

Klinik und Poliklinik für Radiologie der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. Jens Ricke

***Technische und klinische Anwendung des
kontrastmittelverstärkten Ultraschalls***

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Dr. med. Giovanna Negrão de Figueiredo Miller

aus
Campinas, Brasilien

Jahr
2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Erster Gutachter: *Prof. Dr. med. Johannes Rübenthaler*

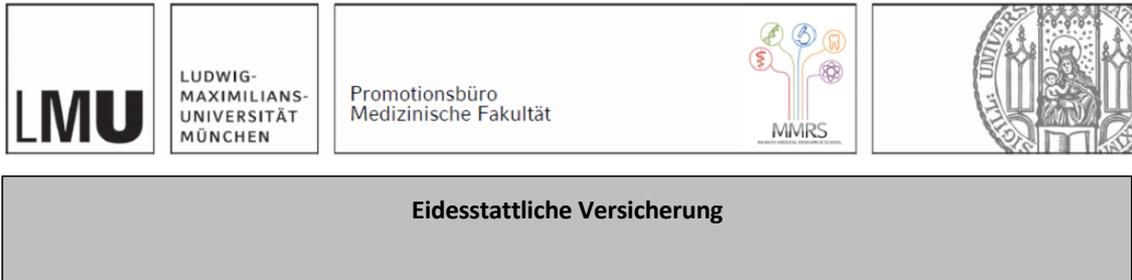
Zweiter Gutachter: *PD Dr. Mingulin Li*

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Katharina Müller-Peltzer

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 16.03.2022

Affidavit



Eidesstattliche Versicherung

Negrão de Figueiredo Miller, Giovanna

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Technische und klinische Anwendung des kontrastmittelverstärkten Ultraschalls

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 30. August 2021

Ort, Datum

Giovanna Negrão de Figueiredo Miller

Unterschrift Doktorandin

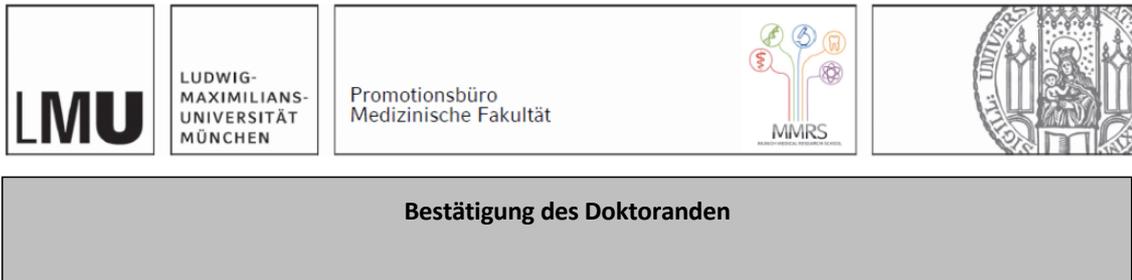
Inhaltsverzeichnis

Affidavit	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis	5
Bestätigung des Doktoranden	6
Publikationsliste	7
1. Beitrag zu den Veröffentlichungen	8
1.1 Beitrag zu Studie I	8
1.2 Beitrag zu Studie II	9
2. Einleitung	10
2.1 <i>Grundlagen der kontrastmittelverstärkten Ultraschalldiagnostik</i>	10
2.2 Klinische Anwendung der kontrastmittelverstärkten Bildgebung – Ultraschalldiagnostik.....	11
3. Studie I: Erkrankungen der Gallenblase	13
4. Studie II: Leberläsionen in Schwangeren	15
5. Zusammenfassung	17
6. Abstract	18
7. Paper I	19
8. Paper II	28
9. Literaturverzeichnis	35
Danksagung	36

Abkürzungsverzeichnis

CEUS	Contrast-enhanced ultrasound
CT	Computertomographie
KM	Kontrastmittel
MB	Mikrobläschen
MRT	Magnetresonanztomographie

Bestätigung des Doktoranden



Bestätigung des Doktoranden

Bestätigung gem. § 4a Abs. 3 und 5 der Promotionsordnung für die Promotion zum Dr. med., Dr. med. dent. und Dr. rer. biol. hum. und gem. § 7 Abs. 4 der Promotionsordnung für die Promotion zum Dr. rer. nat. an der Medizinischen Fakultät

Negrão de Figueiredo Miller, Giovanna

Name, Vorname

Hiermit bestätige ich, dass keiner der zur Promotion eingereichten Fachartikel Gegenstand einer anderen (laufenden oder abgeschlossenen) Dissertation ist.

München, den 30. August 2021

Ort, Datum

Giovanna Negrão de Figueiredo Miller

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

Publikationsliste

1. **G. Negrão de Figueiredo**, L. Zhang, K. Mueller-Peltzer, V. Schwarze, C. Marschner, J. Rübenthaler, D.A. Clevert. *Performance of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) compared to MRI in the diagnostic of gallbladder diseases*. Clinical Hemorheology and Microcirculation, 2019.
2. V. Schwarze, C. Marschner, **G. Negrão de Figueiredo**, J. Rübenthaler, D.A. Clevert. *Single-Center Study: Evaluating the Diagnostic Performance and Safety of Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) in Pregnant Women to Assess Hepatic Lesions*. Ultraschall Med, 2019.

1. Beitrag zu den Veröffentlichungen

1.1 Beitrag zu Studie I

Die erste Arbeit „Performance of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) compared to MRI in the diagnostic of gallbladder diseases“ wurde im Oktober 2019 in der Zeitschrift *Clinical Hemorheology and Microcirculation* veröffentlicht.

Ziel der Arbeit war es, die diagnostische Wertigkeit des Kontrastmittelverstärkten Ultraschalls (*contrast-enhanced ultrasound [CEUS]*) in der Beurteilung von Pathologien der Gallenblase durch den Vergleich der Ergebnisse mit Magnetresonanztomographie (MRT)-Befunden zu analysieren.

In der Studie wurden sonographische Untersuchungen von 202 Patienten mit unklaren Veränderungen der Gallenblase retrospektiv ausgewertet. Die Untersuchungen wurden zwischen 2009 und 2017 durchgeführt. Die Patienten hatten bei Verdacht auf eine tumoröse Veränderung im Anschluss an die konventionelle Ultraschalluntersuchung der Gallenblase eine ergänzende CEUS-Untersuchung erhalten. Aus dieser gesamten Kohorte wurde eine Subgruppe mit 18 Patienten nach zusätzlicher Durchführung einer MRT-Untersuchung analysiert.

Die insgesamt 18 CEUS-Untersuchungen wurden mit den Ergebnissen der MRT verglichen. Die Veränderungen der Gallenblase wurden nach dem Kriterium der Malignität analysiert. Anschließend wurde die Wertigkeit von CEUS im Vergleich zu MRT anhand der berechneten Sensitivität, Spezifität und positiven und negativen prädiktiven Werte bestimmt.

Bei dieser Veröffentlichung handelt es sich um eine Erstautorenschaft. Ich entwarf das Studienkonzept nach ausführlicher Literaturrecherche über die Kontrastmittelverstärkte Untersuchung bei Gallenblasen. Ich führte selbstständig die Datenerhebung für die gesamte Kohorte durch und wertete die Ergebnisse vollständig statistisch aus. Auch die Interpretation der Ergebnisse erfolgte zum überwiegenden Teil durch mich. Nach erfolgreicher Erhebung, Auswertung und Interpretation der Daten fertigte ich das Manuskript an. Ich bereitete das Manuskript für die Einreichung bei der gewünschten Zeitschrift vor und beantwortete die Fragen und Kommentare der Gutachter zur Veröffentlichung.

1.2 Beitrag zu Studie II

Die zweite Arbeit „Single-center study: evaluating the diagnostic performance and safety of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in pregnant women to assess hepatic lesions“ wurde im Februar 2020 in der Zeitschrift *Ultraschall der Medizin – European Journal of Ultrasound* veröffentlicht.

Schwarze et al. analysierten die CEUS-Ergebnisse von 6 Schwangeren (mittlere Schwangerschaftswoche: 28) mit unbekanntem hepatischen Läsionen in einer retrospektiven Studie. Die Untersuchungen wurden zwischen 2005 und 2014 durchgeführt. Ziel der Arbeit war es, die diagnostische Leistung und Sicherheit von CEUS in der Schwangerschaft im Hinblick auf die Beurteilung von Leberläsionen unbekannter Entität zu bewerten und analysieren.

Dafür wurden die Ergebnisse des CEUS in der Diagnostik der hepatischen Läsionen mit denen aus MRT-Untersuchungen verglichen. Es konnte gezeigt werden, dass es sich bei CEUS um eine sichere Bildgebungsmethode handelt, obwohl sie in der Geburtshilfe bisher noch nicht klinisch zugelassen ist. CEUS-Untersuchungen können während der Schwangerschaft nützliche Informationen liefern.

In dieser Arbeit führte ich die Datenerhebung der verrichteten MRT-Untersuchungen selbstständig durch. Zusätzlich führte ich zum Teil die Auswertung und den Vergleich der Untersuchungen selbstständig aus. Des Weiteren übernahm ich die kritische Überprüfung des Manuskripts sowie die ergänzende Recherche der Literatur.

2. Einleitung

2.1 Grundlagen der kontrastmittelverstärkten Ultraschalldiagnostik

CEUS ist ein schnelles und kostengünstiges Verfahren und deswegen eine weit verfügbare Alternative zu den bereits etablierten radiologischen Verfahren.

Das sonographische Kontrastmittel wird intravenös verabreicht und enthält gasgefüllte Mikrobläschen (MB) (1, 2). Diese MB interagieren in besonderer Art mit den ausgesandten Schallwellen des Ultraschallkopfes (1, 2).

In Europa ist ein Kontrastmittel (KM) der zweiten Generation mit dem Namen SonoVue® (Bracco, Mailand, Italien) das derzeit hauptsächlich verwendete Kontrastmittel (Lumason® in den Vereinigten Staaten von Amerika, vom gleichen Hersteller). Das Kontrastmittel enthält gasgefüllte MB, die aus Schwefelhexafluorid (SF₆) bestehen und zur Stabilisierung von einer Hülle („Shell“) aus Phospholipiden umgeben sind (1, 2). Die einzelnen MB haben einen Durchmesser von 2 bis 10 µm, eine Größe ähnlich einem Erythrozyt (1, 2). Damit ist das Kontrastmittel im Kapillar frei gängig (Blutpool-Kontrastmittel) und tritt nicht in den interstitiellen Raum über, anders als bei schnittbildgebenden Verfahren (3). Die vorgegebene Quantität für eine Kontrastmittelinjektion variiert gemäß Fragestellung zwischen 1,5 und 5,0 ml SonoVue®, gefolgt von einer Spülinjektion mit 5–10 ml 0,9 % NaCl (1, 2, 4). Das Kontrastmittel wird als Bolus unter Verwendung einer 20- bis 22-Gauge-Kanüle über eine Antekubitalvene (1–3) injiziert.

