

Aus der Klinik und Poliklinik für Radiologie – Interdisziplinäres Ultraschallzentrum  
Klinik der Universität München

Vorstand:  
Prof. Dr. med. Dr. h. c. Dirk-André Clevert

***The role of contrast enhanced Sonography in the diagnostic of focal liver lesions***  
—  
***Quantification of perfusion parameters and assessment of diagnostic performance***

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

vorgelegt von

Sonja Schwarz

aus Gräfelfing

2023

---

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. h. c. Dirk Clevert

Mitberichterstatter: PD Dr. Minglun Li  
Prof. Alexander Gerbes  
PD Dr. Tobias Jakobs

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Dr. Marco Armbruster

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 04.05.2023

## Affidavit



### Eidesstattliche Versicherung

Sonja Schwarz

Name, Vorname

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

***The role of contrast enhanced Sonography in the diagnostic of focal liver lesions - Quantification of perfusion parameters and assessment of diagnostic performance***

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.

Marktobersdorf, 03.07.2023

Ort, Datum

Sonja Schwarz

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

# Inhaltsverzeichnis

<b>Affidavit .....</b>	<b>3</b>
<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>4</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>6</b>
<b>Publikationsliste.....</b>	<b>7</b>
<b>Ihr Beitrag zu den Veröffentlichungen .....</b>	<b>8</b>
1. Beitrag zu Paper I .....	8
2. Beitrag zu Paper II .....	10
<b>2. Einleitung.....</b>	<b>12</b>
2.1 Forschungsziel .....	12
2.2 Grundlagen zu Tumoren der Leber, typische Ultraschallbefunde und Kontrastmittelverhalten .....	12
2.2.1 Benigne Tumoren .....	12
2.2.2 Maligne Tumoren .....	14
2.3 Bedeutung des kontrastmittelverstärkten Ultraschalls in Bezug auf Leberherde im klinischen Alltag .....	17
2.3.1 CEUS zur Detektion von HCC .....	17
2.3.2 CEUS zur Detektion von Lebermetastasen .....	19
2.3.3 Einschränkungen .....	19
2.4 Aktueller Stand der Forschung .....	20
2.4.1 Quantitative Charakterisierung verschiedener Tumorentitäten im CEUS .....	20
2.4.2 Computerassistierte Diagnosefindung im CEUS .....	22
2.5 Forschungsfragen und Hypothesen.....	23
<b>3. Zusammenfassung: .....</b>	<b>24</b>
3.1 Zielsetzung.....	24
3.2 Methoden .....	24
3.3 Ergebnisse .....	25
3.4 Fazit .....	26
<b>4. Abstract (English): .....</b>	<b>27</b>
4.1 Quantitative Analysis of the Time–Intensity Curve of Contrast-Enhanced Ultrasound of the Liver: Differentiation of Benign and Malignant Liver Lesions.....	27



---

4.2	Diagnostic Value of CEUS Prompting Liver Biopsy: Histopathological Correlation of Hepatic Lesions with Ambiguous Imaging Characteristics .....	28
5.	<b>Paper I: Quantitative Analysis of the Time–Intensity Curve of Contrast-Enhanced Ultrasound of the Liver: Differentiation of Benign and Malignant Liver Lesions .....</b>	<b>29</b>
6.	<b>Paper II: Diagnostic Value of CEUS Prompting Liver Biopsy: Histopathological Correlation of Hepatic Lesions with Ambiguous Imaging Characteristics .....</b>	<b>42</b>
7.	Literaturverzeichnis .....	56
	Danksagung .....	58

## Abkürzungsverzeichnis

AFP	Alpha-Fetoprotein
ALD	alcoholic liver disease
AUC	Area under the curve
BCLC	Barcelona Clinic Liver Cancer Classification
CCC	Cholangiocellular carcinoma / Cholangiozelluläres Karzinom
CEUS	Contrast-enhanced ultrasound / Kontrastmittelgestützter Ultraschall
CT	Computertomographie
DEGUM	Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin
EASL	European Association for the Study of the Liver
EFSUMB	European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology
FLL	Focal liver lesions / fokale Leberläsion
FNH	Focal nodular hyperplasia / fokale noduläre Hyperplasie
HCC	Hepatocellular carcinoma / Hepatozelluläres Karzinom
LR+/-	Positive / negative Likelihoodratio
LI-RADS	Liver Imaging Reporting and Data System
LPR	Late phase ratio
MRT/MRI	Magnetresonanztomographie / magnetic resonance imaging
NAFLD	non-alcoholic fatty liver disease
NASH	nichtalkoholische Steatohepatitis
PACS	picture archiving and communication system
PE	Peak enhancement
REF	Reference region
ROC	Receiver operator characteristics
ROI	Region of interest
RT	Rise time
SD	Standard deviation / Standardabweichung
TTP	Time to peak
WFUMB	World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology

## Publikationsliste

### Paper I

Sonja Schwarz\*, Dirk-André Clevert\*, Michael Ingrisich, Thomas Geyer, Vincent Schwarze, Johannes Rübenthaler and Marco Armbruster:

**Quantitative Analysis of the Time–Intensity Curve of Contrast-Enhanced Ultrasound of the Liver: Differentiation of Benign and Malignant Liver Lesions.**

Diagnostics 2021; 11(7): 1244

\* The authors contributed equally to the work

### Paper II

Thomas Geyer, Dirk-André Clevert, Sonja Schwarz, Paul Reidler, Sebastian Gassenmaier, Thomas Knösel, Johannes Rübenthaler, Vincent Schwarze and Marco Armbruster:

**Diagnostic Value of CEUS Prompting Liver Biopsy: Histopathological Correlation of Hepatic Lesions with Ambiguous Imaging Characteristics.**

Diagnostics 2021; 11(1): 35

# Ihr Beitrag zu den Veröffentlichungen

## 1. Beitrag zu Paper I

### *The role of perfusion quantification in CEUS to differentiate benign and malignant liver lesions*

Meine Arbeit zur Quantifizierung von Perfusionsparametern im kontrastgestützten Ultraschall (CEUS) an Lebertumoren basiert auf archivierte CEUS DICOM® Clips von März 2008- September 2018. In diesem Zeitraum untersuchte Prof. Dr. med. Dirk Clevert viele Patienten mit Lebertumoren mit Hilfe von kontrastmittelgestützter Sonographie. Die Untersuchungen hatten durchgehend eine klinische Indikation, im Sinne von Screening, Verlaufskontrolle und Diagnosestellung. Die aufgenommenen Datensätze von arterieller und portalvenöser Phase, sowie Spätphase der Kontrastmittelanflutung, außerdem B-Bild und häufig auch Doppler-Signal wurden archiviert. Auch der weitere Verlauf der klinischen Fälle, insbesondere die Evaluation der Leberherde durch histopathologische Untersuchung oder weitere Bildgebung, wurde gesammelt, war aber auch im Detail für mich über die klinischen Datenbanken einsichtig. Meine Arbeit begann 2018 mit einer ausführlichen Literaturrecherche zu kontrastmittelgestütztem Ultraschall an Leberläsionen im Allgemeinen und im Besonderen zur Quantifizierung von Parametern in diesem Bereich. Es folgte die Sichtung der Datensätze verschiedener Leberherde, und deren Gruppierung entsprechend der evaluierten Entitäten. Die akquirierten Daten prozessierte ich dann in mehreren Durchgängen mit Hilfe von VueBox™ (Bracco, Suisse SA). Diese Software zur Berechnung der Perfusionsparameter erstellt gefittete Zeit-Intensitätskurven über per Hand ausgewählten Regionen der Bild- bzw. Videodateien. Ich legte für jede Leberläsion eine Region of Interest (ROI) sowie eine Referenzfläche (REF) fest und quantifizierte die Parameter der Kontrastmittelanflutung über diesen Arealen. Bei diesem Prozess kamen unterschiedliche Problematiken auf, für die ich in Zusammenarbeit mit Dr. Marco Armbruster und Prof. Michael Ingrisch Lösungen erarbeitete. Für jedes unterschiedliche Ultraschallgerät war beispielsweise ein individueller Kalibrierungsfile nötig um eine etwaige Vergleichbarkeit der Signalintensität zu erreichen. Für den an sich sehr schönen Aufnahmemodus mit unterlegtem B-Bild gab es leider keine Kalibrierungsmöglichkeit, die das B-Bild subtrahiert hätte, sodass diese Untersuchungen, trotz augenscheinlich toller Bilder ausgeschlossen werden mussten. Bewegungsartefakte konnten teilweise mit der „Motion correction“ des Programmes ausgeglichen werden, sodass die eingezeichnete ROI nicht aus dem Bereich des Tumors heraus rutschte. Teilweise konnten sie aber nicht korrekt erkannt werden, sodass einzelne Bilder, in denen die ROI vorübergehend falsch lag, von Hand aus den Sequenzen ausgeschlossen werden mussten, oder es sogar zum Ausschluss des gesamten Falles kam. Ursprünglich war geplant, wo immer möglich, mehrere Videosequenzen der verschiedenen Phasen, unter Berücksichtigung der Pausenzeiten dazwischen, zusammenzufügen. Dabei ließ sich aber die ROI nicht pro Sequenz einzeln festlegen,

sodass sie oft in der Aufnahme der portalvenösen Phase neben der Läsion zu liegen kam. In anderen Fällen erschienen Artefakte bei der Berechnung der Zeit-Intensitäts-Kurve durch das Zusammenfügen der DICOM-Dateien. So musste ich nach langen Versuchen dieser Artefakte Herr zu werden auf die Auswertung des Kontrastmittelabfalles per Zeit-Intensitätskurve verzichten und entschied mich Sequenzen nur dort zusammenzufügen, wo kein Peak, und damit eine Berechnung über der Anflutungsphase in der arteriellen Videosequenz erreicht wurde. So erhielt ich zuletzt solide, gefittete Ergebnisse zum Kontrastmittelverhalten bis zur maximalen Anreicherung: Rise Time (RT), Time to peak und lokale mean transit Time, als reine Zeitparameter, Peak enhancement (PE) als Intensitätsparameter und Wash in Area under the curve, Wash in Rate und Wash in Perfusion Index, als kombinierte Zeit-Intensitätsparameter. Da trotz Kalibrierung die absolute Intensität der Kontrastmittelanreicherung starken Schwankungen unterlag, bildete ich als zusätzlichen Parameter das relative Peak Enhancement, indem ich zum Zeitpunkt des Peak enhancements der gefitteten Kurve den Rohdaten den Intensitätswert [a.u.] der ROI und der REF extrahierte und den entsprechenden Quotienten (ROI/REF) bildete. Um aber trotz der Schwierigkeit beim Zusammenführen der DICOM-Dateien eine quantitative Aussage über die Spätphase machen zu können, entwickelte ich einen Quotienten (ROI/REF) über die gemessenen Signalintensitäten [a.u.] und bezeichnete diesen als Late Phase Ratio (LPR). Diese gibt die Stärke des Wash-outs oder der Kontrastmittelanreicherung in Relation zum Umgebungsgewebe zum spätesten verfügbaren Zeitpunkt an. Alle sieben automatisch generierten Parameter, sowie die beiden Quotienten wertete ich mit MS Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) und Stata-IC15 (StataCorp LLC, TX, USA) aus, indem ich im Rahmen einer deskriptiven Statistik Mittelwerte, Standardabweichungen, Minimum, Maximum und Median ermittelte.

Für bestimmte Fragestellungen verglich ich Einzelentitäten oder übergeordnete Gruppe mittels Student's t-test und prüfte die Unterschiedlichkeit in Bezug auf ausgewählte Parameter auf Signifikanz (Signifikanzniveau 95%;  $p < 0,05$ ). In meinem ersten Paper untersuchte ich so RT und LPR zur Unterscheidung von benignen und malignen Tumoren in zusammengefassten Gruppen und nochmals explizit den Unterschied zwischen Hämangiomen und malignen Tumoren.

Weiterhin erstellte ich Receiver Operator Characteristics (ROC) zur Qualitätseinschätzung der ausgewählten Parameter (RT und LPR) und berechnete die zugehörigen Area under the curve (AUC). Durch eine logistische Regressionsanalyse führte ich die Aussagekraft von RT und LPR für die jeweilige Fragestellung (benigne vs. maligne FFL, bzw. Hämangiom vs. Malignom) zusammen und beurteilte sie in der gemeinsamen Betrachtung wiederum durch die AUC nach ROC. Im Reviewprozess (Diagnostics) extrahierte die exakte Formel der verwendeten logistischen Regression, legte sinnvolle Cut-offs für RT und LPR fest und ermittelte für diese Sensitivitäten, Spezifitäten, positive und negative Likelihoodratio (LR+/-) und diagnostische Genauigkeit.

Aus der anfänglichen Literaturrecherche, der Beschreibung der Methodik und der Ergebnisse dieser Arbeit verfasste ich das untenstehende Paper und reichte es nach sprachlicher und rhetorischer Korrektur von verschiedenen Seiten bei Ultrasound in Medicine ein und dem European

Journal of Radiology ein. Auch wenn das Paper hier nicht angenommen werden konnte, arbeitete ich nachfolgend die jeweilige konstruktive Kritik der Reviewer mit ein. Nach Ergänzung der oben beschriebenen zusätzlichen statischen und mathematischen Punkten und einigen weiteren formalen Verbesserungen im Reviewprozess von Diagnostics wurde die Arbeit dort angenommen und publiziert.

Da die Durchführung und Archivierung der Ultraschalluntersuchungen von 2008-2018 einen wichtigen Teil dieser Arbeit darstellt, der nur von Prof. Clevert (EFSUMB Level 3) durchgeführt werden konnte und die Initiative zur Verwendung der Daten für diese Studie von ihm ausging, teilen wir uns die Erstautorenschaft.

## 2. Beitrag zu Paper II

### ***Diagnostic Value of CEUS Prompting Liver Biopsy: Histopathological Correlation of Hepatic Lesions with Ambiguous Imaging Characteristics***

Bei dem Artikel "Diagnostic Value of CEUS Prompting Liver Biopsy: Histopathological Correlation of Hepatic Lesions with Ambiguous Imaging Characteristics" habe ich hauptsächlich in der Konzeptionierung, sowie in der Bearbeitung des Manuskripts mitgewirkt.

Zu Beginn meiner Arbeit zur quantitativen Auswertung von CEUS Datensätzen an fokalen Leberherden stand eine ausführliche Literaturrecherche. Dabei beleuchtete ich epidemiologische, klinische und pathologische Aspekte der verschiedenen malignen und benignen Lebertumoren, aktuell geltende Leitlinien, Studien zur herkömmlichen Ultraschalldiagnostik, kontrastmittelgestütztem Ultraschall in der qualitativen Auswertung sowie in der quantitativen Auswerten und die jeweilige Aussagekraft. Insbesondere recherchierte ich Studien, die Parameter der Zeit-Intensitätskurve der Kontrastmittelanflutung in Bezug zu Größe oder Grading der HCC oder in Bezug zu verschiedenen Entitäten im Vergleich betrachten. Für die zukünftige Anwendung sind aber nicht nur korrelierende Parameter, sondern insbesondere ihre Vorhersagekraft von Bedeutung. Nicht nur einzelne Parameter sondern auch eine Kombination, beziehungsweise die Zusammenschau von qualitativen und quantitativen Aspekten sollte in ihrer Validität geprüft werden. Selbstverständlich konnten nicht all das gesammelte Material veröffentlicht werden, es diente aber als Grundlage meiner später auf Deutsch verfassten Einleitung dieser kumulativen Dissertation.

