

Ultrasonografia wzmacniana kontrastem (CEUS) – zasada działania, środki kontrastowe

MARCIN NOWICKI, MICHAŁ WDOWIAK, ANDRZEJ RYCHLIK,
RENATA NIERADKA, MAŁGORZATA KANDER

Katedra Diagnostyki Klinicznej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM, ul. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn

Nowicki M., Wdowiak M., Rychlik A., Nieradka R., Kander M.

Contrast-enhanced ultrasonography (CEUS): Principles and contrast agents

Summary

Ultrasonography is an imaging technique universally employed in veterinary medicine. It has many advantages, such as high availability, non-invasiveness, short examination time, no anesthesia, and low cost, but also some drawbacks, like low specificity. To overcome these limitations, ultrasound contrast agents (UCAs) and specific ultrasound contrast techniques have been developed. The application of UCAs and specific sonographic contrast techniques increase the specificity and sensitivity of ultrasound examination. Nowadays the new contrast-specific imaging techniques enable the separation of the linear tissue signal from the non-linear microbubble signal, which, combined with the introduction of second-generation UCAs, makes contrast-enhanced ultrasonography a very important diagnostic tool.

Keywords: ultrasonography, contrast agents, diagnostics, veterinary medicine

Ultrasonografia jest nieinwazyjnym badaniem obrazowym, w którym wysyłane fale dźwiękowe ulegają odbiciu, załamaniu bądź absorpcji przez badane tkanki. Fale powracające do głowicy (tzw. echo) tworzą obraz danej struktury. Dzięki tym właściwościom możliwe jest obrazowanie wielkości, kształtu, budowy i unaczynienia różnych organów. Tryb Dopplerowski określa szybkość przepływu krwi, lecz nie jest zdolny do jej oceny w małych naczyniach i kapilarach z uwagi na małą prędkość krążącej krwi.

W celu zniesienia tych ograniczeń opracowano modyfikację tradycyjnej medycznej sonografii w postaci ultrasonografii wzmocnionej kontrastem (Contrast-enhanced Ultrasonography – CEUS) wykorzystującą znaczniki łożyska naczyniowego, określane jako ultrasonograficzne środki kontrastowe (UŚK). W zależności od zastosowanego UŚK i trybu ultrasonograficznego możliwe jest dynamiczne obrazowanie wzoru unaczynienia zmiany w sposób ciągły lub przerywany. Najczęściej stosowane są mikropęcherzyki wypełnione gazem, podawane dożylnie, które posiadają wysoką echogeniczność, czyli zdolność do odbijania fal dźwiękowych. Różnica pomiędzy echogenicznością mikropęcherzyków wypełnionych gazem a tkanką miękką jest znaczna, zatem stosując obrazowanie ultradźwiękowe przy użyciu mikropęcherzyków jako

UŚK uzyskuje się wzrost odbicia fal dźwiękowych, co skutkuje sonogramem ze zwiększonym kontrastem.

Ultrasonograficzne środki kontrastowe (UŚK)

Środki kontrastowe od dawna stanowiły integralną część wielu technik obrazowania z wyjątkiem ultrasonografii. Działo się tak z kilku powodów, takich jak ograniczona liczba producentów i wysoki koszt środków kontrastowych oraz ich słaba dostępność (14).

Obraz wzmocniony kontrastem uzyskano po raz pierwszy w 1968 r. w czasie katetyzacji serca. Wówczas mikropęcherzyki powietrza, ułatwiający się z kateteru i rozpuszczone w krwi pacjenta, przejściowo wzmacniały odbicie pulsów sondy USG (5). Wkrótce po tym potwierdzono, iż każdy środek zawierający mikropęcherzyki, nawet wstrząśnięta sól fizjologiczna, ma zdolność zwiększania kontrastu obrazów ultrasonograficznych (11). Kolejnym krokiem było zastosowanie albumin krwi w celu zwiększenia stabilności mikropęcherzyków. Niestety, pierwsze ultrasonograficzne środki kontrastowe nie przechodziły przez łożysko płucne ze względu na dużą rozpuszczalność w osoczu i dlatego znalazły zastosowanie głównie w kardiologii (1, 23).