Der Gasanteil des Kontrastmittels wird nach der Injektion zum größten Teil durch die Atmung eliminiert und die Phospholipide werden endogen metabolisiert. Damit hat das Kontrastmittel keine Einwirkung auf die Funktion der Nieren oder der Schilddrüse (2).

Um eine frühzeitige Zerstörung der MB im Kontrastmittel zu vermeiden, müssen moderne Ultraschallsysteme Ultraschallimpulse mit niedrigem Druck (mechanischer Index <0,2) verwenden (2, 3). Die nichtlineare akustische Interaktion zwischen stabilisierten MB und Ultraschallwellen ermöglicht die Kontrastdarstellung zur Bildgebung. Im Gegensatz zu einem B-Bild erzeugen MB einen zusätzlichen

Kontrast abhängig von der lokalen Durchblutung des Organs (1, 2) und Echosignale werden durch diese Interaktion für die kontrastspezifische Bildgebung generiert (3). MB können jedoch zerstört werden, wenn das Signal, das auf die MB trifft, zu stark ist. Diese Methode kann aber auch genutzt werden, um die Perfusion des Organs mit der wiederholten Darstellung von Inflow- und Washout-Phänomenen zu beurteilen (3). Wenn MB durch eine kurzzeitige hohe Sendeleistung zerstört werden, dann kann der Wiedereinstrom von MB gemessen werden (Flash-/Replenishment-Technik) (3).

Normalerweise kommt der CEUS öfter zum Einsatz, wenn Befunde in der nativen Ultraschalluntersuchung unklar sind und weiter abgeklärt werden müssen (5). CEUS unterliegt jedoch den gleichen Limitationen wie die B-Bild- und farbkodierte Duplexsonographie und dies reicht manchmal nicht aus für die Diagnostik von adipösen oder nichtkooperierenden Patienten (2, 5). Eine erhöhte Menge an Darmgas kann die Aussagekraft der Untersuchung auch stark einschränken (5). Ferner kann die Qualität der Ultraschalluntersuchung von der Erfahrung des durchführenden Arztes abhängig sein (5).

2.2 Klinische Anwendung der kontrastmittelverstärkten Bildgebung – Ultraschalldiagnostik

Die kontrastmittelverstärkte Untersuchung ermöglicht die dynamische Darstellung des Blutflusses in Gefäßen bis zu einer Größe von nur 40 µm und damit kann die Vaskularisation und Perfusion von Organen wie der Leber, der Gallenblase, den Nieren, der Milz, des Pankreas, des Darms, der Prostata, des Hodens, der Brust und der Skelettmuskulatur sowie das zerebrale, periphere und kardiale Gefäßsystem dargestellt werden (2–4). Zusätzlich kann CEUS noch zur Darstellung einer Hypo- oder Hyperperfusion genutzt werden und wird bei Angiopathien, bei Gefäßdissektionen und Aneurysmen (6) eingesetzt.

Die dynamische Darstellung des Blutflusses erlaubt in den meisten Organen die Beobachtung von zwei Perfusionsphasen: die arterielle Phase (10–20 s nach Kontrastmittelinjektion) und die venöse Phase (40–65 s nach Kontrastmittelinjektion) (2–4). In der Leber ist es wegen der dualen Blutversorgung durch die Leberarterie und die Pfortader möglich, drei Perfusionsphasen zu beobachten: die arterielle Phase (10–20 s nach Kontrastmittelinjektion), die portalvenöse Phase (30–45 s nach Kontrastmittelinjektion) und die Spät- oder Parenchymphase (ab

120 s nach Kontrastmittelinjektion) (4, 7, 8). Die Dichte des Gefäßnetzes und des relativen Blutvolumens der Zielstruktur beeinflusst die Gefäßperfusion.

Bei der Untersuchung der Oberbauchorgane steht die Erkennung und Unterscheidung zwischen gutartigen und bösartigen Läsionen im Vordergrund. Die Perfusionsparameter der Leber ermöglichen auch eine Differenzierung von Primärtumoren und Metastasen (7, 8).

Es wurden im Rahmen der beiden vorgestellten Studien klinische Studien ausgewertet, um die Verwendung von CEUS bei der Diagnostik der Gallenblase und der Leber bei Schwangeren zu evaluieren, sowie die Sicherheit dieser Methode für Patientinnen in der Schwangerschaft.

Alle ausgewerteten Untersuchungen wurden vom gleichen erfahrenen Arzt durchgeführt und zum Zeitpunkt der Untersuchung interpretiert. Eine Dosis von 1,5–2,4 ml Kontrastmittel (SonoVue®) wurde in den meisten Fällen verwendet. Bei keinem der Patienten konnten Nebenwirkungen der Kontrastmittelgabe festgestellt werden.

3. Studie I: Erkrankungen der Gallenblase

Die Bildgebung der Gallenblase spielt eine wichtige Rolle bei der Erkennung und Charakterisierung unklarer Pathologien. Des Weiteren hilft eine rechtzeitige Bildgebung der Gallenblase bei der Therapieplanung (9).

Die Gallenblase ist ein Organ, das von einer Vielzahl unterschiedlicher Pathologien befallen werden kann, welche oft mit unspezifischen Zeichen und Symptomen einhergehen können. Die Echtzeitsonographie für die initiale diagnostische Bildgebung der Gallenblase ist das am häufigsten eingesetzte Verfahren und damit auch das Screening-Verfahren der Wahl. Andere Verfahren wie die CT oder MRT können bei unklaren Fällen ergänzend eingesetzt werden (9–12). Ein Verständnis der Eigenschaften verschiedener Krankheitsmanifestationen und ihrer Darstellung im CEUS kann hierbei die Antwort für die richtige Diagnose sein.

Die kontrastmittelverstärkte Sonographie der Gallenblase kann angewendet werden, um Normvarianten von Gefäßen zu identifizieren, Sludge von neoplastischen Läsionen zu erkennen, benigne und maligne Läsionen zu identifizieren oder auszuschließen sowie auch Infektionen, eine Wandruptur oder eine Hämobilie zu diagnostizieren (5).

Ziel der ersten Studie war es, die diagnostische Wertigkeit des CEUS in der Beurteilung von Erkrankungen der Gallenblase durch den Vergleich der Ergebnisse mit MRT-Befunden zu analysieren.

Dazu wurden sonographische Untersuchungen von insgesamt 202 Patienten mit unklaren Veränderungen der Gallenblase retrospektiv ausgewertet. Diese Untersuchungen wurden zwischen 2009 und 2017 durchgeführt. Eine CEUS-Untersuchung wurde ergänzend zur konventionellen Ultraschalluntersuchung bei Verdacht auf tumoröse Veränderung der Gallenblase durchgeführt. Aus dieser gesamten Kohorte wurde eine Subgruppe von 18 Patienten analysiert. Diese Patienten bekamen zusätzlich eine MRT-Untersuchung zum Vergleich der Ergebnisse. Die Wertigkeit des CEUS im Vergleich zur MRT wurde anhand der berechneten Sensitivität, Spezifität und positiven und negativen prädiktiven Werte bestimmt.

Die Studie zeigte eine Sensitivität von 100 %, eine Spezifität von 93 %, einen positiven prädiktiven Wert von 67 % und einen negativen prädiktiven Wert von 100 %.

In der Studie zeigten 2 der 18 Patienten einen malignitätssuspekten Befund im CEUS, der durch die MRT-Untersuchung und die Histopathologie bestätigt wer-

den konnte. Der pathologische Befund ergab die Diagnose eines Adenokarzinoms der Gallenblase. In diesen beiden Fällen konnte in der Gallenblase sowohl im CEUS als auch in der MRT-Untersuchung eine intraluminale Masse nachgewiesen werden. Im CEUS zeigte die Gallenblase eine irreguläre Kontrastierung der Wand sowie eine tortuöse, verstärkte arterielle Vaskularisation und ein Auswaschen des Kontrastmittels innerhalb der Läsion.

In 1 weiteren Fall wurde im CEUS eine maligne Gallenblasenveränderung detektiert. Die MRT-Untersuchung und die histopathologische Aufarbeitung bestätigten die verdächtige Läsion als Infiltration der Gallenblasenwand durch eine maligne Leberaumforderung. In diesem Fall konnte der CEUS zwischen einer intraluminalen Raumforderung der Gallenblase selbst und einer tumorösen Infiltration durch eine Leberaumforderung differenzieren. Dies ist ein Beispiel für die Grenzen des CEUS und dessen Untersucherabhängigkeit.

Eine fokale Hyperplasie der Gallenblase wurde in 2 Fällen im CEUS dargestellt; die MRT erkannte einen Fall als Muster für die Adenomyomatose und den anderen Fall wie im CEUS auch als fokale Hyperplasie der Gallenblase. Das Muster einer Adenomyomatose wurde histopathologisch in beiden Fällen bestätigt.

Darüber hinaus wurden Gallenblasenpolypen durch CEUS dargestellt in 2 Fällen diagnostiziert und in der MRT bestätigt. Der Verlauf der Fälle mit Polypen wurde kontrolliert, deren Größe veränderte sich nicht.

In den restlichen 11 Fällen wurde durch CEUS ein Cholezystitismuster dargestellt. In allen Fällen konnte dieses auch via MRT nachgewiesen und durch die Pathologie nach Cholezystektomie bestätigt werden.

Insgesamt lässt sich bei allen durchgeführten Untersuchungen dieser Studie eine hohe diagnostische Wertigkeit des CEUS feststellen.

4. Studie II: Leberläsionen in Schwangeren

Die sonographische Bildgebung der Leber spielt eine sehr wichtige Rolle bei der Erkennung unklarer Leberläsionen im Rahmen von Vorsorgeuntersuchungen sowie bei bekannten Leber- oder Systemerkrankungen (3, 7, 8). Fokale Leberläsionen sind aufgrund ihrer hohen Prävalenz ein sehr häufiger Zufallsbefund (8).

Die Charakterisierung von Leberläsionen erfolgt zuerst per B-Bild-Modus im Rahmen eines konventionellen Ultraschalls sowie per Farbdoppler. Diese Bildgebung ist insbesondere bei blanden Leberzysten, klassischen Hämangiomen und typischen fokalen Hyperplasien mit begleitender passender Anamnese in den meisten Fällen ausreichend (8). Nicht alle Leberläsionen können jedoch sicher charakterisiert und von einer malignen Entität unterschieden werden (7, 8).

Die Verwendung des CEUS als ergänzende bildgebende Methode erlaubt die Erkennung und Evaluation von unterschiedlichen charakteristischen Anreicherungsmustern bei fokalen Leberläsionen in allen vaskulären Phasen gemäß mehreren Leitlinien (3, 4, 7, 8).

Ein wichtiges Merkmal malignitätsspekter Leberläsionen nach Kontrastmittelgabe ist das sogenannte „washout“ (7). Dieses Merkmal bezeichnet das Auswaschen von Kontrastmittel (Englisch *washout*) einer Leberläsion im Vergleich zum umgebenden Leberparenchym. In den meisten Fällen kann das *washout* während der portalvenösen und späten Phasen beobachtet werden, gelegentlich auch während der Spätphase (7).

