



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

**Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e  
Salute**

Corso di Laurea magistrale a ciclo unico in  
MEDICINA VETERINARIA

**Applicazione di metodiche  
ecocontrastografiche nella caratterizzazione  
delle patologie epatiche del cane e del gatto**

Relatore

*Prof. Tommaso Banzato*

Laureanda/o

*Francesca*

*Chimento*

Matricola n.

1177384

ANNO ACCADEMICO 2021-2022



# INDICE

|                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>CAPITOLO 1 – INTRODUZIONE</b> .....                                                                              | 1  |
| <b>CAPITOLO 2 – MEZZI DI CONTRASTO ECOGRAFICI</b> .....                                                             | 3  |
| <b>2.1 Classificazione</b> .....                                                                                    | 3  |
| <b>2.2 Farmacocinetica</b> .....                                                                                    | 5  |
| <b>2.3 Effetti collaterali</b> .....                                                                                | 6  |
| <b>2.4 Principio d'azione</b> .....                                                                                 | 7  |
| <b>CAPITOLO 3 – TECNICHE ECOCONTRASTOGRAFICHE</b> .....                                                             | 12 |
| <b>CAPITOLO 4 – ANALISI DELL'IMMAGINE</b> .....                                                                     | 15 |
| <b>4.1 Analisi qualitativa</b> .....                                                                                | 15 |
| <b>4.2 Analisi quantitativa</b> .....                                                                               | 16 |
| <b>CAPITOLO 5 – MODALITÀ DI ESECUZIONE DELL'ESAME<br/>ECOCONTRASTOGRAFICO</b> .....                                 | 19 |
| <b>CAPITOLO 6 – ECOGRAFIA EPATICA</b> .....                                                                         | 22 |
| <b>6.1 Tecnica ecografica epatica di base</b> .....                                                                 | 22 |
| <b>6.2 Aspetto del fegato normale all'ecografia tradizionale</b> .....                                              | 23 |
| 6.2.1 <i>Parenchima e dimensioni</i> .....                                                                          | 23 |
| 6.2.2 <i>Sistema biliare</i> .....                                                                                  | 25 |
| 6.2.3 <i>Vascolarizzazione epatica</i> .....                                                                        | 26 |
| <b>6.3 Aspetto del fegato patologico all'ecografia tradizionale</b> .....                                           | 28 |
| 6.3.1 <i>Alterazioni epatiche diffuse</i> .....                                                                     | 29 |
| 6.3.2 <i>Alterazioni epatiche focali</i> .....                                                                      | 31 |
| 6.3.3 <i>Alterazioni del sistema biliare</i> .....                                                                  | 36 |
| 6.3.4 <i>Disturbi della vascolarizzazione epatica e portale</i> .....                                               | 37 |
| <b>CAPITOLO 7 – APPLICAZIONE DELL'ECOCONTRASTOGRAFIA AL FEGATO</b> 43                                               |    |
| <b>7.1 Aspetto econcontrastografico normale del fegato</b> .....                                                    | 43 |
| 7.1.1 <i>Fasi vascolari</i> .....                                                                                   | 43 |
| 7.1.2 <i>Analisi quantitativa nel fegato normale</i> .....                                                          | 47 |
| <b>7.2 Interpretazione delle immagini e differenziazione delle lesioni benigne e<br/>    maligne epatiche</b> ..... | 50 |
| 7.2.1 <i>Lesioni benigne del fegato</i> .....                                                                       | 50 |
| 7.2.2 <i>Lesioni epatiche maligne</i> .....                                                                         | 55 |
| <b>7.3 Interpretazione delle immagini della cistifellea e del sistema biliare</b> .....                             | 60 |
| <b>7.4 Applicazione della CEUS nello studio delle anomalie vascolari</b> .....                                      | 60 |

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>CAPITOLO 8 – STATO DELL’ARTE SULLA CEUS DEGLI ORGANI ADDOMINALI</b> | 65 |
| 8.1 Milza                                                              | 65 |
| 8.2 Reni                                                               | 66 |
| 8.3 Linfonodi                                                          | 68 |
| 8.4 Pancreas                                                           | 70 |
| 8.5 Tratto gastro-enterico                                             | 71 |
| 8.6 Ghiandole surrenali                                                | 73 |
| 8.7 Prostata                                                           | 74 |
| <b>CAPITOLO 9 – CONCLUSIONI</b>                                        | 76 |
| <b>BIBLIOGRAFIA</b>                                                    | 78 |

## **CAPITOLO 1 – INTRODUZIONE**

L'ecocontrastografia (Contrast-enhanced Ultrasound – CEUS) è una nuova metodica diagnostica che unisce l'utilizzo di un mezzo di contrasto ecografico (MDC) ed un sistema ecografico dedicato, al fine di permettere una miglior visualizzazione della componente vascolare di tessuti ed organi.

L'imaging a contrasto in ecografia è stato introdotto quasi 30 anni fa: è stato osservato per la prima volta, casualmente, quando durante un'ecocardiografia sono state notate delle piccole bolle d'aria, attorno alla punta del catetere posizionato nel ventricolo sinistro, che emettevano delle riflessioni transitorie elevate. Da quel momento in poi, è stata dedicata un'intensa ricerca nello sviluppo di agenti di contrasto ecografici clinicamente rilevanti: ciò ha consentito la produzione di microbolle stabili all'interno del circolo sanguigno, inerti per il paziente e che attraversano la circolazione polmonare in modo tale da consentire il ricircolo. Allo stesso modo, l'avvento degli agenti di contrasto ha incoraggiato anche lo sviluppo di nuove tecnologie a ultrasuoni, che permettessero una miglior visualizzazione dell'imaging di contrasto.

È stata inizialmente applicata in medicina umana, nell'ambito dell'ecocardiografia e successivamente utilizzata anche per indagare organi quali fegato, milza, linfonodi, pancreas e reni. Recentemente è stata impiegata anche in medicina veterinaria, il che ha notevolmente esteso gli utilizzi dell'ecografia nella clinica dei piccoli animali: viene per lo più utilizzata nella caratterizzazione delle patologie epatiche focali, grazie alla sua capacità di enfatizzare il diverso pattern vascolare di lesioni benigne e maligne; tuttavia sono in corso degli studi anche in merito all'applicazione della CEUS per la diagnosi di shunt portosistemici e per la valutazione della perfusione di altri organi addominali come milza, reni, linfonodi, tratto gastroenterico, pancreas e prostata.

Diversi studi, condotti nell'ambito della medicina umana, hanno dimostrato che l'ecocontrastografia ha una maggiore sensibilità e specificità rispetto all'ecografia tradizionale, in particolare nello studio di tumori primari e

metastasi epatiche e può essere considerata al pari di metodiche più invasive come la Tomografia Computerizzata (TC) e la Risonanza Magnetica (RM).

La CEUS, rispetto alla TC e alla RM, consente la valutazione della perfusione di una lesione in tempo reale, senza che il paziente sia anestetizzato, inoltre è più economica, veloce e non necessita dell'utilizzo di radiazioni ionizzanti. Rispetto, invece, alla citologia, è una metodica non invasiva e relativamente facile da effettuare.

In questa tesi verranno presentate le basi dell'esame ecocontrastografico, facendo riferimento innanzitutto alle due componenti principali dell'indagine diagnostica: i mezzi di contrasto e le diverse tecniche di imaging. Dei primi verranno descritti i diversi disponibili e le relative caratteristiche cinetiche e dinamiche; delle seconde verranno delineate le modalità di acquisizione e di elaborazione dell'immagine (analisi qualitativa e quantitativa).

Inoltre, considerato che l'esame ecocontrastografico epatico rappresenta solo una delle parti finali di un iter diagnostico e che, quindi, deve essere preceduto da un esame ecografico tradizionale, al fine di identificare quelle lesioni che necessitano di una caratterizzazione con contrasto, vengono anche definite le basi per conduzione di un esame ecografico tradizionale del fegato e, quindi, le possibili lesioni che possono essere rilevate. Fa seguito un capitolo specifico in merito all'applicazione della metodica nella caratterizzazione delle lesioni epatiche e quindi dei relativi studi a supporto. Termina, quindi, con la descrizione dello stato dell'arte sull'applicazione della CEUS ad altri organi addominali.

## **CAPITOLO 2 – MEZZI DI CONTRASTO ECOGRAFICI**

L'ecocontrastografia si basa sull'iniezione di un mezzo di contrasto (MDC) ecografico, che è costituito da microbolle di aria o gas, stabilizzate o meno da un guscio esterno di diversa composizione. Le microbolle dovrebbero avere in media un diametro inferiore alla lunghezza d'onda degli ultrasuoni; esse hanno, approssimativamente, un diametro di 2-6 $\mu$ m, quindi inferiore al diametro dei globuli rossi (7 $\mu$ m circa), di conseguenza ciò esclude la possibilità di emboli.

Il mezzo di contrasto ecografico ideale dovrebbe essere inerte, somministrabile per via endovenosa a bolo o lentamente ad infusione continua, essere stabile durante il passaggio nel circolo polmonare e nelle camere cardiache e persistere nel circolo ematico periferico. Tali esigenze vengono soddisfatte grazie alle piccole dimensioni delle microbolle che, se iniettate in una vena periferica, possono attraversare il letto capillare polmonare e raggiungere la circolazione sistemica. Inoltre, i mezzi di contrasto ecografici, a differenza dei contrasti iodati ionici o non ionici e del gadolinio, usati in Tomografia Computerizzata e Risonanza Magnetica, non presentano una fase interstiziale, ma rimangono confinati esclusivamente nel comparto vascolare e, proprio per questo, l'immagine ecografia generata riflette il pattern vascolare del tessuto.

### **2.1 Classificazione**

I parametri che differenziano i diversi mezzi di contrasto ecografici disponibili sono il tipo di interazione US-microbolle (tipo di gas, rigidità del guscio esterno, diametro medio), il grado di potenza acustica necessario per liberare l'energia armonica, la capacità di attraversare il letto capillare polmonare e periferico e la specificità d'organo. Le proprietà dei diversi mezzi di contrasto sono condizionate dal gas e dal guscio esterno; il gas rinforza la riflessione dell'onda sonora e il tipo di gas determina la qualità del rinforzo e la durata delle microbolle: i gas ad alto peso molecolare sono scarsamente disciolti nel siero, quindi sono più durevoli e prolungano l'effetto di potenziamento; mentre il

guscio determina l'elasticità che consente l'oscillazione in un campo ultrasonico e un effetto di rinforzo più efficace e durevole.

Possono essere classificati in 4 generazioni, in funzione del tipo di gas presente all'interno delle microbolle (aria, perfluorocarburo, esafluoruro di zolfo, perfluoroesano, perfluoropropano), al tipo di guscio esterno (rigida o elastica) ed alla natura chimica dello stesso.

- **Generazione 0:** i primi mezzi di contrasto utilizzati furono ottenuti semplicemente agitando, prima di iniettarla, una soluzione di fisiologica, in modo tale da generare delle microbolle di aria; tuttavia le dimensioni elevate delle microbolle ( $>50\mu\text{m}$ ) e la loro elevata solubilità nel sangue, non ne permettevano l'attraversamento del letto capillare polmonare, né ne garantivano una buona stabilità; per cui il loro utilizzo è stato limitato alla visualizzazione di shunt intra o extracardiaci destri e sinistri. La persistenza nel circolo periferico e la stabilità delle microbolle è stata implementata nelle generazioni successive mediante 2 modalità: il rivestimento della bolla con una capsula esterna rigida, costituita da materiale biocompatibile, o con una capsula esterna flessibile, composta da fosfolipidi (1) e/o dall'impiego di un gas con un basso coefficiente di diffusione nel sangue (es. perfluorocarburo e esafluoruro di zolfo) in modo da condizionarne la persistenza all'interno della microbolla (2); l'aria infatti ha un'elevata solubilità nel sangue. La bassa solubilità nel sangue di tali gas, garantisce un'elevata concentrazione degli stessi all'interno della microbolla, in confronto al sangue circostante e determina un gradiente osmotico che si oppone al passaggio dei gas all'esterno della microbolla.
- **Generazione 1:** mezzi di contrasto che contengono microbolle di aria, ricoperte da un guscio esterno rigido. Uno dei mezzi di contrasto di prima generazione che ha avuto maggior successo è il *Levovist®*, caratterizzato da microbolle di aria, del diametro di  $2-3\mu\text{m}$ , ricoperte da un guscio di galattosio e acido palmitico, che ha la funzione di incrementare la stabilità della microbolla e permetterne il passaggio attraverso il letto capillare. Il *Levovist®* è stato impiegato soprattutto per potenziare il segnale Doppler e quindi per permettere la visualizzazione della vascolarizzazione degli



organi, in particolare fegato e milza, per la sua specificità di distribuzione in tali organi. Il principale limite di tali mezzi di contrasto è l'impossibilità di produrre un *enhancement* continuo, che permetta un esame dinamico e in tempo reale dell'organo; per ottenere un adeguato segnale di ritorno è necessario provocare la rottura della bolla, determinando così una rappresentazione della distribuzione del mezzo di contrasto istantanea. Il risultato finale è quindi la visualizzazione di un'immagine indotta dalla rottura del mezzo di contrasto, e quindi di dove questo è o non è arrivato. Questa tecnica viene chiamata Flash Echo Imaging o Stimulated Acoustic Emission, i cui limiti sono stati superati dall'introduzione dei mezzi di contrasto di seconda generazione.

- **Generazione 2:** le microbolle hanno un guscio esterno elastico e contengono gas insolubili, in modo da ottenere una maggior stabilizzazione e minor diffusione delle microbolle, in modo tale che persistano più a lungo nel torrente circolatorio. Inoltre, le caratteristiche di elasticità conferiscono una più efficace "risonanza" della bolla insonata, con la conseguente produzione di un'elevata quantità di segnale armonico. Un gruppo di MDC di seconda generazione è composto da microbolle di perfluorocarburo (*Definity*®, *Imagent*® e *Optison*®); tale gas è immiscibile in acqua e può essere somministrato per via endovenosa se emulsificato. Mentre *Definity* e *Imagent* hanno un guscio fosfolipidico, *Optison* ha un guscio di albumina umana. Un altro gruppo di MDC di seconda generazione è composto da microbolle di esafluoruro di zolfo (*SonoVue*®); il vantaggio di tale gas è la sua prolungata stabilità nel circolo (6 minuti).
- **Generazione 3:** utilizza la stabilizzazione di un guscio duro (guscio di polimeri) e contiene sia aria che perfluorocarburi, che garantiscono un'ulteriore stabilità nel circolo ematico. Tuttavia, attualmente sono ancora in fase sperimentale.

In ogni caso, ad oggi, nessun mezzo di contrasto ecografico è stato approvato per l'uso veterinario.

## **2.2 Farmacocinetica**

Il gas contenuto nelle microbolle del mezzo di contrasto viene eliminato attraverso i polmoni, mentre le componenti del guscio sono filtrate dai reni od eliminate dal fegato. I perfluorocarburi e l'esafluoruro di zolfo sono gas inerti che vengono eliminati dall'organismo entro pochi minuti dai polmoni, senza essere metabolizzati. I fosfolipidi del guscio esterno, entrano nel normale metabolismo fosfolipidico, il galattosio entra nel metabolismo glucidico o viene immagazzinato a livello epatico o può essere metabolizzato e degradato in CO<sub>2</sub>.

### **2.3 Effetti collaterali**

In generale, i mezzi di contrasto ecografici sono sicuri e ben tollerati. Non ci sono evidenze di nefrotossicità e cardiotossicità.

Uno studio condotto da *Seiler et al. 2013* su cani e gatti a cui è stato somministrato SonoVue o Definity ha valutato il rischio di effetti collaterali e l'incidenza è stata dell'1% nei cani e dello 0% nei gatti, con complicazioni rappresentate principalmente da vomito e collasso.

Sono rare le reazioni allergiche o di ipersensibilità, anzi, la loro incidenza è inferiore a quella dei mezzi di contrasto radiografici e comparabile ai mezzi di contrasto della risonanza magnetica. A tal proposito, sono state riportate in 2 cani reazioni anafilattiche in seguito alla somministrazione di Optison, che contiene albumina umana (Yamaya et al. 2004); per cui tale prodotto dovrebbe essere evitato in medicina veterinaria.

È stato dimostrato che tali MDC, quando insonati, sono in grado di determinare la rottura di piccoli vasi; la principale preoccupazione consiste nella possibilità che il danno endoteliale possa liberare eventuali cellule tumorali in circolo e che determini trombosi dei capillari regionali; tuttavia nessuna delle due ipotesi è stata mai confermata o smentita.

Nell'uomo, in prossimità al sito di iniezione o lungo il decorso della vena, è stato descritto un transitorio senso di dolore, calore o freddo o irritazione tissutale. I bioeffetti associati all'impiego dei mezzi di contrasto ecografici non sono ancora del tutto compresi.

Le controindicazioni dei MDC nei pazienti umani sono l'ipertensione polmonare, le aritmie cardiache ventricolari e l'insufficienza cardiaca congestizia (Claudon et al. 2008), che, sebbene non siano state studiate su pazienti veterinari, possono essere considerate delle controindicazioni cliniche anche in medicina veterinaria.

#### **2.4 Principio d'azione**

Dopo iniezione endovenosa, tutti i MDC si diluiscono nel sangue fino a raggiungere una concentrazione massima (principio di diluizione), a partire dalla quale può essere sfruttato l'*enhancement* generato dall'insonazione delle microbolle lungo tutto il sistema cardiovascolare: dal ventricolo sinistro alle grosse arterie, dalle arteriole fino alle grandi vene periferiche ed al sistema portale. La durata del rinforzo vascolare varia dai 2 ai 10 minuti in base alla potenza acustica di insonazione ed alle caratteristiche del mezzo di contrasto ed equivale alla durata nel circolo di una concentrazione minima di microbolle. Il meccanismo con cui il mezzo di contrasto esalta il segnale che origina dal sangue circolante è l'amplificazione dello scattering, cioè degli echi che originano per dispersione semplice della componente corpuscolata del sangue. Il MDC amplifica lo scattering perché aumenta la capacità di riflessione del sangue, grazie alla presenza delle microbolle di gas. La capacità di riflessione del sangue ( $\sigma_{\alpha_s}$ ) è legata alla concentrazione delle microbolle in sospensione e ad alcune proprietà fisiche delle stesse, quali numero, dimensioni, densità e comprimibilità. La relazione che spiega tale legame è la seguente:

$$\sigma_{\alpha_s} = (\pi \cdot r^2) \cdot Q_s \cdot N_s$$

Dove  $\sigma_{\alpha_s}$ , è il coefficiente di riflessione,  $r$  è il raggio della microbolla,  $N_s$  è il numero di microbolle espresso in parti per milione (ppm) e  $Q_s$ , un coefficiente numerico legato alla densità e comprimibilità delle microbolle. L'aria e i gas inerti, normalmente contenuti nelle microbolle, hanno delle caratteristiche di densità e comprimibilità tali da garantire un'ottima amplificazione dello scattering, con un coefficiente di riflessione prossimo all'unità; ciò significa che

gli ultrasuoni che colpiscono le microbolle vengono quasi completamente riflessi.

Quindi, l'interazione tra le microbolle e gli ultrasuoni è un fenomeno complesso, che dipende dalle caratteristiche delle microbolle (dimensioni, numero, composizione chimica e frequenza di risonanza) e dalle caratteristiche del fascio ultrasonoro (frequenza e focalizzazione del fascio, frequenza di ripetizione e intensità del fascio ultrasonoro). L'intensità del fascio ultrasonoro applicato alla bolla (potenza acustica) è fondamentale, in quanto ne influenza la risposta, che può variare dall'oscillazione alla rottura. Tale parametro può essere regolato nell'ecografo modificando i kPascal o il settaggio dell'Indice Meccanico, misura indiretta della pressione acustica esercitata dall'ultrasuono sulla bolla (*vedi dopo*).

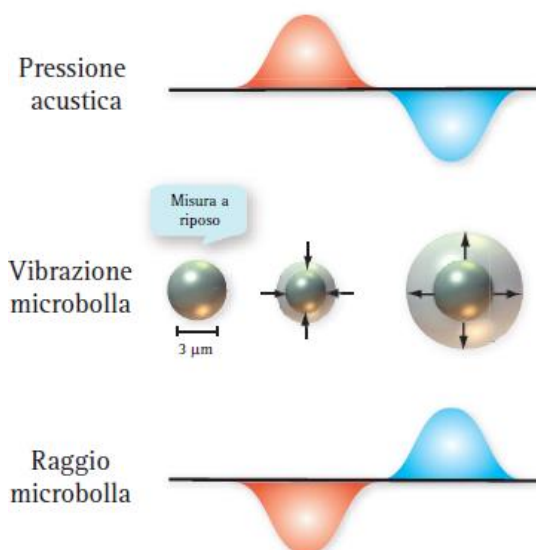
Al fine di ottenere un segnale armonico, necessario per la costituzione dell'immagine ecografica, le microbolle devono essere insonate mediante la loro specifica *frequenza di risonanza o frequenza fondamentale*, che, fortunatamente si trova nel range di frequenza abitualmente impiegato per l'ecografia addominale, da 3 a 3,7MHz. La potenza acustica a cui le microbolle vengono insonate viene di solito espressa da un parametro definito indice meccanico (IM). La formula che lo rappresenta è la seguente:

$$IM = \frac{p -}{\sqrt{fc}}$$

Dove  $p -$  indica il picco massimo di pressione negativa (rarefazione) che l'impulso trasmesso potrebbe potenzialmente raggiungere in un mezzo che possiede uno specifico indice di attenuazione, mentre  $fc$  rappresenta la frequenza centrale della banda impiegata. IM è, in realtà, un indice che definisce la probabilità che si verifichino effetti biologici non determinati durante l'insonazione. La regolazione di tale parametro, permette di modificare la potenza acustica esercitata dall'ultrasuono sulla bolla; in base al valore dell'indice meccanico vi è un diverso comportamento delle microbolle (Tabella 2.1):

- Se vengono insonate ad una bassa potenza acustica ( $IM < 0,1$ ), le microbolle rispondono alle pressioni positive e negative dell'onda sonora

sinusoidale mediante oscillazione, modificando il loro raggio nel tempo (contrazione ed espansione). A tale potenza acustica l'oscillazione della microbolla è *lineare*, in quanto il suo diametro non cambia significativamente nel tempo, perché le fasi di compressione ed espansione sono le medesime, per cui in tal caso la bolla può essere considerata un oggetto statico e agisce da semplice riflettore (Figura 2.1). Ciò che si ottiene è un aumento dell'intensità dell'eco di ritorno, generato dalla riflessione in ogni direzione (scattering) della frequenza fondamentale, in funzione della differenza di impedenza acustica fra le microbolle e il sangue circostante; ciò si può sfruttare per migliorare la visualizzazione del segnale Doppler; tale tecnica è stata usata per molti anni in associazione a Levovist®.

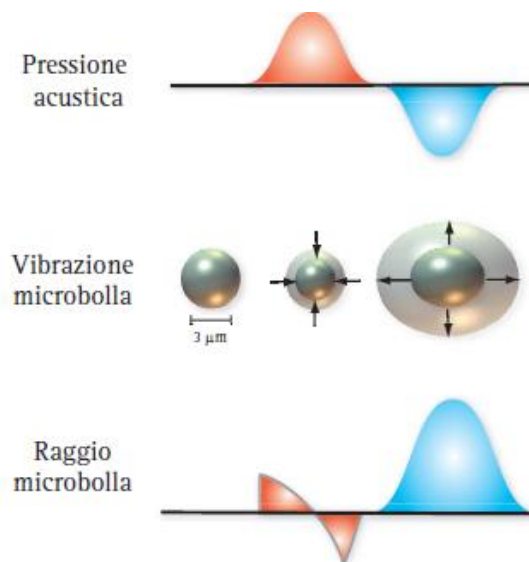


**Figura 2.1 Riflessione lineare.** Quando le microbolle sono investite da un fascio US con basso IM si comportano in modo lineare, riflettendo prevalentemente la frequenza fondamentale. (Meola M. *Ecografia clinica e color doppler in nefrologia. 2008*)

- Usando un IM più elevato ( $0, 1 < IM < 0,5$ ), si verifica la cosiddetta oscillazione *non lineare* della microbolla, fenomeno fisico alla base dell'ecocontrastografia attuale e dei mezzi di contrasto di seconda generazione, che consentono di condurre un esame dinamico e in tempo reale. A tali potenze acustiche, le microbolle, entrando in risonanza, vanno incontro ad una fase di espansione, che ha luogo durante la rarefazione

del mezzo, e ad una fase di compressione differenti, in quanto è predominante la fase di espansione. (Figura 2.2)

Il movimento oscillatorio delle microbolle in risonanza si associa anche all'accumulo di energia meccanica in fase di compressione e liberazione dell'energia in fase di espansione, tuttavia la distorsione del fenomeno oscillatorio determina la riflessione e liberazione non solo di energia acustica con frequenza pari alla fondamentale, ma anche frequenze multiple e sottomultiple della stessa, le cosiddette frequenze armoniche o subarmoniche. Queste frequenze possono essere captate in modo selettivo per ottimizzare la ricezione del segnale che proviene dal mezzo di contrasto, in quanto vengono prodotte quasi esclusivamente dalle microbolle e non dal tessuto circostante.



