

Högfrekvent ultraljud för diagnosticering av Hirschsprungs sjukdom hos spädbarn

High-frequency ultrasound to diagnose Hirschsprung's disease in infants

Sanna Franzén (BME22), Celine Petersson (BME22)

Abstract—The report investigates whether ultra-high-frequency ultrasound at 30 MHz can distinguish healthy- from diseased intestinal tissue in infants with Hirschsprung's disease with the same accuracy as 50 MHz. Hirschsprung's disease is defined as the absence of ganglion cells in the distal parts of the intestine. During treatment, the affected sections of the intestine are surgically removed. The procedure requires multiple biopsies to ensure that all sections lacking ganglion cells are removed. Since biopsies are time-consuming, this report explores the possibility of using 30 MHz ultrasound instead. Previous research has shown that 50 MHz ultrasound has the potential to replace current primary diagnostic methods for Hirschsprung's disease. However, 30 MHz ultrasound probes are more accessible and cost-effective compared to 50 MHz probes, making it relevant to investigate whether the lower frequency is able to achieve the same relevant results. To evaluate this, ultrasound images of both healthy and diseased intestinal tissue were analyzed using 30 MHz and 50 MHz probes to assess differences in the thickness of the different tissue layers as well as echogenicity. The results show a high degree of agreement between measurements obtained with the 30 MHz and 50 MHz probes, based on significance levels for thickness and echogenicity (brightness), as well as measurement differences. 30 MHz was proven to achieve enough resolution to distinguish the same significant differences between healthy and diseased bowel tissue as 50 MHz.

I. INTRODUKTION

A. Hirschsprungs sjukdom

Hirschsprungs sjukdom klassas som en medfödd sjukdom som ofta visar sig inom två veckor efter födseln. Sjukdomen är resultatet av att fostrets enteriska nervsystem inte har utvecklats fullt ut. I Sverige har sjukdomen en incidens på ungefär 1/5000 födda vilket betyder att ungefär 20 barn diagnostiseras varje år. [1]

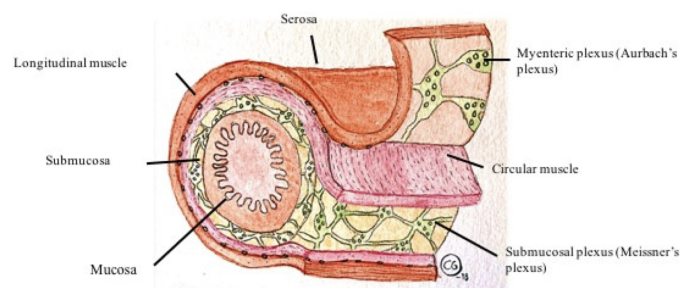
Sjukdomen orsakas av en defekt i den distala delen av tarmen. När fostret utvecklas ska neuronala stamceller normalt migrera i riktning från magsäcken och bortåt i tarmen, om den här migrationen störs på något sätt så kommer den delen av tarmen som missas att helt sakna ganglier (nervceller). Normalt

ska de här ganglierna styra tarmens rörelser genom att bidra till relaxation av tarmen. Eftersom barn med Hirschsprungs sjukdom saknar de här gangliecellerna blir den drabbade delen av tarmen spänd och kan inte transportera avföring. [1]

B. Anatomi

Tarmväggen är uppdelad i flera vävnadslager (se figur 1). Namnger man tarmlagren inifrån och ut finns: Mucosa, submucosa (ett bindvävslager som innehåller Meissner plexus), muskularis propria som delas upp i interna och externa med Auerbach myenteric plexus emellan. [2]

Eftersom delar av tarmen helt mister sin funktion vid Hirschsprungs sjukdom så påverkas de olika tarmlagren. Man väljer ofta att fokusera på lagren submucosa och muskularis propria eftersom det tidigare har visat sig att man kan se en skillnad på om dessa tarmlager saknar ganglier eller inte. [3] [4]



Figur 1. Illustration av vävnadslager i tarm

C. Dagens diagnosticering och behandling

Vid misstanke om Hirschsprungs sjukdom används röntgenbilder för att undersöka tjocktarmen. Det krävs dock alltid en biopsi för att slutligen fastställa diagnosen. Under biopsin tas en liten vävnadsbit från rektum som sedan analyseras under mikroskop. [5]

För att avlägsna den del av tarmen som saknar nervceller genomförs en operation. Det är viktigt att hitta var den friska tarmvävnaden börjar och den sjuka slutar. Därför tar man under operationen först en biopsi på ett ställe av tarmen man tror innehåller ganglieceller. Biopsin skickas sedan iväg för analys, vilket tar ungefär 45-60 min. Under den tiden väntar operationspersonalen på svar utan att kunna arbeta vidare. Sedan kommer provsvaret tillbaka. Antingen får man svaret att

Inlämnat den 7 juni, 2025

E-postadress: ce2256pe-s@student.lu.se,

sa8311fr-s@student.lu.se

Teknisk handledare: Maria Evertsson, Department of Biomedical Engineering, The Faculty of Engineering, Lund University

Klinisk handledare: Pernilla Stenström, Department of Pediatric Surgery, Skåne University Hospital Lund

biopsin innehåller nervceller och kan då fortsätta operationen eller tas en ny biopsi högre upp i tarmen som även den skickas för analys. Denna process fortsätter tills man får svaret att biopsin innehåller nervceller. Då vet man var man har frisk tarmvävnad och kan avlägsna den sjuka vävnaden antingen genom öppen operation eller laparoskopi. När den sjuka delen av tarmen har tagits bort fästs återstående frisk tarm vid spädbarnets ringmuskel i anus. Efter genomförd operation får majoriteten av alla spädbarn en god tarmfunktion och förmågan till spontan tarmtömning utan kvarstående problem eller behov av hjälpmedel. [6] [7]