In der zweiten Studie wurden 6 schwangere Frauen mit zufällig entdeckten fokalen Leberveränderungen untersucht. Diese Untersuchungen wurden zwischen 2005 und 2014 durchgeführt. Die Ergebnisse der CEUS-Untersuchung wurden mit einer MRT als Referenzstandard verglichen.

Alle Patientinnen hatten fokale Leberveränderungen, die bei der ersten sonographischen Untersuchung ohne Kontrastmittel nicht weiter charakterisiert worden waren. Die CEUS-Untersuchung konnte in der Gruppe der 6 Patientinnen bei 4 eine benigne fokale Leberläsion darstellen, wovon 1 Patientin eine Echinokokkose der Leber hatte, und die 2 anderen Untersuchungen ergaben eine maligne fokale Leberläsion, aber ohne nachweislich schädliche Auswirkungen auf den Fötus.

Bei den Untersuchungen, die eine gutartige Leberläsion diagnostizierten, wurde das Therapiemanagement während der Schwangerschaft wie üblich fortgeführt. Bei den Untersuchungen mit Malignomen (2 Fälle) führte die Diagnose zu einer grundlegenden Änderung des Patientinnenmanagements.

Eine Echinokokkose als Leberläsion bedarf bei Schwangeren bis zur Geburt keiner Behandlung; deshalb wurde die Geburt in diesem Fall wie gewöhnlich fortgeführt. Die richtige Therapie für die Echinokokkose wurde nach der Entbindung veranlasst.

Die Patientinnen erhielten eine MRT-Untersuchung ohne Kontrastverstärkung anstatt einer CT-Untersuchung wegen der Strahlenbelastung.

Obwohl die sonographische Kontrastmittelgabe in der Schwangerschaft bisher nicht klinisch zugelassen ist, zeigte diese Studie, dass die intravaskuläre Gabe von Ultraschallkontrastmitteln keine Gefahr für die Schwangere oder das ungeborene Kind darstellt. Somit kann mit diesem Verfahren die Verwendung von anderen bildgebenden Methoden mit einer möglichen schädlichen Wirkung auf das ungeborene Kind vermieden werden.

5. Zusammenfassung

Die beiden Studien sollten die Wertigkeit des CEUS bei der Beurteilung der physiologischen und pathologischen Perfusion von Organen nachweisen. CEUS kann zusätzliche relevante diagnostische Informationen darstellen und dient somit als wichtige komplementäre Alternative zu den bereits etablierten radiologischen Verfahren.

Im besonderen Fokus stand die Anwendung des CEUS im Bereich der Oberbauchorgane sowie während der Schwangerschaft.

CEUS ist eine kostengünstige Technik für die Charakterisierung von Veränderungen der Gallenblase sowie bei fokalen Leberläsionen und wird sowohl bei Erwachsenen als auch bei pädiatrischen Patienten verwendet. Zusätzlich zeigte die zweite Studie die Möglichkeit, CEUS während der Schwangerschaft einzusetzen. Die vorgestellten Studien und Ergebnisse beweisen die vorhandenen klinischen Möglichkeiten von CEUS in der Detektion und Klassifikation von Perfusionscharakteristika einer Läsion und der Etablierung von neuen Behandlungsansätzen.

6. Abstract

The two studies were designed to demonstrate the value of CEUS in assessing the physiological and pathological perfusion of organs. CEUS can present additional relevant diagnostic information and thus serves as an important complementary alternative to the already established radiological procedures.

Special focus was placed on the application of CEUS in the area of the upper abdominal organs as well as during pregnancy.

CEUS is a cost-effective technique for characterising changes in the gallbladder as well as in focal liver lesions and is used in both adult and paediatric patients. In addition, the second study showed the possibility of using CEUS during pregnancy. The studies and results presented demonstrate the clinical potential of CEUS in the detection and classification of perfusion characteristics of a target lesion and the establishment of new treatment approaches.

7. Paper I

Clinical Hemorheology and Microcirculation xx (20xx) x–xx
DOI 10.3233/CH-199202
IOS Press

1

Performance of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) compared to MRI in the diagnostic of gallbladder diseases

G. Negrão de Figueiredo*, K. Mueller-Peltzer, V. Schwarze, L. Zhang, J. Rübenthaler and D.A. Clevert

Department of Radiology, Interdisciplinary Ultrasound-Center Ludwig-Maximilians-University of Munich – Grosshadern Campus, Munich, Germany

Abstract.

BACKGROUND: Conventional ultrasound and MRI are very important techniques for the detection of gallbladder alterations. In the past years, studies showed that the additional use of contrast media to the conventional ultrasound allows the early depiction of pathological microvessels and their flow elucidating suspect findings stipulating the prompt therapy approach.

OBJECTIVE: The study aims to evaluate the performance of CEUS in gallbladder diseases and compare it to MR imaging using histopathological findings as a gold standard.

MATERIAL AND METHODS: The retrospective mono-center study analysed 18 patients with gallbladder alterations between 2009 and 2017. All patients underwent CEUS and MRI examinations and all results were confirmed in the pathology. CEUS images were performed and interpreted by a single experienced physician.

RESULTS: CEUS imaging results compared to MR imaging of the gallbladder demonstrated a sensitivity of 100%, specificity of 93%, a positive predictive value of 67% and a negative predictive value of 100%.

CONCLUSION: CEUS enables the depiction and characterization of important vascularization's patterns facilitating the early differentiation between malignant and benign findings. In this study, CEUS displayed a better diagnostic accuracy than MRI proving to be a valuable additional tool to the established imaging modalities.

Keywords: CEUS, gallbladder alterations, MRI, histopathological findings, adenocarcinoma

1. Introduction

Ultrasound (US) is a very important tool in the early diagnosis of gallbladder carcinoma for the prompt therapy management [1]. The real-time conventional ultrasonography has an excellent spatial and temporal resolution enabling the detection of pathological alterations of the gallbladder. Moreover, this method is easy to perform, has no radiation and is cost-effective. However, in some cases, it is insufficient in clarifying suspicious US findings. Therefore, the application of a contrast agent has been used as an additional tool.

The contrast-enhanced ultrasound (CEUS) has been widely used in the last years as an established method for the assessment of suspicious lesions in organs such as kidney [2, 3], liver [4–8] and pancreas [9]. CEUS has been also used for displaying vascular pathologies such as flow velocity, aneurysms,

*Corresponding author: Dr. Med. Giovanna Negrão de Figueiredo, M.D, M.Sc. Department of Radiology, Interdisciplinary Ultrasound Center, Ludwig-Maximilians-University of Munich – Grosshadern Campus Marchioninstr. 15, 81377 Munich, Germany. Tel.: +49 89/44007 3620; Fax: +49 89/44007 8832; E-mail: Giovanna.Negrao.de.Figueiredo@med.uni-muenchen.de.

leaks, critical stenosis or even dissections in small vessels [10, 11]. Different than the liver perfusion with a 3-phase vascularization [4], CEUS can demonstrate the vascularization pattern of the gallbladder during 2 phases: arterial (10–20 seconds postinjection); and late phase (31–180 seconds after contrast agent injection) because the blood supply of the gallbladder is provided entirely by the cystic artery and not by branches of the portal vein [12–16]. These two phases allow the vasculature depiction and characterization of suspicious masses, polyps and inflammatory reactions. However, as well as the conventional ultrasound, obese patients, patients with meteorism or noncompliant patients can decrease the validity of the examination.

The magnetic resonance imaging (MRI) is a very used technique that can assist the diagnosis of gallbladder diseases just like conventional US and CEUS. However, MRI cannot always be performed because of contraindications such heart pacemaker, metallic foreign body (metal sliver) and kidney impairment.

CEUS on the other hand, it is a safe tool because the contrast media applied has no renal or cardiac toxicity and can be performed in patients with renal and thyroid glands dysfunction [17, 18] as it does not contain iodine. Additionally, studies revealed the severe allergic responses are very rare - 1 in 10.000 cases [18, 19]. However, it is a foreign material and can produce a hypersensitivity reaction when recognized as so by the immune system [13, 14]. In large scale studies with CEUS, the reaction of hypersensitivity was reported with an incidence of ca. 0.002% [18, 19], reported as less than an examination with the use of an iodine contrast agent in computerized tomography (CT) and similar than the contrast agent used in MRI (gadolinium chelate). As any other contrast agent, SonoVue has also some contraindications such as: clinically unstable ischemic cardiac disease or recent acute coronary syndrome, severe pulmonary hypertension, right-to-left shunts, uncontrolled systemic hypertension and adult respiratory distress syndrome.

This retrospective mono-center analysis study aims to evaluate gallbladder diseases on CEUS and compare it with MRI.

2. Materials and methods

This study analysis was approved by the local institutional ethical committee of the institutional review board (IRB). Additionally, all authors respected the ethical guidelines for publication in Clinical Hemorheology and Microcirculation.

A total of 202 patients between 2009 and 2017 with gallbladder alterations were referred for CEUS examinations in our department after conventional ultrasound. Out of 202 patients, a subgroup of 18 patients underwent additional MRI examinations for diagnosis comparison. This retrospective study analysed 18 patients with CEUS and MRI examinations. CT was additionally performed in 3 patients. Out of 18 patients, 11 (61 %) were male and 7 (39%) were female. Mean age of patients was 59 years old (SD \pm 19 years old), ranging in age from 25 to 89 years.

All results were histopathologic confirmed. In this study all CEUS examinations were included due to the excellent imaging quality acquired. Histopathologic analysis of a specimen as well as MRI were performed according to the valid techniques, protocols and classifications at the time of the examination. All 18 patients signed an oral and a written informed consent prior to each CEUS and MRI examination.

This study used several ultrasound systems (Siemens Acuson Sequoia and Siemens S2000, EPIQ 7, Philips Ultrasound), all high-end systems with CEUS specific protocols. Siemens ultrasound systems provided C4-1 and C6-1 HD probes for the examinations and Philips ultrasound system provided C9-2 probe. Each high-end ultrasound system was configured with a low mechanical index (always <0.2) in order to circumvent early destruction of microbubbles.

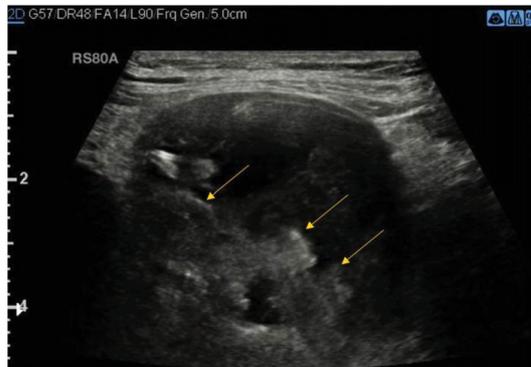


Fig. 1. Native B-mode ultrasound of a male patient demonstrating an intraluminal mainly echogenic mass formation with irregularly shaped borders (yellow arrows).

