erfüllt. Sie stimmt dem Vorhaben zu. Sie stimmt dem Vorhaben unter Auflagen zu (siehe S. 2). Sie stimmt dem Vorhaben nicht zu (siehe S. 2). 

Die Ethik-Kommission erwartet, daß ihr bis 31.12.02 ohne Aufforderung ein kurzer Bericht auf beigefügtem Formblatt übermittelt wird. Er soll mitteilen, ob das Ziel der Studie erreicht wurde, ob ethische, medizinisch-wissenschaftliche oder rechtliche Probleme aufgetreten sind, und ob das Ergebnis publiziert ist/wird. Unabhängig davon ist die Ethik-Kommission über alle Änderungen des Prüfplans zu unterrichten. Ihr sind alle schweren unerwünschten Wirkungen mitzuteilen, soweit sie im Bereich der Zuständigkeit dieser Ethik-Kommission aufgetreten sind. Bei überregionalen Studien sind sie auch dem LKP mitzuteilen.

Die ärztliche und juristische Verantwortung des Leiters der klinischen Prüfung und der an der Prüfung teilnehmenden Ärzte bleibt entsprechend der Beratungsfunktion der Ethik-Kommission durch unsere Stellungnahme unberührt.

Die Namen der bei dieser Sitzung anwesenden Mitglieder sind hervorgehoben.

**Mitglieder:** Frau Dr. Blüters-Sawatzki (Pädiatrie); Dr. Bödeker (Informatik); Prof. Breithaupt (Klinische Pharmakologie); Herr Brumhard (Pharmazie); Prof. Federlin (Innere Medizin); Prof. Habermann (Vorsitz, Pharmakologie); Prof. Schapp (Bürgerliches Recht); Prof. Schwemmlé (Chirurgie); Prof. Weiler (Rechtsmedizin).  
**Vertreter:** Prof. Dudeck (Informatik); P. Gödicke (Bürgerliches Recht); PD Dr. Hinsch (Dermatologie); Frau PD Dr. Kemkes-Matthes (Innere Medizin); Frau Kreckel (Pharmazie); Prof. Künzel (Gynäkologie); Prof. Lasch (Innere Medizin); Prof. Schachenmayr (Neuropathologie).

Abb. 6 Zustimmungsschreiben der Ethikkommission.

 <b>GERLING</b>		<b>Versicherungsschein Probandenversicherung (AMG)</b>	
<b>ALLGEMEINE VERSICHERUNGS-AG</b>			
Absender: GERLING Industrie-Service GmbH Südwest Theodor-Heuss-Allee 108, 60486 Frankfurt		Es betreut Sie: mildenerger versicherungsmakler KG Allee 11, 32756 Detmold Tel. 05231/700441, Fax 05231/700444	
Versicherung- nehmer/in	Justus-Liebig-Universität Gießen Neurologische Klinik Prof. Dr. med. M. Kaps Am Steg 14  35392 Gießen	<b>Bitte stets vollständig angeben!</b>	
		Versicherungsschein-Nummer 70-005375828-6	<small>Richten Sie bitte alle für uns bestimmten Anzeigen und Mitteilungen unter Angabe der Versicherungsschein-Nr. an die obenstehende betreuende Stelle, sie handelt namens und im Auftrag unserer Gesellschaft.</small>
		Beginn der Versicherung	Ablauf der Versicherung
		01.07.2001, 12 Uhr	31.12.2001, 12 Uhr
		Prämienzahlweise für die Dauer	Nächste Fälligkeit Ausstellungstag 27.06.2001
		Jahresprämie DM	zuzüglich Versicherungssteuer und ggf. Teilzahlungszuschlag <small>ko</small>
<b>Versicherung für klinische Prüfungen von Arzneimitteln mildenerger KG Allee 11 D-32756 Detmold</b>			
<b>Versicherte:</b>			
Personen, bei denen die versicherte klinische Prüfung eines Arzneimittels durchgeführt wird.			
<b>Versicherte Gefahr</b>			
Gesundheitsschädigung von Personen (Versicherte) als Folge der nachfolgend aufgeführten, vom Versicherungsnehmer durchgeführten oder veranlaßten klinischen Prüfung:			
"Multizentrische Untersuchung zur Messung der Hirnperfusion mit dem Ultraschallkontrastverstärker Optison"			
<b>Bedingungen und Vereinbarungen</b>			
PB 1005:03	Besondere Vereinbarungen für die Versicherung einer einzelnen klinischen Prüfung		
PB 570:03	Allgemeine Versicherungsbedingungen für klinische Prüfungen von Arzneimitteln (Probandenversicherung)		
<b>Ersatzleistungen:</b>			
Die Höchstersatzleistung des Versicherers für alle Versicherungsfälle aus der versicherten klinischen Prüfung beträgt:			
DM 20.000.000,00	wenn bis zu 1.000 Personen,		
DM 40.000.000,00	wenn bis zu 3.000 Personen,		
DM 60.000.000,00	wenn mehr als 3.000 Personen an der versicherten klinischen Prüfung teilnehmen		
Die Höchstgrenze für die Leistungen des Versicherers je versicherte Person beträgt DM 1.000.000,00.			
Die Versicherungsleistungen für die einzelnen versicherten Personen ermäßigen sich im entsprechenden Verhältnis, wenn die Summe der einzelnen Versicherungsleistungen den vorstehend aufgeführten Höchstbetrag des Versicherers für alle Versicherungsfälle aus der versicherten klinischen Prüfung überschreiten würde.			

Abb. 7 Versicherungsschein der Probandenversicherung

## **3 Ergebnisse**

### ***3.1 Studienverlauf***

Zu Beginn der Studiendurchführung wurden die 16 Probanden randomisiert in zwei unterschiedliche Gruppen eingeteilt. Diese wurden an zwei unterschiedlichen Tagen untersucht. Innerhalb einer Gruppe zu je 8 Personen, bildeten wir erneut zwei Gruppen zu jeweils vier Probanden. Die Reihenfolge der Untersuchungen wurde nach der Aufteilung entsprechend dem lateinischen Quadrat gestaltet (siehe Kapitel 2.4.1). Die Ultraschalluntersuchung und die Kontrastmittelapplikation wurde immer von der selben Person durchgeführt.

Sowohl die Ultraschalluntersuchung als auch die Kontrastmittelapplikation wurde von den Probanden gut toleriert. Während der Studiendurchführung gab es keine Zwischenfälle. Jeder Proband wurde nach Abschluss der Untersuchungen noch zwei Stunden klinisch beobachtet. Während dieses Beobachtungsintervalls kam es bei keinem der Probanden zu Komplikationen. Zwei der Probanden berichteten am zweiten Tag über leichte Schmerzen in beiden Knien für die Dauer eines Tages, wobei nicht sicher ist, ob diese Beschwerden auf die von uns durchgeführte Kontrastmittelapplikation oder auf die Lagerung während der Untersuchung zurückzuführen waren. Während der Applikation von Optison berichteten drei der Probanden über eine Geschmackssensation, die mit Beendigung der Applikation nicht mehr wahrzunehmen war. Etwa 6 Wochen nach der Kontrastmitteluntersuchung gab keiner der Probanden gesundheitliche Probleme oder andere Auffälligkeiten an.

### ***3.2 Deskriptive Auswertung***

#### *3.2.1 Kontrastmitteleffekt in den einzelnen ROIs*

Vor der Auswertung des Kontrastmitteleffektes, jeweils bezogen auf die verwendete Ultraschallsonde, sollte zunächst bestimmt werden, welche Region in der beschallten Ebene einen guten Kontrastmitteleffekt aufweist. Für die Gewinnung von diagnostischen Informationen, beispielsweise zur Darstellung eines minderperfundierten Infarktareals, sollte vorher bekannt sein, welche beschallte Region des Gehirns eine deutliche und verwertbare Kontrastierung durch die Kontrastmittelapplikation erfährt. Befindet sich ein Infarktareal in einer Region, die durch die Kontrastmittelapplikation keine nennenswerte Kontrastierung erfährt, ist dann auch keine deut-

liche Aussparung in der Perfusion zu erwarten. Zur Evaluation dieses Merkmals sollten die maximal erzielten Werte der einzelnen ROIs, bezogen auf die jeweilige Baseline, miteinander verglichen werden. Da die Maximalwerte ein Gütekriterium für die Stärke des erzielten Kontrastmitteleffektes sind, ist in Regionen mit vergleichsweise niedrigen Maximalwerten eine geringere Kontrastierung zu erwarten. Die folgende Tabelle zeigt die Mittelwerte der Maximalwerte der 6 verschiedenen ROIs, der jeweils vier Kombinationen aus Kontrastmittel und Ultraschallsonde. Die Maxi-

**Tab 4** Mittelwerte der Maximalwerte und die berechneten Standardabweichungen in den jeweils vier Kombinationen aus Kontrastmittel und Ultraschallsonde, jeweils bezogen auf die 6 verschiedenen ROIs. Eine Unterteilung in 3 Gruppen erfolgte durch den Waller-Duncan-Test.

	ROI 1	ROI 2	ROI 3	ROI 4	ROI 5	ROI 6
Levovist/ Sonde S3	22,51/ 27,51	17,63 / 17,27	10,06 / 16,70	24,09 / 23,97	16,69 / 14,54	3,25 / 3,29
Optison/ Sonde S3	29,65/ 16,14	26,63 / 15,49	18,65 / 11,72	49,76 / 28,58	36,62 / 24,14	11,93/ 7,78
Levovist/ Sonde S4	19,45/ 24,98	9,79 / 13,06	4,59 / 8,09	16,15 / 23,53	4,89 / 5,31	1,52 / 2,02
Optison/ Sonde S4	16,76/ 18,99	13,88 / 80,13	6,96 / 3,19	21,66 / 19,80	12,43 / 9,65	3,75 / 2,62
Gesamtwerte	22,09/ 22,36	16,92/ 15,24	10,06/ 12,08	27,91 / 26,95	17,66/ 18,91	5,11 / 6,01
Einteilung nach dem Duncan Test	mäßig	mäßig	gering	deutlich	mäßig	gering

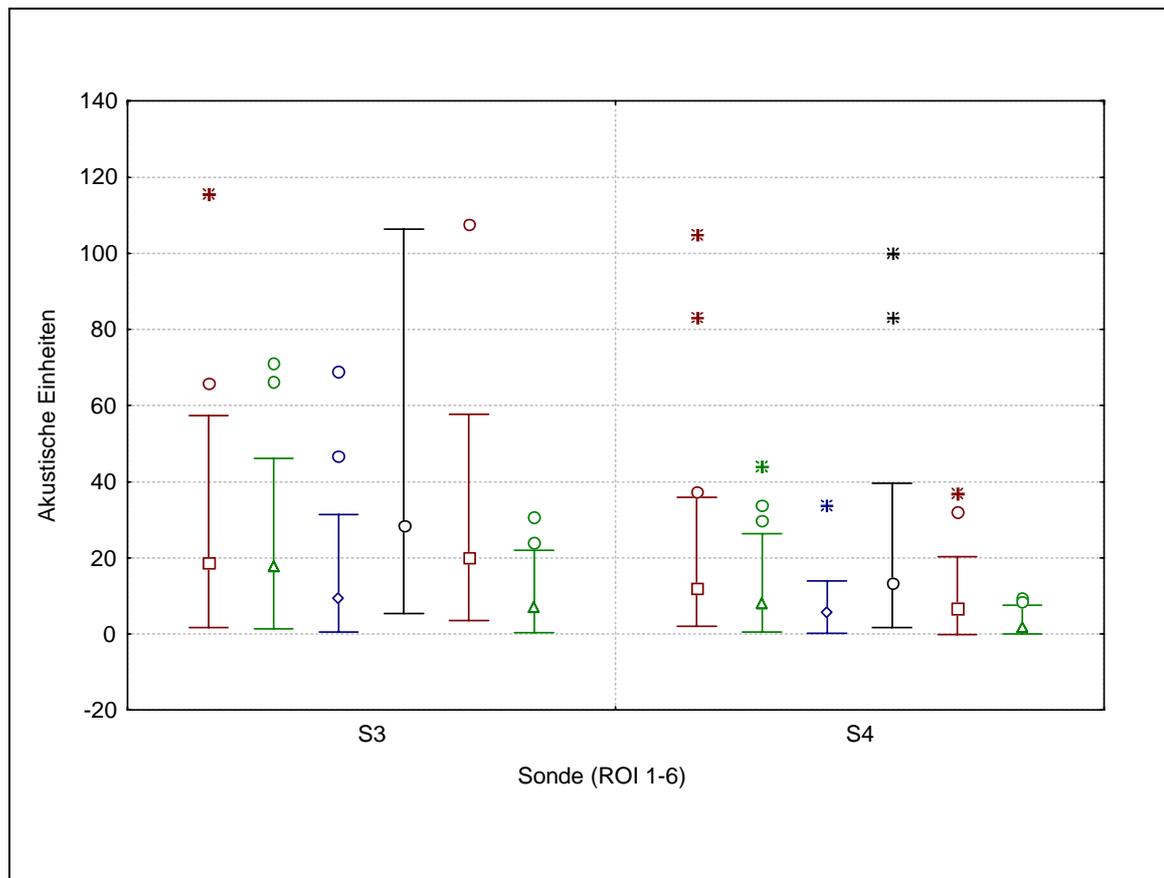
malwerte und die Berechnung von deren Mittelwerten erfolgte entsprechend der Beschreibung in Kapitel 2.4.3. Mit dem Waller-Duncan Test konnten die Kontrastmitteleffekte in 3 Gruppen eingeteilt werden. Diese wurden entsprechend des Durchschnitts des maximalen Anstiegs der akustischen Dichte ermittelt und entsprechend des Effektes in einen deutlichen, einen mäßigen und einen geringen Kontrastmitteleffekt eingeteilt. Hier zeigten sich signifikante Unterschiede für die einzelnen ROIs mit einem optimalen Effekt für ROI 4 und einem geringen Effekt für ROI 3 und 6.

### 3.2.2 Maximalwerte des Kontrastmitteleffektes

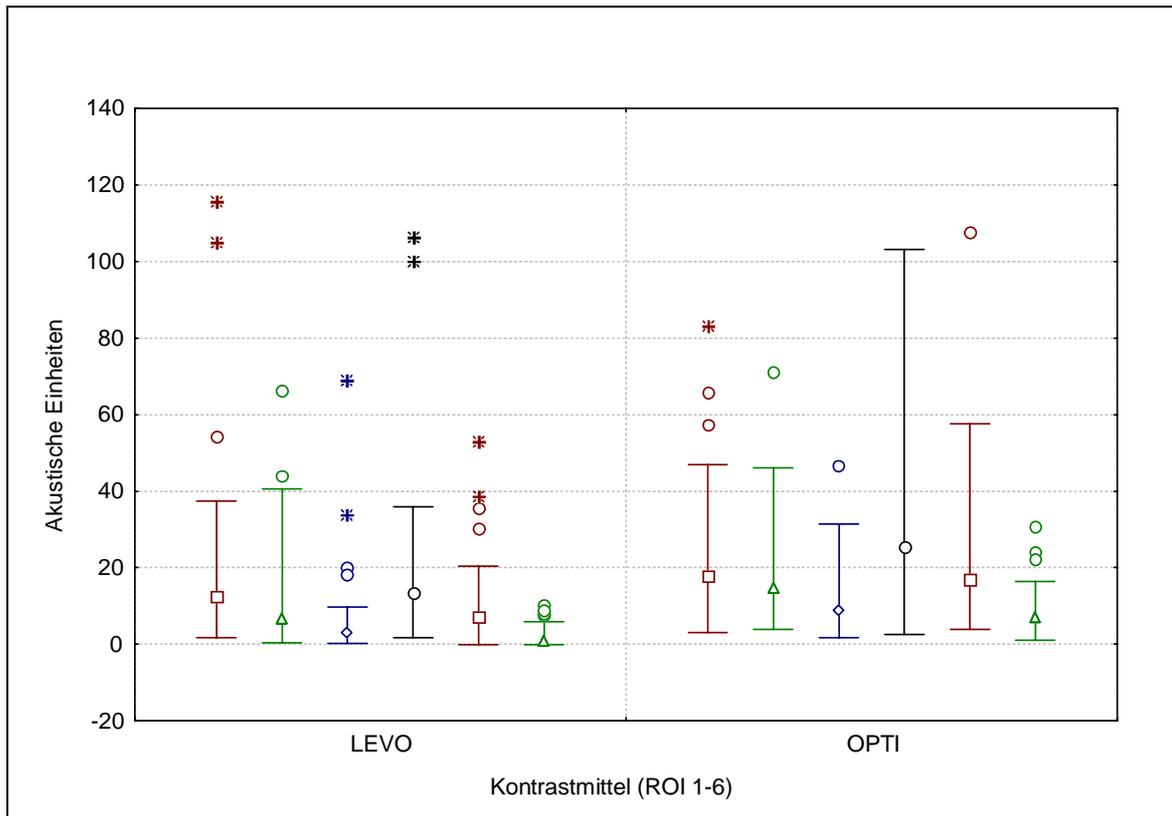
Die in den einzelnen Untersuchungen erzielten Maximalwerte wurden, wie in Kapitel 2.4.3 beschrieben, mit Hilfe der SAS Software ermittelt. Anschließend wurden diese nach der jeweiligen Kontrastmittel-Sonden-Kombination sortiert, und die relevanten Parameter für jede einzelne ROI, sowie Median, 25-Perzentile, 75-Perzentile und die Spannweite bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 und graphisch in der Abbildung 8 und 9 dargestellt.