Die englischsprachige Zusammenschau meiner einführenden Recherche, inklusive breitem Literaturverzeichnis, stellte ich dem gesamten Team zur Verfügung, sodass thematisch verwandte Aufsätze davon profitieren könnten. Dieser Prozess erwies sich als wegweisend und trug zur wissenschaftlichen Grundlage beider Paper bei.

Viele der zusammengetragenen Aspekte spiegeln sich in der Einleitung dieses Artikels wieder. Dabei handelt es sich konkret um die Hauptrisikofaktoren des HCC's, die Bedeutung des konventionellen Ultraschalls im Screening, die Bedeutung des CEUS für die Diagnosesicherung des HCC's, die Vorteile des CEUS und insbesondere des verträglichen Kontrastmittels, die

hohe Abhängigkeit von den Fähigkeiten des Untersuchers und die dennoch bestehende Möglichkeit zur Diagnosestellung von HCC bei Leberzirrhose durch CEUS allein. Zehn der recherchierten Quellen konnten beidseits genutzt werden.

Beiden Papern liegt außerdem dasselbe Patientenkollektiv zugrunde, nämlich die gesammelten, archivierten CEUS- Untersuchungen aus über 10 Jahren. Unterschiede im Kollektiv entstehen durch den kleinen zeitlichen Versatz 2005-2016 vs. 2008-2018 und durch die unterschiedlichen Kriterien zum Ein- und Ausschluss. Während das Paper von Thomas Geyer erst alle Patienten der Datenbank einschließt und im zweiten Schritt alle nicht pathologisch gesicherten Tumore ausschließt, setzte ich meine Einschlusskriterien von vornherein enger, da es für die Auswertbarkeit hohe Ansprüche an die Bildqualität gab. Andererseits war eine histologische Sicherung in meinem Fall keine Voraussetzung.

Aufgrund desselben zugrundeliegenden Datensatzes konnte bei den Methoden Beschluss der Ethikkommission, Gerätenamen, Untersuchungstechnik und Untersucher übernommen werden.

Auch während des Reviewprozesses war ich in die Bearbeitung des Skriptes involviert.

## **2. Einleitung**

### **2.1 Forschungsziel**

Kontrastmittelgestützter Ultraschall hat in den letzten Jahren bei der Diagnostik von Leberumherden kontinuierlich an Bedeutung gewonnen. Wie gut bisher die Zuordnung auch unklarer Läsionen gelingt, soll im Vergleich zum pathohistologischen Befund evaluiert werden. Dabei ist insbesondere die Unterscheidbarkeit zwischen gut- und bösartigen Tumoren von Bedeutung. Weiterhin sollen die bekannten qualitativen Phänomene der Kontrastmittelanreicherung durch Quantifizierung des Enhancements über die Zeit untermauert und objektiviert, und neue Parameter zur Charakterisierung und Unterscheidung verschiedener Raumforderungen erforscht werden. Die diagnostische Performance der untersuchten quantitativen Parameter der verschiedenen Kontrastierungsphasen soll einzeln, aber auch in Zusammenschau, beurteilt werden.

### **2.2 Grundlagen zu Tumoren der Leber, typische Ultraschallbefunde und Kontrastmittelverhalten**

Im Folgenden stelle ich eine Auswahl der häufigsten gutartigen und bösartigen Raumforderungen der Leber vor. Es handelt sich um diejenigen Entitäten, deren Untersuchung Fokus meiner Arbeit ist. Jede dieser Tumorcharakteristiken schließt mit der gängigen Beschreibung des Verhaltens der Läsion im kontrastmittelgestützten Ultraschall.

#### **2.2.1 Benigne Tumoren**

Benigne Leberläsionen sind häufig Zufallsbefunde und wichtige Differentialdiagnosen zu malignen Prozessen [1]. Gerade bei Screeninguntersuchungen von Risikopatienten ist zu bedenken, dass gutartige Herde auch in einer vorgeschädigten Leber nebenbefundlich vorkommen können [2]. Unter den benignen Lebertumoren neben der einfachen Zyste führend, und in meiner Arbeit behandelt, sind das Hämangiom, die fokale noduläre Hyperplasie und das Adenom.

##### **2.2.1.1 Zyste**

Leberzysten sind, mit einem Vorkommen von 5,8% im Patientenkollektiv von Kaltenbach, neben den Verfettungsstörungen (6,3%) die häufigsten fokalen Leberläsionen [1]. Sie sind in den meisten Fällen schon in der normalen B-Bild-Sonographie sicher zu diagnostizieren. Bei septierten, komplizierten und atypischen Zysten kann das CEUS hilfreich sein. Hier zeigt sich in



keiner der Phasen ein Kontrastmittel-Enhancement [2]. Zysten werden in meiner Arbeit zur Quantifizierung der Anflutung außen vor gelassen, da sich bei anfänglichen Versuchen herausstellte, dass das Enhancement so gering ist, dass jegliche Auswertung über die Zeit auf Artefakte beruht und sich fehlerhaft zeigt. Allein die messbar geringe Intensität der Anreicherung in allen Phasen ist bezeichnend. Die Sensitivität von CEUS ist hoch, aber mit histopathologischer Untersuchung als Goldstandard kaum zu ermitteln, da eine Biopsie nur in den seltensten Fällen notwendig wird.

### 2.2.1.2 FNH

Die fokale noduläre Hyperplasie entspricht einer knotigen Vermehrung von an sich gesunden Leberzellen. Sie wurde in einer Studie von Kaltenbach et al bei 0,2% des Patientenkollektivs gefunden [1], andere Veröffentlichungen sprechen von bis zu 3% [3]. Vorwiegend sind Frauen im Alter zwischen 20 und 50 Jahren betroffen (90%). Das Tumorwachstum ist, wie auch beim Leberzelladenom und beim kavernösen Hämangiom hormonabhängig, wobei sich etwa 60% der FNH unter Einnahme von oralen Antikonzeptiva entwickelt [4]. Das Absetzen hormoneller Präparate kann zur Regression führen [5].

Histologisch sind in der FNH sowohl Portalfelder, Zentralvenulen, proliferierte Ductuli und große hyperplastische Gefäße mit Intimaverbreiterung vorhanden [6]. Mittig befindet sich klassischer Weise eine fibröse, sich radspeichenartig verzweigende Narbe, die eine zentrale Arterie enthält [5].

Dieses Gefäßmuster kann im Doppler, oder noch sensitiver im kontrastmittelgestützten Ultraschall nachgewiesen werden. Dabei kommt es zu einem schnellen und kräftigen Anfluten des Kontrastmittels von innen nach außen (70%), gelegentlich radspeichenartig, gelegentlich mit zusätzlicher Gefäßversorgung von außen her (30%) [2]. Die in der FNH vorhandenen Portalfelder und Sinusoide lassen logisch erscheinen, dass in der portalvenösen Phase, sowie in der Spätphase das Kontrastmittel weiter gespeichert werden kann und im Vergleich zum normalen Leberparenchym ein Isoenhancement oder ein leichtes Hyperenhancement vorliegt. Auch Hypoenhancement kann manchmal aufgrund der zentralen Narbe in der Spätphase beobachtet werden [2].

### 2.2.1.3 Kavernöses Hämangiom

Das kavernöse Hämangiom ist ein gutartiger Tumor aus gewucherten weiten Bluträumen, der etwa bei 0,5-7% der Normalbevölkerung in der Leber auftritt [7] [4]. Es kommt quasi nie zu bösartigen Veränderungen von Hämangiomen, daher ist eine regelmäßige Kontrolle in den meisten Fällen ausreichend [8].

Den Guidelines and Good clinical practice Recommendations der WFUMB-EFSUMB Initiative zufolge kann bei 95% der Hämangiome die korrekte Diagnose durch CEUS gestellt werden. Typisch ist dabei ein kräftiges, früharterielles, perinoduläres Enhancement mit anschließendem zentripetalem Verlauf des Kontrastmittels bis die Läsion ganz oder teilweise ausgefüllt erscheint. Das Enhancement kann dabei über portale Phase und Spätphase hinweg anhalten. Die

Recommendations weisen auf die sehr unterschiedlich lang andauernden Anflutungszeiten hin. Thrombosierte Hämangiome hinterlassen über alle Phasen hinweg einen Defekt in der KM-Anreicherung und können so das wash out von malignen Läsionen vortäuschen [2].

#### 2.2.1.4 Adenom

Das von den Hepatozyten ausgehende Adenom der Leber ist, mit einer Häufigkeit von etwa 0,04% ein eher seltener Tumor [1]. Auch wenn das Adenom keine Vorläuferläsion des hepatozellulären Karzinoms darstellt, können hepatozelluläre Adenomatosen (mehr als 10 Adenome) und hepatozelluläre Karzinome miteinander assoziiert sein [4]. Außerdem halten die Recommendations der WFUMB-EFSUMB Initiative eine maligne Progression bei einer Tumorgöße ab 5 cm für möglich und empfehlen hier die chirurgische Entfernung, auch wegen des steigenden Blutungsrisikos [2].

Adenome sind weich, scharf gegen das Parenchym abgegrenzt und weisen oft nur einer unvollständige Tumorkapsel auf. Sie bestehen aus zwei- oder mehrschichtigen Leberzellplatten, die Lebersinusoiden sind oft schlitzförmig komprimiert, die Läppchenstruktur ist aufgelöst, Portalfelder und zentrale hepatische Venulen fehlen [6]. Das Enhancement des Adenoms in der arteriellen Phase wird als zentripetal charakterisiert. Gelegentlich kommt es zu einem wash-out Phänomen in der Spätphase, sodass die Gefahr von falsch-positiven Befunden besteht [2].

### 2.2.2 Maligne Tumoren

#### 2.2.2.1 Das hepatozelluläre Karzinom

Das hepatozelluläre Karzinom ist der bedeutsamste maligne Tumor der Leber. Weltweit gesehen stellt es die dritthäufigste tumorassoziierte Todesursache dar. Hierzulande ist die Inzidenz in den letzten Jahrzehnten mit den erhöhten Zahlen chronischer Hepatitis C gestiegen und wird mit 10-30 Neuerkrankungen pro 100000 Einwohner pro Jahr angegeben. Patienten mit Leberzirrhose haben ein jährliches Risiko von 1-6% ein hepatozelluläres Karzinom (HCC) zu entwickeln, abhängig von der Ätiologie. Umgekehrt liegt bei Patienten mit HCC in 60-90% der Fälle eine Vorerkrankung der Leber mit ausgebildeter Leberzirrhose vor.

Je nach zugrunde liegender Erkrankung variiert das HCC-Risiko bei Leberzirrhose. So weisen die chronische Virushepatitis B oder C und die seltenere Tyrosinämie und Hämochromatose ein besonders hohes Zusatzrisiko auf. Bei Hepatitis C liegt das lifetime risk für HCC bei 60%, für Hepatitis B bei 50%, für Hämochromatose bei 40%. Die, in den westlichen Ländern deutlich zunehmende, nichtalkoholische Steatohepatitis (NASH) wird von der Risikoerhöhung ähnlich eingeschätzt, wie die chronische Hepatitis C, besonders bei begleitendem Diabetes mellitus und Übergewicht [9]. Zirrhose durch Alkoholkrankung bringt ein Lebenszeitrisiko von 30% und damit eine mittlere Risikoerhöhung für HCC mit. Bei Morbus Wilson und Autoimmunhepatitis ist das Zusatzrisiko geringer. Hepatitisviren haben auch ohne Zirrhose eine direkte onkogene Wirkung. Besonders erhöht (bis zu 30-fach!) ist die Wahrscheinlichkeit der Entwicklung eines

HCCs bei einer Kombination von Risikofaktoren, zum Beispiel Alkoholkonsum plus Virushepatitis [4][9].

Patienten mit Leberzirrhose sollten daher im Halbjahrestakt ein HCC-Screening mittels Abdomensonographie erhalten, eine Virushepatitis sollte im Sinne der sekundären Prävention antiviral behandelt werden: bei der Hepatitis C normalerweise bis zur vollständigen Viruselimitation, beim HBV zur Reduktion der Viruslast.

Unabhängig von der auslösenden Ursache, handelt es sich bei der Entstehung des HCC um eine Multistepkarzinogenese durch chronischen Zellschädigung, mit Leberzell dysplasien und dysplastischem Knoten (low-grade oder high-grade) als Präkanzerosen. Das HCC kann, je nach Differenzierung, in G1 (hochdifferenziert) bis G4 (undifferenziert) eingeteilt werden kann und wächst zumeist infiltrativ, oder expansiv-infiltrativ, seltener expansiv oder diffus/zirrhodomimetisch. In der Hälfte der Fälle tritt es multizentrisch auf. Extrahepatische Metastasen sind selten, finden sich dann aber meist in der Lunge und an zweiter Stelle in den Knochen [2][6][9].

Während der Karzinogenese nimmt die normale arterielle und portale Blutversorgung in den Knoten immer mehr ab, während sich durch die massiv angeregte Neoangiogenese neue arterielle Gefäße zur Versorgung des Tumors bilden. Das Korrelat dazu in der kontrastmittelgestützten Bildgebung ist ein typisches Hyperenhancement in der arteriellen Phase. Dieses ist normalerweise in allen Differenzierungsstufen des HCC sichtbar [2].

Auf histologischer Ebene lassen sich der häufige trabekulär-sinusoidale Typ (G1-2), dessen hepatozytenähnliche Tumorzellen sinusoidale Bluträume umschließen, vom azinären Typ (G1), dem kompakten Typ und dem szirrhösen (spindelzellig, sarkomatoid), fibrolamellären Typ, und sklerosierenden Typ unterscheiden [6]. Es verwundert daher nicht, dass auch das Kontrastmittelverhalten, je nach histologischem Wachstumsmuster stark variieren kann.

Die klinisch relevante Einteilung des HCC nach der Barcelona Clinic Liver Cancer Classification (BCLC) kombiniert tumorbezogene Kriterien mit patienten- und funktionsbezogenen Kriterien und schließt die Child-Pugh-Klassifikation nach Leberfunktionsparametern mit ein [9].