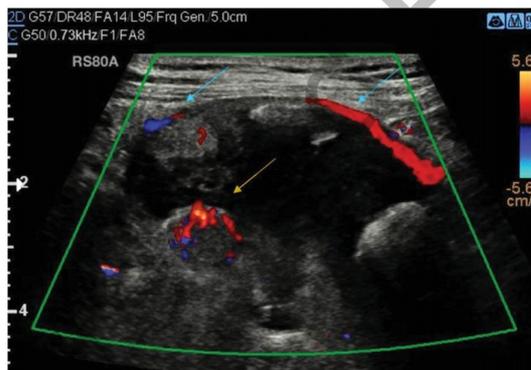


Fig. 2. Same patient as in Fig. 1. Color Doppler shows the mass hypervascularization (yellow arrow) and the hypervascularization of the gallbladder wall (light blue arrows).

Fasting of at least 6 h prior each examination was necessary for a better interpretation of the gallbladder. A baseline greyscale US examination of the gallbladder and the adjacent liver was performed at first. Then, after the conventional evaluation of the gallbladder, a second-generation blood pool agent (SonoVue[®], Bracco, Milan, Italy) was applied. The second-generation blood pool agent consists of phospholipid-stabilized shell microbubbles filled with sulfur hexafluoride gas. SonoVue[®] was administered as a bolus injection with an individual dose of 1.5 to 2.4 mL through a 20-gauge cannula placed in the antecubital vein. A flush-injection of 5–10 ml saline solution was followed. Normally, a single dose of contrast media was sufficient.

Cine loops of the study obtained were archived in the picture archiving and communication system (PACS) of our institution. Mean study time ranged between 3–5 minutes. During these 18 examinations, no adverse reactions were observed.

A single proficient radiologist with more than fifteen years' experience in conventional sonography and experience with CEUS since 2003 performed and interpreted all baseline B-mode US and CEUS

4 G. Negrão de Figueiredo et al. / Performance of CEUS compared to MRI in the diagnostic of gallbladder diseases

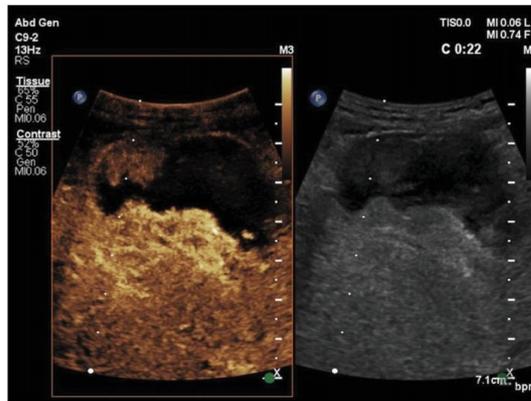


Fig. 3. Same patient as in Figs. 1 and 2. CEUS shows an arterial hyperenhancement of the suspicious intraluminal mass of the gallbladder.

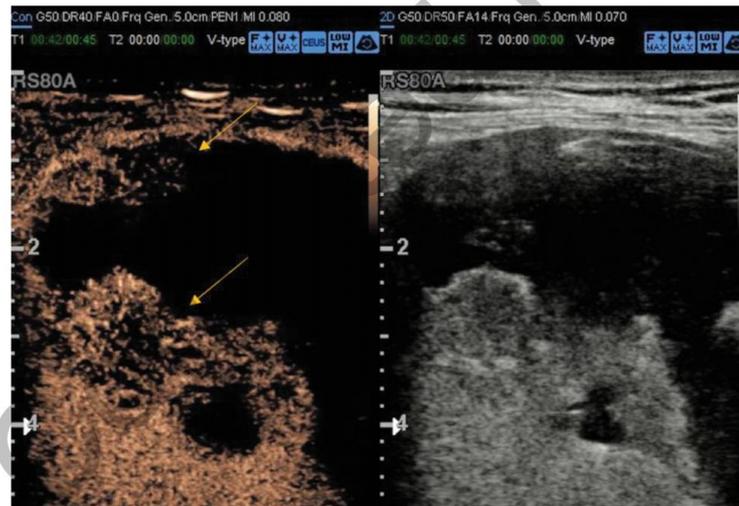


Fig. 4. Same patient as in Figs. 1–3. CEUS demonstrates a pathological wash-out of the intraluminal mass in the venous phase (yellow arrows). The diagnosis was histopathologically confirmed as adenocarcinoma of the gallbladder after cholecystectomy.

studies. Senior radiologist that performed and interpreted all ultrasound examinations was blinded to MRI and pathology results. MRI examinations were also read by senior radiologists, with similar experience to the CEUS radiologist. All examinations were performed in a high-field-strength (1.5 Tesla) with phased array coils for signal reception. Despite protocol deviations, all patients received a routine clinical imaging protocol of the gallbladder with sequences before and after administration of contrast agent.



Fig. 5. Native B-mode ultrasound of a female patient demonstrating an intraluminal echogenic oval shaped mass formation adjacent to the gallbladder wall (yellow arrows).



Fig. 6. Same patient as in Fig. 5. Color Doppler shows no major hypervascularization of the gallbladder mass (yellow arrow).

For this retrospective analysis, archived images and documentation files of all patients were retrieved from the PACS of our institution for the evaluation of gallbladder diseases on CEUS and for the comparison with MRI by testing sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV).

3. Results

CEUS when compared to MRI results and histopathological findings presented a sensitivity of 100% and specificity of 93%, PPV of 67% and NPV of 100% (Table 1). CEUS and MRI demonstrated 2 cases of a suspicious malignant gallbladder alteration that were confirmed as adenocarcinoma (Figs. 1–7). In one case, suspicious malignant patterns of the gallbladder were depicted on CEUS and defined in MRI

6 G. Negrão de Figueiredo et al. / Performance of CEUS compared to MRI in the diagnostic of gallbladder diseases

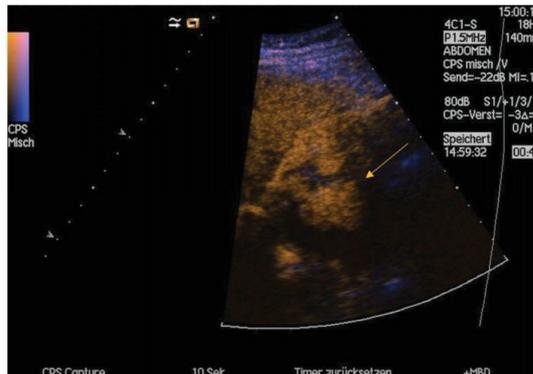


Fig. 7. Same patient as in Figs. 5, 6. CEUS shows an arterial hyperenhancement of the suspicious intraluminal mass of the gallbladder (yellow arrow). The diagnosis was histopathologically confirmed as adenocarcinoma of the gallbladder after cholecystectomy.

as a malignant infiltration of a liver tumor, which was confirmed in the histopathology as hepatocellular carcinoma (HCC).

CEUS was able to depict two cases with a focal benign hyperplasia of the gallbladder wall that was first suspected and afterwards pathologic confirmed as an adenomyomatosis of the gallbladder. However, MRI results was could only depict one of two adenomyomatosis of the gallbladder.

Moreover, CEUS depicted a gallbladder polyp in two cases which were also confirmed in the pathologic results but not sufficient demonstrated in the MRI. In the other patients CEUS and MRI displayed a cholecystitis pattern which was acknowledged in the pathology after cholecystectomy.

4. Discussion

When comparing the performance of CEUS and MRI in this study, the analysis showed a higher diagnostic accuracy of CEUS. Due to the real-time imaging method and the additional contrast media applied, CEUS displays the vascularization of a target lesion in two different phases (arterial and venous) increasing the diagnostic confidence. Moreover, the contrast agent administered overcomes the limitations of greyscale US displaying flow information of microvessels and demonstrating features such as gallbladder wall destruction or infiltration [20, 21]. The supplementary Color Doppler tool is not always able to depict vessel slow flow or deeply located vessels being more insensitive than CEUS.

This CEUS advantage allows the differentiation between a normal or a suspicious gallbladder alteration such as hypervascularized focal or diffuse mass, thickened wall, irregular surface, irregular contrast enhancement. Additionally, CEUS can distinguish a focal mass from sludge or polyp.

CEUS of gallbladder alterations has already been compared to CT in a previous study with 24 patients presenting a sensitivity of 75% and a specificity of 100.0% [11]. As 3 patients of the previous study with CT [16] also had an MRI, MRI results were evaluated in this study summing a total 18 patients.

Although this study is a limited study because of the small number ($n = 18$) of patients with gallbladder alterations, the performance of CEUS in the depiction and classification of gallbladder alterations has already been demonstrated in other studies [22–27]. Moreover, it is important to note that the results of this study might be biased in favor of CEUS because single proficient radiologist performed and

G. Negrão de Figueiredo et al. / Performance of CEUS compared to MRI in the diagnostic of gallbladder diseases 7

Table 1
CEUS, MRI and histopathological results of the study

Case	Sex	Age	CEUS malignant characteristics	CEUS benign characteristics	MRI diagnosis	Histopathology
1	Male	89	yes	no	adenocarcinoma	adenocarcinoma
2	Male	76	no	yes sign of cholecystitis	cholecystitis	cholecystitis
3	Male	79	no	yes sign of cholecystitis	cholecystitis	cholecystitis
4	Male	28	no	yes sign of cholecystitis	cholecystitis	cholecystitis
5	Female	77	no	yes sign of cholecystitis	cholecystitis	cholecystitis
6	Male	40	no	yes sign of cholecystitis	cholecystitis	cholecystitis
7	Male	76	no	yes sign of cholecystitis	cholecystitis	cholecystitis
8	Male	25	no	yes sign of cholecystitis	cholecystitis	cholecystitis
9	Female	59	no	yes polyp	polyp possible	polyp
10	Female	45	no	yes polyp	polyp possible	polyp
11	Male	62	yes	no	infiltration of a liver Tumor	HCC with Infiltration of the gallbladder
12	Male	61	no	yes sign of cholecystitis	cholecystitis	cholecystitis
13	Female	56	no	yes focal gallbladder hyperplasia	focal gallbladder hyperplasia	adenomyomatosis
14	Male	79	no	yes sign of cholecystitis	cholecystitis	cholecystitis
15	Female	43	no	yes focal gallbladder hyperplasia	adenomyomatosis	adenomyomatosis
16	Female	52	yes	no	adenocarcinoma	adenocarcinoma
17	Male	72	no	yes sign of cholecystitis	cholecystitis	cholecystitis
18	Female	53	no	yes sign of cholecystitis	cholecystitis	cholecystitis

interpreted all the examinations. However, there is no other alternative for the recruitment of patients with gallbladder alterations in the routine. Furthermore, interpretation of exams requires a senior radiologist with long term expertise as this field is very limited, with no available other physicians inside our department.

This study was able to show that CEUS when compared to MRI demonstrated a higher diagnostic performance. Both methods (CEUS and MRI) were able to depict a suspicious malignant mass in the gallbladder with features of malignancy such as irregular surface, tortuous arterial enhancement [22–24] and its early washout, which is alone not a specific criterion for malignancy as already proved in previous studies [18–20]. Additional features such as disrupted wall, tortuous-type vascularity and patient age have also to be cogitated as criteria for malignancy [22–24]. However, results might differ

depending on the physician that performs the CEUS examination, the size of the alterations and not specific malignant features [22, 23].