**Tab 5** Erzielte Maximalwerte. Die erste Zahl in jeder Zelle entspricht dem Medianwert; die darauf folgenden Zahlen in Klammern entsprechen der 25- bzw. der 75-Perzentile; darunter ist die Spannweite dargestellt mit zuerst der 0-Perzentile und dann der 100-Perzentile. Signifikante Differenzen zwischen verschiedenen Sondentypen sind in der jeweils ersten Spalte mit \*) gekennzeichnet; signifikante Differenzen zwischen den verschiedenen Kontrastmitteln sind in der jeweils Levovist®-Spalte mit +) gekennzeichnet.

	Sondentyp			
	S3		S4	
	Levovist®	Optison®	Levovist®	Optison®
ROI 1	15,54(9,65;20,79) 1,72 - 115,56 *) +)	42,62(17,23;3,76) 9,83 - 65,74 *)	12,04(7,18;19,54) 1,96 - 104,73	13,18(6,78;18,70) 3,07 - 83,31
ROI 2	11,77(5,46;25,04) 1,43 - 66,19 *) +)	25,83(15,46;31,6) 8,98 - 70,99 *)	5,03(1,65; 9,10) 0,48 - 43,86 +)	11,16(8,02;14,17) 3,90 - 43,91
ROI 3	4,53(2,14; 8,86) 0,46 - 68,92 *) +)	17,98(9,34;26,66) 4,09 - 46,84 *)	1,87(1,21; 4,32) 0,17 - 33,78 +)	6,38(5,67; 8,61) 1,76 - 13,92
ROI 4	15,69(11,06; 30,1) 5,38 - 106,32 *) +)	42,62(25,3;69,17) 10,75 - 103,10 *)	9,62(5,43; 15,56) 1,69 - 100,15	16,88(8,59;25,52) 2,64 - 83,32
ROI 5	10,50(7,19; 23,73) 3,54 - 52,68 *) +)	35,4(20,08; 45,30) 5,30 - 107,57 *)	3,47(0,94; 7,30) 0,15 - 20,33 +)	10,46(5,56;14,61) 3,83 - 36,94
ROI 6	1,83(0,86; 5,13) 0,39 - 10,41 *) +)	9,65(7,21; 15,00) 1,26 - 30,54 *)	0,75(0,23; 1,88) 0,04 - 7,48 +)	2,76(1,80; 5,43) 1,04 - 9,23



**Abb. 8** Mittels graphischer Darstellung lassen sich die Ergebnisse der erzielten Maximalwerte für jede einzelne ROI nach dem Sondentyp zeigen. Die Untersuchungen mit verschiedenen Sondentypen sind in dieser Darstellung zusammengefasst (n=32 pro Balken). Jeder Balken stellt eine ROI dar; die untere Begrenzung stellt das 1,5-fache des Wertes der 25-Perzentile dar; die obere Begrenzung stellt das 1,5-fache des Wertes der 75-Perzentile dar. Die Markierung in der Mitte des Balkens stellt den Medianwert dar. Die Werte oberhalb des 1,5-fachen Wertes der 75-Perzentile sind als Kreis gekennzeichnet. Die Werte oberhalb des 3-fachen des Wertes der 75-Perzentile sind als Stern gekennzeichnet. Für alle ROIs fanden sich signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) für die akustischen Einheiten nach Kontrastmittelgabe für die verschiedenen Sondentypen, jeweils zugunsten vom S3-Sondentyp.



**Abb. 9** Unter Verwendung der graphischen Darstellung lassen sich die Ergebnisse der erzielten Maximalwerte für jede einzelne ROI nach dem applizierten Kontrastmittel darstellen. Die Untersuchungen mit verschiedenen Kontrastmitteln sind in dieser Darstellung zusammengefasst (n=32 pro Balken). Jeder Balken stellt eine ROI dar; die untere Begrenzung zeigt das 1,5-fache des Wertes der 25-Perzentile; die obere Begrenzung zeigt das 1,5-fache des Wertes der 75-Perzentile. Die Markierung in der Mitte des Balkens stellt den Medianwert dar. Die Werte oberhalb des 1,5-fachen Wertes der 75-Perzentile sind als Kreis gekennzeichnet. Die Werte oberhalb des 3-fachen des Wertes der 75-Perzentile sind als Stern gekennzeichnet. Signifikante Unterschiede für die akustischen Einheiten nach Kontrastmittelgabe für die verschiedenen Sondentypen fanden sich für alle ROI ( $p < 0,05$ ) zugunsten von Optison®.

### 3.2.2.1 Unterschiede zwischen Sondentypen ohne Berücksichtigung des applizierten Kontrastmittels

Um den Einfluss des Sonden-Typs auf die Darstellung der Parenchymperfusion mittels Kontrastmittel zu erfassen, verglichen wir die zwei Sonden-Typen S3 (1,3 MHz / 3,2 MHz) und S4 (1,8 MHz / 3,6 MHz) unabhängig vom verwendeten Kontrastmittel. Wie in Kapitel 2.4.3 beschrieben, verwendeten wir dazu den Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben und verglichen unter Berücksichtigung von Signifikanzen die erzielten Maximalwerte für jede einzelne ROI. Bei einer Nullhypothese, die besagt, dass die erzielten Maximalwerte unabhängig von der Verwendung der S3-Sonde oder der S4-Sonde sind, wählten wir ein Signifikanzniveau mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ . Nach der durchgeführten Auswertung der Daten fanden sich signifikante Unterschiede für alle sechs ROIs. Dieses Ergebnis findet sich in tabellarischer Form in Tabelle 6 wieder.

### 3.2.2.2 Unterschiede zwischen Optison® und Levovist® bei Anwendung der S3-Sonde

Zur Erfassung des Einflusses des applizierten Kontrastmittels bei Anwendung der S3-Sonde auf die Darstellung der Parenchymperfusion, verglichen wir die beiden Kontrastmittel in Verbindung mit der Anwendung der S3-Sonde. Wie in Kapitel 2.4.3 beschrieben, verwendeten wir dazu den Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben und verglichen unter Berücksichtigung von Signifikanzen die erzielten Maximalwerte für jede einzelne ROI. Bei einer Nullhypothese, die besagt, dass bei der Anwendung der S3-Sonde, die erzielten Maximalwerte unabhängig vom applizierten

**Tab. 6** Signifikante Unterschiede der Maximalwerte beim Vergleich der S3- und S4-Sonde, ohne Berücksichtigung des applizierten Kontrastmittels (zweite Spalte) und beim Vergleich der Kontrastmittel jeweils unter Anwendung der S3- und S4-Sonde (dritte und vierte Spalte). Signifikante Unterschiede werden, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ , mit s gekennzeichnet. Nichtsignifikante Unterschiede werden mit n gekennzeichnet. Im Vergleich der Sonden, finden sich signifikant bessere Ergebnisse bei der Anwendung des S3-Sondentyps.. Unter Berücksichtigung der verwendeten Sonde fanden sich im Vergleich der Kontrastmittel signifikante Unterschiede zugunsten von Optison®, jeweils bezogen auf die in der Tabelle angegebenen ROIs.

	Vergleich S3/S4	Vergleich Optison/Levovist unter Verwendung der	
		S3-Sonde	S4-Sonde
ROI 1	s	s	n
ROI 2	s	s	s
ROI 3	s	s	s
ROI 4	s	s	n
ROI 5	s	s	s
ROI 6	s	s	s

Kontrastmittel sind, wählten wir ein Signifikanzniveau mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ . Nach der durchgeführten Auswertung fanden sich signifikante Unterschiede für alle sechs ROIs. Dieses Ergebnis findet sich in tabellarischer Form in Tabelle 6 wieder.

### 3.2.2.3 Unterschiede zwischen Optison® und Levovist® bei Anwendung der S4-Sonde

Um den Einfluss des applizierten Kontrastmittels bei Anwendung der S4-Sonde auf die Darstellung der Parenchymperfusion zu erfassen, verglichen wir die beiden Kontrastmittel in Verbindung mit der Anwendung der S4-Sonde. Wie in Kapitel 2.4.3 beschrieben, verwendeten wir dazu den Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben und verglichen unter Berücksichtigung von Signifikanzen die erzielten Maximalwerte für jede einzelne ROI. Bei einer Nullhypothese, die besagt, dass bei der Anwendung der S4-Sonde, die erzielten Maximalwerte unabhängig vom appli-

zierten Kontrastmittel sind, wählten wir ein Signifikanzniveau mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ . Nach der durchgeführten Auswertung fanden sich signifikante Unterschiede für die ROI zwei, drei, fünf und sechs. Für die übrigen ROIs fanden sich keine signifikanten Unterschiede. Dieses Ergebnis findet sich in tabellarischer Form in Tabelle 6 wieder.

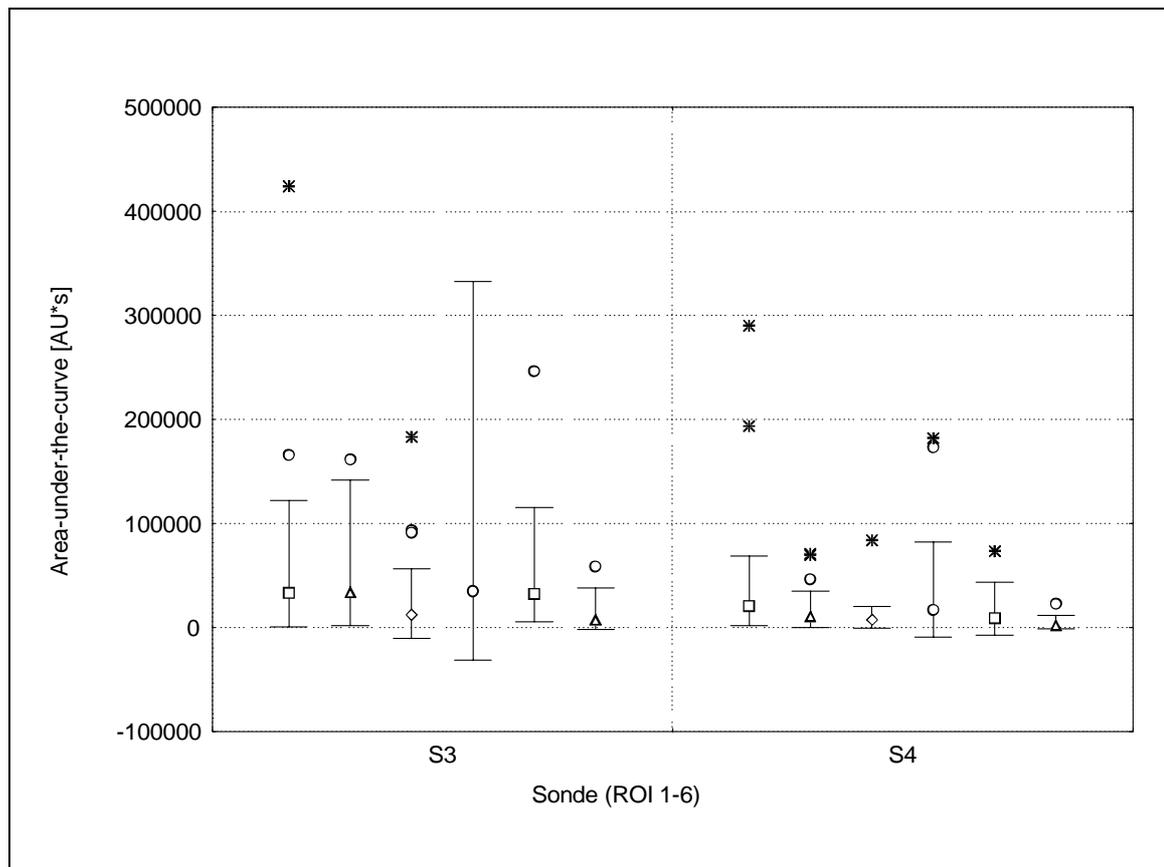
### 3.2.3 AUC (area under the curve) des Kontrastmitteleffektes

Wie in Kapitel 2.4.3 dargestellt wurden die in den einzelnen Untersuchungen erzielten AUC-Werte durch Integration der einzelnen Werte der acoustic Units über die Zeit ermittelt. Anschließend wurden die Werte der jeweiligen Kontrastmittel-

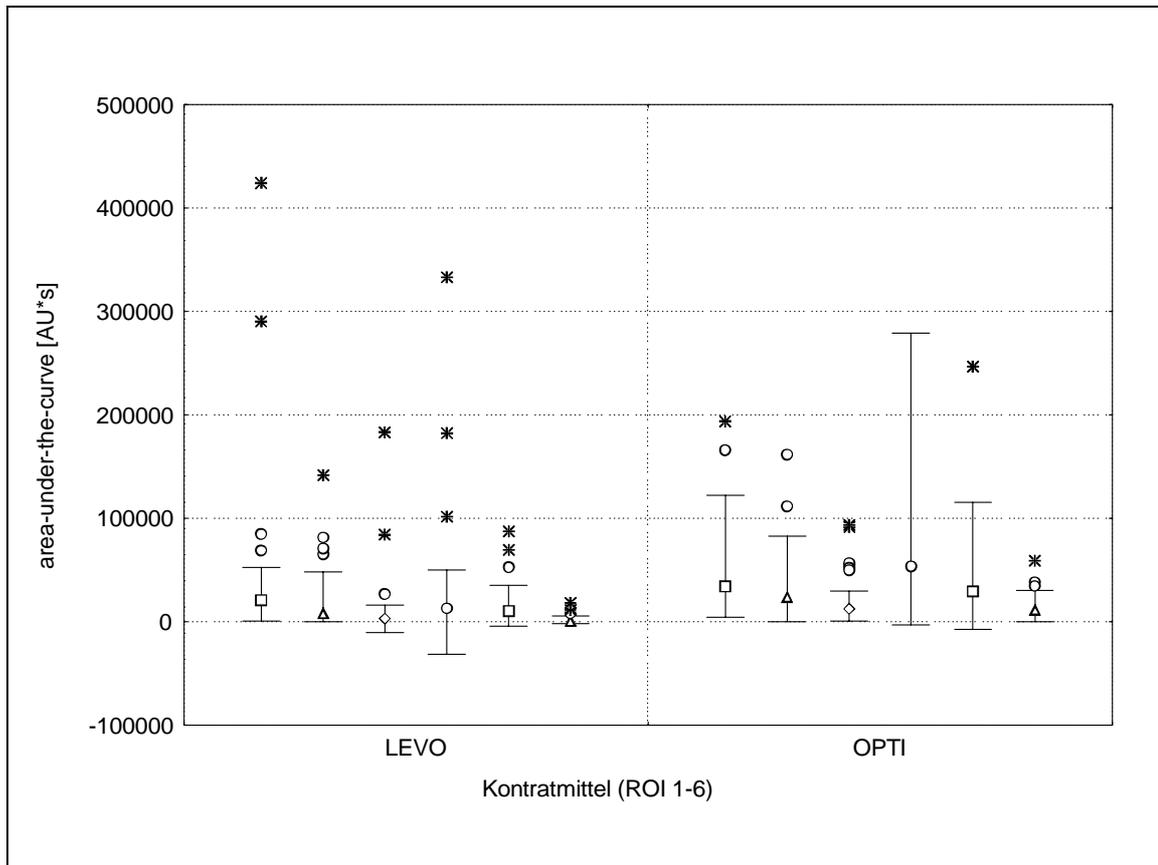
**Tab. 7** Erzielte AUC-Werte ( $10^2$ ). Die erste Zahl in jeder Zelle entspricht dem Medianwert; die darauf folgenden Zahlen in Klammern entsprechen der 25- beziehungsweise der 75-Perzentile; darunter ist die Spannweite dargestellt mit zuerst der 0-Perzentile und dann der 100-Perzentile. Signifikante Differenzen zwischen verschiedenen Sondentypen sind in der jeweils ersten Spalte mit \*) gekennzeichnet; signifikante Differenzen zwischen den verschiedenen Kontrastmitteln sind in der jeweils zu Levovist gehörende Spalte mit +) gekennzeichnet.