In der Diagnostik haben die bildgebenden Verfahren, einen großen Stellenwert und die histologische Sicherung ist, insbesondere bei zugleich vorliegender Leberzirrhose, oft nicht notwendig. Nach der S3-Leitlinie zum hepatozellulären Karzinom genügt bei Hochrisikopatienten eine dynamische bildgebende Untersuchung mit typischem Kontrastmittelverhalten zur Diagnose des HCC. Bleiben Unklarheiten wird eine zweite, andersartige, dynamische Bildgebung benötigt. Ist der Befund nicht eindeutig oder atypisch wird auf die histologische Sicherung zurück gegriffen. Zur Bildgebung stehen, jeweils kontrastmittelgestützt, die Ultraschallsonographie, die Magnetresonanztomographie (MRT) und die 3-Phasen-Computertomographie (CT) zur Verfügung [10]. Das  $\alpha$ -Fetoprotein (AFP) ist nur bei sehr starker Erhöhung ( $>200$  ng/ml) in Kombination mit der Bildgebung diagnostisch für das HCC [9].

Über das Anflutungsverhalten des HCC's im kontrastmittelgestützten Ultraschall gibt es vielfältige und differenzierte Studien. Konsens, und in die AWMF-Leitlinie zum hepatozellulären Kar-

zinom eingegangen, ist die zumeist kräftige, rasche Kontrastmittelanreicherung, als Korrelat zur Hypervaskularisation, gefolgt von einem schnellen Wash-out in der portalvenösen Phase [10]. Bei hochdifferenzierten Tumoren ist das Wash-out weniger schnell und intensiv [9].

### 2.2.2.2 Das cholangiozelluläre Karzinom

Das cholangiozelluläre Karzinom (CCC) ist ein maligner Tumor der Gallenwege und hat eine eher geringe Inzidenz von etwa 2,5–4,4/100.000 pro Jahr in Europa. Es kann von den kleinen Gallenwegen ausgehen und damit intrahepatisch liegen, oder aber von den großen Gallenwegen und wird dann als „hiläres CCC“, beziehungsweise „Klatskin-Tumor“ bezeichnet. 90% der cholangiozellulären Karzinome sind Adenokarzinome und unterteilen sich weiterhin in den nodulären, sklerosierenden und papillären Typ.

Die Entwicklung des CCC folgt der Multistepkarzinogenese, mit primär sklerosierender Cholangitis als Hauptrisikofaktor

Erste Hinweise geben in der Diagnosefindung, neben Klinik und Labor, die Abdomen-Sonografie mit Duplex und Kontrastmittelunterstützung, sowie der Nachweis von dilatierten Gallenwegen. Einzige kurative Therapie des CCC ist die komplette chirurgische Entfernung des Tumors. Doch selbst nach R0-Resektion liegt das 5-Jahres-Überleben nur zwischen 21-44% [4] [9].

Im CEUS wird die Anflutung des Kontrastmittels als chaotisch beschrieben, oft beginnend mit dem Randbereich, manchmal aber auch im Tumorzentrum. In der portalvenösen Phase sowie in der Spätphase zeigt sich das CCC echoarm [11].

### 2.2.2.3 Metastasen

Metastasen solider Tumoren sind mit 45 % die häufigsten malignen Lebertumoren und stammen meist von Adenokarzinomen. Häufigster Primarius ist dabei das kolorektale Karzinom (etwa 50%), gefolgt vom Pankreaskarzinom und dem Mammakarzinom. Seltener sind Metastasen des Magen-, Bronchial-, oder Ösophaguskarzinoms. Neuroendokrine Karzinome sind, nach den Adenokarzinomen, die zweitgrößte Gruppe unter den Leberfiliae [12].

Grundsätzlich kann eine Metastasierung der Leber hämatogen oder lymphogen erfolgen. Ist der Primarius ein gastrointestinaler Tumor wird er seine Filiae zumeist hämatogen über die Pfortader absetzen. Bei anderen Lokalisationen entstehen hämatogene Metastasierungen vom Lungen- oder Kavatyp. Lymphogene Metastasen sind sehr viel seltener. Makroskopisch stellen sich Lebermetastasen als markig-weißliche Knoten dar. Diese sind oft zentral nekrotisch. Kolorektale Karzinome neigen dazu, wenige große Metastasen abzusetzen, Bronchial- und Mammakarzinom zeigen klassischer Weise viele kleine Metastasen [6].

Metastasen bilden keine Sinusoide, können infolgedessen Kontrastmittel im CEUS nicht binden [4]. Je nachdem ob es sich um eine hyper- oder hypovaskuläre Metastase handelt kann mehr oder weniger Hyperenhancement in der arteriellen Phase beobachtet werden. In jedem Fall hält es nicht lange an. Zum Teil entsteht es nur durch Füllung größerer Tumorgefäße, oft zeigt es

sich chaotisch, im Randbereich oder als Halo. Es kommt früh und sehr zuverlässig zu Hypoenhancement im Sinne des Wash-outs in der portalvenösen und späten Phase [2].

## **2.3 Bedeutung des Kontrastmittelverstärkten Ultraschalls in Bezug auf Leberherde im klinischen Alltag**

Im klinischen Alltag hat die Untersuchung der Leber mittels Ultraschall eine hohe Bedeutung. Die Non-invasive Untersuchung ist kostengünstig, hat eine schnelle Verfügbarkeit, keine Strahlenbelastung und kein starkes Magnetfeld. Auch mit zusätzlicher Anwendung von Kontrastmittel ist sie vergleichsweise zügig durchführbar und sehr verträglich. Der Kontrast entsteht jodfrei durch Mikrobäschen aus dem inerten, ungiftigen und in sehr geringen Mengen infundiertem Gas Schwefelhexafluorid, das durch Abatmung aus dem Körperkreislauf eliminiert wird [13].

Wird eine fokale Leberläsion zufällig, beispielsweise beim Sono-Abdomen, entdeckt, bietet die nachfolgende Untersuchung mit Kontrastmittel eine schnelle und sichere Möglichkeit die Entität des Tumors einzugrenzen oder sogar festzulegen. Maligne und benigne Herde können im Falle eines Zufallsbefundes mit einer Sensitivität von 92 bis 100% und eine Spezifität von 89 bis 93% zugeordnet werden [14].

Bei „gutartig“ klassifizierten Läsionen wie Hämangiom, FNH und Adenom wird dann oft eine halbjährliche Verlaufskontrolle empfohlen und diese wiederum mittels CEUS durchgeführt [5].

Auch in Screeningalgorithmen der Sekundärprävention hat die Ultraschalluntersuchung einen hohen Stellenwert. Sie ist Standard bei Leberzirrhose und dem Staging vieler maligner Erkrankungen. Hier kann sich wiederum bei verdächtigem Befund direkt eine Kontrastmittelgestützte Untersuchung anschließen um die Entität der Läsion weiter einzugrenzen.

### **2.3.1 CEUS zur Detektion von HCC**

Nach S3-Leitlinie zum hepatozellulären Karzinom soll in bestimmten Fällen eine Früherkennungsuntersuchung auf HCC mittels Sonographie der Leber angeboten werden, und zwar bei allen Patienten mit chronischer Hepatitis B, Fettleberhepatitis, oder Leberzirrhose. Das gilt natürlich nur für Fälle, in denen die Zuführung zu einer HCC-Therapie eine reale Option darstellt [10]. Fällt in der Früherkennung ein suspekter Befund auf, ist der nächste Schritt die Kontrastmittelverstärkte Bildgebung. Laut Leitlinie kann diese, aufgrund der vergleichbaren Sensitivitäten und Spezifitäten, gleichwertig mittel Kontrastmittelverstärktem Ultraschall, CT oder MRT erfolgen [10]. Zur Diagnose des HCCs akzeptiert die deutsche Leitlinie (Stand 2013) bei Hochrisikopatienten eine einzige positive Kontrastmittelgestützte Schnittbilduntersuchung als ausreichenden Nachweis eines HCCs (Level of Evidence 2b). Diese muss dreiphasig sein und die typische arterielle Hypervaskularisation sowie ein rasches Wash out und die Kontrastumkehr

relativ zum Leberparenchym zeigen (Empfehlungsgrad A) [10]. Früher wurde zusätzlich zu einem positiven bildgebenden Verfahren eine Mindestgröße des Tumors von 2 cm und ein positives AFP gefordert. Bei einer Läsionsgröße von unter 2 cm sollte eine zweite bildgebende Untersuchung die Diagnose bestätigen [9]. Die Leitlinie betont mehrmals die Gleichwertigkeit des CEUS im Vergleich zu anderen Verfahren der Schnittbildgebung und zitiert dabei eine multizentrische, prospektive Studie der deutschen Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin (DEGUM), bei der durch CEUS eine diagnostische Treffsicherheit von 84,9% bei 269 histologisch gesicherten HCCs erzielt werden konnte. Es gab keine signifikanten Unterschiede zu kontrastmittelgestütztem CT und MRT. So ist das CEUS oft Mittel der Wahl und wird erst bei unklarem Befund durch eine weitere Methode ergänzt [10].

Insgesamt können Diagnoserate und Diagnosesicherheit mit einer Kombination aus CEUS und einer anderen kontrastmittelgestützten Bildgebung erhöht, und damit die Notwendigkeit für Biopsien gesenkt werden. Dies gilt besonders für kleine Tumoren. Nach Forner et al. gelingt eine Diagnose von HCC bei Zirrhosepatienten anhand des Kontrastmittelverhaltens sogar bei 0,5-2 cm großen Tumoren mit einer Spezifität von 96,6% mit CEUS allein und zu 100 %, wenn MRT und CEUS ein übereinstimmendes Ergebnis liefern. Die Sensitivität liegt dann allerdings nur bei 61,7 % beziehungsweise kombiniert bei 33%. In der Praxis bedeutet die hohe erreichte Spezifität und der damit zusammenhängende hohe positive Vorhersagewert (97,4%/100%), dass selbst bei kleinen Tumoren die Biopsierate deutlich gesenkt werden kann, weil eine sichere Diagnose auch mit ausschließlicher Schnittbildgebung möglich ist. Bei nicht übereinstimmenden Ergebnissen von MRT und CEUS kann ein maligner Befund nicht ausgeschlossen werden und entsprechend schließt sich eine Biopsie an. So kann, trotz niedriger Sensitivität, am Ende bei den meisten Patienten die korrekte Diagnose gestellt werden [15]. Grundsätzlich lässt sich sagen, dass Tumoren mit einem Durchmesser von unter 1 cm selten maligne sind und das CEUS Mittel der Wahl zu dreimonatigen Kontrolle ist [2].

Das American College of Radiology hat zur Standardisierung der HCC-Diagnostik mittels KM-Sono das CEUS LI-RADS (CEUS Liver Imaging Reporting and Data System) entwickelt. Bei Risikopatienten wird jeder gefundene Leberherd im herkömmlichen Ultraschall, teilweise unter Zuhilfenahme von Kontrastmittel, kategorisiert und einem entsprechenden weiteren Vorgehen zugeführt. Die Abstufungen gehen von LR-1 „sicher benigne“ bis LR-5 „Diagnose HCC“. Sonderkategorien sind LR-inadequat bei qualitativ ungenügendem Assessment, LR-treated bei bereits behandelten Herden und LR-M bei wahrscheinlich malignen Läsionen, die aber nicht typisch für HCC sind. Für die Vergabe der Kategorie LR-5 „Diagnose HCC“ muss arterielles Hyperenhancement, spätes und mildes Wash out und ein Durchmesser von mindestens 10 mm vorliegen. Damit erreicht die Einstufung in LR-5 eine sehr hohe Spezifität für HCC zu Lasten der Sensitivität. Kleine und hochdifferenzierte HCC werden häufig in LR-3 oder LR-4 eingruppiert, schlecht differenzierte Karzinome finden sich öfter in LR-M [16].

### 2.3.2 CEUS zur Detektion von Lebermetastasen

Die gezielte Suche nach Leberrundherden findet nicht nur im Hinblick auf das HCC, sondern auch bei der Metastasensuche anderer Primärtumoren statt. Dies kann im Rahmen des Stagings oder der Verlaufskontrolle stattfinden.

Besonders das kolorektale Karzinom neigt über Metastasierung vom Pfortadertyp zu Leberfiliae. In der entsprechenden S3-Leitlinie wird die Sonographie des Abdomens (zusammen mit dem Röntgen Thorax) als Basisuntersuchung des präoperativen Stagings festgelegt (Expertenkonsens). Bei Verdacht auf Fernmetastasen wird dagegen ein Mehrzeilen-CT empfohlen. In der Nachsorge des Kolorektalen Karzinoms nach Chemotherapie löst der kontrastmittelgestützte Ultraschall die native Sonographie ab [2].

Beim neu diagnostizierten Pankreaskarzinom ist das Sono-Abdomen eine obligate Untersuchung, bei blandem Ergebnis wird eine Multidetektor-Computertomographie angeschlossen. Bei palliativer Chemotherapie soll das Tumoransprechen mittels Oberbauchsonographie durchgeführt werden [17].

Bei neuroendokrinen Tumoren ist das CEUS wichtiger Bestandteil von Staging und Verlaufskontrolle, kann aber die allumfassende Darstellung des Bauch und Beckenraums im kontrastmittelgestützten CT oder MRT nicht ersetzen [18].

Bei allen malignen Entitäten können, durch zusätzliche Gabe von Kontrastmittel, im B-Bild okkulte Tochterherde aufgedeckt werden. Außerdem ist bei Vorliegen mehrerer Knoten die Unterscheidung welcher davon maligne und welcher davon benigner Nebenbefund ist besonders wichtig. Soll eine Biopsie durchgeführt werden kann das CEUS hilfreich sein, um den korrekten Herd dafür zu detektieren. Außerdem zeigt es auf, welche Areale eines Tumors durchblutet und damit vital sind und welche nekrotisch. So kann die Biopsie aus dem richtigen Anteil entnommen werden und die Rate an falschnegativen Befunden wird reduziert [2].

In der Tumornachsorge nach Resektion, Chemoembolisation oder verschiedenen ablativen Verfahren kann das CEUS zwischen Narbengewebe und vitalem Tumorgewebe unterscheiden.[2]

### 2.3.3 Einschränkungen

Die Beurteilbarkeit der Sonographie nativ und kontrastmittelgestützt ist in einem hohen Maß Untersucher- und Patientenabhängig. Sie kann beispielsweise durch Übergewicht, Gasüberlagerungen aus dem Darm und Bewegungsartefakte stark eingeschränkt sein.

Das korrekte und sichere Auffinden und Beurteilen von physiologischen und pathologischen Strukturen erfordert langjährige Erfahrung. Dieser Herausforderung begegnet die DEGUM mit Qualifikationskriterien, die sich an Ausbildung und Prüfung, sowie an der Untersuchungsfrequenz des Mediziners orientieren. Um entsprechend gute Sensitivität und Spezifität beim Screening zu erreichen, legt die S3-Leitlinie nahe, dass mit der Früherkennungsuntersuchung

für HCC Ärzte betraut werden sollen, deren Qualifikationskriterien der DEGUM Stufe II entsprechen [10].

