

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA

Ultrasonologia in medicina umana e veterinaria

Ciclo XXI

Settore/i scientifico disciplinari di afferenza: MED 09

**CONTRIBUTO DI UN SOFTWARE DI QUANTIFICAZIONE
DEL SEGNALE CONTRASTOGRAFICO
(SONOLIVER®) NELLA DIAGNOSI ECOGRAFICA
DI EPATOCARCINOMA SU CIRROSI.**

Presentata da: AL'AZAR GHIRMAY TEWELDE

Coordinatore Dottorato

Relatore

PROF. LUIGI BOLONDI

PROF. LUIGI BOLONDI

Esame finale anno 2009

INDICE

1. INTRODUZIONE	2
• Lesioni Focali Epatiche Solide	3
• Tumori Benigni	3
• Tumori Maligni	8
• Ecografia Convenzionale e Doppler nello Studio delle Lesioni Focali Epatiche	11
• Sviluppo dei mezzi di contrasto ecografici e tecnologie diagnostiche correlate	12
• Impiego Diagnostico di SonoVue nelle Lesioni Epatiche	17
• Rischi dell'Ecocontrasto	23
• Diagnosi di HCC	26
2. SCOPO DELLO STUDIO	35
3. PAZIENTI E METODI	36
• SonoLiver®	37
4. RISULTATI E DISCUSSIONE	43
6. BIBLIOGRAFIA	48

INTRODUZIONE

L'ecografia è una delle tecniche d'immagine più diffuse e versatili in campo clinico, che si basa sull'utilizzo di onde acustiche e più precisamente ultrasuoni. L'utilizzo dei mezzi di contrasto ecografici di recente introduzione sta aprendo importanti prospettive diagnostiche sia per quanto riguarda l'individuazione e la caratterizzazione delle lesioni focali, sia per quanto riguarda lo studio della vascolarizzazione dei parenchimi e la possibilità di valutazioni funzionali non invasive sul flusso degli organi. In particolare l'ecocontrasto con i mezzi di contrasto di seconda generazione permette di valutare in tempo reale la perfusione delle lesioni epatiche e quindi ottenere dati nelle diverse fasi vascolari (angiosonografia perfusionale), migliorando così la diagnostica differenziale rispetto all'ecografia convenzionale.

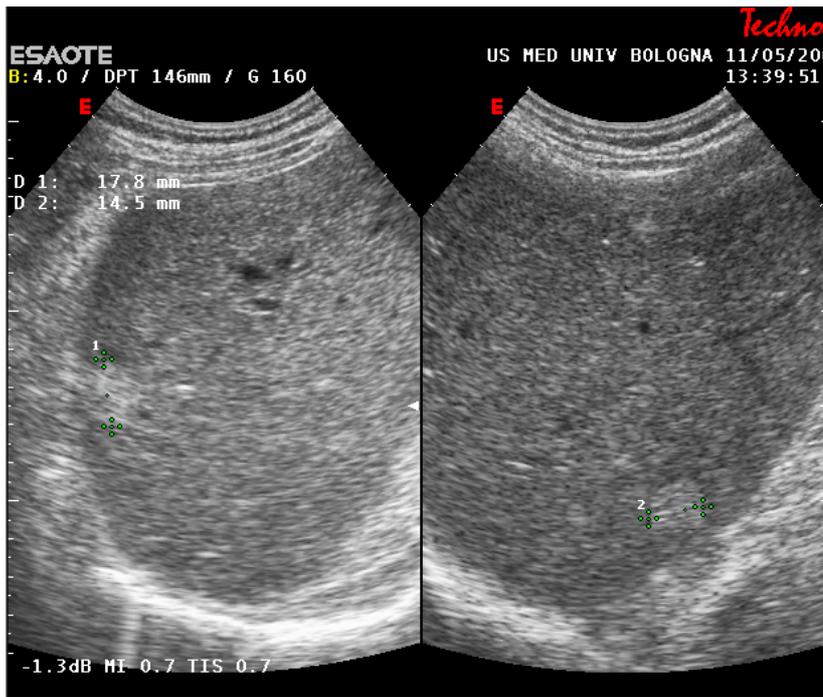
Lesioni Focali Epatiche Solide. Inquadramento Generale

L'individuazione, e la caratterizzazione di natura, delle lesioni focali epatiche solide costituiscono una problematica frequentemente riscontrata in campo clinico, nella quale la diagnostica per ecocontrasto gioca un ruolo del tutto essenziale.

Tumori benigni

Angioma

L'angioma rappresenta il più comune tumore benigno del fegato, con prevalenza del 5% nei riscontri autoptici. L'ecografia convenzionale evidenzia aspetti caratteristici nel 95% dei casi: lesione nodulare con diametro in genere inferiore ai 3 cm a margini regolari ed ecostruttura solida iperecogena omogenea, localizzata preferenzialmente lungo le vene sovraepatiche e in sede sottocapsulare.



*Fig. 1 -
Angioma
sottocapsulare
del VII
segmento in un
paziente di 64
anni. Si
apprezza una
formazione
nodulare
iperecogena.*

Iperplasia nodosa focale (FNH)

L'iperplasia nodosa focale è una lesione epatica benigna pressoché asintomatica e priva di evolutività clinica, di riscontro relativamente frequente in giovani donne, costituita da un punto di vista ultrastrutturale, da un riarrangiamento di epatociti normali, cellule di Kupffer e proliferazioni di dotti biliari. E' nutrita da un'arteria afferente ipertrofica, che termina in una cicatrice centrale alla formazione. E' una lesione tipicamente ipervascolarizzata, con una rete arteriosa e capillare, che drena direttamente nelle venule epatiche, e contiene un grado variabile di shunt artero-venosi (Fukukura, 1998). All'ecografia si presenta come lesione rotondeggiante, singola più o meno voluminosa, a ecostruttura solida ipo-isoecogena centrale. La cicatrice può apparire come una stria iperecogena.

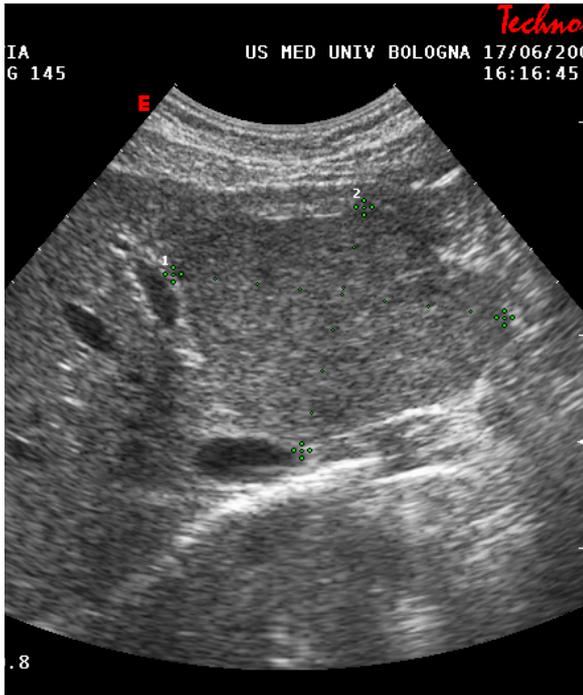


Fig. 2a – Voluminosa FNH all'ilo epatico che interessa il II segmento epatico e parzialmente il I ed il IV. Essa appare come formazione isoecogena ovalare in ecografia convenzionale.

Color e power Doppler evidenziano la tipica architettura vascolare dell'FNH caratterizzata da segnali intralesionali di tipo arterioso, con disposizione radiale delle arterie, originati dall'arteria afferente centrale ipertrofica (Uggowitz, 1999).

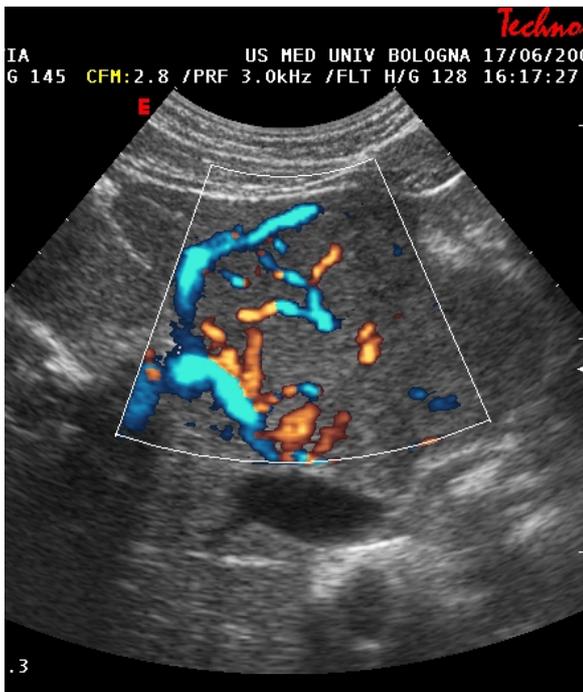


Fig. 2b – L'EcoDoppler mostra una vascolarizzazione a raggiera di tipo arterioso ed alcuni segnali venosi relativi a drenaggio nelle vene sovraepatiche in sede periferica.

Adenoma

L'adenoma epatico è una rara lesione benigna epatica, ritrovata soprattutto nelle giovani donne ed associata all'assunzione di estroprogestinici, il cui riconoscimento è importante allo scopo di distinguerlo sia da lesioni maligne che da altre lesioni benigne, in particolare l'iperplasia nodosa focale, perchè, contrariamente a quest'ultima, l'adenoma epatico presenta un rischio di complicanze, in termini di possibile sanguinamento e di degenerazione maligna, che richiedono un approccio chirurgico anziché il semplice follow up praticato nel caso dell'FNH. Nell'adenoma è stato descritto un pattern ecografico di solito disomogeneo, con segnali sia intra che extralesionali al color Doppler. I segnali intralesionali, corrispondenti a struttura venose, mostrano un flusso a bassa velocità piatto o trifasico, mentre i segnali peritumorali sono sia venosi che arteriosi, questi ultimi con alti picchi di frequenza sistolica (fino a 4.2KHz) e bassi valori di impedenza (Indice di Resistenza, $RI=0.45-0.68$) (Golli, 1994). L'assenza di segnali arteriosi al centro della lesione è stato confermato come aspetto tipico dell'adenoma, utile per la diagnosi differenziale con l'FNH, utilizzando il power Doppler che offre anche in questo ambito una maggiore sensibilità rispetto al color Doppler (90% vs 68%) (Bartolozzi, 1997). Recentemente anche nuovi aspetti econtrastografici quali l'ecogenicità in fase portale precoce sono stati riportati di utilità nella diagnosi differenziale (Dietrich, 2005).

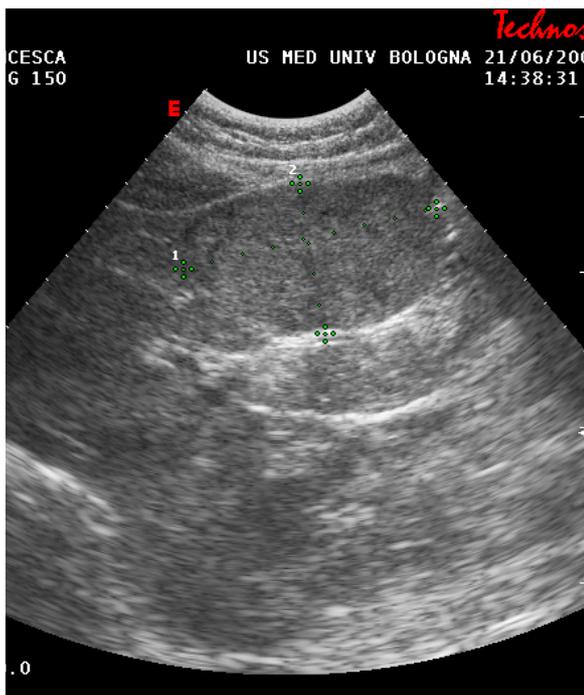


Fig. 3 - Adenoma del margine anteriore del fegato tra il IV e V segmento. Lo studio ecografico evidenzia una formazione ovoidale isoecogena.

Noduli displastici

Le lesioni nodulari benigne che insorgono su fegato cirrotico, inizialmente identificate anche come noduli di iperplasia adenomatosa, sono state recentemente classificate come noduli macrorigenerativi e noduli displastici questi ultimi a basso od alto grado di displasia. I primi due sono ritenuti semplici lesioni iperplastiche, gli ultimi invece lesioni preneoplastiche, identificate in particolare dalla presenza di arterie non appaiate a vasi portali da un anomalo numero di unità capillari (Roncalli, 1999). Se l'ipervascolarizzazione e la vascolarizzazione prevalentemente arteriosa sono tipiche dell'epatocarcinoma (HCC), noduli maligni ben differenziati e di piccole dimensioni possono essere invece relativamente ipovascolari ed avere un duplice apporto arterioso e venoso, per cui la diagnosi differenziale con i noduli displastici può essere difficile od impossibile.