UŚK pierwszej generacji, takie jak Levovist[®], są wypełnione powietrzem, które jako medium emituje sto-

Tab. 1. UŚK aktualnie rekomendowane do zastosowań klinicznych w weterynarii i ich dawkowanie

Preparat (Producent)	Rodzaj otoczki	Zastosowany gaz	Dawkowanie	Źródło
Levovist® (Bayer Schering Pharma)	Galaktozowa	Powietrze	Psy, koty: 80 mg/kg	Schärz i wsp., 2005 Rademacher i wsp., 2005
Definity® (Bristol-Myers Squibb)	Fosfolipidowa	Perfluorocarbon	Psy: < 20 kg: 0,1 ml > 20 kg: 0,2 ml	O'Brien i wsp., 2004
Optison® (Amersham Health Inc.)	Albuminowa	Perfluorocarbon	Psy: 0,5 ml	Yamaya i wsp., 2002
SonoVue® (Bracco)	Fosfolipidowa	Sześćciofluorek siarki	Psy: 0,04-0,06 ml/kg (0,2-0,3 mg/kg)	Nyman i wsp., 2005
			Psy: < 20 kg: 0,5 ml (2,5 mg) > 20 kg: 1,0 ml (5 mg)	O'Brien i wsp., 2004
			Psy: 0,03 ml/kg (0,15 mg/kg)	Ohlerth i wsp., 2005

sunkowo słaby sygnał ultradźwiękowy i uzyskane obrazy charakteryzują się niskim stosunkiem pożądanego sygnału do szumu (S/N signal to noise ratio), ponadto powietrze dobrze rozpuszcza się w osoczu, co prowadzi do szybkiego rozpadu mikropęcherzyków (4). Środki kontrastowe drugiej generacji wykorzystują jako medium gazy o dużej masie cząsteczkowej, które charakteryzują się znacznie bardziej nieliniowym oddziaływaniem, co skutkuje wyższym stosunkiem S/N i większą wartością diagnostyczną uzyskanych obrazów. Gazy o dużej masie cząsteczkowej są słabo rozpuszczalne w osoczu, dzięki czemu osiąga się większą trwałość i dłuższy efekt wzmocnienia. Pierwsze środki drugiej generacji, takie jak Optison®, wykorzystują ludzką albuminę jako zewnętrzną otoczkę, w związku z czym należy je używać z ostrożnością w weterynarii, gdyż niektórzy autorzy zaobserwowali reakcje alergiczne u badanych psów (20, 26).

Ultrasonograficzne środki kontrastujące najnowszej generacji są stabilizowane przez zewnętrzną otoczkę zbudowaną z fosfolipidów, albumin bądź galaktozy i kwasu palmitynowego oraz wypełnione sześćciofluorkiem siarki lub perfluorozwiązkami, tj. perflutrenem i perfluorobutanem (tab. 1). Zawarty w nich gaz wzmacnia odbicie fal dźwiękowych, a od jego rodzaju zależą jakość wzmocnienia i trwałość. Średnica mikropęcherzyków wynosi 1-7 µm, jest więc mniejsza niż średnica krwinek czerwonych, co umożliwia dotarcie do wszystkich naczyń oraz eliminuje ryzyko zatorów (6). Właściwości wzmacniające mikropęcherzyków polegają na ich zdolności do nieliniowego drgania. Ta właściwość zwiększa wykrycie kontrastu w tkankach (które drgają liniowo), a przez to również zwiększa współczynnik kontrastu do tkanek, równocześnie zmniejszając artefakty i szum.