D. Ultraljud

Ultraljud är en icke-invasiv diagnostisk metod för att visa strukturer inuti kroppen. Främst används metoden för att visa olika mjukvävnader. Vid ultraljud producerar ultraljudsproben ljudvågor med frekvenser högre än det mänskliga örat kan uppfatta. Proben producerar inte bara ljudvågor utan fungerar även som detektor av de ljudvågor som reflekteras tillbaka. De aktiva elementen i proben är gjorda av så kallade piezoelektriska element. Piezoelektriska element kan producera ljudvågorna som krävs för undersökning när en elektrisk spänning appliceras samtidigt som de kan fungera tvärtom, alltså producera en elektrisk spänning vid kontakt med en ljudvåg. Vid en ultraljudsundersökning skickas ljudvågor in i kroppen. Dessa vågor reflekteras sedan tillbaka till proben vid kontakt med vävnadsgränser som ex. olika organ. Det är skillnaden i akustisk impedans som avgör hur mycket av ljudvågen som reflekteras respektive transmittas. Akustisk impedans beror både på densitet och styvhet mellan mediet vågen färdas i och mediet som vågen är på väg in i. Skiljer sig den akustiska impedansen för mycket mellan dessa två medier får man totalreflektion vilket innebär att allt ljud reflekteras och detta visar sig som vitt på ultraljudsskärmen. Detta kan hända på gränsen mellan exempelvis mjukvävnad och luft. När ekot sedan når tillbaka till proben genereras en elektrisk signal som sänds till ultraljudsskannern. Vidare beräknas avståndet mellan proben och vävnadsgränsen genom att ta hänsyn till ljudhastigheten och ekotiden. Avstånden används sedan för att generera en tvådimensionell bild i realtid där man kan särskilja olika vävnader. [8] [9]

När ultraljudsskannern skapar den tvådimensionella bilden baserat på ljudvågorna syns olika nyanser av svart, vitt och grått. Vävnad får ofta ett speckelmönster i ultraljudsbilden, en sorts gråskala, eftersom vävnaden är uppbyggd av småstrukturer. Småstrukturerna, som är i samma storleksordning som våglängden på ljudet eller mindre, varierar något i akustisk impedans och strukturerna blir små punkter som reflekterar och sprider ljudet i många olika riktningar. Det är den spridningen som skapar speckelmönstret. Detta innebär att varje prick i specklet inte är ett enskilt objekt som i sig själv avger ett eko utan prickarna uppkommer på grund av interferensen av ljudvågorna från spridningen från många småstrukturer. Vävnader med hög ekogenicitet reflekterar tillbaka mer och får en vitare färg i bilden. Vätskor är ofta svarta på grund av väldigt små spridare och en liten skillnad i akustisk impedans mellan vätskan och spridarna inuti vätskan

i ex. blod. Gränsytan mellan ben och mjukvävnad blir vit på grund av stor skillnad i akustisk impedans mellan de olika materialen. Amplituden på de returnerade ekona bestäms av skillnad i akustisk impedans i gränssytor mellan olika vävnader samt spridningen av små strukturer inuti respektive vävnad. [9]

Inom sjukvården används vanligen ultraljudsfrekvenser mellan 2 och 15 MHz. Låga frekvenser ger lägre upplösning men har bättre penetrationsförmåga medan höga frekvenser ger högre upplösning men med följden att man får ett kraftigt begränsat penetrationsdjup. [10]

Ultra-högfrekvent ultraljud använder sig av högre frekvenser (över 20 MHz) och möjliggör för hög spatiell upplösning ner till ungefär 30 μm . Dock innebär detta att penetrationsdjupet minskar till 5-10 mm istället för ca 2-20 cm som man får med de låga frekvenserna. Storleken på ganglierna i tarmen är av storleken 30 μm vilket betyder att man inte kan urskilja enskilda ganglieceller men ändå se skillnader i tarmlagren. [11]

E. Tidigare forskning

Genom tidigare studier har forskningsgruppen med bland annat Pernilla Stenström och Christina Granéli visat att hos aganglionostisk tarmvävnad (vävnad med nervceller) är tjockleken på muscularis interna signifikant tunnare jämfört med ganglionostisk vävnad (vävnad utan nervceller). [12] I studien undersöktes även förhållandet mellan muscularis interna och muscularis externa för varje patient som medverkade. Kvoten i tjocklek mellan muscularis interna och muscularis externa har visat sig vara signifikant lägre för aganglionostisk jämfört med ganglionostisk vävnad. Ekogeniciteten hos submucosan visade sig vara lägre (mörkare i färgen) vid de ganglionostiska tarmsegmenten jämfört med aganglionostiska tarmsegment. [13]

F. Tes

Den nuvarande diagnostiska standarden för Hirschsprungs sjukdom involverar en tidskrävande kombination av röntgen och biopsi. Även under kirurgiskt ingrepp är en eller flera biopsier nödvändiga för att exakt identifiera och avlägsna det aganglionostiska tarmsegmentet. Denna omfattande process från diagnos till behandling är såväl tidskrävande som mindre effektiv för sjukvården, samt mentalt utmanande för både barnet och familjen.

Tidigare forskning har indikerat potentialen hos högfrekvent ultraljud (50 MHz) som en ersättning till dagens diagnostiska verktyg för Hirschsprungs sjukdom. I denna studie avser vi att undersöka om jämförbara resultat kan uppnås med ultraljud vid en lägre frekvens på 30 MHz. Vårt motiv är att ultraljudsgivare med en centerfrekvens på 30 MHz är mer allmänt tillgängliga än de med 50 MHz. Vår frågeställning är därför: Kan 30 MHz ultraljud ge tillräcklig bildupplösning för att identifiera samma signifikanta skillnader mellan sjuk och frisk tarmvävnad som med 50 MHz?