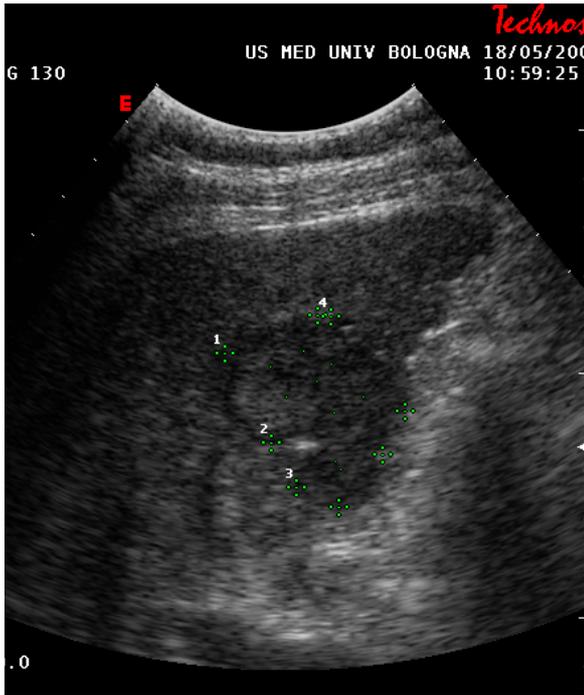
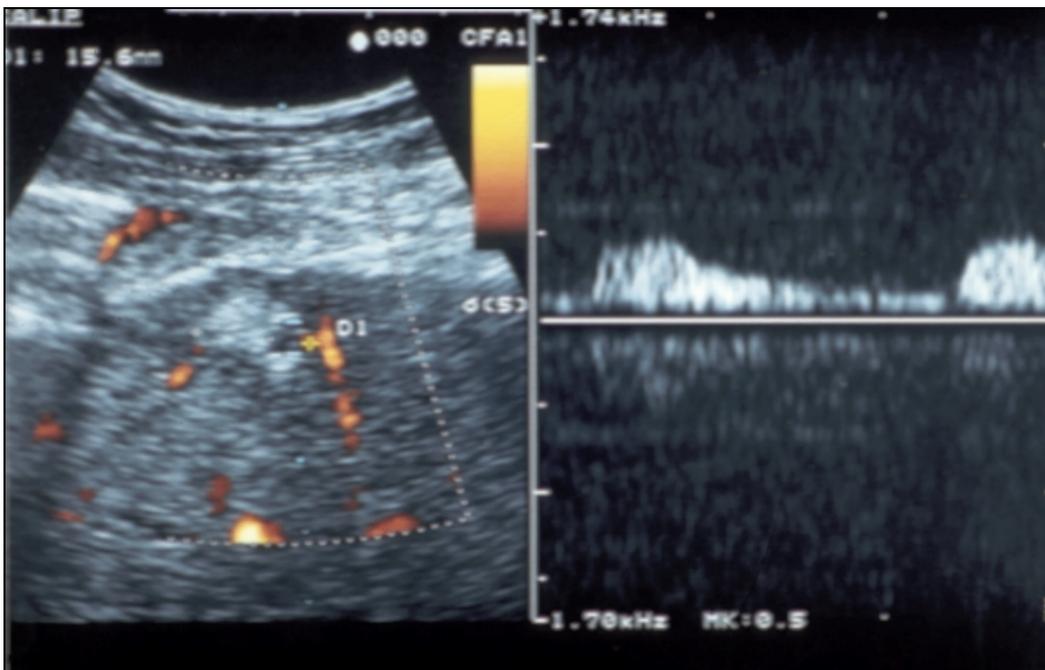


Fig. 4 – Due noduli displastici contigui del V segmento del fegato riconfermati con biopsia. La scansione B-Mode mostra una sfumata ipoecogenicità della formazione.

Fig. 5 – Nodulo displastico al Color Doppler che evidenzia segnali arteriosi intralesionali di aspetto non patologico per neovascolarizzazione.



Steatosi focale

Nella steatosi focale i depositi di grasso sono circoscritti, singoli o multipli, talora confluenti. Tali aree iperecogene hanno sempre un aspetto amorfo, con margini irregolari, configurando talora aspetti a “carta geografica”; non vi sono deformazioni dei profili epatici né impronte sulle strutture vascolari. La steatosi focale può creare problemi di diagnosi differenziale rispetto a lesioni focali iperecogene di altra natura. La presenza di molteplici aree di steatosi focale conferisce al parenchima epatico un aspetto notevolmente disomogeneo per alternanza di aree iperecogene (steatosiche) ed ipoecogene (aree indenni), denominato fegato “a prato fiorito”.

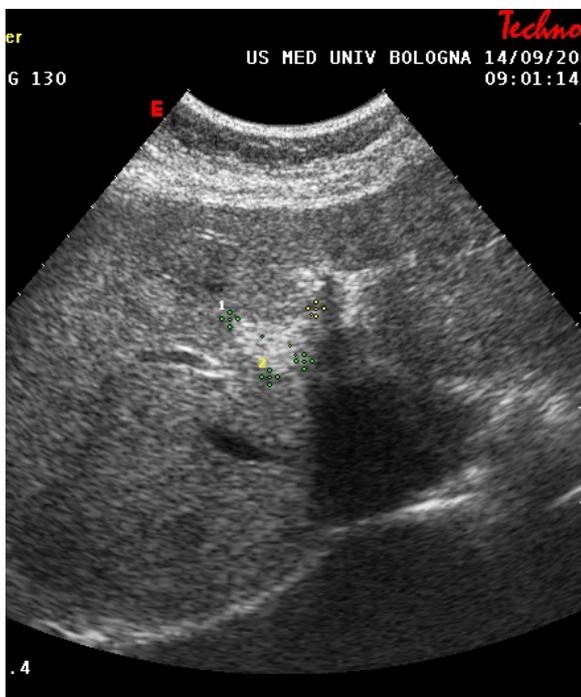


Fig. 6 – Steatosi zonale. All’esame ecografico la lesione appare come un’area iperecogena ed a morfologia irregolare; situata in questo caso in prossimità della biforcazione portale.

Tumori maligni

Metastasi epatiche

Dopo gli angiomi e le cisti, sono le lesioni focali epatiche di più frequente riscontro. Per lo più multiple, non pongono problemi diagnostici allorché è nota la lesione primitiva; non è quasi mai possibile, invece, risalire con certezza alla neoplasia primitiva dal loro aspetto morfostrutturale. I pattern ecografici di queste lesioni secondarie possono essere variabili, sovrapponendosi in parte a quello

delle lesioni benigne, con una conseguente mancanza di specificità. Possono presentarsi come noduli solidi anecogeni (spesso di origine ovarica o mammaria), ipoecogeni, isoecogeni, iperecogeni (caratteristicamente di origine coloretale), e “a bersaglio” (centro iperecogeno e orletto ipoecogeno per la presenza dell’edema perinodulare). Sebbene la maggior parte delle metastasi, soprattutto se di piccole dimensioni, siano ipovascolari e prive di segnali al color e power Doppler (Choi, 1996), una vascolarizzazione interna è stata riscontrata con frequenza variabile (32-78%) anche in questo tipo di lesioni (Nino-Murcia, 1992, Reinhold 1995), peraltro inferiore rispetto all’HCC (76-98%), pur con un’evidente sovrapposizione tra i due pattern, mentre il picco di frequenza è risultato significativamente più elevato nell’HCC che nelle metastasi.

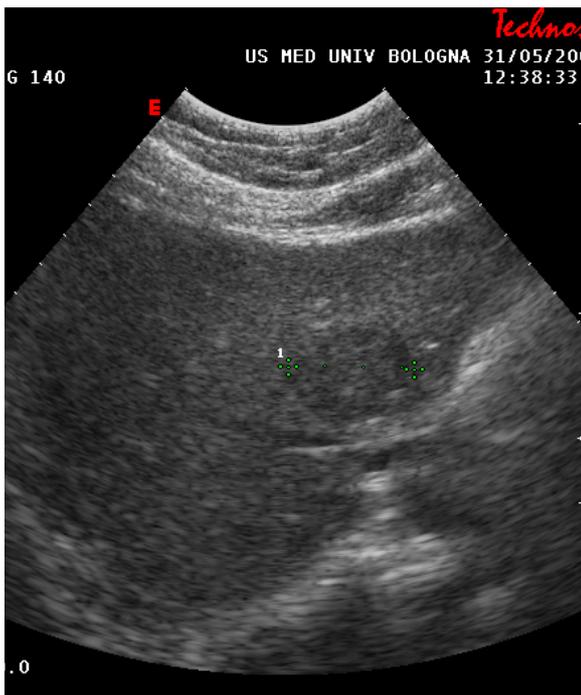


Fig. 7 - Metastasi epatica del segmento II. Si apprezza una formazione rotondeggiante lievemente ipoecogena di circa 30 mm.

La specificità dell’ecografia nel distinguere la natura primitiva o secondaria di una lesione focale epatica è bassa (Ferrucci, 1990). In assenza di specifiche indicazioni cliniche, la diagnosi differenziale delle metastasi epatiche deve essere posta verso varie lesioni, sia benigne che maligne; in particolare verso adenoma, iperplasia

nodulare focale, carcinoma epatocellulare, colangiocarcinoma, linfoma. Infatti, sebbene l'ecografia B-Mode permetta di rilevare, in condizioni ottimali, lesioni intorno al centimetro, non consente una sicura caratterizzazione della lesione (Cosgrove, 1981).

Ai fini della diagnosi differenziale tra malignità e benignità delle lesioni focali epatiche nei pazienti oncologici, sono state proposte due categorie principali di segni ecografici: a) Criteri di benignità: cisti tipiche, calcificazioni senza massa, area iperecogena senza effetto massa, piccole lesioni iperecogene di diametro inferiore a 3 cm; b) Criteri di malignità: alone ipoecogeno periferico, lesione focale ipoecogena su fegato non steatosico, noduli solidi multipli; l'accuratezza e la predittività di tali criteri risultano incrementate dalla contestuale presenza di alterazioni della funzionalità epatica (Bruneton, 1996), ma permangono sostanzialmente mediocri.

Colangiocarcinoma (CCC)

La diagnosi ecografica delle neoplasie della via biliare è molto impegnativa. Nei tumori di Klatskin, cioè tumori ad origine colangiocellulare con sede all'ilo epatico, il dotto epatico comune ed il coledoco non sono dilatati ed è impossibile dimostrare l'unione dei dotti epatici. Nonostante ciò queste neoplasie sono difficilmente differenziabili dai tumori epatici primitivi e dal colangiocarcinoma intraepatico.

Per quanto riguarda i tumori della via biliare principale, quelli che interessano il tratto prossimale determinano una precoce dilatazione del carrefour e delle vie biliare a monte. I tumori del tratto intrapancreatico del coledoco, vengono talvolta scambiati per tumori della testa del pancreas; se però interessano la papilla e derivano dal tratto pre-pancreatico del coledoco non determinano la dilatazione del Wirsung. Sono solitamente piuttosto ecogeni e producono un arresto netto del tratto di via biliare dilatato a monte; se questo è

particolarmente dilatato, possono essere osservate delle vegetazioni che aggettano nel lume.

Il colangiocarcinoma periferico si presenta come una massa omogenea, generalmente iper-ecogena, frequentemente accompagnata da noduli satelliti.

Ecografia convenzionale e Doppler nello studio delle lesioni focali epatiche solide

L'ecografia convenzionale è diffusamente considerata l'indagine di prima istanza nella valutazione della patologia epatica. La caratterizzazione delle lesioni focali solide è stata basata fino ai primi anni 2000 sulle caratteristiche ecografiche del B-Mode e sui pattern vascolari delle lesioni in Color, Power Doppler e analisi spettrale. Questi pattern B-Mode presentano discrete variabilità e quindi sovrapposizione degli aspetti delle lesioni benigne e maligne. Le tecniche Doppler danno informazioni utili circa la vascolarizzazione tumorale potenzialmente utilizzabili per la diagnosi differenziale tra le lesioni benigne e maligne. Tuttavia i pattern vascolari osservati al Color Power Doppler non sono specifici, mentre l'analisi spettrale Doppler quantitativa presenta difficoltà tecniche e richiede un certo livello di competenza che, nella routine, non è sempre disponibile, oltre ad offrire solo in alcune condizioni degli elementi diagnostici. Il Doppler, in più, è limitato quando le lesioni sono localizzate in profondità, e anche quando le stesse lesioni sono piccole o soggette ad artefatti da movimenti durante l'atto respiratorio e l'attività cardiaca (Gaiani, 2001). Pertanto l'individuazione delle lesioni focali solide nell'ultrasonografia epatica frequentemente conduce ad intraprendere ulteriori metodiche di imaging quali la TC (Tomografia Computerizzata) e la MRI (Risonanza Magnetica), pressoché immancabilmente con mezzi di contrasto.

Sviluppo dei mezzi di contrasto ecografici e tecnologie diagnostiche correlate

I mezzi di contrasto ecografici (MCUS), all'interno del corpo umano, aumentano l'impedenza acustica delle porzioni di corpo, tessuto, vaso in cui vengono a trovarsi, aumentando la riflessione del fascio di ultrasuoni incidenti. Si ottiene così un aumento del rapporto segnale-rumore e una maggiore capacità di distinguere i diversi tessuti. I MCUS sono stati sviluppati inizialmente per aumentare il segnale vascolare e quindi migliorare la sensibilità delle tecniche Doppler, con un effetto anche sulla possibilità di caratterizzare le lesioni focali epatiche col Doppler.

I MCUS sono costituiti da microbolle stabilizzate da membrane di diversa natura e contenenti gas, e una volta introdotti nel circolo ematico, mimano il comportamento dei globuli rossi. Le microbolle che li costituiscono non escono dai vasi. Possono essere iniettati nel circolo ematico sia per via endovenosa che endoarteriosa, in bolo o per infusione. Le prime esperienze risalgono al 1967 quando Gramiak e Shah durante un cateterismo cardiaco con iniezione di soluzione salina, eseguirono contemporaneamente anche un'ecografia B-Mode (Gramiak e Shah 1968 e 1969). La capacità di produrre contrasto fu dimostrata anche per soluzioni quali la soluzione fisiologica e mezzi di contrasto iodati sonicati o anidride carbonica. Le microbolle di questi primi rudimentali MCUS avevano alcuni limiti: un'elevata fragilità (o scarsa stabilità), un diametro poco uniforme, un'emivita molto breve (alcuni secondi) e non erano in grado di passare il circolo polmonare dopo somministrazione endovenosa.

L'uso clinico era limitato a studi sulla parete destra del cuore, dopo iniezione endovenosa. In caso di somministrazione endoarteriosa o intracardiaca (Meltzer, 1980), potevano fornire informazioni utili a fronte di un'invasività, che non li rendeva concorrenziali ad altre tecniche diagnostiche.

Sperimentalmente si può, infatti, rilevare che le bolle d'aria con diametro inferiore a $10\mu\text{m}$, diametro che permetterebbe loro di superare il filtro polmonare, una volta introdotte nel torrente circolatorio con iniezione endovenosa sopravvivono per circa 0.25

secondi (Epstein, 1950) a causa della tensione superficiale. Per ottenere delle microbolle capaci di passare il filtro polmonare e di sopravvivere abbastanza a lungo nel circolo ematico da migliorare il rapporto segnale/rumore a livello sistemico, era necessario “rafforzare” le bolle. Un grosso passo avanti si ottenne perciò quando le microbolle vennero circondate da una membrana stabilizzante.