Obecnie najbardziej zalecane UŚK do użytku weterynaryjnego to Definity® (Bristol Myers Squibb) w Stanach Zjednoczonych i Kanadzie oraz SonoVue® w Europie. Oba preparaty uznaje się za bardzo bezpieczne i nie odnotowano żadnych skutków ubocznych przy ich stosowaniu u psów (12, 15, 28). UŚK w porównaniu do środków kontrastowych stosowanych w tomografii komputerowej/rezonansie magnetycznym (CT/MRI) pozostają w przestrzeni wewnątrz-

nacyniowej, jednak niektóre UŚK są fagocytowane (np. Sonazoid w 99%, Levovist w 47%), co umożliwia również obrazowanie mięszu (27).

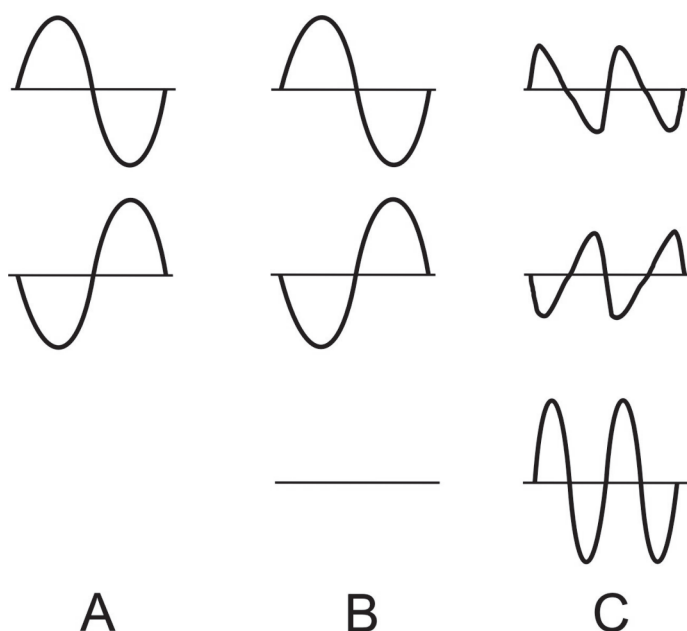
Kontrastowo-specyficzne techniki ultrasonograficzne

Ultrasonograficzne środki kontrastowe silnie zwiększają rozproszenie wsteczne (odbicie) fal ultradźwiękowych oraz pozostają w przestrzeni wewnątrznacyniowej, w związku z tym doskonale nadają się do oceny przepływu krwi. Konwencjonalna ultrasonografia jest zdolna do wykrycia mikropęcherzyków w wysokich stężeniach, jednak w praktyce do obrazowania kontrastowego niezbędne są kontrastowo-specyficzne techniki ultrasonograficzne.

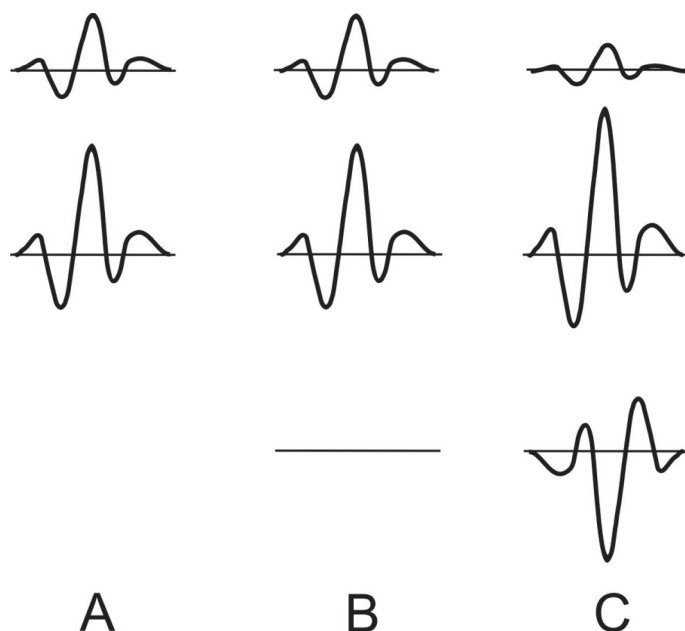
Podstawowa zasada działania tych technik polega na wyciszeniu bądź oddzieleniu liniowego sygnału pochodzenia tkankowego i obrazowaniu nieliniowej odpowiedzi mikropęcherzyków. Aby wykorzystać odpowiedź nieliniową, techniki te poddają otrzymane echa modyfikacji programowej, które polegają na modulacji fazy fali ultrasonograficznej, modulacji amplitudy fali dźwiękowej, modulacji zarówno fazy jak i amplitudy (mocy) lub wykorzystują wtórne harmoniczne częstotliwości fali dźwiękowej (19).