G. Agenda

För att besvara vår tes kommer metoden att omfatta bildanalys och statistik av ultraljudsbilder tagna med 50 MHz respektive

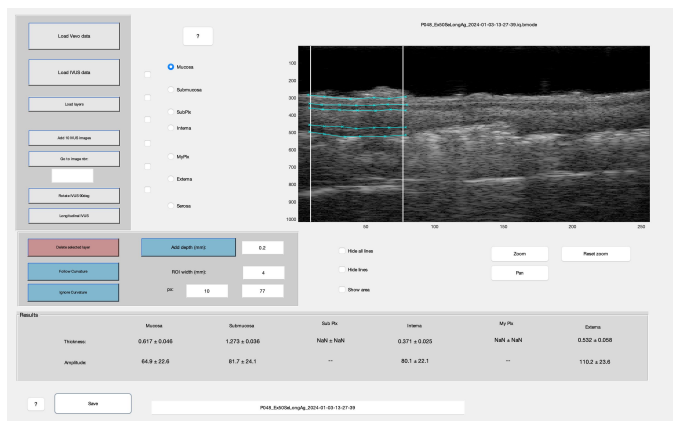
30 MHz. I bildanalyssteget kommer ett mjukvaruprogram att användas för att utlinjera tarmväggens olika lager, vilket samtidigt genererar två parametervärden: tjocklek och ekogenicitet. Dessa värden kommer sedan att ligga till grund för statistiken, där statistiska metoder kommer att tillämpas. Den slutliga sammanställningen av resultaten kommer att ge oss underlag för att besvara vår frågeställning.

II. ETISKA HÄNSYNSTAGANDEN

Lokala Etikprövningsnämnden (DNR 2017/769) och Etikprövningsmyndigheten (DNR 2023-01833-01) har godkänt studien ur etisk synvinkel. Studien genomfördes i överensstämmelse med regionala och nationella riktlinjer och föreskrifter. Informerat samtycke har inhämtats från patienter eller vårdnadshavare.

III. METOD

Arbetsprocessen delades upp i två delområden: bildanalys och statistik. Den utrustning som användes för bildanalysen var mjukvaruprogrammet BowelWallUS (BowelWallUS-v1) i Matlab (R2024b) (se figur 2), vilket har utvecklats av en forskargrupp vid Lunds Tekniska Högskola [14]. Försättningsvis användes Matlab för att genomföra statistik för att kunna besvara frågeställningen som ställdes ovan.



Figur 2. Utlinjering av tarm i BowellWallUS.

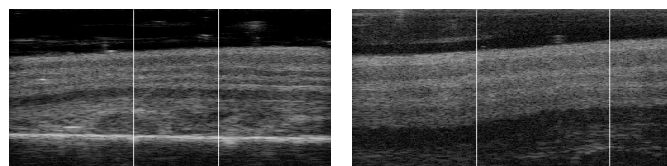
A. Data

Den kliniska data som studien baserades på inhämtades från Lunds Universitetssjukhus. Datasetet bestod av ultraljudsbilder tagna på spädbarn med Hirschsprungs sjukdom. Ultraljudsbilderna togs ex vivo efter att spädbarnets tarmar hade opererats bort och fästs på en korkmatta. Förekomsten eller avsaknaden av nervceller i preparaten bekräftades sedan med histopatologi.

Totalt analyserades data från 16 barn och omfattade 64 longitudinella ultraljudsbilder tagna från serosan, det vill säga tarmens utsida. För varje spädbarn fanns det fyra ultraljudsbilder: Två av den sjuka tarmdelen som saknade nervceller (aganglionos), tagna med en 30 MHz respektive en 50 MHz givare, och två av den friska tarmdelen med nervceller (ganglionos), tagna med samma givare.

Ultraljudsbilderna togs med ultraljudsmaskinen Vevo MD (FUJIFILM VisualSonics Inc., Toronto, Canada). De genererades med två olika linjära ultraljudsgivare: en med en centerfrekvens på 30 MHz (UHF48, FUJIFILM VisualSonics Inc., Toronto, Canada) och en med 50 MHz (UHF70, FUJIFILM VisualSonics Inc., Toronto, Canada) (se figur 3) .

För 5 av de 16 patienterna sparades ultraljudsbilderna oavsiktligt i ett komprimerat filformat då 30 MHz ultraljudsgivaren användes. De komprimerade bilderna har genomgått en annan typ av signalbehandling än de okomprimerade, vilket påverkade bildens ekogenicitet (vitheten i bilden). Detta bidrog till att det inte gick att jämföra ekogeniciteten mellan 30 MHz och 50 MHz bilderna. Däremot var det möjligt att mäta skillnaden i ekogenicitet mellan sjuk och frisk tarm för givarna var för sig då dessa två bilder alltid var sparade i samma filformat. Tjockleken på vävnadslagerna i tarmväggen påverkades däremot inte av filformatet och därför var det möjligt att jämföra resultaten som erhöles med 30MHz givaren med de som erhöles med 50 MHz givaren.



Figur 3. Ultraljudsbilder av ganglionos vävnad tagna på samma patient: till vänster med en centerfrekvens på 30 MHz och till höger med 50 MHz.

B. Bildanalys

För att säkerställa en enhetlig och reproducerbar analys av samtliga ultraljudsbilder tillämpades en standardiserad arbetsmetod. Först importerades en av ultraljudsbilderna, tagen med antingen en 30 MHz- eller 50 MHz-ultraljudsgivare, in i BowelWallUS.

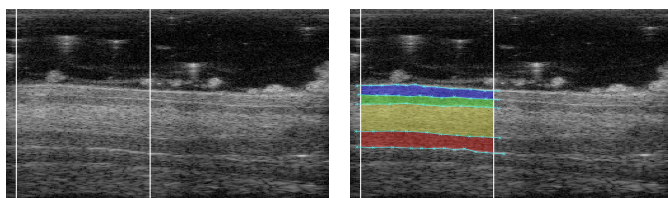
Därefter markerades varje vävnadslager manuellt, ett i taget, med hjälp av en touchpad på laptop. De vävnadslager som var av intresse inkluderade *muscularis externa*, *muscularis interna*, *submucosa* och *mucosa*. Utlinjeringen av varje vävnadslager genomfördes enbart inom den definierade 4 mm Region of Interest (ROI), vilket visualiserades med två vertikala vita linjer i ultraljudsbilden (se figur 4). ROI valdes att placeras i en del av ultraljudsbilden där vävnadslagren var väldefinierade.