**Figura 2.2 Riflessione non lineare.** Se la potenza acustica degli US aumenta, la vibrazione delle microbolle tende a diventare asimmetrica: la fase di compressione diventa più rapida rispetto alla fase di decompressione. Questo comportamento fisico non lineare si accompagna alla liberazione di frequenza armoniche (Meola M. *Ecografia clinica e color doppler in nefrologia*. 2008)

- Se il valore di IM aumenta ulteriormente ( $IM > 0,5$ ), l'elevata potenza acustica determina la rottura del guscio esterno e l'esplosione della microbolla con l'emissione di un segnale *non lineare ad ampia banda*, e in questa situazione anche i mezzi di contrasto di prima generazione sono in grado di produrre un segnale armonico di elevata intensità. Tuttavia la rottura della bolla non permette l'esecuzione di un esame dinamico continuo, ma il risultato è una rappresentazione istantanea della

distribuzione del mezzo di contrasto nel tessuto o organo, il cosiddetto Stimulated Acoustic Emission o Flash Echo Imaging.

| Indice meccanico | Comportamento microbolla | Comportamento acustico                        | Impiego clinico                                                             |
|------------------|--------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| < 0,1            | Oscillazione lineare     | Rinforzo lineare della frequenza fondamentale | Incremento del segnale Doppler (MDC di prima generazione)                   |
| 0,1 – 0,5        | Oscillazione non lineare | Rinforzo e generazione di frequenza armoniche | Studio di perfusione in tempo reale (MDC di seconda generazione)            |
| > 0,5            | Rottura                  | Produzione transitoria di segnale armonico    | Stimulated Acoustic Emission, Flash Echo Imaging (MDC di prima generazione) |

**Tabella 2.1 – comportamento delle microbolle in funzione dell'indice meccanico**

Il comportamento non lineare delle microbolle è tanto maggiore quanto più la frequenza del fascio incidente si avvicina alla frequenza di risonanza della microbolla e tanto maggiore è la potenza acustica del fascio incidente. La potenza acustica, come già detto, viene misurata con l'indice meccanico, definito come picco di pressione negativa degli ultrasuoni. Il valore numerico dell'indice meccanico tende a decrescere nelle zone lontane e laterali del campo sonoro, in funzione dell'attenuazione e della naturale divergenza del fascio. Bisogna considerare che esiste una diversa risposta delle microbolle all'insonazione, in funzione delle dimensioni, contenuto di gas e distribuzione spaziale nel campo acustico, ma anche perché la pressione acustica del fascio incidente varia in funzione alla profondità di campo, alla distanza dalla zona focale ed all'asse di propagazione degli ultrasuoni. Per questo è difficile predire il comportamento dell'insieme delle microbolle in circolo. Una microbolla in circolo può attraversare punti sottoposti a diverse pressioni acustiche: quando la microbolla è nella zona focale viene esposta al massimo picco di pressione negativa, mentre quando è in periferia viene esposta ad un campo acustico molto più debole.

### CAPITOLO 3 – TECNICHE ECOCONTRASTOGRAFICHE

Le tecniche ecografiche impiegate in ecocontrastografia, si basano sulle proprietà non lineari delle microbolle e registrano in modo selettivo il segnale da loro prodotto durante l'insonazione. L'impiego di un sistema ecografico tradizionale con l'iniezione di un MDC non permette un'adeguata visualizzazione dello stesso, a causa dell'attenuazione del fascio ultrasonoro. L'ecografia **B-mode** può essere eseguita in tempo reale con un'ottima risoluzione spaziale e temporale; tuttavia la capacità di identificare i piccoli vasi sanguigni è limitata e, inoltre, nel caso di tumori, la velocità del flusso è decisamente più bassa rispetto ad un tessuto normale a causa dell'andamento tortuoso delle strutture vascolari e dell'aumento della resistenza vascolare. Con l'impiego del mezzo di contrasto, gli ultrasuoni sono più sensibili ai vasi di piccole dimensioni e a flussi molto bassi, ma sono comunque in grado di evidenziare la morfologia del tessuto, analogamente all'imaging B-mode. Utilizzando la metodica **power Doppler** con gli agenti di contrasto si ha un miglioramento della capacità di individuare i piccoli vasi; nell'uomo tale metodica è stata impiegata per valutare masse prostatiche, ghiandola mammaria e pancreas, mentre in medicina veterinaria non è ancora largamente utilizzata.

Per la caratterizzazione del microcircolo, sono necessarie delle apparecchiature molto sensibili, in quanto il flusso è lento e il segnale che ne origina è debole e difficile da differenziare dal rumore perivascolare di fondo. Proprio per questo, oltre a studi mirati a garantire MDC sempre più stabili, sono state sviluppate delle tecnologie che consentissero di separare l'eco di ritorno generato dal MDC da quello originario del tessuto, così da evidenziare solo il flusso dell'organo esaminato.

- I primi sistemi impiegavano la *filtrazione* del segnale armonico sulla base della frequenza di ricezione; ciò però causava la parziale sovrapposizione delle frequenze prodotte dal MDC e dal tessuto circostante, portando quindi alla perdita di informazioni importanti.
- Una tecnologia più evoluta è la *Pulse Inversion Imaging*, cioè sequenze in cui l'eco inviato si compone di due impulsi speculari, cosicché la



componente fondamentale dell'eco di ritorno sommandosi si azzerava e il segnale generato dal tessuto viene eliminato. Quello che rimane è la componente armonica dell'eco di ritorno, prodotta dalle microbolle. Il limite di tale metodica è la riduzione del frame rate: l'immagine è priva di artefatti da rumore e da movimento, ma molto scarna e povera di informazioni.

- Un'altra metodica è la *Cadence Contrast Pulse Sequencing Technology*, che utilizzando una certa sequenza di impulsi inviati, i quali differiscono per fase ed intensità, sfrutta sia frequenze fondamentali che armoniche per generare il segnale di ritorno.
- La più recente tecnologia è la *Contrast Tuned Imaging*, che utilizza una stretta banda di ultrasuoni in uscita associata ad una selezione digitale del segnale di ritorno in seconda armonica, che permette una discreta visualizzazione della distribuzione del mezzo di contrasto e un'efficace soppressione del segnale di fondo prodotto dal tessuto.

Inoltre, in funzione della potenza acustica impostata sull'ecografo, si distinguono due diverse tecniche di insonazione delle microbolle.

La prima è l'insonazione ad alta potenza acustica, che comporta la rottura delle microbolle e la conseguente emissione di un segnale non lineare irregolare ad ampia banda, definito anche *emissione acustica stimolata* (Stimulated Acoustic Emission – SAE) o Flash echo imaging. La continua distruzione delle microbolle in seguito all'insonazione, riduce progressivamente l'efficacia del MDC, mentre l'insonazione intermittente, facilita l'accumulo delle microbolle nei capillari. La soglia oltre la quale si determina la rottura delle microbolle è variabile e dipende da diametro della bolla, composizione chimica del guscio, gas contenuto all'interno, grado di attenuazione degli ultrasuoni da parte dei tessuti circostanti. Tale tecnica si usa in genere per insonare le microbolle a base di aria e con guscio poco resistente (MDC di prima generazione). Il limite della tecnica deriva dalla scarsa persistenza del segnale, proprio dovuta alla rottura istantanea delle bolle.

La seconda tecnica è l'insonazione a *bassa potenza* ed è quella attualmente più usata nell'ecocontrastografia, grazie a microbolle con elevato comportamento armonico (MDC di seconda generazione), che consentono

l'esecuzione di una scansione ecografica in tempo reale, vista la persistenza del segnale prodotto. In questo modo viene ridotta la possibilità di rottura delle microbolle, si minimizza la produzione di frequenze armoniche da parte dei tessuti stazionari con comportamento armonico quando impiegata un'elevata potenza di insonazione e viene sfruttata la produzione elettiva di frequenze armoniche da parte delle microbolle. Insonando le microbolle alla loro specifica frequenza fondamentale (di risonanza) ed impiegando una bassa potenza di insonazione, le microbolle presentano quindi un comportamento non lineare, determinato dalla presenza di un grado di compressione molto minore rispetto al loro grado di espansione. Ciò comporta la presenza di un'oscillazione asimmetrica che determina l'emissione di frequenze uguali alla frequenza fondamentale, ma anche di frequenze armoniche multiple della frequenza fondamentale.

## **CAPITOLO 4 – ANALISI DELL'IMMAGINE**

L'analisi dell'immagine ottenuta con metodo ecocontrastografico può essere eseguita con un metodo qualitativo o quantitativo. Dopo l'iniezione del MDC si rilevano tre fasi, dipendenti dal tessuto esaminato: un'iniziale fase di enhancement del tessuto in esame, per la diffusione in circolo delle microbolle (*wash in*), una fase di massimo enhancement (*plateau*) e una fase di graduale diminuzione dell'enhancement, dovuta all'allontanamento delle bolle per mezzo del deflusso venoso (*wash out*).

### **4.1 Analisi qualitativa**

L'analisi qualitativa è una valutazione soggettiva della vascolarizzazione e perfusione degli organi; essa permette di apprezzare la vascolarizzazione (numero di vasi per unità di volume tissutale), la distribuzione dei vasi all'interno della lesione (pattern vascolare) e come questa varia nell'arco del tempo e la morfologia dei vasi, che può essere alterata a causa di stenosi, occlusione, triforcazioni, ramificazioni anomale. Un'eventuale lesione, eventualmente evidenziata con l'ecografia tradizionale, viene sottoposta ad esame ecocontrastografico e ne viene confrontata la vascolarizzazione con il parenchima circostante, in modo tale da valutare come varia la sua ecogenicità nel tempo, in particolare se isoecogena, iperecogena o ipoecogena rispetto al tessuto attorno.

Quindi, l'aspetto della lesione o dell'area di interesse dovrebbe essere descritto in funzione dell'entità dell'enhancement e della fase di enhancement.

- **Entità dell'enhancement**, dove con enhancement si intende l'intensità del segnale confrontato al parenchima adiacente.
- **Fase di enhancement**: l'enhancement dovrebbe essere descritto separatamente per le differenti fasi vascolari.

Inoltre, soprattutto nel caso di lesioni neoplastiche, permette di classificare le lesioni focali identificate con l'ecografia convenzionale, in funzione del numero di lesioni presenti, della loro forma, dimensione e grado di vascolarizzazione, in benigne o maligne.

Tuttavia, essendo una valutazione soggettiva, vi è un'ampia variabilità nei risultati. Tale variabilità è, in primo luogo, condizionata dalle modalità con cui viene condotto l'esame, ad esempio la velocità dell'iniezione o la rottura delle bolle durante la somministrazione del MDC, e in secondo luogo dalla capacità di assorbire gli ultrasuoni da parte dei tessuti del paziente.

#### **4.2 Analisi quantitativa**

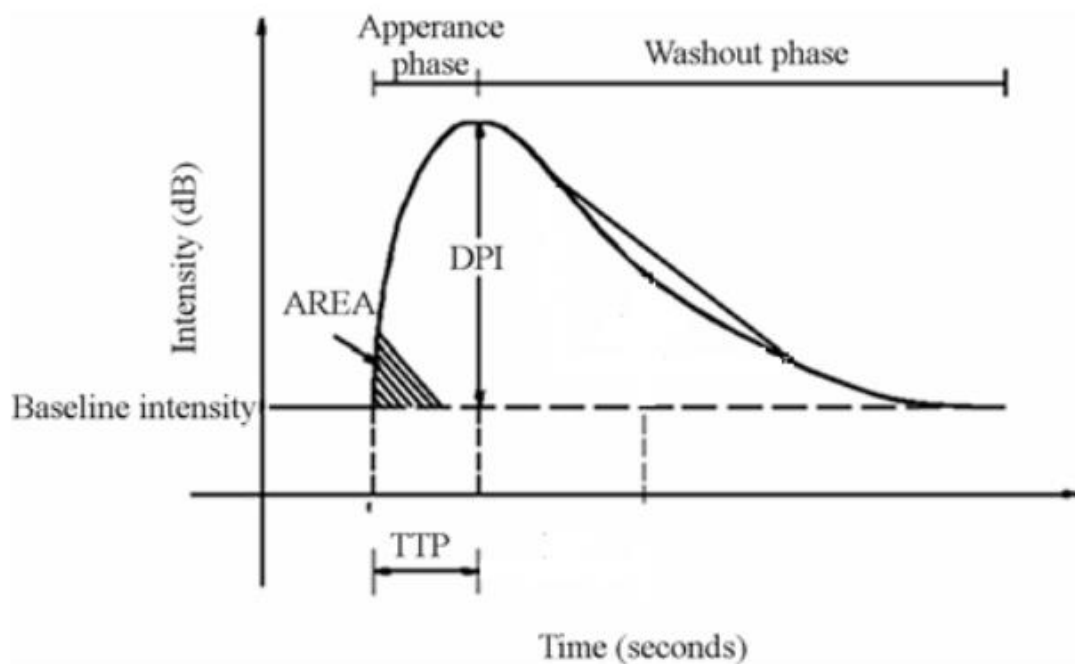
L'analisi quantitativa viene eseguita da specifici software che consentono di quantificare la presenza del mezzo di contrasto in una specifica regione di interesse (Region of Interest – ROI) e ne permettono una facile visualizzazione, trasformando l'immagine in curve di perfusione o mappe cromatiche.

Se applicata ad un **sistema Doppler**, permette di valutare l'intensità del flusso sanguigno del ROI, mediante delle mappe cromatiche che forniscono anche un indice di vascolarizzazione, ovvero la percentuale dell'area ROI occupata da vasi sanguigni.

Se applicata al **metodo armonico**, si ottiene una curva di perfusione intensità/tempo (curva intensità-tempo o TIC), la quale è specifica per ogni organo, lesione e alterazione vascolare presente nell'area di interesse (Figura 4.1). Si distinguono due fasi principali di tale curva. La prima, la fase di *wash in* ( $W_{in}$ ) è rappresentata da una rapida crescita e quindi da un rapido e importante aumento di enhancement, corrispondente al passaggio del MDC nel circolo arterioso e quindi dipendente dalla gittata cardiaca. La seconda fase, *wash out* ( $W_{out}$ ), segue il raggiungimento del picco (*plateau*) ed è caratterizzata da una lenta discesa, corrispondente all'eliminazione graduale del MDC per mezzo del circolo venoso. Dalle TIC si possono ottenere diversi parametri che permettono di descrivere le variazioni emodinamiche dell'area di interesse.

- Intensità basale (BI), disponibile per pochi secondi dopo l'iniezione
- Tempo di arrivo ( $T_0$ ), ovvero il tempo che intercorre tra l'iniezione e l'arrivo del MDC

- Intensità di enhancement al picco (PI), ovvero il massimo valore di intensità raggiunto. Si misura in Mean Pixel Value (MPV) o in decibels (dB).
- Tempo al picco (TTP), ovvero il tempo tra l'iniezione ed il picco di enhancement
- Pendenza della curva al wash in e al wash out, definita come aumento o diminuzione dell'intensità in funzione del tempo necessario, per cui si misura in MPV/s o in dB/s.
  - *Upslope* è la pendenza della curva durante il wash in, e viene calcolata attraverso la media dei punti della curva di valore compreso tra il 10% e il 90% del valore di picco
  - *Downslope* è la pendenza della curva durante il wash out, ed è calcolata tenendo conto dei valori successivi al picco di enhancement, a partire da quello con valore inferiore al 90%.
- Area sotto la curva (AUC), è proporzionale al volume di sangue regionale.



**Figura 4.1 Esempio di TIC di uno studio CEUS.** Sull'asse delle x vi è il tempo espresso in secondi e sull'asse delle y, l'intensità espressa in decibels. Baseline intensity è l'intensità basale (BI); Apperance phase è il wash in; washout phase rappresenta la fase di diminuzione del mezzo di contrasto; TTP è il tempo al picco; DPI è l'intensità massima al picco (PI); Area indica che l'area sottesa alla curva (AUC) parte dal valore di intensità basale (*Dong et al., 2012*)

L'analisi quantitativa, attualmente, viene applicato solo nell'ambito della ricerca sperimentale, in quanto le curve che si ottengono sono estremamente

variabili, a causa della difficoltà di standardizzare ogni CEUS. Inoltre vi possono essere anche degli artefatti della curva, a causa delle escursioni respiratorie del paziente, che determinano la rottura delle microbolle e quindi prolungando il tempo al picco (TTP) e abbassando il wash in.

## **CAPITOLO 5 – MODALITÀ DI ESECUZIONE DELL'ESAME ECOCONTRASTOGRAFICO**

La CEUS è indicata per la caratterizzazione di lesioni nel caso delle seguenti situazioni cliniche:

- Reperti ecografici accidentali
- Lesioni rilevate ecograficamente in pazienti con un'anamnesi di forme tumorali maligne, come alternativa a TC e RM
- Necessità di uno studio contrastografico quando la TC e la RM sono controindicate
- TC, RM, citologia o istologia non diagnostiche

Innanzitutto, considerato che i MDC ecografici sono dei composti sicuri con una bassa incidenza di effetti collaterali e senza effetti cardio-, epato- o nefrotossici, non è necessario eseguire preventivamente dei test di laboratorio atti a valutare la funzionalità epatica o renale.

Per l'esecuzione di uno studio con mezzo di contrasto è necessario posizionare in una vena periferica un catetere endovenoso di adeguate dimensioni (uguale o superiore a 20G), per evitare la distruzione delle microbolle durante l'iniezione. L'esame può essere condotto senza sedazione o anestesia con un adeguato contenimento manuale, in quanto di per sé l'iniezione del MDC non determina fastidio o dolore. L'animale va posizionato in decubito laterale o dorsale per il tempo necessario alla conduzione dell'esame, che in genere ha una durata massima di 10 minuti.

L'iniezione del MDC può essere eseguita in 2 modi, ovvero mediante un'iniezione a bolo o con infusione lenta: nel primo caso l'iniezione è manuale e rapida, mentre nel secondo caso viene effettuata con una pompa. In entrambi i casi si consiglia di effettuare un flush di soluzione salina fisiologica di 5 – 10ml immediatamente dopo la somministrazione del MDC, in modo da rimuovere le microbolle rimaste nel catetere venoso e nel tratto prossimale della vena post-iniezione. A tal fine si può direttamente utilizzare un catetere tre vie.

Ovviamente la dose di MDC da usare nei piccoli animali dipende dal prodotto impiegato (Tabella 5.1), ma anche dall'apparecchio ecografico, tipo di esame,

organo e lesione target, taglia ed età del paziente. Una dose troppo alta di MDC esita in artefatti, in particolare nella fase precoce di enhancement; questi includono *acoustic shadowing*, *over-enhancement* di piccole strutture e saturazione del segnale. Una dose troppo bassa comporta una concentrazione di microbolle che potrebbe non essere sufficiente per giungere ad una diagnosi, in particolare in fase tardiva, in quanto rende difficile la valutazione del wash out.

Dopo aver identificato la struttura o la lesione da studiare mediante l'ecografia tradizionale, viene attivato il sistema dedicato alla visualizzazione del MDC, settandolo in modo da sopprimere il segnale fondamentale proveniente dai tessuti. Per cui, prima dell'arrivo del mezzo di contrasto, l'immagine appare quasi completamente nera; viene mantenuto solo un debole segnale, in modo da avere un punto di riferimento per l'operatore. La maggior parte dei sistemi permette una visualizzazione in dual screen, ovvero mostrando sia l'immagine convenzionale in scala di grigi, sia l'immagine che rivela la presenza del MDC. Viene attivato il timer al momento dell'iniezione del MDC e il flusso dello stesso nell'organo ecografato viene visualizzato in tempo reale. In tale fase, è fondamentale la regolazione della strumentazione (IM, gain totale, TGC, numero e posizionamento del fuoco). Tutta la procedura viene registrata in modo da poterla rivalutare successivamente.

Nel momento in cui vi siano ulteriori noduli o lesioni che richiedono una caratterizzazione o se l'iniezione iniziale non ha permesso una chiara caratterizzazione della lesione, possono essere effettuate delle iniezioni multiple. In tal caso è comunque necessario attendere che le microbolle della precedente iniezione siano scomparse o drasticamente ridotte; in genere ciò richiede 10 – 15 minuti per SonoVue® e Definity®, mentre è necessario aspettare di più nel caso sia stato impiegato Sonazoid®, per il quale la scomparsa delle microbolle richiede più di un'ora.



| MEZZO DI CONTRASTO ECOGRAFICO | DOSAGGIO AD USO VETERINARIO                     | RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICO                                  |
|-------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| <b>Levovist®</b>              | Cane, gatto: 80 mg/kg                           | Scharz et al. (2005)<br>Rademacher et al. (2005)           |
| <b>Definity®</b>              | Cane <20kg: 0,1ml, >20kg: 0,2ml<br>Gatto: 0,1ml | O'Brien et al. (2004)<br><br>R. O'Brien (unpublished data) |
| <b>Optison®</b>               | Cane: 0,5ml/cane                                | Yamaya et al. (2002)                                       |
| <b>Sonovue®</b>               | Cane: 0,04-0,06ml/kg (0,2-0,3mg/kg)             | Nyman et al. (2005)                                        |
|                               | Cane <20kg: 0,5ml (2,5mg), >20kg: 1ml (5mg)     | O'Brien et al. (2004)                                      |
|                               | Cane: 0,03ml/kg (0,15mg/kg)                     | Ohlerth et al. (2005)                                      |

Tabella 5.1 Dosaggi dei mezzi di contrasto ecografici per uso veterinario riportati dalla letteratura (Ohlerth S., O'Brien R. T., *Contrast ultrasound: General principles and veterinary clinical applications. The Veterinary Journal* 174 (2007) 501-512)

## **CAPITOLO 6 – ECOGRAFIA EPATICA**

Lo studio ecografico del fegato permette di effettuare una dettagliata valutazione della sua architettura interna, della sua vascolarizzazione e del sistema biliare. Tuttavia, nella gran parte dei casi, l'esame ecografico tradizionale non permette di diagnosticare di che tipo siano le lesioni (non fornisce una diagnosi istologica); di conseguenza per giungere alla diagnosi, con poche eccezioni che colpiscono il tratto biliare e i vasi, è indispensabile un'indagine diagnostica aggiuntiva, come un ago-aspirato, una biopsia o un esame ecocontrastografico.

### **6.1 Tecnica ecografica epatica di base**

Innanzitutto, prima di iniziare l'esame ecografico, dovrebbe essere rasato tutto l'addome craniale e gli ultimi due spazi intercostali per consentire una buona visualizzazione del fegato, in particolare se si sospetta una microepatia o se si tratta di cani a torace profondo. L'animale può essere posizionato in decubito dorsale, sinistro o destro. La sonda appropriata deve essere scelta in base alle dimensioni dell'animale e alla profondità del fegato: nei gatti e nei cani di taglia piccola o media può essere utilizzata una sonda a media frequenza (5 MHz e oltre), mentre nei cani di taglia più grande è spesso necessaria una sonda con maggiore capacità di penetrazione (inferiore a 5 MHz). Le sonde settoriali o convesse sono preferite rispetto alle sonde lineari a causa del campo visivo di forma triangolare che consente l'acquisizione di immagini di porzioni del fegato più grandi.

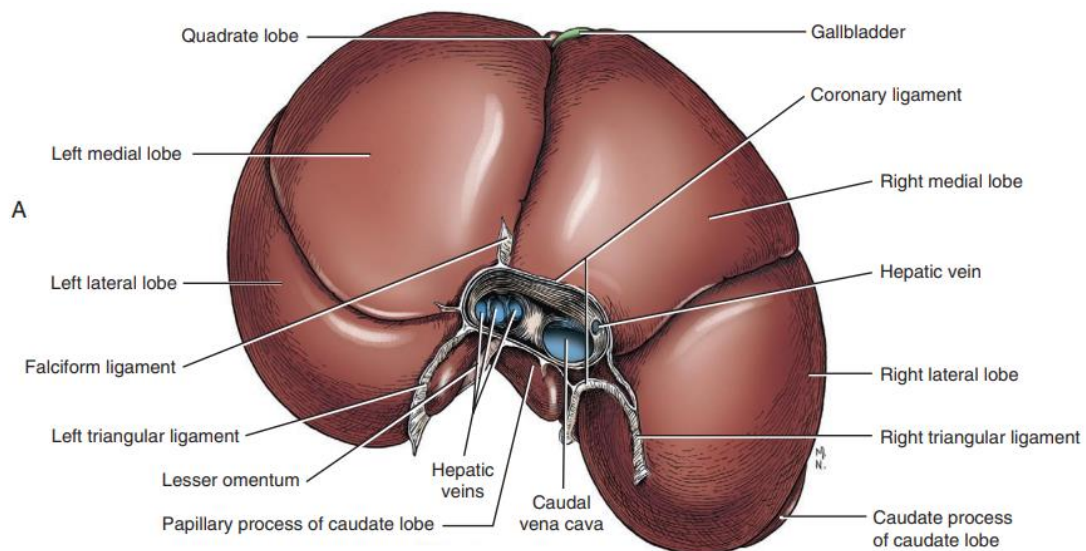
Il fegato può essere esaminato con diverse finestre, quali sottocostale, sottoxifoidea, intercostale destra e sinistra. L'approccio intercostale è il miglior modo per valutare l'organo in cani con torace profondo o in pazienti con microepatia. L'approccio intercostale dorsale destro permette un'ottima visualizzazione della vena porta, del lobo caudato e del rene destro, ma anche patologie quali ostruzione biliare e shunt intra- ed extraepatici. In ogni caso, la capacità di visualizzare il fegato dipende dalla conformazione corporea, dalle dimensioni del fegato e dal contenuto gastrointestinale che lo circonda. Ad esempio, nei cani di piccola taglia e nei gatti, il fegato viene generalmente ben

visualizzato con un approccio sottocostale, mentre nei cani di grossa taglia e con il torace profondo, il fegato è completamente nascosto dalla gabbia toracica, richiedendo, quindi, un approccio intercostale.