Modulacja fazy – w każdej linii skanującej emitowane są dwa pulsy, w tym jeden o odwróconej fazie. Następnie dwa odebrane echa są sumowane, przez co każda linia skanująca składa się z dwóch pulsów. Echa pochodzące od liniowo drgających tkanek nawzajem się unieważniają, natomiast nie unieważniają się echa z „nieliniowych” mikropęcherzyków. Jedną z wad tej metody jest spadek liczby klatek wyświetlanych na sekundę wynikający z podwójnego badania każdej linii skanującej (ryc. 1).

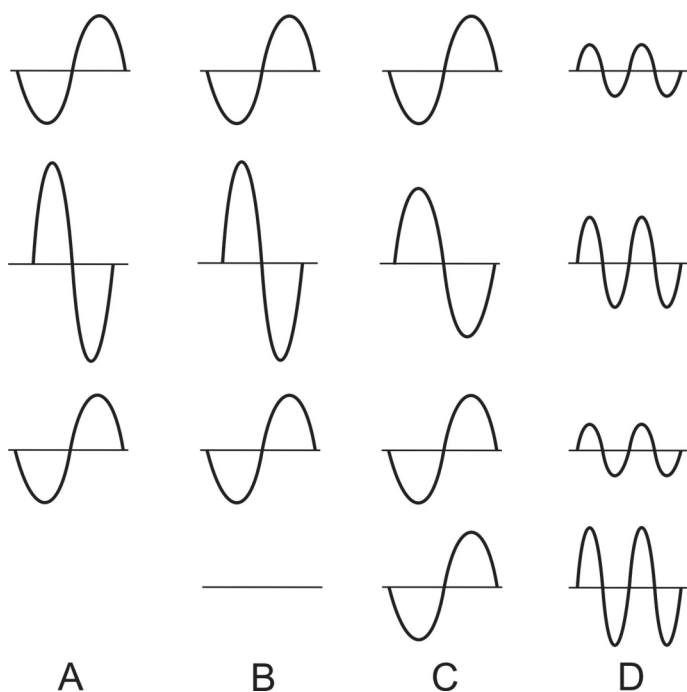
Modulacja amplitudy (mocy) – seria dwóch pulsów ultrasonograficznych jest przesyłana na jedną linię obrazu. Pulsy są przekazywane na różnych poziomach mocy, w tym jeden o połowie wysokości amplitudy względem drugiego pulsu. Następnie odebrane echa powstałe z pulsu o połowicznej mocy są skalowane i odejmowane od pełnowymiarowych sygnałów, co skutkuje efektywnym usunięciem zakłócenia tkankowego (ryc. 2).