Gränserna mellan varje lager fastställdes utifrån en visuell bedömning, där olika gråskalor i bilden användes som utgångspunkt för att definiera gränsen för varje vävnadslager i tarmväggen. Om det inte var möjligt att linjera ut ett visst lager på grund av att bildkvaliteten var för dålig, noterades detta.

Samtidigt som lagerna markerades, beräknade programmet parametrar för respektive lagers tjocklek och ekogenicitet. De insamlade parametrarna sparades tillsammans med de utlinjerade bilderna för vidare analys.

C. Statistik

För att slutligen kunna bedöma huruvida en 30 MHz ultraljudsgivare kan uppnå samma upplösning som en 50 MHz-givare, delades statistiken upp i två delar. Den första delen



Figur 4. Till vänster visas en icke-utlinjerad ultraljudsbild och till höger den motsvarande utlinjerade versionen av respektive vävnadslager. Muscularis externa (blå), muscularis interna (grön), submucosa (gul) och mucosa (röd)

undersökte om resultaten från de två givarna med olika frekvenser överensstämde vad gäller statistisk signifikans, medan den andra fokuserade på att analysera själva mätskillnaderna mellan givarna.

1) *Överensstämmelse i statistisk signifikans:* Syftet med denna del av studien var att undersöka om det fanns en signifikant skillnad i tjocklek och ekogenicitet mellan aganglionotisk och ganglionotisk tarmvävnad i de olika vävnadslagerna. Detta gjordes med både 30 MHz- och 50 MHz-ultraljudsgivare, varefter det analyserades huruvida resultaten från de två givarna överensstämde.

Det första steget i analysen var att skapa boxplotter i Matlab för tjockleken av muscularis externa, muscularis interna och kvoten (muscularis interna/muscularis externa), uppdelat på aganglionotisk och ganglionotisk vävnad, vid mätning med 30 MHz respektive 50 MHz. Detta gjordes för att få en visuell överblick av datans fördelning, skillnader mellan grupperna och outliers.

För att bestämma vilket statistiskt test som skulle användas för att analysera datan undersöktes sedan om skillnaderna i tjocklek mellan ganglionotisk vävnad och aganglionotisk vävnad var normalfördelad. Detta gjordes för muscularis interna, muscularis externa och kvoten dem emellan för både 30 MHz och 50 MHz datan. Först undersöktes normalfördelningen genom visuella metoder som histogram och QQ-plottar i Matlab. Däremot för att kunna säkerställa antagande om normalfördelning användes Lilliefors test, som är ett test som testar om datan är normalfördelad eller inte, i Matlab. Vidare, om skillnaden för det undersökta vävnadslaget var normalfördelat användes ett parametriskt parat test, paired t-test, i Matlab. Medan om skillnaden inte var normalfördelad så användes ett icke-parametriskt parat test, Wilcoxon signed-rank test, i Matlab. Efter val av parat test formulerades en nollhypotes för respektive vävnadslager: Det kan inte påvisas någon signifikant skillnad i tjocklek mellan aganglionotisk och ganglionotisk vävnad. Hädanefter undersöktes det huruvida nollhypotesen kunde förkastas, och därmed påvisa signifikant skillnad.

Slutligen undersöktes om det fanns en signifikant skillnad i ekogenicitet mellan aganglionotisk och ganglionotisk vävnad. Samma metodik som för undersökningen av tjocklek användes för att fastställa signifikans för muscularis interna, muscularis externa, submucosa och kvoten (muscularis externa/submucosa).

2) *Överensstämmelse i avståndsmätning:* Syftet med denna del av studien var att undersöka om avståndsmätningarna, det vill säga de uppmätta tjocklekarna på tarmväggen

vävnadslager, gjorda med 30 MHz ultraljudsgivaren överensstämde med mätningarna som gjordes med 50 MHz ultraljudsgivaren. För att bedöma graden av överensstämmelse mellan de två givarna samt identifiera eventuell systematisk bias (medelvärde), användes en Bland-Altman-analys.

Bland-Altman plot bygger på antagandet om normalfördelning så för att analysera mätskillnaderna mellan givarna undersöktes först om skillnaderna i tjocklek mellan mätningar gjorda med 30 MHz- respektive 50 MHz-givare var normalfördelade. Jämförelserna gjordes tillsammans för varje kombination av vävnadstyp, ganglionotisk och aganglionotisk, samt vävnadslager, muscularis interna och muscularis externa. Samma metod för normalitetsbedömning användes som i tidigare analyser av statistisk signifikans. För att kunna uppfylla antagandet om normalfördelning så log-transformerades skillnaderna i tjocklek.

Vidare användes de log-transformerade skillnaderna mellan mätvärdena för att konstruera en Bland-Altman plot. De övre och nedre gränserna för överensstämmelse (limits of agreement) beräknades som medelvärdet av differenserna $\pm 1,96$ multiplicerat med standardavvikelsen för dessa differenser. Detta intervall representerade det område inom vilket 95% av skillnaderna mellan givarna förväntades ligga för att kunna påvisa att avståndsmätningar med båda givarna överensstämde med varandra. En systematisk bias (medelvärde) indikerade om medelvärdet av differenserna avvek signifikant från noll.