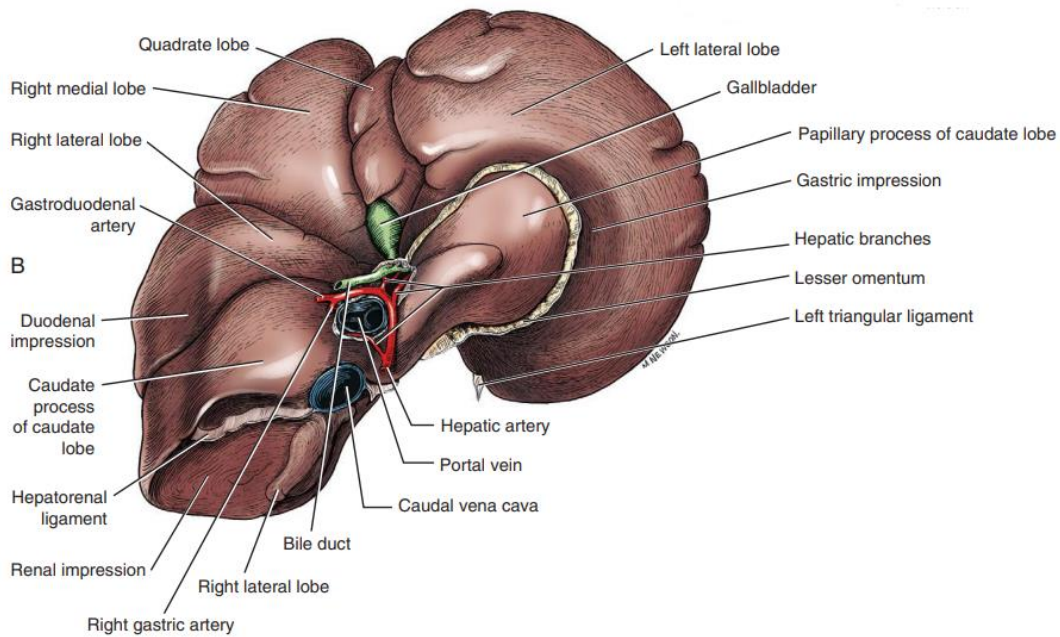
## **6.2 Aspetto del fegato normale all'ecografia tradizionale**

### **6.2.1 Parenchima e dimensioni**

Nel cane e nel gatto, il fegato è composto 4 lobi, che non possono essere facilmente distinti se non nel caso in cui sia presente versamento peritoneale, quali lobo sinistro (laterale e mediale), lobo quadrato, lobo destro (laterale e mediale) e lobo caudato, quest'ultimo comprendente i processi caudato e papillare. Il lobo sinistro forma da un terzo a quasi la metà dell'intero fegato e delimita la porzione sinistra della cistifellea. Il lobo quadrato è relativamente centrale e circonda parzialmente la cistifellea. La parte di destra della cistifellea è in contatto con il lobo mediale destro. Il processo caudato del lobo caudato è l'estensione più caudale del fegato e si estende fino a livello del rene destro. (Figura 6.1 e Figura 6.2)



**Figura 6.1** Disposizione anatomica dei lobi epatici e delle vie biliari extraepatiche. A, Aspetto diaframmatico del fegato (Tobias K. M., Johnston S. A. *Veterinary surgery small animal, Volume two, First Edit. Elsevier Inc. 2012*)



**Figura 6.2** Disposizione anatomica dei lobi epatici e delle vie biliari extraepatiche. B, Aspetto viscerale del fegato (Tobias K. M., Johnston S. A. *Veterinary surgery small animal, Volume two, First Edit. Elsevier Inc. 2012*)

Gran parte del fegato è posto al di sotto dell'arco costale, appena cranialmente allo stomaco, nel cane e nel gatto. Il suo margine craniale si trova contro il diaframma (che appare come una linea iperecogena curva, spesso associata ad artefatti, quale artefatto da immagine speculare) e l'interfaccia polmonare. Caudalmente il fegato è spesso a contatto con la milza sul lato sinistro e con il rene destro a livello della fossa renale del lobo caudato.

Il volume epatico è difficile da valutare oggettivamente nel cane e nel gatto, principalmente a causa della variabilità della conformazione corporea. Un fegato di piccole dimensioni è difficile da valutare ecograficamente a causa della dislocazione craniale dello stomaco, che limita la visualizzazione della finestra. Un fegato di aumentate dimensioni viene invece individuato con maggior facilità, in quanto si estende ben oltre la cartilagine xifoidea e copre il rene destro e, inoltre, i margini appaiono rotondeggianti. Caudalmente i lobi epatici si estendono fino all'ultimo paio di coste. Nei cani dal torace profondo, il fegato di solito non raggiunge l'arco costale e lo stomaco spesso interferisce con la sua valutazione. Viceversa, nei cani di piccola taglia e nei gatti, il fegato si estende normalmente fino all'arco costale.

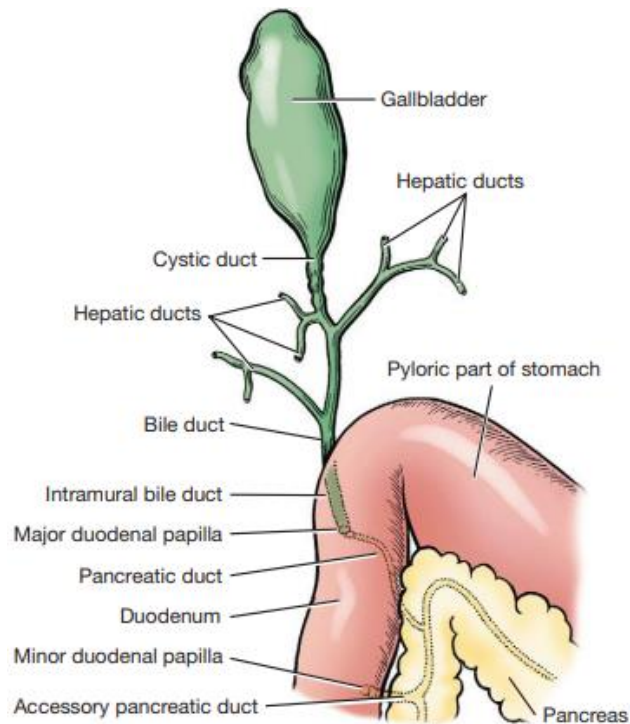
Il parenchima epatico normale è uniformemente ipoecogeno, con ecostruttura più grossolana, rispetto alla milza. La sua ecogenicità rispetto alla corticale renale è più variabile, sebbene di solito va da iperecogena a isoecogena. In ogni caso la valutazione dell'ecogenicità epatica è soggettiva e quindi delle modifiche lievi della stessa dovrebbero essere interpretate con cautela.

### 6.2.2 Sistema biliare

Il sistema biliare è relativamente simile nel cane e nel gatto. La cistifellea è una struttura anecoica a forma di lacrima con un'estensione conica, che rappresenta il dotto cistico e si ritrova nella porzione cranioventrale destra del fegato. Il volume della cistifellea può variare notevolmente nelle dimensioni e diventare piuttosto grande nei pazienti anoressici, così che il suo volume da solo non possa essere utilizzato come indice affidabile di ostruzione biliare. Tuttavia, il monitoraggio della sua riduzione postprandiale può aiutare a escludere l'ostruzione al deflusso. Il suo contenuto è tipicamente anecoico, sebbene il fango biliare, un reperto accidentale, si presenta come un materiale ecogenico senza ombra acustica.

Normalmente, la parete della cistifellea è sottile e liscia, misura meno di 1 mm di spessore nel cane e nel gatto.

L'albero biliare intraepatico, composto da canalicoli biliari e dotti biliari più grandi, non sono visibili, a meno che non siano patologicamente dilatati. Il dotto biliare comune (CBD – *Bile duct*), che rappresenta la continuazione del dotto cistico (*Cystic duct*) e il collegamento con i dotti biliari epatici (*Hepatic duct*), è visibile più facilmente nei gatti normali che nei cani normali: può essere visualizzato tra il duodeno prossimale (ventralmente) e la vena porta (dorsalmente), con il quale decorre parallelamente per alcuni centimetri, prima di sboccare nel duodeno attraverso la papilla duodenale maggiore (*Major duodenal papilla*) (Figura 6.3). Può misurare fino a 4 mm di larghezza nei gatti normali e fino a 3 mm (diametro luminale) nei cani. La parete del CBD è spesso appena visualizzata e non deve superare 1 mm.



**Figura 6.3** Disposizione anatomica dei dotti epatici, del dotto biliare comune e dei dotti pancreatici.  
*(Evans HE, de Lahunta A: Anatomia del cane di Miller, ed 4, St Louis, in corso di stampa, Saunders/Elsevier.)*

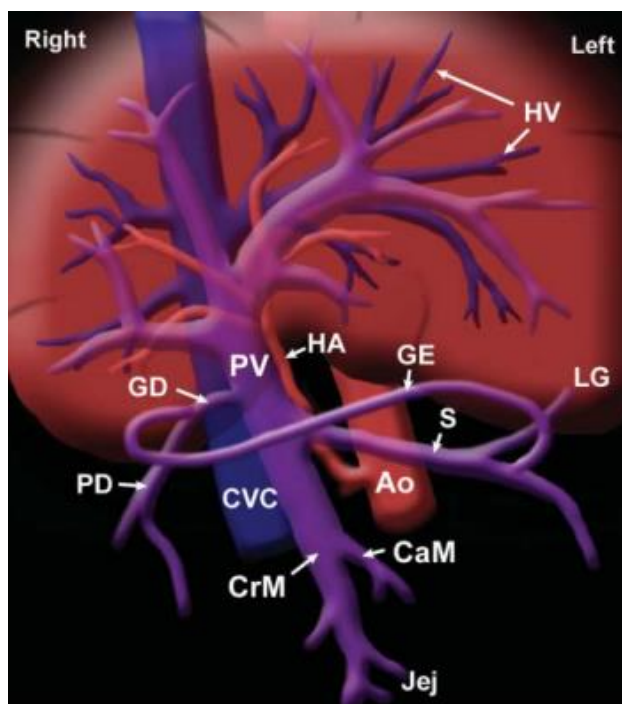
### 6.2.3 Vascolarizzazione epatica

Il flusso vascolare afferente al fegato è duplice, con una quota maggiore proveniente dalla vena porta (80%) e il resto proveniente dalle arterie epatiche (Figure 6.4). Il flusso efferente prosegue dalle vene epatiche alla vena cava caudale (CVC). Questo particolare pattern vascolare è diviso in tutti i lobi epatici e può aiutare a distinguere questi lobi. Quando si utilizza l'imaging in B-mode, solo le vene epatiche e le vene portali (più grandi delle arterie) possono essere viste come strutture tubolari anecoiche, ramificate e che si assottigliano uniformemente (Figure 6.5). Le pareti dei vasi portali appaiono iperecogene, indipendentemente dall'orientamento del fascio ecografico, facilitandone l'identificazione. Tuttavia, anche le pareti delle vene epatiche possono apparire iperecogene quando il fascio ecografico è diretto perpendicolarmente. La visibilità dei rami più grandi e più piccoli di queste vene è influenzata dalle dimensioni del paziente, dal diametro vascolare e luminale, dal flusso portale, dalla pressione all'interno della vena cava caudale,

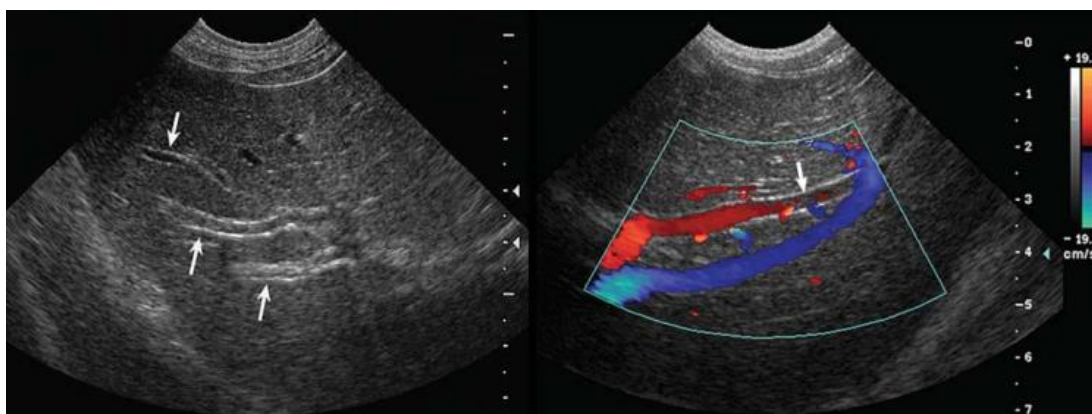
dall'ecogenicità del parenchima epatico e dalla qualità e risoluzione dell'immagine.

L'impiego del color-Doppler facilita l'identificazione e la distinzione dei vasi epatici: quando si utilizzano le impostazioni standard della mappa dei colori, il flusso portale diretto dal centro alla periferia appare come un segnale rosso, mentre il flusso venoso epatico appare come un segnale blu; il flusso arterioso, anch'esso diretto dal centro alla periferia, può anche mostrare un segnale rosso, a seconda delle dimensioni delle arterie e delle impostazioni Doppler. (Figure 6.5)

La vena porta deriva dalla confluenza delle vene mesenteriche craniale e caudale e della vena splenica (sul lato sinistro), e quindi drena la maggior parte degli organi addominali (Figure 6.4). Riceve anche un affluente più piccolo, la vena gastroduodenale, solo pochi centimetri caudalmente all'ingresso epatico. La porzione extraepatica della vena porta è relativamente centrale nell'addome, ventrale alla vena cava caudale e ventrale e a destra dell'aorta; inoltre è più tortuosa della vena cava caudale e dell'aorta e si curva leggermente sul lato destro prima di entrare nel fegato. Quando misurato a livello dell'ilo epatico, il suo diametro luminale varia tra 3,4 e 5,0 mm nei gatti normali e tra 3,3 e 10,5 mm nei cani normali. Quando si confronta il diametro luminale massimo della vena porta e dell'aorta, in queste due specie sono normalmente attesi rapporti vena porta/aorta di 0,71–1,25.



**Figure 6.4 Sistema vascolare portale.** Illustrazione schematica del sistema vascolare epatico e del sistema portale extraepatico di cani e gatti, visti da un approccio ventrale. Il fegato riceve il suo apporto vascolare attraverso la vena porta (PV) e le arterie epatiche (HA). La PV riceve diverse vene più piccole che drenano la maggior parte dei visceri addominali. Viene anche illustrata la relazione con la vena cava caudale (CVC) e l'aorta (Ao). HV, vene epatiche. Vene del sistema portale: CaM, mesenteriche caudali; CrM, mesenterica craniale; GD, gastroduodenale; GE, gastroepiploica; Jej, digiunale; LG, gastrica sinistra, PD, pancreaticoduodenale; S, splenica. (Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)



**Figure 6.5 Vascolarizzazione epatica.** Le vene portali possono essere differenziate dalle vene epatiche a causa della consistente iperecogenicità delle loro pareti (freccie), indipendentemente dall'orientamento del fascio di ultrasuoni. Con il color Doppler convenzionale, il flusso venoso portale appare come un segnale rosso diretto verso il trasduttore, rispetto a un segnale blu per le vene epatiche che drenano nella vena cava caudale (cioè, lontano dal trasduttore). (Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)

### **6.3 Aspetto del fegato patologico all'ecografia tradizionale**



L'esame ecografico dovrebbe includere la valutazione delle dimensioni e contorno del fegato, ecogenicità del parenchima e distribuzione di eventuali anomalie. Sebbene alcune di queste patologie abbiano caratteristiche ecografiche particolari, la maggior parte delle alterazioni non sono patognomoniche di un particolare processo, rendendo quindi necessarie indagini aggiuntive. I disturbi epatici che si possono riscontrare nel cane e nel gatto possono essere classificati in funzione della loro distribuzione in focali, multifocali o diffusi.

### 6.3.1 Alterazioni epatiche diffuse

Questo tipo di disturbi colpisce tutti i lobi, anche se non sempre in modo uniforme, rendendone a volte difficile la differenziazione da malattie multifocali poco definite. La maggior parte dei processi patologici epatici diffusi, ad eccezione di anomalie vascolari portali congenite, l'epatite cronica e la cirrosi, è associata ad un'epatomegalia simmetrica o asimmetrica. In ogni caso, un normale esame ecografico epatico non esclude una malattia epatica diffusa perché i cambiamenti strutturali devono essere gravi prima che i cambiamenti ecografici siano visibili.

L'ecogenicità parenchimale può essere aumentata, ridotta o mista. (Tabella 6.1). Si parla di iperecogenicità epatica se, confrontandone l'ecogenicità con un organo adiacente (rene o milza), appare iperecogeno rispetto alla corteccia renale, isoecogeno o iperecogeno rispetto alla milza; inoltre, vi è anche una maggior difficoltà a identificare i vasi portali, che, come detto prima, hanno pareti più ecogene. Un'ipoecogenicità si presenta con un aumento degli echi periportali e un aspetto ipoecogeno se confrontato con la corteccia renale.

| <b>IPERECOGENITÀ<br/>DIFFUSA</b> | <b>IPOECOGENITÀ<br/>DIFFUSA</b> | <b>ECOGENITÀ MISTA</b>                                                                   |
|----------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Epatopatia steroidea             | Congestione passiva             | Epatopatia steroidea associata a iperplasia benigna, o un'altra combinazione di processi |
| Lipidosi                         | Epatite acuta o colangioepatite | Epatite                                                                                  |

|                            |                       |                          |
|----------------------------|-----------------------|--------------------------|
| Altre epatopatie vacuolari | Linfoma               | Linfoma                  |
| Epatite cronica            | Leucemia              | Carcinoma epatocellulare |
| Fibrosi                    | Disordini istiocitari | Metastasi                |
| Cirrosi                    | Amiloidosi            | Necrosi                  |
| Linfoma                    |                       | Amiloidosi               |
| Mastocitoma                |                       |                          |

Tabella 6.1 Diagnosi differenziali per alterazioni diffuse nell'ecogenicità parenchimale epatica.  
(Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)

Le epatopatie vacuolari steroideo-indotte, nel cane, e la lipidosi epatica, nel gatto sono tra i disturbi parenchimali diffusi più comuni e sono tipicamente associate ad epatomegalia ed iperecogenicità diffusa; inoltre, il parenchima può apparire eterogeneo o contenere noduli focali ipoecogeni o iperecogeni, molto probabilmente come conseguenza di un'iperplasia nodulare concomitante o di noduli rigenerativi.

I processi infiammatori epatici diffusi possono avere un aspetto ecografico variabile, in particolare ciò dipende se si tratta di un fenomeno acuto o cronico. L'epatite acuta tende a causare un'ipoecogenicità diffusa, mentre l'epatite cronica, essendo associata a fibrosi, cellule infiammatorie, edema, necrosi e noduli rigenerativa, si caratterizza per un'iperecogenicità diffusa. L'esito finale di un'epatite cronica, la cirrosi, può talvolta imitare una neoplasia; tuttavia, nel caso di una cirrosi il fegato è piccolo, mentre nel caso di una massiccia infiltrazione neoplastica si ha un'epatomegalia.

Nei gatti, è stato riportato che la colangite/colangioepatite è comunemente associata ad una diminuzione dell'ecogenicità parenchimale e a una maggiore visibilità della vascolarizzazione portale, sebbene il fegato possa apparire normale, iperecogeno o eterogeneo. Inoltre, questo processo è spesso associato ad anomalie biliari, come fango biliare, colelitiasi o ispessimento delle pareti e pancreatite.

Sebbene diversi processi neoplastici primari e secondari possano interessare il fegato nel cane e nel gatto, il coinvolgimento epatico diffuso è meno comune ed è solitamente causato da un'infiltrazione diffusa di cellule rotonde, sebbene la sua entità possa variare con il livello di infiltrazione. Il linfoma può interessare il fegato senza alterazioni ecografiche rilevabili o causare

ipoecogenicità parenchimale diffusa, iperecogenicità o ecogenicità mista, con o senza noduli ipoecogeni. Le neoplasie istiocitiche sono più comunemente associate a noduli e masse ipoecogene, sebbene sia stata segnalata ipoecogenicità epatica diffusa. Al contrario, l'infiltrazione di mastociti nel fegato tende a causare iperecogenicità diffusa, sebbene, come per altre infiltrazioni di cellule rotonde, siano possibili diverse manifestazioni. I carcinomi epatici possono anche essere diffusi, o interessare più lobi, con aspetto ecografico variabile che dipende dalla presenza di necrosi, infiammazione, emorragia o cavitazione.

Altre epatopatie, sebbene meno frequenti, possono essere riscontrate nei piccoli animali: l'amiloidosi, più comune nel gatto, può causare epatomegalia e ad ecogenicità eterogenea con focolai misti iperecogeni e ipoecogeni; nei cani con sindrome epatocutanea (dermatite necrolitica superficiale), il fegato può diventare altamente iperecogeno con regioni ipoecogene diffusamente distribuite, che porta ad un pattern a nido d'ape.

### 6.3.2 Alterazioni epatiche focali

Le patologie focali, in genere, appaiono come noduli o masse la cui ecogenicità differisce dal parenchima circostante; inoltre possono rendere irregolari i margini del fegato. Tuttavia, sebbene l'ecografia sia sensibile nel rilevare la presenza di alterazioni focali, non è specifica, in quanto il loro aspetto è piuttosto variabile; di conseguenza sono possibili numerose diagnosi differenziali: cisti, ascessi, neoplasie primarie o metastatiche, ematomi, granulomi, iperplasia nodulare ed ematopoiesi extramidollare possono essere difficili da distinguere sulla base del loro aspetto ecografico. Pertanto, nel momento in cui venga rilevata una lesione focale all'esame ecografico, è richiesta un'indagine diagnostica aggiuntiva al fine di giungere ad una diagnosi definitiva, che può essere un ago-aspirato o una biopsia. Inoltre, l'introduzione dell'esame ecocontrastografico ha contribuito ad aumentare l'accuratezza diagnostica complessiva e può essere quindi un valido strumento nella pratica clinica in grado di distinguere lesioni benigne da lesioni maligne. In ogni caso gli ultrasuoni sono un ottimo strumento per differenziare le masse cistiche da

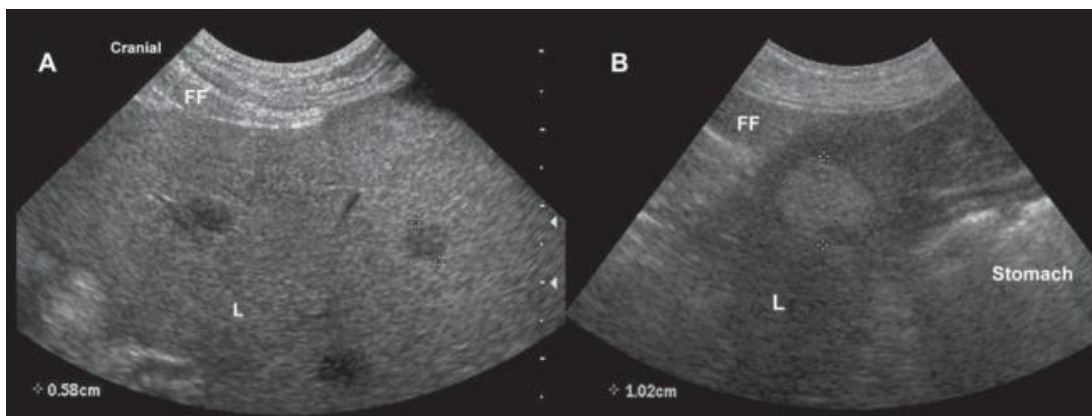
quelle solide, per valutarne la distribuzione focale, multifocale o diffusa, la relazione della massa con le strutture adiacenti, in particolare i grandi vasi sanguigni o la cistifellea.