## 2.4 Aktueller Stand der Forschung

### 2.4.1 Quantitative Charakterisierung verschiedener Tumorentitäten im CEUS

#### 2.4.1.1 Das hepatozelluläre Karzinom

Das HCC stellt sich nativ meist leicht hypo- bis isoechogen dar, durch die starke Vaskularisation kommt es in der arteriellen Phase zur homogenen, kräftigen und raschen Kontrastmittelanreicherung, gefolgt von einem Wash-out in der portalvenösen Phase. Das Hyperenhancement der arteriellen Phase zeigt sich in Tumoren jeden Gradings, imponiert in einem Review über mehrere Studien als starker, sensitiver Marker (Sensitivität in eingeschlossenen Studien zwischen 65-96%) und wird als diagnostisches Hauptkriterium vorgeschlagen (Quality of evidence: Moderate. Strength of recommendation: Strong) [2] [19]. Der portalvenöse Kontrastmittelabfluss hingegen korreliert mit dem Differenzierungsgrad des Tumors. Mäßig oder schlecht differenzierte HCCs neigen zu einem schnelleren und stärkeren Wash-out, oft schon in der portalvenösen Phase, gut differenzierte, aber auch kleine Tumoren halten das Kontrastmittel eher länger (bis zu 180 Sekunden) und verbleiben gelegentlich sogar in der Spätphase isoechogen, was die Sensitivität der Diagnostik einschränken kann [2] [9] [20]. Kleine Tumoren sind aber auch deutlich seltener maligne, als große, sodass bei Läsionen unter 1 cm ein dreimonatliches Follow-up normalerweise ausreicht [2] [19]. Das grundsätzliche Muster von arteriellem Enhancement und Wash-out zeigt sich bei HCCs der zirrhotischen wie auch der nicht-zirrhotischen Leber [2].

Bei strenger Anwendung der genannten Perfusionskriterien konnte in einer histopathologisch korrelierten Studie eine Sensitivität von 100% erreicht werden allerdings um den Preis einer niedrigen Spezifität von ca. 30% [10]. Um diese zu verbessern empfiehlt sich die Korrelation mit anderen bildgebenden Verfahren.

Innerhalb der Gruppe der HCCs zeigt sich, dass die Perfusionsparameter stärker von der arteriellen Versorgung, als von den sinusoidalen Mikrogefäßen abhängen. Stärkere Vaskularisation führt so zu kürzerer RT bzw. Time to peak (TTP) [21]. Bei der Korrelation von Anflutungsparametern, Tumorpathologie (Vaskularisierung und Sall4, WNT3a and  $\beta$ -catenin protein, bzw. HGF und c-Met) und krankheitsfreiem Überleben scheinen eine kurze TTP, starkem PE und kurzer Wash-out Time prognostisch ungünstig zu sein [22][23].

#### 2.4.1.2 HCC in Abgrenzung zu Metastasen

Insgesamt zeigen HCCs etwas weniger intensives und späteres Wash-out als andere maligne Tumoren der Leber, typischerweise mit einem Onset von über 60 Sekunden nach Kontrastmit-



telinjektion [16]. 27. Piscaglia Pisglia et al. schlagen in ihrer Kategorisierung von Leberherden vor, Läsionen mit einem beginnenden Wash-out nach weniger als 60 Sekunden nach Injektion, unabhängig von anderen Eigenschaften, als LR-M, also als Metastase zu kategorisieren. Auch das Erlanger System zur Kategorisierung betrachtet das Timing und nicht die Intensität des Wash-outs und erlangt damit einen positiven Vorhersagewert für Nicht-HCC-Malignome von 75% [16][24][25].

Weitere Studien bestätigen die signifikant längere Wash-out time in HCCs und finden dort zusätzlich eine signifikant stärkere Kontrastmittelanreicherung als in Metastasen [26][27].

#### 2.4.1.3 FNH in Abgrenzung zu HCC

Fokale noduläre Hyperplasien (FNH) reichern schnell Kontrastmittel an und halten das Hyperenhancement über alle Phasen hinweg bis in die Spätphase, in der aber auch Iso- oder selten Hypoenhancement vorkommen können. Sie zeigen etwa zu 70% ein schnelles Fill-in von innen nach außen [2]. Pei X-Q. et al (2013) konnten in FNH, im Gegensatz zu HCC, eine signifikant höhere maximale Kontrastmittelintensität und einen schnelleren Anstieg (rise slope) sowie kürzere RT und TTP nachweisen, wobei die Sensitivitäten und Spezifitäten der quantitativen Analyse eines einzelnen Parameters der aktuell verwendeten qualitativen Beurteilung unterlegen sind. Die Arbeitsgruppe schuf allerdings den Ansatz, Läsionen, die Hypoenhancement in der Spätphase zeigten, ab bestimmten cut-offs eines jeden Parameters doch als FNH einzustufen, auch wenn die Spezifitäten (47,7%-68,2%) keine sichere Diagnose zuließen [28].

FNH, im Gegensatz zur gesamten Gruppe maligner Tumoren, zeigen in der Quantifizierung ein höheres PE (vergleichbar mit „IMAX – maximal Intensity“ anderer Studien) und, wie zu erwarten, ein weniger intensives Wash out [25]. Die gefundene längere mean transit time in FNH, im Gegensatz zu HCC, hängt eher mit der stärkeren Anreicherung zusammen, nachdem sich zwischen diesen Entitäten kaum ein Unterschied in der RT bzw. TTP nachweisen lässt [29].

#### 2.4.1.4 Das cholangiozelluläre Karzinom

Wie jede maligne Leberläsion, zeigt auch das Cholangiozelluläre Karzinom in der Spätphase ein Wash-out. Ansonsten ist es bisher in seiner Kontrastmittelanflutung wenig quantifiziert worden. Mir sind zum jetzigen Zeitpunkt keine Studien bekannt, die mittels CEUS eine Abgrenzung zu anderen malignen Leberläsionen gelungen wäre. Es ist generell charakterisiert durch ein echoarmes Erscheinen, einen chaotischen Gefäßverlauf, beginnende Anreicherung teils vom Tumorzentrum, teils von der Peripherie aus, und, ähnlich wie bei Metastasen, möglicherweise schnelleres Wash-out als bei HCCs [11] [30].

#### 2.4.1.5 Hyper- und hypovaskuläre Metastasen

In der Klinik werden hypervaskuläre Metastasen, die ein deutliches Hyperenhancement in der arteriellen Phase zeigen, von hypovaskulären Metastasen, die von Anfang an nur wenig Kon-

trastmittel anreichern, unterschieden. Viele Primärtumoren zeigen eine gewisse Tendenz, weisen aber grundsätzlich beide Metastasentypen auf. Daher lässt sich das Enhancement Pattern im CEUS lässt sich viel leichter mit der Vaskularität eines Tochterherdes, als mit dessen Entität korrelieren [31].

Hypervaskuläre Metastasen werden typischerweise neuroendokrinen Tumoren zugeschrieben, Melanome, Nierenzell- und Mammakarzinome neigen auch oft zu diesem Enhancement Pattern. Metastasen des Colon- und Pankreaskarzinoms sind klassischerweise hypovaskulär, gelegentlich wird aber auch hier arterielles Hyperenhancement beobachtet, zumindest im Randbereich und für einen kurzen, im CT oder MRT oft nicht erfassten, Zeitraum [32].

Bei Metastasen neuroendokriner Tumoren ist eine besonders starke Kontrastmittelanreicherung in der arteriellen Phase beschrieben, und immer wieder zeigen sich Herde bis in die portalvenöse Phase hinein isoechogen. Die Wash-out Time erscheint länger, je stärker ein Tumor vaskularisiert ist. Dabei kann ein Einfluss der Tumorgöße nicht klar nachgewiesen werden [31].

#### 2.4.1.6 Benigne FLL in Abgrenzung zu malignen Tumoren

Das Hauptunterscheidungskriterium von den jeweils heterogenen Gruppen maligner und benigner Leberläsionen ist das Wash-out in der Spätphase, dazu mehr im nachfolgenden Punkt.

Teils wird in Studien eine Unterscheidung anhand des relativen Peak Enhancements der arteriellen Phase postuliert (maligne Läsion reichern hier eher weniger intensiv an), allerdings ist diese stark abhängig von der Verteilung der verschiedenen Entitäten innerhalb der Gruppe. FNHs und HCCs zeigen jeweils starkes arterielles Enhancement und je größer ihr Anteil in der jeweiligen Gruppe, desto stärker reichert diese im Schnitt an. Als zusätzlicher Parameter, eingebettet in einen komplexeren Algorithmus, könnte das relative PE einen Informationsgewinn bieten. Das absolute PE schwankt beim CEUS durch vielfältige Faktoren so stark, dass eine Korrelation damit ungeeignet erscheint [33].

### 2.4.2 Computerassistierte Diagnosefindung im CEUS

Die Quantifizierung von Anflutungsparametern ist unerlässlich zur Entwicklung und Verbesserung computerassistierter Diagnosefindung. Die Ultraschalluntersuchung, und das CEUS im Speziellen, erfordert eine hochgradige Expertise und ihre Qualität ist hochgradig untersucherabhängig. Ihre computergestützte Auswertung ist noch nicht so weit vorangeschritten, wie bei MRT oder CT, da die Sonographie selbst handgesteuert und dynamisch ist und schon beim Auffinden der korrekten Schnitte und Pathologien, sowie beim Reagieren auf Patientenbewegung der Untersucher eine kaum ersetzbare Rolle spielt. Die oben beschriebenen Vorteile dieser Bildgebung sind jedoch so frappierend, dass ihre Qualitätssicherung durch Computerassistenz ein vielversprechendes Forschungsfeld darstellt.

Goertz et al. (2010) verglichen die computergestützte Auswertung von malignen und benignen Leberläsionen (n=33) mit der erfahrener Untersucher, mit pathohistologischer Diagnostik als

Goldstandard. Mehrere ROIs pro Tumor wurden digital vermessen, sowie subjektiv beurteilt, und anhand der relativen Kontrastmittelintensität in der arteriellen Phase (relative und absoluter Peak) sowie die relative Anreicherung in der Spätphase als benigne oder maligne eingeordnet und erreichten eine hohe Übereinstimmung beider Methoden, sowie eine Sensitivität von 100% und Spezifität von 85,7% der Software zur Erkennung von Malignitäten [33].

Die computergestützte quantitative Auswertung des Kontrastmittelverhaltens enthält im Vergleich zur rein visuellen Beurteilung zusätzliche Informationen und stärkt damit die Reliabilität der endgültigen Diagnose einer Läsion, insbesondere, wenn visuelle und quantitative Bewertung kombiniert werden [34].

## 2.5 Forschungsfragen und Hypothesen

Wie eben dargestellt gibt es sehr gute und mehrfach in Studien bestätigte, qualitative Unterscheidungsmerkmale zwischen den Tumorentitäten. Es ist zu untersuchen wie gut diese bisher eine Einteilung möglich machten, insbesondere in Fällen, denen eine Biopsie folgte und demnach ein gesichertes Ergebnis als Goldstandard vorliegt.

Die konventionellen Aspekte zu quantifizieren ist ein entscheidender Schritt in Richtung computergestützte Diagnosefindung und birgt Potential an Mehrinformation und damit besserer diagnostischer Performance, insbesondere bei Zusammenschau aller Aspekte.

Es ergeben sich folgende konkrete Fragestellungen:

Wie gut ist die aktuelle diagnostische Performance des CEUS bei suspekten Leberläsionen?

Lässt sich das bekannte Wash-out in der Intensität quantifizieren und sind maligne und benigne Läsionen anhand eines entsprechenden Cut-offs unterscheidbar?

Lassen sich verschiedene Raumforderungen anhand der zeitlichen Dynamik der Kontrastmittelanflutung unterscheiden? Welchen Stellenwert hat dabei die Rise Time?

Wie verhält sich das Hämangiom in der Anflutungsphase und Spätphase im Vergleich zu bösartigen Raumforderungen?

## **3. Zusammenfassung:**

### **3.1 Zielsetzung**

Im ersten Paper dieser Arbeit wird das Kontrastmittelverhalten von Leberrundherden diverser Entitäten im kontrastverstärktem Ultraschall (CEUS) quantifiziert. Ziel ist es, signifikante Unterschiede in der Anflutungs- und Spätphase zwischen den Tumorgruppen zu finden und zu prüfen. Dabei stehen die Unterscheidbarkeit benigner und maligner Läsionen im Vordergrund. Ein besonderes Augenmerk liegt auf Hämangiomen in Abgrenzung zu malignen Läsionen. Für die Rise Time (RT) als Zeit-Parameter der Anflutungsphase und die Late Phase Ratio (LPR) als relativen Intensitätsparameter der Spätphase sollen Cut-offs festgelegt werden und eine Prüfung der diagnostischen Performance einzeln und in Kombination erfolgen.

Im zweiten Paper soll die Erfolgsquote der bisherigen Einteilung von fokalen Leberläsionen (FLL) mittels CEUS Untersuchung evaluiert werden, und zwar mit der histopathologischen Untersuchung als Goldstandard. Dabei liegt der Fokus auf unklaren Leberrundherden, die eine Biopsie in der Folge notwendig gemacht haben. Es sollen Sensitivität, Spezifität und richtig bzw. falsch negative Rate des vorangegangenen CEUS ermittelt werden.

### **3.2 Methoden**

Beide Aufsätze sind retrospektive Studien am selben Patientenkollektiv, und deren über Jahre im Kliniksystem archivierten CEUS Datensätze. Es handelt sich um Ultraschalluntersuchungen, die im regulären klinischen Ablauf von 2008-2018 bzw. von 2005-2016 an unserem Institut durchgeführt wurden. Von allen Patienten wurde im Vorfeld der Untersuchung das schriftliche Einverständnis eingeholt. Beide Einzelarbeiten beruhen auf dem Ethik-Komitee Beschluss vom 14.03.2017. Im ersten Paper sind Einschlusskriterien das Vorhandensein einer fokalen Leberläsion im CEUS (außer Zyste), die Sicherung der Diagnose durch Histopathologie oder weitere kontrastmittelgestützte Bildgebung und archivierte Datensätze in ausreichender Dauer und Qualität (n=184). Ein sekundärer Ausschluss erfolgte, wenn sich bei der Bearbeitung ein unkompletter Datensatz, überlagerte Bilder oder schwere Bewegungsartefakte zeigten, sodass letztendlich 139 Läsionen in die Auswertung eingingen. Das zweite Paper schließt erst alle Patienten der Datenbank ein (n=1215) und im nachfolgenden Schritt alle nicht pathologisch gesicherten Tumore aus, sodass am Ende 160 Untersuchungen ausgewertet werden konnten. Die Untersuchungen wurden durchgehend von Prof. Dirk Clevert (EFSUMB Level 3) mit Siemens (Sequoia, S2000, S3000) und Philips (EPIQ 7) Systemen mit niedrigem mechanischem Index durchgeführt. Als Kontrastmittel wurden 1,4-2,0 ml Sulphur Hexafluorid Microbubbles (SonoVue®, Bracco, Milan, Italy) verwendet.