Un buon mezzo di contrasto deve dunque rispondere ai seguenti requisiti:

- 1) avere buon riflettività
- 2) essere ben tollerabile
- 3) essere atossico e stabile per tutto il periodo dell’esame
- 4) non modificare la funzionalità degli organi soggetti ad analisi
- 5) poter essere espulso o metabolizzato da parte dell’organismo in un tempo relativamente breve
- 6) essere eventualmente in grado di distribuirsi e fermarsi a livello tissutale dopo un breve periodo di passaggio nei vasi

Gli MCUS di prima generazione sono caratterizzati da microbolle che contengono aria e che sono circondate da membrane di varia natura. Appartengono a questa classe i seguenti mezzi di contrasto: Alburnex (Molecular Biosystems e Mallinckrodt) costituito da microbolle stabilizzate da una membrana di albumina umana sonicata; Echovist (Schering AG) le cui microbolle sono stabilizzate da cristalli di galattosio; Levovist (Schering AG) le cui microbolle sono stabilizzate da cristalli di galattosio e da acido palmico.

Le bolle dei MCUS di prima generazione erano già meno fragili delle non stabilizzate, con un diametro più uniforme, in grado di passare il filtro polmonare e con persistenza nel sangue sufficientemente lunga da poter migliorare il rapporto segnale/rumore a livello del circolo periferico, dopo somministrazione endovenosa (Correas, 1997); tuttavia, queste microbolle restano relativamente fragili e possono essere distrutte nel corso della preparazione, durante l’iniezione o una volta iniettate e, in maniera non uniforme, dal passaggio nel

microcircolo polmonare, con efficacia diagnostica pertanto molto variabile per intensità e durata.

La ricerca di microbolle dotate di maggiore persistenza nel sangue e minore variabilità di risultato clinico, ha portato allo sviluppo dei MCUS di seconda generazione: SonoVue (Bracco Imaging), costituito da microbolle di esafluoruro di zolfo stabilizzate da fosfolipidi; Optison (Mallinckrodt, Inc.) le cui microbolle sono stabilizzate da albumina e contengono perfluoropropano; Imavist (Alliance Pharmaceuticals Corp. & Schering AG), costituito da microbolle stabilizzate da fosfolipidi e contenenti perfluoroesano; Definity (DuPont-Merck, Inc.) costituito da liposomi contenenti perfluoropropano; Sonazoid (Nycomed Imaging AS/Amersham Ltd) costituito da microbolle contenenti perfluorocarburi.

Queste microbolle sono in grado di passare facilmente il circolo polmonare, (il diametro medio oscilla tra 2 e 4 micron) sono relativamente resistenti nel circolo ematico e presentano una variabilità diagnostica intra e inter-individuale molto più bassa. Hanno una durata di effetto clinicamente utile di alcuni minuti e sembrano presentare, sulla base degli studi clinici di registrazione, un profilo di sicurezza di impiego molto elevato.

Ciò che ha cambiato realmente il ruolo dell'utilizzo dei MCUS che, come detto, erano stati inizialmente pensati per incrementare la sensibilità delle metodiche Doppler, è stato lo sviluppo di piattaforme (modifiche specifiche di software e hardware) dedicate ai mezzi di contrasto. Queste piattaforme sono in grado di enfatizzare il segnale proveniente dal contrasto rispetto a quello proveniente dai tessuti.

La filosofia di sviluppo di queste piattaforme si basa sull'utilizzo del comportamento armonico o non lineare delle microbolle. Infatti, le microbolle quando sono colpite da un fascio di ultrasuoni emettono un segnale armonico, che permette alla macchina di separare il segnale delle microbolle da quello dei tessuti circostanti (Neppiras,1983 ;

Frinking 2000). Un segnale, cioè che oltre alla frequenza fondamentale (quella cioè, emessa dalla sonda), presenta anche frequenze multiple e sotto multiple della fondamentale (frequenze armoniche). I tessuti riflettono invece quasi solo alla frequenza fondamentale. Il rapporto tra il segnale del contrasto e segnale del tessuto è quindi più alto alle frequenze armoniche con possibilità quindi di evidenziare soprattutto il segnale-contrasto.

Con lo sviluppo dei mezzi di contrasto di seconda generazione, dotati di microbolle capaci di una risposta armonica anche a basse pressioni acustiche, le piattaforme dedicate ai contrasti sono state modificate in modo da amplificare al massimo il segnale armonico, sviluppando di fatto una strategia che consente di conservare il più possibile le microbolle. Si sono sviluppate così piattaforme che non distruggono, o che distruggono minimamente, le microbolle. Tali piattaforme utilizzano segnali prodotti da ultrasuoni con bassa potenza acustica, utilizzando Indice Meccanico (MI) intorno allo 0.1 (o pressioni acustiche attorno ai 45kPas). Questo approccio permette di eseguire studi dinamici del microcircolo degli organi in studio e di eseguire valutazioni qualitative che non erano ipotizzabili con l'approccio iniziale. Il vantaggio reale sta nel fatto che con l'imaging a bassa potenza l'esame con il contrasto, dal punto di vista ergonomico, ritorna ad essere molto simile a quello tradizionale. Infatti, l'esame con il contrasto diventa un'osservazione in tempo reale della distribuzione delle microbolle nel micro e macrocircolo dell'organo in studio.

L'introduzione dell'imaging dedicato ai mezzi di contrasto sia ad alta sia a bassa potenza ha introdotto una nuova sensibilità dell'esame ecografico permettendo di studiare, anche dinamicamente, il microcircolo, cioè vasi inferiori ai 100 micron di diametro. Questa sensibilità ovviamente apre tutta una serie di applicazioni cliniche che erano impensabili fino ad ora.

L'applicazione clinica più rilevante è costituita dallo studio del microcircolo. E' possibile pertanto migliorare l'accuratezza

diagnostica sia di individuazione che di caratterizzazione delle lesioni focali epatiche (Wilson, 2000), e, sembra, anche di quelle di altri organi quali: mammella, prostata, rene, ovaio, milza, linfonodi ecc. In particolare con le tecniche in tempo reale è possibile studiare bene a livello del fegato sia la fase di distribuzione arteriosa che portale e tardiva.

L'utilizzo dei contrasti, soprattutto con le tecniche a bassa potenza, può essere utile anche nel follow-up dei tumori epatici sottoposti a trattamento loco-regionale, fornendo informazioni sulla efficacia del trattamento. In particolare è possibile monitorare immediatamente il risultato al termine del trattamento di ablazione, guidando eventuali successive applicazioni. In questo modo è possibile completare il trattamento in una unica seduta evitando di rinviare il paziente a domicilio e il ricorso a tecniche di imaging invasive e costose quali la TC e la RM.

Il rinforzo del segnale prodotto dal mezzo di contrasto può inoltre essere utilizzato per guidare il prelievo bioptico o nel follow-up delle lesioni tumorali in trattamento chemioterapico.

Impiego diagnostico di SonoVue nelle lesioni focali epatiche

SonoVue è un mezzo di contrasto di seconda generazione costituito da microbolle contenenti esafluoruro di zolfo stabilizzate da membrane di fosfolipidi con un diametro che non va oltre gli 8 μ . SonoVue è un mezzo di contrasto di tipo intravascolare poiché, una volta somministrato per via indovenosa, non diffonde nell'interstizio ma rimane nel torrente circolatorio. Esso nello studio del fegato, oltre ad avere una fase vascolare precoce (la fase arteriosa) tra 10 e 30 secondi dopo iniezione in vena periferica presenta una fase portale (25-80 secondi) e poi una fase tardiva parenchimale dovuta all'accumulo dello stesso mezzo di contrasto nei piccoli vasi del parenchima; quest'ultima fase ha durata di 1-3 minuti dalla somministrazione.

Vengono ora succintamente riportati gli aspetti ecocontrastografici delle diverse lesioni epatiche solide studiate con SonoVue ed impiegando la modalità continua CnTI (Contrasto Tuned Imaging). Tale procedura nel complesso è definita ANGIOECOGRAFIA PERFUSIONALE (CEUS).

Angioma

Una lesione che presenta un enhancement periferico globulare in fase arteriosa con riempimento centripeto in fase porto-venosa e tardiva è da attribuirsi a formazione angiomatosa (Cioni et al., 2004). Gli angiomi piccoli sono invece in genere persistentemente isoecogeni.

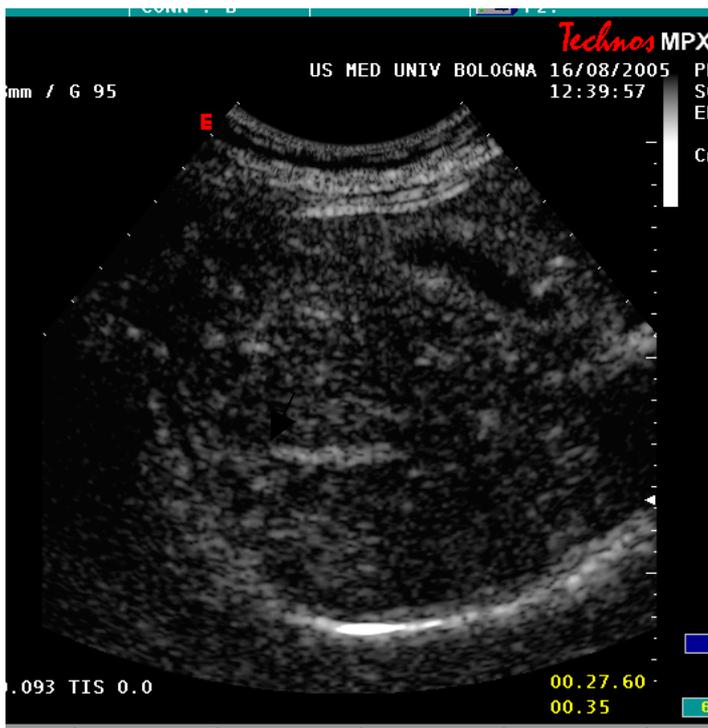


Fig. 8a – Angioma (fig. 1a) a carico del VII segmento. All'angiosonografia perfusionale con Imaging Armonico e mezzo di contrasto si mantiene isovascolare in tutte le fasi. Questa immagine si riferisce alla fase arteriosa (27 secondi dopo l'iniezione di SonoVue in vena periferica).

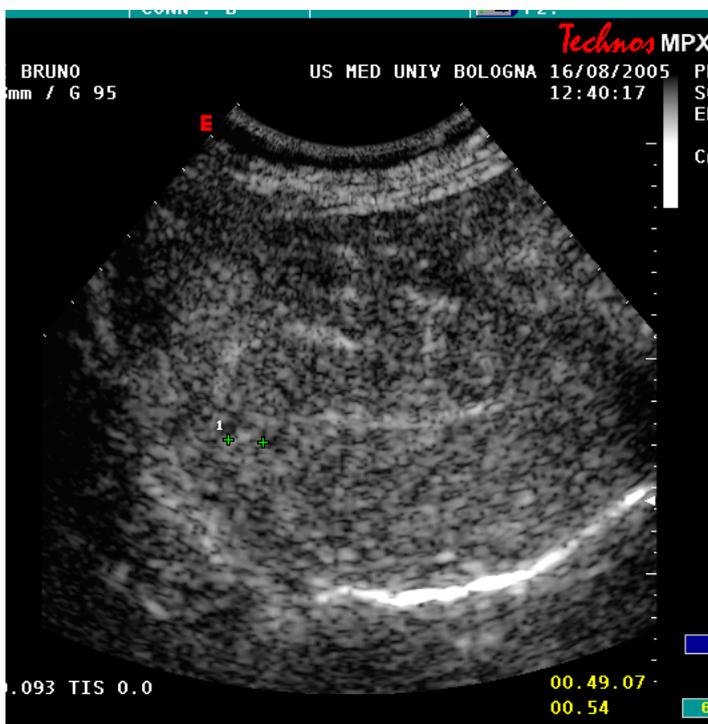


Fig. 8b – Stesso angioma della figura 11 a. Fase portale (50 secondi dopo l'iniezione).

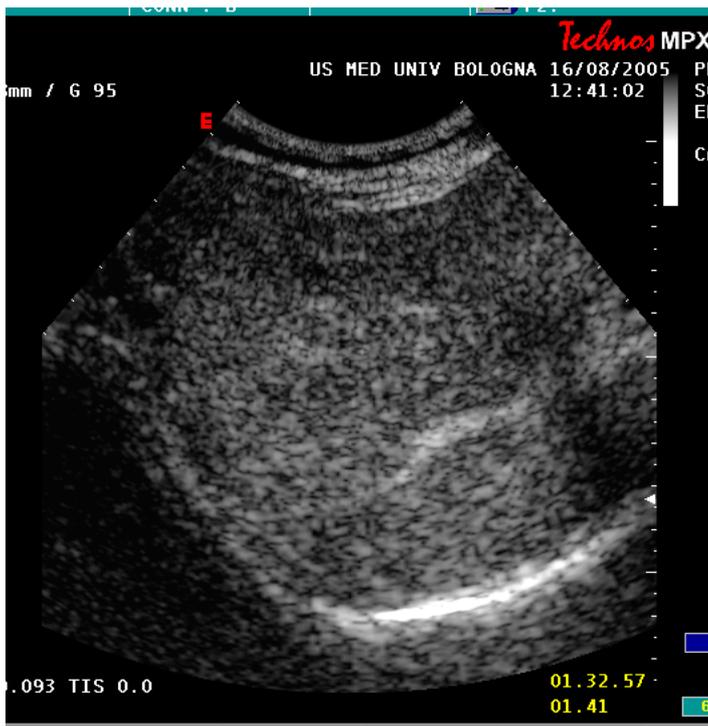


Fig.8c - Fase tardiva (93 secondi dopo l'iniezione).

Iperplasia nodosa focale

Un rapido ed omogeneo enhancement in fase arteriosa, con piccola cicatrice centrale ipoecogena, ed aspetto isoecogeno o sfumatamente iperecogeno in fase porto-venosa e tardiva è un reperto caratteristico dell'iperplasia nodulare focale .