IV. RESULTAT

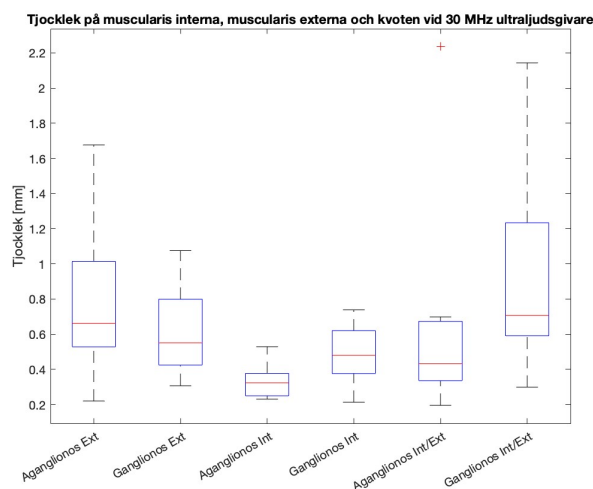
Nedan presenteras resultaten för signifikant samstämmighet för vardera vävnadstyp och vävnadslager för 30 MHz ultraljudsgivare och 50 MHz ultraljudsgivare, utifrån tjocklek och ekogenicitet. Sedan presenteras överensstämmelse mellan avståndsmätningarna för givarna.

A. *Överensstämmelse i statistisk signifikans*

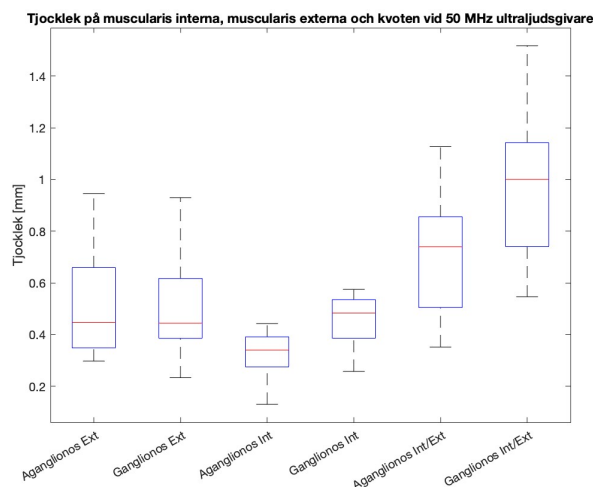
1) *Tjocklek:* En sammanställning av tjockleksmätningar av muscularis interna, muscularis externa samt kvoten mellan dem, i både aganglionotisk och ganglionotisk vävnad, utförda med 30 MHz-givaren på samtliga 16 patienter i studien visas i figur 5. Motsvarande mätvärden för 50 MHz kan ses i figur 6. Skillnad i tjockleken är större mellan aganglionotisk och ganglionotisk vävnad i muscularis interna och kvoten jämfört med i muscularis externa. Detta visas genom att boxplotterna överlappar varandra mindre. Även att medelvärdet mellan aganglionotisk och ganglionotisk vävnad, som illustreras med den röda linjen i boxplotten, skiljer sig mer för muscularis interna och kvoten jämfört med muscularis externa i figur 5 och figur 6.

Tabell I presenterar normalfördelningen av skillnad i tjocklek mellan aganglionotisk och ganglionotisk vävnad från Lilliefors testerna. Tabell II presenterar p-värde av skillnad i tjocklek mellan aganglionotisk och ganglionotisk vävnad. Utifrån tabell I kunde val av parat-test väljas och vidare resultera i tabell II. Enligt tabell II tänkt utifrån en signifikansnivå på 5 % är skillnaden i tjocklek mellan ganglionotisk och aganglionotisk vävnad icke-signifikant för muscularis externa för både 30 MHz och 50 MHz givaren. Medan för både

muscularis interna och kvoten var skillnaden signifikant vid båda frekvenserna.



Figur 5. Boxplot för muscularis externa, muscularis interna och kvoten, för ganglionostisk och aganglionostisk vävnad för ultraljudgivaren med centerfrekvens 30MHz. Baserat på 16 patienter ett för varje vävnadslager och vävnadstyp.



Figur 6. Boxplot för muscularis externa, muscularis interna och kvoten, för ganglionostisk och aganglionostisk vävnad för ultraljudgivaren med centerfrekvens 50MHz. Baserat på 16 patienter ett för varje vävnadslager och vävnadstyp.

2) *Ekogenicitet*: Tabell III presenterar normalfördelningen av ekogenicitet mellan aganglionostisk och ganglionostisk vävnad för olika vävnadslager från Lilliefors testerna och sedan tabell IV för p-värde för samma data. Utifrån tabell III kunde val av parat-test väljas och vidare resultera i tabell IV. Enligt tabell IV, och med en signifikansnivå på 5 %, är skillnaden i ekogenicitet mellan ganglionostisk och aganglionostisk vävnad icke-signifikant för muscularis externa, både vid mätning med 30 MHz- och 50 MHz-givare. För muscularis interna visade sig skillnaden vara signifikant för 50 MHz men inte för 30 MHz. Medan för både submucosa och kvoten muscularis externa/submucosa var skillnaden i ekogenicitet

mellan ganglionostisk och aganglionostisk vävnad signifikant för båda frekvenserna.

Tabell I
NORMALFÖRDELNING AV TJOCKLEKSSKILLNAD MELLAN AGANGLIONOSTISK OCH GANGLIONOSTISK VÄVNAD. BASERAT PÅ 16 PATIENTER ETT FÖR VARJE VÄVNADSLAGER OCH VÄVNADSTYP.

Vävnadstyp	30 MHz	50 MHz
Muscularis externa	Normalfördelad	Normalfördelad
Muscularis interna	Normalfördelad	Normalfördelad
Muscularis interna/ muscularis externa	Icke-normalfördelad	Normalfördelad

Tabell II
P-VÄRDE AV TJOCKLEKSSKILLNAD MELLAN AGANGLIONOSTISK OCH GANGLIONOSTISK VÄVNAD. BASERAT PÅ 16 PATIENTER ETT FÖR VARJE VÄVNADSLAGER OCH VÄVNADSTYP.