After cholecystectomy, histopathologically results confirmed the imaging results by reporting the suspicious tumor as an adenocarcinoma of the gallbladder (Figs. 1–7). As the prognosis for gallbladder carcinoma has a low overall prevalence [24], its early recognition is essential.

In one case, CEUS and MRI also demonstrated suspicious features of malignancy such as tortuous-type vascularity, disrupted wall and arterial enhancement and pathological results clarified the alterations as an infiltration of a malignant liver tumor. In this case, MRI was able to show the liver mass and its infiltration.

Adenomyomatosis is a benign alteration of the gallbladder that is described a thickened gallbladder wall with small avascular cystic spaces. CEUS is normally performed when this pathology cannot be clarified in the native B-mode US. MRI should be performed if CEUS still have unclear results. CEUS displays the adenomyomatosis pattern as a focal, segmental, or diffuse hyperplasia of the gallbladder wall with anechoic cysts. As the cysts are avascular and sometimes bile-filled, CEUS shows in the arterial phase a “moth-eaten” enhancement of the gallbladder wall, simultaneously to the parenchyma enhancement of the liver [25]. MRI, missed one case of adenomyomatosis in this study because the signal intensity of the avascular cystic spaces varies widely depending on their content despite its extremely high sensitivity. Normally, the intramural cystic spaces are hypointense on T1-weighted images, hyperintense on T2-weighted images and nonenhancing [26, 27]. In some cases, intraluminal calculi appear differently, they show signal voids due to their mineral content [26, 27].

Cholecystitis and its inflammatory pattern were depicted on CEUS and in MR without any difficulties. The inflammatory pattern of the gallbladder wall on CEUS consists of a homogeneous, fast, and intense enhancement of the thickened gallbladder in the arterial phase.

Finally, it is also important to emphasize that patients with contraindications to other cross-sectional modalities such as MRI benefit from CEUS because it is a safe technique as it has no radiation and the contrast media used has no renal, thyroid or cardiac toxicity [17–19].

5. Conclusion

Ultrasound is the imaging modality of choice for the conventional evaluation of gallbladder alterations. The additional use of a contrast agent in US enables the depiction and characterization of important patterns of vascularization that allows the early differentiation between malignant and benign findings accelerating the recommended therapy management.

In this study, CEUS displayed a better feasibility and diagnostic accuracy than MRI proving to be a valuable additional tool to the established imaging modalities.

References

- [1] Levy AD, Murakata LA, Rohmann CA Jr. Gallbladder carcinoma: Radiologic-pathologic correlation. *Radiographics*. 2001;21(2):295-314.
- [2] Rübenthaler J, Bogner F, Reiser M, Clevert DA. Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) of the Kidneys by Using the Bosniak Classification. *Ultraschall Med*. 2016;37(3):234-51.
- [3] Rübenthaler J, Paprottka K, Marcon J, Hameister E, Hoffmann K, Joiko N, et al. Comparison of magnetic resonance imaging (MRI) and contrast-enhanced ultrasound (CEUS). *Clin Hemorheol Microcirc*. 2016;64(4):757-763.
- [4] Muller-Peltzer K, Rübenthaler J, Reiser M, Clevert DA. [Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) of the liver : Critical evaluation of use in clinical routine diagnostics]. *Radiologe*. 2017;57(5):348-55.
- [5] Ran L, Zhao W, Zhao Y, Bu H. Value of contrast-enhanced ultrasound in differential diagnosis of solid lesions of pancreas (SLP): A systematic review and a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(28):e7463.

- [6] Wildner D, Schellhaas B, Strack D, Goertz RS, Pfeifer L, Fiessler C, Neurath MF, Strobel D. Differentiation of malignant liver tumors by software-based perfusion quantification with dynamic contrast-enhanced ultrasound (DCEUS). *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(1):39-51.
- [7] Putz FJ, Verloh N, Erlmeier A, Schelker RC, Schreyer AG, Hautmann MG, Stroszczynski C, Banas B, Jung EM. Influence of limited examination conditions on contrast-enhanced sonography for characterising liver lesions. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(2):267-76.
- [8] Cao J, Dong Y, Fan P, Mao F, Wang W. Feasibility of dynamic three-dimensional contrast-enhanced ultrasound in focal liver lesions: Image quality evaluation and correlation of quantification with two-dimensional contrast-enhanced ultrasound. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019 Mar 7. doi: 10.3233/CH-180531.
- [9] Rettenbacher T. Our experiences using contrast-enhanced ultrasound in focal liver lesions. *Eur Radiol.* 2005;15(Suppl 5):E93-7.
- [10] Zimmermann H, et al. Feasibility of contrast-enhanced ultrasound with image fusion of CEUS and MS-CT for endovascular grafting in infrarenal abdominal aortic aneurysm in a single patient. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2016;64(4):711-9.
- [11] Rübenthaler J, Reiser M, Clevert DA. Diagnostic vascular ultrasonography with the help of color Doppler and contrast-enhanced ultrasonography. *Ultrasonography.* 2016;35(4):289-301.
- [12] Numata K, Oka H, Morimoto M, Sugimori K, Kunisaki R, Nihonmatsu H, et al. Differential diagnosis of gallbladder diseases with contrast-enhanced harmonic gray scale ultrasonography. *J Ultrasound Med.* 2007;26(6):763-74.
- [13] Rettenbacher T. Our experiences using contrast-enhanced ultrasound in focal liver lesions. *Eur Radiol.* 2005;15(Suppl 5):E93-7.
- [14] Negrão de Figueiredo G, Mueller-Peltzer K, Zengel P, Armbruster M, Rubenthaler J, Clevert DA. Diagnostic performance of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the evaluation of gallbladder diseases. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;69(1-2):83-91.
- [15] Dong Y, Liu L, Cao Q, Zhang Q, Qiu Y, Yang D, Yu L, Wang WP. Differential diagnosis of focal gallbladder lesions: The added value of contrast enhanced ultrasound with linear transducers. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019. doi: 10.3233/CH-190639
- [16] Yuan HX, Wang WP, Guan PS, Lin LW, Wen JX, Yu Q, Chen XJ. Contrast-enhanced ultrasonography in differential diagnosis of focal gallbladder adenomyomatosis and gallbladder cancer. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;70(2):201-11.
- [17] Badea R, Zaro R, Tantau M, Chiorean L. Ultrasonography of the biliary tract - up to date. The importance of correlation between imaging methods and patients' signs and symptoms. *Med Ultrason.* 2015;17(3):383-91.
- [18] ter Haar G. Safety and bio-effects of ultrasound contrast agents. *Med Biol Eng Comput.* 2009;47(8):893-900.
- [19] Piscaglia F, Bolondi L, Italian Society for Ultrasound in M, Biology Study Group on Ultrasound Contrast A. The safety of Sonovue in abdominal applications: Retrospective analysis of 23188 investigations. *Ultrasound Med Biol.* 2006;32(9):1369-75.
- [20] Numata K, Oka H, Morimoto M, Sugimori K, Kunisaki R, Nihonmatsu H, et al. Differential diagnosis of gallbladder diseases with contrast-enhanced harmonic gray scale ultrasonography. *J Ultrasound Med.* 2007;26(6):763-74.
- [21] Hattori M, Inui K, Yoshino J, Miyoshi H, Okushima K, Nakamura Y, et al. [Usefulness of contrast-enhanced ultrasonography in the differential diagnosis of polypoid gallbladder lesions]. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi.* 2007;104(6):790-8.
- [22] Xie XH, Xu HX, Xie XY, Lu MD, Kuang M, Xu ZF, et al. Differential diagnosis between benign and malignant gallbladder diseases with real-time contrast-enhanced ultrasound. *Eur Radiol.* 2010;20(1):239-48.
- [23] Sparchez Z, Radu P. Role of CEUS in the diagnosis of gallbladder disease. *Med Ultrason.* 2012;14(4):326-30.
- [24] Bargellini P, Orlandi R, Paloni C, Rubini G, Fonti P, Peterson ME, et al. Evaluation of Contrast-Enhanced Ultrasonography as a Method for Detecting Gallbladder Necrosis or Rupture in Dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 2016;57(6):611-20.
- [25] Bonatti M, Vezzali N, Lombardo F, et al. Gallbladder adenomyomatosis: Imaging findings, tricks and pitfalls. *Insights into Imaging.* 2017;8(2):243-53.
- [26] Kim MJ, Oh YT, Park YN, et al. Gallbladder adenomyomatosis: Findings on MRI. *Abdom Imaging.* 1999;24:410-13.
- [27] Haradome H, Ichikawa T, Sou H, et al. The pearl necklace sign: an imaging sign of adenomyomatosis of the gallbladder at MR cholangiopancreatography. *Radiology.* 2003;227(1):80-8. Epub 2003 Feb 11.

8. Paper II

Original Article

Thieme

Single-Center Study: Evaluating the Diagnostic Performance and Safety of Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) in Pregnant Women to Assess Hepatic Lesions

Single-Center-Studie: Evaluation der diagnostischen Leistung und Sicherheit des kontrastverstärkten Ultraschalls (CEUS) zur Beurteilung von Leberläsionen in der Schwangerschaft

Authors

Vincent Schwarze, Constantin Marschner, Giovanna Negrão de Figueiredo, Johannes Rübenthaler*, Dirk-André Clevert*

Affiliation

Department of Radiology, Ludwig-Maximilians-University of Munich – Großhadern Campus, Munich, Germany

Key words

pregnancy, placenta, fetus, liver, CEUS

received 21.03.2019

accepted 28.06.2019

Bibliography

DOI <https://doi.org/10.1055/a-0973-8517>

Published online: 2019

Ultraschall in Med

© Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart · New York

ISSN 0172-4614

Correspondence

Dr. Vincent Schwarze

Klinik und Poliklinik für Radiologie – Klinikum der Universität München – LMU, Marchioninistraße 15, 81377 München, Germany

Tel.: ++ 49/89/4 40 07 36 02

vincentschwarze@gmx.de

ABSTRACT

Background Ultrasound is an essential imaging tool for evaluating physiological and pathological fetal or maternal conditions during pregnancy. Published data is limited with respect to the application of CEUS during pregnancy. CEUS has already been safely applied for assessing uteroplacental blood flow, cesarean scar pregnancy and invasive placenta percreta. CT and MRI scans during pregnancy must be thoroughly evaluated due to harmful ionizing radiation and cerebral gadolinium deposition, respectively.

Purpose The aim of the present retrospective single-center study is to assess the diagnostic performance and safety of CEUS during pregnancy to evaluate hepatic lesions of unknown entity.

Methods 6 pregnant patients who underwent CEUS between 2005 and 2014 (mean age: 32 years; mean weeks of pregnancy: 28 weeks) were included in this study. The applied contrast agent was a second-generation blood-pool agent (SonoVue®, Bracco, Milan, Italy). CEUS examinations were performed and interpreted by a single radiologist with experience since 2000 (EFSUMB Level 3).