	S3		S4	
	Levovist	Optison	Levovist	Optison
ROI 1	499,05 (134,96; 354,82) 7,41-4242,36 *) +)	649,18(302,87; 896,11) 175,66-1658,02 *)	379,44 (71,66; 299,63) 17,24-2904,36	331,84 (83,14; 351,36) 43,90-1936,62
ROI 2	302,04 (57,04; 41875) 18,46-1416,95 *) +)	561,34 (306,16; 719,05) 53,49-1615,17 *)	135,57 (32,21; 115,52) -2,35-710,51 +)	18183 (101,82; 194,22) 1,50-698,74
ROI 3	165,74 (2,30; 115,09) -102,69-1830,25 +)*)	342,40(123,39; 534,19) 6,85-936,14 *)	83,96 (8,25; 77,71) -6,76-839,72 +)	99,55 (73,04; 133,22) 18,56- 200,29
ROI 4	384,52 (40,19; 333,54) -313,92 -3327,83 +)*)	1308,40(485,26; 2088,29) 93,35-2792,00 *)	234,50 (46,79; 192,31) -94,33-1822,26 +)	428,91(127,98; 532,53) -29,55-1732,92
ROI 5	251,30 (94,57; 312,24) 59,86- 870,90 *) +)	774,13(361,04; 1044,23) 56,76-2462,63 *)	50,96 (-14,60; 108,25) -45,89-261,65 +)	200,14 (81,72; 259,30) -72,42-737,48
ROI 6	33,46 (3,20; 48,19) -20,65-182,84 *) +)	204,30(134,89; 285,92) 0,05-584,80 *)	13,29 (-5,01; 21,39) -13,95-114,18 +)	70,62 (35,14; 106,49) 7,65-229,93

Sonden-Kombination geordnet, und es wurden für jede einzelne ROI die relevanten Parameter, wie Median, 24-, 75-Perzentile und Spannweite, bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 und graphisch in der Abbildung 10 und 11 dargestellt.



**Abb. 10** Mittels graphischer Darstellung lassen sich die Ergebnisse der erzielten AUC-Werte für jede einzelne ROI nach dem verwendeten Sondentyp darstellen. Die Untersuchungen mit den verschiedenen Sondentypen sind in dieser Darstellung zusammengefasst (n=32 pro Balken). Jeder Balken stellt eine ROI dar; die untere Begrenzung stellt das 1,5-fache des Wertes der 25-Perzentile dar; die obere Begrenzung stellt das 1,5-fache des Wertes der 75-Perzentile. Die Markierung in der Mitte des Balkens stellt den Medianwert dar. Die Werte oberhalb des 1,5-fachen Wertes der 75-Perzentile sind als Kreis gekennzeichnet. Die Werte oberhalb des 3-fachen des Wertes der 75-Perzentile sind als Stern gekennzeichnet. Die Werte, die sich im negativen Bereich befinden, sind durch schwachen Kontrastmitteleffekt zu erklären, die Auswaschkurve pendelt um den Wert der Baseline, so dass insgesamt gerechnet ein negativer Wert erzielt werden kann. Signifikante Unterschiede fanden sich für alle ROIs ( $p < 0,05$ ), zugunsten vom S3-Sondentyp.



**Abb. 11** Mittels graphischer Darstellung lassen sich die Ergebnisse der erzielten AUC-Werte für jede einzelne ROI nach dem applizierten Kontrastmittel darstellen. Die Untersuchungen mit den verschiedenen Kontrastmitteln sind in dieser Darstellung zusammengefasst (n=32 pro Balken). Jeder Balken stellt eine ROI dar; die untere Begrenzung stellt das 1,5-fache des Wertes der 25-Perzentile dar; die obere Begrenzung stellt das 1,5-fache des Wertes der 75-Perzentile dar. Die Markierung in der Mitte des Balkens stellt den Medianwert dar. Die Werte oberhalb des 1,5-fachen Wertes der 75-Perzentile sind als Kreis gekennzeichnet. Die Werte oberhalb des 3-fachen des Wertes der 75-Perzentile sind als Stern gekennzeichnet. Die Werte, die sich im negativen Bereich befinden, sind durch einen schwachen Kontrastmitteleffekt zu erklären, die Auswaschkurve pendelt um den Wert der Baseline, so dass insgesamt betrachtet ein negativer Wert erzielt werden kann. Für alle ROIs wurden signifikante Unterschiede zugunsten von Optison® festgestellt.

### 3.2.3.1 Unterschiede zwischen Sondentypen ohne Berücksichtigung des applizierten Kontrastmittels

Um den Einfluss der Sonden-Typs auf die Darstellung der Parenchymperfusion mittels Kontrastmittel zu erfassen, verglichen wir die zwei Sonden-Typen S3 (1,3 MHz / 3,2 MHz) und S4 (1,8 MHz / 3,6 MHz) unabhängig vom verwendeten Kontrastmittel. Wie in Kapitel 2.4.3 beschrieben, verwendeten wir dazu den Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben, und verglichen unter Berücksichtigung von Signifikanzen die erzielten AUC-Werte für jede einzelne ROI. Bei einer Nullhypothese, die besagt, dass die erzielten AUC-Werte unabhängig von der Verwendung der S3-Sonde oder der S4-Sonde sind, wählten wir ein Signifikanzniveau mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ . Nach der durchgeführten Auswertung fanden sich signifikante Unterschiede für alle sechs ROIs. Dieses Ergebnis findet sich in tabellarischer Form in Tabelle 8 wieder.

### 3.2.3.2 Unterschiede zwischen Optison® und Levovist® bei Anwendung der S3-Sonde

Zur Erfassung des applizierten Kontrastmittels bei Anwendung der S3-Sonde auf die Darstellung der Parenchymperfusion zu erfassen, verglichen wir die zwei Kontrastmittel in Verbindung mit der Anwendung der S3-Sonde. Wie in Kapitel 2.4.3 beschrieben, verwendeten wir dazu den Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben und verglichen unter Berücksichtigung von signifikanten Unterschieden die erzielten AUC-Werte für jede einzelne ROI. Bei einer Nullhypothese, die besagt, dass bei der Anwendung der S3-Sonde, die erzielten AUC-Werte unabhängig vom applizierten Kontrastmittel sind, wählten wir ein Signifikanzniveau mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ . Nach Auswertung der Daten fanden sich signifikante Unterschiede für alle sechs ROIs. Dieses Ergebnis findet sich in tabellarischer Form in Tabelle 8 wieder.

**Tab. 8** Signifikante Unterschiede der AUC-Werte beim Vergleich der S3- und S4-Sonde, ohne Berücksichtigung des applizierten Kontrastmittels (zweite Spalte) und beim Vergleich der Kontrastmittel jeweils unter Anwendung der S3- und S4-Sonde (dritte und vierte Spalte). Signifikante Unterschiede werden, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ , mit s gekennzeichnet. Nichtsignifikante Unterschiede werden mit n gekennzeichnet. Im Vergleich der Sonden, finden sich signifikant bessere Ergebnisse bei der Anwendung des S3-Sondentyps. Unter Berücksichtigung der verwendeten Sonde fanden sich im Vergleich der Kontrastmittel signifikante Unterschiede zugunsten von Optison®, jeweils bezogen auf die in der Tabelle angegebenen ROIs

	Vergleich S3/S4	Vergleich Optison/Levovist unter Verwendung der	
		S3-Sonde	S4-Sonde
ROI 1	s	s	n
ROI 2	s	s	s
ROI 3	s	s	s
ROI 4	s	s	s
ROI 5	s	s	s
ROI 6	s	s	s

### 3.2.3.3 Unterschiede zwischen Optison® und Levovist® bei Anwendung der S4-Sonde

Zur Erfassung des applizierten Kontrastmittels bei Anwendung der S4-Sonde auf die Darstellung der Parenchymperfusion, verglichen wir die zwei Kontrastmittel in Verbindung mit der Anwendung der S4-Sonde. Wie in Kapitel 2.4.3 beschrieben, verwendeten wir dazu den Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben und verglichen unter Berücksichtigung von Signifikanzen die erzielten AUC-Werte für jede einzelne ROI. Bei einer Nullhypothese, die besagt, dass bei der Anwendung der S4-Sonde, die erzielten AUC-Werte unabhängig vom applizierten Kontrastmittel sind, wählten

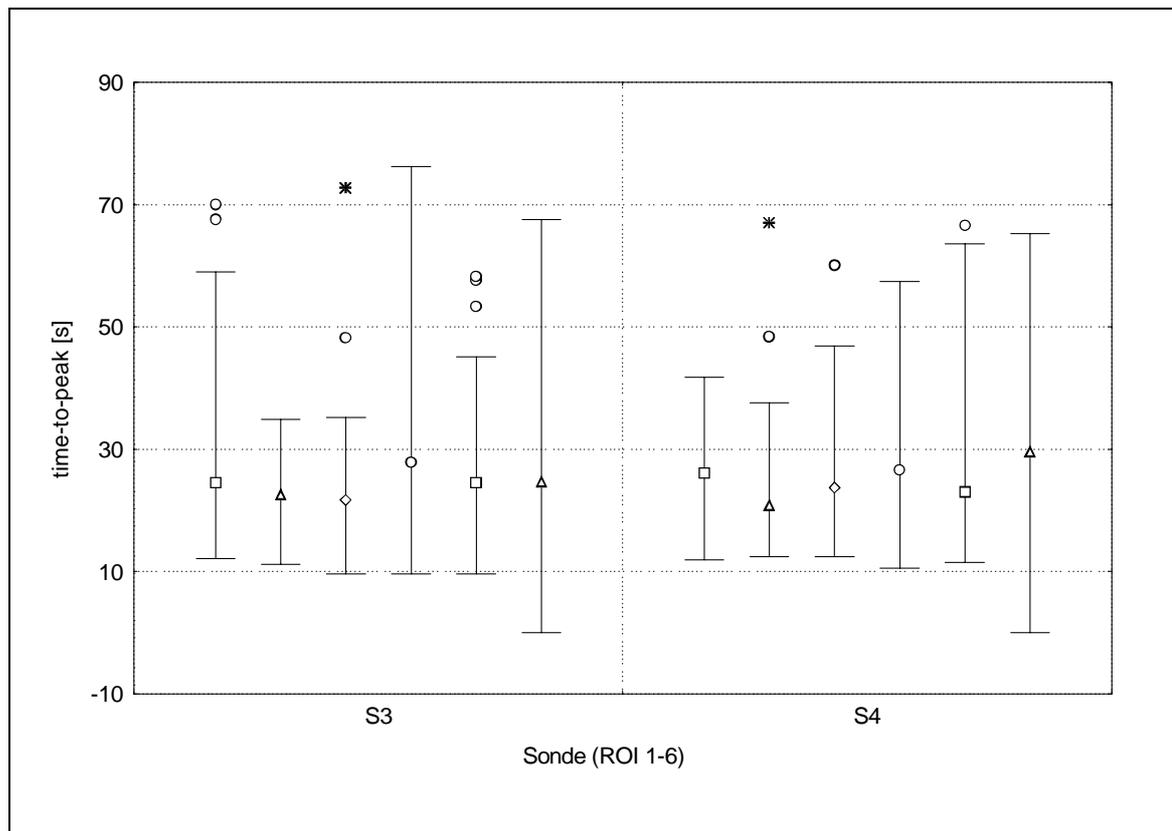
wir ein Signifikanzniveau mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ . Es fanden sich signifikante Unterschiede für die ROI 2, 3, 4, 5 und 6. Für ROI eins fanden sich keine signifikanten Unterschiede. Dieses Ergebnis findet sich in tabellarischer Form in Tabelle 8 wieder.

### 3.2.4 Time-to-peak-Werte (TTP)

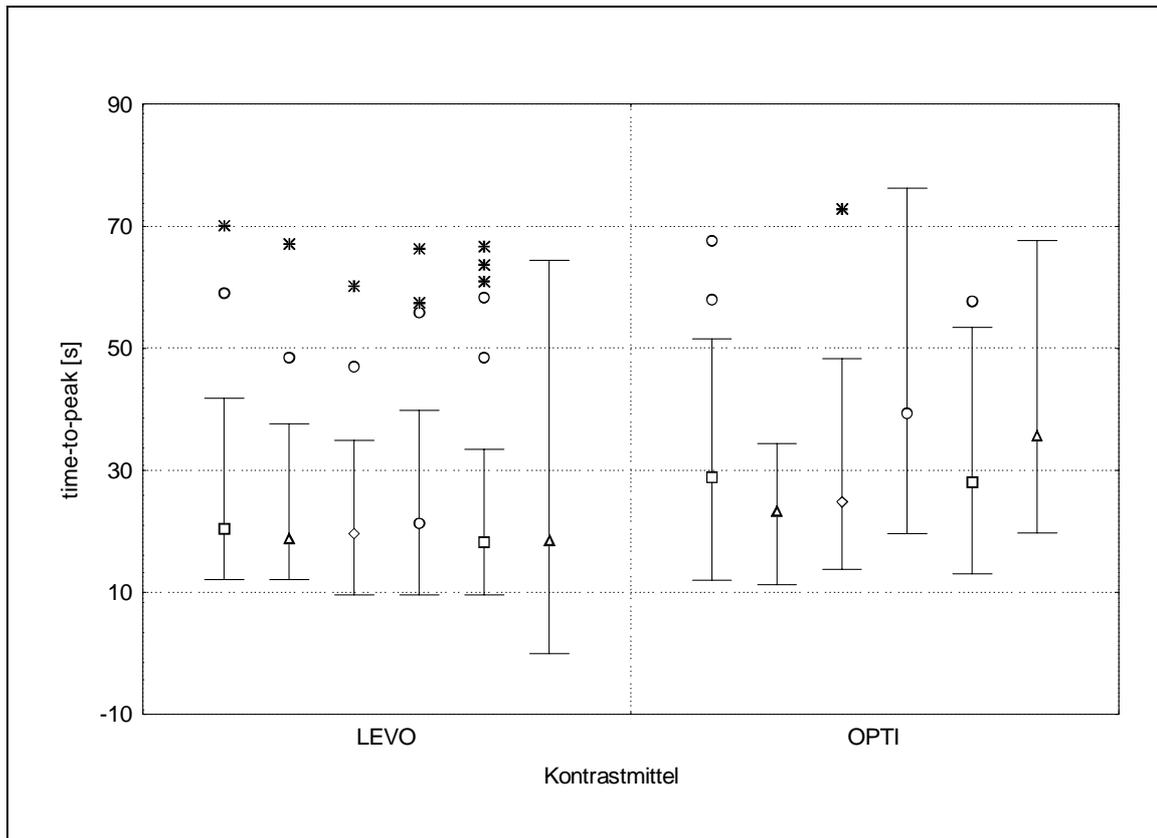
Die in den einzelnen Untersuchungen erzielten TTP-Werte (Zeit zwischen Kontrastmittelapplikation und Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffekts) wurden, wie in Kapitel 2.4.3 beschrieben, mit Hilfe der SAS Software ermittelt. Anschließend wurden diese sortiert nach der jeweiligen Kontrastmittel-Sonden-Kombination, und die relevanten Parameter für jede einzelne ROI bestimmt, wie Median, 24-, 75-Perzentile und Spannweite. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 und graphisch in der Abbildung 12 und 13 dargestellt.