La Tabella 6.2 elenca le diagnosi differenziali per le lesioni epatiche focali, in base al loro aspetto ecografico.

| <b>ANECOGENO</b> | <b>IPOECOGENO</b>             | <b>IPERECOGENO</b>                | <b>ECOGENICITÀ<br/>MISTA</b> |
|------------------|-------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| Cisti            | Iperplasia nodulare           | Iperplasia nodulare               | Iperplasia nodulare          |
| Tumore cistico   | Metastasi                     | Neoplasia primaria                | Neoplasia primaria           |
| Necrosi          | Linfoma                       | Metastasi                         | Metastasi                    |
| Ascesso          | Neoplasia epatica<br>primaria | Mineralizzazioni o<br>colelitiasi | Ascesso                      |
| Ematoma          | Ascesso                       | Ascesso                           | Ematoma                      |
|                  | Necrosi                       | Grasso o<br>mielolipoma           |                              |
|                  | Ematoma                       | Granuloma                         |                              |
|                  | Cisti complessa               | Gas                               |                              |

**Tabella 6.2** Diagnosi differenziali per lesioni epatiche focali all'ecografia sulla base del loro aspetto ecografico. (Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)

L'iperplasia nodulare benigna è una lesione focale, comune nei cani anziani che non causa malattia clinica, ma che può essere erroneamente interpretata come una neoplasia maligna primitiva o metastatica o una formazione di noduli rigenerativi associati a cirrosi. Dal punto di vista ecografico possono variare in termini di ecogenicità e dimensioni, ma in genere appaiono come noduli ipoecogeni con un diametro inferiore a 5-15mm. Come la gran parte delle altre lesioni focali, il loro margine può essere ben o poco definito. (Figura 6.6)



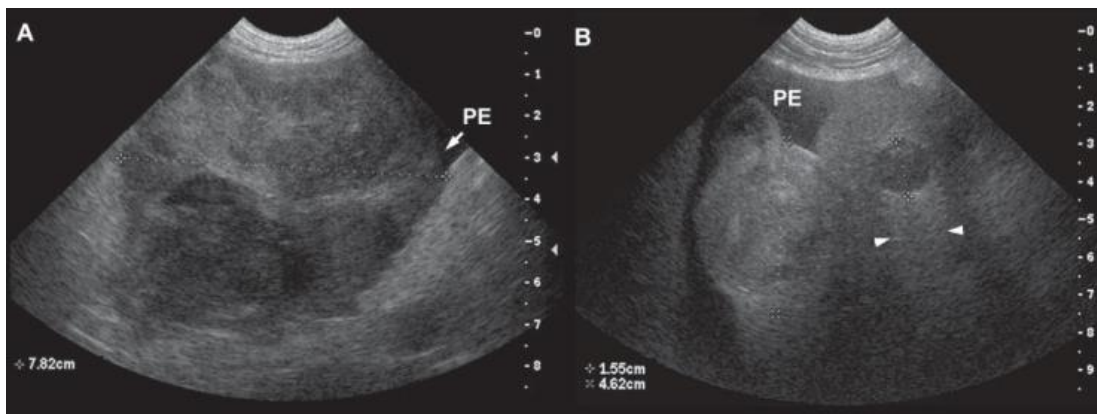
**Figura 6.6 Iperplasia nodulare in 2 cani.** **A:** In un fegato (L) altrimenti iperecogeno si notano diversi focolai ipoecogeni mal definiti, di larghezza inferiore a 1 cm. FF, grasso falciforme **B:** Il nodulo rigenerativo in quest'altro cane è iperecogeno e ben definito (*Penninck D., d'Anjou M. Atlas of small animal ultrasonography. Wiley Blackwell*)

Le neoplasie epatiche primarie sono rare sia nel cane che nel gatto, con una maggior prevalenza di neoplasie maligne nel cane e benigne nel gatto. Possono apparire come una grande massa solitaria confinata in un unico lobo epatico o con un aspetto multifocale se coinvolge diversi lobi. (Figura 6.7)

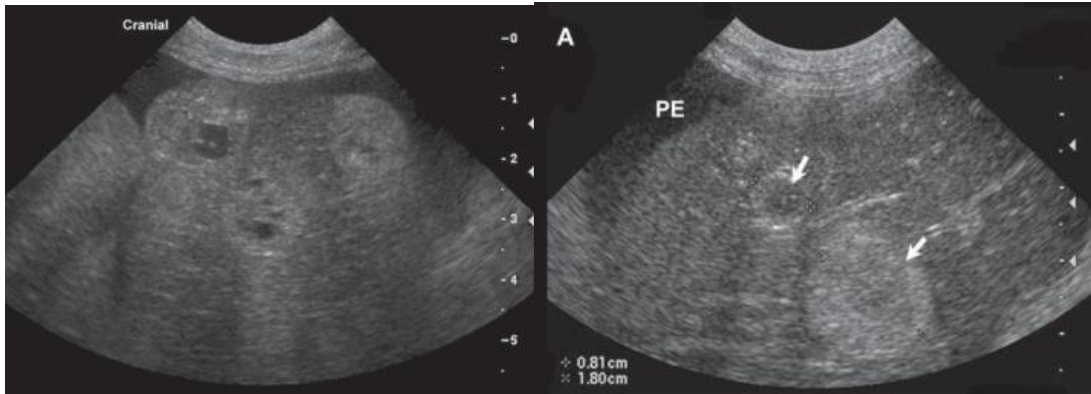
- **Neoplasie epatocellulari:** comprendono il carcinoma epatocellulare (HCC), il più frequente tumore epatico primario nel cane e l'adenoma epatocellulare, infrequente e spesso accidentale; nel gatto l'adenoma è più comune del carcinoma.
- **Neoplasie colangioepiteliali:** comprendono il carcinoma colangioepiteliale, il più comune tumore epatico primario nel gatto, e l'adenoma colangioepiteliale; nel cane i carcinomi dei dotti biliari sono la seconda neoplasia epatica primaria più comune.
- **Neoplasie neuroendocrine:** sono rappresentate dal carcinoide epatico, molto raro sia nel cane che nel gatto, ma molto aggressivo.
- **Sarcomi epatici primari** (emangiosarcoma, leiomiomasarcoma, tumori stromali gastrointestinali e altri): non sono frequenti, con l'emangiosarcoma a maggior prevalenza.

Al contrario, il fegato è frequentemente un bersaglio di metastasi, principalmente attraverso il sistema portale, che drena la maggior parte delle strutture addominali; queste hanno un aspetto variabile, anche se spesso si presentano con un aspetto nodulare multifocale o focale. (Figura 6.8)

Le caratteristiche tissutali variabili dei processi neoplastici primari e metastatici, tra cui densità tissutale, pattern vascolare, necrosi, liquefazione e calcificazione, causano aspetti ecografici variabili, che quindi per la loro caratterizzazione necessitano di indagini aggiuntive. Tuttavia, il riscontro di lesioni a bersaglio, ovvero lesioni focali ipoecogene con un centro iperecogeno, hanno un buon valore predittivo di metastasi (sebbene processi benigni, come l'iperplasia nodulare, possano causare un pattern simile); altre caratteristiche a supporto della malignità di un'alterazione includono la dimensione della lesione (> 3 cm) e la presenza di versamento peritoneale. Ovviamente, a causa dell'aspetto estremamente variabile delle neoplasie, il tipo di tumore non può essere determinato solo sulla base del suo aspetto ecografico, così come non si è in grado di distinguere ecograficamente se si tratta di una neoplasia primitiva o metastatica.



**Figura 6.7 Carcinomi epatici primari. A:** Carcinoma epatocellulare in un cane. Immagine trasversale ottenuta nell'addome craniale destro di un cane con emoaddome. Una massa irregolare, disomogenea e poco definita (7,8 cm di larghezza) sta deformando l'architettura di un lobo epatico. Intorno alla massa si nota una piccola quantità di versamento peritoneale (PE). **B:** Adenocarcinoma epatico e metastasi in un cane. Una massa sferica iperecogena (4,6 cm) sta deformando il contorno di un lobo epatico ed è circondata da PE lievemente ecogena. Un altro piccolo nodulo ipoecogeno (1,6 cm) nello stesso lobo è associato a un miglioramento acustico nel campo lontano (punte frecce). (*Penninck D., d'Anjou M. Atlas of small animal ultrasonography. Wiley Blackwell*)



**Figura 6.8 Metastasi epatiche.** La prima immagine rappresenta il fegato di un cane con emangiosarcoma splenico si trovano tre noduli iperecogeni irregolari, larghi 1,0–1,5 cm. Focolai cavitari da ipoecogeni ad anecogeni si trovano in alcuni di questi noduli. Nella seconda immagine, A: Adenocarcinoma pancreatico. Immagine obliqua del lobo epatico sinistro con due distinti noduli metastatici (freccie). Sono presenti un nodulo ipoecogeno più piccolo con un bordo iperecogeno sottile e un nodulo iperecogeno più grande, rispettivamente di 0,8 e 1,8 cm di larghezza. È presente versamento peritoneale (PE) lievemente ecogenico. (*Penninck D., d'Anjou M. Atlas of small animal ultrasonography. Wiley Blackwell*)

Neoplasie istiocitiche e linfomi possono dimostrare caratteristiche di imaging simili. Sebbene i risultati varino, in particolare con il linfoma, con questi processi si trovano comunemente noduli o masse multifocali, ipoecogeni o ad ecogenicità mista. Anche una significativa linfadenopatia epatica è comune con queste neoplasie a cellule rotonde e la loro presenza spesso aiuta nella diagnosi di questi processi.

Le cisti epatiche e biliari possono talvolta essere identificate nel cane e nel gatto e si presentano come lesioni ben circoscritte, anecoiche, in quanto ripiene di fluido, con una parete sottile e iperecogena.

L'epatite cronica è una delle epatopatie più comuni del cane, in particolare giovane o di media età; nella gran parte dei casi non si riesce a identificare la causa primaria, motivo per cui viene classificata come idiopatica. Ecograficamente si può evidenziare un fegato di piccole dimensioni con un pattern nodulare diffuso: si nota la presenza di un parenchima epatico iperecogeno che circonda dei noduli ipoecogeni.

Gli ascessi ed ematomi epatici hanno un aspetto variabile, che dipende dalla durata del processo patologico. Gli ascessi, tendenzialmente, hanno un margine iperecogeno e un centro anecogeno o ipoecogeno; gli ematomi possono essere inizialmente iperecogeni a causa del gas o degli aggregati di

globuli rossi, ma successivamente diventano ipoecogeni o anecogeni, fino a ritornare nuovamente iperecogeni, come conseguenza della fibrosi.

La torsione lobare è una condizione rara che coinvolge spesso il lobo sinistro; ecograficamente ha un aspetto variabile, in quanto il lobo dislocato può essere ipoecogeno o ad ecogenicità mista; la valutazione con modalità Doppler permette di evidenziare se vi è un flusso ridotto o assente.

### 6.3.3 Alterazioni del sistema biliare

Un ispessimento della parete della cistifellea è un segno non specifico, che può essere associato a colecistite, colangioepatite, epatite acuta o cronica, insufficienza cardiaca congestizia destra, ipoalbuminemia, sepsi o neoplasia. Talvolta l'ispessimento della parete si accompagna ad un aspetto a doppia parete.

I coleliti sono delle strutture focali, singole o multiple, mobili all'interno del lume della cistifellea, ecogene e con un'ombra acustica.

Il fango biliare intraluminale di solito non ha significato clinico, tuttavia, un mucocele biliare è una forma semisolida di fango biliare, che crea un aspetto stellato o striato all'interno del lume della cistifellea; può essere anche presente una distensione del sistema biliare intraepatico e/o extraepatico. È associato all'iperplasia delle ghiandole che secernono muco all'interno della mucosa, che quindi determina un accumulo anomalo di muco nel lume e successiva ostruzione biliare da parte del dotto cistico. La presenza di un mucocele della cistifellea può indicare un'infezione e una necrosi della cistifellea; inoltre, la necrosi ischemica della parete della cistifellea può determinarne una rottura, con conseguente peritonite biliare; la rottura della parete si visualizza con una discontinuità della stessa, grasso pericolecistico iperecogeno e/o liquido pericolecistico.

L'ostruzione biliare extraepatica provoca una dilatazione retrograda del sistema biliare: nel caso di un'ostruzione completa, la cistifellea e il dotto cistico si distendono entro 24 ore e si ha poi una progressiva dilatazione del dotto biliare comune entro 48 ore ed entro 7 giorni si ha una dilatazione dei dotti epatici e dei dotti lobari e interlobari. Ciò si traduce in molteplici tracce lineari anecoiche tortuose e irregolarmente ramificate all'interno del fegato.



Sebbene i calcoli nel dotto biliare possano causare ostruzione, le cause più comuni includono pancreatite e neoplasia nel pancreas, nel duodeno o nel fegato adiacenti, ma può essere associata anche a colangioepatite.

Un'ostruzione incompleta o precoce potrebbe non causare una dilatazione biliare visibile.

#### 6.3.4 Disturbi della vascolarizzazione epatica e portale

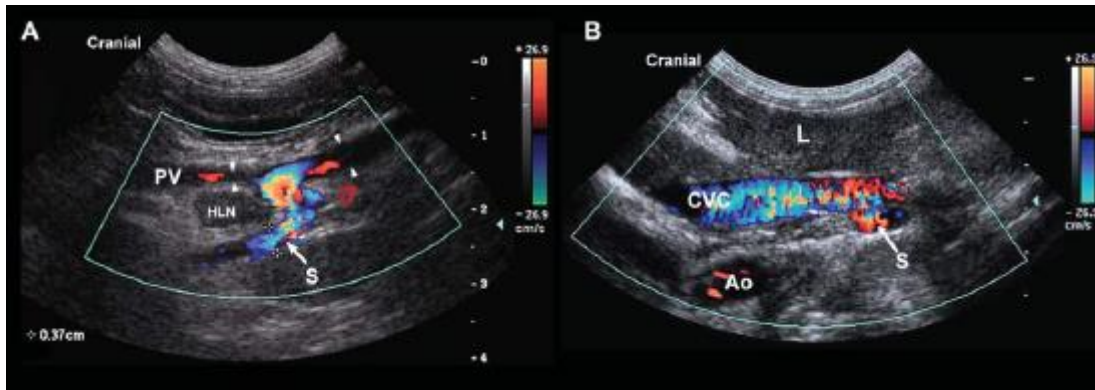
##### **Shunt portosistemici congeniti**

Gli shunt portosistemici congeniti (PSS) sono una delle anomalie vascolari più comuni nel cane e nel gatto e rappresentano una via di comunicazione fra il sistema portale e la circolazione sistemica per mezzo della vena cava craniale o della vena azygos. I PSS congeniti sono generalmente singoli.

Come conseguenza della microepatia, osservata comunemente negli animali affetti, una completa valutazione del sistema vascolare portale intra ed extraepatico può risultare difficoltosa; per cui, per meglio visualizzare il fegato, la vena porta e la vena cava craniale può essere necessario un approccio laterale destro a livello dell'11-12° spazio intercostale.

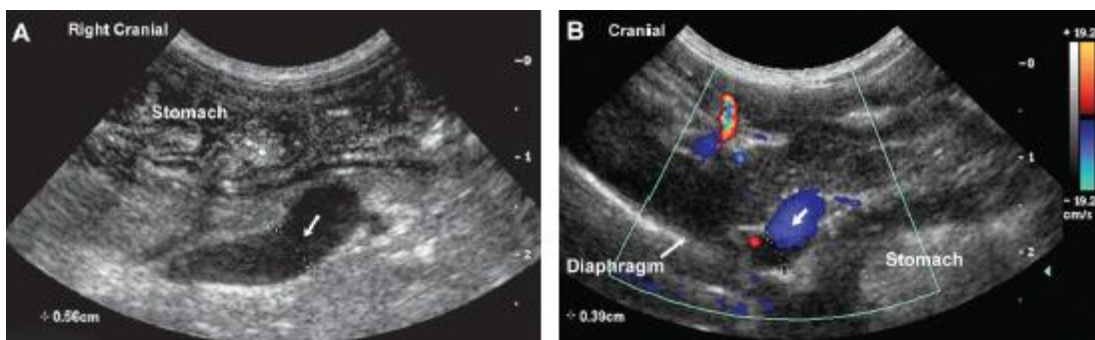
Gli *shunt portosistemici extraepatici*, che derivano dalla vena porta o da un suo affluente (es. vena splenica, gastrica destra, gastrica sinistra o gastroepiploica), sono la tipologia di PSS più comune, in particolare nei cani di piccola taglia e nei gatti. (Figura 6.13)

Ecograficamente si visualizza un vaso tortuoso anomalo, con un flusso epatofugo e un diametro massimo simile a quello dell'aorta e che origina tipicamente da un ramo del sistema portale. La terminazione si evidenzia nella gran parte dei casi a livello della vena cava craniale ed è associata ad una turbolenza focale del flusso, che sul color Doppler appare con un pattern a mosaico. (Figura 6.9)



**Figura 6.9 Shunt portocavali extraepatici.** **A:** Immagine longitudinale color Doppler dell'addome di uno Yorkshire Terrier. Dalla vena porta principale (PV) si vede uno shunt venoso (S) appena caudale allo stomaco. Questo vaso contiene flusso epatofugo ed è diretto craniodorsalmente. Il diametro PV è significativamente ridotto cranialmente all'origine dello shunt (punte di freccia). **B:** Immagine ecografica color Doppler longitudinale di addome craniodorsale in un cane con shunt portocavale extraepatico. Un pattern a mosaico osservato nella vena cava caudale (CVC) è coerente con la turbolenza del flusso nel sito di terminazione dello shunt (S). Ao, aorta; L, fegato. (Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)

La terminazione dello shunt può essere più difficile da visualizzare quando uno shunt si collega alla vena azygos; lo shunt in tal caso si porta craniodorsalmente, verso lo iato aortico, per cui può essere seguito dorsalmente e cranialmente al colon trasverso e allo stomaco, a meno che la finestra non venga ostruita da ombre o riverberi acustici dovuti alla presenza di gas, ingesta o feci. In alcuni casi si può visualizzare un vaso dilatato, adiacente e parallelo all'aorta che contiene un flusso venoso diretto cranialmente: ciò è considerato specifico per uno shunt portoazygos. (Figura 6.10)



**Figura 6.10 Shunt Portoazygos.** **A:** Immagine trasversale di addome craniodorsale in un cane di piccola taglia con un grande vaso dorsale allo stomaco in direzione dello iato aortico. Questa vena aveva un flusso epatofugo (freccia) e poteva essere seguita fino al diaframma. Durante l'intervento chirurgico è stato confermato uno shunt portoazygos. **B:** Immagine color Doppler longitudinale obliqua ottenuta nell'addome craniodorsale di un giovane Yorkshire Terrier. Accanto al cardias e al diaframma si trova una vena aberrante con flusso epatofugo (freccia corta). Uno shunt portoazygos è stato confermato chirurgicamente. (Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)

Gli *shunt portosistemici intraepatici*, invece, sono più diffusi nei cani di taglia grande e vengono distinti in divisione di sinistra, divisione centrale o divisione di destra. Gli shunt della divisione sinistra sono causati da un dotto venoso pervio e rappresentano la forma più comune di shunt intraepatico; in questo caso si vede un grande vaso tortuoso che origina dalla vena porta intraepatica e che si curva nella porzione sinistra del fegato prima di entrare nella vena cava craniale, attraverso la vena epatica di sinistra (Figura 6.13). Gli shunt della divisione di destra appaiono come un'immagine speculare del PSS del dotto venoso pervio, ma si portano nella porzione di destra del fegato prima di gettarsi nella vena epatica di destra o nella vena cava craniale. Gli shunt della divisione centrale spesso si presentano come uno shunt tra il sistema portale intraepatico e la vena cava craniale; la vena porta è comunemente dilatata e si può osservare una turbolenza del flusso nella vena cava craniale.

Le dimensioni della vena porta hanno un valore predittivo significativo nella diagnosi di sede dello shunt; infatti, come conseguenza della deviazione del flusso, le dimensioni della vena porta cranialmente allo shunt sono ampiamente ridotte. Si sospetta uno shunt extraepatico congenito nel momento in cui il vaso portale principale ha un diametro inferiore se confrontato con i suoi affluenti; di conseguenza per ricercare l'origine del PSS si deve andare a visualizzare il punto in cui la vena porta o un suo affluente diminuisce bruscamente di dimensioni. A tal proposito, per predire la probabilità di PSS extraepatico, è stato studiato il rapporto fra il diametro della vena porta prima di entrare nel fegato e il diametro dell'aorta nell'addome craniale. Un rapporto PV-aorta  $\leq 0,65$  indica la presenza di uno shunt extraepatico, mentre un rapporto  $\geq 0,8$  esclude questo tipo di PSS. Tuttavia, un basso rapporto PV/aorta potrebbe anche essere riscontrato nei cani con ipoplasia PV primaria; mentre rapporti PV/aorta  $\geq 0,8$  si osservano solo negli animali con un sistema portale normale, displasia microvascolare, PSS intraepatico o ipertensione portale causata da malattia epatica cronica.

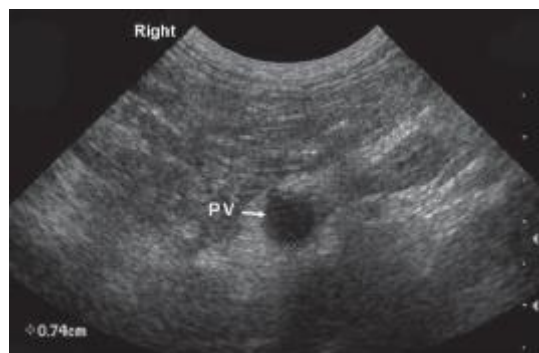
Inoltre, come conseguenza dell'ipoperfusione, la visibilità dei rami portalì intraepatici è spesso ridotta.

Se valutato con il Doppler, il flusso portale è comunemente irregolare a causa dell'influenza del ciclo cardiaco sul flusso portale normalmente relativamente costante. Il confronto delle velocità del flusso in diversi punti della vena porta e dei suoi affluenti permette di identificare un vaso anomalo con un flusso aumentato.

### **Ipertensione portale e shunt portosistemici acquisiti**

L'ipertensione portale è comunemente la conseguenza di un'epatopatia cronica, che comporta fibrosi e rigenerazione nodulare diffusa (cirrosi) o di una neoplasia infiltrativa; cause meno comuni includono ipoplasia della vena porta, fistola arterioportale, trombosi portale o compressione della vena porta da parte di una massa extraluminale. (Figura 6.13)

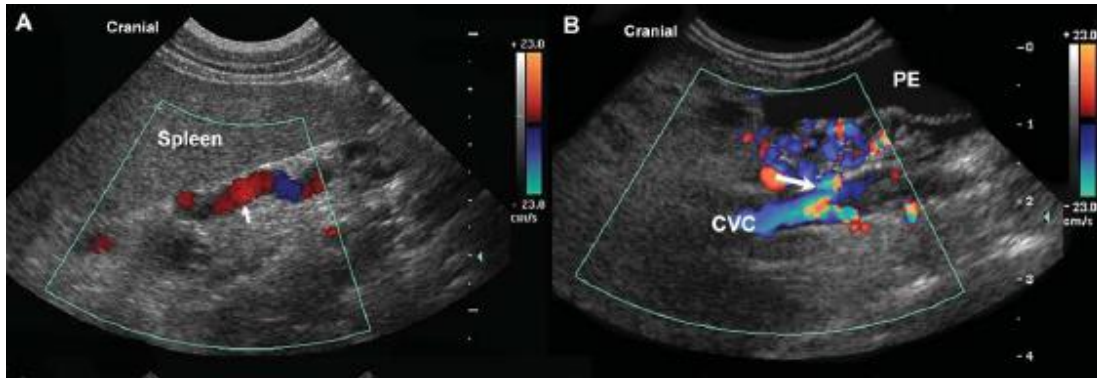
Dal punto di vista ecografico può essere sospettata sulla base della presenza di ascite e dall'edema che si verifica in altre strutture addominali, come la parete della cistifellea o il pancreas; inoltre, un altro indicatore è rappresentato dalla notevole riduzione della velocità del flusso portale (<10cm/s), con andamento epatofugo, soprattutto se la vena è di dimensioni normali o dilatata. (Figura 6.11)



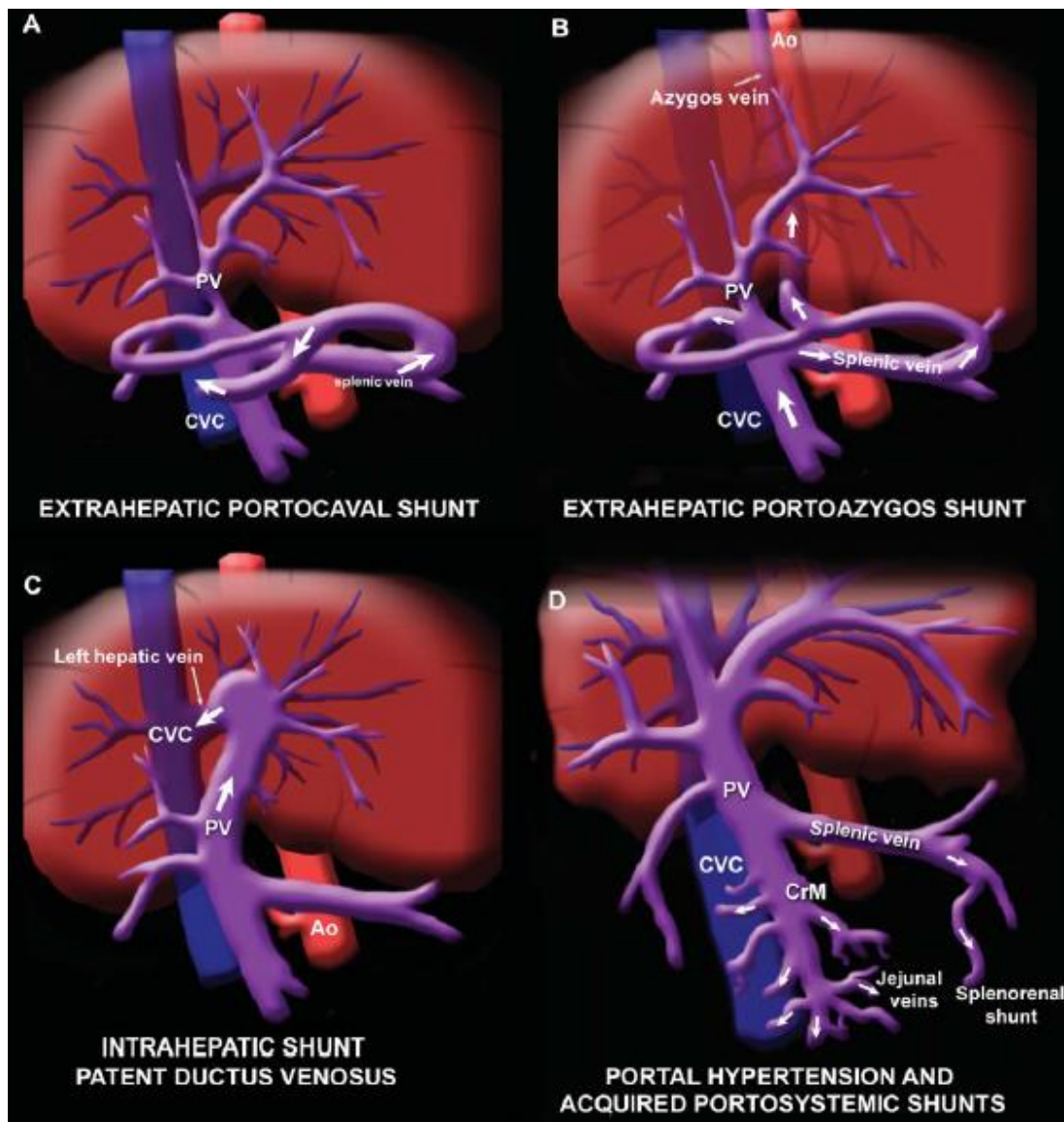
**Figura 6.11 Ipertensione portale.** Immagine trasversale di addome medio-craniale, in un cane di piccola taglia. La vena porta (PV) è ingrandita. La velocità del flusso è ridotta a causa dell'ipertensione portale. È stata diagnosticata la cirrosi epatica. (Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)

L'ipertensione portale di elevata entità e protratta per un lungo periodo determina l'apertura di vasi collaterali preesistenti che collegano il sistema portale alla circolazione sistemica; nella gran parte dei casi si osserva comunemente un'anastomosi splenorenale che ha origine dalla vena splenica. Si possono osservare anche piccoli vasi tortuosi che si collegano alla vena

renale sinistra o direttamente alla vena cava caudale. Piccoli vasi anomali e tortuosi si possono osservare anche nel mesentere e attorno alla vena cava craniale, in particolar modo quando si impiega il color o il power-doppler. La turbolenza del flusso è tipicamente osservata nella vena cava craniale a livello del sito di ingresso dello shunt.