Results CEUS was safely performed on all included pregnant women without the occurrence of adverse fetal or maternal events. In the context of the present study, CEUS helped to safely differentiate hepatic metastases, focal nodular hyperplasia, atypical hemangioma, hepatic arteriovenous malformation and cystic echinococcosis. In two patients CEUS determined immediate therapy.

Conclusion Although not clinically approved in obstetrics so far, CEUS is a safe imaging modality which, in addition to B-mode and color Doppler ultrasonography, may be applied during pregnancy for further medical indications and to provide helpful information.

ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund Ultraschall ist ein unentbehrliches bildgebendes Verfahren, um den physiologischen und pathologischen Zustand bei Mutter und Fötus in der Schwangerschaft zu beurteilen. Die Publikationen bezüglich des Einsatzes von CEUS in der Schwangerschaft sind begrenzt. Eine sichere Anwendung von CEUS erfolgte bereits, um den uteroplazentaren Blutfluss, die „Cesarean Scar Pregnancy“ und die invasive Plazenta percreta zu beurteilen. CT- und MRT-Aufnahmen in der Schwangerschaft müssen aufgrund der schädlichen ionisierenden Strahlung und wegen der Anreicherung von Gadolinium im Gehirn sorgfältig abgeschätzt werden.

Ziel Ziel dieser retrospektiven Single-Center-Studie ist die Bewertung der diagnostischen Leistung und Sicherheit von CEUS in der Schwangerschaft im Hinblick auf die Beurteilung von Leberläsionen unbekannter Entität.

Methoden In diese Studie wurden 6 Schwangere (Durchschnittsalter: 32 Jahre; mittlere SSW: 28 Wochen), bei denen von 2005 bis 2014 CEUS durchgeführt wurde, eingeschlossen. Das verabreichte Kontrastmittel war ein Blutpool-Kontrastmit-

* Co-Letztautorenschaft.

tel der zweiten Generation (SonoVue®, Bracco, Mailand, Italien). Die CEUS-Untersuchungen wurden von einem seit dem Jahr 2000 erfahrenen Radiologen (EFSUMB Level 3) durchgeführt und interpretiert.

Ergebnisse CEUS wurde bei allen schwangeren Frauen sicher durchgeführt, ohne dass unerwünschte fetale oder maternale Nebenwirkungen auftraten. Im Rahmen der vorliegenden Studie diente CEUS der sicheren Differenzierung von Lebermetastasen, fokaler nodulärer Hyperplasie, atypischem Hä-

mangiom, arteriovenöser Malformation und zystischer Echinokokkose. Bei 2 Patientinnen bewirkte CEUS eine sofortige Therapie.

Schlussfolgerung Obwohl CEUS in der Geburtshilfe bisher nicht klinisch zugelassen ist, handelt es sich um eine sichere Bildgebungsmethode, die in der Schwangerschaft bei weiteren medizinischen Indikationen zusätzlich zur nativen B-Mode Sonographie und Farbdoppler-Sonographie nützliche Informationen liefern kann.

Introduction

Ultrasound is without doubt the most frequently used diagnostic tool in obstetrics. The American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) states advantages of obstetrical ultrasound within the framework of its published guidelines: specification of gestational age, number of fetuses, fetal viability, fetal malformations, location of the placenta, fetal growth retardation [1, 2].

Sonographic examination is safe for the fetus provided that there is a critical medical indication and the safety instructions are followed. In line with the ALARA principle (as low as reasonably achievable), the insonation settings and time should be kept as low as possible. No correlation between obstetrical ultrasound reduced birthweight, childhood neoplasms and neurological disorders could be registered [3].

To date, there is no official approval of contrast-enhanced ultrasound during pregnancy, e.g. by the World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology (WFUMB), the European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology (EFSUMB) [4] or the International Society of Ultrasound in Obstetrics & Gynecology (ISUOG). Published data on CEUS during pregnancy is sparse. So far, the safe use of CEUS for assessing uteroplacental blood flow, cesarean scar pregnancy and invasive placenta percreta has already been reported [5–7]. The intention of the present retrospective study is to evaluate the diagnostic performance and safety of CEUS in pregnant patients with unknown hepatic lesions.

Materials and Methods

This retrospective single-center study was approved by the local institutional ethics committee of the institutional review board and all contributing authors followed the ethical guidelines for publication in *Ultraschall in der Medizin*. All study data were gathered according to the principles expressed in the Declaration of Helsinki/Edinburgh 2002. Oral and written informed consent of all pregnant patients was given at least 24 hours before elective CEUS examination and the associated risks and potential complications including not yet described adverse fetal effects were carefully described. All CEUS examinations were performed and analyzed by a single skilled radiologist with experience since 2000. All included patients underwent native B-mode, color Doppler and CEUS scans. Up-to-date high-end ultrasound systems with adequate CEUS protocols were utilized (GE Healthcare LOGIQ

L9, Chicago, Illinois, USA; Siemens Ultrasound Sequoia, ACUSON Sequoia, Mountain View, California, USA; Philips Ultrasound iU22, EPIQ 7, Seattle, Washington, USA). A low mechanical index was used to avoid early destruction of microbubbles (<0.2). Native B-mode examination to assess fetal status was performed and documented before CEUS. For all CEUS examinations, the second-generation blood pool contrast agent SonoVue® (Bracco, Milan, Italy) was used [8]. 1.5–2.4 ml of SonoVue® were applied. It is a purely intravascular contrast agent that does not diffuse into the interstitial space, thus allowing for dynamic assessment of microcirculation. After the contrast agent was applied, a bolus of 5–10 ml sterile 0.9 % sodium chloride solution was given. No adverse side effects (maternal and fetal) upon administration of SonoVue® were registered. All CEUS examinations were successfully performed and image quality was sufficient in every case. The patient files and imaging records were collected from the archiving system of our institution.

A total of 6 pregnant patients who underwent CEUS between 2005–2014 were included in this retrospective single-center study. The mean age of the patients at the time of CEUS examination was 32 years (range: 25–34 years). The mean gestational age at the time CEUS was performed was 28 weeks (range: 12–35 weeks).

Results

CEUS examinations were performed on all 6 included patients (average age: 32 years, average weeks of pregnancy: 28 weeks) without occurrence of any adverse effects (maternal and fetal). In every patient a volume of 1.5–2.4 ml of SonoVue® was applied intravenously. The image quality was sufficient in all cases (► **Table 1**).

A 25-year old female at 24 gestational weeks (pat. #1) presented with rectal bleeding and unknown hepatic lesions. Native B-mode revealed a hyperechoic lesion measuring 4.2 cm in liver segment VI (► **Fig. 1a**) and a hyperechoic lesion measuring 1.0 cm in liver segment VIII (not shown) without detection of hypervascularization in Doppler mode (► **Fig. 1b**). After i.v. application of SonoVue®, rapid contrast uptake of both lesions in the arterial phase was registered with subsequent washout in the delayed venous phase (► **Fig. 1c**). A corresponding MRI scan of the liver showed T1-hypointense and T2-hyperintense hepatic lesions, strengthening the suspicion of malignancy (not shown). The MRI scan revealed an underlying circumferentially stenosing tumor of the rectosigmoidal area (► **Fig. 1d, e**). The morphological findings

► **Table 1** Morphological appearance of hepatic lesions on CEUS and MRI in six pregnant women; y = years; w = weeks.

Pat.	Age (y)	Pregnancy (w)	Disease/condition	CEUS	MRI
#1	25	24	Hepatic metastases, rectal cancer	Hepatic lesions (SVI,VIII): B-mode: hyperechoic; Doppler: no hypervascularization; CEUS: contrast-enhancing, washout	Hepatic lesions: T1-hypointense, T2-hyperintense
#2	35	19	Hepatic atypical hemangioma	B-mode: hyperechoic; Doppler: hypervascularization; CEUS: rapid contrast uptake, center non-enhancing;	Hepatic mass: predominantly T2-hyperintense
#3	33	15	Focal nodular hyperplasia (FNH)	B-mode: Hepatic hyperechoic lesions; Doppler: hypervascularization; CEUS: central-to-peripheral contrast enhancement	Hepatic lesions in SII/III and V: T1-hypointense; T2-hyperintense
#4	34	12	Hepatic cystic echinococcosis [9]	B-mode: hepatic hypoechoic lesion; Doppler: no hypervascularization; CEUS: no contrast enhancement	Hepatic lesion in SI/II predominantly T2-hyperintense, with T2-hypointense membranous material
#5	34	33	Hepatic arteriovenous malformation	B-mode: anechoic intrahepatic lesion; Doppler: hypervascularization; CEUS: rapid contrast uptake	T2-hyperintense MRI correlate
#6	29	35	Hepatic metastases; acinus cell carcinoma of the pancreas	B-mode: multiple hyperechoic intrahepatic lesions; Doppler: no hypervascularization; CEUS: rapid contrast enhancement; washout	Disseminated hepatic lesions: T1-hypointense; T2-hyperintense; marginal contrast enhancement; washout

from CEUS and MRI were compatible with histopathologically confirmed hepatic metastases of rectal cancer. Cesarean section was performed at 32 gestational weeks.

A 35-year old pregnant woman at 19 gestational weeks (pat. #2) presented with an externally registered unknown hepatic mass in the right lobe. Native B-mode showed a 9 × 6 cm lobulated hyperechoic mass in the right liver lobe (► Fig. 2a) with hypervascularization in Doppler mode (► Fig. 2b). CEUS revealed rapid nodular contrast uptake in the periphery with partial non-enhancing areas in the arterial phase without washout in the delayed phase (► Fig. 2c–e). Focal nodular hyperplasia (FNH) and atypical hemangioma were possible differential diagnoses. The corresponding MRI revealed a lobulated inhomogeneous mass measuring 8.5 × 6.5 cm and affecting liver segments V–VIII with expansive growth, predominantly T2-hyperintense (► Fig. 2f, g). Four months later, progressive intralesional hemorrhages were registered and prompted an immediate cesarean section at 35 weeks of pregnancy. Two days later the patient underwent a right hemihepatectomy. Histopathology revealed underlying atypical hemangioma.