**Tab. 9** Erzielte TTP-Werte (Zeit zwischen Kontrastmittelapplikation und Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffekts). Die erste Zahl in jeder Zelle entspricht dem Medianwert; die darauffolgenden Zahlen in Klammern entsprechen der 25- beziehungsweise der 75-Perzentile; darunter ist die Spannweite mit zuerst der 0-Perzentile und dann der 100-Perzentile dargestellt. Signifikante Differenzen zwischen verschiedenen Sondentypen sind in der jeweils ersten Spalte mit \*) gekennzeichnet; signifikante Differenzen zwischen den verschiedenen Kontrastmitteln sind in der jeweils Levovist®-Spalte mit +) gekennzeichnet.

	S3		S4	
	Levovist	Optison	Levovist	Optison
ROI 1	26,04(14,91; 30,40) 12,11 – 70,05	32,69 (20,48; 37,89) 17,76 – 17,76	22,36 (16,14; 27,46) 13 – 41,78 +)	28,03(23,33; 3,35) 11,96 – 39,10
ROI 2	20,29(13,80; 26,02) 12,11 – 34,88	23,93 (21,40; 28,03) 11,21 – 33,01	24,81 (14,88; 25,92) 12,44 – 67,06	21,87(16,49; 26,56) 13,05 – 34,42
ROI 3	18,1 (13,80; 20,80) 9,61 – 34,88 +)	29,83 (22,53; 32,78) 16,98 – 72,78	25,76 (16,16; 28,72) 12,44 – 60,09	24,06 (17,03; 29,98) 13,76 – 38,14
ROI 4	23,15(13,76; 24,83) 9,61 – 66,25 +)	46,25 (32,18; 57,79) 19,72 – 76,25	24,08 (1,45; 24,87) 10,57 – 57,43 +)	36,18 (30,57; 41,27) 19,64 – 57,39
ROI 5	20,36(14,91; 23,32) 9,61 – 58,32 +)	32,81(24,50; 39,08) 19,72 – 57,69	28,00 (13,71; 40,93) 11,50 – 66,61 +)	27,31 (27,31; 35,00) 13,05 – 43,38
ROI 6	22,94(15,23; 24,12) 0 – 62,21 +)	37,86(26,41; 47,45) 19,72 – 67,64	25,29 (12,72; 38,64) 0 – 64,40	36,45 ( 3,91; 43,21) 21,03 – 65,34



**Abb. 12** Mittels graphischer Darstellung lassen sich die Ergebnisse der erzielten TTP-Werte (Zeit zwischen Kontrastmittelanwendung und Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffekts) für jede einzelne ROI nach dem verwendeten Sondentyp darstellen. Die Untersuchungen mit verschiedenen Sondentypen sind in dieser Darstellung zusammengefasst ( $n=32$  pro Balken). Jeder Balken stellt eine ROI dar; die untere Begrenzung stellt das 1,5-fache des Wertes der 25-Perzentile dar; die obere Begrenzung stellt das 1,5-fache des Wertes der 75-Perzentile. Die Markierung in der Mitte des Balkens stellt den Medianwert dar. Die Werte oberhalb des 1,5-fachen Wertes der 75-Perzentile sind als Kreis gekennzeichnet. Die Werte oberhalb des 3-fachen des Wertes der 75-Perzentile sind als Stern gekennzeichnet. Die Werte, die sich im negativen Bereich befinden, sind durch einen schwachen Kontrastmitteleffekt zu erklären, die Auswaschkurve pendelt um den Wert der Baseline, so dass in diesem Fall der maximale Wert bereits während der Baseline erzielt wurde. Es wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Für die Anflutungszeit spielt die Wahl der Sonde keine Rolle.



**Abb. 13** Mittels graphischer Darstellung lassen sich die Ergebnisse der erzielten TTP-Werte (Zeit zwischen Kontrastmittelapplikation und Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffekts) für jede einzelne ROI nach dem applizierten Kontrastmittel darstellen. Die Untersuchungen mit verschiedenen Kontrastmitteln sind in dieser Darstellung zusammengefasst (n=32 pro Balken). Jeder Balken stellt eine ROI dar; die untere Begrenzung stellt das 1,5-fache des Wertes der 25-Perzentile dar; die obere Begrenzung stellt das 1,5-fache des Wertes der 75-Perzentile dar. Die Markierung in der Mitte des Balkens stellt den Medianwert dar. Die Werte oberhalb des 1,5-fachen Wertes der 75-Perzentile sind als Kreis gekennzeichnet. Die Werte oberhalb des 3-fachen des Wertes der 75-Perzentile sind als Stern gekennzeichnet. Die Werte, die sich im negativen Bereich befinden, sind durch einen schwachen Kontrastmitteleffekt zu erklären, die Auswaschkurve pendelt um den Wert der Baseline, so dass in diesem Fall der maximale Wert bereits während der Baseline erzielt wurde. Außer für ROI 2 wurden signifikante Unterschiede erzielt. Das Levovist® flutet in allen anderen ROIs signifikant rascher als Optison® an.

#### 3.2.4.1 Unterschiede zwischen Sondentypen ohne Berücksichtigung des applizierten Kontrastmittels

Um den Einfluss des Sonden-Typs auf die Zeit zwischen Kontrastmittelapplikation und Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffekts zu erfassen, verglichen wir die zwei Sonden-Typen S3(1,3 MHz / 3,2 MHz) und S4(1,8 MHz / 3,6 MHz) unabhängig vom verwendeten Kontrastmittel. Wie in Kapitel 2.4.3 beschrieben, verwendeten wir dazu den Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben, und verglichen unter Berücksichtigung von Signifikanzen die erzielten TTP-Werte (Zeit zwischen Kontrastmittelapplikation und Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffekts) für jede einzelne ROI. Bei einer Nullhypothese, die besagt, dass die erzielten TTP-Werte unabhängig von der Verwendung der S3-Sonde oder der S4-Sonde sind, wählten wir ein Signifikanzniveau mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ . Nach der

durchgeführten Auswertung fanden sich keine signifikanten Unterschiede für alle sechs ROIs. Dieses Ergebnis findet sich in tabellarischer Form in Tabelle 10 wieder.

#### 3.2.4.2 Unterschiede zwischen Optison® und Levovist® bei Anwendung der S3-Sonde

Um den Einfluss des applizierten Kontrastmittels bei Anwendung der S3-Sonde auf die Zeit zwischen Kontrastmittelapplikation und Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffekts zu erfassen, verglichen wir die zwei Kontrastmittel in Verbindung mit der Anwendung der S3-Sonde. Wie in Kapitel 2.4.3 beschrieben, verwendeten wir dazu den Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben und verglichen unter Berücksichtigung von Signifikanzen die erzielten TTP-Werte (Zeit zwischen Kontrastmittelapplikation und Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffekts) für jede einzelne ROI. Bei einer Nullhypothese, die besagt, dass bei der Anwendung der S3-Sonde, die erzielten TTP-Werte unabhängig vom applizierten Kontrastmittel sind, wählten wir ein Signifikanzniveau mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ . Nach Auswertung der Daten fanden sich signifikante Unterschiede für die ROI 3, 4, 5 und 6. Für ROI 1 und 2 fanden sich keine signifikanten Unterschiede. Dieses Ergebnis findet sich in tabellarischer Form in Tabelle 10 wieder.

**Tab. 10** Signifikante Unterschiede der TTP-Werte (Zeit zwischen Kontrastmittelapplikation und Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffekts) beim Vergleich der S3- und S4-Sonde, ohne Berücksichtigung des applizierten Kontrastmittels (zweite Spalte) und beim Vergleich der Kontrastmittel jeweils unter Anwendung der S3- und S4-Sonde (dritte und vierte Spalte). Signifikante Unterschiede werden, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ , mit s gekennzeichnet. Nicht signifikante Unterschiede werden mit n gekennzeichnet. Für die Anflutungszeit spielt die Wahl der Sonde offensichtlich keine Rolle; wir fanden keine signifikanten Unterschiede. Vergleicht man den Effekt der beiden Kontrastmittel miteinander finden sich für die unten genannten ROIs signifikant bessere Ergebnisse für Optison®. Das Optison® bracht eine längere Anflutungszeit

	Vergleich S3/S4	Vergleich Optison/Levovist unter Verwendung:	
		S3-Sonde	S4-Sonde
ROI 1	n	n	s
ROI 2	n	n	n
ROI 3	n	s	n
ROI 4	n	s	s
ROI 5	n	s	n
ROI 6	n	s	s

#### 3.2.4.3 Unterschiede zwischen Optison® und Levovist® bei Anwendung der S4-Sonde

Um den Einfluss des applizierten Kontrastmittels bei Anwendung der S4-Sonde auf die Zeit zwischen Kontrastmittelapplikation und Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffekts zu erfassen, verglichen wir die zwei Kontrastmittel in Verbin-

dung mit der Anwendung der S4-Sonde. Wie in Kapitel 2.4.3 verwendeten wir dazu den Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben und verglichen unter Berücksichtigung von Signifikanzen die erzielten TTP-Werte (Zeit zwischen Kontrastmittelapplikation und Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffekts) für jede einzelne ROI. Bei einer Nullhypothese, die besagt, dass bei der Anwendung der S4-Sonde, die erzielten TTP-Werte unabhängig vom applizierten Kontrastmittel sind, wählten wir ein Signifikanzniveau mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ . Nach der durchgeführten Auswertung fanden sich signifikante Unterschiede für die ROI 1, 4 und 6. Für ROI 2, 3 und 5 fanden sich keine signifikanten Unterschiede. Dieses Ergebnis findet sich in tabellarischer Form in Tabelle 10 wieder.

### 3.3 Varianzanalyse

Mittels Varianzanalyse bestimmten wir den Anteil der erklärten Varianz der Maximalwerte, AUC-Werte und der Time-to-Peak-Werte durch verschiedene Einflussgrößen (Proband, Kontrastmittel, Sonde). Wir bestimmten den Anteil der erklärten Varianz für jede einzelne ROI. Die Ergebnisse der Varianzanalyse sind tabellarisch und graphisch dargestellt (siehe Tabelle 11-13 und Abbildung 14-19).

**Tab. 11** Anteil der erklärten Varianz der Maximalwerte in Prozent für jede einzelne ROI. In der zweiten Spalte ist der Anteil der erklärten Varianz der erzielten Maximalwerte bedingt durch die Sonde; in der dritten Spalte bedingt durch das Kontrastmittel; in der vierten Spalte bedingt durch den Probanden dargestellt. In der letzten Spalte ist der nicht erklärbare Anteil der Varianz abgebildet.

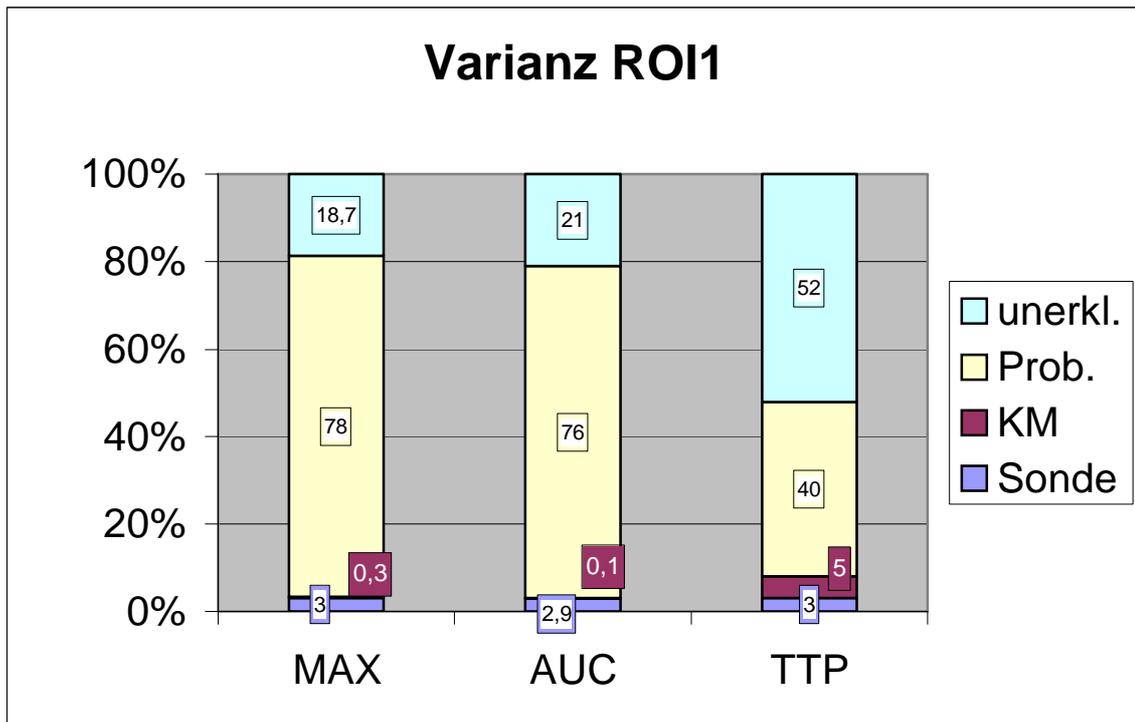
	Sonde	Kontrastmittel	Proband	unerklärt
ROI 1	3	0,3	78	18,7
ROI 2	11	5	58	26
ROI 3	5	13	41	41
ROI 4	11	9	60	20
ROI 5	23	13	32	32
ROI 6	17	21	25	37

**Tab. 12** Anteil der erklärten Varianz der AUC-Werte (area under the curve) in Prozent für jede einzelne ROI. In der zweiten Spalte ist der Anteil der erklärten Varianz der erzielten AUC-Werte bedingt durch die Sonde; in der dritten Spalte bedingt durch das Kontrastmittel; in der vierten Spalte bedingt durch den Probanden dargestellt. In der letzten Spalte ist der nicht erklärbare Anteil der Varianz abgebildet.