Ryc. 1. Podstawy modulacji fazy. Dwa kolejne pulsy będące odwróconymi replikami (A) są transmitowane w głąb tkanek. Dla liniowego ośrodka (B) powracające echa są odwróconymi kopiami i nawzajem się niwelują po zsumowaniu. Dla nieliniowego medium (C) echa nie są odwróconymi kopiami i nie zerują się nawzajem



Ryc. 2. Podstawy modulacji mocy. Dwa kolejne pulsy są wysyłane w jednej linii skanującej (A), w tym jeden o amplitudzie równej połowie wartości drugiego. W liniowym ośrodku (B) po wyskalowaniu powracających echa suma wynosi zero. Natomiast po odbiciu od ośrodków drgających nieliniowo (C) po wyskalowaniu powracających echa suma jest różna od zera



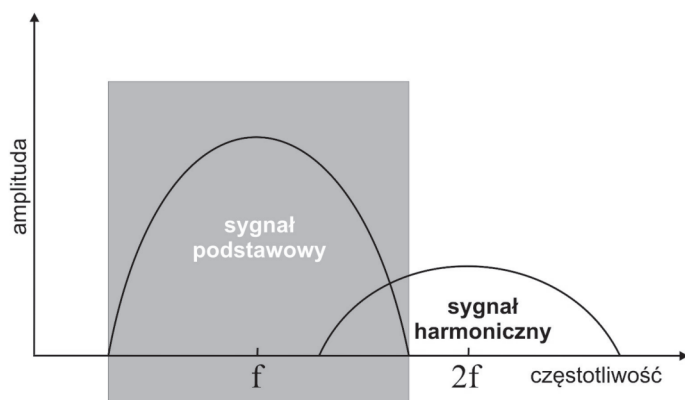
Ryc. 3. Zasady działania CPS. Wzdłuż jednej linii skanującej wysyłane są 3 pulsy (A), przy czym pierwszy i trzeci mają odwróconą fazę i połowę amplitudy w stosunku do drugiego pulsu. Po zsumowaniu powracających echa dla ośrodka liniowego (B) suma wynosi zero, natomiast dla ośrodka nieliniowego (tj. mikropęcherzyki) suma powracających echa jest nierówna zeru zarówno dla nieliniowej częstotliwości podstawowej (C), jak i dla wtórnej harmonicznej (D)

Modulacja fazy i mocy – CPS (Cadence Contrast Pulse Sequencing) – technika CPS polega na badaniu każdej linii skanującej kilka razy pulsami o różnych amplitudach i fazach. Stosuje się 3 pulsy o typowej sekwencji ($\frac{1}{2}$, -1 , $\frac{1}{2}$), co oznacza, że każda linia jest badana trzykrotnie, przy czym pierwszy i ostatni przesyłany puls ma połowę amplitudy środkowego, który jest odwrócony. Procesor najpierw wzmacnia sekwencję echa z każdej transmisji przez poszczególne przeliczniki (np. $\times 2$ lub $-\times$), a następnie sumuje wszystkie sekwencje echa. Rejestruje i przedstawia zarówno harmoniczne, jak i nieharmoniczne sygnały podstawowe pochodzące od mikropęcherzyków. Poprzez stosowny wybór nadawanych pulsów i przeliczników można wyizolować lub wyciszyć liniowe fundamentalne echo od tkanek (ryc. 3).

Obrazowanie harmoniczne – zasada działania polega na tworzeniu obrazu na podstawie echa o dwukrotnie większej częstotliwości (druga harmoniczna np. 4 MHz) niż częstotliwość emitowanych pulsów (np. 2 MHz). Podstawowa fala jest odfiltrowana. Konwencjonalne aparaty USG wysyłają i odbierają fale dźwiękowe o identycznych częstotliwościach. Najpopularniejszą odmianą tych technik jest obrazowanie w II harmonicznej, lecz istnieją również systemy podharmoniczne, nadharmoniczne i 1,5 harmoniczne (ryc. 4).