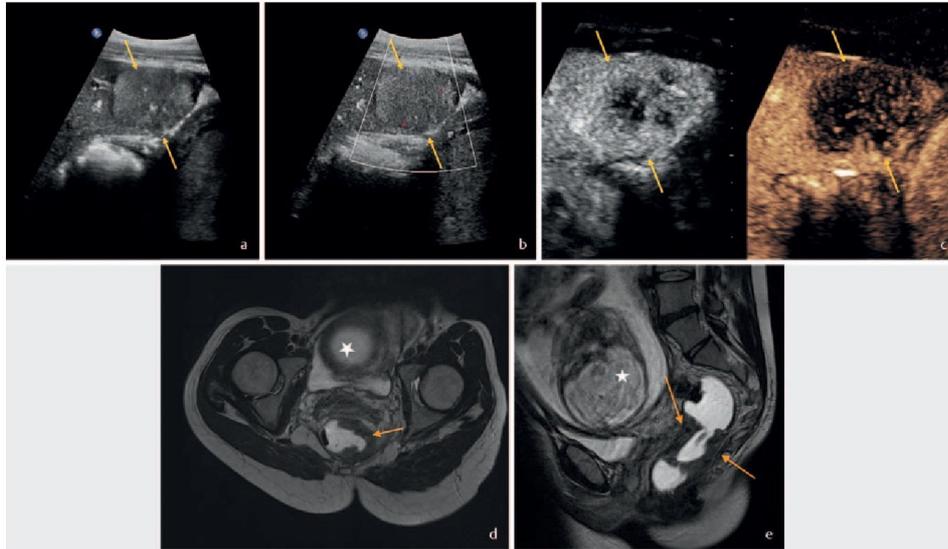
A pregnant woman 33 years of age and at 15 gestational weeks (pat. #3) complained of recurrent pain within the right upper quadrant. A 2.5 × 2.7 × 1.8 cm hyperechoic lesion in liver segments II/III (not shown) and a 2.8 × 2.9 cm hyperechoic lesion in liver segment V were registered in native B-mode (► Fig. 3a). Both lesions showed hypervascularization in Doppler mode (► Fig. 3b). CEUS revealed central-to-peripheral contrast enhancement with no washout in the delayed phase (► Fig. 3c–e).

The corresponding MRI scan revealed T1-hypointense and slightly T2-hyperintense correlates of the hepatic lesions (► Fig. 3f, g). The morphological appearance was consistent with FNH.

A 34-year-old woman presented at 12 gestational weeks (pat. #4) with an unknown liver mass. Native B-mode revealed an intrahepatic hypoechoic lesion measuring 6.4 × 5.5 cm without hypervascularization in Doppler mode. No contrast enhancement of the intrahepatic lesion was registered during CEUS. Corresponding MRI showed a 6.4 × 5.7 cm lesion in liver segment 2, predominantly T2-hyperintense with T2-hypointense membranous material. The morphological results in combination with positive serological testing led to the diagnosis of cystic echinococcosis [9]. After delivery of the healthy child, the patient underwent atypical resection of liver segments I/II. Histopathologically, no vital echinococcal material was found.

Native B-mode ultrasound of a 34-year-old woman at 33 weeks of gestation (pat. #5) showed an anechoic lesion adjacent to a branch of the right hepatic artery (► Fig. 4a) which showed hypervascularization in Doppler mode (► Fig. 4b). CEUS confirmed rapid contrast uptake of the lesion (► Fig. 4c). The corresponding MRI scan confirmed hepatic arteriovenous malformation. ► Fig. 4d depicts the T2-hyperintense MRI correlate measuring 3.0 cm.

A 29-year-old woman at 35 weeks of gestation (pat. #6) complained of fatigue, nausea, loss of weight and pain in the upper abdomen during the last weeks which prompted sonographical examination. In native B-mode multiple hyperechoic intrahepatic lesions without any hypervascularization in Doppler mode were



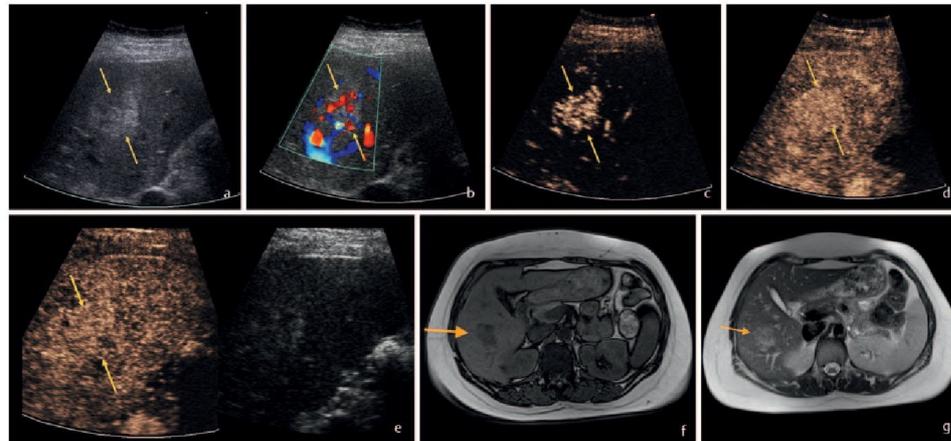
► **Fig. 1** Hepatic metastases by rectal carcinoma, 24 weeks of pregnancy. **a** Hyperechoic lesions in liver segment VI (4.2 cm) in native B-mode. **b** No hypervascularization in Doppler mode. **c** Rapid contrast enhancement in the arterial phase and washout in the delayed phase in CEUS, left and right respectively. **d** Circumferentially stenosing T2-hypointense tumor of the rectosigmoidal region, T2 axial. **e** Circumferentially stenosing T2-hypointense tumor of the rectosigmoidal region, T2 sagittal.



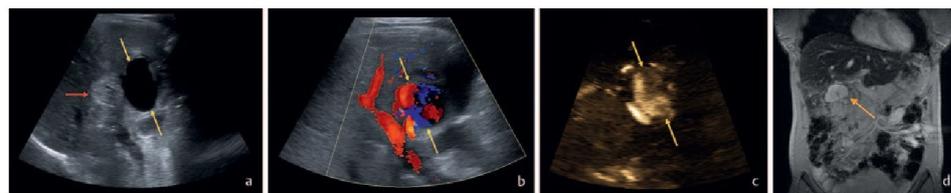
► **Fig. 2** Hepatic atypical hemangioma, 19 weeks of pregnancy. **a** Hyperechoic 9 × 6 cm lobulated mass in the right liver lobe in native B-mode. **b** Hypervascularization in Doppler mode. **c, d** Rapid peripheral contrast enhancement with partial non-enhancing areas in the arterial phase, CEUS. **e** No washout in the delayed phase, CEUS. **f** Predominantly T1-hypointense MRI correlate of the liver lesion involving segments V–VIII. **g** Predominantly T2-hyperintense MRI correlate of the liver lesion involving segments V–VIII.

registered (not shown). Like in pat. #1, the liver lesions showed rapid contrast enhancement and washout in the delayed phase. The corresponding MRI of the liver confirmed the disseminated metastatic liver with predominantly T1-hypointense and T2-hy-

perintense lesions which showed rapid contrast enhancement and venous washout. Moreover, a suspicious mass measuring 4.9 × 2.4 × 6.7 cm in the uncinate process of the pancreas with arterial hypervascularization and venous washout in the late phase



► **Fig. 3** Focal nodular hyperplasia, 15 weeks of pregnancy. **a** Hyperechoic 2.8 × 2.9 cm lesion in liver segment V in native B-mode. **b** Hypervascularization in Doppler mode. **c, d** Central-to-peripheral contrast enhancement, CEUS. **e** No washout in the delayed phase, CEUS. **f** T1-hypointense MRI correlate of the hepatic lesion in segment V. **g** Slightly T2-hyperintense MRI correlate of the hepatic lesion in segment V.



► **Fig. 4** Hepatic arteriovenous malformation, 33 weeks of pregnancy. **a** Anechoic 3.0 cm lesion adjacent to branch of the hepatic artery in native B-mode (yellow arrows). Incidental hepatic hemangioma was registered (red arrow). **b** Hypervascularization in Doppler mode. **c** Rapid contrast enhancement in CEUS. **d** T2-hyperintense MRI correlate, coronal reformation.

was registered. Histopathology confirmed hepatic metastasized acinus cell carcinoma of the pancreas. Spontaneous vaginal delivery occurred at 35 weeks of pregnancy.

Discussion

Without a doubt the use of ultrasound in obstetrics has become indispensable during the past decades. Scientific data considering the application of CEUS during pregnancy is marginal and the deployment of CEUS in obstetrics is still not widespread.

Diagnostic ultrasound has been used for decades in the clinical setting without reported adverse effects to humans. Nevertheless, experimental approaches using in-vitro studies depicted cellular effects due to the exposure to ultrasound waves. The main potential bioeffects comprise mechanical and thermal effects to tissue. Hyperthermia is potentially teratogenic and the fetal central nervous system is especially susceptible to heat damage [10]. It could be shown that maternal hyperthermia can cause placental

infarction and lead to miscarriage [11]. Doppler ultrasound has the biggest potential for inducing thermal effects on tissue [12]. In-vitro studies could show that ultrasound may result in cell lysis, which can increase when contrast agents are added [13]. In-vivo the latter effect is limited by the amniotic fluid that surrounds the fetus. In the case of a febrile condition, Doppler sonography should be applied cautiously due to the additional thermal effects on the fetus [14].

In an early study in 2000, contrast-enhanced ultrasound using Levovist® (SH U 508A) already helped to delineate interfetal transfusion [15]. Moreover, in the diagnostic evaluation of cesarean scar pregnancies, CEUS performed significantly better than conventional sonography [7].

In an experimental approach using a rat model, CEUS allowed for noninvasive monitoring of uteroplacental perfusion during pregnancy [16]. Moreover microbubbles could not be registered in the umbilical vein or in the fetus upon i.v. application of contrast, implying that the microbubbles do not cross the placental

barrier. By measuring the distribution of the tracer molecules Evans blue and lanthanum in pregnant Sprague Dawley rats in an experimental setting, the impact of CEUS on the permeability of the placental barrier was further assessed. Upon i. v. injection of the tracer molecules, CEUS was performed. Significantly higher amounts of Evans blue could be measured in the placenta than in the fetus and no lanthanum deposition could be registered within the cytotrophoblast, implying that CEUS does not affect the placental barrier in that way that macromolecules larger than albumin might pass it [17]. These findings are in line with our present data. Fetal contrast enhancement was not registered in either of the included patients.

Furthermore, gradually reduced uteroplacental blood flow could be registered up to 6 days after induced feticide in a 38-year-old woman at 28 weeks of gestation due to complex fetal malformation and placenta previa using CEUS [5].

In our retrospective single-center study, off-label CEUS helped to scrutinize and to differentiate benign from malignant hepatic lesions in six pregnant women. It was critical for the subsequent therapy in patient #1 (hepatic metastasizing rectal cancer) and #6 (hepatic metastasizing acinus cell carcinoma of the pancreas). After neoadjuvant radiochemotherapy with 5-fluorouracil (5-FU), cesarean section was performed at 32 weeks of pregnancy in pat. #1. Afterwards the patient underwent right hemihepatectomy and deep anterior rectal resection. Upon spontaneous vaginal delivery of the child, pat. #6 underwent chemotherapy with 5-fluorouracil and oxaliplatin (FOLFOX).