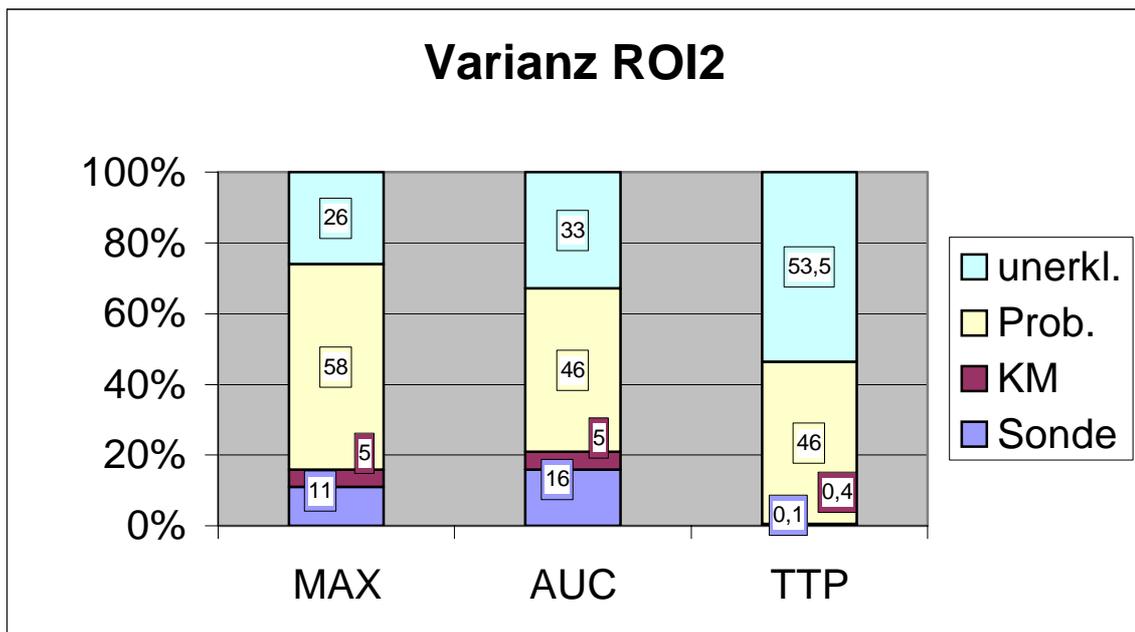
	Sonde	Kontrastmittel	Proband	unerklärt
ROI 1	2,9	0,1	76	21
ROI 2	16	5	46	33
ROI 3	7	3	43	47
ROI 4	11	13	48	28
ROI 5	22	16	25	37
ROI 6	12	27	20	41

**Tab. 13** Anteil der erklärten Varianz der time-to-peak-Werte (Zeit zwischen Kontrastmittelapplikation und Erreichen des maximalen Kontrastmitteleffekts) in Prozent für jede einzelne ROI. In der zweiten Spalte ist der Anteil der erklärten Varianz der erzielten time-to-peak-Werte bedingt durch die Sonde; in der dritten Spalte bedingt durch das Kontrastmittel; in der vierten Spalte bedingt durch den Probanden dargestellt. In der letzten Spalte ist der nicht erklärbare Anteil der Varianz abgebildet.

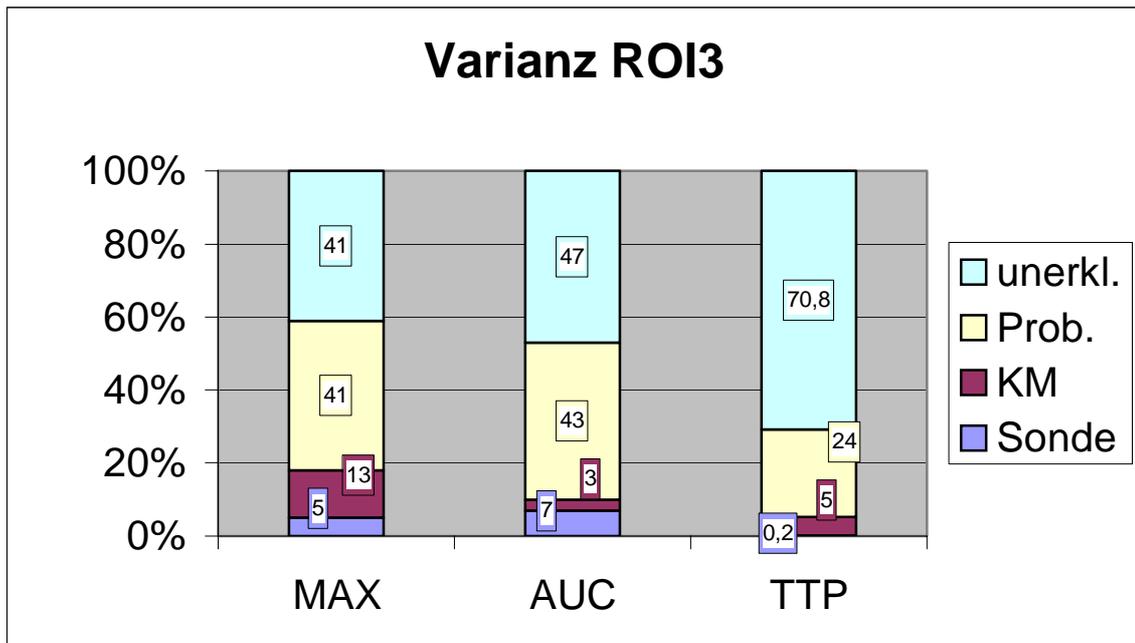
	Sonde	Kontrastmittel	Proband	unerklärt
ROI 1	3	5	40	52
ROI 2	0,1	0,4	46	53,5
ROI 3	0,2	5	24	70,8
ROI 4	3	28	30	39
ROI 5	0,2	4,8	28	67
ROI 6	0,1	15,9	31	53



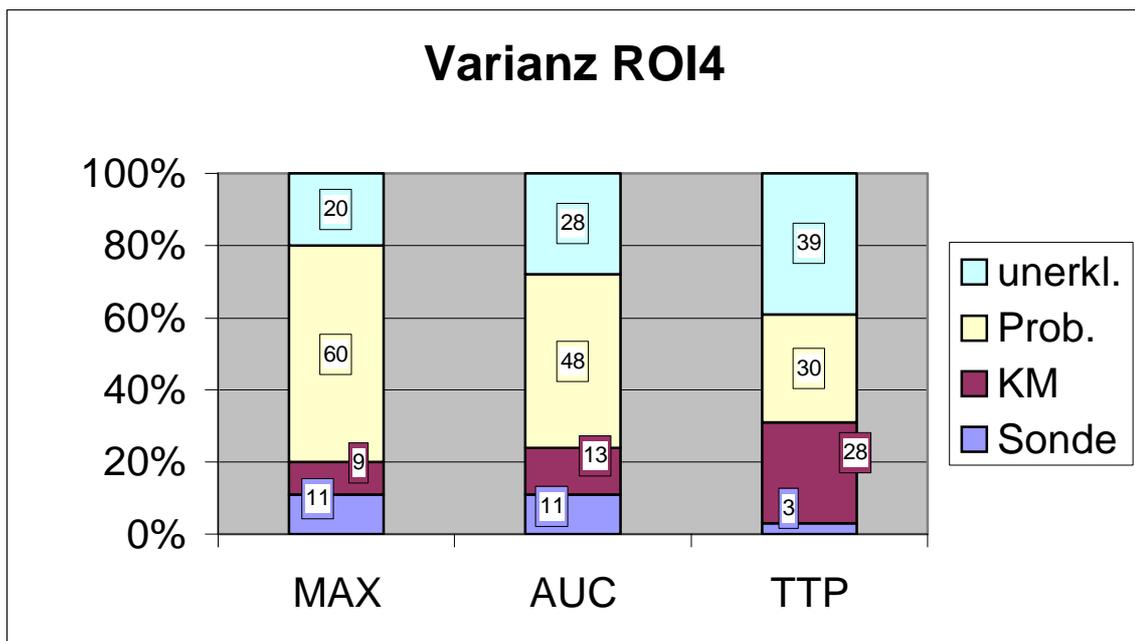
**Abb. 14** Graphische Darstellung der Anteile der erklärten Varianz durch das varianzanalytische Modell der ROI 1 in Prozent. Abkürzungen: MAX für Maximalwerte; AUC für area-under-the-curve-Werte; TTP für time-to-peak-Werte; KM für Kontrastmittel; Prob. für Proband; unerkl. = unerklärter Anteil an der Varianz von ROI 1.



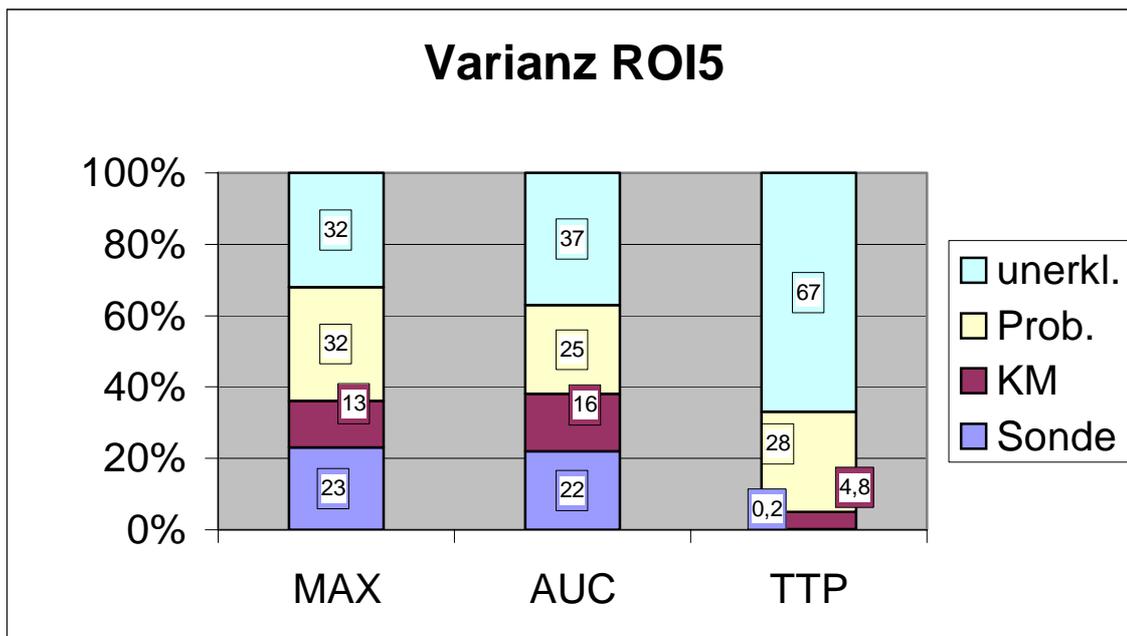
**Abb. 15** Graphische Darstellung der Anteile der erklärten Varianz durch das varianzanalytische Modell der ROI 2 in Prozent. Abkürzungen: MAX für Maximalwerte; AUC für area-under-the-curve-Werte; TTP für time-to-peak-Werte; KM für Kontrastmittel; Prob. für Proband; unerkl. = unerklärter Anteil an der Varianz von ROI 2.



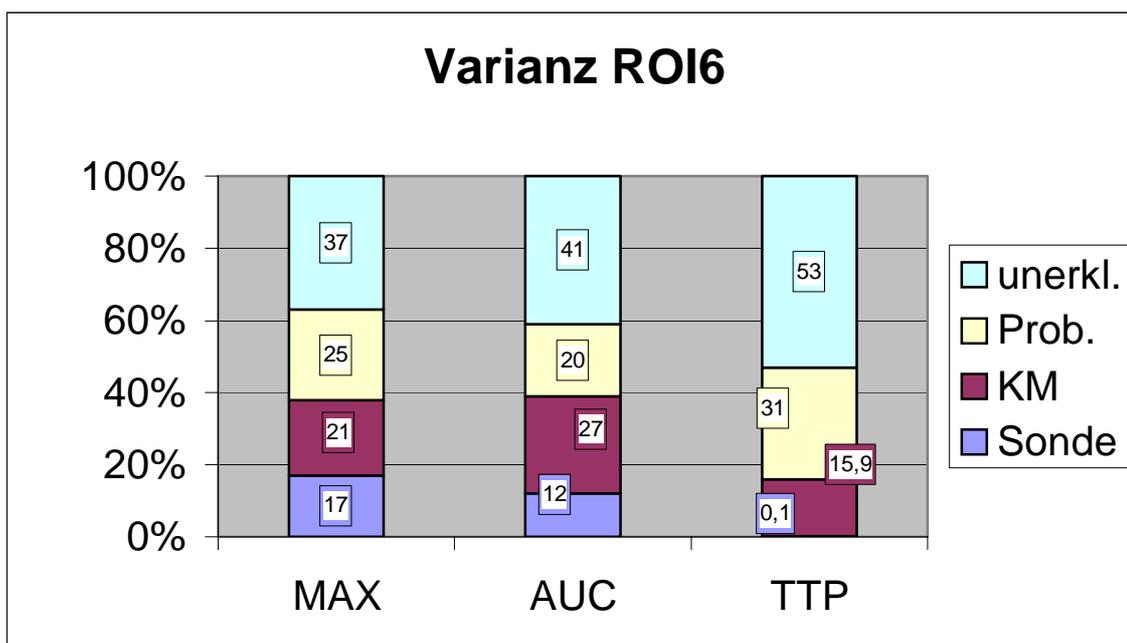
**Abb. 16** Graphische Darstellung der Anteile der erklärten Varianz durch das varianzanalytische Modell der ROI 3 in Prozent. Abkürzungen: MAX für Maximalwerte; AUC für area-under-the-curve-Werte; TTP für time-to-peak-Werte; KM für Kontrastmittel; Prob. für Proband; unerkl. = unerklärter Anteil an der Varianz von ROI 3.



**Abb. 17** Graphische Darstellung der Anteile der erklärten Varianz durch das varianzanalytische Modell der ROI 4 in Prozent. Abkürzungen: MAX für Maximalwerte; AUC für area-under-the-curve-Werte; TTP für time-to-peak-Werte; KM für Kontrastmittel; Prob. für Proband; unerkl. = unerklärter Anteil an der Varianz von ROI 4.



**Abb. 18** Graphische Darstellung der Anteile der erklärten Varianz durch das varianzanalytische Modell der ROI 5 in Prozent. Abkürzungen: MAX für Maximalwerte; AUC für area-under-the-curve-Werte; TTP für time-to-peak-Werte; KM für Kontrastmittel; Prob. für Proband; unerkl. = unerklärter Anteil an der Varianz von ROI 5.



**Abb. 19** Graphische Darstellung der Anteile der erklärten Varianz durch das varianzanalytische Modell der ROI 6 in Prozent. Abkürzungen: MAX für Maximalwerte; AUC für area-under-the-curve-Werte; TTP für time-to-peak-Werte; KM für Kontrastmittel; Prob. für Proband; unerkl. = unerklärter Anteil an der Varianz von ROI 6.

## **4 Diskussion**

### ***4.1 Vergleich des Kontrastmitteleffektes in den einzelnen ROIs***

Dem Vergleich von Kontrastmittel und Ultraschallsonden ging ein Vergleich der Kontrastierung und des Anflutungsverhaltens in den ROIs voraus. Das Merkmal für die Stärke des Kontrastmitteleffektes sind die jeweils erzielten Maximalwerte. Wurde für eine ROI ein vergleichsweise hoher Maximalwert erreicht, ist in dieser Region eine gute Kontrastierung des Gewebes durch Applikation eines Kontrastmittels zu erwarten. Diese Information ist von entscheidender Bedeutung bei der Darstellung der Perfusion in einer Region, in der eine Kontrastierung durch Kontrastmittelapplikation nicht so ausgeprägt ist. In einer solchen Region ist womöglich die erzielte Signalanhebung nicht ausreichend, um Perfusionsunterschiede zu erfassen.

Um diese Unterschiede zu verdeutlichen, verglichen wir die Mittelwerte der erzielten Maximalwerte für die jeweilige Sondentyp-Kontrastmittel-Kombination für die einzelnen ROIs (siehe Tabelle 4 Kapitel 3.2.1). Ein Vergleich der Ergebnisse zeigt, dass die höchsten Maximalwerte für ROI 4 erzielt wurden, gefolgt von ROI 1. Danach fanden sich etwa gleich gute Werte für die ROI 2 und ROI 5. Für die ROI 3 und ROI 6 wurden insgesamt die niedrigsten Werte erzielt. Unabhängig des verwendeten Sondentyps oder des applizierten Kontrastmittels ist folglich eine hohe Kontrastanhebung im Bereich des Nukleus lentiformis, gefolgt vom vorderen beziehungsweise dem mittleren Marklager und dann von der ipsilateralen Thalamusregion zu erwarten. Demgegenüber ist im Bereich des hinteren Marklagers und des kontralateralen Thalamus mit einem geringen Kontrastmitteleffekt zu rechnen.