Zur Prozessierung des Bildmaterials wurden im Bearbeitungsprogramm VueBox (Bracco, Suisse SA) je eine Region of Interest (ROI) und eine Referenzfläche des Leberparenchyms (REF) eingezeichnet, gefittete Zeit-Intensitäts-Kurven über die Anflutungsphase des Kontrastmittels hinweg erstellt und daraus die RT ermittelt. Außerdem wurde je aus einer Momentaufnahme der Spätphase die LPR, als relativer Intensitätsparameter bestimmt. Beide Parameter wurden mit dem Students t-test auf ihre Signifikanz zur Unterscheidung maligner Läsionen von benignen und, insbesondere, von Hämangiomen. Das Signifikanzniveau wurde im Vorfeld bei  $p < 0,05$  festgelegt. Die diagnostische Aussagekraft wurde mittels Receiver operator characteristics (ROC) berechnet und als Area under the Curve (AUC) angegeben. Für ausgewählte Cut-offs wurden Sensitivität, Spezifität und Likelihoodratio (LR+/-) bestimmt. Schlussendlich erfolgte die Kombination von RT und LPR durch eine logistische Regressionsanalyse darüber abermals eine ROC zur Abschätzung der diagnostischen Performance.

Auch im zweiten Paper wurden zur Unterscheidung maligner und benigner Läsionen Spezifität und Sensitivität der CEUS Untersuchungen in Bezug zum histologischen Ergebnis berechnet.

Beide Paper verwendeten Microsoft Excel (2016, Redmond, WA, USA; GraphPad Prism, Version 7.04 for Windows, GraphPad Software, La Jolla, CA, USA), Paper 1 zudem Stata-IC15.1 (StataCorp LLC, College Station, TX, USA), Paper 2 IBMSPSS Statistics (Version 23, Armonk, NY, USA) zur weiterführenden statistischen Auswertung.

### 3.3 Ergebnisse

Die LPR der malignen Lebertumoren unterschied sich signifikant von der benignen Tumoren ( $p = 0.0001$ ). Sie verhielten sich mit einer LPR (ROI/REF) unter 1 für alle Einzelwerte ( $0.38 \pm 0.23$ ) durchgehend im Sinne eines Wash-outs. Die zusammengefasste Gruppe benigner Läsionen hielt das Kontrastmittel im Schnitt bis in die Spätphase hinein ( $1.59 \pm 1.59$ ), während Hämangiome neben Hyperenhancement auch oft Iso-, oder mildes Hypoenhancement ( $0.67 \pm 0.30$ ) zeigten. Trotzdem hoben sie sich auch als Subgruppe signifikant vom Wash-out der Malignitäten ab ( $p=0.0001$ ). Die AUC der ROC betrug bei der Betrachtung benigne vs. maligne 0.898. Mit einem Cut-off bei 1,0 (ROI/REF) ergeben sich zur Detektion eines bösartigen Tumors eine Sensitivität von 100%, Spezifität von 56.8%, eine diagnostische Genauigkeit von 85.8%, eine LR+ von 2.3 und eine LR- von 0.0. Bei Hämangiomen vs. Malignitäten ergibt sich nach ROC eine AUC von 0,781. Bei einem Cut-off von 0,6 (ROI/REF) als "deutliches Hypoenhancement" berechneten wir Sensitivität (83.3%), Spezifität (37.5%), diagnostische Genauigkeit (76.4%), LR+ (1.3) und LR- (0.4).

Der Unterschied der RT in Hämangiomen ( $23.4 \pm 16.2$  s) und malignen Tumoren ( $9.3 \pm 3.8$ s) ist hochsignifikant ( $p=0.0001$ ) und ergibt eine AUC von 0.915. Mit einem Cut-off bei 18.2 s ergeben sich eine Sensitivität von 98.3%, Spezifität von 50.0%, diagnostische Genauigkeit von 91.4%, LR+ von 2.0 und eine LR- von 0.0.

Auch gutartige Läsionen unterschieden sich von Malignitäten signifikant durch eine längere RT ( $14.8 \pm 13.8$ s,  $p = 0.005$ ), allerdings mit großer Streuung innerhalb der Gruppe. So reichern FNH

das Kontrastmittel signifikant schneller als andere fokale Leberläsionen an ( $6.4 \pm 0.7s$ ;  $p < 0.05$ ). Es zeigt sich eine schwache diagnostische Performance mit einer AUC von 0,584. Je nach Zusammensetzung der heterogenen Gruppe „benigne Läsionen“ könnte das Ergebnis also auch ganz anders ausfallen. Auf das Festlegen eines Cut-offs wurde daher verzichtet.

Insgesamt die beste Aussagekraft wird erreicht, nachdem beide Parameter, RT und LPR, durch logistische Regressionsanalyse kombiniert wurden. Die nachfolgende ROC zur Unterscheidung von benignen und malignen Läsionen erreicht eine AUC von 0.923, zur Unterscheidung von Malignitäten und Hämangiomen eine AUC von 0.929.

Betrachtet man die CEUS- Untersuchungen der letzten Jahre, denen eine Biopsie folgte, lässt sich die diagnostische Performance beurteilen. Da Biopsien vermehrt in unklaren Fällen entnommen werden müssen, ist davon auszugehen, dass untenstehende Zahlen die Aussagekraft aller CEUS-Untersuchungen eher unterschätzen. Die meisten suspekten Herde wurden in der histopathologischen Untersuchung als Metastasen klassifiziert ( $n=59$ ), gefolgt von HCC ( $n=38$ ). In 43 Fällen wurden benigne Läsionen diagnostiziert.

Maligne FLL wurden mit einer Sensitivität von 94,5%, Spezifität von 70.6% erkannt. Insbesondere fibrotische und zirrhotische Umbauprozesse wurden erschienen im CEUS suspekt für ein bösartiges Geschehen. In keiner der Untersuchungen kam es zu unerwünschten Nebeneffekten für die Patienten.

### 3.4 Fazit

Nach Zusammenschau der Ergebnisse im Kontext der aktuellen Forschung und der Diskussion von Stärken und Schwächen der Studien imponiert das CEUS als zukunftsfähige Untersuchungsmodalität bei mannigfaltigen Vorteilen in der klinischen Anwendung. Die Beurteilung qualitativer Merkmale zeigt eine hohe diagnostische Performance in der Differenzierung von Leberläsionen. Insbesondere maligne Veränderungen können mit hoher Sensitivität erkannt, und gegebenenfalls einer weiteren Diagnosesicherung zugeführt werden.

Die Quantifizierung von Parametern des Kontrastmittelverhaltens mittels Zeit-Intensitätskurve ist ein wichtiger Schritt in Richtung Objektivierung, Gewinnung ergänzender Informationen und computergestütztes Arbeiten. Dafür bestätigt sich die LPR als wichtiger und geeigneter Parameter zur Unterscheidung benigner und maligner Tumoren. Die RT dagegen, obwohl in dieser Studie als signifikant getestet, zeigt alleinstehend keine überzeugende diagnostische Performance. Bei erschwelter Differenzialdiagnose Hämangiom vs. Malignom durch mildes Hypoenhancement in der Spätphase, kann eine lange RT ein Indikator für das Vorliegen eines Hämangioms sein. Die Kombination von Parametern ist in der diagnostischen Performance dem einzelnen Parameter immer überlegen und ist geeignet, um zwischen Malignitäten und benignen Läsionen, insbesondere Hämangiomen, zu unterscheiden.

## 4. Abstract (English):

### 4.1 Quantitative Analysis of the Time–Intensity Curve of Contrast-Enhanced Ultrasound of the Liver: Differentiation of Benign and Malignant Liver Lesions

**Background:** To evaluate the diagnostic accuracy of quantitative perfusion parameters in contrast-enhanced ultrasound to differentiate malignant from benign liver lesions.

**Methods:** In this retrospective study 134 patients with a total of 139 focal liver lesions were included who underwent contrast enhanced ultrasound (CEUS) between 2008 and 2018. All examinations were performed by a single radiologist with more than 15 years of experience using a second-generation blood pool contrast agent. The standard of reference was histopathology (n = 60), MRI or CT (n = 75) or long-term CEUS follow up (n = 4). For post processing regions of interests were drawn both inside of target lesions and the liver background. Time–intensity curves were fitted to the CEUS DICOM dataset and the rise time (RT) of contrast enhancement until peak enhancement, and a late-phase ratio (LPR) of signal intensities within the lesion and the background tissue, were calculated and compared between malignant and benign liver lesion using Student's t-test. Quantitative parameters were evaluated with respect to their diagnostic accuracy using receiver operator characteristic curves. Both features were then combined in a logistic regression model and the cumulated accuracy was assessed.

**Results:** RT of benign lesions ( $14.8 \pm 13.8$  s,  $p = 0.005$ ), and in a subgroup analysis, particular hemangiomas ( $23.4 \pm 16.2$  s,  $p < 0.001$ ) differed significantly to malignant lesions ( $9.3 \pm 3.8$  s). The LPR was significantly different between benign ( $1.59 \pm 1.59$ ,  $p < 0.001$ ) and malignant lesions ( $0.38 \pm 0.23$ ). Logistic regression analysis with RT and LPR combined showed a high diagnostic accuracy of quantitative CEUS parameters with areas under the curve of 0.923 (benign vs. malignant) and 0.929 (hemangioma vs. malignant).

**Conclusions:** Quantified CEUS parameters are helpful to differentiate malignant from benign liver lesions, in particular in case of atypical hemangiomas.

## **4.2 Diagnostic Value of CEUS Prompting Liver Biopsy: Histopathological Correlation of Hepatic Lesions with Ambiguous Imaging Characteristics**

**Background:** Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) allows for dynamic analysis of vascularization patterns of unclear hepatic lesions. Our study aimed to evaluate the diagnostic performance of CEUS for further characterizing suspicious liver lesions by comparing findings from CEUS examinations with corresponding histopathology.

**Methods:** Between 2005 and 2016, 160 patients with unclear liver lesions underwent CEUS followed by liver biopsy. All examinations were performed by an experienced consultant radiologist (EFSUMB Level 3) and included native B-mode ultrasound, Color Doppler, and CEUS. A second-generation blood pool contrast agent was applied for CEUS.

**Results:** CEUS was successfully performed in all patients without occurrence of any adverse side effects. CEUS showed a sensitivity of 94.5%, a specificity of 70.6%, a true positive rate of 87.3%, and a true negative rate of 85.7% compared to histopathological results as the reference standard.

**Conclusions:** CEUS represents a safe imaging modality with a high diagnostic accuracy in assessing both—benign and malignant—liver lesions compared to corresponding histopathological results.



## Article

# Quantitative Analysis of the Time–Intensity Curve of Contrast-Enhanced Ultrasound of the Liver: Differentiation of Benign and Malignant Liver Lesions

Sonja Schwarz <sup>†</sup>, Dirk-André Clevert <sup>†</sup> , Michael Ingrisch , Thomas Geyer, Vincent Schwarze, Johannes Rübenthaler  and Marco Armbruster <sup>\*</sup>

Department of Radiology, University Hospital, LMU Munich, Marchioninstr. 15, 81377 München, Germany; sonjaschwarz128@gmail.com (S.S.); Dirk.Clevert@med.uni-muenchen.de (D.-A.C.); Michael.Ingrisch@med.uni-muenchen.de (M.I.); Thomas.Geyer@med.uni-muenchen.de (T.G.); Vincent.Schwarze@med.uni-muenchen.de (V.S.); Johannes.Ruebenthaler@med.uni-muenchen.de (J.R.)

<sup>\*</sup> Correspondence: Marco.Armbruster@med.uni-muenchen.de; Tel.: +49-89-4400-44856

<sup>†</sup> The authors contributed equally to the work.



**Citation:** Schwarz, S.; Clevert, D.-A.; Ingrisch, M.; Geyer, T.; Schwarze, V.; Rübenthaler, J.; Armbruster, M. Quantitative Analysis of the Time–Intensity Curve of Contrast-Enhanced Ultrasound of the Liver: Differentiation of Benign and Malignant Liver Lesions. *Diagnostics* **2021**, *11*, 1244. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11071244>

Academic Editor: Giovanna Ferraioli

Received: 2 June 2021

Accepted: 9 July 2021

Published: 12 July 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Background: To evaluate the diagnostic accuracy of quantitative perfusion parameters in contrast-enhanced ultrasound to differentiate malignant from benign liver lesions. Methods: In this retrospective study 134 patients with a total of 139 focal liver lesions were included who underwent contrast enhanced ultrasound (CEUS) between 2008 and 2018. All examinations were performed by a single radiologist with more than 15 years of experience using a second-generation blood pool contrast agent. The standard of reference was histopathology ( $n = 60$ ), MRI or CT ( $n = 75$ ) or long-term CEUS follow up ( $n = 4$ ). For post processing regions of interests were drawn both inside of target lesions and the liver background. Time–intensity curves were fitted to the CEUS DICOM dataset and the rise time (RT) of contrast enhancement until peak enhancement, and a late-phase ratio (LPR) of signal intensities within the lesion and the background tissue, were calculated and compared between malignant and benign liver lesion using Student's *t*-test. Quantitative parameters were evaluated with respect to their diagnostic accuracy using receiver operator characteristic curves. Both features were then combined in a logistic regression model and the cumulated accuracy was assessed. Results: RT of benign lesions ( $14.8 \pm 13.8$  s,  $p = 0.005$ ), and in a subgroup analysis, particular hemangiomas ( $23.4 \pm 16.2$  s,  $p < 0.001$ ) differed significantly to malignant lesions ( $9.3 \pm 3.8$  s). The LPR was significantly different between benign ( $1.59 \pm 1.59$ ,  $p < 0.001$ ) and malignant lesions ( $0.38 \pm 0.23$ ). Logistic regression analysis with RT and LPR combined showed a high diagnostic accuracy of quantitative CEUS parameters with areas under the curve of 0.923 (benign vs. malignant) and 0.929 (hemangioma vs. malignant. Conclusions: Quantified CEUS parameters are helpful to differentiate malignant from benign liver lesions, in particular in case of atypical hemangiomas.

**Keywords:** liver diagnostic imaging; neoplasm; ultrasonography; image enhancement; image processing; computer-assisted

## 1. Introduction

Focal liver lesions (FLL) are common and can be found in about 5% of the European population [1]. FLL are frequently detected incidentally by ultrasound examination of the upper abdomen or during computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) scans. It is very important to differentiate benign from malignant liver lesions quickly and safely to ensure a correct therapeutic management and to avoid unnecessary invasive procedures and psychological stress for the patient. Due to its high availability, B-mode sonography is considered the first diagnostic step in the workup of FLL as it is uncomplicated, cost-effective and radiation-free. It is also used to screen for malignant FLL like hepatocellular carcinoma (HCC) following the guidelines of the European Association for the Study of the Liver (EASL) [2].

Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) can be performed within the same investigation as B-mode and Doppler ultrasound and provides additional information about the vascularization and contrast dynamics of FLL with a good diagnostic performance comparable to CT and MRI [3–5]. A focal liver lesion found in conventional ultrasound can therefore in many cases be diagnosed immediately via CEUS without another appointment at CT or MRI, sparing patients psychical stress and, in case of CT, radiation exposure. The latter especially affects young patients with frequent follow ups. Furthermore, CEUS is also suitable in patients who have contraindications to MRI like pacemakers or defibrillators. The contrast agent used for sonography is very well tolerated and unlike in CT or MRI there are no contraindications regarding hyperthyroidism or renal insufficiency. Additionally, CEUS provides the unique feature to visualize contrast dynamics in real-time and therefore gives a dynamic impression of the timing and intensity of washout [6,7]. A detailed literature review by Westwood et al. reported lower costs with a similar diagnostic performance of CEUS compared to contrast enhanced CT and MRI in the surveillance of cirrhosis and colorectal carcinoma [8].

To distinguish benign from malignant FLL in CEUS, specific contrast enhancement patterns are used [9]. The Guideline update 2012 of the World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology (WFUMB) and the European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology (EFSUMB) state that hypoenhancement of solid lesions in the late and postvascular phases characterizes malignancies, and that almost all metastases and typical HCCs show this feature [10]. However, the distinction of benign lesions with mild hypoenhancement in the late phase, or lack of enhancement because of thrombosed portions, can be particularly challenging [10]. In such cases quantitative analysis of time–intensity curves in CEUS could provide further information and might overcome the limitations of a purely visual assessment. Furthermore, quantification enables computer-aided diagnoses in the long term and objectifies the very examiner-dependent CEUS examination and interpretation. In a former study Wilson SR et al. reported the value of qualitative assessment of CEUS using an algorithm-based approach to differentiate malignant from benign liver lesions and achieved a good diagnostic accuracy of 85–92% [11,12]. Single studies with computer-aided evaluations, such as the classification algorithm of Gatos et al. ( $n = 52$ ), reported a diagnostic accuracy up to 90.3% [13]. On the other hand, existing clinical trials analyzing CEUS perfusion quantification parameters showed varying results with only few providing meaningful case numbers. While Beyer et al. distinguished benign and malignant liver lesions by quantifying regional blood flow, regional blood volume, and peak enhancement with receiver operator characteristic curves (ROC) of 0.97, 0.96, 0.98, and 0.76, respectively ( $n = 20$ ) [14], Goertz et al. found no significant difference between benign FLL and malignancies in peak enhancement [15].

In order to evaluate CEUS perfusion quantification parameters in a larger cohort and to evaluate which parameters are best suited to differentiate malignant from benign liver lesions we retrospectively evaluated 139 CEUS examinations with histopathology, MRI or long-term follow-up as the standard of reference.

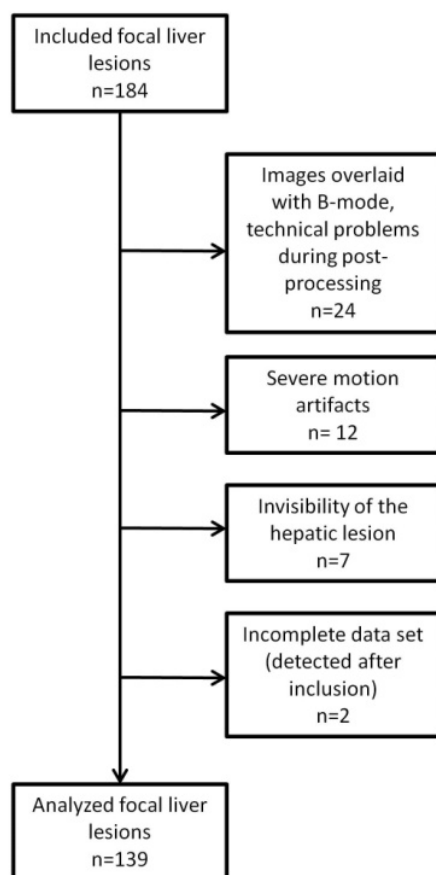
## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Cohort

In this retrospective study, 139 FLL from 134 patients who underwent CEUS between March 2008 and September 2018 at our institution were analyzed by quantifying contrast enhancement in the arterial and late phase. Written consent was obtained from all patients prior to CEUS. Seventy-five FLLs were found in women (mean age:  $55 \pm 18$  years; range: 24–93 years) and 64 in men (mean age:  $64 \pm 15$  years; range: 21–99 years).

Inclusion criteria were known hepatic lesion other than simple liver cyst, histopathology, or contrast-enhanced CT, MRI or PET/CT serving as standard of reference, and available CEUS DICOM clips in our picture archive. Regarding CEUS dataset either the arterial phase had to be long enough to include both the arrival of the contrast medium as well as the peak enhancement, or an additional clip during the portal venous phase had

to exist, furthermore at least one clip during the late phase was mandatory. Cases were excluded, when CEUS datasets were only available in overlay to B-mode images due to technical problems during post-processing ( $n = 24$ ), due to severe motion artifacts ( $n = 12$ ), invisibility of the hepatic lesion in CEUS ( $n = 7$ ) or due to incomplete CEUS dataset ( $n = 2$ ) (Figure 1).



**Figure 1.** Flow chart of the study population and excluded cases.

## 2.2. CEUS

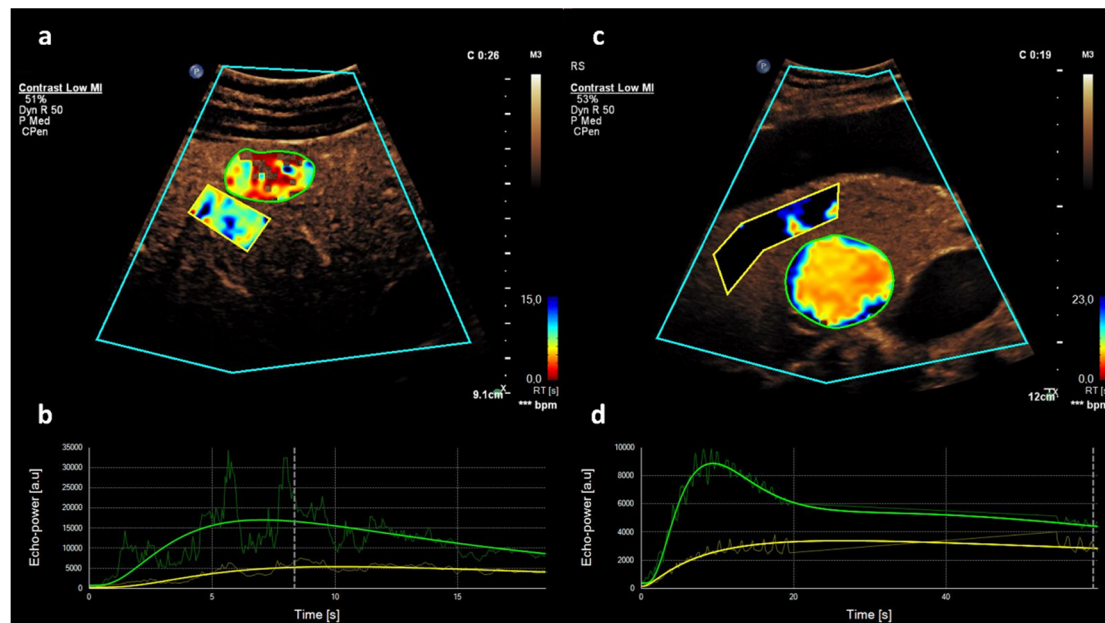
Contrast-enhanced ultrasound was performed by one skilled radiologist with experience since 2000 (EFSUMB Level 3). All CEUS examinations were performed with up-to-date ultrasound devices (ACUSON Sequoia, S2000 or S3000—Siemens Healthineers, Mountain View, CA, USA; EPIQ 7—Philips, Seattle, WA, USA). Siemens systems provided C4-1 and C6-1 HD transducers and the Philips system provided a C9-2 transducer. All examinations were carried out with low mechanical index ( $<0.2$ ) to prevent early destroying of the microbubbles.

After B-mode ultrasound and Color Doppler, 2.4 mL of Sulphur hexafluoride microbubbles (SonoVue, Bracco International B.V., Milan, Italy) were injected to a cubital vein followed by a flush of 5–10 mL saline 0.9%. Data sets of the arterial phase were recorded from the first arrival of contrast agent in the liver vessels. To reduce the destruction of the microbubbles, transducers were switched on only temporally for about 30 s to evaluate contrast enhancement during each the arterial (10–45 s), portal (30–120 s) and late phases (120–180 s). No adverse effects were registered during and after CEUS examinations.

## 2.3. Quantitative CEUS Assessment

In order to process and analyze the datasets, we used available proprietary software (VueBox; Bracco, Suisse SA, Plan-les-Ouates, Genève-Switzerland). For each of the transducers listed above, a calibration file was applied, afterwards delimitation region of interest

(ROI) was set for each uncompressed DICOM cine loop and motion correction was performed using a retrospective trigger box over the lung and liver. A ROI was then manually drawn within the target lesion. The entire lesion was included in the ROI, sparing necrotic parts, large vessels or thrombosis that otherwise likely would confound the analysis. In addition, we selected a reference region (REF) within the surrounding, normal-appearing liver tissue in the same depth from the transducer as the target lesion (Figure 2).



**Figure 2.** Rise time (RT) in hemangioma and hepatocellular carcinoma. CEUS of the liver with color maps, from red (fast enhancement) to blue (slow enhancement) (a,c) and signal intensity curves (b,d) during the arterial phase in a 59-year-old male patient with liver hemangioma and steatosis hepatitis (a) in comparison to a 67-year-old male patient suffering from hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis (c). The RT of contrast enhancement until the peak enhancement (green curves) differs significantly between the two different target lesions (green) and the surrounding normal liver tissue (yellow). While in hemangioma the curve rises and flattens slowly (b), in HCC the RT is much shorter.

Both within the target lesion and REF, the brightness of the pixels was fitted over time resulting in time–intensity curves of perfusion. Both the rise time (RT) of contrast enhancement and a late phase ratio (LPR) were calculated. The RT describes the early contrast dynamics until peak enhancement. Its starting point is calculated from the enhancement curve as intersection of a tangent to the maximum slope with the time axis [16]. The LPR quantifies the contrast enhancement in the late phase as hypo-, iso- or hyperenhancement calculating the signal intensity ratio ROI/REF during the late phase.

The statistical analysis was performed with MS Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) and Stata-IC15.1 (StataCorp LLC, College Station, TX, USA). For descriptive statistics means  $\pm$  standard deviations (SD) of all quantitative perfusion parameters were calculated. Benign and malignant FLL, as well as hemangiomas in particular and malignant FLL, were studied and compared. To test for differences of perfusion parameters Student's *t*-test and ROC analyses were applied. Tests were considered significant at  $p < 0.05$ . For each parameter a cut-off was defined. Sensitivity, specificity, accuracy, positive likelihood ratio (LR+) and negative likelihood ratio (LR−) were calculated.

To evaluate the relationship between the likelihood of a lesion being benign, or an hemangioma, and the US-derived measures RT and LPR, a logistic regression model

$$p(y = 1) = \frac{e^{\beta_0 + \beta_1 \times LPR + \beta_2 \times RT}}{1 + e^{\beta_0 + \beta_1 \times LPR + \beta_2 \times RT}}$$

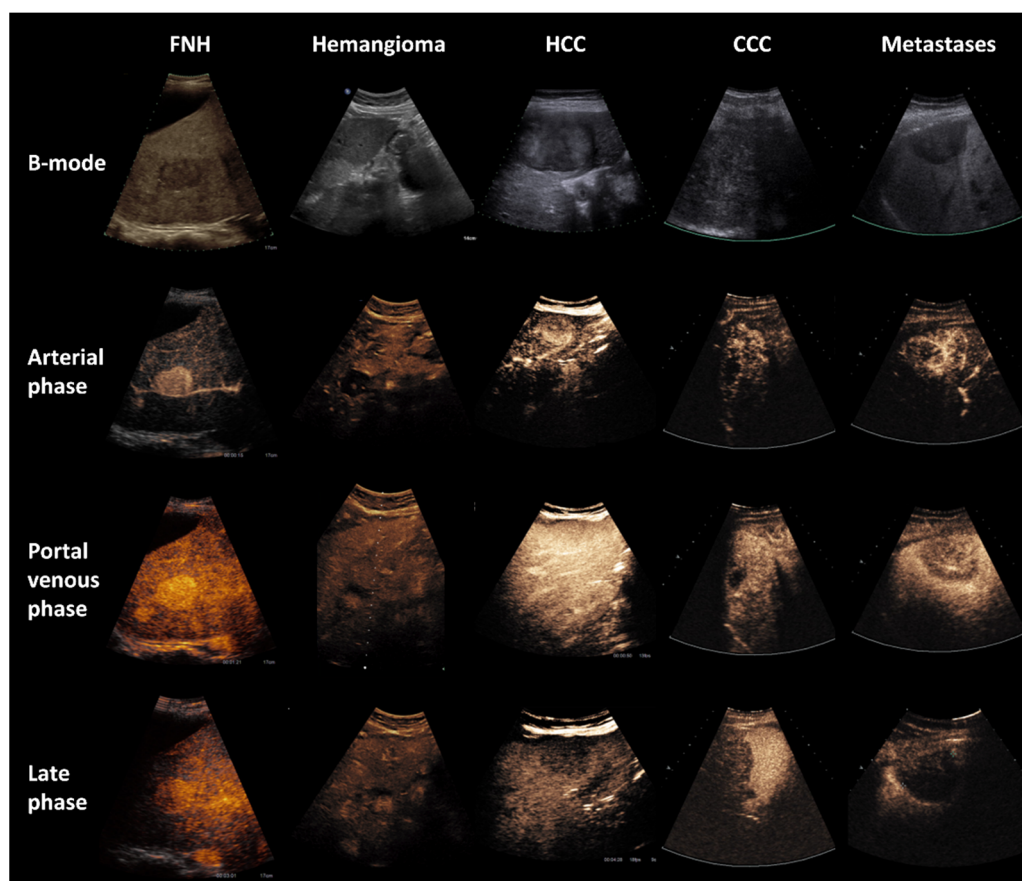


was fitted to the observed data. The statistical analysis was performed with the logistic function in Stata-IC15.1 (StataCorp LLC, College Station, TX, USA) [17]. To illustrate the predictive potential, another ROC analysis was performed directly on the logistic regression results. The AUC was again used as a measure of diagnostic performance.