**Figura 6.12 Shunt portosistemici acquisiti multipli. A:** Immagine longitudinale ottenuta a livello della milza. Una vena tortuosa (freccia) contenente un flusso diretto caudalmente è collegata alla vena splenica cranialmente e può essere seguita caudalmente a livello della vena renale destra, coerentemente con un'anastomosi splenorenale acquisita. Questo cane aveva un'ipoplasia della vena porta primaria. **B:** Immagine longitudinale ottenuta a livello medio-addome di un cane con ipertensione portale, a livello della vena cava caudale (CVC). Più piccoli vasi tortuosi sono visti nel mesentere, in prossimità del CVC, con una connessione diretta osservata (freccia). Viene anche rilevato il versamento peritoneale anecoico (PE). (Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)



**Figura 6.13** Categorie di shunt portosistemici. **A, B:** gli shunt extraepatici congeniti possono terminare nella vena cava caudale o nella vena azygos. In entrambi i casi, il diametro della vena porta (PV) craniale all'origine dello shunt è significativamente ridotto a causa della deviazione del flusso. Uno shunt portoazygos può essere seguito in direzione dello iato aortico, lungo l'aorta (Ao), ma la sua terminazione può essere difficile da visualizzare. D'altra parte, la maggior parte delle terminazioni dello shunt portocavale può essere vista con l'ecografia. **C:** Gli shunt intraepatici del lato sinistro (dotto venoso pervio) rappresentano il tipo più comune di shunt intraepatici. **D:** Gli shunt acquisiti multipli più comunemente sono causati da malattia epatica cronica e ipertensione portale secondaria. Di solito si possono identificare piccoli vasi tortuosi attorno alla CVC, così come tra la milza e il rene sinistro (anastomosi splenorenale). Le vene intraepatiche possono anche essere distorte e di diametro ridotto. Con l'epatite cronica o la cirrosi, il fegato è tipicamente di contorno irregolare ed eterogeneo. CrM, vena mesenterica cranica. (Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)

## **CAPITOLO 7 – APPLICAZIONE DELL'ECOCONTRASTOGRAFIA AL FEGATO**

Il fegato è l'organo addominale più comunemente indagato mediante l'impiego dei MDC ecografici, sia per fattori prettamente medici che veterinari: il fegato è un comune sito di metastasi di neoplasie primarie intraddominali (soprattutto emangiosarcoma) e di lesioni benigne, tendenzialmente prevalenti in cani anziani. In particolare, il suo impiego trova spazio nella differenziazione delle lesioni focali, in quanto va a valutare il differente pattern vascolare che caratterizza le lesioni benigne e maligne, permettendone nella gran parte dei casi una loro chiara distinzione. Secondo uno studio condotto da *Nyman et al. 2005*, l'efficacia dell'imaging a ultrasuoni delle lesioni epatiche con un diametro inferiore a 2 cm (a seconda della fonte di informazioni) va dal 53% all'84%. La sensibilità per le lesioni nodulari di diametro inferiore a 1 cm è del 20%, mentre la presunta soglia di rilevamento è di 0,5 cm.

I mezzi di contrasto attualmente utilizzati nell'ecografia epatica sono tre:

- SonoVue® (esafluoruro di zolfo con guscio fosfolipidico): registrato in Europa, Cina, India Corea, Hong Kong, Nuova Zelanda, Singapore e Brasile
- Definity®/Luminity® (octafluoropropano con un guscio lipidico): registrato in Canada ed Australia
- Sonazoid® (perfluorobutano con guscio fosfolipidico: fosfatidilserina d'uovo idrogenata): registrato in Giappone e Sud Corea

Gli altri UCA o non sono registrati per il fegato, o, nel caso del Levovist®, la produzione è cessata.

### **7.1 Aspetto econtrastografico normale del fegato**

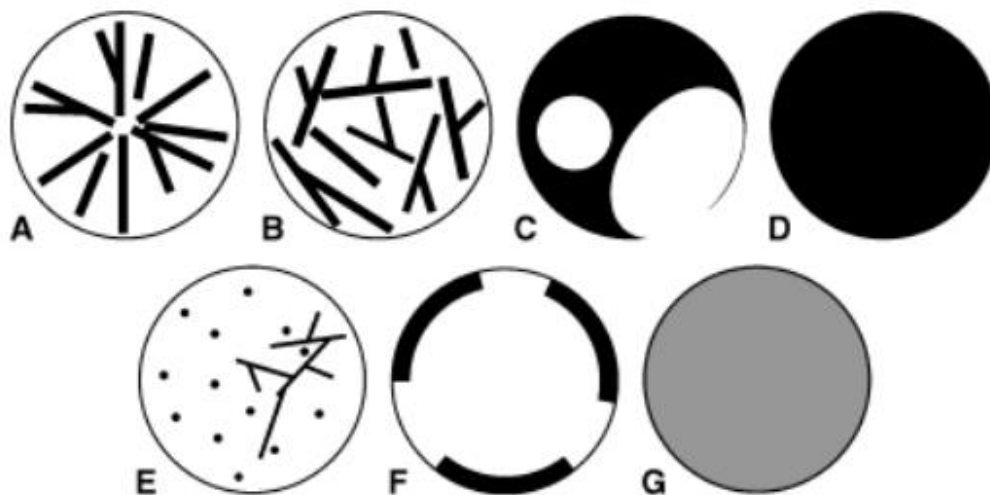
#### **7.1.1 Fasi vascolari**

In seguito all'iniezione del MDC, è possibile seguire la distribuzione dello stesso all'interno del fegato mediante l'analisi dei diversi livelli di grigio. L'intensità media della scala di grigi aumenta nel momento in cui il MDC entra nelle arterie epatiche dopo l'iniezione nella vena periferica (*wash in*). Per raggiungere le vene epatiche, le microbolle devono attraversare tre piccoli letti

vascolari, ovvero i capillari polmonari, l'intestino e i sinusoidi epatici, con conseguente enhancement delle vene portali. L'enhancement diminuisce quando il MDC lascia il fegato attraverso la vena cava caudale e raggiunge nuovamente il valore basale (*wash out*).

Considerata la doppia vascolarizzazione del fegato, proveniente dall'arteria epatica (25 – 30%) e dalla vena porta (70 – 75%), si possono riconoscere tre fasi vascolari.

- **Fase arteriosa epatica:** in funzione della funzionalità cardiovascolare dell'animale, inizia circa 7 – 10s dopo l'iniezione del MDC e continua per 10 – 15s. Sulla base della fase arteriosa si valuta la presenza o assenza di enhancement in confronto al parenchima circostante, classificando la lesione in iper-/iso-/ipovascolare; si può valutare anche la sede dell'iniziale enhancement nella lesione (centrale, periferico) e la modalità di perfusione (centripeta, centrifuga); inoltre può essere presente un pattern vascolare specifico (facendo riferimento a studi condotti sull'uomo), che può essere classificato come radiale, disomogeneo, diffuso disomogeneo, diffuso omogeneo, punteggiato, periferico e ipovascolare (Fig. 7.1).



**Figure 7.1 Schema del pattern di enhancement nella fase arteriosa:** enhancement radiale (A), enhancement vascolare radiale (B), enhancement diffuso disomogeneo (C), enhancement diffuso omogeneo (D), enhancement finemente punteggiato (E), enhancement periferico (F), enhancement ipovascolare (G). (Kanemoto H., Ohno K., Nakashima K., Takahashi M., Fujino Y., Nishimura R., Tsujimoto H. *Characterization of canine focal liver lesions with contrast-enhanced ultrasound using a novel contrast agent*, 2009)



- **Fase venosa portale:** inizia 30 – 45s dopo l'iniezione del MDC e si protrae per 2 minuti, ma in pazienti con cirrosi epatica è possibile un ritardo. Questa fase fornisce informazioni sulla perfusione della lesione (iperfusione/iso/ipoperfusione), rispetto al parenchima epatico circostante. Queste prime due fasi sono molto simili fra i diversi MDC disponibili.
- **Fase tardiva:** perdura fino alla clearance del MDC dalla circolazione e in genere dura 4-6 minuti.

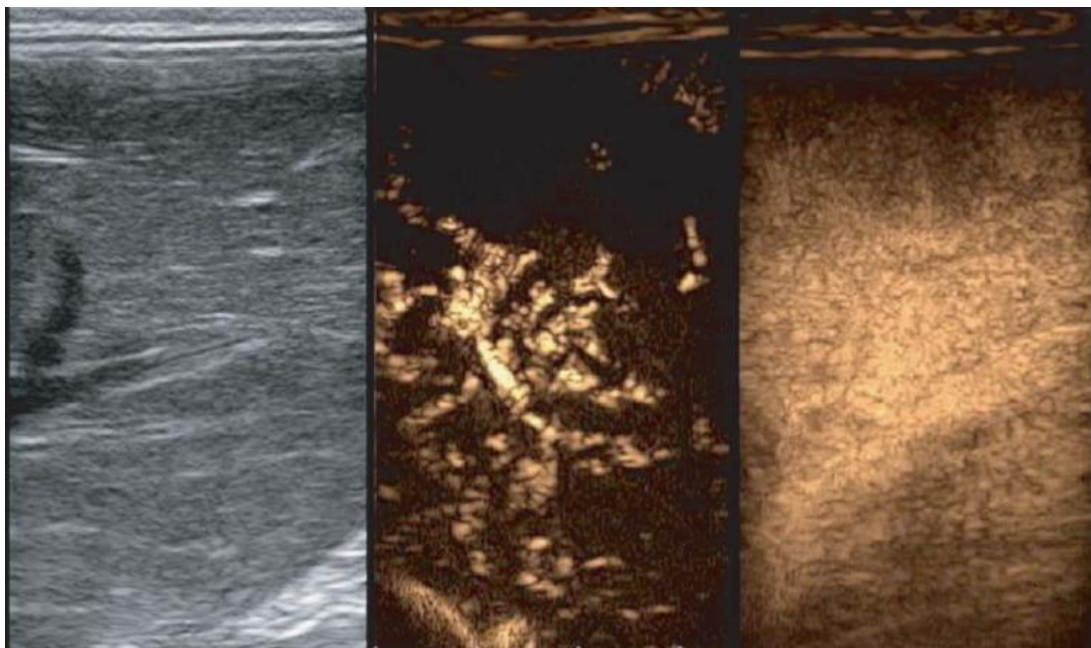
Nel caso del MDC Sonazoid® si può descrivere anche una **fase postvascolare o di Kupffer o parenchimale** e inizia circa 10 minuti dopo l'iniezione e perdura per un'ora o più. Tale fase è legata al fatto che il MDC viene fagocitato dalle cellule del sistema reticolo-endoteliale (es. cellule di Kupffer). Nella fase parenchimale, gli enhancement sono stati classificati come nessun difetto, difetto irregolare o difetto evidente. Un difetto con valorizzazione centrale e un bordo chiaro che lo separa dal tessuto circostante è stato classificato come difetto evidente. Al contrario, un difetto irregolare indica un difetto di valorizzazione incompleto con ecogenicità disomogenea nella lesione.

La fase tardiva e postvascolare forniscono importanti informazioni in merito al carattere di una lesione, in quanto la gran parte delle forme maligne è ipointensa, mentre la maggior parte delle forme benigne è iso- o iperintensa. Il cambiamento nell'enhancement durante le varie fasi vascolari fornisce una base per la diagnosi delle lesioni epatiche focali: la fase arteriosa fornisce informazioni sul grado e sul pattern di vascolarizzazione, mentre le fasi portale venosa e parenchimale descrivono il pattern di eliminazione del MDC.

La maggior parte delle lesioni benigne è caratterizzata da un enhancement costante; questo comporta che una lesione focale ha un'ecogenicità uguale o superiore al parenchima epatico durante la fase della vena porta. Pertanto, le lesioni benigne possono essere differenziate dalla maggior parte delle lesioni maligne che hanno un forte enhancement nella fase iniziale dell'arteria epatica e con uno scarso enhancement e ipoecogene rispetto il parenchima epatico nella fase della vena porta e nella fase parenchimale (fenomeno di washout precoce). Ciò è dovuto al fatto che il supporto vascolare nelle lesioni maligne

è dato esclusivamente da vasi arteriosi e non vi è alcun afflusso portale. È stato dimostrato da uno studio condotto sull'uomo che il washout nella fase venosa portale o nella fase tardiva è la caratteristica più importante per distinguere le lesioni maligne dalle lesioni benigne (*Yang et al. 2019*): quasi tutti i noduli maligni, inclusi il carcinoma colangiocellulare e altri tumori fibrotici mostrano washout, riflettendo il minor volume sanguigno della lesione maligna rispetto al fegato; delle eccezioni sono state riportate sia per lesioni benigne e maligne, in particolare alcuni carcinomi epatocellulari ben differenziati non mostrano washout, probabilmente a causa del volume sanguigno simile a quello epatico; alcune masse benigne, inclusi adenomi epatici e iperplasie nodulari benigne possono mostrare washout. Va inoltre notato che, in caso di cirrosi avanzata, la presenza e il grado di washout di una lesione epatica può essere influenzata da uno scarso enhancement del parenchima di fondo a causa della ridotta perfusione venosa portale e alla diminuzione del volume vascolare nel fegato cirrotico.

Lo spostamento del MDC nel torrente circolatorio esita nella forma finale dell'*upslope* e *downslope* della curva intensità-tempo. Se si verificasse un'alterazione dell'equilibrio tra flusso arterioso epatico e venoso portale, come nel caso di shunt artero-venosi (tipici delle metastasi epatiche), il tempo di arrivo può essere ridotto e si può verificare un cambiamento nella forma della normale curva intensità-tempo. L'analisi matematica di tale curva fornisce degli indici su tempi ed entità di risposta alla somministrazione del MDC, tuttavia, essendo il fegato un organo complesso, con una doppia vascolarizzazione, ciò è complicato da eseguire nella pratica.



**Figura 7.2** Immagine in scala di grigi (a sinistra), fase arteriosa (al centro) e fase venosa portale (a destra) del fegato di un cane normale con CEUS. Il mezzo di contrasto è visualizzato in giallo e delinea l'architettura della vascolarizzazione arteriosa epatica nella fase arteriosa. Nella fase venosa portale, il parenchima epatico è uniformemente enhanced.

### 7.1.2 Analisi quantitativa nel fegato normale

L'analisi quantitativa è necessaria per la valutazione matematica del grado di perfusione tissutale e la rilevazione di lesioni diffuse nei tessuti. *Ziegler et al. 2003* e *Nyman et al. 2005* hanno eseguito degli studi di perfusione in 8 e 11 cani sani rispettivamente. Sono stati calcolati i seguenti parametri: *upslope*, *downslope*, *baseline*, tempo per raggiungere il picco (TTP), area sottesa alla curva (AUC), intensità di picco (IP) e il tempo di transito medio (mTT). Tali dati inoltre vengono rappresentati graficamente mediante curve intensità-tempo, che consentono anche le misurazioni della diffusione e della clearance del MDC in una determinata regione di interesse (ROI). Tali valutazioni risultano utili in quanto una patologia che influisce sull'equilibrio del flusso sanguigno arterioso e venoso portale epatico modificherà uno o più dei parametri qui valutati. Questo può essere utile nella diagnosi e nel monitoraggio di malattie del fegato parenchimali o vascolari.

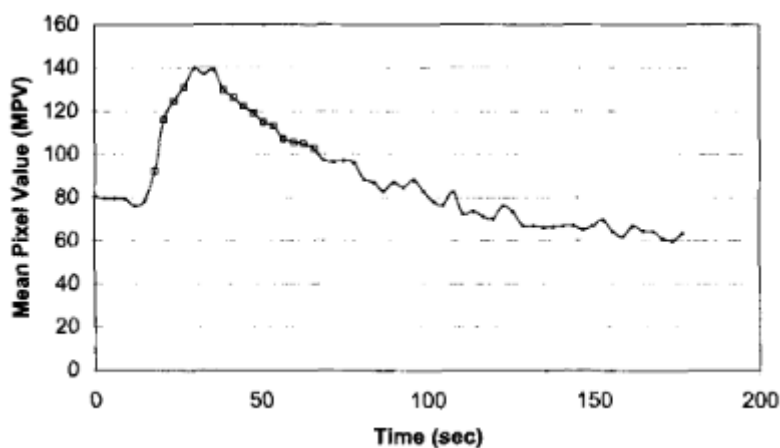
Tuttavia, diversi fattori influenzano il grado di miglioramento del contrasto, per cui i dati possono variare se vengono impiegati protocolli di iniezione,

impostazioni di indice meccanico, frame rate o unità di imaging differenti. Di conseguenza protocolli diversi richiederebbero ulteriori studi su soggetti normali.

Ziegler L. E. et al. 2003 ha calcolato tali parametri somministrando il mezzo di contrasto sia con un'infusione continua che con una somministrazione a bolo.

Con la somministrazione del MDC in bolo, l'upslope medio era di  $3,85 \pm 1,50$  Mean Pixel value/s e il downslope medio era di  $-0,71 \pm 0,30$  Mean Pixel value/s. Il tempo per raggiungere il picco (TTP) è stato determinato in due modi, ovvero dal momento dell'iniezione ( $T_0$ ) e questo valore è stato in media di  $22,88 \pm 6,79$  s, oppure dal punto più vicino all'inizio dell'upslope ( $T_{up}$ ) e questo valore era in media di  $13,88 \pm 1,55$ . (Figura 7.3)

Per le infusioni a velocità costante, l'upslope medio era di  $0,39 \pm 0,33$  valori di pixel medi/s e il downslope medio di  $-0,18 \pm 0,09$  valori di pixel medi /s. Il TTP per le infusioni a velocità costante era di  $114,00 \pm 40,47$  s a partire da  $T_0$  e  $92,00 \pm 38,87$  s da  $T_{up}$ .

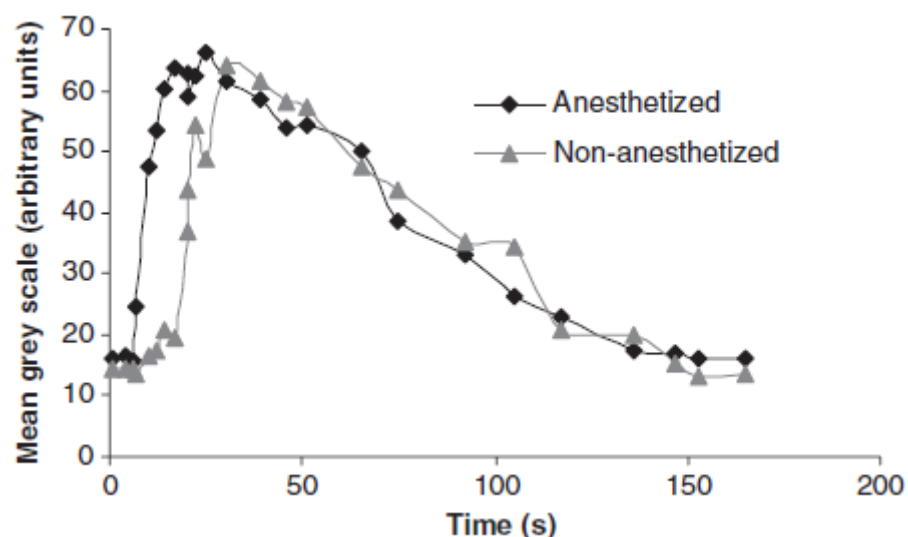


**Figura 7.3** Tempo di *enhancement*/Mean Pixel Value (Ziegler L. E., O'Brien R. T., Waller K. R. Zagzebski J. A., *Quantitative contrast harmonic ultrasound imaging of normal canine liver. Veterinary Radiology & Ultrasound, Vol. 44, No. 4, 2003, pp 451-454*)

Le differenze tra upslope e downslope, il picco e TTP delle due modalità erano statisticamente significative, mentre le differenze tra i valori basali non erano significative; inoltre, le infusioni a velocità costante hanno mostrato una variabilità maggiore tra i soggetti rispetto alle iniezioni in bolo. Ciò ha

comportato deviazioni standard maggiori nelle pendenze e nel TTP. Inoltre, i valori basali, di picco e l'inizio della pendenza erano spesso difficili da valutare accuratamente nei dati di infusione, rendendo difficile il calcolo della pendenza. Tali differenze nella curva intensità-tempo vengono spiegate dal fatto che un'iniezione in bolo determina una risposta in doppia fase, mentre un'infusione costante si caratterizza per un miglioramento progressivo e graduale, con un successivo plateau che persiste fino alla fine della somministrazione.

Lo studio di *Nyman et al. 2005* ha permesso di valutare come variano i parametri quantitativi in funzione del fatto che l'animale sia o meno sotto anestesia; in questo caso è stata effettuata solo una somministrazione in bolo. (Figura 7.4) Non ci sono state differenze statisticamente rilevanti nell'intensità di picco e nell'upslope tra i cani anestetizzati e non; tuttavia, il TTP era significativamente più breve nei cani sotto anestesia rispetto a quelli non anestetizzati: il TTP, calcolato dal momento dell'iniezione ( $T_0$ ), era di 34,6 s quando i cani erano anestetizzati e di 46,3 s, quando non lo erano; il TTP calcolato dall'aumento iniziale ( $T_1$ ) era di 28,6 s durante l'anestesia e 40,5 s senza anestesia.



**Figura 7.4** Curva tempo-intensità della distribuzione di SonoVue® in animali senza e con anestesia (Nyman H. T., Kristensen A. T., Kjelgaard-Hansen M., McEvoy F. J. Contrast-enhanced ultrasonography in normal canine liver. Evaluation of imaging and safety parameters. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, Vol. 46, No. 3, 2005, pp 243–250.)

## **7.2 Interpretazione delle immagini e differenziazione delle lesioni benigne e maligne epatiche**

Essendo la letteratura veterinaria limitata su tale argomento, spesso si fa riferimento a studi condotti in medicina umana, in particolare, quanto descritto di seguito è stato ripreso da *Claudon M, Dietrich CF, Choi BI, et al. Guidelines and Good Clinical Practice Recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Liver – Update 2012*, con eventuali arricchimenti provenienti da studi in medicina veterinaria, quando disponibili.

Nella valutazione ecocontrastografica epatica, si prendono in considerazione le seguenti caratteristiche:

- Durante il wash-in: il grado di enhancement rispetto al parenchima circostante (iperenhancement, ipoenhancing, isoenhancing o nonenhancing), omogeneità di enhancement (omogenea o disomogenea) e distribuzione del MDC (centrale, periferico o diffuso).
- Durante il wash-out: il grado di enhancement rispetto al parenchima circostante (vengono classificate come “senza washout” quelle lesioni che sono iperenhanced durante il washin e isoenhanced durante il washout e lesioni che sono iso- ipoenhanced sia durante il washin che durante il washout), omogeneità di enhancement (omogenea o disomogenea) e pattern di diminuzione del MDC (centrale, periferico o diffuso).

I margini della lesione vengono valutati durante tutto l'esame CEUS e classificati come “chiari e regolari”, “chiari e irregolari”, “non chiari e regolari” e “non chiari e irregolari”. (*Burti et al. 2020*).

### **7.2.1 Lesioni benigne del fegato**

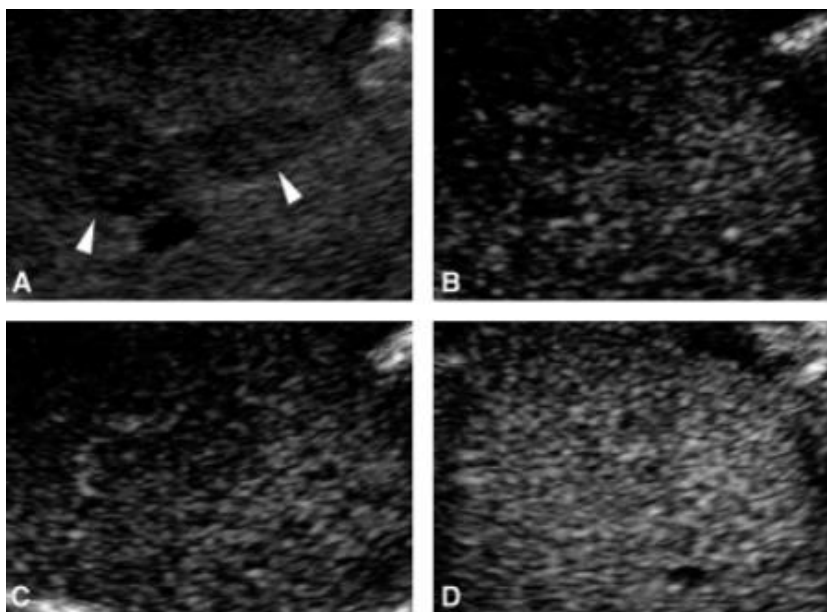
Le lesioni nodulari benigne nel cane includono cisti, ematomi, ascessi, granulomi, noduli rigenerativi e, meno comunemente, pseudocisti biliari e infarti.