Adenoma

L'adenoma epatocellulare, allo studio angiosonografico perfusionale, presenta un enhancement omogeneo o eterogeneo diffuso nella fase arteriosa, e un precoce wash out che la rende isoecogena nelle fasi successive a cominciare da quella portale precoce (Dietrich, 2005).

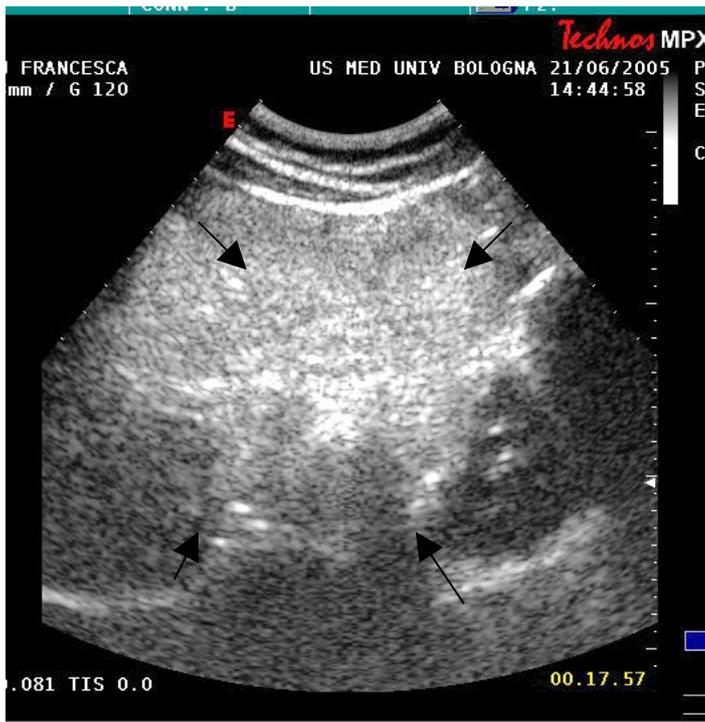


Fig 9a - Adenoma con mezzo di contrasto. All'ecocontrastografia la fase arteriosa evidenzia un enhancement omogeneo di tutta la lesione, che si presenta pertanto iperecogena.



Fig 9b - Adenoma con mezzo di contrasto, fase porto-tardiva. L'aspetto è isovascolare rispetto al parenchima circostante.

Steatosi focale

La steatosi focale dimostra un quadro ecocontrastografico privo di qualsiasi enhancement specifico, con un quadro complessivo di isoecogenicità in tutte le fasi.

Noduli su cirrosi

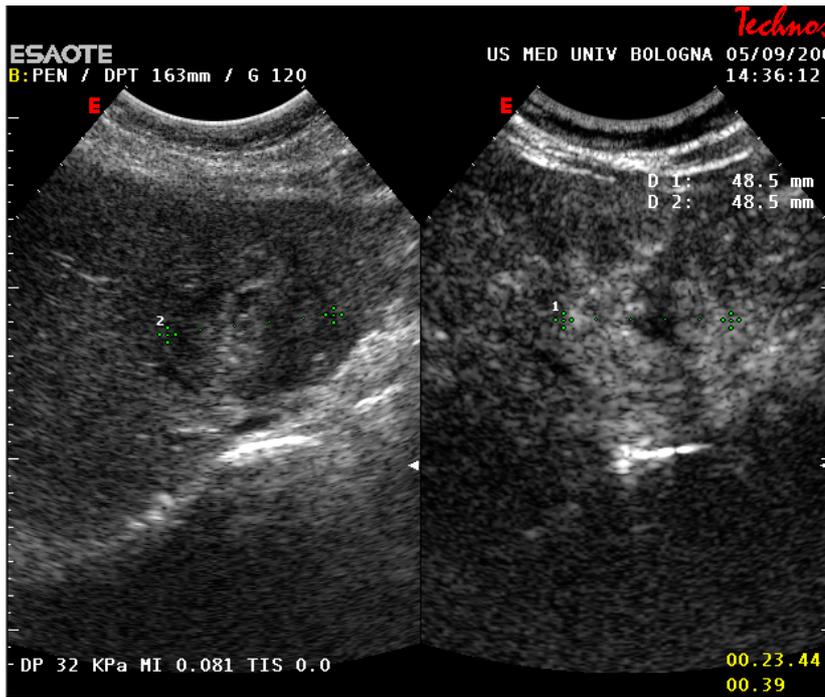
I noduli displastici presentano diversi aspetti che possono andare da un enhancement omogeneo lieve nella fase arteriosa all'assenza totale dell'enhancement. Nelle fasi portale e sinusoidale presentano tipicamente isoecogenicità.

tumor entity	arterial phase	PV phase	late phase
<i>haemangioma</i>			
typical features	peripheral-nodular E, no central E	partial/complete centripetal filling	complete E.
additional features	small lesion: complete, rapid centripetal E		non-enhancing a
	rim enhancement		
<i>FNH</i>			
typical features	hyper-enhancing, complete, early	hyper-enhancing	iso/hyper-enhanc
additional features	spoke-wheel arteries, centrifugal filling	hypo-enhancing central scar	hypo-enhancing
	feeding artery		
focal fatty sparing			
typical features	iso-enhancing	iso-enhancing	iso-enhancing
focal fatty change			
typical features	iso-enhancing	iso-enhancing	iso-enhancing
regenerating nodule			
typical features	iso-enhancing	iso-enhancing	iso-enhancing
other features	hypo-enhancing		
simple cyst			
typical features	non-enhancing	non-enhancing	non-enhancing
<i>adenoma</i>			
typical features	hyper-enhancing, complete	iso-enhancing	iso/hypo
additional features	non-enhancing areas	hyper-enhancing	non-enhancing a
		non-enhancing areas	
<i>abscess</i>			
typical features	rim E, no central E	hyper/iso-enhancing rim, no central E	hypo-enhancing
additional features	enhanced septa	hypo-enhancing rim	
	hyper-enhanced liver segment	enhanced septa	
		hyper-enhanced liver segment	

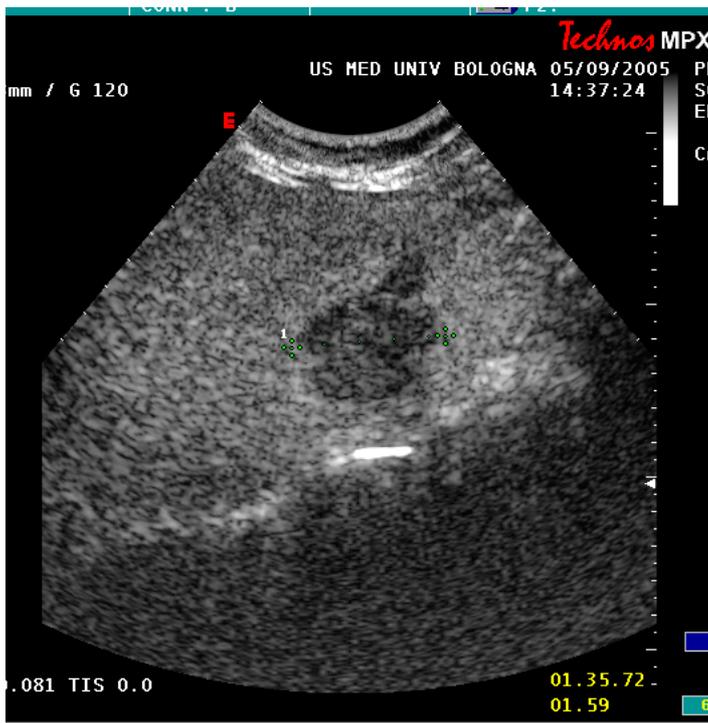
Tab. 1 riassunto di aspetto contrastografico di lesioni focali epatiche con CEUS, secondo le linee guida della EFSUMB pubblicato su *Ultraschall* nel 2008.

Metastasi epatiche

Le metastasi possono mostrare un enhancement omogeneo o un lieve enhancement periferico ad anello nella fase arteriosa o più spesso non si osserva enhancement. Nelle fasi portale e sinusoidale, le metastasi appaiono come delle lesioni marcatamente ipoecogene (wash-out rapido e totale del mezzo di contrasto).



*Fig. 10a –
Metastasi
epatica. Fase
arteriosa con
mezzo di
contrasto. La
lesione appare
iperecogena.*



*Fig. 10b - Metastasi
epatica. Fase tardiva. Si
evidenzia una marcata
ipoecogenicità.*

Colangiocarcinoma

Lo studio ecocontrastografico del colangiocarcinoma mostra nella fase arteriosa o un enhancement omogeneo od ad anello o anche talora

assenza di qualsiasi enhancement. Nelle fasi portale e sinusoidale dimostra un'ipoecogenicità marcata (wash-out rapido).

tumour entity	arterial phase	PV phase	delayed phase
<i>HCC</i>			
typical features (in cirrhosis)	hyper-enhancing, complete non-enhancing areas	iso-enhancing non-enhancing areas	hypo/iso-enhancing
additional features	basket pattern/chaotic vessels enhancing tumor thrombus in PV and/or HV		
atypical features	non-enhancing lesion	non-enhancing lesion	non-enhancing lesion
HCC in non cirrhotic liver	hyper-enhancing	hypo/non enhancing	hypo/non enhancing
<i>hypovascular mets</i>			
typical features	rim E	hypo-enhancing	hypo/non enhancing
additional features	complete E non-enhancing areas	non-enhancing areas	
<i>hypervascular mets</i>			
typical features	hyper-enhancing, complete	hypo-enhancing	hypo/non enhancing
additional features	chaotic vessels		
<i>cystic metastasis</i>			
typical features	hyper-enhancing nodular/rim component	hypo-enhancing	hypo-enhancing
<i>cholangiocarcinoma</i>			
typical features	rim E	hypo/non enhancing	hypo/non enhancing
additional features	non-enhancing		

Tab 2. Riassunto di aspetto contrastografico di lesioni focali epatiche maligne con CEUS, secondo le linee guida della EFSUMB pubblicato su Ultraschall nel 2008.

Rischi dell'Ecocontrasto

Per il rischio dei mezzi di contrasto ecografici vanno analizzati due fattori: 1) problemi legati alle molecole stesse di mezzi di contrasto, e 2) l'effetto dell'interazione delle microbolle con le onde ultrasonore. I costituenti delle microbolle sono stati attentamente studiati in modo da essere inerti e provvisti di membrane biocompatibili, gas che vengono o metabolizzati (ossigeno nelle microbolle con aria) o espirati (azoto, perfluorcarboni, esafluoruro di azoto), e non tossici. Per quanto siano particelle minuscole, esiste comunque una possibilità teorica che le microbolle possano embolizzare e chiudere i capillari, anche se è molto probabile che si tratti di un'embolizzazione fugace in quanto le microbolle si dissolvono rapidamente pochi minuti dopo l'iniezione. Nonostante questo, il foglietto illustrativo dei prodotti di mezzo di contrasto di solito raccomanda di essere cauti in pazienti con insufficienza cardiaca ed ipertensione polmonare.

Il secondo gruppo risulta dall'interazione delle onde ultrasonore con le microbolle; si tratta di un effetto prevalentemente meccanico. Le microbolle si espandono fino a oltre raddoppiare il loro diametro

durante la fase della depressione acustica. Questo può teoricamente causare rottura dei capillari, evento osservato con il microscopio in alcuni studi fatti sugli animali. Anche se la rottura di alcuni capillari può essere un evento normale (la tosse causa la rottura dei capillari polmonari, mentre la corsa i capillari del piede), la possibilità che tale espansione delle microbolle possa causare un danno permanente in alcuni tessuti come quello del cervello non si può escludere. Una volta finita l'espansione, le microbolle possono subire un collasso brusco e frammentarsi. E' proprio in questa fase che si possono raggiungere delle temperature alte, sebbene durino molto poco. Tali effetti sembrano nel complesso di scarsa entità, ma non vi sono finora dati clinici sufficienti a valutare il loro eventuale impatto.

Le caratteristiche delle capsule o membrane possono essere responsabili di eventuali effetti collaterali, come l'insorgenza di fenomeni anafilattici e sono in gran parte responsabili della cinetica del mezzo di contrasto ecografico nell'organismo, in particolare per quanto riguarda le possibilità di accumularsi all'interno degli organi.

Passando dagli aspetti teorici di potenziale rischio a quelli pratici, in Italia si possono analizzare i dati su larga scala di un solo mezzo di contrasto di prima generazione, il Levovist (ormai però molto poco usato) e di un solo mezzo di contrasto di seconda generazione, il SonoVue, correntemente usato nelle applicazioni di angioecografia perfusionale. Altri mezzi di contrasto non sono ancora entrati nella pratica clinica.

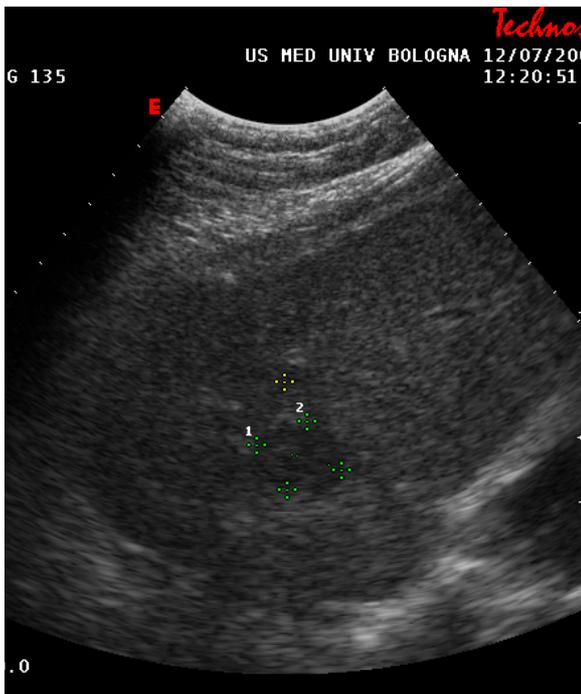
In Italia, SonoVue è stato messo in commercio alla fine del 2001. E' considerato, secondo i dati disponibili, sicuro ed è utilizzato in clinica sia nei pazienti ricoverati che in quelli trattati ambulatorialmente. Nessun evento avverso fatale è stato riportato nelle prove cliniche condotte per ottenere l'autorizzazione per la sua immissione in commercio. Nel maggio del 2004, tuttavia, la Bracco informò l'European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMEA) che la United States Food and Drug Administration nell'aprile dello

stesso anno aveva messo in sospenso i loro studi clinici in corso sull'imaging del fegato e l'imaging perfusionale del miocardio, basandosi sui dati circa il profilo di sicurezza del SonoVue ottenuti da rapporti di farmacovigilanza post marketing in Europa. Tre eventi gravi con esiti fatali in pazienti con malattie coronariche furono di particolare interesse, a causa della loro relazione temporale ravvicinata alla somministrazione di SonoVue in corso di imaging cardiaco.