### 3. Results

#### 3.1. Patient Characteristics

Following our inclusion and exclusion criteria, we included 139 FLL in 134 patients (female/male = 75/64). Forty-four benign liver lesions were examined including focal nodular hyperplasia (FNH;  $n = 20$ ), hemangioma ( $n = 16$ ) and adenoma ( $n = 8$ ). The group of the malignant FLL ( $n = 95$ ) comprised hepatocellular carcinoma (HCC;  $n = 30$ ), cholangiocellular carcinoma (CCC;  $n = 16$ ) and metastases ( $n = 49$ ) (see example images in Figure 3). The standard of reference for the classification of FLL was histopathology ( $n = 60$ ), imaging other than CEUS ( $n = 75$ ) or follow up ( $n = 4$ ). For precise distribution of age, tumor entity, and reference standard see Table 1. The arterial enhancement phase was feasible for scrutiny in 90 cases, the late phase in 134 cases (see Table 1). In 85 cases both arterial and late phase were analyzed.



**Figure 3.** B-mode and CEUS of the liver in different focal liver lesions. 1st column: CEUS in a 26-year-old female with focal nodular hyperplasia (FNH); Bright hyperenhancement of contrast agent in all phases. 2nd column: CEUS in a 39-year-old male with hemangioma; Slow contrast enhancement in the arterial and portalvenous phase, approximate isoenhancement in the late phase. 3rd column: CEUS in a 51-year-old female with hepatocellular carcinoma (HCC); Bright contrast enhancement in arterial and portalvenous phase, wash-out in the late phase. 4th column: CEUS in a 42-year-old female with cholangiocellular carcinoma (CCC); Contrast enhancement in arterial and portalvenous phase, wash-out in the late phase. 5th column: CEUS in a 54-year-old female with liver metastases of breast cancer; Contrast enhancement in the arterial phase, wash-out with beginning in the portalvenous phase.

**Table 1.** Study cohort (*n* = 139) with subgroups of different focal liver lesions.

Entity	<i>n</i>	Art. Phase	Late Phase	M/F	Age	Tumor Size	Cirrhosis	Evaluation			Previous Treatments
								Histo	CT/MR	Follow up	
<b>Total</b>	139	90	134	64/75	59 ± 17	3.4 ± 2.7	28	60	75	4	
FNH	20	15	20	3/17	39 ± 13	4.4 ± 2.6	0	3	14	3	
Hemangioma	16	10	16	5/11	50 ± 11	2.2 ± 1.9	1		16		
Adenoma	8	5	8	3/5	49 ± 23	2.6 ± 1.5	0	3	4	1	1× partial resection
HCC	30	17	28	24/6	62 ± 9	3.7 ± 2.8	26	9	21		2× TACE 1× liver transplant
CCC	16	13	14	8/8	68 ± 14	5.3 ± 3.2	0	16	0		2× partial resection, 1× PDT
<b>Metastasis</b>											
NET	14	7	14	8/6	62 ± 17	3.8 ± 3.7	0	8	6		3× RPT 1× hemi-hepatectomy 1× TACE
Breast Ca	7	6	7	0/7	67 ± 14	2.8 ± 2.0	1	4	3		
Pancreatic Ca	14	9	13	6/8	69 ± 12	1.1 ± 0.3	0	9	5		1× liver transplant
CRC	14	8	14	7/7	70 ± 13	2.7 ± 2.0	0	8	6		2× partial resection

M/F: male/female; FNH: Focal nodular hyperplasia; HCC: Hepatocellular carcinoma; CCC: Cholangiocellular carcinoma; NET: neuroendocrine tumor; CRC: colorectal carcinoma; TACE: transarterial chemoembolization, PDT: photodynamic therapy, RPT: radiolabeled peptide therapy.

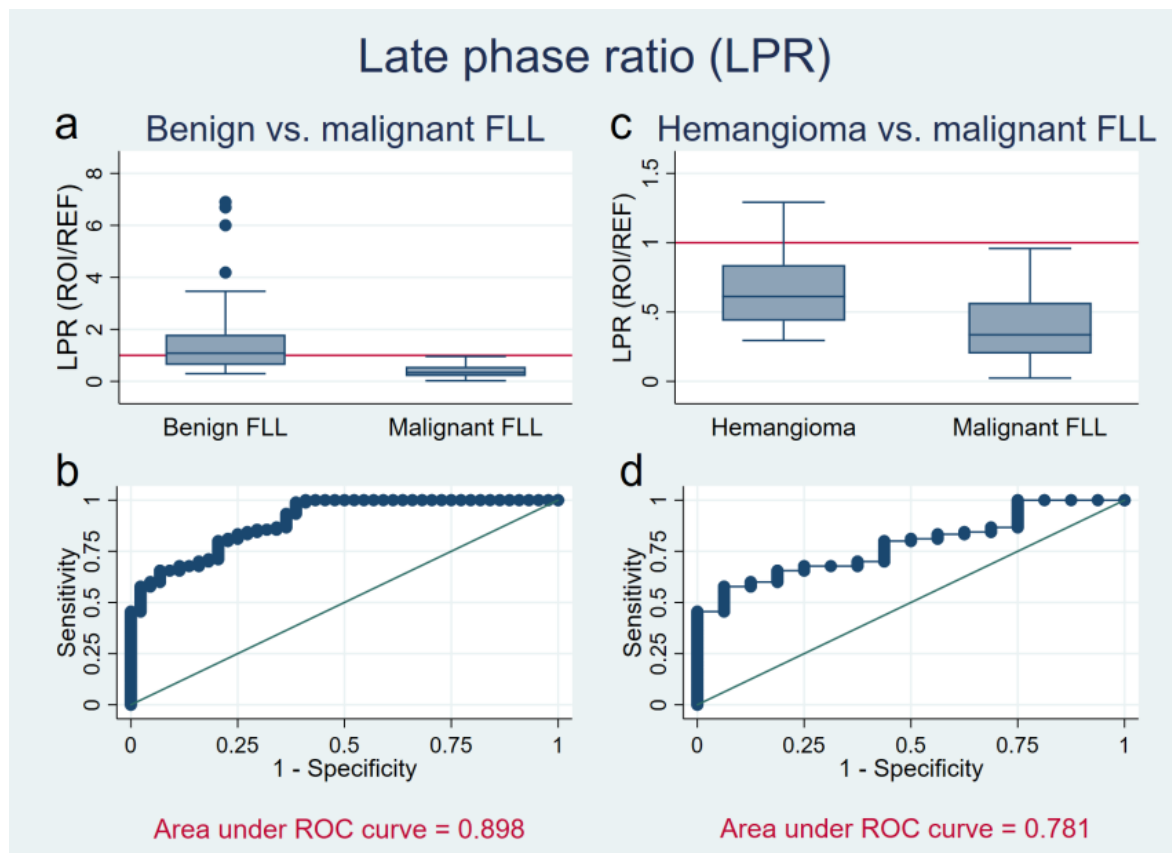
### 3.2. Late Phase Ratio

Signal intensity in the late phase was assessed in relation to the surrounding parenchyma by the LPR (ROI/REF). LPR was  $0.38 \pm 0.23$  (range: 0.02–0.96) for malignant lesions with a ratio less than one for all FLL apart from one single value in the CCC group, which was isoechogenic (0.96) (see Figure 4). For benign FLL hypo-, iso- and hyperenhancement occurred with a LPR of  $1.59 \pm 1.59$  (range: 0.30–6.90). As expected FNHs showed a strong contrast enhancement in the late phase (LPR:  $2.42 \pm 2.00$ , range: 0.43–6.90) in the vast majority of cases while adenomas were almost always isoechogenic, sometimes with mild hypo- or hyperenhancement (LPR:  $1.34 \pm 0.77$ , range: 0.54–2.47). Hemangiomas differed in their appearance and were mildly hypoechogenic in the late phase with LPR:  $0.67 \pm 0.30$  (range: 0.30–1.29).

Altogether, the LPR of benign entities significantly differed from malignant entities in the late phase ( $p < 0.001$ ). Calculating the ROC curve of LPR resulted in an area under the curve (AUC) of 0.898 (see Figure 4). With a cut off at 1.0 (ROI/REF), every measurable hypoechogenicity is suspicious for malignancy. The sensitivity in this case is at 100% with a specificity of 56.8%, accuracy of 85.8%, LR+ of 2.3 and LR- of 0.0.

Focusing on hemangiomas, those lesions which showed only slight hypoechoic appearance in comparison to the surrounding tissue in the late phase (LPR:  $0.67 \pm 0.30$ ; range: 0.30–1.29) differed significantly from the hypoechogenicity of malignant lesions which were markedly hypoechoic (LPR:  $0.38 \pm 0.23$ ; range: 0.02–0.96;  $p < 0.001$ ) and must not be confused with a real washout of contrast media. This pseudo-washout appearance is thought to be due to microbubble rupture within the hemangioma in case of a prolonged insonation. Similar findings were reported from Gianetti et al. [18]. The ROC curve in discriminating hemangioma from malignant FLL resulted in an AUC of 0.781 (see Figure 4). Assuming a LPR of 0.6 as cut off, i.e., strong hypoechogenicity, results in a sensitivity for

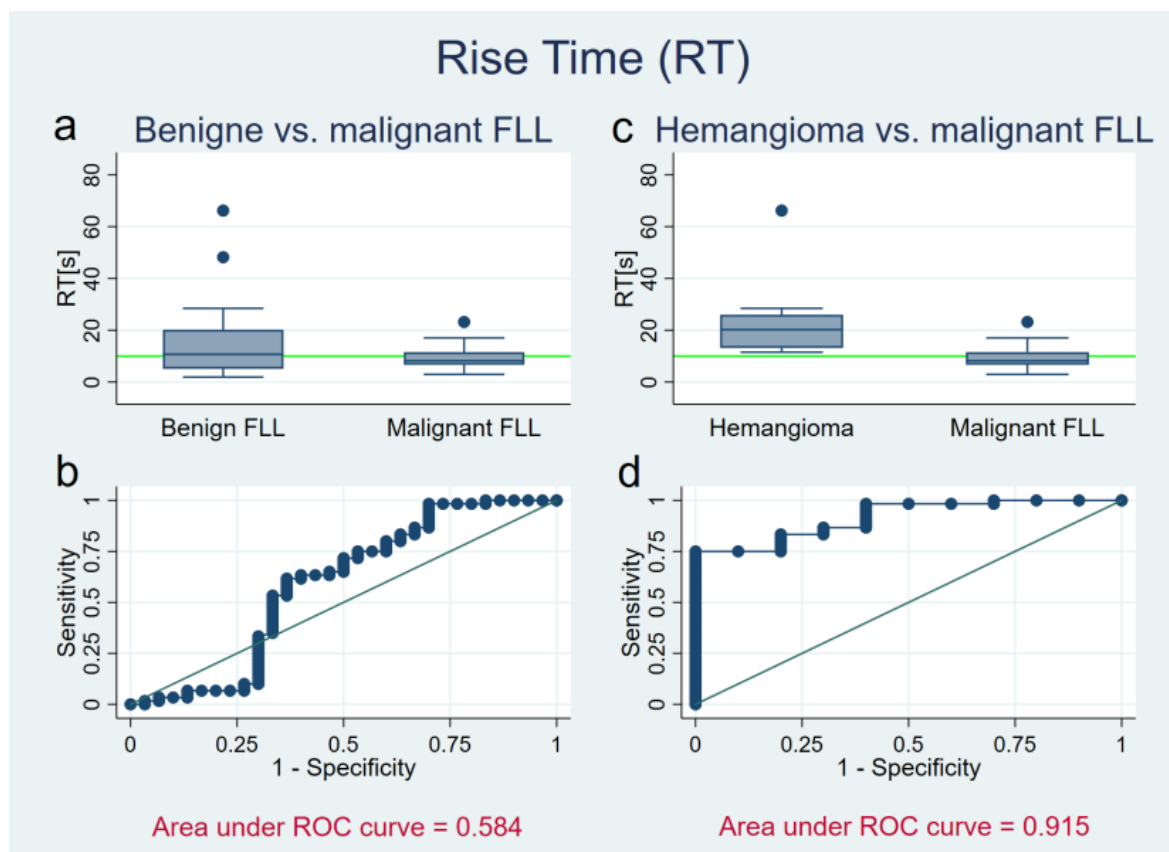
malignancy of 83.3%, a specificity of 37.5%, diagnostic accuracy of 76.4%, LR+ of 1.3 and LR- of 0.4.



**Figure 4.** Late phase ratio (LPR) of benign liver lesions (a,b), and in a subgroup analysis of hemangiomas (c,d) versus malignant focal liver lesions (FLL). (a,c) The Y axis shows the LPR (region of interest/reference) of benign (a) FLL and hemangiomas (c) in comparison to malignant FLL. Red reference line at 1, values below indicating hypoechogenicity, values above hyperechogenicity. For malignant tumors, the ratio lies below 1 and therefore differ significantly ( $p < 0.001$ ) from benign FLL (a). Hemangiomas present variable, in many cases mildly hypoechoic. Still, they differ significantly from malignancies ( $p < 0.001$ ) (c). (b,d) ROC curve of LPR (X axis: 1-Specificity; Y axis: Sensitivity) in discriminating malignant from benign liver lesions (Area under ROC curve = 0.898) (b), and malignant lesions from hemangiomas (Area under ROC curve = 0.781) (d).

### 3.3. Rise Time

Rise time for benign FLL (hemangioma, FNH, and adenoma) was  $14.8 \pm 13.8$  s (range: 1.9–66.2 s). Rise time for malignant FLLs was  $9.3 \pm 3.8$  s (range: 3.0–23.2 s). In hemangiomas and liver cell adenomas it took significantly longer until the maximum contrast agent concentration was reached compared with other FLLs (adenoma:  $22.8 \pm 15.3$  s,  $p = 0.002$ ; hemangioma:  $23.4 \pm 16.2$  s,  $p < 0.001$ ), whereas FNHs ( $6.4 \pm 0.7$  s;  $p = 0.022$ ) showed a faster enhancement than other FLLs ( $12.1 \pm 9.4$  s). The RT of hemangiomas was significantly longer than in malignant FLLs ( $p < 0.001$ ) resulting in an AUC of 0.915. Values of RT less than 18.2 s as cut-off resulted in a sensitivity of 98.3%, specificity of 50.0%, diagnostic accuracy of 91.4%, a LR+ 2.0 and LR- of 0.0. When RTs of all benign lesions were compared to those of malignant tumors, values were also significantly different ( $p = 0.005$ ), however ROC analysis revealed only a weak diagnostic performance resulting in an AUC of 0.584 (see Figure 5). Therefore, it was not applicable to define a cut-off here.