### ***4.2 Vergleich der Sondentypen unter Anwendung verschiedener Kontrastmittel***

Um den Einfluss des Sonden-Typs auf die Darstellung des Hirngewebes, mittels Kontrastmittel, zu erfassen, verglichen wir die zwei Sonden-Typen S3 (1,3 MHz / 3,2 MHz) und S4 (1,8 MHz / 3,6 MHz) unabhängig vom verwendeten Kontrastmittel. Unter Berücksichtigung der herausgearbeiteten Ergebnisse im Kapitel 3.2 (bezüglich der drei Auswerteparameter Maximalwert, area under the curve und time to peak) geht nachstehende Interpretation hervor.

#### 4.2.1 *Maximalwerte*

Unter Anwendung der S3-Sonde waren signifikant bessere Ergebnisse der Maximalwerte aller 6 ROIs zu erwarten als bei Anwendung der S4-Sonde (siehe Tabelle 6, Kapitel 3.2.2.2). Da der Maximalwert die Stärke des Kontrastmitteleffektes charakterisiert, ist daraus zu folgern, dass durch die Anwendung der S3-Sonde ein besserer Kontrastmitteleffekt zu erzielen ist als bei der Anwendung der S4-Sonde.

#### 4.2.2 *Area-under-the-curve (AUC)*

Unter Anwendung der S3-Sonde waren signifikant bessere Ergebnisse der AUC-Werte aller 6 ROIs zu erwarten als bei Anwendung der S4-Sonde (siehe Tabelle 8, Kapitel 3.2.3.2). Da die AUC-Werte den Kontrastmitteleffekt für die gesamte Dauer des Kontrastmitteleffektes darstellen, ist daraus zu folgern, dass unter Anwendung der S3-Sonde ein stärkerer Kontrastmitteleffekt für die erfasste Gesamtdauer des Effektes zu erwarten ist als bei der Anwendung der S4-Sonde.

#### 4.2.3 *Time-to-peak (TTP)*

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse gibt es bei den time-to-peak-Werten keine signifikanten Unterschiede zwischen den zwei Sonden-Typen (siehe Tabelle 10, Kapitel 3.2.4.2). Daraus ist zu folgern, dass die Auswahl der Sonde keinen Einfluss auf die Geschwindigkeit hat mit der das Kontrastmittel im Parenchym anflutet.

#### 4.2.4 *Zusammenfassung des Vergleichs der Sondentypen unter Anwendung verschiedener Kontrastmittel*

Zusammenfassend ist festzustellen, dass durch die Wahl der Sonde die Stärke des Maximaleffektes und die zeitliche Gesamtausprägung des Kontrastmitteleffektes beeinflusst werden können. Bezüglich dieser zwei Kriterien erwies sich in unserem Fall die S3-Sonde als die bessere Wahl. Andererseits ist durch die Wahl des Sonden-Typs kein Einfluss auf die Anflutungszeit und somit auf die Zeit bis zum Erreichen des maximalen Effektes zu nehmen.

### **4.3 *Kontrastmittelvergleich unter Anwendung verschiedener Sonden***

#### 4.3.1 *Vergleich zwischen Optison® und Levovist® unter Anwendung der S3-Sonde*

Zum Vergleich der beiden Kontrastmittel wurden die Ergebnisse der drei Auswerteparameter (Maximalwert, AUC und TTP), die bei den Untersuchungen mit

der S3 Sonde erzielt wurden, für jede einzelne ROI verglichen. Durch die Auswertung der Ergebnisse im Kapitel 3.3.1 ist die im Anschluss angeführte Interpretation möglich.

#### 4.3.1.1 *Maximalwerte*

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse ist davon auszugehen, dass bei Applikation von Optison® signifikant bessere Ergebnisse der Maximalwerte aller 6 ROIs zu erwarten sind als bei Applikation von Levovist®, jeweils unter Anwendung der S3-Sonde (siehe Tabelle 6, Kapitel 3.2.2.2). Daraus ist zu folgern, dass bei Anwendung der S3-Sonde in Kombination mit der Applikation von Optison® ein signifikant stärkerer Kontrastmitteleffekt zu erzielen ist als in Kombination mit der Applikation von Levovist®.

#### 4.3.1.2 *Area-under-the-curve (AUC)*

Bei Applikation von Optison® in Kombination mit der Anwendung des S3 Sonden-Typs wurden signifikant bessere Ergebnisse für die AUC-Werte erzielt als bei Applikation von Levovist unter der gleichen Versuchsanordnung (siehe Tabelle 8, Kapitel 3.2.3.2). Da die AUC-Werte die zeitliche Gesamtausprägung des Kontrastmitteleffektes charakterisieren, ist daraus zu folgern, dass bei Applikation von Optison® ein stärkerer Kontrastmitteleffekt über das gesamte Zeitintervall zu erwarten ist als bei der Applikation von Levovist, jeweils unter Anwendung des S3 Sonden-Typs.

#### 4.3.1.3 *Time-to-peak (TTP)*

Bei Applikation von Optison sind basierend auf unseren Ergebnissen signifikant höhere time-to-peak-Werte für die ROI 3 bis 6 zu erwarten als bei Applikation von Levovist®, jeweils unter Anwendung der S3-Sonde (siehe Tabelle 10, Kapitel 3.2.4.2). Daraus ist zu folgern, dass bei Anwendung der S3-Sonde in Kombination mit Optison® eine signifikant längere Anflutungsdauer zu erwarten ist als in Kombination mit der Applikation von Levovist®. Dies gilt jedoch nur für die ROI 3 bis ROI 6, das heißt nur hier ist Levovist® in der Anflutungsdauer signifikant schneller als Optison®. Für die ROI 1 und ROI 2 erzielt Optison® zwar höhere TTP-Werte, jedoch lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Optison® und Levovist®, zugunsten von Optison®, feststellen.

### 4.3.2 Zusammenfassung des Vergleichs zwischen Optison® und Levovist® bei Anwendung der S3-Sonde

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass bei der Applikation von Optison® in Verbindung mit der S3-Sonde bessere Ergebnisse bezüglich der Höhe des Maximalwertes und der zeitlichen Gesamtausprägung des Kontrastmitteleffektes zu erwarten sind als im Vergleich zur Applikation von Levovist®, jeweils unter den selben Untersuchungsbedingungen. Dies gilt für alle 6 definierten ROIs. Bezüglich der Anflutungsdauer ist Levovist® schneller als Optison®, jedoch mit einem signifikanten Unterschied nur für die ROIs 3 bis 6.

#### 4.3.2.1 Vergleich zwischen Optison® und Levovist® unter Anwendung der S4-Sonde

Zum Vergleich der beiden Kontrastmittel miteinander wurden die Ergebnisse der drei Auswerteparameter (Max, AUC, TTP), die bei den Untersuchungen mit der S4 Sonde erzielt wurden, für jede einzelne ROI verglichen. Durch die Auswertung der Ergebnisse im Kapitel 3.3.2 ist die nachfolgend angeführte Interpretation möglich.

#### 4.3.2.2 Maximalwerte

Aus der Auswertung der vorliegenden Ergebnisse lässt sich ableiten, dass unter der Anwendung der S4-Sonde signifikant bessere Ergebnisse der Maximalwerte erzielt werden in Kombination mit der Applikation von Optison® im Vergleich zur Kombination mit Levovist® (siehe Tabelle 6, Kapitel 3.2.2.2). Dieses Ergebnis ist jedoch nur für die ROI 2, 3, 5 und 6 gültig. Für die ROI 1 und 4 erzielt Optison® zwar bessere Ergebnisse im Vergleich zu Levovist®, es lässt sich jedoch kein signifikanter Unterschied feststellen. Mit der S4-Sonde ist demnach ein stärkerer Kontrastmitteleffekt in Kombination mit der Applikation von Optison® zu erzielen.

#### 4.3.2.3 Area-under-the-curve (AUC)

Das vorliegende Ergebnis zeigt, dass bei Applikation von Optison® in Kombination mit der Anwendung des S4 Sonden-Typs signifikant bessere Ergebnisse für die AUC-Werte erzielt werden als bei der Applikation von Levovist® unter der selben Untersuchungsanordnung (siehe Tabelle 8, Kapitel 3.2.3.2). Dies gilt jedoch lediglich für die ROIs 2 bis 6. Für die ROI 1 sind zwar bessere Ergebnisse für die AUC-Werte mit Optison® erzielt worden, es lässt sich jedoch kein signifikanter Unterschied zur Applikation von Levovist® feststellen. Demzufolge ist bei Anwendung der S4-Sonde die zeitliche Gesamtausprägung des Kontrastmitteleffektes bei der

Applikation von Optison® länger als bei Applikation von Levovist®, jeweils bezogen auf dieselbe Versuchsanordnung.

#### 4.3.2.4 *Time-to-peak (TTP)*

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass bei Applikation von Optison®, jeweils unter Verwendung der S4-Sonde, signifikant höhere time-to-peak-Werte für die ROIs 1, 4 und 6 vorliegen als bei der Applikation von Levovist® (siehe Tabelle 10, Kapitel 3.2.4.2). Daraus lässt sich ableiten, dass bei Anwendung der S4-Sonde in Kombination mit der Applikation von Optison® eine signifikant längere Anflutungsdauer vorliegt als in Kombination mit der Applikation von Levovist®. Dies gilt jedoch nur für die obengenannten ROIs, das heißt, dass Levovist® das Hirngewebe signifikant schneller anflutet als Optison®. Für die ROI 1 und ROI 2 erzielt Optison zwar höhere TTP-Werte, es lassen sich jedoch keine signifikanten Unterschiede feststellen.

#### 4.3.2.5 *Zusammenfassung des Vergleichs zwischen Optison® und Levovist® bei Anwendung der S4-Sonde*

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass im Vergleich zu Levovist® bei der Applikation von Optison® in Kombination mit der S3-Sonde bessere Ergebnisse bezüglich der Stärke und der zeitlichen Gesamtausprägung des Kontrastmitteleffektes zu erwarten sind. Auch für die ROI 1 und 4 werden hinsichtlich der Stärke des Kontrastmitteleffektes bessere Ergebnisse bei der Applikation von Optison® erzielt, der Unterschied ist jedoch nicht signifikant. Bezogen auf die Dauer des Kontrastmitteleffektes ist lediglich für ROI 1 kein signifikanter Unterschied festzustellen, trotz der besseren Ergebnisse, die für Optison® erzielt wurden. Bezüglich der Anflutungsdauer ist Levovist® schneller als Optison®, jedoch mit einem signifikanten Unterschied nur für die ROIs 1, 4 und 6.

#### 4.3.3 *Zusammenfassung des Kontrastmittelvergleichs unter Anwendung verschiedener Sonden*

Die Auswertungen des Vergleichs der beiden Kontrastmittel unter Anwendung verschiedener Sonden-Typen zeigen, dass für die zwei Auswerteparameter, welche die Stärke und die zeitliche Gesamtausprägung des Kontrastmitteleffektes beschreiben (Maximalwert, AUC-Wert), unabhängig vom verwendeten Sondentyp bessere Ergebnisse bei der Applikation von Optison® erzielt werden. Dies lässt sich teilweise durch den unterschiedlichen Aufbau und die unterschiedlichen Eigenschaf-

ten der zwei Kontrastmittel erklären. Ein wichtiger Grund für die besseren Ergebnisse der Maximalwerte bei der Applikation von Optison® ist der Hüllenaufbau und die Größe der Mikrobläschen. Durch einen größeren Durchmesser der Kontrastmittelbläschen steigt auch der Wert des streuungsrelevanten Querschnitts, wodurch demnach auch die Stärke des Kontrastmitteleffektes größer ausfällt (siehe Kap. 1.2). Dadurch lässt sich der stärkere Kontrastmitteleffekt von Optison® erklären, dessen Mikrobläschendurchmesser von durchschnittlich 2,0 bis 4,5 µm verhältnismäßig größer ist, als bei Levovist®, dessen Mikrobläschendurchmesser weniger als 4 µm beträgt. Eine andere Erklärung findet man in der stabileren Hülle der Optison® Mikrobläschen (Albuminmikrohohlkugeln), die dadurch die Lungenpassage und die hohen Drücke in der linken Herzkammer besser überstehen. Auf diese Weise kommen mehr Kontrastmittelbläschen im Gehirn an und beteiligen sich an der Bildgebung. Die größere Stabilität der Kontrastmittelbläschen erklärt auch die stärkere zeitliche Gesamtausprägung des Kontrastmitteleffektes, die mit Optison® im Vergleich zu Levovist® erzielt wird. Da bei einem stabilen Bläschen die kapilläre Passage seltener zur Destruktion der Bläschen führt, können Reperfusionssphänomene die Kontrastanhebung um ein Vielfaches verstärken (siehe Kap. 1.2). Dadurch kann sowohl die zeitliche Gesamtausprägung als auch die Stärke des Kontrastmitteleffektes begünstigt werden. Eine Verbesserung der Stabilität erfährt das Optison-Mikrobläschen auch durch das in den Bläschen enthaltene Gas. Bei Levovist® ist dies Luft, die eine relativ hohe Löslichkeit im Blut aufweist, demgegenüber das Oktafluorpropangas bei Optison®, das sich sehr schlecht im Blut löst.

Dagegen werden mit der Applikation von Levovist® kürzere Anflutungszeiten (TTP-Werte) erreicht. Dies ist vermutlich dadurch zu erklären, dass der kleinere Durchmesser der Levovist Mikrobläschen eine schnellere Lungenpassage ermöglicht, und somit die Bläschen von Levovist® das Gehirn schneller erreichen.

Zusammengefasst lässt sich feststellen, dass unabhängig von der verwendeten Sonde (S3 oder S4) bei der Applikation von Optison® bezüglich der Stärke des Kontrastmitteleffektes bessere Ergebnisse zu erwarten sind. Eine stärkere zeitliche Gesamtausprägung des Kontrastmitteleffektes wird ebenfalls bei Applikation von Optison® erzielt. Demgegenüber scheint Levovist® eine kürzere Anflutungszeit aufzuweisen, eine Tatsache, die jedoch in der diagnostischen Routine keine bedeutende Rolle spielt.

## **4.4 Einfluss der Versuchsvariablen auf die Auswerteparameter**

### *4.4.1 Einfluss des Sondentyps auf die Auswerteparameter*

Basierend auf den Ergebnissen der Varianzanalyse im Kapitel 3.4 lässt sich der Einfluss der Sonde in unserer Versuchsanordnung auf die erzielten Ergebnisse der Auswerteparameter beschreiben. Folgende Schlüsse lassen sich daraus ziehen.

#### *4.4.1.1 Maximalwerte*

Die Varianzanalyse zeigt einen geringen Einfluss des Sondentyps auf den Maximalwert. Für die einzelnen ROIs liegt der Einfluss der Sonde auf die Varianz der Maximalwerte zwischen 3% für ROI 1 und 23% für ROI 5, die Werte für die anderen ROIs liegen dazwischen. Demzufolge sind unter Anwendung derselben Sonde bei theoretisch gleich bleibender Versuchsanordnung relativ konstante Ergebnisse für die Maximalwerte zu erwarten. Dies lässt sich dadurch erklären, dass sich die technischen Details die Sonde betreffend von einer Untersuchung zur anderen so gut wie nicht verändern. Der lediglich geringe Einfluss der Sonde auf die Varianz der Maximalwerte lässt sich eventuell durch das minimal unterschiedliche Ansetzen und Halten der Sonde bei der Untersuchung der verschiedenen Probanden erklären. Ein exakt identisches Ansetzen und Halten der Sonde ist aufgrund äußerlicher anatomischer Gegebenheiten oder der aufgetragenen Menge an Gel so gut wie nicht möglich. Um annähernd gleiche Bedingungen zu erzielen, wurden alle Abläufe unserer Studie standardisiert.