In seguito alla rivalutazione del profilo di rischio-sicurezza del SonoVue da parte di esperti e in seguito alla classificazione degli eventi fatali come reazioni idiosincrasiche da ipersensibilità, non del tutto rare per gli iniettabili, l'European Committee for Human Medicinal Products (CHMP) ha tolto le restrizioni sull'utilizzo del farmaco nell'agosto del 2004, controindicandolo solo in quei pazienti con sindromi coronariche acute recenti (< 6 settimane) o in pazienti con altre condizioni di instabilità cardiaca. In una indagine condotta su un numero totale di 23,188 indagini di ecografia con contrasto addominale l'incidenza totale delle reazioni avverse gravi è stata quindi dello 0.0086% . SonoVue può pertanto essere utilizzato con tranquillità, purché siano seguite con attenzione le raccomandazioni riportate nel foglietto illustrativo. In particolare, il mezzo di contrasto va somministrato in un centro attrezzato di strumenti, farmaci e personale per trattare qualsiasi evento grave seppur raro. La stragrande maggioranza degli eventi avversi riportati, tuttavia, erano di intensità lievi e risolti spontaneamente. Vari studi clinici pubblicati hanno dimostrato che le ulteriori informazioni diagnostiche fornite dall'uso di SonoVue possono migliorare la gestione dei pazienti e la prognosi, e che il profilo di rischio/beneficio di SonoVue sia pertanto di gran lunga favorevole per il suo uso clinico di routine (Hohmann, 2003; Gaiani, 2004; Quiaia, 2004).

DIAGNOSI DI HCC

E' un tumore maligno primitivo di origine epatocitaria, più comune in Africa e Asia per la presenza di cancerogeni ambientali come l'aflatossina ed infezione virale cronica da parte del virus dell'epatite B . In Europa è comunque relativamente comune e si riscontra generalmente in pazienti cirrotici. Grazie ai programmi di screening e sorveglianza dei cirrotici ed alla maggiore sensibilità delle moderne apparecchiature di imaging, viene identificato sempre più precocemente, in particolare quando è ancora inferiore ai 3 cm di diametro. Le sue caratteristiche ecografiche dipendono da dimensioni, durata della malattia e caratteristiche patologiche. Può presentarsi come una lesione ipoecogena, isoecogena, o iperecogena.



*Fig. 11 – HCC del VIII segmento.
All'ecografia la lesione si presenta
come una formazione ovalare-
rotondeggiante ipoecogena.*

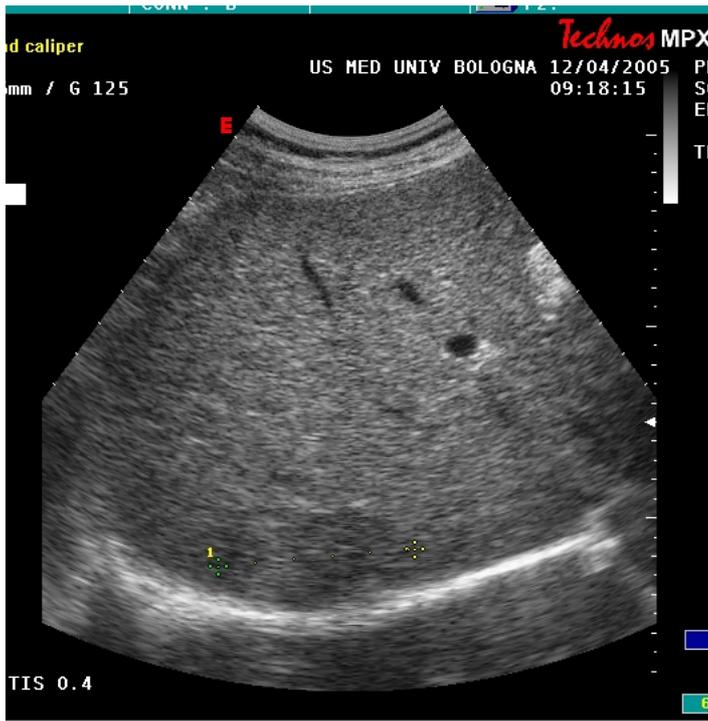


Fig. 12 – HCC del VII segmento. L'ecografia mostra una lesione a morfologia disomogenea.

Relativamente al Doppler, già nel 1987 venne descritta la presenza di abbondanti segnali arteriosi. Tali reperti non sono tuttavia specifici dell'HCC, potendo essere rilevati nell'iperplasia nodosa focale o nelle metastasi (Learch, 1993, Uggowitz, 1999), e talvolta nella cirrosi avanzata stessa, in relazione alla presenza di anastomosi artero-venose (Gaiani, 1990). L'utilizzo ai fini della diagnosi differenziale dei diversi pattern vascolari al color Doppler, proposta da Tanaka et al. (Tanaka, 1990), può essere di qualche utilità nelle lesioni di maggiori dimensioni. Questi Autori hanno identificato quattro pattern, attribuendo all'HCC il quadro di distribuzione di vasi "a canestro" oppure di "vaso intratumorale". La distribuzione che si trova più tipicamente nell'angioma, di dimensioni medio-grandi è lo "spot", nelle metastasi il "detour pattern".

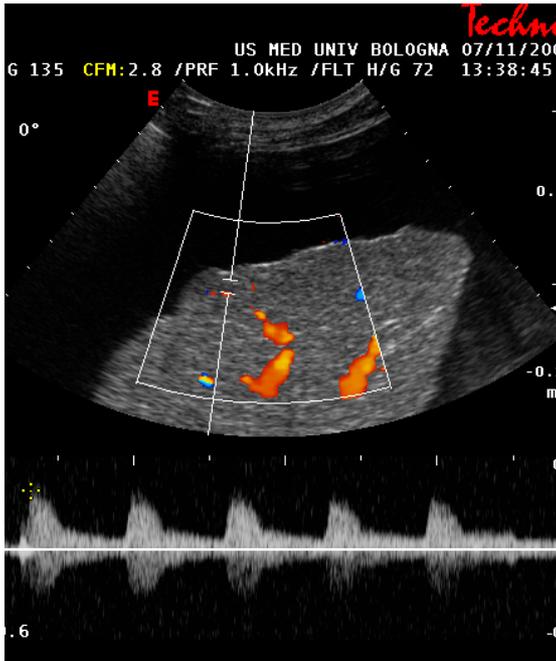


Fig. – 13 Piccolo nodulo di HCC parzialmente esofitico su cirrosi scompensata. Il Color Doppler dimostra distribuzione dei vasi “a canestro” e segnali di flusso ad alto picco ed alta resistenza.

L'aspetto all'angiosonografia perfusionale dell'epatocarcinoma è quello di un omogeneo enhancement nella fase arteriosa ed ipoecogenicità nella fase porto-venosa e tardiva (fig 14). Raramente vi possono essere nella fase arteriosa, enhancement periferico ad anello o enhancement eterogeneo. In oltre il 60% dei casi si osserva poi wash-out più o meno rapido nelle fasi portale e sinusoidale con comparsa di modica ipoecogenicità.

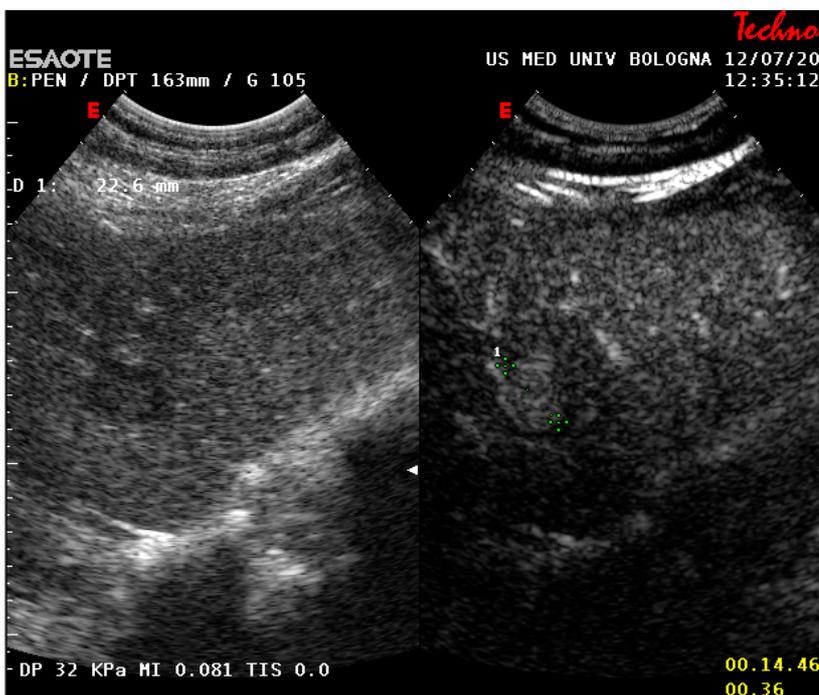


Fig. 14a - HCC con mezzo di contrasto. La fase arteriosa mostra una iperecogenicità (14 secondi da iniezione).

Da quanto esposto si desume chiaramente come la diagnosi differenziale tra le lesioni benigne e maligne riceva un grosso contributo dalle caratteristiche econtrastografiche (Von Herbay, 2004).

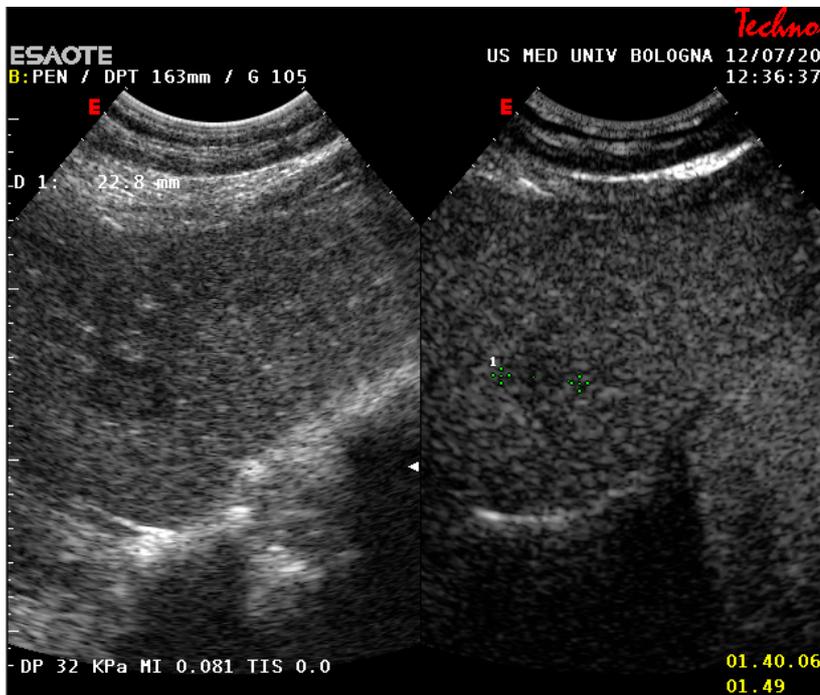


Fig. 14b - HCC con mezzo di contrasto. La fase tardiva mostra una tenue ipoecogenicità (100 secondi dall'iniezione)

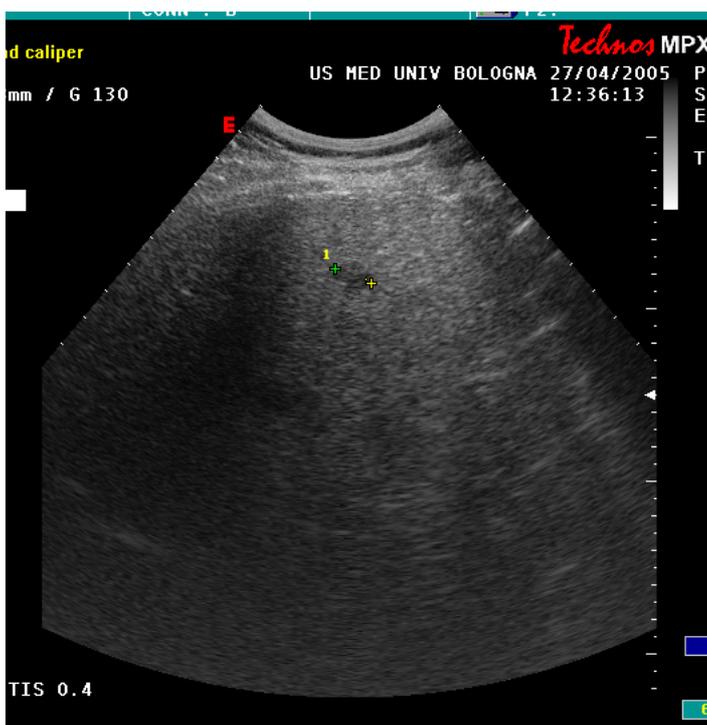


Fig. 15a - Piccolo HCC in scansione B-Mode (diagnosi confermata biotticamente).