CT scans should be thoroughly thought through during pregnancy because of the ionizing radiation and thus potential carcinogenic and teratogenic effects on the fetus [18]. CEUS is a safe imaging method that provides the correct diagnosis without adverse fetal effects. Besides the high diagnostic value, MRI scans also need a critical medical indication during pregnancy since gadolinium deposition in the globus pallidus and dentate nucleus were recently described [19, 20]. So far, no clinical effects have been reported due to the deposition of gadolinium-based contrast. The application of gadolinium-based contrast agents (GBCAs) during pregnancy is a matter of recent debate since its safe administration has not yet been validated [21]. Upon i. v. administration, GBCAs cross the placenta barrier and enter the circulation of the fetus [22]. To date, the possible long-term effects on the human fetus, including fetal brain tissue, have not been sufficiently elucidated. Of note, impairment of the interplay between thyroid hormones and their receptors by GBCAs was described in an in-vitro approach [23]. Furthermore, cerebral deposition of GBCAs could be registered during postnatal development in a mouse model upon i. v. injection of GBCAs in pregnant mice. Perinatal treatment of GBCAs was associated with neural and motoric dysfunction of the offspring [24]. According to the American College of Radiology (ACR) Committee on Drugs and Contrast Media, GBCAs should only be applied during pregnancy when "potential benefits justify the potential unknown risk to the fetus" [25]. The diagnostic value of CEUS compared to CT/MRI scans for determining the entity of focal liver lesions has already been published in several prior clinical trials [29–32].

In juxtaposition, CEUS is a non-ionizing, cost-effective, easily accessible imaging modality [25–27]. In line with current knowl-

edge, our retrospective study shows that CEUS can be safely applied in pregnant patients when medically indicated without any registered adverse fetal or maternal effects. It is a limited series of patients but represents the largest series to date using CEUS to evaluate focal liver lesions during pregnancy. Despite the known unlikelihood of transplacental vascular spread of the microbubbles, the application of CEUS during pregnancy has not become widespread. Contrast uptake of the fetus could not be observed in either case [9]. CEUS might add pivotal diagnostic value to further medical indications during pregnancy.

Restrictions of the present retrospective single-center study are its limited number of included patients, different entities of hepatic lesions and differing ultrasound systems.

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- [1] American College of O. and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No. 101: Ultrasonography in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2009; 113: 451–461
- [2] Abramowicz JS. Benefits and risks of ultrasound in pregnancy. *Semin Perinatol* 2013; 37: 295–300
- [3] Salvesen KA, Eik-Nes SH. Ultrasound during pregnancy and birthweight, childhood malignancies and neurological development. *Ultrasound Med Biol* 1999; 25: 1025–1031
- [4] Sidhu PS et al. The EFSUMB Guidelines and Recommendations for the Clinical Practice of Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) in Non-Hepatic Applications: Update 2017 (Long Version). *Ultraschall in Med* 2018; 39: e2–e44
- [5] Poret-Bazin H et al. Decrease of uteroplacental blood flow after feticide during second-trimester pregnancy termination with complete placenta previa: quantitative analysis using contrast-enhanced ultrasound imaging. *Placenta* 2013; 34: 1113–1115
- [6] Windrim R et al. Contrast enhanced ultrasound (CEUS) in the prenatal evaluation of suspected invasive placenta praecura. *J Obstet Gynaecol Can* 2016; 38: 975–978
- [7] Xiong X et al. The Value of Contrast-Enhanced Ultrasound in the Diagnosis of Cesarean Scar Pregnancy. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 4762785
- [8] Piscaglia F et al. The safety of SonoVue in abdominal applications: retrospective analysis of 23188 investigations. *Ultrasound Med Biol* 2006; 32: 1369–1375
- [9] Schwarze V et al. SonoVue(R) Does Not Appear to Cross the Placenta as Observed During an Examination Aimed at Confirming a Diagnosis of Liver Echinococcosis in a Pregnant Woman. *Ultraschall in Med* 2019. doi:10.1055/a-0837-0791. [Epub ahead of print]
- [10] Barnett SB et al. Current status of research on biophysical effects of ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 1994; 20: 205–218
- [11] Graham JM Jr, Edwards MJ. Teratogen update: gestational effects of maternal hyperthermia due to febrile illnesses and resultant patterns of defects in humans. *Teratology* 1998; 58: 209–221
- [12] Abramowicz JS. Ultrasound in obstetrics and gynecology: is this hot technology too hot? *J Ultrasound Med* 2002; 21 (12): 1327–1333
- [13] Miller MW et al. Comparative sensitivity of human fetal and adult erythrocytes to hemolysis by pulsed 1 MHz ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2001; 27: 419–425
- [14] Abramowicz JS et al. Fetal thermal effects of diagnostic ultrasound. *J Ultrasound Med* 2008; 27: 541–559, quiz 560–563

- [15] Denbow ML et al. Twin fetuses: intravascular microbubble US contrast agent administration—early experience. *Radiology* 2000; 214: 724–728
- [16] Arthuis CJ et al. New insights into uteroplacental perfusion: quantitative analysis using Doppler and contrast-enhanced ultrasound imaging. *Placenta* 2013; 34: 424–431
- [17] Hua X et al. Effects of diagnostic contrast-enhanced ultrasound on permeability of placental barrier: a primary study. *Placenta* 2009; 30: 780–784
- [18] Williams PM, Fletcher S. Health effects of prenatal radiation exposure. *Am Fam Physician* 2010; 82: 488–493
- [19] Bulas D, Eglhoff A. Benefits and risks of MRI in pregnancy. *Semin Perinatol* 2013; 37: 301–304
- [20] Gulani V et al. Gadolinium deposition in the brain: summary of evidence and recommendations. *Lancet Neurol* 2017; 16: 564–570
- [21] Plunk MR, Chapman T. The fundamentals of fetal MR imaging: Part 1. *Curr Probl Diagn Radiol* 2014; 43: 331–346
- [22] Prola-Netto J et al. Gadolinium Chelate Safety in Pregnancy: Barely Detectable Gadolinium Levels in the Juvenile Nonhuman Primate after in Utero Exposure. *Radiology* 2018; 286: 122–128
- [23] Ariyani W et al. Effects of Gadolinium-Based Contrast Agents on Thyroid Hormone Receptor Action and Thyroid Hormone-Induced Cerebellar Purkinje Cell Morphogenesis. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2016; 7: 115
- [24] Khairinisa MA et al. The Effect of Perinatal Gadolinium-Based Contrast Agents on Adult Mice Behavior. *Invest Radiol* 2018; 53: 110–118
- [25] ACR Committee on Drugs and Contrast Media. *ACR Manual On Contrast Media, Version 10.3*. 2018 https://www.acr.org/-/media/ACR/Files/ClinicalResources/Contrast_Media.pdf
- [26] Mueller-Peltzer K et al. The diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) as a new technique for imaging of vascular complications in renal transplants compared to standard imaging modalities. *Clin Hemorheol Microcirc* 2017; 67: 407–413
- [27] Negro de Figueiredo G et al. Diagnostic performance of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the evaluation of gallbladder diseases1. *Clin Hemorheol Microcirc* 2018; 69: 83–91
- [28] Rubenthaler J et al. Evaluation of renal lesions using contrast-enhanced ultrasound (CEUS); a 10-year retrospective European single-centre analysis. *Eur Radiol* 2018; 28: 4542–4549. doi: 10.1007/s00330-018-5504-1. Epub 2018 May 9
- [29] Seitz K et al. Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) for the characterization of focal liver lesions – prospective comparison in clinical practice: CEUS vs. CT (DEGUM multicenter trial). Parts of this manuscript were presented at the Ultrasound Dreiländertreffen 2008, Davos. *Ultraschall in Med* 2009; 30: 383–389
- [30] Seitz K et al. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the characterization of focal liver lesions in clinical practice (DEGUM Multicenter Trial): CEUS vs. MRI – a prospective comparison in 269 patients. *Ultraschall in Med* 2010; 31: 492–499
- [31] Bernatik T et al. Unclear focal liver lesions in contrast-enhanced ultrasonography—lessons to be learned from the DEGUM multicenter study for the characterization of liver tumors. *Ultraschall in Med* 2010; 31: 577–581
- [32] Strobel D et al. Contrast-enhanced ultrasound for the characterization of focal liver lesions—diagnostic accuracy in clinical practice (DEGUM multicenter trial). *Ultraschall in Med* 2008; 29: 499–505

9. Literaturverzeichnis

1. Bauer A, Solbiati L, Weissman N. Ultrasound imaging with SonoVue: low mechanical index real-time imaging. *Acad Radiol.* 2002;9 Suppl 2:S282–4.
2. Greis C. Technology overview: SonoVue (Bracco, Milan). *Eur Radiol.* 2004;14 Suppl 8:P11–5.
3. Greis C. Technical aspects of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) examinations: tips and tricks. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2014;58(1):89–95.
4. Clevert DA, D’Anastasi M, Jung EM. Contrast-enhanced ultrasound and microcirculation: efficiency through dynamics – current developments. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2013;53(1–2):171–86.
5. Badea R, Zaro R, Opincariu I, Chiorean L. Ultrasound in the examination of the gallbladder – a holistic approach: grey scale, Doppler, CEUS, elastography, and 3D. *Med Ultrason.* 2014;16(4):345–55.
6. Negrão de Figueiredo G, Müller-Peltzer K, Schwarze V, Rübenthaler J, Clevert DA. Ultrasound and contrast enhanced ultrasound imaging in the diagnosis of acute aortic pathologies. *Vasa.* 2019;48(1):17–22.
7. Negrão de Figueiredo G, Müller-Peltzer K, Rübenthaler J, Clevert DA. [CEUS – diagnosis of malignant liver lesions]. *Radiologe.* 2018;58(6):528–37.
8. Müller-Peltzer K, Rübenthaler J, Negrão de Figueiredo G, Clevert DA. [CEUS – diagnosis of benign liver lesions]. *Radiologe.* 2018;58(6):521–27.
9. Sparchez Z, Radu P. Role of CEUS in the diagnosis of gallbladder disease. *Med Ultrason.* 2012;14(4):326–30.
10. Negrão de Figueiredo G, Müller-Peltzer K, Zengel P, Armbruster M, Rübenthaler J, Clevert DA. Diagnostic performance of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the evaluation of gallbladder diseases. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;69(1–2):83–91.
11. Negrão de Figueiredo G, Müller-Peltzer K, Armbruster M, Rübenthaler J, Clevert DA. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the evaluation of gallbladder diseases in comparison to cross-sectional imaging modalities and histopathological results. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(2):141–9.
12. Negrão de Figueiredo G, Müller-Peltzer K, Zengel P, Armbruster M, Rübenthaler J, Clevert DA. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) and gallbladder diseases – a retrospective mono-center analysis of imaging findings with histopathological correlation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(2):151–8.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Johannes Rübenthaler für seine großartige Unterstützung sowie für die erfolgreiche wissenschaftliche Zusammenarbeit.

Ich möchte mich ebenso bei Herrn Prof. Dr. Dirk-André Clevert für die uneingeschränkte Unterstützung meiner Forschung bedanken.

Weiterhin möchte ich mich bei der Forschungsgruppe der Klinik und Poliklinik für Radiologie der LMU für die hervorragende Zusammenarbeit bedanken.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie und meinem Ehemann, Dr. Benjamin Miller, für die immerwährende Geduld und Unterstützung in all den Jahren.