Podsumowanie

Od wielu lat w medycynie ludzkiej, ale też i weterynaryjnej środki kontrastowe były powszechnie wykorzystywane w technikach obrazowania, takich jak: rent-



Ryc. 4. Podstawy obrazowania harmonicznego. Echa o częstotliwości dwukrotnie większej niż częstotliwość podstawowa są wybiórczo rejestrowane przez filtr górnoprzepustowy, który usuwa podstawowe częstotliwości (prostokąt)

genografia, tomografia komputerowa czy rezonans magnetyczny. Ultrasonografia w tamtym czasie nie dysponowała obecnymi możliwościami technicznymi i nie była w stanie efektywnie oddzielać sygnału odbijanego od środka kontrastowego i pozostałych tkanek, skutkiem czego uzyskiwane obrazy miały ograniczoną użyteczność diagnostyczną. Dodatkowy problem stanowiły środki kontrastowe pierwszej generacji, które nie pozostawiały widoczne wystarczająco długo i umożliwiały uzyskanie tylko pojedynczych obrazów. Obecnie dzięki nowym, opisanym w artykule, kontrastowo-specyficznym technikom umożliwiającym oddzielenie liniowego sygnału pochodzenia tkankowego i obrazowanie nieliniowej odpowiedzi mikropecherzyków oraz wprowadzeniu USK drugiej generacji, ultrasonografia kontrastowa nabiera coraz większego znaczenia diagnostycznego. Technika CEUS z roku na rok znajduje zastosowanie w kolejnych obszarach medycyny. W medycynie weterynaryjnej również pojawiają się doniesienia o wykorzystaniu tej metody do badania wątroby (2, 8, 13, 15, 25, 28), śledziony (9, 16-18), nerek (2, 7, 10, 24), trzustki (3, 21), węzłów chłonnych (22) i wielu innych zastosowań klinicznych, które będą tematem kolejnego artykułu.

Piśmienictwo

- Allen M., Pellikka P., Villarraga H., Klarich K., Foley D., Mulvagh S., Seward J.: Harmonic imaging: echocardiographic enhanced contrast intensity and duration. *Int. J. Cardiovas. Imag.* 1999, 15, 215-220.
- Bahr A., Wrigley R., Salman M.: Quantitative evaluation of imagent as an abdominal ultrasound contrast medium in dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2000, 41, 50-55.
- Gaschen L., Schur D., Kearney M.: Contrast harmonic ultrasound imaging of the normal pancreas and pancreatitis in dogs. *Proc. Am. Coll. Vet. Radiol. Ann. Sci. Meeting, Chicago* 2007, s. 21.
- Goldberg B. B., Liu J. B., Forsberg F.: Ultrasound contrast agents: a review. *Ultrasound Med. Biol.* 1994, 20, 319-333.
- Gramiak R., Shah P. M.: Echocardiography of the Aortic Root. *Invest. Radiol.* 1968, 3, 356.
- Haers H., Saunders J.: Review of clinical characteristics and applications of contrast-enhanced ultrasonography in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2009, 234, 460-470.
- Haers H., Vignoli M., Paes G., Rossi., Taeymans O., Daminet S., Suanders J.: Contrast Harmonic Ultrasonographic Appearance of Focal Space-occupying Renal Lesions. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2010, 51, 516-522.