Vävnadstyp	30 MHz	50 MHz
Muscularis externa	0.1165	0.9321
Muscularis interna	0.0027	$9.0445 \cdot 10^{-5}$
Muscularis interna/ muscularis externa	0.0097	0.003

Tabell III
NORMALFÖRDELNING AV EKOGENICITET MELLAN AGANGLIONOSTISK OCH GANGLIONOSTISK VÄVNAD. 30 MHz VAR BASERAT PÅ 16 PATIENTER MED 50 MHz VAR BASERAT PÅ 15 PATIENTER.

Vävnadstyp	30 MHz	50 MHz
Muscularis externa	Normalfördelad	Normalfördelad
Muscularis interna	Normalfördelad	Normalfördelad
Submucosa	Normalfördelad	Normalfördelad
Muscularis externa/ submucosa	Icke-normalfördelad	Normalfördelad

Tabell IV
P-VÄRDE AV EKOGENICITET MELLAN AGANGLIONOSTISK OCH GANGLIONOSTISK VÄVNAD. 30 MHz VAR BASERAT PÅ 16 PATIENTER MED 50 MHz VAR BASERAT PÅ 15 PATIENTER.

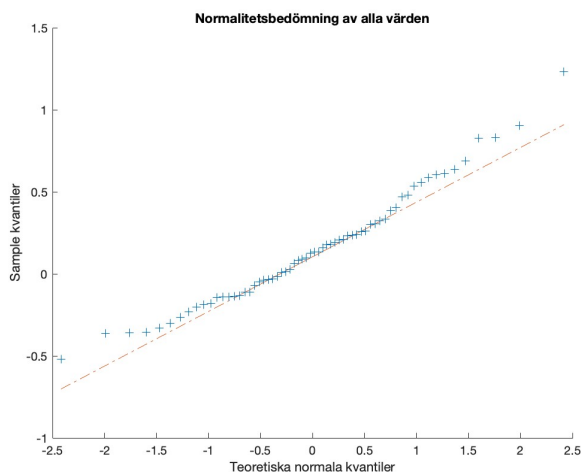
Vävnadstyp	30 MHz	50 MHz
Muscularis externa	0.7511	0.1284
Muscularis interna	0.2515	0.0102
Submucosa	0.0496	0.0026
Muscularis externa/ submucosa	0.0299	0.0373

B. Överensstämmelse i avståndsmätning

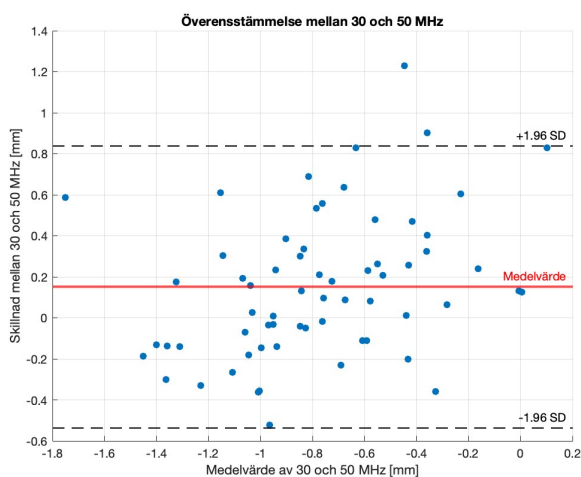
Figur 7 visualiserar normalfördelningen av log-tranformerad skillnad i tjocklek mellan 30 MHz och 50 MHz för aganglionostisk vävnad och ganglionostisk vävnad. Den visualiserar normalfördelning för log-tranformerad skillnad genom att mätvärdena följer normalitetslinjen (den röda linjen) någorlunda. Detta förstärktes med Lilliefors test som visade att skillnaden var normalfördelad.

Bland-Altman plotten i figur 8 visualiserar överensstämmelse i mätning av tjocklek på vävnadslager mellan 30 MHz och 50 MHz givarna för muscularis interna och muscularis externa för både aganglionostisk vävnad och ganglionostisk vävnad. Av totalt 64 mätpunkter låg två mätpunkter utanför gränserna för $\pm 1,96$ standardavvikelser

från medelvärdesskillnaden. Medelvärdet (systematisk bias) mellan givarna är 0.1510, vilket syns i figuren av att den röda linjen (medelvärdet) är skilt från noll. Som vidare tyder på att 30 MHz ultraljudsgivare mäter något högre i jämförelse med 50 MHz ultraljudsgivare. Punktfördelningen var symmetrisk kring medelvärdet och ingen tydlig trend kunde observeras. Detta betyder att ingen proportionell bias kunde observeras, som innebär att skillnaderna inte ökar vid större eller mindre medelvärde.



Figur 7. Q-Q-plot för samtliga mätvärden tillsammans, det vill säga skillnader mellan muscularis interna och muscularis externa för både sjuk och frisk vävnad. Baserat på 16 patienter ett för varje vävnadslager och vävnadstyp.



Figur 8. Bland-Altman plot för samtliga mätvärden tillsammans, det vill säga skillnader mellan muscularis interna och muscularis externa för både sjuk och frisk vävnad. Baserat på 16 patienter ett för varje vävnadslager och vävnadstyp.

V. DISKUSSION

Resultaten tyder på att 30 MHz ultraljud ger tillräcklig bildupplösning för att identifiera samma signifikanta skillnader mellan sjuk och frisk tarmvävnad som med 50 MHz. Denna slutsats kunde dras på grund av att det kunde påvisas

överensstämmelse i signifikant skillnad mellan båda givarna för varje vävnadslager, eftersom p-värdena var samstämmiga mellan givarna. Även att det kunde påvisas överensstämmelse i avståndsmätningar mellan båda givarna för varje vävnadslager, eftersom skillnader i uppmätt tjocklek mellan givarna var nära noll.