#### *4.4.1.2 Area-under-the-curve(AUC)*

Der Einfluss der Sonde auf die Varianz der AUC-Werte (area under the curve) fällt ähnlich wie bei den Maximalwerten relativ gering aus. Demzufolge sind, durch die Anwendung derselben Sonde unter gleichen Versuchsbedingungen annähernd konstante Zeitintervalle mit Kontrastmitteleffekt zu erzielen. Der geringe Einfluss der Sonde auf die Varianz der AUC ist dadurch zu erklären, dass sich die technischen Details der Sonde von einer Untersuchung zur folgenden so gut wie nicht verändern. Der geringe Einfluss der Sonde auf die Varianz der AUC-Werte lässt sich eventuell durch das minimal unterschiedliche Ansetzen und Halten der Sonde an den Probanden erklären. Ein exakt identisches Ansetzen und Halten der Sonde ist aufgrund äußerlicher anatomischer Gegebenheiten oder der aufgetragenen Menge an Gel so gut wie nicht möglich. Um annähernd gleiche Bedingungen zu erzielen, wurden alle Abläufe standardisiert.

#### 4.4.1.3 *Time-to-peak (TTP)*

Der Einfluss von Sondentyp auf die Varianz der TTP ist vernachlässigbar. Das heißt, die Anflutungszeit des Kontrastmittels ist von der verwendeten Sonde nahezu vollständig unabhängig. Im Gegensatz zu den Maximalwerten und den AUC-Werten für deren Detektion anatomische Gegebenheiten oder Menge an Gel eine gewisse Rolle spielen, sind diese für die Anflutung des Kontrastmittels nicht von Bedeutung. Die Anflutungszeit ist lediglich von Kreislaufparametern und der lokalen Hirnperfusion abhängig. Demzufolge würde man bei Anwendung derselben Sonde und unter theoretisch gleichen Bedingungen immer die gleiche Anflutungszeit erwarten.

#### 4.4.1.4 *Zusammenfassung der Analyse des Einflusses des Sondentyps auf die Auswerteparameter*

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Einfluss derselben Sonde auf die Varianz der Stärke (Maximalwerte) und der zeitlichen Gesamtausprägung (AUC-Werte) des Kontrastmitteleffekts gering ist. Dagegen beeinflusst die Sonde die Anflutungszeit gar nicht. Durch Standardisierung des Umgangs mit der Sonde, sollte deren Einfluss auf die Varianz der Ergebnisse minimieren.

#### 4.4.2 *Einfluss vom Kontrastmittel dem auf die Auswerteparameter*

Augrund der Daten der Varianzanalyse im Kapitel 3.4, lässt sich der Einfluss des Kontrastmittels auf die erzielten Ergebnisse für die Auswerteparameter erfassen. Folgende Schlüsse sind daraus zu ziehen.

##### 4.4.2.1 *Maximalwerte*

Die Varianzanalyse zeigt, dass der Einfluss des Kontrastmittels auf die erzielten Ergebnisse der Maximalwerte eher gering ausfällt. Für die einzelnen ROIs liegt der Einfluss der Sonde auf die Varianz der Maximalwerte zwischen 0,3% für ROI 1 und 21% für ROI 6, die Werte für die anderen ROIs liegen dazwischen. Demzufolge sind unter Anwendung desselben Kontrastmittels, bei theoretisch gleichbleibender Versuchsanordnung, relativ konstante Ergebnisse für die Maximalwerte zu erwarten. Dies ist auch in sofern zu erwarten, da sich die Bedingungen für das Kontrastmittel bei sachgemäßer Anwendung nicht entscheidend verändern können. Alle Vorgänge der Herstellung und Applikation des Kontrastmittels sind standardisiert.

##### 4.4.2.2 *Area-under-the-curve(AUC)*

Der Einfluss des Kontrastmittels auf die Varianz der AUC fällt für jede einzelne ROI analog wie bei den Maximalwerten relativ gering aus. Demzufolge ist, durch

die Anwendung desselben Kontrastmittels und unter gleichen Versuchsbedingungen annähernd eine konstante zeitliche Gesamtausprägung des Kontrastmitteleffektes zu erwarten. Der geringe Einfluss des Kontrastmittels auf die AUC-Varianz ist durch die annähernd gleichen Bedingungen für das Kontrastmittel zu erklären. Alle Vorgänge der Herstellung und Applikation des Kontrastmittels sind standardisiert. Minimale Unterschiede in der Herstellung des Kontrastmittels, spiegeln sich dementsprechend in der Varianzanalyse wieder.

#### 4.4.2.3 *Time-to-peak (TTP)*

Die Varianzanalyse zeigt, dass der Einfluss des Kontrastmittels auf die Ergebnisse der TTP-Werte eher gering ausfällt. Das heißt, dass unter theoretisch gleichen Untersuchungsbedingungen, in Verbindung mit der Applikation desselben Kontrastmittels annähernd konstante Ergebnisse zu erwarten sind. Der geringe Einfluss des Kontrastmittels auf die TTP-Varianz ist durch die annähernd gleichen Bedingungen für das Kontrastmittel zu erklären.

#### 4.4.2.4 *Zusammenfassung der Analyse des Einflusses des Kontrastmittels auf die Auswerteparameter*

Zusammenfassend ist festzustellen, dass der Einfluss des Kontrastmittels auf die Varianz der drei Auswerteparameter sehr gering ist. Dies lässt sich dadurch erklären, dass sich die Bedingungen für das Kontrastmittel während mehrerer Untersuchungen kaum verändern können. Durch Standardisierung aller Vorgänge im Umgang mit dem Kontrastmittel wird dessen Einfluss auf die Varianz der Ergebnisse minimiert.

#### 4.4.3 *Einfluss vom Proband auf die Auswerteparameter*

Basierend auf den Ergebnissen der Varianzanalyse im Kapitel 3.4, lässt sich der Einfluss der Versuchsvariabel Proband in unserer Versuchsanordnung auf die erzielten Ergebnisse für die Auswerteparameter erfassen. Folgende Schlüsse sind daraus zu ziehen.

##### 4.4.3.1 *Maximalwerte*

Die Varianzanalyse zeigt, dass die Variable Proband einen relativ hohen Einfluss auf die Ergebnisse der Maximalwerte hat. Für die einzelnen ROIs liegen die Varianzwerte zwischen 25% für ROI 6 und 78% für ROI 1, alle anderen ROIs liegen mit ihren Werten dazwischen. Es scheint, dass die interindividuelle Variabilität der einzelnen Probanden für das Entstehen der Ergebnisse von relativ großer Bedeutung

ist. Eine mögliche Erklärung ist das unterschiedliche Knochenfenster der einzelnen Probanden. Da diese Größe nicht zu beeinflussen ist, kann auch deren Einfluss auf die erzielten Ergebnisse durch Standardisierung oder andere Maßnahmen nicht beeinflusst werden.

#### 4.4.3.2 *Area-under-the-curve(AUC)*

Die Varianzanalyse zeigt, dass der Einfluss Variable der Proband auf die erzielten Ergebnisse für AUC-Werte relativ hoch ausfällt. Demzufolge gibt es relativ große Unterschiede bezüglich der zeitlichen Gesamtausprägung des Kontrastmittel-effektes zwischen den Probanden. Die AUC hängt maßgeblich von der Auswaschkinetik ab, die ihrerseits von den Kreislaufparametern der einzelnen Probanden abhängt. Da jeder Proband unterschiedliche Kreislaufparameter hat, ist dieses Ergebnis auch leicht nachzuvollziehen. Da man nicht für alle Probanden die gleichen Kreislaufbedingungen erzeugen kann, ist der Einfluss der Versuchsvariablen Proband auf die AUC-Werte mit speziellen Maßnahmen nicht zu beeinflussen.

#### 4.4.3.3 *Time-to-peak (TTP)*

Die Varianzanalyse zeigt, dass die Versuchsvariable Proband die erzielten Ergebnisse der TTP-Werte maßgeblich beeinflusst. Demzufolge gibt es relativ große Unterschiede zwischen den Probanden bezüglich der Anflutungsdauer des Kontrastmittels. Genau wie die AUC hängt die Anflutungsdauer sehr eng mit den Kreislaufparametern zusammen. Deshalb ist dieser Effekt, analog wie bei der AUC, auf die unterschiedlichen Kreislaufparameter der einzelnen Probanden zurückzuführen.

#### 4.4.3.4 *Zusammenfassung der Analyse des Einflusses vom Probanden auf die Auswerteparameter*

Das unterschiedliche Knochenfenster der Probanden beeinflusst die Varianz der Maximalwerte deutlich, dagegen sind die unterschiedlichen Kreislaufparameter der Probanden ihrerseits maßgeblich entscheidend für die Entstehung der Varianz der AUC- und TTP-Werte.

#### 4.4.4 *Zusammenfassung der Ergebnisse der Varianzanalyse*

Abschließend ist zu vermerken, dass die Versuchsvariablen Sonde und Kontrastmittel einen relativ geringen Einfluss auf die Entstehung der drei Auswerteparameter ausüben. Dagegen beeinflusst die Versuchsvariable Proband die Auswerteparameter deutlich. Die große interindividuelle Variabilität wird maßgeblich durch das unterschiedliche Knochenfenster und die unterschiedlichen Kreislaufparameter der

Probanden bestimmt. Die relativ geringe Varianz der Auswerteparameter, bedingt durch die Versuchsvariablen Sonde und Kontrastmittel, wird durch Standardisierung weiter minimiert.

#### **4.5 Berücksichtigung der Ergebnisse für die Parenchymperfusion**

Wie bereits in Kapitel 4.4 erwähnt, ist die Darstellung des Hirnparenchyms mittels der kontrastmittelgestützten Sonographie in den letzten Jahren Gegenstand intensiver Forschung. Mit der Entwicklung von lungengängigen Kontrastmitteln und der Methode des harmonic imaging wurde es möglich, auch mit Ultraschall die Hirnperfusion darzustellen. Es eröffnete sich ein breites Forschungsfeld, in dem man einerseits die Methode des imaging weiterentwickelte, andererseits Ultraschallkontrastmittel entwickelte, die bessere Ergebnisse erzielten. Auf dem Gebiet des imaging versuchte man beispielsweise, über Wiederanflutungsphänomene des Kontrastmittels, nach Destruktion der Mikrobläschen, die Hirnperfusion zu erfassen (Seide G et al. 2001). Das Ziel dieser Bemühungen ist es, ein Verfahren zu entwickeln, mit dessen Hilfe man schnell und ohne großen technischen Aufwand diagnostisch zuverlässige Daten über die Hirnperfusion gewinnen kann. Besonders wichtig ist die Zeitersparnis, die mit so einem Verfahren gewonnen werden kann. Bei einem Schlaganfallpatienten ist dies von entscheidender Bedeutung. Erste Schritte in diese Richtung wurden unternommen, indem die Infarktdemarkation bei Schlaganfallpatienten in der Frühphase mittels kontrastmittelgestützter Sonographie sehr gut erfasst werden konnte (Seidel G et al. 2003). Minderperfundierte Areale ließen sich mit großer Genauigkeit bestimmen. Die so ermittelten Befunde korrelierten mit den demarkierten Arealen aus der Magnetresonanztomographie (Meyer K et al. 2003).

Die von uns durchgeführte Studie versteht sich als Beitrag zur Optimierung der kontrastmittelgestützten Sonographie, indem man die beste Kombination aus den von uns verifizierten Variablen bei der Untersuchung der Hirnperfusion wählt. Wir untersuchten zwei Kontrastmittel (Levovist®; Optison®) jeweils nach Bolusapplikation und zwei Sondentypen (S3: 1,3 + 2,6MHz ;S4: 1,8 + 3,6MHz). Wir verwendeten die Methode des transient response imaging.

Im direkten Vergleich der zwei Sondentypen, unabhängig vom applizierten Kontrastmittel, stellte sich die S3-Sonde für die Parenchymdarstellung als besser geeignet dar. Im Vergleich der zwei Kontrastmittel erzielten wir mit Optison® bessere Ergebnisse mit beiden Sonden. Optison® erzielt bessere Kontrastmitteleffekte, flutet

jedoch das Gewebe etwas langsamer als Levovist® an. Da aber Optison® noch keine Zulassung für Anwendungen in der Neurologie hat, ist auf Levovist® für die klinische Routine nicht zu verzichten.

Zusammenfassend sind nach unseren Ergebnissen mit der Kombination des Sondentyps S3 und der Applikation von Optison® die besten Ergebnisse bezüglich der Parenchyndarstellung zu erwarten. Zu berücksichtigen ist die Tatsache, dass für die Parenchyndarstellung die ROIs im Bereich des Nukleus lentiformis, im vorderen Marklager und im Thalamus nach der Kontrastmittelapplikation eine hohe Kontrastierung erfahren, dagegen ist das hintere Marklager und der kontralaterale Thalamus durch Kontrastmittelapplikation schlechter kontrastierbar. Für Optison® besteht keine Zulassung für Anwendungen in der Neurologie, so dass die Kombination zwischen dem Sondentyp S3 und der Applikation von Levovist® für den klinischen Alltag als die beste Wahl zu empfehlen ist.

## 5 Zusammenfassung

Die Farbduplexsonographie als apparative Untersuchung beim Hirninfarkt ist in den letzten Jahren aufgrund ihrer relativ geringen Belastung für den Patienten und der Verfügbarkeit als „bedside-test“ als diagnostisches Verfahren immer stärker in die klinische Routine vorgezogen. Dabei wurde die Sonographie überwiegend zur Beurteilung des extrakraniellen und intrakraniellen Gefäßstatus eingesetzt. Der entscheidende Schritt zur Darstellung des Hirnparenchyms wurde mit der Entwicklung lungengängiger Ultraschallkontrastmittel getan. Die Bildqualität nach Kontrastmittelgabe wurde außerdem durch neuere Methoden der sonographischen Darstellung wie zum Beispiel das „tissue harmonic imaging“ verbessert. Durch Darstellung der Parenchymperfusion können Perfusionsdefekte dargestellt werden, wie zum Beispiel ein minderperfundiertes Hirnareal, welches mit der Gefährdung für einen Hirninfarkt einhergeht.

Mit der hier vorgelegten Studie wird ein Beitrag zur Weiterentwicklung der kontrastmittelgestützten Sonographie geleistet mit dem Ziel, die Kombination von Sondentyp und Kontrastmittel zu ermitteln, welche die besten diagnostischen Ergebnisse liefert. Wir untersuchten die Hirnperfusion unter Anwendung zweier Sondentypen (Philips Medizin Systeme, Hamburg, S3: 1,3 + 2,6MHz ;S4: 1,8 + 3,6MHz) in Kombination mit der Applikation der Ultraschallkontrastmittel Optison (Malinkrodt Medical GmbH, 53773 Hennef, Deutschland) und Levovist (Schering AG Berlin). Wir verwendeten das Ultraschallgerät Hewlett Packard SONOS 5500 (Philips Medizin Systeme, Hamburg). Es wurden 16 gesunde Probanden im Rahmen einer prospektiven unizentrischen Studie untersucht.

Die Analyse des Kontrastmitteleffektes in den untersuchten Regionen zeigte eine gute Kontrastierung im Bereich des Nukleus lentiformis, im vorderen Marklager und im Thalamus, dagegen ist das hintere Marklager und der kontralaterale Thalamus durch Kontrastmittelapplikation weniger gut kontrastierbar.

Die Varianzanalyse ergab, dass die interindividuelle Variabilität der Probanden den größeren Einfluss auf die Ergebnisse ausübt, ein wesentlich geringerer Anteil der Varianz entfällt auf Sondentyp und Wahl des Kontrastmittels.

Beim Vergleich der zwei Sondentypen, unabhängig vom applizierten Kontrastmittel, zeigte sich der S3 Sondentyp besser geeignet zur Darstellung der Hirnperfusion mittels Kontrastmittel. Es wurden signifikant höhere Werte sowohl für die Maximalwerte als auch bei den Werten für die area under the curve erzielt. Im Ver-

gleich beider Kontrastmittel zeigten sich signifikant günstigere Kontrasteffekte für Optison sowohl bei den Maximalwerten als auch bei den Werten für die Area-under-the-curve.