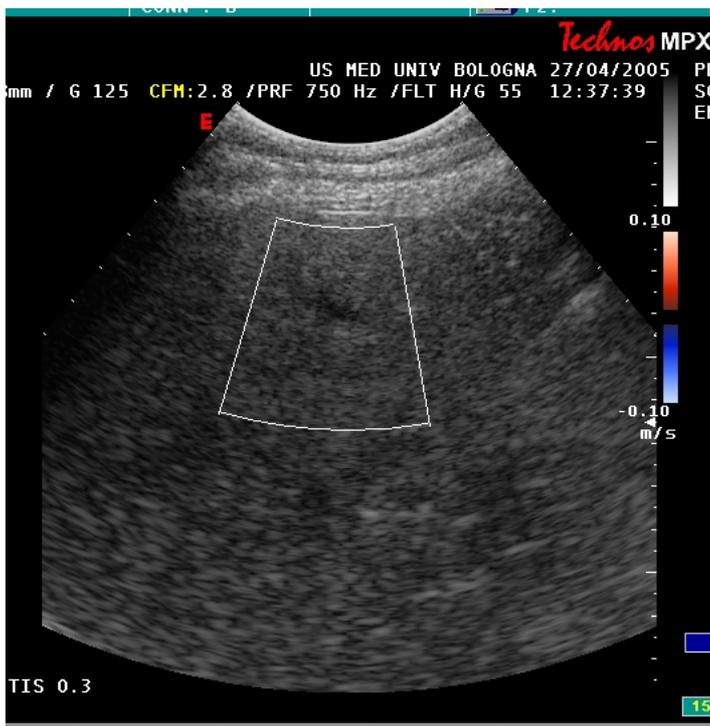


Fig. 15b - HCC valutato con Color Doppler. Assenza di segnali arteriosi o venosi.

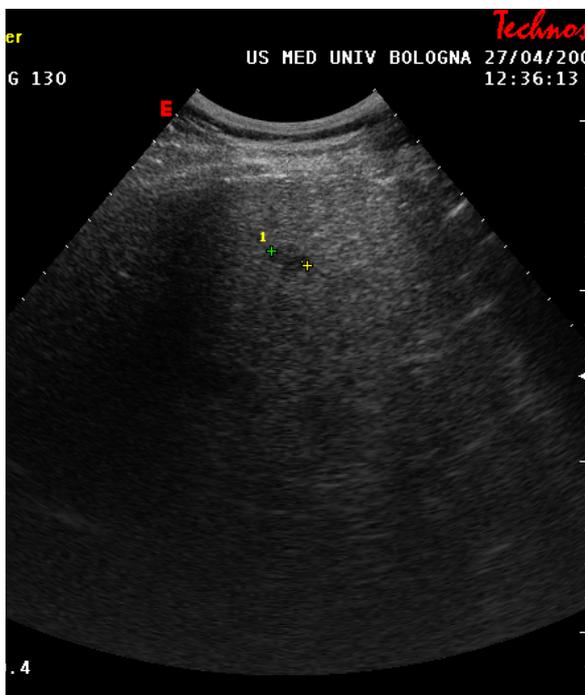


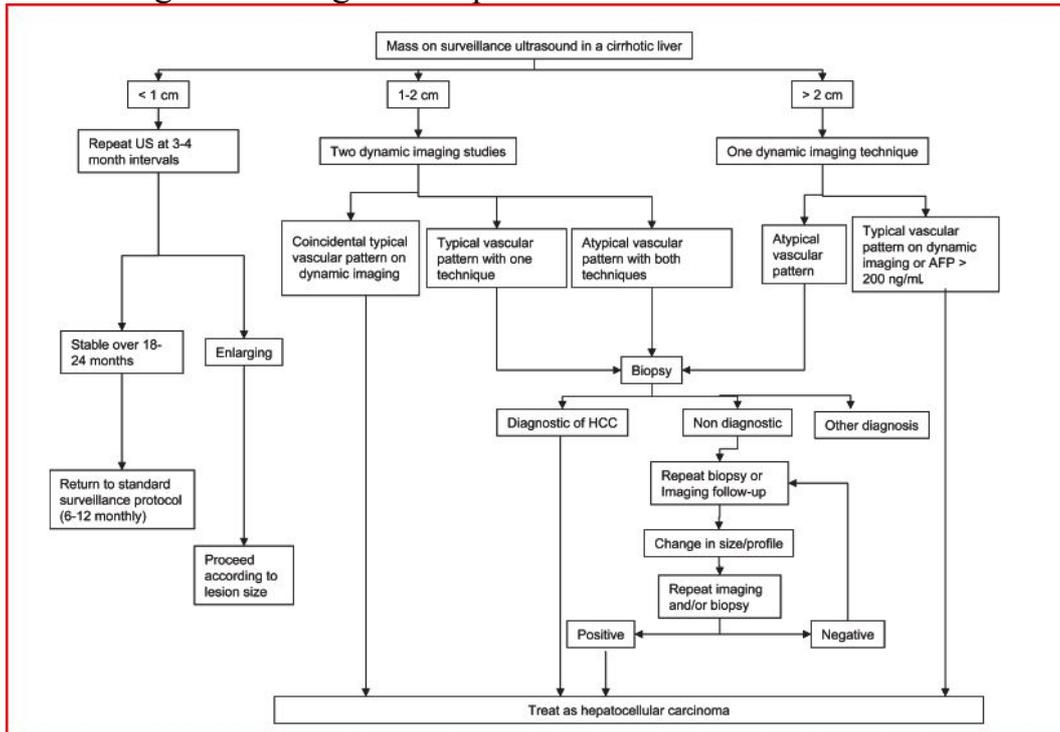
Fig. 15c - HCC ipovascolare con ecoangiografia perfusionale. La fase arteriosa mostra ipoecogenicità.

La cirrosi è il più importante fattore di rischio per il carcinoma epatocellulare (Bolondi L, 2001), che è il più comune tumore maligno primitivo del fegato. La prevalenza di cirrosi a livello mondiale è sconosciuta ma si stima che possa essere 100 casi (che varia dai 25 ai 400) ogni 100,000 soggetti. Tra i fattori eziologici per la cirrosi sono epatopatie croniche virali in particolare il virus dell'epatite C (HCV) e il virus dell'epatite B (HBV) o coinfezione del virus dell'epatite D (HDV) e HBV, abuso di alcol, epatite autoimmune, alterazioni metaboliche (emocromatosi, malattia di Wilson, deficit di alfa-1-antitripsina, steatoepatite non alcolica, diabete), cirrosi biliare primitiva, colangite sclerosante primitiva, disordini circolatori (Sindrome di Budd -Chiari), farmaci e tossine. L'incidenza di HCC sta aumentando ed è quasi duplicata negli ultimi 20 anni (Krinsky, 2001 ; Peterson, 2000). L'ecografia ed il dosaggio dell'alfa-fetoproteina sierica (AFP) sono le principali metodiche di screening per la diagnosi di HCC precoce nei pazienti con malattie croniche e cirrosi, anche in stadio iniziale. L'elevata risoluzione spaziale dell'US garantisce una buona sensibilità nella identificazione delle lesioni focali epatiche, ma presenta un minor potenziale nella caratterizzazione delle lesioni più piccole, in particolare nel fegato cirrotico (Harvey, 2001). L'imaging del fegato mediante ultrasuoni è stato rivoluzionato tecnologicamente negli ultimi dieci anni (Cohen, 2006), merito dei mezzi di contrasto a

microbolle che offrono l'opportunità di valicare i limiti dell'ecografia basale nella identificazione e caratterizzazione delle lesioni (Cosgrow DO, 2007)

Attualmente la diagnosi di HCC prevede l'impiego di tecniche di imaging, dosaggio di alfa fetoproteina ed eventuale biopsia. Secondo le linee guida della AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases), per lesioni con diametro maggiore di 2 cm che insorgono su fegato cirrotico con comportamento contrastografico tipico cioè ipervascularizzazione in fase arteriosa e wash out in fase tardiva con TC o RM od ecografia con mezzo di contrasto, la diagnosi può considerarsi conclusiva. Per lesioni di dimensioni tra 1 e 2 cm che insorgono su fegato cirrotico occorrono due tecniche di imaging con comportamento tipico per la diagnosi di certezza, diversamente la biopsia va fatta. Per lesioni di dimensioni minore di 1 cm su fegato cirrotico è raccomandato solo follow up ecografico ogni 3 mesi per i primi due anni fino a crescita o conferma di stabilità.

Tab 3. Algoritmo diagnostico per HCC raccomandato dalla AASLD



pubblicato su Hepatology nel 2005.

La diagnosi di HCC con le tecniche di immagine ed in particolare con CEUS su fegato cirrotico secondo le ultime linee guida prevede un comportamento contrastografico di ipervascolarizzazione nella fase arteriosa e wash-out nella fase tardiva. La CEUS è ormai una metodica ben accettata per la diagnosi ma il wash out nella fase tardiva presenta alcune difficoltà nel determinare il comportamento contrastografico in quanto valutato soggettivamente su display, infatti il giudizio di tale fase dipende molto dall'operatore e non è rarissimo che nascano discordanze tra operatori anche per piccole differenze.

SCOPO DELLO STUDIO

Recentemente è stato proposto un nuovo software (SonoLiver, Bracco, Italy) in grado di quantificare la perfusione delle lesioni durante CEUS. Nonostante ci siano vari studi pubblicati in letteratura circa il potenziale applicativo nel quantificare il segnale contrastografico durante CEUS (Ignee A, 2009), al momento non vi è alcun consenso di esperti per quanto riguarda l'indicazione nella pratica clinica. Pertanto scopi di questo studio pilota sono quelli di: 1) valutare l'impatto di questa nuova metodica di quantificazione con software nel rilevare caratteristiche contrastografiche tipiche dell'HCC in confronto con l'abituale giudizio soggettivo dell'operatore e 2) valutare la riproducibilità tra due operatori della metodica basata su software e ad occhio nudo.

PAZIENTI E METODI

Nel 2008 sono stati arruolati in modo prospettico 20 pazienti con almeno un nodulo di HCC su fegato cirrotico, 19 maschi e 1 donna tra 45 e 83 anni (mediana anni 69). Sono stati presi in considerazione quindi 20 noduli (di dimensioni mediane di 28 mm, range tra 12 e 95 mm) con diagnosi di HCC su fegato cirrotico. L'eziologia della cirrosi in 14 pazienti è stata di origine virale, in 2 etilica, 1 concomitanza virale e etilica ed in 3 criptogenetica. La diagnosi di HCC è stata raggiunta con l'impiego di tecniche di imaging in ambito radiologico o/ con impiego della biopsia quando necessario, secondo le ultime linee guida previste dalla AASLD. Sono state incluse solo lesioni con diagnosi definitiva di HCC con presenza di parenchima epatico sano circostante agevolmente esplorabile ed escluse tutte le lesioni per cui non è stato possibile stabilire la diagnosi di HCC o/e con impossibilità di esplorabilità di parenchima epatico sano circostante. Sono state escluse anche lesioni precedentemente trattate. Tutti i pazienti hanno dato consenso orale per partecipare allo studio e scritto alla somministrazione di mezzo di contrasto. Lo studio è stato condotto secondo ed in linea con la dichiarazione di Helsinki.

Tecnica ecografica con mezzo di contrasto

Su ciascun nodulo di HCC è stato effettuato ecografia con mezzo di contrasto (SonoVue) impiegando l'ecografo MyLab (Esaote, Genova, Italia) secondo protocollo descritto a seguire. Il protocollo prevedeva l'esecuzione di ecografia con mezzo di contrasto da parte di operatore esperto, con somministrazione di SonoVue per via venosa 2.4 mL seguito da lavaggio con 5 mL di soluzione fisiologica. L'esame durava circa 5-6 minuti dalla somministrazione del mezzo di contrasto eseguita mantenendo sempre la medesima scansione per limitare artefatti prodotti durante gli atti respiratori. I filmati sono stati esportati su una piattaforma video che permetteva di comprimere le immagini per poterle elaborare in un secondo momento con modalità off-site con SonoLiver, un nuovo programma in grado di analizzare segnale contrastografico ecografico. I filmati sono stati pertanto analizzati da due operatori ecografisti con almeno 2 anni di esperienza nel campo della ecografia internistica. Nessuna reazione avversa è stata osservata né durante né immediatamente dopo la somministrazione di SonoVue. Segue breve descrizione della nuova metodica ed aspetti tecnici correlati.

SonoLiver®

L'osservazione del segnale vascolare dinamico (DVP, Dynamic Vascular Patterns) delle lesioni focali epatiche ottenuto nel corso di un

esame ecografico con mezzo di contrasto permette ai clinici di stabilire grossolanamente la natura benigna o maligna di tali focalità. SonoLiver è un software di quantificazione che è stato ideato per aiutare la caratterizzazione delle lesioni focali epatiche sfruttando, appunto, la differenza tra la cinetica perfusionale del mezzo di contrasto delle lesioni focali e del parenchima sano del fegato preso come riferimento. Questo è possibile grazie alla peculiarità del mezzo di contrasto ecografico nel rimanere sempre nello spazio intravascolare a differenza di mezzi di contrasto usati nella TC e nella RMN. Inizialmente SonoLiver fu concepito come aiuto strumentale nella diagnosi differenziale tra le lesioni focali epatiche benigne e maligne (Rognin N, 2007).

SonoLiver opera pertanto elaborando il segnale vascolare dinamico denominato *DVP processing* che è un'operazione che genera una sequenza elaborata ed ottenuta sottraendo un segnale di riferimento da segnali di pixel, rappresentata con una formula matematica la cui trattazione esula dallo scopo del questo lavoro. Il rationale di tale metodica si basa su comportamento diverso della cinetica del mezzo di contrasto nel parenchima sano epatico preso come riferimento ed all'interno del microcircolo delle lesioni focali.

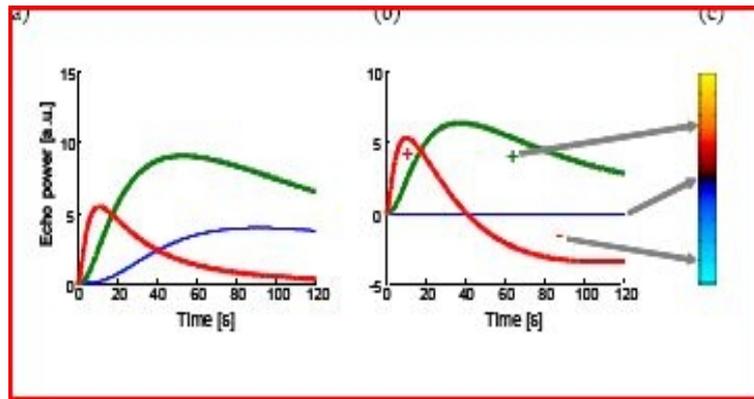


Fig 16.(a) Simulation of the perfusion kinetics of healthy liver parenchyma taken as the reference (blue solid line), of a hypervascular metastasis (red dash-dot line) and of a hemangioma (green dashed line),(b) DVP processing based on relative kinetics with respect to the reference,(c) bipolar colormap, coding in warm and cold colors the positive and negative DVP values, respectively, resulting from subtraction.