A. Överensstämmelse i statistisk signifikans

1) *Tjocklek*: Tabell II visar att skillnaden i tjocklek mellan aganglionostisk och ganglionostisk vävnad är större i muscularis interna och kvoten än i muscularis externa för båda givarna. Detta visas utifrån p-värdena för respektive vävnadslager som är likartade mellan givarna. Även figur 5 och figur 6 stödjer detta. Sammantaget tyder resultaten på att samma information kan erhållas från båda givarna, vilket indikerar att 30 MHz-givaren kan användas som alternativ till 50 MHz-givaren.

2) *Ekogenicitet*: Utifrån tabell IV kan det utläsas att de signifikanta skillnaderna i ekogenicitet mellan ganglionostisk och aganglionostisk vävnad stämmer överens mellan 30 MHz- och 50 MHz-ultraljudsgivarna förutom för vävnadslaget muscularis interna. I tabell IV visas det att den är signifikant för 50 MHz medan den för 30 MHz inte är signifikant. En möjlig förklaring till att signifikansen inte stämmer överens kan bero på att 30 MHz inte är en tillräckligt hög frekvens för muscularis interna. Alltså att 30 MHz inte ger en tillräckligt bra upplösning för att skilja på patologiska förändringar mellan aganglionostisk och ganglionostisk vävnad. En alternativ förklaring skulle kunna vara att 30 MHz-givaren ger tillräckligt hög upplösning, men att datamängden med 16 patienter är för liten för att uppnå statistisk signifikans. En förbättring vore att använda ett större dataset för att möjliggöra en mer tillförlitlig analys och därmed dra säkrare slutsatser.

B. Överensstämmelse i avståndsmätning

Figur 8 tyder på god överensstämmelse mellan de två givarna utifrån acceptabla kliniska gränser. Att 95% av mätvärdena låg inom gränserna för överensstämmelse ($\pm 1,96$ SD) tyder på att avståndsmätningarna fick likartade värden med de båda givarna. Att bias (systematisk avvikelse, medelvärde) låg något över noll innebär att 30 MHz-ultraljudsgivare gav något högre mätvärden. Däremot är detta kliniskt acceptabelt eftersom det är en lite skillnad, vilket tyder på god överensstämmelse. Skillnaderna mellan givarna var jämnt fördelade vid noll med en större koncentration av punkter nära noll. Avsaknaden av proportionell bias innebär dessutom att skillnaden mellan metoderna var stabil över hela mätområdet. Det vill säga skillnaden mellan givarna förändras inte systematiskt med medelvärdets storlek. Sammanvägt betyder det att den laterala upplösningen för 30 MHz givaren är tillräcklig för att kunna användas för att särskilja sjuk från frisk tarmvävnad hos patienter med Hirschsprungssjukdom.

C. Felkällor

En felkälla som kan ha påverkat resultatet negativt är den manuella utlinjeringen av ultraljudsbilderna. Eftersom denna process baserades på vår tolkning av var gränserna mellan

vävnadslagren går. För att minimera denna felkälla har vi först fördjupat vår förståelse för tarmens histologiska uppbyggnad och därefter konsulterat med vår handledare för att säkerställa en så korrekt och konsekvent utlinjering som möjligt.

En annan potentiell felkälla, som kan ha uppstått vid dattainsamlingen, rör vinkling av ultraljudsproben i förhållande till objektet då bilderna på tarmarna togs. Eftersom ultraljudsbilder är vinkelberoende kan probens lutning påverka hur tjocka vävnadslagren framstår i bilden. För att reducera denna påverkan har man försökt hålla probens vinkel så konsekvent som möjligt mellan mätningarna och mellan givarna.

D. Etik

Arbetet är baserat på ultraljudsbilder tagna på barn. Dessa barn har inte på egen hand tagit ett beslut huruvida de vill vara en del av forskningen eller inte, eftersom de inte har förmågan att uppfatta vad forskningen innebär. Beslutet har istället tagits av vårdnadshavarna, vilket kan anses som integritetskränkande. För att skydda patientens integritet är all data anonymiserad och kommer endast användas i forskningssyfte. [15]

E. Hållbarhet

Ur ett hållbarhetsperspektiv har dagens diagnostik metoder en sämre påverkan på både miljön, människan och ekonomin i jämförelse med ultraljudsdiagnostik.

1) *Röntgen*: Röntgenundersökningar för att identifiera avvikande tarmsegment kräver användning av joniserande strålning. Joniserande strålning kan ha skadliga effekter på levande organismer vilket är viktigt att vara medveten om med tanke på att barn är extra känsliga för biologiska effekter orsakade av strålningen. Trots att stråldoserna inom sjukvården anses säkra kan strålningen påverka både patienter, personal som exponeras kontinuerligt samt miljön. [16]

Vidare, för att genomföra en röntgenundersökning krävs speciell utrustning och framförallt engångsartiklar vilket leder till ökad konsumtion av dessa. Röntgenutrustningen är dessutom energikrävande och medför en högre klimatpåverkan än alternativa metoder. Detta gör den mindre hållbar både ur miljösynpunkt och ekonomiskt vid återkommande användning. [16]

2) *Biopsi*: Biopsin spelar på grund av sin höga noggrannhet en viktig roll i diagnostisering av Hirschsprungs sjukdom. Det är en invasiv metod som kräver sterila förhållanden, engångsinstrument samt histologisk bearbetning i sjukhuslaboratorium. Detta innebär en hög resursförbrukning, användning av kemikalier samt en mängd medicinskt avfall som kräver specialhantering. Ur ett hållbarhetsperspektiv är biopsin därför inte den mest gynnsamma metoden framförallt med tanke på att varje barn kräver upprepade biopsier.