In quasi tutte le lesioni epatiche solide benigne si osserva un enhancement continuo nella fase portale e in quella tardiva, fattore che nella gran parte dei casi ne permette una distinzione dalle lesioni maligne; possono essere

ulteriormente caratterizzate dai loro pattern di enhancement (ad es. enhancement diffuso, tipico dell'iperplasia nodulare focale o enhancement periferico iniziale, negli emangiomi).

### **Iperplasia nodulare focale (FNH)**

Si tratta della lesione benigna più comunemente riscontrata in medicina veterinaria, in particolare nel cane. L'iperplasia nodulare appare tipicamente come una lesione omogenea con iperenhancement in tutte le fasi, ma evidente e di solito marcato nella fase arteriosa, con un riempimento rapido dal centro verso l'esterno (70%) o con un afflusso vascolare eccentrico (30%). Durante le fasi portale venosa e tardiva, l'FNH può rimanere leggermente iperenhanced o diventare isoenhanced. Nella fase postvascolare (Sonazoid®) è iso/ipoenhanced. (Figura 7.5) Tale aspetto ecocontrastografico può essere ricondotto al fatto che i noduli iperplastici hanno una vascolarizzazione simile a quella del parenchima epatico normale, e che, di conseguenza appaiono per questo isoecogeni rispetto al parenchima epatico. I dati ripresi da *Guidelines and Good Clinical Practice Recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Liver – Update 2012*, sono stati confermati da diversi studi condotti sul cane, quale *Kanemoto et al. 2009*, in cui in 9 cani con noduli iperplastici si è riscontrato in 5 di questi nella fase arteriosa un enhancement diffuso ed omogeneo con iso- o ipoenhancement, nella fase portale un isoenhancement e senza alcun difetto di enhancement nella fase parenchimale; nei cani rimanenti nella fase vascolare le lesioni apparivano ipovascolari e con evidenti difetti nella fase parenchimale. Anche lo studio di *O'Brien et al. 2004* conferma gli studi in medicina umana, in cui di 13 cani con noduli iperplastici rigenerativi apparivano uniformemente isoecogeni rispetto al parenchima epatico normale. Riscontri simili sono stati evidenziati da *Nakamura et al. 2010*.



**Figura 7.5** Immagine ecografica di un'iperplasia nodulare nell'ecografia B-mode convenzionale (A) e nelle fasi arteriosa (B), portale (C) e parenchimale (D) di CEUS con Sonazoid. Nell'ecografia in B-mode convenzionale, è stata osservata una lesione ipovascolare solitaria, mal definita. Nella CEUS, abbiamo osservato isovascolarizzazione nelle fasi arteriosa (B), portale (C) e parenchimale e la lesione è diventata poco chiara (C). Non sono stati osservati difetti all'interno del nodulo. (Kanemoto H. et al. *Characterization of canine focal liver lesions with contrast-enhanced ultrasound using a novel contrast agent*; 2009)

### **Adenoma epatocellulare (HCA)**

L'aspetto ecocontrastografico dell'adenoma epatocellulare è stato descritto in studi condotti sull'uomo (*Guidelines and Good Clinical Practice Recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Liver – Update 2012*), mentre attualmente non è stato descritto in medicina veterinaria. Nella fase arteriosa mostra un iperenhancement, che di solito parte dalla periferia con successivo riempimento centripeto molto rapido, quindi con una direzione opposta rispetto a quella osservata nella FNH. Tuttavia, questo pattern di enhancement arterioso può essere riscontrato anche nell'HCC e nelle metastasi, per cui non è patognomonico dell'HCA. Il passaggio dall'iperenhancement arterioso all'aspetto isoenhancement avviene all'inizio della fase venosa portale, di solito prima che nell'FNH. Nella maggior parte dei casi, i modelli di enhancement dell'HCA possono suggerire la malignità quando si verifica il *wash-out* nella fase tardiva, una delle poche cause di falsi positivi su CEUS.

### **Infiltrazione e/o accumulo lipidico focale**



Il suo aspetto ecocontrastografico è stato descritto in studi in medicina umana (*Guidelines and Good Clinical Practice Recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Liver – Update 2012*), mentre attualmente non è stato delineato in medicina veterinaria. Possono simulare delle masse nell'ecografia B-mode, motivo per cui devono essere indagati con metodiche aggiuntive. L'aspetto ecocontrastografico è dato dallo stesso schema di enhancement del parenchima epatico adiacente in tutte le fasi.

### **Emangioma**

L'aspetto ecocontrastografico di un emangioma è stato descritto in studi condotti sull'uomo (*Guidelines and Good Clinical Practice Recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Liver – Update 2012*), mentre attualmente non è stato descritto in medicina veterinaria.

Le caratteristiche tipiche della CEUS di un emangioma sono l'enhancement nodulare periferico nella fase arteriosa, che progredisce in direzione centripeta fino al riempimento parziale o completo. Il riempimento dura da secondi a minuti ed è più rapido nelle lesioni più piccole. L'enhancement è sostenuto durante le fasi tardive e postvascolari. Gli emangiomi ad alto flusso (o shunt) mostrano un rapido e omogeneo iperenancement nella fase arteriosa e possono essere confusi con l'iperplasia nodulare focale (FNH), o raramente con adenomi o carcinomi epatocellulari. Gli emangiomi trombizzati possono essere confusi con i tumori maligni a causa della mancanza di enhancement nelle porzioni trombizzate, che possono essere interpretate erroneamente come wash-out.

### **Ascesso**

Anche in questo caso il suo aspetto ecocontrastografico è stato descritto in studi condotti sull'uomo (*Guidelines and Good Clinical Practice Recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Liver – Update 2012*), mentre non è ancora stato descritto in medicina veterinaria. L'infiammazione purulenta ha aspetti CEUS variabili e talvolta confusi, che cambiano man mano che si evolvono: le lesioni precoci sono iperenanced, mentre mano a mano che le lesioni maturano e vanno incontro a colliquazione

sviluppano focolai ipoenhanced. Gli ascessi maturi mostrano tipicamente un enhancement marginale nella fase arteriosa, a volte con un enhancement dei setti seguito da un enhancement venoso. In ogni caso la mancanza di enhancement nelle porzioni liquefatte è la caratteristica più evidente.

### **Granulomi**

L'aspetto viene definito in *Guidelines and Good Clinical Practice Recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Liver – Update 2012*), mentre attualmente non è stato descritto in medicina veterinaria.

Anche in questo caso l'aspetto alla CEUS è variabile, ma la maggior parte mostra un enhancement periferico nella fase arteriosa con wash-out nella fase portale e nelle fasi tardive, che possono essere difficili o impossibili da differenziare dai tumori maligni. L'anamnesi è importante e la diagnosi si ottiene solitamente in base all'istopatologia o alla microbiologia.

### **Adenomi colangiocellulari (CCA o adenoma del dotto biliare)**

Sono lesioni rare, generalmente di piccole dimensioni. La CEUS può mostrare un forte potenziamento arterioso e un lavaggio precoce nelle fasi portale e tardiva (mancano di vene porta), suggerendo erroneamente una malignità.

La Tabella 7.1 riassume le caratteristiche ecocontrastografiche delle lesioni benigne epatiche focali

| <b>LESIONE</b>                | <b>FASE ARTERIOSA</b>                                  | <b>FASE VENOSA PORTALE</b> | <b>FASE TARDIVA</b> |
|-------------------------------|--------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------|
| <b>FNH</b>                    | Iperenhancing a partire dal centro, completo e precoce | Iperenhancing              | Iso/iperenhancing   |
| <b>Adenoma epatocellulare</b> | Iperenhancing, completo                                | Isoenhancing               | Isoenhancing        |

|                               |                                                                       |                                                                                |                                                                |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| Emangioma                     | <i>Enhancement</i> periferico nodulare                                | Riempimento parziale/completo centripeto                                       | <i>Enhancement</i> completo                                    |
| Infiltrazione lipidica focale | Isoenhancing                                                          | Isoenhancing                                                                   | Isoenhancing                                                   |
| Ascesso                       | <i>Enhancement</i> periferico, assenza di <i>enhancement</i> centrale | Anello di iper- <i>Isoenhancement</i> , assenza di <i>enhancement</i> centrale | Anello di ipoenhancing, assenza di <i>enhancement</i> centrale |
| Cisti semplice                | Assenza di enhancing                                                  | Assenza di enhancing                                                           | Assenza di enhancing                                           |

**Tabella 7.1** Caratteristiche ecocontrastografiche delle lesioni epatiche focali benigne

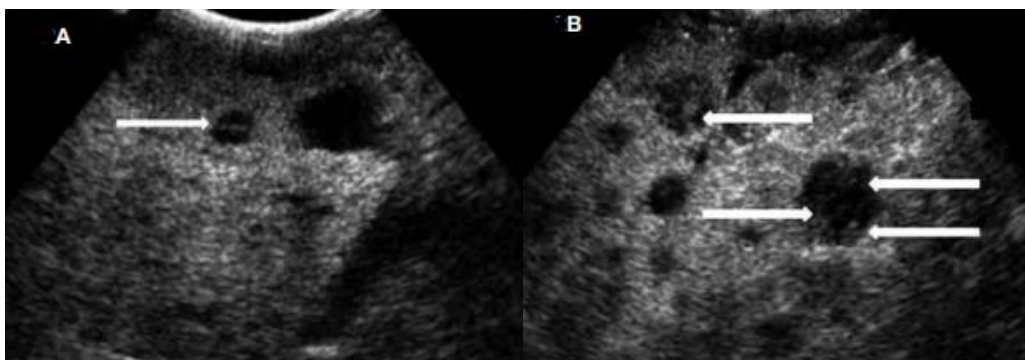
### 7.2.2 Lesioni epatiche maligne

La presenza di una lesione neoplastica, primaria o metastatica, con un diametro maggiore di 1,5 cm determina una compressione dei vasi sanguigni, con conseguente ipertensione portale, per cui, al fine di mantenere il flusso sanguigno costante, la neoplasia integra il suo “deficit vascolare” dall’arteria epatica o da shunt arterovenosi e ciò si traduce in un wash in precoce. L’ipoenhancement delle lesioni solide nelle fasi tardive e postvascolari, corrispondente al fenomeno del wash out, caratterizza le neoplasie maligne. Probabilmente ciò è dovuto al fatto che tali lesioni hanno un minor contenuto di cellule di Kuppfer, determinando quindi questo aspetto ipoenhanced nella fase postvascolare; ciò rappresenta una delle caratteristiche più importanti nella distinzione di una lesione benigna da una maligna.

#### **Carcinoma epatocellulare (HCC)**

Gli HCC sono solitamente ipervascolari nella fase arteriosa, tipicamente con un pattern vascolare disomogeneo e diffuso e che parte dalla periferia della lesione. Nelle fasi portale venosa e tardiva, l’HCC di solito mostra ipoenhancement o assenza di washout; nella fase parenchimale vi è la presenza di regioni irregolari con incompleto o irregolare rinforzo con MDC. I

marginari sono spesso non chiari e irregolari o chiari e irregolari (Burti et al. 2020). I dati ripresi da *Guidelines and Good Clinical Practice Recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Liver – Update 2012*, sono stati quindi confermati da Nakamura et al. 2010 in cui di 11 cani, 9 mostravano dei noduli iperperfusi in fase arteriosa e 10 noduli erano ipoecogeni nella fase parenchimale. Nello studio di Burti et al. 2020, in 68 cani i noduli apparivano prevalentemente con un ipervascolari durante il wash-in, assenza di washout o con ipoenhancing durante il washout; la distribuzione del MDC era prevalentemente diffusa e disomogenea. (Figura 7.6)

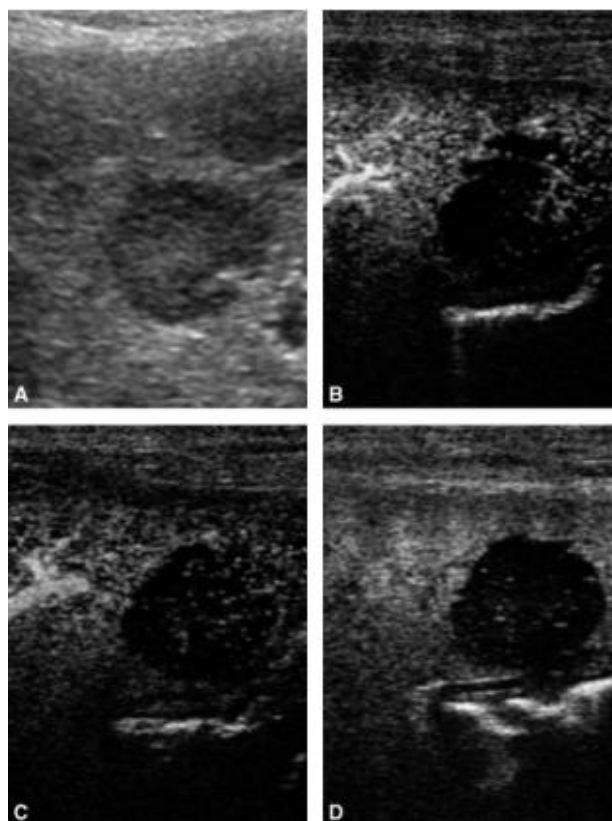


**Figura 7.6** (A) Fase portale di CEUS di un cane con diagnosi finale di carcinoma epatocellulare che mostra noduli ipoperfusi rispetto al parenchima epatico circostante durante questa fase e sono stati diagnosticati come maligni con CEUS. (B) Fase portale di CEUS di un altro cane con carcinoma epatocellulare che mostra noduli appaiono ipoperfusi rispetto al parenchima epatico circostante durante questa fase e sono stati diagnosticati come maligni. (Oliviera C. R., Rademacher N., Gaschen L. *Contrast-Enhanced Ultrasonography for characterization of liver nodules*)

### **Carcinoma colangiocellulare (colangiocarcinoma)**

Il colangiocarcinoma manifesta un pattern ipovascolare nella fase arteriosa e portale, mentre nella fase parenchimale vi è un evidente difetto di enhancement, indicativo di wash out (*Guidelines and Good Clinical Practice Recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Liver – Update 2012*). Nello studio di Kanemoto et al. 2009 in cui 3 cani presentavano un carcinoma colangiocellulare, i noduli apparivano con un ipoenhancement nelle due fasi vascolari e un evidente difetto di enhancement nella fase parenchimale (Figura 7.7). Burti et al. 2020 hanno descritto l'aspetto dei noduli in 26 cani: durante il wash-in possono presentare tutti i diversi pattern di

*enhancement*, assenza di washout (18/26), margini non definiti e irregolari (15/26); la distribuzione del MDC è diffusa e non omogenea.



**Figura 7.7** Immagine ecografica di un caso rappresentativo di carcinoma colangiocellulare (CC) nell'ecografia B-mode convenzionale (A) e nelle fasi arteriosa (B), portale (C) e parenchimale (D) di Sonazoid. Una lesione focale ipoecogena e ben circoscritta è stata osservata sulla superficie viscerale del fegato nell'ecografia B-mode convenzionale (A). Nella CEUS, il nodulo era ipovascolare rispetto al parenchima epatico circostante, con sottili vasi che scorrevano e formano un pattern finemente punteggiato (A) nella fase arteriosa; era ipovascolare nella fase portale (C); ed è stato osservato un evidente difetto nella fase parenchimale (D). (Kanemoto H. et al. *Characterization of canine focal liver lesions with contrast-enhanced ultrasound using a novel contrast agent*; 2009)

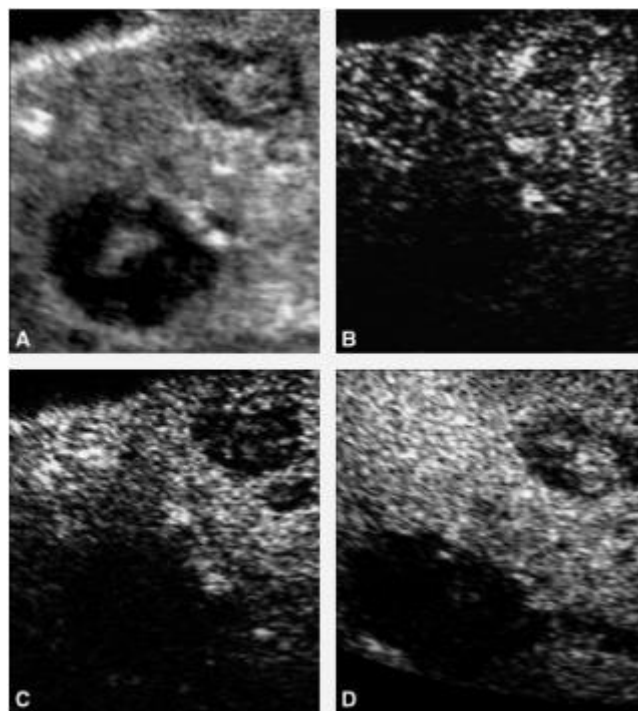
## Metastasi

Le metastasi epatiche possono essere rilevate e caratterizzate in modo affidabile come lesioni ipoenhanced durante la fase venosa portale e tardiva, con pochissime eccezioni. Il wash-out inizia precocemente, di solito nella fase venosa portale, ed è marcato; pertanto, appaiono come "focolai neri" sullo sfondo del fegato normalmente uniformemente ecogeno. Nella fase avanzata, possono essere evidenti metastasi molto piccole e possono essere rilevate lesioni occulte all'ecografia B-mode. Le metastasi di solito mostrano almeno un aumento del contrasto nella fase arteriosa e talvolta questo è marcato e

spesso irregolare; si vede spesso un enhancement del margine. Sono stati osservati solo pochi risultati falsi positivi, principalmente da ascessi o necrosi, vecchia FNH fibrosa e granulomi.

### Tumori ematopoietici

I tumori ematopoietici includono il linfoma, istiocitosi maligna e il mastocitoma: nella fase arteriosa e portale si evidenzia un pattern ipovascolare e un *wash out* precoce, mentre nella fase parenchimale si possono notare degli evidenti difetti (*Kanemoto et al. 2009*). (Figura 7.8)

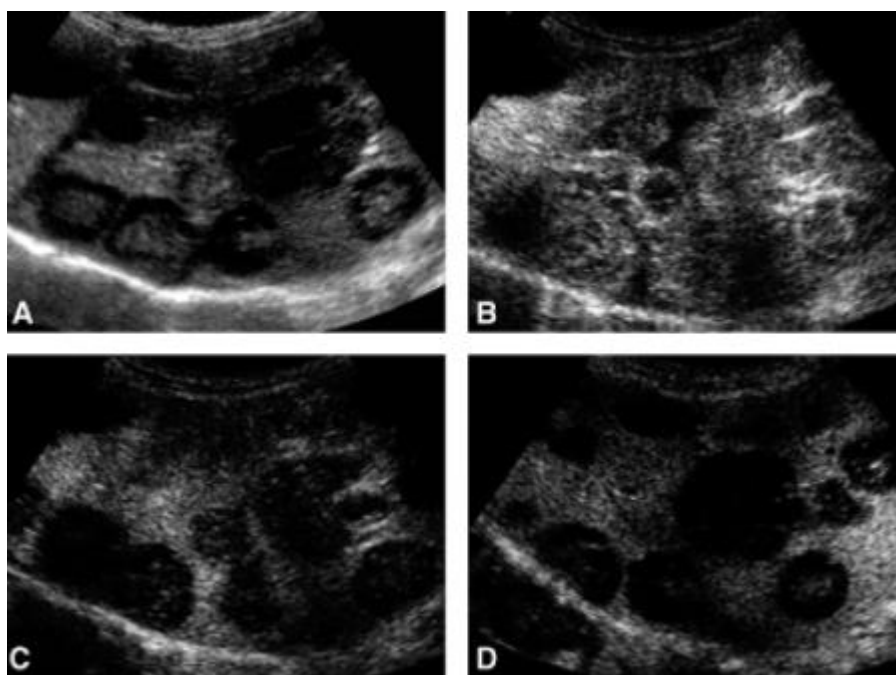


**Figure 7.8** Immagine ecografica dell'istiocitosi maligna nell'ecografia B-mode convenzionale (A) e nelle fasi arteriosa (B), portale (C) e parenchimale (D) di Sonazoid CEUS. Lesioni multiple target sono state osservate nelle immagini ecografiche convenzionali in B-mode (A). Nella CEUS, si può osservare ipovascolarizzazione con *enhancement* periferico della lesione nella fase arteriosa (B), washout precoce nella fase portale (C) e un difetto con un pattern simile a un bersaglio e margine chiaro (D) in una fase parenchimale. (*Kanemoto H. et al. Characterization of canine focal liver lesions with contrast-enhanced ultrasound using a novel contrast agent; 2009*)

### Sarcomi

Tali neoplasie mostrano un pattern ipovascolare nella fase arteriosa e un precoce wash out nella fase portale, mentre nella fase parenchimale si possono notare degli evidenti difetti di enhancement (*Kanemoto H. et al. 2009*) (Figura 7.9). Nello studio di *Burti et al. 2020* i sarcomi potevano avere un

qualsiasi grado di enhancement nella fase arteriosa, ma quello più comune era quello caratterizzato da assenza di enhancement; nello stesso studio i sarcomi si caratterizzano prevalentemente dall'assenza di wash-out e da margini chiari ma irregolari. Nello studio di *Nakamura et al. 2010* gli 8 sarcomi riscontrati (emangiosarcoma ed osteosarcoma) erano ipoenhanced in tutte e tre le fasi.



**Figura 7.9** Immagine ecografica di un sarcoma di origine sconosciuta nell'ecografia B-mode convenzionale (A) e nelle fasi arteriosa (B), portale (C) e parenchimale (D) di Sonazoid CEUS. Nell'ecografia B-mode convenzionale, le lesioni target tipiche sono state osservate diffusamente nel fegato. Nella CEUS, si osserva ipovascolarizzazione all'interno delle lesioni con enhancement periferico di alcuni noduli nella fase arteriosa (B), washout precoce e ipovascolarizzazione nella fase portale (C) e difetto con un pattern simile a un bersaglio e bordo chiaro (D) nella fase parenchimale. (*Kanemoto H. et al. Characterization of canine focal liver lesions with contrast-enhanced ultrasound using a novel contrast agent; 2009*)

La Tabella 7.2 riassume le caratteristiche ecocontrastografiche delle lesioni epatiche focali maligne

| LESIONE           | FASE ARTERIOSA                                                         | FASE PORTALE VENOSA                                                    | FASE TARDIVA           |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| HCC               | Iperenhancing; vi possono essere anche delle regioni senza enhancement | Isoenhancing, talvolta vi possono essere delle regioni senza enhancing | Ipo/nonenhancing       |
| COLANGIOCARCINOMA | Ipoenhanced                                                            | Ipoenhancing, talvolta assenza                                         | Assenza di enhancement |

|                      |                                                                                                                 |                                            |                  |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|------------------|
|                      |                                                                                                                 | di enhancement                             |                  |
| METASTASI            | Enhancement ad anello; vi può essere anche un enhancement completo, iperenhancement o regioni senza enhancement | lpoenhancement o regioni senza enhancement | lpo/nonenhancing |
| TUMORI EMATOPOIETICI | lpoenhancement                                                                                                  | lpoenhancement                             | -                |
| SARCOMI              | lpoenhancement o assenza di enhancement                                                                         | lpoenhancement                             | lpo/nonenhancing |

**Tabella 7.2** Caratteristiche ecocontrastografiche delle lesioni epatiche focali maligne

### **7.3 Interpretazione delle immagini della cistifellea e del sistema biliare**

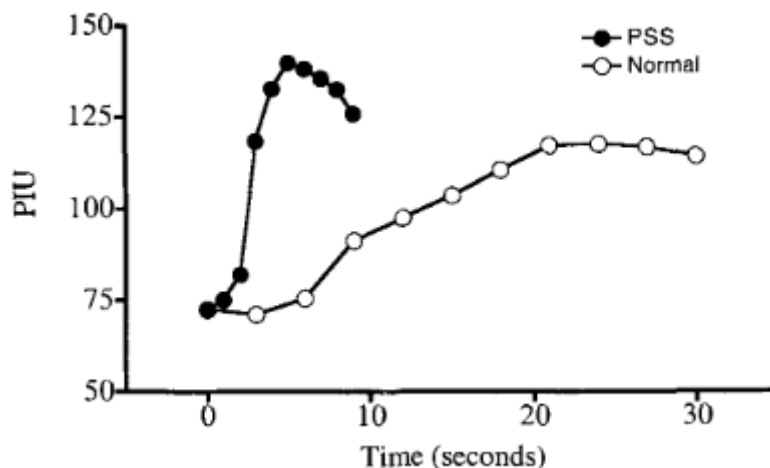
L'esame ecografico della cistifellea viene riconosciuto come principale modalità di imaging nella valutazione di patologie della cistifellea e delle vie biliari. L'ecocontrastografia del sistema biliare è stata meno studiata, ma può essere un valido complemento dell'esame ecografico di base, in quanto può consentire una delineazione più chiara del processo patologico e una diagnosi più sicura. Tuttavia, non sono attualmente stati condotti studi in medicina veterinaria, che valutino l'applicazione della CEUS nella caratterizzazione delle patologie delle vie biliari.