Die Vergleiche zwischen den Sondentypen und zwischen den Kontrastmitteln ergab, dass bei den von uns untersuchten Messgrößen die Kombination zwischen S3 Sondentyp und Optison die optimale Wahl ist, da auf diese Weise die höchste Kontrastierung durch die Kontrastmittelapplikation erreicht wird. Optison flutet im Gewebe signifikant langsamer als Levovist an. Da sich diese zeitliche Differenz jedoch im Bereich von wenigen Sekunden abspielt, ist dies für die klinische Anwendung von untergeordneter Bedeutung. Optison ist zur Zeit nicht für Anwendungen in der Neurologie zugelassen. Daher ist, um ein off-label-use zu vermeiden, die Kombination zwischen den S3 Sondentyp und Levovist für die Hirnperfusionsdarstellung auf der Basis der vorliegenden Studiendaten zu empfehlen.

## Summary

Transcranial color-coded sonography in acute stroke has gained importance as a diagnostic method in the last few years due to its good tolerability for patients and its availability as a bed-side-test. The technique was mainly used for assessment of bloodflow in the extra- and intracranial vassels. The crucial step in imaging the brain parenchyma was made by the development of ultrasound contrast agents that resist lungpassage and give a contrast effect for several minutes. Not only the contrast agents but also the techniques of sonographic imaging were improved by introduction of the tissue harmonic imaging method, with the aim to evaluate brain-perfusion for detection of hypoperfused areas prone to stroke development.

We investigated the brain perfusion applying two different types of probes (Philips Medizin Systeme, Hamburg, S3: 1,3 + 2,6MHz ;S4: 1,8 + 3,6MHz) in combination with two different types of contrast agents Optison (Mallinkrodt Medical GmbH, 53773 Hennef, Deutschland) and Levovist (Schering AG Berlin). The aim was to determine the combination of type of probe and contrast agent which lead to the best diagnostic result measured as contrast effect. We used the ultrasound device Hewlett Packard SONOS 5500 (Philips Medizin Systeme, Hamburg) and examined 16 healthy volunteers in a prospective unicentral study.

The analysis of the effect of the contrast agent in the various regions of the brain, revealed a good enhancement in the nucleus lentiformis, the frontal white matter and the ipsilateral thalamus, while the occipital white matter and the contralateral thalamus showed less enhancement.

An analysis of variance revealed that the interindividual variability of the volunteers had a greater influence on the results than the choice of probe and contrast agent.

Regardless of the contrast agent applied, comparing the two probes we found that the S3 probe detects images of parenchyma perfusion of higher accuracy. Significant better results were obtained for the endpoint "maximum of contrast effect" and for the values of the area under the curve respectively. Considering the two contrast agents we found significant better results using Optison for the "maximum of contrast effect" as well for the values of the area under the curve respectively. Comparing the two types of probes in combination with the two contrast agents, we conclude that the S3 probe combined with Optison should be chosen in order to obtain an ideal enhancement. Although Optison floods into the brain tissue

significantly slower as Levovist does, with a time difference of only a few seconds, is that of minor importance for the clinical use. Currently Optison is not approved for the use in neurology, so therefore we recommend for imaging of brainperfusion the combination of S3 type of probe with Levovist on the base of the study data.

## Literaturverzeichnis

Albrecht T, Blomley MJ, Cosgrove DO, Tylor-Robinson SD, Jayaram V, Eckersley R et al. (1999) Non-invasive diagnosis of hepatic cirrhosis by transit-time analysis of an ultrasound agent. *Lancet* 353: 1579-1583

Albrecht T, Blomley MJ, Hechmann RA et al. (2000) Stimulierte akustische Emission mit dem Ultraschallkontrastmittel Levovist: Ein klinisch nutzbarer Effekt mit leberspezifischen Eigenschaften. *Neuen Bildgebenden Verfahren* 172: 61-62

Albrecht T, Hohmann J (2003) Kontrastmittel in der Sonographie. *Radiologie* (2003) 43: 793-804

Albrecht T, Blomley MJ, Burns PN et al. (2003) Improved detection of hepatic metastases with pulse-inversion US during the liver-specific phase of SHZ 508A: multicenter study. *Radology* 227: 361-370

Ascenti A, Zimbaro G, Mazziotti S, Gaeta M, Lomberto S, Scribano E (2001) Contrast-enhanced power Doppler US in the diagnosis of renal pseudotumors. *Eur Radiology* 11: 2496-2499

Ascenti A, Zimbaro G, Mazziotti S, Gaeta M, Settineri N, Scribano E (2001) Usefulness of power Doppler and contrast enhanced sonography in the differentiation of hyperechoic renal masses. *Abdom Imaging* 26: 654-660

Bauer A, Becker G, Krone A, Fröhlich T, Bogdahn U: Transcranial duplex sonography using ultrasound contrast enhancers. *Clinical Radiology* 51 (Suppl. 1) 19-23

Berland LL, Bryan CR, Sekar BC, Moss CN, (1988) Sonographic examination of the adult brain. *J Clin Ultrasound*. Jun;16(5): 337-45.

Blomley MJ, Albrecht T, Cosgrove DO et al. (1999) Stimulated acoustic emission to image the late liver splen-specific phase of levovist in normal volunteers and patients with and without liver disease. *Ultrasound Medical and Biological* 25: 1341-1352

Bogdahn U, Becker G, Winkler J, Greiner K, Perez J, Meurers B. (1990) Transcranial color-coded real-time sonography in adults Stroke. Dec; 21(12): 1680-8.

Bryant TH, Albrecht T, Blomley MJ et al. (2004) Improved characterization of liver lesions with liver-phase uptake of liver-specific microbubbles: prospective multicenter study. *Radiology* 232(3): 799-809

Burns PN (1996) Harmonic imaging with ultrasound contrast agents *Clin Radiol*. Feb;51 Suppl 1:50-5.

Correas JM, Lafortune M, Burns PN (1996) Detection of renal artery stenosis with B-mode enhancement after administration of a US contrast agent. *Radiology* 202: 218

Darge K, Troeger J, Duetting T, Ziegler B, Rohrschneider W, Moehring K et al. (1999) Reflux in young patients: comparison of voiding US of the bladder and retrovesikal space with echo enhancement versus voiding cytourethrography for diagnosis. *Radiology* 210: 201-207.

Dietrich CF (2002) Kontrastverstärkte 3D-Blidgebung unter Echtzeitbedingungen, eine neue Technik. . *Rofo Forschr Geb Rontgestr Neuen Bildgebenden Verfahren* 174: 160-163

de Jong N, Ten Cate FJ, Lancee CT, Roelandt JR, Bom N. (1991) Principles and recent developments in ultrasound contrast agents. *Ultrasonics* 29(4): 324-30

de Jong N, Hoff L, Skotland T, Bom N. (1992) Absorption and scatter of encapsulated gas filled microspheres: theoretical considerations and some measurements. *Ultrasonics* 30(2): 95-103

Goldberg BB, Liu JB, Forsberg F (1994) Ultrasound contrast agents: a review. *Ultrasound Med Biol.*;20(4): 319-33

Hagendorff A, Gockritz A, Wunderlich A, Frigstad S, Pfeiffer D, Becher H (2002) Determinants of myocardial hypoperfusion analyzed for the interventricular septum using power Doppler harmonic imaging with contrast echocardiography humans: a methodologic approach for clinical practice. *J Am Soc Echocardiogr* 15(5): 404-415

Hagendorff A, Pfeiffer D, Rother T, Becher H, (2003) Myocardial contrast echocardiography for assessment of myocardial perfusion at rest in patient with left main coronary artery stenosis. *Z. Kardiol* 92(10): 876-883

Hasley JH, (1990) Effect of emitted Power on waveform intensity in transcranial Doppler. *Stroke* 18: 1018-1024.

Harvey CJ, Blomley MJ, Eckersley R, Heckemann RA, Buttler-Barns J, Cosgrove DO (2000) Pulse-inversion of liver specific microbubbles: improved detection of subcentimetre metastases. *Lancet* 355: 807-808

Hofmann CW, Albrecht T, Schettler S, Overberg A (2000) Non-linear ultrasound of the splen during the late Phase of levovist. Improved detection of focal lesions. *Eur Radiol* 10 (suppl. 1): 169

Hohmann J, Skrok J, Puls R et al. (2003) Charakterisierung fokaler Leberläsionen mit kontrastmittelgestützten „low MI real time“ Ultraschall und SonoVue. *Rofo Forsch Geb Rontgestr Neuen Bildgebenden Verfahren* 175: 835-843

Jung F, Mrowietz C, Gordz S, Beller KD, Wenzel E. (1995) Influence of sonographic contrast media on microcirculation in rats. *Arzneimittelforschung*. 45(10): 1138-41

Kaarmann H, Wessels G,: Physikalische Grundlagen. In: Braun B, Günther R, Schwark B (Hrsg.): *Ultraschalldiagnostik*. Ecomed (1991) II 1-36

Keller MW, Segal SS, Kaul S, Duling B. (1989) The behavior of sonicated albumin microbubbles within the microcirculation: a basis for their use during myocardial contrast echocardiography. *Circ Res*65(2): 458-67.

Klews PM (1993). Physik und Technik der farbkodierten Duplexsonographie. In: Wolf K, Frobbe F (Hrsg): *Farbkodierte Duplexsonographie. Grundlagen und klinische Anwendung*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 248-295

Kimm JH, Eun HW, Lee HK, Park SJ, Shin JH, Hwang JH, Goo DE, Choi DL (2003) Renal perfusion abnormality. Coded harmonic angio US with contrast agent. *Acta Radiol* 44: 166-171

Lawrie A, Brisken AF, Francis SE, Cumberland DC, Crossman DC, Newman CM (2000) Microbubble-enhanced ultrasound for vascular gene delivery. *Gene Ther* 7: 2023-2027

Mukherjee D, Wong J, Griffin B, Ellis SG, Porter T, Sen ES et al. (2000) Tenfold augmentation of endothelial uptake of vascular endothelial growth factor with ultrasound after systemic administration. *J Am Coll Cardiol*. 35: 1679-1686.

Meyer K, Wiesmann M, Albers T, Seidel G (2003) Harmonic imaging in acute stroke: detection of a cerebral perfusion deficit with ultrasound and perfusion MRI. *J Neuroimaging*. 13(2):166-8.

Postert T, Braun B, Meves S, Koster O, Przuntek H, Weber S, Buttner T (1999) Contrast-enhanced transcranial color-coded sonography in acute hemispheric brain infarction. *Stroke*. 30(9):1819-26

Schlachetzki F: Apparative Grundlagen der klinischen Untersuchung. In: Bogdahn U, Becker G, Schlachetzki F (Hrsg.): *Echosignalverstärker und transkranielle Farbduplexsonographie*. Blackwell (1998) Kap 7 100-111

Schneider M, Broillet A, Bussat P, Giessinger N, Puginier J, Ventrone R, Yan F (1997) Gray-scale liver enhancement in VX2 tumor-bearing rabbits using BR14, a new ultrasonographic contrast agent. *Invest Radiol.* 32(7):410-7

Schlieff R, Schürmann R, Balzer T, Petrik J, Urbank A, Zomak M, Niendorf HP, Nanda N and Schief R (eds) (1993) *Advances in Echo Imaging Contrast Enhancement.* Kluwer Academic Publishers: 309-323.

Seidel G, Kaps M. (1997) Harmonic imaging of the vertebrobasilar system. *Stroke.* 28(8):1610-3.

Seidel G, (1999 Habil.) *Die Sonographie des Gehirns zur Erfassung der zerebralen Makro- und Mikrozirkulation unter besonderer Berücksichtigung von Ultraschallkontrastmittel.*

Seidel G, Algermissen C, Christoph A, Claassen L, Vidal-Langwasser M, Katzer T (2000) Harmonic Imaging of the Human Brain: Visualisation of Perfusion with Ultrasound. *Stroke* 31: 151-154

Seidel G, Claassen L, Meyer K, Vidal-Langwasser M (2001) Evaluation of blood flow in the cerebral microcirculation: analysis of the refill kinetics during ultrasound contrast agent infusion. *Ultrasound Med Biol.* 27(8):1059-64.

Seidel G, Albers T, Meyer K, Wiesmann M. Related Articles, (2003) Perfusion harmonic imaging in acute middle cerebral artery infarction. *Ultrasound Med Biol.* 29(9):1245-51

Sutilov VA: *Physik des Ultraschalls.* Springer Verlag, Wien, New York (1984)

Tachibana K, Uchida T, Ogawa K, Yamashita N, Tamura K, (1999) Induction of cell-membrane porosity by ultrasound. *Lancet* 353: 1409

Tanaka K, Ito K, Wagai T (1965) The localization of brain tumors by ultrasonic techniques. A clinical review of 111 cases. *J Neurosurg.* 23(2):135-47

Unger EC, Mc Creery TP, Schweitzer RH, Caldwell VL, Wu Y (1998) Acoustically active lipospheres containing paclitaxel: a new therapeutic ultrasound contrast agent. *Invest Radiol* 33: 886-892

Von Herbay A, Vogt C, Haussinger D (2002) Late-phase-impulse-inversion sonography using the contrast agent levovist: differentiation between malignant and benign focal lesions in the liver. *AJR Am J Roentgenol* 179: 1273-1279

Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, Linka A, Skyba DM, Kaul S (1998) Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation* 97: 473-483

Widder B: Bedeutung technischer Kenngrößen der farbkodierten Duplexsonographie für Gefäßuntersuchungen. Ultraschall Med 14(1993) 231-239

Wu Y, Unger EC, Mc Creery TP, Schweitzer RH, Shen D, Wu G et al. (1998)  
Binding and lysing of blood clots using MRX-408. Invest Radiol 33: 880-885

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. M. Kaps für die Überlassung des Themas und seine kontinuierliche Unterstützung während der Arbeit bedanken.

Zu Dank verpflichtet bin ich Herrn PD Dr. M. Jauß für die gute und intensive Betreuung, seine stete Bereitschaft, mir während der Arbeit mit Rat und Tat zur Seite zu stehen und die sehr zügigen Korrekturen während der Abfassung.

Ebenfalls besonders danken möchte ich Herrn Dr. E. Stolz und Herrn Dr. J. Allendörfer für die Unterstützung bei der Durchführung der Studie.

Ferner möchte ich mich bei den MTAs des Ultraschallabors, Fr. U. Reitz und H. Reckhaus, für die geduldige Hilfestellung bei der technischen Durchführung bedanken.

Mein Dank gilt auch allen eifrigen Probanden, ohne deren Hilfe die Datenerhebung nicht möglich gewesen wäre.

Bedanken möchte ich mich schließlich bei meine Eltern für ihre Unterstützung während meines Studiums.

## Lebenslauf

Geboren:	05.02.1976	Lugosch/Rumänien
Schulausbildung:	1982 - 1986	Grundschule Stein- acker/Rumänien
	1986 - 1991	Gymnasium Stein- acker/Rumänien
	1991 - 1996	Gymnasium am Löhr- tor Siegen/ Nord- rhein-Westfalen
	1996	Abitur
Zivildienst:	1996 - 1997	
Studium der Medizin	1997 - 2003	Justus-Liebig- Universität Giessen
Prüfungen:	1999	Physikum
	2000	1.Staatsexamen
	2002	2.Staatsexamen
	2003	3.Staatsexamen
Famulaturen:	Chirurgie (6 Wochen)	
	Neurologie(8 Woche)	
	HNO (6 Wochen)	
	Praxisfamulatur in Allgemeine Medizin (4 Wochen)	
Praktisches Jahr:	2002 - 2003	
Assistenzarzt Neurologische Klinik des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Giessen	2003 - heute	

## Veröffentlichungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden beim 9th Meeting of the European Society of Neurosonology and Cerebral Hemodynamics am 9-11 Mai 2004 und beim 12th Meeting of the Neurosonology Research Group of the World Federation of Neurology am 13.-15.6.2005 in Osaka vorgestellt.

Ergebnisse dieser Arbeit wurden als Abstract in der Zeitschrift „Aktuelle Neurologie (2002) 29(S2), S. 227 und in der Zeitschrift “Cerebrovascular Diseases” (2004) 17(S4), S. 30 publiziert.