8. Hause A., Kiefer I., Succow D., Bosch B., Oechtering G.: Hepatic transit time of the signal enhancer SonoVue in the dog. *Proc. Int. Vet. Radiol. Assoc. Meeting, Vancouver* 2006, 38.
9. Ivancic-Arndt M., Seiler G.: Contrast Harmonic Ultrasound of Splenic Hemangiosarcoma and Associated Liver Nodules in Dogs. *Proc. Am. Coll. Vet. Radiol. Ann. Sci. Meeting, Chicago* 2007, s. 19.
10. Kinns J., Aronson L., Hauptman J., Seiler G.: Contrast-Enhanced Ultrasound Of The Feline Kidney. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2010, 51, 168-172.
11. Kremkau F. W., Gramiak R., Carstensen E. L., Shah P. M., Kramer D. H.: Ultrasonic Detection of Cavitation at Catheter Tips. *Am. J. Roentgenol.* 1970, 110, 177-183.
12. Nyman H., Kristensen A., Kjelgaard-Hansen M., McEvoy F.: Contrast-enhanced ultrasonography in normal canine liver. Evaluation of imaging and safety parameters. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2005, 46, 243-250.
13. O'Brien R. T.: Improved detection of metastatic hepatic hemangiosarcoma nodules with contrast ultrasound in three dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2007, 48, 146-148.
14. O'Brien R. T., Holmes S. P.: Recent advances in ultrasound technology. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 2007, 22, 93-103.
15. O'Brien R. T., Iani M., Matheson J., Delaney F., Young K.: Contrast harmonic ultrasound of spontaneous liver nodules in 32 dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2004, 45, 547-553.
16. Ohlerth S., Dennler M., Rüefli E., Hauser B., Poirier V., Siebeck N., Roos M., Kaser-Hotz B.: Contrast Harmonic Imaging Characterization of Canine Splenic Lesions. *J. Vet. Intern. Med.* 2008, 22, 1095-1102.
17. Ohlerth S., Rüefli E., Poirier V., Ross M., Kaser-Hotz B.: Contrast harmonic imaging of the normal canine spleen. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2007, 48, 451-456.
18. Ohlerth S., Rüefli E., Rohrer Bley C., Sieber-Ruckstuhl N., Melzer K., Kaser-Hotz B.: Assessment of tissue perfusion in the normal canine spleen with contrast harmonic imaging. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2005, 47, 110.
19. Quaa E.: Contrast-specific ultrasound techniques. *Radiol. Med.* 2007, 112, 482-486.
20. Rademacher N., Ohlerth S., Doherr M. G., Gaschen L., Stoffel M. H., Lang J.: Doppler sonography of the medial arterial blood supply to the coxofemoral joints of 36 medium to large breed dogs and its relationship with radiographic signs of joint disease. *Vet. Rec.* 2005, 156, 305-309.
21. Rademacher N., Ohlerth S., Scharf G., Luluhovala D., Sieber-Ruckstuhl N., Alt M., Ross M., Grest P., Kaser-Hotz B.: Contrast-enhanced Power and Color Doppler ultrasonography of the pancreas in healthy and diseased cats. *J. Vet. Intern. Med.* 2008, 22, 1310-1316.
22. Salwei R. M., O'Brien R. T., Matheson J. S.: Characterisation of lymphomatous lymph nodes in dogs using contrast harmonic and Power Doppler ultrasound. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2005, 46, 411-416.
23. Stewart V. R., Sidhu P. S.: New directions in ultrasound: microbubble contrast. *Br. J. Radiol.* 2006, 79, 188-194.
24. Waller K. R., O'Brien R. T., Zagzebski J. A.: Quantitative contrast ultrasound analysis of renal perfusion in normal dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2007, 48, 373-377.
25. Wdowiak M., Rychlik A., Nieradka R., Nowicki M.: Contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) in canine liver examination. *Pol. J. Vet. Sci.* 2010, 13, 767-773.
26. Yamaya Y., Niizeki K., Kim J., Entin P., Wagner H., Wagner P. D.: Anaphylactoid response to Optison(R) and its effects on pulmonary function in two dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 2004, 66, 1429-1432.
27. Yanagisawa K., Moriyasu F., Miyahara T., Yuki M., Iijima H.: Phagocytosis of ultrasound contrast agent microbubbles by Kupffer cells. *Ultrasound Med. Biol.* 2007, 33, 318-325.
28. Ziegler L. E., O'Brien R. T., Waller K. R., Zagzebski J. A.: Quantitative contrast harmonic imaging of normal canine liver. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2003, 44, 451-454.

Adres autora: dr Marcin Nowicki, ul. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn; e-mail: marcin.nowicki@uwm.edu.pl