### **7.4 Applicazione della CEUS nello studio delle anomalie vascolari**

Una delle sfide ecografiche più difficili in medicina veterinaria è la diagnosi di shunt portosistemico congenito extraepatico. La sensibilità e la specificità dell'ecografia convenzionale per la diagnosi di shunt portosistemico congenito extraepatico è stata riportata rispettivamente tra il 74% e il 98% e tra il 67% e il 100% (*Lamb CR. 1996*). Tuttavia, a causa di fattori operatore-dipendenti e fattori specifici come il gas gastrointestinale e la conformazione del paziente, è occasionalmente difficile rilevare vasi anormali con gli US. Pertanto, può essere utile l'impiego di ulteriori test diagnostici. Per quanto concerne l'impiego dell'ecocontrastografia in medicina veterinaria, gli studi in merito sono limitati. Uno studio condotto da *Salwei R. M. et al. 2003* ha impiegato la CEUS per valutare il pattern di perfusione in 3 cani con shunt portosistemici (PSS)



extraepatici congeniti. In tali cani il tempo medio di perfusione di picco e l'upslope erano significativamente più brevi (7 s, 12,9 PIU/s) rispetto ai cani normali (24 s, 3,6 ± 1,4 PIU/s). (Figura 7.10)



**Figura 7.10** Curve di intensità-tempo derivate da immagini ecografiche a contrasto intermittente a bassa ampiezza di impulso singolo del fegato di tre cani con shunt portosistemici confermati chirurgicamente (cerchi pieni) e 6 cani normali (cerchi aperti). I due set di dati sono stati normalizzati su una linea di base comune. PIU = unità di intensità dei pixel. (Salwei R. M., O'Brien R. T., Matheson J. S. *Use of contrast harmonic ultrasound for the diagnosis of congenital portosystemic shunts in three dogs. Veterinary Radiology & Ultrasound, Vol. 44, No. 3, 2003, pp 301-305.*)

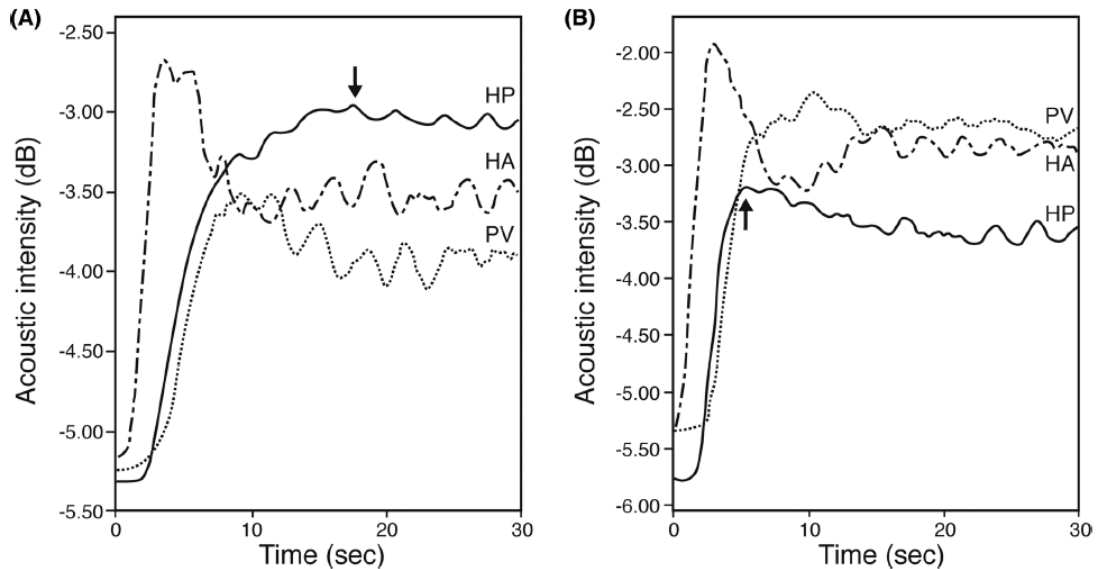
Uno studio più recente di *Tamura M. et al 2019.*, ha valutato la perfusione microvascolare epatica in cani con shunt portosistemico congenito impiegando la CEUS con Sonazoid® come MDC. Sono stati inclusi 17 cani in totale, 8 sani e 9 con shunt portosistemico extraepatico-congenito. Sono stati confrontati tra cani sani e cani con PSS extraepatico-congenito il tempo al picco (TTP), il tempo di aumento del MDC (RT – l'intervallo di tempo in secondi dall'arrivo del MDC al picco del TIC) e il tasso di aumento (RR – aumento medio del segnale espresso in dB/s tra l'arrivo del MDC e il picco del TIC) nell'arteria epatica, nella vena porta e nel parenchima epatico, misurati a partire dalla curva di intensità del tempo (TIC) su CEUS. (Figura 7.11)

Nei cani sani, in seguito alla somministrazione del MDC, le microbolle si sono portate immediatamente nell'arteria epatica e quindi hanno raggiunto il picco di enhancement. Con un ritardo di alcuni secondi, le microbolle giungono nella vena porta e nel parenchima epatico e quindi viene raggiunto il picco di enhancement nella vena porta e gradualmente anche quello nel parenchima epatico. La TIC si presentava come una curva in graduale aumento e

caratterizzata da un lungo TTP ed RT e un basso RR; è probabile che la curva gradualmente crescente del parenchima epatico rifletta l'ampio letto vascolare caratterizzato da un flusso lento e continuo.

Nei cani con PSS congenito extraepatico le microbolle, dopo essersi portate nell'arteria epatica arrivano nel parenchima epatico e raggiungono rapidamente il picco di enhancement, che in un momento successivo viene raggiunto nella vena porta. In tal caso, la TIC del parenchima epatico è in rapido aumento ed è simile a quella della vena porta, con un TTP del parenchima epatico che si verifica prima rispetto ai cani sani. Invece il TTP della vena porta non era significativamente differente fra animali sani e animali con PSS congenito extraepatico. Nel parenchima epatico, la RT nello shunt portosistemico congenito extraepatico era significativamente più precoce rispetto ai cani sani e inoltre, il RR del parenchima epatico nei cani con PSS congenito extraepatico era significativamente più alto rispetto a quello dei cani sani.

La RT dell'arteria epatica nei cani con PSS congenito extraepatico era significativamente inferiore rispetto ai cani sani. Il RR dell'arteria epatica nei cani con PSS congenito extraepatico era significativamente più alto rispetto a quello dei cani sani. D'altra parte, RT e RR nella vena porta non erano significativamente differenti tra cani con PSS congenito extraepatico e cani sani.



**Figura 7.11** Curva tempo-intensità (TIC) dell'arteria epatica (HA), della vena porta (PV) e del parenchima epatico (HP) in un cane sano (A) e uno con PSS extraepatico congenito (B). Nel cane sano, il TIC ha mostrato la curva in graduale aumento e le microbolle hanno raggiunto il picco di intensità del parenchima epatico (freccia) dopo quello della vena porta. D'altra parte, in un cane con PSS congenito extraepatico, il TIC ha mostrato la curva in rapido aumento e le microbolle hanno raggiunto il picco di intensità del parenchima epatico (freccia) prima di quello della vena porta. Il *time-to-peak* del parenchima epatico in un cane da shunt portosistemico congenito extraepatico era notevolmente precedente rispetto a quello di un cane sano (Tamura M., Ohta H., Nisa K., Osuga T., Sasaki N., Morishita K., Takiguchi M., *Contrast-enhanced ultrasonography is a feasible technique for quantifying hepatic microvascular perfusion in dogs with extrahepatic congenital portosystemic shunts. Vet Radiol Ultrasound. 2019;60:192–200*)

Un aumento del tasso di perfusione e un tempo più breve per raggiungere il picco, nel primo studio, e dei valori nel parenchima epatico di TTP e RT precoci e RR elevato, e nell'arteria epatica di RT precoce e RR elevato, possono essere spiegati dal fatto che il flusso sanguigno della vena porta è ridotto, e ciò comporta un aumento compensatorio del flusso sanguigno arterioso al fegato, in altre parole "arterializzazione"; questo fenomeno rappresenta un meccanismo emodinamico protettivo, finalizzato ad apportare un normale flusso ematico al fegato. Alla CEUS ciò viene confermato dal rapido enhancement del parenchima epatico e dei parametri dell'arteria epatica; tuttavia, un aumento compensatorio del flusso sanguigno arterioso epatico (arterializzazione) può essere associato anche ad altre malattie del fegato: può essere secondaria a compressione o ostruzione della vena porta da parte di masse o trombi, ma si può verificare anche nel caso di cirrosi e ipertensione portale; tuttavia, l'ipertensione portale e la cirrosi possono essere distinte con un esame ecografico approfondito e con dei test di funzionalità epatica. Per

tale motivo, la valutazione della perfusione microvascolare epatica utilizzando CEUS, in aggiunta all'ecografia tradizionale B-mode, può essere utile per distinguere i cani con shunt portosistemico congenito extraepatico dai cani sani.

L'impiego della CEUS garantisce diversi vantaggi clinici, fra i quali che l'ecografia fa già di per sé parte della valutazione di animali con un sospetto shunt portosistemico e di malattie epatiche, i mezzi di contrasto sono attualmente disponibili in commercio, gli studi sono brevi, le funzioni per il calcolo della TIC sono disponibili già su alcuni sistemi ad ultrasuoni, non sono stati segnalati effetti collaterali clinici significativi in seguito alla somministrazione dei MDC ecografici.

Tuttavia, questi primi risultati vanno confermati e altri studi sono necessari per capire se la CEUS può essere una utile alternativa clinica ad altre tecniche come la scintigrafia nella diagnosi degli shunt nel cane.

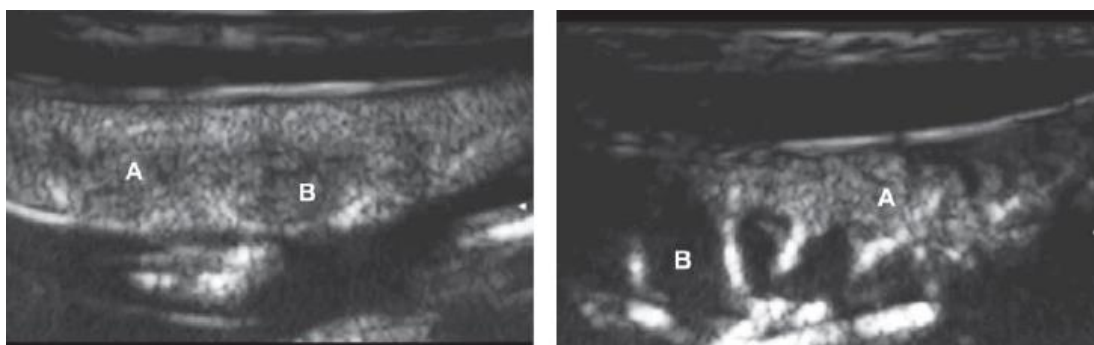
## CAPITOLO 8 – STATO DELL'ARTE SULLA CEUS DEGLI ORGANI ADDOMINALI

Il fegato è il principale organo addominale su cui viene eseguito l'esame ecocontrastografico, prevalentemente per la caratterizzazione di lesioni benigne e maligne, tuttavia, la CEUS trova ambito di occupazione anche in altri organi addominali, fra cui il rene, la milza, il pancreas, le ghiandole surrenali, la prostata e il tratto gastrointestinale.

### **8.1 Milza**

La milza è il secondo organo (primo il fegato) più studiato con l'ecografia con mezzo di contrasto (CEUS) in medicina umana e in medicina veterinaria.

L'aspetto normale dell'organo visualizzato con l'esame ecocontrastografico è stato descritto da *Ohlerth et al. 2007* su 25 cani, dopo somministrazione di un bolo di SonoVue® e da *Nakamura et al. 2009* su 6 cani dopo la somministrazione di Sonazoid®. A differenza del fegato, la milza nei cani normali può avere una fase parenchimale precoce eterogenea, in cui grandi aree della milza normale possono essere ipoperfuse rispetto alle regioni circostanti: ciò sembra essere dovuto ad una differente vascolarizzazione tra polpa rossa e polpa bianca; alla fine, l'intera milza va incontro ad un omogeneo *enhancement* (Figura 8.1). Dopodichè ha inizio il washout con la graduale diminuzione dell'*enhancement*.



**Figura 8.1** Ecografia a contrasto della milza in quattro gatti normali anestetizzati. Nella prima fase di perfusione, il parenchima splenico è tipicamente eterogeneo. Le aree di dimensioni variabili sono in iperpotenziamento (A) rispetto ad altre aree che sono in ipopotenziamento (B). La milza alla fine diventa uniformemente migliorata in tutti i cani e gatti normali. (*Penninck D., d'Anjou M. Atlas of small animal ultrasonography. Wiley Blackwell*)

Gli studi in merito all'ecocontrastografia splenica sono contrastanti per quanto riguarda l'accuratezza nella rilevazione dei noduli maligni.

Lo studio *Rossi et al. 2008* ha evidenziato che i noduli maligni erano comunemente *ipoenhanced*, rispetto alla normale milza circostante, al picco e nelle prime fasi di washout.

Tuttavia, uno studio successivo (*Ohlerth et al. 2008*) ha dimostrato che i noduli linfomatosi miglioravano in modo uniforme al picco e la maggior parte anche durante il washout.

Nello studio di *Ivancic et al. 2009*, l'esame ecocontrastografico non ha aiutato nella distinzione fra lesioni benigne e maligne.

Di conseguenza, questi risultati giustificano la necessità di ulteriori studi per determinare l'utilità clinica della CEUS nella caratterizzazione dei noduli e delle masse spleniche. Tuttavia, la differenziazione non invasiva delle neoplasie spleniche maligne da ematomi o noduli benigni con la CEUS rappresenterebbe un metodo prezioso in quanto l'impiego dell'ago-aspirato è spesso non diagnostico e le biopsie possono condurre ad emorragie.

## **8.2 Reni**

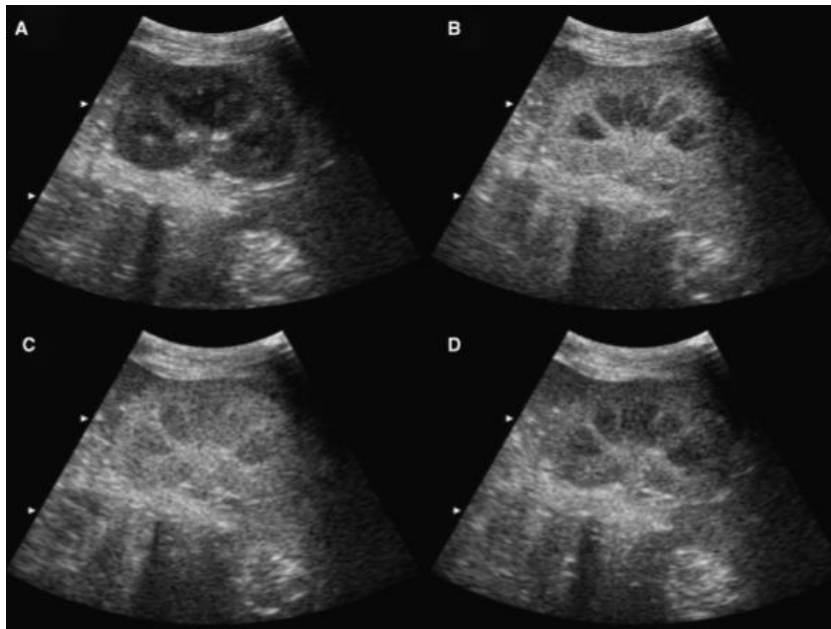
L'aspetto ecocontrastografico normale è stato descritto da *Waller et al. nel 2007*, studio eseguito su 8 cani sani dopo iniezione di Definity®.

La vascolarizzazione renale è pronunciata, in quanto i reni ricevono circa il 25% del flusso sanguigno totale dell'aorta addominale.

Ogni arteria renale dà origine da due a sette arterie interlobari, che alla giunzione corticomidollare si ramificano nelle arterie arcuate, le quali si portano verso la superficie corticale, formano delle anastomosi per ramificarsi in arterie interlobulari; quest'ultime danno origine alle arteriole afferenti che forniscono l'apporto vascolare di ciascun glomerulo. Le arteriole efferenti lasciano i glomeruli e forniscono la vascolarizzazione dei tubuli contorti e dell'ansa di Henle. Alla fine, questi secondi letti capillari, che riforniscono il sistema di tubuli e anse, convergono progressivamente per formare le vene satelliti delle arterie interlobulari, arcuate e interlobari. Questo sistema a doppio letto capillare spiega la differenza tra i modelli di perfusione della corticale e della midollare: il rapido e precoce afflusso alla corticale è associato al flusso sanguigno ai glomeruli, mentre il picco ritardato è dato dalla

perfusione tubulare nel secondo letto capillare concomitante con il graduale afflusso alla midollare.

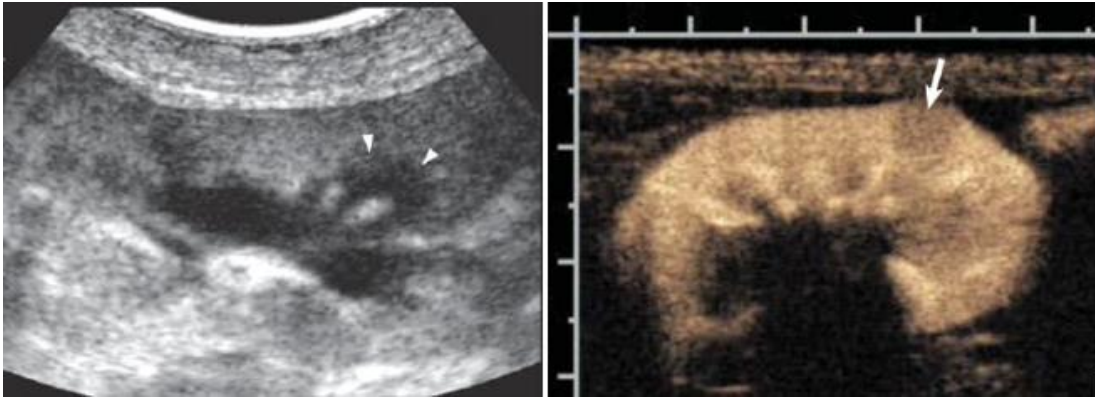
Ciò viene confermato da *Waller et al.*: dal punto di vista ecocontrastografico vi è un rapido e uniforme *enhancement* in tutta la corticale, a cui segue un plateau o una lenta progressione verso il picco, durante la quale il MDC comincia a portarsi a livello della midollare renale; inoltre l'*enhancement* della midollare si verificava sempre più tardi e più lentamente rispetto a quello della corticale; inoltre la midollare in genere rimaneva leggermente ipoecogena rispetto alla corticale durante il washin e wash out (Figura 8.2).



**Figura 8.2 Immagini CEUS di un rene di cane.** (A) Immagine migliorata precontrasto. Le immagini rimanenti sono un miglioramento medio post-contrasto. Il massimo miglioramento del contrasto della corticale renale si verifica a 15 s (B) e della midollare renale a 30 s (C). Washout continua a 80s (D). (*Waller K., O'Brien R. T., Zagzebski A. Quantitative contrast ultrasound analysis of renal perfusion in normal dogs. Veterinary Radiology & Ultrasound, Vol. 48, No. 4, 2007, pp 373–377*)

Lo studio condotto da *Haers et al. 2010* descrive l'aspetto di lesioni occupanti spazio e focali del rene, in particolare in un gatto di un carcinoma renale, in 10 cani neoplasie maligne, quali carcinoma renale, sarcoma istiocitario, linfoma, metastasi di emangiosarcoma e di chemodectoma, e di 5 lesioni benigne, quali ascessi, ematomi e un nodulo necrotico/emorragico. Diverse lesioni renali, come infarti, nefriti o neoplasie possono provocare ipoperfusione renale

(Figura 8.3); per cui questa mancanza di specificità impedisce un'accurata caratterizzazione.



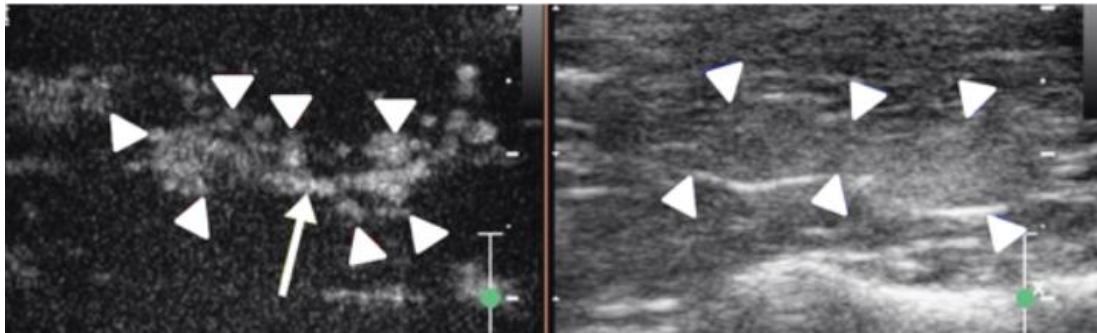
**Figura 8.3** Nella prima immagine CEUS di un cane con infarto renale; vi è una mancanza focale di aumento del contrasto nella corteccia caudale (punte di freccia) coerente con la mancanza di perfusione periferica alle arterie interlobari. Nella seconda immagine vi è un nodulo di istiocitosi maligna nel rene sinistro di un cane. È presente un'area nodulare che deforma il contorno renale e mostra un ridotto aumento del contrasto (freccia). (Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)

### **8.3 Linfonodi**

Lo studio di *Gaschen et al. 2010*, condotto su 14 cani sani, utilizzando Definity® ha permesso di valutare il pattern emodinamico dei linfonodi normali: vi è un rapido wash in, dopo circa 6 secondi dall'iniezione, che determina un *enhancement* a livello dell'ilo dell'arteria linfonodale. Si ha successivamente una diffusione uniforme e centrifuga dalla midollare alla corticale dell'*enhancement*: ciò permette di mettere in evidenza i vasi diretti perpendicolarmente all'asse maggiore dell'organo.

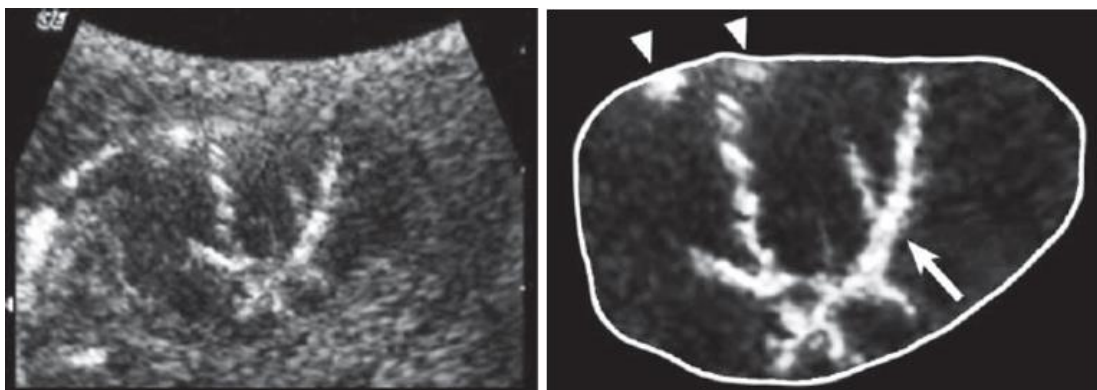
L'intensità di picco viene raggiunta 12 secondi dopo l'iniezione, con un'ecogenicità diffusa dell'organo (Figura 8.4). L'ultima fase è rappresentata da un lento e graduale wash out.





**Figura 8.4 Immagine CEUS dei linfonodi iliaci mediali a 12 s dopo l'iniezione.** L'immagine senza contrasto si trova a destra (le punte di freccia delineano il linfonodo) e l'immagine con contrasto si trova a sinistra. Nell'immagine con contrasto elevato, notare l'arteria centrale (freccia) e la disposizione perpendicolare dei piccoli vasi intranodali (punte di freccia). (*Gashen L., Angelette N., Stout R. Contrast-enhanced harmonic ultrasonography of medial iliac lymph nodes in healthy dogs. Veterinary Radiology & Ultrasound, Vol. 51, No. 6, 2010, pp 634–637.*)

Gli studi con tecnica CEUS sui linfonodi sono limitati; *Salwei et al. 2005* valuta l'architettura vascolare di linfonodi di 11 cani con linfoma: dei vasi anomali nella regione pericapsulare o sottocapsulare possono essere osservati nei linfonodi maligni linfomatosi (Figura 8.5); si può notare anche l'asimmetria dei vasi ilari o dei loro rami. Tali risultati, nello studio, potevano essere visualizzati anche con l'ecografia Doppler, sebbene la sensibilità possa essere migliorata con la CEUS. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi che verifichino l'utilità dell'ecocontrastografia nella distinzione tra linfoadenopatia maligna e reattiva dei linfonodi periferici e viscerali.