Motion compensation

Una delle principali limitazioni presenti in una sequenza di immagini e' la presenza di movimenti dovuti all'atto respiratorio o anche movimenti della sonda che ne degradano la qualità. Adattamento o aggiustamento manuale di ciascuna immagine richiede tempo e pertanto non e' pratico. Si e' pensato di automatizzare tale passaggio e quindi prima di applicare la funzione DVP processing si avvia questa altra funzione denominata Motion Compensation. Motion Compensation funziona operando la determinazione di trasformazione

geometrica ottimale di una immagine galleggiante rispetto un immagine di riferimento.

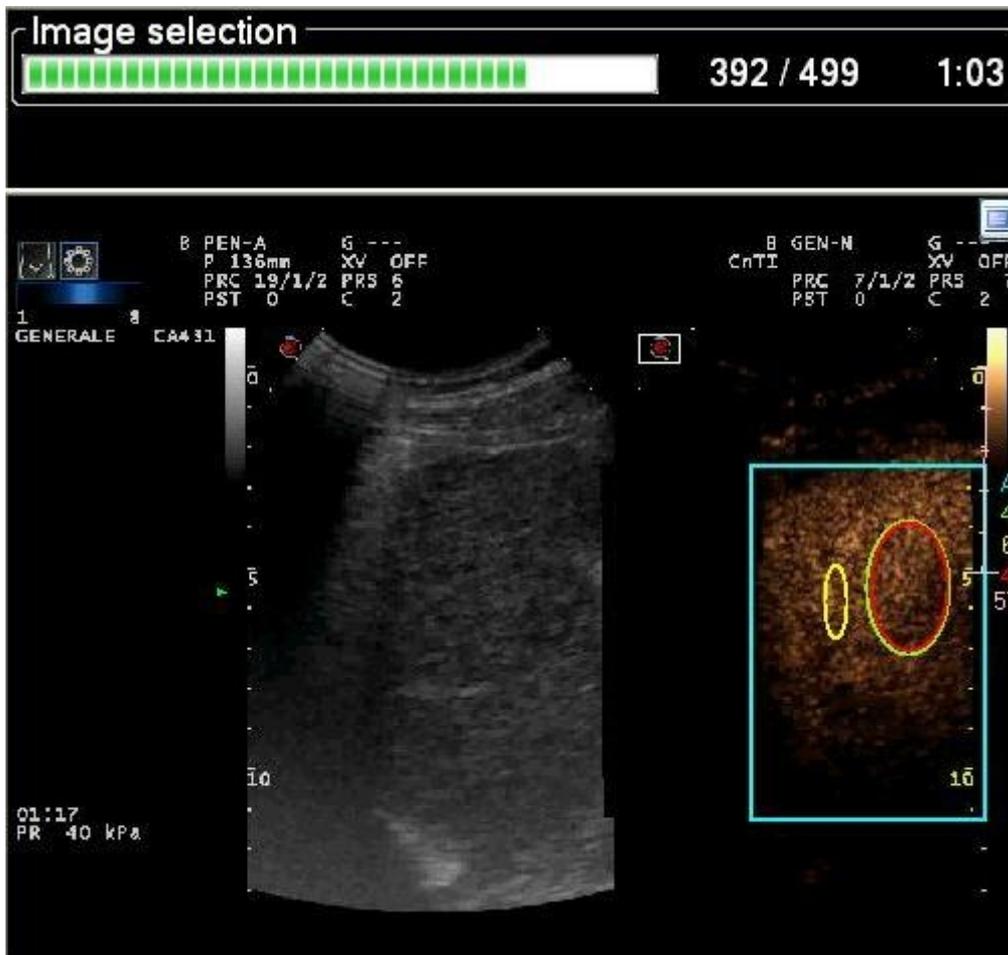


Fig. 17 Grafica di SonoLiver al termine della analisi. Quadrante azzurro indica regione di interesse che delimita l'area dove viene applicata la funzione motion compensation. Cerchio giallo piccolo indica regione di interesse di riferimento di parenchima sano. Cerchio rosso all'interno di cerchio giallo grande indica regione di interesse di analisi che si riferisce alla lesione in questione.

Quantificazione perfusionale

Tutti i video clip sono stati archiviati in formato AVI e sono stati analizzati da due operatori dopo un periodo di formazione da parte degli ingegneri ideatori del programma SonoLiver®. Per quantificare la perfusione parenchimale è stato impiegato SonoLiver® (Bracco, Italy), un software in grado di generare segnale vascolare dinamico (DVP) rappresentato in serie di curve che mostrano la cinetica del mezzo di contrasto all'interno della lesione delimitata come ROI (Region of interest) prendendo come punto di riferimento parenchima epatico sano, localizzato alla stessa profondità della lesione in questione, evitando grossi vasi e rimanendo sempre nel contesto del parenchima epatico. Quando necessario il programma correggeva la posizione della ROI in automatico su ogni immagine così minimizzando gli artefatti creati durante gli atti respiratori. I parametri così risultati forniti in Excel sono i seguenti: Area Under the Curve (AUC), Mean Transit Time (mTT), Perfusion Index (PI), Time to Peak (TTP), Maximum Intensity (IMAX), Time delay (TD), Rise Time (RT) e Quality of Fit (QOF).

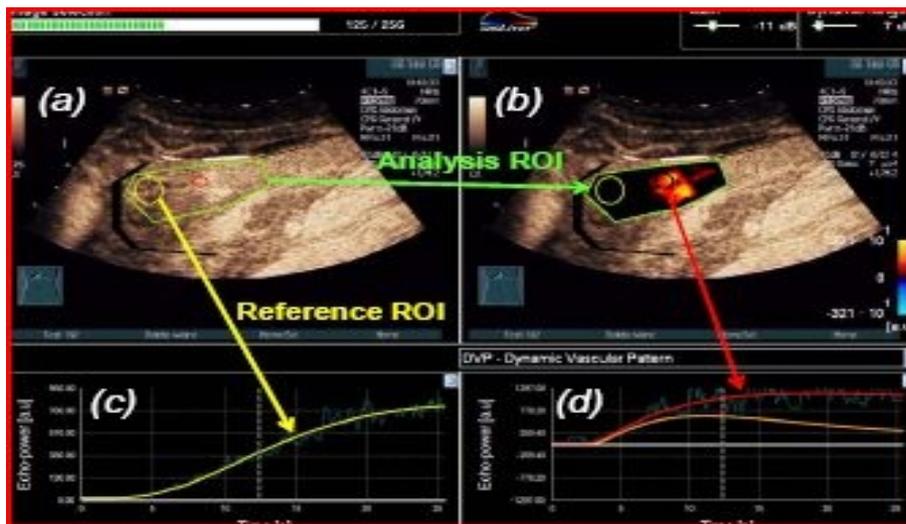
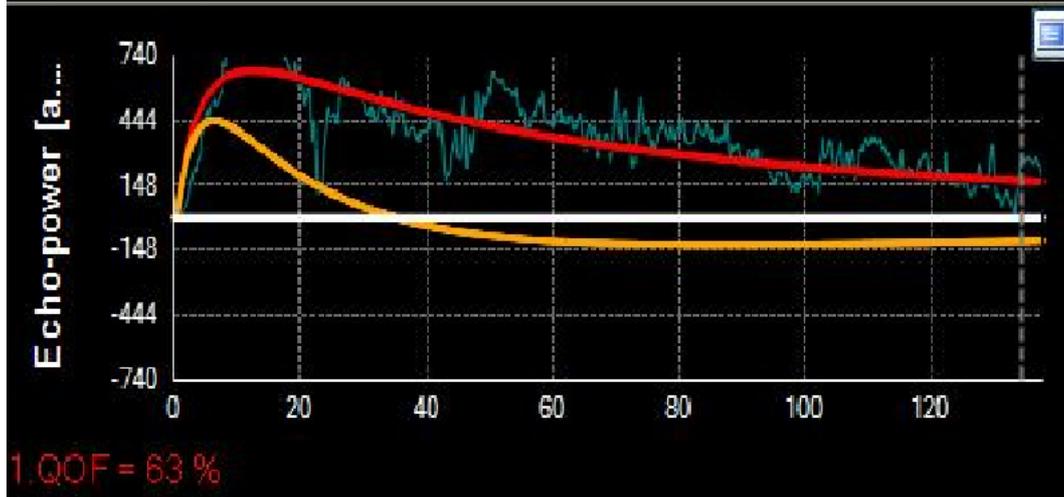


Fig. 18 Grafica di SonoLiver®. (a) Sequenze di immagini di contrasto di base (b) Sequenze elaborate (c) Segnale di riferimento. (d) Best-fit model function (rosso) e segnale DVP (arancione) nella lesione (angioma).

L'interpretazione delle curve tempo-intensita' e' stato stabilito secondo il seguente ragionamento. Mentre i filmati degli esami ecografici sono stati dapprima valutati ad occhio nudo a discrezione dell'operatore invece per le curve tempo-intensita' ottenute con DVP processing si e' cercato di standardizzarne l'interpretazione in modo non arbitrario la valutazione delle curve ottenute con DVP. Quindi curve al di sopra della linea asse di 25 unità di Eco-Power vengono considerati come ipervascolarizzazione mentre al di sotto di 25 unità di Eco-Power vengono considerati ipovascoalare, la figura 18 dimostra un'ipervascolarizzazione nella fase arteriosa ed ipovascolarizzazione

nella fase tardiva. I valori di Eco Power tra 25 e meno 25 si sono considerati isovascolari.

Fig 19 Esempio di curve elaborate con DVP. La curva rossa indica il



segnale contrastografico nel parenchima sano mentre la curva arancione indica il segnale contrastografico all'interno di una lesione.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Impatto di SonoLiver sulla diagnosi di HCC.

Lo studio delle lesioni di HCC con la nuova metodica di quantificazione del segnale contrastografico ha dimostrato di essere performante in termini di sensibilità, in particolare modo nella fase arteriosa operatore 1 ha evidenziato ipervascolarizzazione di due lesioni in più rispetto la CEUS convenzionale e pertanto maggior confidenza nella diagnosi di HCC. In questo modo operatore 1 avrebbe risparmiato ulteriori indagini in 10% delle lesioni (Tabella 3). Nella fase tardiva tutti e due gli operatori hanno ottenuto ulteriori ipovascolarizzazioni in 15% delle lesioni rispetto la CEUS convenzionale.(Tabella 4).

Tab 3. Riassunto di risultati tra due operatori della fase arteriosa

		OPERATORE 1		OPERATORE 2	
Fase	Giudizio diagnostico	Tutte le lesioni (primo sottogruppo)	Lesioni < 5 cm (secondo sottogruppo)	Tutte le lesioni	Lesioni < 5 cm
Arteriosa	Confermato dato CEUS convenzionale	14/20(70%)	12/16(75%)	13/20(65%)	12/16(75%)
Arteriosa	Maggior confidenza nella diagnosi	2/20(10%)	2/16(10%)	5/20(25%)	4/16(25%)
Arteriosa	Guadagno diagnostico	3/20(15%)	1/16(6%)	1/20(5%)	0/16(0%)
Arteriosa	Perdita diagnostica	1/20(5%)	1/16(6%)	1/20(5%)	0/16(0%)
Arteriosa	Ulteriori indagini risparmiate	2/20(10%)	0/16(0%)	0/20(0%)	0/16(0%)

Sono stati considerati due sottogruppi di lesioni, il primo sottogruppo di lesioni comprende tutte le lesioni in questione mentre il secondo sottogruppo prende in considerazione le lesioni di dimensione minore di 5 cm, cioè quelle in cui il dubbio diagnostico su malignità verso benignità è molto più consistente. Nel primo sottogruppo di lesioni, operatore 1 ha riscontrato 14 lesioni su 20 (70%) che hanno evidenziato ipervascolarizzazione in fase arteriosa confermando il dato della CEUS convenzionale (cioè la CEUS attuale intesa come econgrefai conmezzo di contrasto valutata soggettivamente su schermo da operatore ad occhio nudo), mentre nel secondo sotto gruppo di lesioni 12 su 16 lesioni hanno mostrato lo stesso comportamento. In tre lesioni su 20 si è potuto assistere ad un riscontro di ipervascolarizzazione in fase arteriosa nel primo sotto gruppo che operatore 1 non aveva valutato come tale ad occhio nudo con la CEUS convenzionale mentre in una lesione non si è confermato il dato della CEUS convezzionale di ipervascolarizzazione così assistendo ad una apparente perdita diagnostica. Operatore 1 pertanto avrebbe risparmiato ulteriori indagini in due casi (10%) in quanto avrebbe riscontrato i criteri di diagnosi secondo linee guida. Per quanto riguarda operatore 2 le lesioni del primo sottogruppo che hanno confermato i dati della CEUS convenzionale ad occhio nudo sono stati 13 su 20 e 12 su 16 lesioni del secondo sottogruppo. Operatore 2

non avrebbe risparmiato ulteriori indagini in quanto ha riscontrato una ipervascolarizzazione ma non ha potuto confermare l'ipervascolarizzazione di un'altra lesione che aveva già notato ad occhio nudo, verificandosi così un caso di guadagno diagnostico ed un caso di una perdita diagnostica.