3) *Ultraljud*: Högfrekvent ultraljud har enligt tidigare studier visat sig kunna särskilja friska och sjuka tarmpartier, vilket ger möjlighet för att i framtiden använda ultraljud som mer än ett komplement till övriga diagnostikmetoder som används vid Hirschsprungs sjukdom. [12] [13]

Ur ett hållbarhetsperspektiv finns flera fördelar. Bland annat är metoden icke-invasiv och kräver ingen joniserande strålning. Engångsartiklar och upprepade analyser krävs inte heller vilket

minskar både materialkostnader och miljöpåverkan. Slutligen är även ultraljudsutrustning relativt energieffektiv jämfört med övriga diagnostikmetoder.

VI. SLUTSATS

Sammanfattningsvis visar resultaten en hög grad av överensstämmelse mellan mätningar gjorda med 30 MHz- och 50 MHz-givare. Detta indikerar att 30 MHz-centerfrekvensen kan vara tillräcklig för användning i framtida ultraljudsbaserad diagnostik av barn med Hirschsprungs sjukdom. Eftersom tillgången på 30 MHz-givare är större än för 50 MHz, kan detta underlätta utvecklingen av en specialanpassad givare för kliniskt bruk.

EFTERORD

Vi skulle vilja framföra ett stort tack till vår handledare Maria Evertsson som har hjälpt oss igenom alla frågor och problem som uppkommit under arbetets gång. Vi vill även tacka vår handledare Pernilla Stenström som tillsammans med Christina Granéli, Department of Pediatric Surgery, Skåne University Hospital Lund, har gett oss insikt och vägledning i de kliniska aspekterna av arbetet. Slutligen, tack till Magnus Cinthio, Department of Biomedical Engineering, The Faculty of Engineering, Lund University, som bidrog med hjälp kopplat till vår statistik.

Arbetet har fördelats jämnt mellan oss. Bildanalysen har genomförts gemensamt, medan skrivandet har delats lika mellan båda parter.

REFERENSER

- [1] R. Christofferson, L. Zetterlund, K. Lindblad, and E. Gustafson. (2009) Hirschsprungs sjukdom-ovanlig medfödd tarmsjukdom. Hämtad: 12 april 2025. [Online]. Available: https://lakartidningen.se/wp-content/uploads/OldWebArticlePdf/1/11849/LKT0917s1172_1176.pdf
- [2] K. K. Reed and R. Wickham. (2009) Review of the gastrointestinal tract: from macro to micro. Hämtad: 12 april 2025. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0749208108000739?via%3Dihub>
- [3] S. Feichter, W. A. Meier-Ruge, and E. Bruder. (2009) The histopathology of gastrointestinal motility disorders in children. Hämtad: 12 april 2025. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1055858609000407?via%3Dihub>
- [4] S. Lotfollahzadeh, M. Taherian, and S. Anand. (2023) Hirschsprung disease. Hämtad: 12 april 2025. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562142/>
- [5] National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. (2021) Diagnosis of hirschsprung disease. Hämtad: 12 april 2025. [Online]. Available: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/digestive-diseases/hirschsprung-disease/diagnosis>
- [6] M. Evertsson, "Personlig kommunikation," 2025, kommentar, 14 maj 2025.
- [7] Boston Children's Hospital. (2025) What is a hirschsprung's disease pull-through procedure? Hämtad: 12 april 2025. [Online]. Available: <https://www.childrenshospital.org/treatments/pull-through-procedure>
- [8] National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering. (2023) Ultrasound. Hämtad: 12 april 2025. [Online]. Available: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/ultrasound>
- [9] P. R. Hoskins, K. Martin, and A. Thrush, *Diagnostic Ultrasound Physics and Equipment*. Taylor & Francis Group, 2019.
- [10] V. S. Lucas, R. S. Burk, S. Creehan, and M. J. Grap. (2014) Utility of high-frequency ultrasound: Moving beyond the surface to detect changes in skin integrity. Hämtad: 12 april 2025. [Online]. Available: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4027962/>

- [11] T. Hawez, C. Graneli, T. Erlöv, E. Gottberg, R. M. Mitev, K. Hagelsteen, M. Evertsson, T. Jansson, M. Cinthio, and P. Stenström. (2023) Ultra-high frequency ultrasound imaging of bowel wall in hirschsprung's disease-correlation and agreement analyses of histoanatomy. Hämtad: 12 april 2025. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2075-4418/13/8/1388>
- [12] C. Granéli, S. Patarrayo, R. M. Mitev, D. Gisselsson, E. Gottberg, T. Erlöv, T. Jansson, K. Haglesteen, M. Cinthio, and P. Stenström. (2022) Histopathological dimensions differ between aganglionic and ganglionic bowel wall in children with hirschsprung's disease. Hämtad: 12 april 2025. [Online]. Available: <https://bmcpediatr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12887-022-03792-3>
- [13] T. Hawez, M. Evertsson, T. Erlöv, K. Hagelsteen, L. Tofft, T. Jansson, M. Cinthio, C. Granéli, and P. Stenström. (2025) The use of ultra-high frequency ultrasound in identifying aganglionosis in hirschsprung's disease. Hämtad: 3 maj 2025. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40301537/>
- [14] T. Erlöv, T. Hawez, C. Granéli, M. Evertsson, T. Jansson, P. Stenström, and M. Cinthio. (2023) A computer program for assessing histoanatomical morphometrics in ultra-high-frequency ultrasound images of the bowel wall in children: Development and inter-observer variability. Hämtad: 16 maj 2025. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2075-4418/13/17/2759>
- [15] Etikprövnings myndigheten. (2024) Vem ska lämna samtycke till forskning på barn och unga? Hämtad: 13 april 2025. [Online]. Available: <https://etikprovningmyndigheten.se/faq/vem-ska-lamna-samtycke-till-forskning-pa-barn-och-unga/>
- [16] Sprint Diagnostics. (2025) The environmental impact of x-ray imaging: Balancing benefits and risks. Hämtad: 12 april 2025. [Online]. Available: <https://www.sprintdiagnostics.in/blog/environmental-impact-x-ray-imaging-balancing-benefits-risks>