**Figura 8.5 Immagine ecografica CEUS (A) e diagramma delle caratteristiche vascolari (B) di un cane con linfoma.** Notare i vasi sottocapsulari aberranti (punta di freccia) e asimmetrici non originati dall'ilo centrale (freccia). (*Penninck D., d'Anjou M. Atlas of small animal ultrasonography. Wiley Blackwell*)

## **8.4 Pancreas**

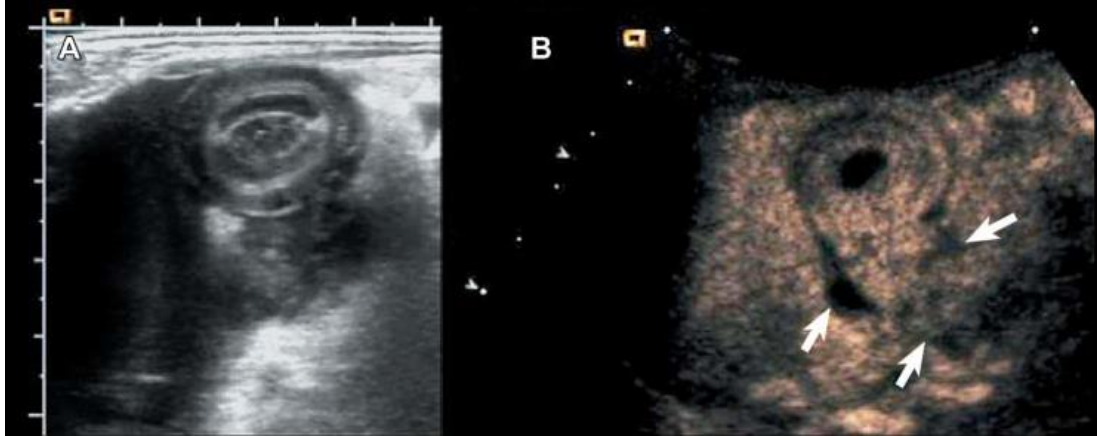
Per la valutazione dell'emodinamica fisiologica del pancreas si può fare riferimento a degli studi di *Lim et al. 2013* con Sonazoid® condotto su 8 cani sani e di *Rademacher et al. 2016* eseguito su 10 cani sani con Definity®. Il pancreas normale in cani e gatti ha un pattern di perfusione molto intenso e uniforme, ma di breve durata. L'*enhancement* si osserva inizialmente nel lobo destro, a partire dall'arteria pancreaticoduodenale, a cui segue un *enhancement* parenchimale uniforme. Segue quindi il passaggio del MDC nella vena pancreaticoduodenale.

La diagnosi delle patologie pancreatiche può risultare difficile, in quanto le anomalie cliniche e i test diagnostici non invasivi di routine spesso non sono affidabili. Per tale motivo si sta valutando la possibilità di impiegare ulteriori indagini diagnostiche che consentano una maggior sensibilità e specificità, fra cui anche la CEUS.

L'ecografia con mezzo di contrasto nell'uomo è una tecnica sensibile che può essere utilizzata per esaminare la vascolarizzazione del pancreas ed è stata utilizzata per differenziare i processi infiammatori benigni da quelli maligni o focali. Inoltre, le lesioni pancreatiche maligne possono essere ulteriormente differenziate con la CEUS nei pazienti umani: gli adenocarcinomi erano spesso ipovascolarizzati mentre i tumori neuroendocrini apparivano come lesioni ipervascolarizzate. Le masse associate a pancreatite hanno mostrato un diverso pattern di vascolarizzazione a seconda del grado di infiammazione e necrosi.

Presumibilmente, anche in medicina veterinaria l'ecocontrastografia può essere impiegata nel riconoscimento di lesioni infiammatorie e neoplastiche; in caso di pancreatite, la maggior parte del parenchima presenta un'iperperfusione persistente, con delle regioni ipoperfuse, presumibilmente associate ad aree di ischemia temporanea o necrosi permanente (Figura 8.6). Può essere anche utile per la caratterizzazione dei noduli pancreatici: un forte *enhancement* durante la fase arteriosa può essere tipico degli insulinomi rispetto ad altre lesioni pancreatiche come i carcinomi che inizialmente

tendono ad essere poco perfusi. A sostegno di ciò vi sono alcuni studi, come quello di *Rademacher et al. 2008 e 2015* che valuta l'affidabilità della CEUS nella diagnosi di pancreatite nei gatti e nei cani rispettivamente.

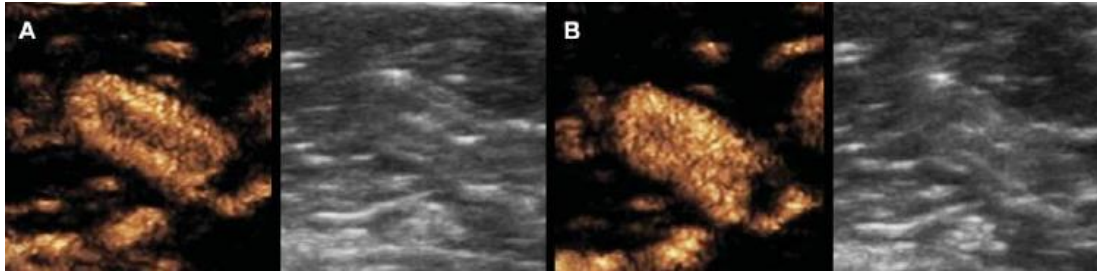


**Figura 8.6** Ecografia in scala di grigi (A) e contrasto (B) di un cane con pancreatite che si è risolta clinicamente in 48 ore. Notare i piccoli deficit di perfusione regionale che potrebbero corrispondere a edema, ischemia o necrosi (freccie). (*Penninck D., d'Anjou M. Atlas of small animal ultrasonography. Wiley Blackwell*)

### **8.5 Tratto gastro-enterico**

La valutazione con metodica CEUS del tratto gastro intestinale normale è stata condotta da *Diana et al. 2011* in 10 gatti, da *Jiménez et al. 2011* su 9 cani anestetizzati e da *Johnson-Neitman et al. 2012* su 8 cani.

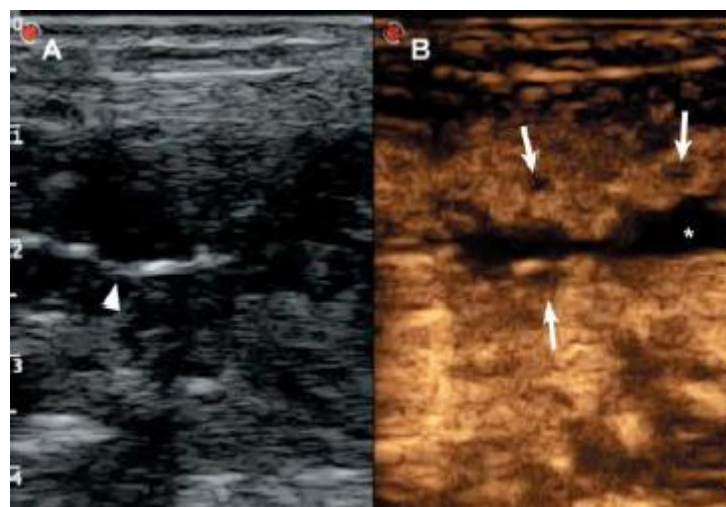
La vascolarizzazione dell'intestino tenue va dallo strato sieroso verso il lume dell'organo. L'architettura vascolare della parete intestinale è data da 2 letti capillari paralleli: il plesso mucoso-sottomucoso, che riceve circa l'80% del flusso sanguigno e il plesso muscolo-sieroso, che riceve il restante 20%. Ciascun villo viene perfuso da un singolo vaso arterioso che scorre nella parte centrale dello stesso e all'apice del villo si arborizza in una fitta rete capillare; i capillari poi si raccolgono nelle vene alla base dei villi. Il pattern ecocontrastografico riflette la distribuzione anatomica dei vasi: l'intenso e rapido potenziamento dello strato sottomucoso dipende dalla presenza di un ricco plesso, che riceve l'80% del flusso sanguigno intramurale (Figura 8.7). Segue un lento washout dello strato sottomucoso, che può essere spiegato da una più tortuosa rete capillare, che quindi riduce il flusso attraverso i vasi sottomucosi.



**Figura 8.7** Immagini ecografiche CEUS (a sinistra) e in scala di grigi (a destra) del digiuno normale in un gatto. Notare l'iniziale potenziamento della regione sierosa e della sottomucosa (A) e successivo potenziamento murale uniforme (B). (Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)

Sebbene non sia stata studiata l'utilità nel discriminare tra tumori benigni e maligni o tra tipi di tumore, l'ecocontrastografia potrebbe avere delle applicazioni cliniche future nella diagnosi o nel monitoraggio delle risposte terapeutiche in animali con vasculiti e altre malattie del tratto gastroenterico, come ischemia intestinale secondaria a insufficienza vascolare, trombosi o infiltrazione neoplastica. Anche la valutazione della vitalità intestinale sia pre che intraoperatoriamente potrebbe essere un'indicazione clinicamente utile per eseguire una CEUS (Figura 8.8). A tal proposito lo studio di *Shanaman et al. 2012* ha evidenziato una maggior capacità diagnostica della CEUS rispetto alla TC nell'identificare i difetti di perfusione in cani con segni di addome acuto.

Il limite della CEUS in questo caso è la finestra di visualizzazione ristretta rispetto all'intero apparato, che quindi ne consente solo una visualizzazione settoriale.



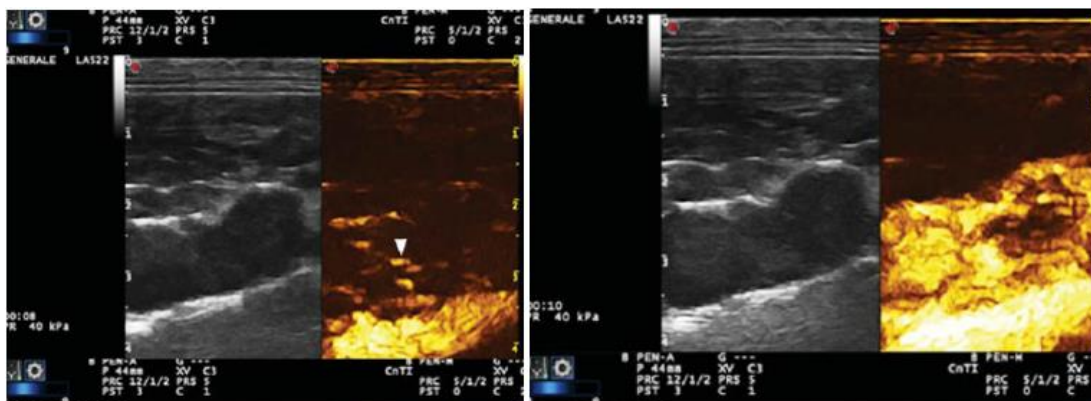
**Figure 8.8** CEUS in un cane con corpo estraneo lineare nel duodeno e nel digiuno. Notare i piccoli deficit di perfusione nelle pareti del duodeno (freccie), coerenti con la necrosi della parete osservata

chirurgicamente. Il lume mostra il corpo estraneo lineare (punta di freccia) sull'immagine in scala di grigi ed è riempito di liquido ipoecogeno (\*) che diventa evidente dopo l'iniezione di contrasto. (Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)

## **8.6 Ghiandole surrenali**

Per la valutazione del surrene fisiologico si può fare riferimento allo studio di *Pey et al. 2011*, condotto su 6 cani sani utilizzando SonoVue®. Inizialmente si evidenzia l'*enhancement* aortico, seguito da quello dell'arteria renale e quindi della ghiandola surrenalica, il quale si presenta rapido, uniforme e con un andamento centrifugo, dalla midollare alla corticale. Segue quindi il washout, attraverso la vena renale, vena cava caudale e vena frenico-addominale.

L'ecocontrastografia nei pazienti umani è utile per differenziare gli adenomi delle ghiandole surrenali dalle lesioni non adenomatose. La caratterizzazione dei noduli e delle masse delle ghiandole surrenali tuttavia non è stata studiata in medicina veterinaria, ad eccezione di uno studio retrospettivo condotto da *Bargellini et al. 2013* e *Pey et al. 2013*, che comparano l'aspetto di ghiandole surrenali di cani con PDH (pituitary dependent hyperadrenocorticism) con quelle di cani sani, giungendo alla conclusione che le caratteristiche di perfusione differiscono significativamente fra i due gruppi: l'afflusso del MDC progredisce rapidamente e contemporaneamente sia nella corticale che nella midollare, con un pattern di *enhancement* caotico. Questo pattern di *enhancement* viene supportato dai riscontri istologici di ghiandole surrenali iperplastiche, in cui si nota l'iperplasia della zona fascicolata e la proliferazione irregolare di vasi sanguigni. (Figura 8.9)



**Figura 8.9** Immagini ecografiche in scala di grigi (sinistra) e contrasto (destra) di un surrene sinistro ingrandito in un cane con iperadrenocorticismo ipofisario-dipendente. **A:** Notare il vaso longitudinale centrale (punta di freccia) durante la fase di lavaggio (8 secondi) **B:** Lavaggio caotico della corteccia e del midollo (10 secondi) (Penninck D., d'Anjou M. *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell)

## **8.7 Prostata**

La valutazione dell'organo fisiologico è stata condotta da *Russo et al.* su 5 cani impiegando SonoVue®. Vi è una prima fase di latenza, a cui segue il washin con la comparsa di un graduale e omogeneo *enhancement*; segue poi il washout, con la diminuzione graduale del MDC. In tutte le fasi considerate è sempre possibile l'identificazione dell'uretra (anecogena in sezione longitudinale o trasversale) e della capsula esterna della prostata (iperecogena).

L'utilità della CEUS per la caratterizzazione delle patologie prostatiche attualmente non è ancora stata studiata. L'unico studio effettuato per descrivere l'impiego della CEUS per valutare la perfusione prostatica nei cani con una patologia della ghiandola è stato condotto da *Vignoli et al. 2011*. In tale studio, non sono state evidenziate differenze significative di perfusione nei cani con patologia prostatica benigna rispetto ai cani normali; ciò è stato imputato al fatto che sono dei processi a lento sviluppo e che determinano dei cambiamenti parenchimali limitati. Invece la valutazione nei cani con carcinoma prostatico ha evidenziato dei valori di perfusione significativamente superiori rispetto a quelli dei cani sani.

Considerati i risultati incoraggianti di tale studio, in merito alla caratterizzazione delle neoplasie maligne, in futuro l'ecocontrastografia potrebbe avere un ruolo

importante in tale ambito, visto che la diagnosi di tale lesioni nei cani è critica in quanto nessuno dei metodi diagnostici impiegati di routine ha sensibilità e specificità sufficienti. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi che includano una popolazione maggiore di animali.

## **CAPITOLO 9 – CONCLUSIONI**

L'ecografia con mezzo di contrasto rappresenta oggi una metodica con grandi potenzialità di applicazione anche nei piccoli animali, soprattutto per quanto riguarda il fegato, in quanto è l'organo per cui sono stati condotti più studi, sia in ambito della medicina umana che nella medicina veterinaria. Le principali applicazioni della CEUS nel campo della medicina umana sono il cuore e gli organi parenchimatosi, come il fegato, la milza e i reni; inoltre, negli ultimi anni si sta studiando l'uso degli agenti di contrasto a ultrasuoni per applicazioni terapeutiche, come la somministrazione di microbolle atte a veicolare farmaci. I campi di applicazioni in medicina veterinaria sono più limitati, ma altrettanto validi.

L'indicazione principale per la CEUS è la valutazione di lesioni epatiche focali, in particolare per la differenziazione tra lesioni benigne e maligne. È comunque da ricordare che tale esame fa parte di un iter diagnostico, di conseguenza deve essere preceduto da un'anamnesi accurata e visita clinica, a cui seguono esami di laboratorio ed eventuali altre tecniche di diagnostica per immagini. In questo iter, la CEUS rappresenta una metodica aggiuntiva che può essere applicata per migliorare l'accuratezza dell'esame ecografico convenzionale nel caratterizzare delle lesioni epatiche focali. Sicuramente i vantaggi sono la sua non invasività, l'assenza di anestesia e la capacità di valutazione in tempo reale; inoltre, il comportamento delle lesioni focali epatiche nei confronti del MDC può fornire indicazioni utili nella scelta di quali lesioni campionare prioritariamente a fini diagnostici. In ogni caso, la CEUS non è la tecnica diagnostica di elezione, ma è da considerarsi come una valida alternativa nel caso vi sia una ridotta compliance da parte del proprietario, un maggiore rischio anestesiológico, quando non è possibile proporre esami di 2° livello (ad esempio la Tomografia Computerizzata o la Risonanza Magnetica) o quando non è possibile eseguire una biopsia. Infatti, attualmente in medicina veterinaria la TC con contrasto rappresenta una metodica più completa ed accurata per la caratterizzazione delle lesioni focali epatiche, sebbene essa sia più costosa e da effettuarsi in anestesia; essa fornisce le stesse



informazioni di perfusione della CEUS e in più consente una stadiazione completa del paziente.

I limiti dell'ecocontrastografia sono legati alla necessità di impiegare degli apparecchi ecografici dedicati, al costo maggiore rispetto ad un esame ecografico di base e al fatto che, essendo una metodica operatore-dipendente e che non esistono ancora delle indicazioni univoche per l'interpretazione delle immagini, sono richiesti degli operatori con un'ottima esperienza, al fine di minimizzare la variabilità interindividuale. Inoltre, anche l'eliminazione dei MDC per via polmonare può limitarne l'utilizzo in pazienti con patologie polmonari. Un altro limite è dato dal fatto che in campo veterinario i lavori scientifici sull'argomento sono pochi e basati su una casistica esigua di lesioni, sia per il cane che, soprattutto, per il gatto; oltretutto i risultati non sono facilmente sovrapponibili a causa dell'impiego di diversi mezzi di contrasto ecografici.

Considerate tali premesse, la CEUS in medicina veterinaria rimane attualmente una metodica diagnostica di nicchia, tuttavia è probabile che nel prossimo futuro, grazie all'acquisizione di sempre maggiori informazioni, prenda sempre più piede nella pratica clinica, non solo nella valutazione del fegato, ma anche di altri organi addominali.

## **BIBLIOGRAFIA**

**Bargellini P. et al.** "Contrast-enhanced ultrasonographic characteristics of adrenal glands in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism." *Veterinary radiology & ultrasound vol. 54,3 (2013): 283-92.*

**Burti S. et al.** "Contrast-enhanced ultrasound features of malignant focal liver masses in dogs." *Scientific reports, Vol. 10:6076. (2020).*

**Claudon M. et al.** "Guidelines and good clinical practice recommendations for contrast enhanced ultrasound (CEUS) - Update 2008." *Ultraschall Med - Eur. J Ultrasound 29:28–44 (2008).*

**Diana A. et al.** "Contrast-enhanced ultrasonography of the small bowel in healthy cats." *Veterinary radiology & ultrasound vol. 52,5 (2011): 555-9.*

**Gaschen L. et al.** "Contrast-enhanced harmonic ultrasonography of medial iliac lymph nodes in healthy dogs." *Veterinary radiology & ultrasound vol. 51,6 (2010): 634-7.*

**Haers H. et al.** "Contrast harmonic ultrasonographic appearance of focal space-occupying renal lesions." *Veterinary radiology & ultrasound vol. 51,5 (2010): 516-22.*

**Ivancić M. et al.** "Contrast harmonic ultrasonography of splenic masses and associated liver nodules in dogs." *Journal of the American Veterinary Medical Association vol. 234,1 (2009): 88-94.*

**Jiménez D. A. et al.** "Intraoperative contrast-enhanced ultrasonography of normal canine jejunum." *Veterinary radiology & ultrasound vol. 52,2 (2011): 196-200.*

**Johnson-Neitman J. L. et al.** "Quantitative perfusion analysis of the pancreas and duodenum in healthy dogs by use of contrast-enhanced ultrasonography." *American journal of veterinary research vol. 73,3 (2012): 385-92.*

**Kanemoto H. et al.** "Characterization of canine focal liver lesions with contrast-enhanced ultrasound using a novel contrast agent – Sonazoid." *Veterinary Radiology & Ultrasound vol. 50, 2 (2009): 188–194.*

**Lamb CR.** "Ultrasonographic diagnosis of congenital portosystemic shunts in dogs: Results of a prospective study." *Veterinary Radiology & Ultrasound vol 37 (1996): 281-288*

**Lim Sue Yee et al.** "Qualitative and quantitative contrast enhanced ultrasonography of the pancreas using bolus injection and continuous infusion methods in normal dogs." *The Journal of veterinary medical science* vol. 75,12 (2013): 1601-7.

**Meacock L. M. et al.** "Evaluation of gallbladder and biliary duct disease using microbubble contrast-enhanced ultrasound." *The British journal of radiology* vol. 83,991 (2010): 615-27.

**Nakamura K. et al.** "Contrast-enhanced ultrasonography for characterization of canine focal liver lesions." *Veterinary Radiology & Ultrasound* vol. 51,1 (2010): 79-85.

**Nakamura K. et al.** "Quantitative contrast-enhanced ultrasonography of canine spleen." *Veterinary radiology & ultrasound* vol. 50,1 (2009): 104-8.

**Nyman H. T. et al.** "Contrast-enhanced ultrasonography in normal canine liver. Evaluation of imaging and safety parameters." *Veterinary radiology & ultrasound* vol. 46,3 (2005): 243-50.

**O'Brien R. T. et al.** "Contrast harmonic ultrasound of spontaneous liver nodules in 32 dogs." *Veterinary radiology & Ultrasound* vol. 45,6 (2004): 547-53.

**Ohlerth S. and O'Brien R. T.** "Contrast ultrasound: general principles and veterinary clinical applications." *Veterinary journal (London, England: 1997)* vol. 174,3 (2007): 501-12.

**Ohlerth S. et al.** "Contrast harmonic imaging of the normal canine spleen." *Veterinary radiology & ultrasound* vol. 48,5 (2007): 451-6.

**Ohlerth S. et al.** "Contrast harmonic imaging characterization of canine splenic lesions." *Journal of veterinary internal medicine* vol. 22,5 (2008): 1095-102.

**Oliveira C. R. et al.** "Contrast-enhanced ultrasonography for characterization of liver nodules". *Today's Veterinary Practice* (2011): 56-61.

**Penninck D., D'Anjou M.** Atlas of small animal ultrasonography. Second edition. Wiley 2015. Cap. 6 – Liver, pp. 183-234, Cap. 16 – Clinical application of contrast Ultrasound, pp. 481-493.

**Pey P. et al.** "Contrast-enhanced ultrasonographic evaluation of adrenal glands in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism." *American journal of veterinary research* vol. 74,3 (2013): 417-25.

**Pey P. et al.** "Contrast-enhanced ultrasonography of the normal canine adrenal gland." *Veterinary radiology & ultrasound* vol. 52,5 (2011): 560-7.

**Quaia E.** "Classification and safety of microbubble-based contrast agents". In: *Quaia E., Contrast media in ultrasonography. Basic principles and clinical applications. 1st edition, Springer Edition, 2005; pp. 3-13.*

**Quaia E.** "Physical basis and principles of action of microbubble-based contrast agents." In: *Quaia E., Contrast media in ultrasonography. Basic principles and clinical applications. 1th edition, Springer Edition, 2005; pp. 25-29*

**Rademacher N. et al.** "Contrast-enhanced power and color Doppler ultrasonography of the pancreas in healthy and diseased cats." *Journal of veterinary internal medicine* vol. 22,6 (2008): 1310-6.

**Rademacher N. et al.** "Contrast-enhanced ultrasonography of the pancreas in healthy dogs and in dogs with acute pancreatitis." *Veterinary radiology & ultrasound* vol. 57,1 (2016): 58-64.

**Rossi F.** "Ecografia con mezzo di contrasto: principi generali e applicazioni in medicina veterinaria." *Veterinaria (Cremona)* Vol.21, 5 (2007): 49-60.

**Rossi F. et al.** "Use of contrast-enhanced ultrasound for characterization of focal splenic lesions." *Veterinary radiology & ultrasound* vol. 49,2 (2008): 154-64.

**Russo M. et al.** "Prostatic perfusion in the dog using contrast-enhanced Doppler ultrasound." *Reproduction in domestic animals* vol. 44 Suppl 2 (2009): 334-5.

**Salwei R. M. et al.** "Characterization of lymphomatous lymph nodes in dogs using contrast harmonic and Power Doppler ultrasound." *Veterinary radiology & ultrasound* vol. 46,5 (2005): 411-6.

**Salwei R. M. et al.** "Use of contrast harmonic ultrasound for the diagnosis of congenital portosystemic shunts in three dogs." *Veterinary radiology & ultrasound* vol. 44,3 (2003): 301-5.

**Seiler G. S. et al.** "Safety of contrast-enhanced ultrasonography in dogs and cats: 488 cases (2002-2011)." *Journal of the American Veterinary Medical Association* vol. 242,9 (2013): 1255-9.

**Shanaman M. M. et al.** "Comparison between survey radiography, B-mode ultrasonography, contrast-enhanced ultrasonography and contrast-enhanced multi-

detector computed tomography findings in dogs with acute abdominal signs." *Veterinary radiology & ultrasound* vol. 54,6 (2013): 591-604.

**Tamura M. et al.** "Contrast-enhanced ultrasonography is a feasible technique for quantifying hepatic microvascular perfusion in dogs with extrahepatic congenital portosystemic shunts." *Veterinary radiology & ultrasound* vol. 60,2 (2019): 192-200.

**Vignoli M. et al.** "Assessment of vascular perfusion kinetics using contrast-enhanced ultrasound for the diagnosis of prostatic disease in dogs." *Reproduction in domestic animals* vol. 46,2 (2011): 209-13.

**Waller K. R. et al.** "Quantitative contrast ultrasound analysis of renal perfusion in normal dogs." *Veterinary radiology & ultrasound* vol. 48,4 (2007): 373-7.

**Wdowiak, M et al.** "Contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) in canine liver examination." *Polish journal of veterinary sciences* vol. 13,4 (2010): 767-73.

**Yamaya Y. et al.** "Anaphylactoid response to Optison® and its effects on pulmonary function in two dogs." *The Journal of veterinary medical science* vol. 66,11 (2004): 1429-32.

**Yang Hyun Kyung et al.** "Contrast-enhanced ultrasound approach to the diagnosis of focal liver lesions: the importance of washout." *Ultrasonography (Seoul, Korea)* vol. 38,4 (2019): 289-301.

**Ziegler L. E. et al.** "Quantitative contrast harmonic ultrasound imaging of normal canine liver." *Veterinary radiology & ultrasound* vol. 44,4 (2003): 451-4.