Tab 4. Riassunto di risultati tra due operatori nella fase tardiva

Fase	Giudizio diagnostico	OPERATORE 1		OPERATORE 2	
		Tutte le lesioni (primo sottogruppo)	Lesioni < 5 cm (secondo sottogruppo)	Tutte le lesioni	Lesioni < 5 cm
Tardiva	Confermato dato CEUS convenzionale	11/20(55%)	10/16(63%)	12/20(60%)	10/16(60%)
Tardiva	Maggior confidenza nella diagnosi	5/20(25%)	1/16(7%)	3/20(15%)	1/16(6%)
Tardiva	Guadagno diagnostico	3/20(15%)	2/16(13%)	3/20(20%)	3/16(19%)
Tardiva	Perdita diagnostica	0/20(0%)	0/16(0%)	1/20(5%)	1/16(6%)
Tardiva	Ulteriori indagini risparmiate	3/20(15%)	2/16(13%)	3/20(15%)	2/16(13%)

Nella fase tardiva operatore 1 ha potuto confermare il dato dell'CEUS convenzionale di ipovascolarizzazione in 11 lesioni su 20 nel primo sotto gruppo mentre 10 su 16 nel secondo sottogruppo di lesioni. Ha inoltre notato 3 lesioni con ipovascolarizzazione che non aveva valutato come tali ad occhio nudo pertanto operatore 1 avrebbe risparmiato ulteriori indagini in tre casi nel primo sottogruppo e di 2 casi nel secondo sottogruppo di lesioni. Operatore 2, dall'altra parte, ha potuto confermare l'ipovascolarizzazione in 12 su 20 lesioni e 10 su

16 lesioni rispettivamente nel primo e secondo sottogruppo di lesioni evidenziando 4 ipovascolarizzazioni che non aveva notato ad occhio nudo ed un 1 caso invece senza poter confermare l'ipovascolarizzazione che aveva già notato ad occhio nudo così facendo avrebbe risparmiato ulteriori indagini in 3 casi per le lesioni del primo sottogruppo in due casi per le lesioni del secondo sottogruppo.

Nel complesso Operatore 1 ha rilevato ipervascolarizzazione in fase arteriosa in 17/20 pazienti con valutazione ad occhio nudo su schermo e su 19/20 con le curve ottenute con curve DVP (+10% sensibilità) mentre operatore 2 ha rilevato ipervascolarizzazione in fase arteriosa 19/20 pazienti sia con valutazione ad occhio nudo che con le curve DVP. Nella fase tardiva il wash-out è stato rilevato in 8/20 ad occhio nudo e 11/20 pazienti con le curve DVP (sensibilità aumenta da 40% a 55%) mentre operatore 2 ha rilevato rispettivamente 8/20 e 11/20 (sensibilità aumenta da 40% a 55%).

Impatto di SonoLiver sulla riproducibilità nella definizione dei pattern CEUS.

Per quanto riguarda la concordanza tra i due operatori; nella fase arteriosa ad occhio nudo i due operatori concordano in 18 su 20 (90%) e in 15 su 16 (94%) rispettivamente nelle lesioni del primo e secondo sottogruppo. Lo stesso risultato di concordanza tra i due operatori si è

ottenuto (90% e 94%) nella valutazione delle lesioni con utilizzo di SonoLiver. Anche nella fase tardiva la concordanza e' presso che identica di quella fase arteriosa.

Tab 5. Riassunto di risultati della riproducibilità tra due operatori

Fase	Concordanze operatore 1 e 2
Arteriosa	Ad occhi nudo: 18/20 e 15/16 rispettivamente primi e secondi sottogruppi
	Con Sonoliver: 18/20 e 15/16 rispettivamente primi e secondi sottogruppi
Tardiva	Ad occhi nudo: 18/20 e 14/16 rispettivamente primi e secondi sottogruppi
	Con Sonoliver: 18/20 e 14/16 rispettivamente primi e secondi sottogruppi

DISCUSSIONE

La diagnosi non invasiva di HCC con le tecniche di immagine ed in particolare con CEUS su fegato cirrotico secondo le ultime linee guida (AASLD) prevede un comportamento contrastografico di ipervascolarizzazione nella fase arteriosa e wash-out nella fase tardiva. CEUS è ormai una metodica accettata per la diagnosi ma il wash out nella fase tardiva presenta alcune difficoltà di riconoscimento, in quanto non è marcato come nel caso di lesioni metastatiche, ma in una discreta percentuale di casi può essere molto lieve o addirittura apparentemente assente, come riportato in una nostra casistica del 2005 (Bolondi, 2005). Tale difficoltà di riconoscimento, che rende l'ecografia meno sensibile di altre metodiche potrebbe in parte essere legata al giudizio soggettivo ad occhio nudo su schermo nel determinarne il comportamento

contrastografico. Infatti il giudizio di tale fase dipende molto dall'operatore e non è rarissimo che nascano discordanza tra operatori anche per piccole differenze, mentre con altre metodiche come la TC è possibile quantificare il dato con unità di intensità di segnale specifiche (unità Hounsfield per esempio). E' infatti comunissimo leggere dei referti con avverbi come sfumatamente, lievemente, disomogeneamente ipervascolare/ipovascolare e pertanto molte volte e' necessario procedere con altre indagini, non essendo certo il comportamento. Tali altre indagini possono andare dalle metodiche di imaging pesanti come la TAC e RMN a metodiche invasive come la biopsia. Come ben sappiamo la TC con mezzo di contrasto può determinare nefrotossicità e di solito sono necessari accertamenti laboratoristici precontrastografici. La biopsia a sua volta puo' non essere diagnostica, la lettura istologica puo' risultare non dirimente tra forme maligne ben differenziate e forme preneoplastiche ed alcune volte bisogna ripetere la biopsia. Alcune volte l'approccio bioptico comporta inoltre il potenziale rischio di complicanze non indifferenti come emorragia e rischio di disseminazione il tumore lungo il tragitto dell'ago (Torzilli, 1999)

Recentemente è stato proposto un nuovo software (SonoLiver, Bracco, Italy) in grado di quantificare la perfusione delle lesione durante CEUS. In uno studio condotto da Nicolas G. Rognin nel 2007 ed

pubblicato in occasione della IEEE Ultrasonics Symposium ha dimostrato che il SonoLiver e' risultato essere almeno performante quanto CEUS convenzionale valutata ad occhio nudo dall'operatore per quanto riguarda la sensibilita' e leggermente più performante in termini di specificita' nella diagnosi differenziale tra lesioni focali epatiche benigne e maligne.

Nell'attuale studio pilota SonoLiver si e' rivelato altrettanto performante quanto il CEUS nella diagnosi di HCC e particolarmente utile nel riconoscimento del wash-out nella fase tardiva. Infatti non solo ha confermato l'ipervascolarizzazione della fase arteriosa di pressoché la totalità dei noduli di HCC ma ha rivelato l'ipervascolarizzazione di 3 lesioni che i due operatori ad occhio nudo non avevano valutato come tali.

I limiti di questo studio pilota sono rappresentati che in alcune lesioni la CEUS stessa e' stata impiegata come metodica di diagnostica, questo e' avvenuto in quanto in alcune lesioni si e' reso necessario la conferma con un'altra metodica dopo la TC o la RMN. Le linee guida in questo caso consigliano che sia la CEUS ad essere la seconda metodica. Un altro apparente limite e' strettamente legato alle modalita' di compressione delle immagini dei video clip prima di analizzarle con SonoLiver. Questo e' un limite di tipo tecnico che potrà essere risolto in futuro con l'avanzamento tecnologico che ci

permetterà di avere a disposizione macchinari più performanti che renderanno possibile l'analisi di intere video clip senza dover comprimere le immagini.

In conclusione la quantificazione perfusionale dell'ecografia con contrasto mediante software SonoLiver sembra essere uno strumento promettente nella diagnosi di HCC su fegato cirrotico, in quanto aumenta la capacità di riconoscere aspetti tipici contrastografici di noduli di HCC e pertanto permetterebbe di porre la diagnosi di HCC con maggiore confidenza.

BIBLIOGRAFIA

Bartolotta T, Midiri M, Quaia E et al. Benign focal liver lesions: spectrum of findings on SonoVue-enhanced pulse-inversion ultrasonography. *Eur Radiol* 2005; Feb Epub, ahead of print.

Bolondi L, Sofia S, Siringo S et al(2001) Surveillance programme of cirrhotic patients for early diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: a cost-effectiveness analysis. *Gut* 48:251–259

Bolondi L, Gaiani S, Celli N et al. Characterization of small nodules in cirrhosis by assessment of vascularity: the problem of hypovascular hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005; 42: 27–34

Bruneton JN, Raffaelli C, Balu-Maestro C, Padovani B, Chevallier P, Mourou MY: Sonographic diagnosis of solitary solid liver nodules in cancer patients. *Eur Radiol* 6: 439-442, 1996

Choi BI, Kim TK, Han JK, Chung JW, Park JH, Han MC. Power versus conventional color Doppler sonography: comparison of power Doppler US and color Doppler US. *Radiology* 1996; 200: 55-58.

Cohen EI, Wilck EJ, Shapiro S. Hepatic Imaging in the 21st Century. *Seminars in liver disease* 2006, 26:363–372]

Cosgrove DO: Liver. In: Goldberg BB(ed): *Ultrasound in cancer*. Churchill Livingstone, New York, 1981.

Cosgrove DO: A revolution in liver ultrasound. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007, 19:1–2.

Dietrich CF, Ignee A, Trojan J, Fellbaum C, Schuessler G. Differentiation of nodular hyperplasia and hepatocellular adenoma by contrast-enhanced ultrasound. *The British Journal of Radiology*, 2005; 704-707.

EFSUMB-Study-Group, Albrecht T, Blomley M et al. Guidelines for the use of contrast agents in ultrasound. *Ultraschall in Med* 2004; 25:249-256.

Ferrucci JT-Liver tumore imaging:current concepts *AJR* 155 : 473-484.1990

Gaiani S, Celli N, Piscaglia F et al. Usefulness of contrast-enhanced perfusional sonography in the assessment of hepatocellular carcinoma hypervascular at spiral computed tomography. *J Hepatol* 2004; 41:421-426.

Gaiani S, Li Bassi S, Zironi G, Bolondi L, Barbara L. Caution in the interpretation of Doppler signals of HCC. *Gastroenterology* 1990; 99: 1860

Gaiani S, Volpe L, Piscaglia F, Bolondi L. Vascularity of tumor and recent advances in Doppler Ultrasound. *J Hepatol* 2001, 34:474-82

Harvey CJ, Albrecht T Ultrasound of focal liver lesions. *Eur Radiol* 2001, 11:1578–1593

Hohmann H, Skrok J, Puls R, Albercht T. Characterization of focal liver lesions with contrast-enhanced low MI real time ultrasound and SonoVue. *ROFO* 2003; 31:387-391

Ignee A. et al. Quantitative contrast enhanced ultrasound of the liver for time intensity curves- Reliability and potential sources of errors. Eur J Radiol 2009.(Articolo in corso di pubblicazione).

Jakobsen J, Oyen R, Thomsen H, Morcos S, Members of Contrast Media Safety Committee of European Society of Urogenital Radiology (ESUR). Safety of ultrasound contrast agents. Eur Radiol 2005; May;15(5):941-945 .

Krinsky GA, Lee VS, Theise ND et al (2001) Hepatocellular carcinoma and dysplastic nodules in patients with cirrhosis: prospective diagnosis with MR Imaging and explantation correlation. Radiology 219:445–454

Learch TJ, Ralls RW, Johnson MB, Jeaffrey RB, Nino-Murcia M, Lee KP, et al. Hepatic focal nodular hyperplasia: findings with color-Doppler sonography. J Ultrasound Med 1993; 12: 541-544.

Nanda N, Wisstran D, Karlsberg R et al. Multicenter evaluation of SonoVue for improved endocardial border delineation. Echocardiography 2002; 19:27-36.

Peterson MS, Baron RL, Marsh JW et al (2000) Pretransplantation surveillance for possible hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: epidemiology and CT-based tumor detection rate in 430 cases with surgical pathologic correlation. Radiology 217:743–749

Piscaglia F, Gaiani S, Tamberi S et al. Liver metastases from colorectal carcinoma: progression of disease in spite of loss of arterial-phase hypervascularity on contrast perfusional angiosonography (CnTI). A case report. J Clin Ultrasound 2003; 31: 387-391.

Quaia E, Calliada F, Bertolotto M et al. Characterization of focal liver lesions with contrast-specific US modes and a sulfur hexafluoride-

filled microbubble contrast agent: diagnostic performance and confidence. *Radiology* 2004; 232:420-430.

Quaia E, Siracusano S, Bertolotto M, Monduzzi M, Mucelli R. Characterization of renal tumours with pulse inversion harmonic imaging by intermittent high mechanical index technique: initial results. *Eur Radiol* 2003; 13:1402-1412

Roncalli M, Roz E, Coggi G, Di Rocco MG, Bossi P, Minola E, et al. The vasculare profile of regenerative and dysplastic nodules of the cirrhotic liver: implications for diagnosis and classification. *Hepatology* 1999; 30: 1174-1178.

Tanaka S, Kitamura T, Fujita M, Nakanishi K, Okuda S. Color Doppler flow imaging of liver tumors. *Am J Roentgenl* 1990; 154: 509-514.

The International Collaborative Study of Severe Anaphylaxis. Risk of anaphylaxis in a hospital population in relation to the use of various drugs: an international study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2003; 12:195-202..

Thomsen HS, Bush WH Jr. Adverse effects of contrast media. Incidence, prevention and management. *Drug Saf.* 1998 ; 19:313-24.

Torzilli G, Minagawwa M, Takayama T, Inoue K, Hui AM, Kubota K, et al. Accurate preoperative evaluation of liver mass lesions without fine needle biopsy. *Hepatology* 1999;30:889-893.

Uggowitz M, Kugler C, Machan L, Groll R, Stauber R, Mischingern HJ, et al. Power Doppler imaging and evaluation of resistive index in focal nodular hyperplasia of the liver. *Abdom Imaging* 1997; 22: 268-73.

Von Herbay, A; Vogt, C; Willers, R; Haussinger,D. Real-time Imaging with the Sonographic Contrast Agent SonoVue: differentiation between benign and malignant hepatic lesions. J Ultrasound Med 2004; 23:1557-1568.

Wolf G, Mishkin M, Roux S et al. Comparison of the rates of adverse drug reactions. Ionic contrast agents, ionic contrast agents combined with steroids and non-ionic agents. Invest Radiol 1991; 26:404-410.