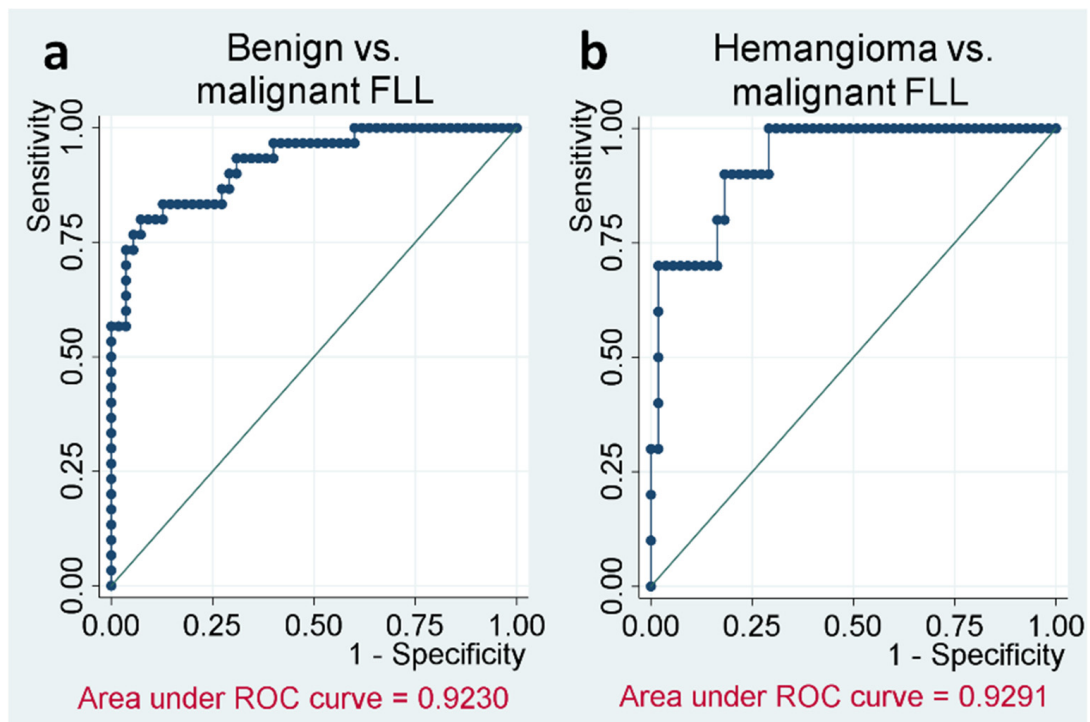


**Figure 5.** Rise time (RT) of benign liver lesions (a,b), and in a subgroup analysis of hemangiomas (c,d) versus malignant focal liver lesions (FLL). (a,c) The Y axis shows the RT of benign (a) FLL and hemangiomas (c) in comparison to malignant FLL. The green reference line is at 10 s. All hemangiomas lie over it, most malignancies lie beneath. Benign lesions present a wide spreading. (b,d) ROC curve of RT (X axis: 1-Specificity; Y axis: Sensitivity) in discriminating malignant from benign liver lesions (Area under ROC curve = 0.584) (b) and malignant lesions from hemangiomas (Area under ROC curve = 0.915) (d).

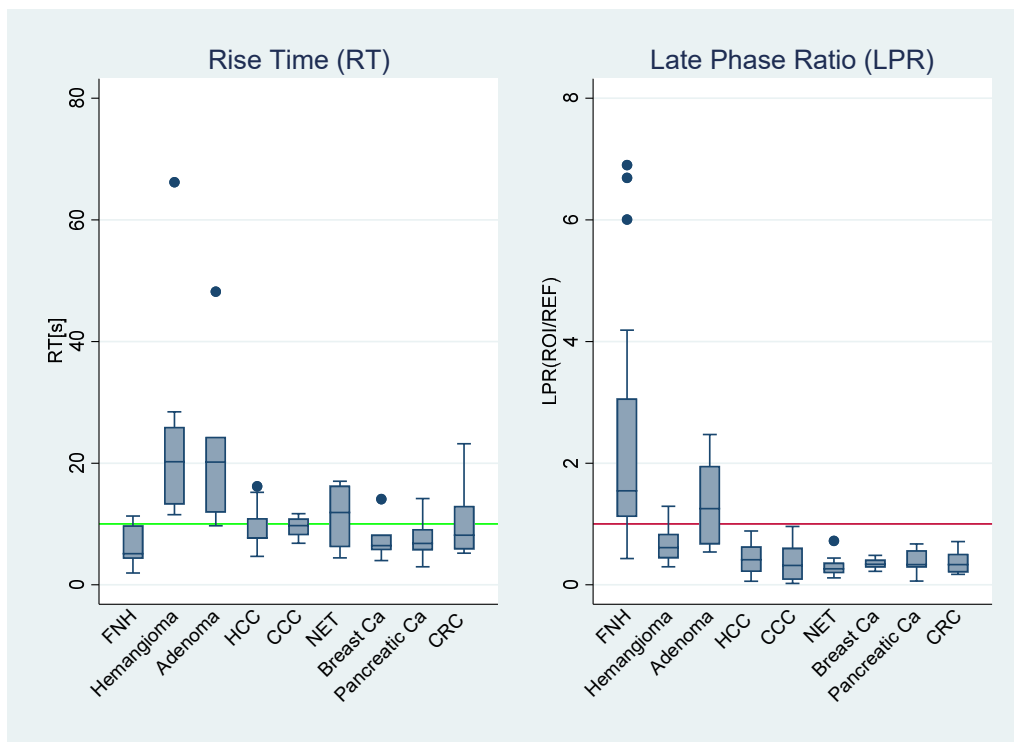
### 3.4. Logistic Regression

Logistic regression analysis resulted in higher diagnostic performance for distinguishing benign and malignant FLL than each parameter individually with an AUC of 0.923. For differentiating hemangioma and malignant tumors, the combined area under the ROC curve was comparably good at 0.929 (see Figure 6). The log of the odds of a lesion being benign vs. malignant FLL were positively related to LPR ( $\exp(\beta_1_{LPR}) = 380$ , 95% C.I. 20.8–6960,  $p < 0.001$ ) and positively related to RT ( $\exp(\beta_2_{RT}) = 1.2$ , 95% C.I. 1.02–1.30,  $p = 0.025$ ). Likewise, for hemangioma vs. malignant FLL, LPR showed positive, but not significant, relation ( $\exp(\beta_1_{LPR}) = 19.2$ , 95% C.I. 0.35–1060,  $p = 0.149$ ) and RT was positively related to hemangioma ( $\exp(\beta_2_{RT}) = 1.3$ , 95% C.I. 1.09–1.63,  $p = 0.004$ ). An overview over the descriptive statistics of all different sub-entities is presented by the box plots of Figure 7.





**Figure 6.** Rise time and late phase ratio combined in logistic regression (X axis: 1-Specificity; Y axis: Sensitivity). (a) The combination of parameters differs well between benign lesions and malignancies. The area under ROC curve is 0.923. (b) The combination of parameters differs well between hemangiomas and malignancies. The area under ROC curve is 0.929.



**Figure 7.** Box plots over all sub-entities. Rise time (RT) and late phase ratio (LPR) of all sub-entities. The green reference line is at 10 s, the red line at “1” distinguishes hyper- and hypoechogenicity of the liver lesions in the late phase. NET/Breast Ca/Pancreatic Ca/CRC denote the corresponding liver metastasis. FNH: focal nodular hyperplasia; HCC: hepatocellular carcinoma; CCC: cholangiocellular carcinoma; NET: neuroendocrine tumor; CRC: colorectal carcinoma.

#### 4. Discussion

In this study, we retrospectively analyzed the quantified contrast enhancement pattern of different focal liver lesions (FLL) in CEUS, considering rise time (RT) and late phase ratio (LPR). Both RT and LPR significantly differed between benign and malignant tumors. The combination of both parameters in a logistic regression further improved the discrimination between those groups. The combination of RT and LPR was particularly useful to distinguish hemangiomas from malignancies.

LPR is a quantified parameter of contrast intensity obtained during the late phase, which is, in case of hypoenhancement, a well-established qualitative criterion for malignancy [10]. A significantly lower LPR was observed in malignant compared to benign focal liver lesions (FLL), congruent to the study of Goertz et al. 2010 ( $n = 33$ ) [15]. Wildner et al. 2019 quantified late phase hypoenhancement in various tumor subgroups like focal nodular hyperplasia (FNH), hepatocellular carcinoma (HCC), cholangiocellular carcinoma, and metastases from cancer of the breast, pancreas, colon and melanoma ( $n = 148$ ) [19] and found significant differences between FNH (higher signal intensity) and metastases of pancreatic and colorectal carcinoma. In most studies, only few benign lesions with hypoenhancement in the late phase were observed. Especially hemangiomas can be misinterpreted as malignant tumors because of their slight late phase hypoenhancement [10,20,21]. In our study, several hemangiomas with an LPR smaller than one were found, which, however, must not be interpreted as a classical wash-out phenomenon, since those hemangiomas are often only slightly vascularized and already appear isoechogenic during the arterial phase. Even if they didn't lose contrast over the time, they might appear darker than the surrounding tissue, simulating wash-out which could confuse for malignancy. Our results show that there is still a measurable, significant difference between hemangiomas and malignant FLL using the LPR, which is smaller in malignancies and a cut off at 0.6 was suggested to differentiate marked hypoechogenicity from pseudo wash-out.

The RT showed large variations within the heterogeneous group of benign lesions. In our study, RT was particularly long in hemangiomas and adenomas and shortest in FNHs. These findings are in accordance with former studies from Pei et al. 2013 [22], who found a significant shorter time to peak in FNH compared with HCC ( $n = 100$ ), and Zheng et al. 2013 [23], who observed the same tendency ( $n = 60$ ).

In general, it is assumed that a short RT is related to arterial hypervascularity [24], as the number of feeding arteries show a larger contribution to contrast inflow than sinusoidal capillarization [25]. In hemangiomas, the long RT reflects the well-known progressive centripetal fill-in during the extended portal-venous phase [21] and differs strongly from malignancies. In our study population RT was significantly longer for hemangioma ( $23.4 \pm 16.2$  s,  $p < 0.001$ ) than for malignant lesions ( $9.3 \pm 3.8$  s) and could discriminate these two entities with a high diagnostic accuracy (AUC: 0.915). When comparing all benign to malignant liver lesions, RT showed only a moderate diagnostic performance (AUC: 0.584), which can be mainly explained by the short RT of FNH ( $6.4 \pm 0.7$  s) which appear different than most of the other benign liver lesions and therefore confound the quantitative assessment. To overcome these limitations, we suggest the following algorithm: if the LPR is  $>1$  and the lesion visually presents hyperechoic, we mostly expect a benign focus. In this case a short RT speaks for FNH and strengthens the diagnosis. If the LPR is markedly  $<1$ , a diagnosis of malignancy is recommended. An LPR just little below 1 with only mild visual hypoechogenicity and a long RT strongly suggests hemangioma is the correct diagnosis. The good diagnostic performance of the combined parameters in this study is shown by the receiver operator curve (ROC) after logistic regression with an AUC for hemangioma vs. malignant FLL of 0.929 and for benign vs. malignant FLL of 0.923. However, further prospective studies are necessary to investigate the clinical value and diagnostic performance of the proposed diagnostic algorithm.

Its direct accessibility and repeatability, cost-effectiveness, and non-ionizing excellent safety profile make multiparametric CEUS a powerful imaging tool for assessing focal liver lesions [26]. Furthermore, safe application of CEUS in children and during pregnancy

was recently described [27–29] and strengthens its pivotal role in assessing FLL also with respect to inclusion of CEUS in hepatic imaging guidelines in the future [2,30].

There are some limitations to this study. The lesions found in CEUS were evaluated according to clinical standards, e.g., histological diagnostic or further cross-sectional imaging. Especially typical benign tumors or HCC with typical imaging appearance in patients with cirrhosis do not justify an invasive procedure to confirm the diagnosis. Therefore, in four cases (three FNH, one adenoma), the diagnosis was confirmed as benign by constant CEUS follow-up with a stable size during a period of at least 24 months. In these cases, a repeated misdiagnosis within the benign spectrum is theoretically possible.

Our study population includes a great diversity in tumor diameter (0.6–10 cm), and pretreatments (see Table 1). Even if tumor size and previous treatments might influence the dynamic of the contrast enhancement [31,32], a systematic error is unlikely, as different tumor sizes were distributed almost evenly between benign and malignant lesions, while previous treatments ( $n = 15$ ) were contributed comparably over the different malignant subgroups.

## 5. Conclusions

In conclusion, we were able to show that quantification of CEUS parameters with assessment of the rise time of contrast enhancement until its peak and calculation of a late phase lesion-to-background ratio is helpful to differentiate malignant from benign liver lesions, particularly in hemangiomas with slight hypoenhancement in the late phase and might contribute to an objective and more specific diagnosis of FLL in CEUS.

**Author Contributions:** Conceptualization, S.S., D.-A.C. and M.A.; methodology, S.S., M.A. and M.I.; software, M.I.; validation, T.G., V.S. and J.R.; formal analysis, S.S. and T.G.; investigation, D.-A.C.; resources, J.R.; data curation, S.S. and M.A.; writing—original draft preparation, S.S.; writing—review and editing, M.A. and V.S.; visualization, S.S. and M.A.; supervision, D.-A.C.; project administration, M.A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki. We received approval from the Institutional Review Board “Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München”, project number 20-1045, 30 November 2020.

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Strobel, D.; Bernatik, T. Diagnostik bei fokalen Leberläsionen: Stellenwert der Kontrastmittelsonographie. *Dtsch. Ärzteblatt* **2006**, *103*, 789–793.
2. Galle, P.R.; Forner, A.; Llovet, J.M.; Mazzaferro, V.; Piscaglia, F.; Raoul, J.L. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol.* **2018**, *69*, 182–236. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Bernatik, T.; Seitz, K.; Blank, W.; Schuler, A.; Dietrich, C.F.; Strobel, D. Unclear Focal Liver Lesions in Contrast-Enhanced Ultrasonography—Lessons to be Learned from the DEGUM Multicenter Study for the Characterization of Liver Tumors. *Ultraschall Med. Eur. J. Ultrasound* **2010**, *31*, 577–581. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Strobel, D.; Seitz, K.; Blank, W.; Schuler, A.; Dietrich, C.; Von Herbay, A.; Friedrich-Rust, M.; Kunze, G.; Becker, D.; Will, U.; et al. Contrast-enhanced Ultrasound for the Characterization of Focal Liver Lesions—Diagnostic Accuracy in Clinical Practice (DEGUM multicenter trial). *Ultraschall Med. Eur. J. Ultrasound* **2008**, *29*, 499–505. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Seitz, K.; Bernatik, T.; Strobel, D.; Blank, W.; Friedrich-Rust, M.; Strunk, H.; Greis, C.; Kratzer, W.; Schuler, A. 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 Med. Eur. J. Ultrasound* **2010**, *31*, 492–499. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Wilson, S.R.; Burns, P.N.; Kono, Y. Contrast-Enhanced Ultrasound of Focal Liver Masses: A Success Story. *Ultrasound Med. Biol.* **2020**, *46*, 1059–1070. [[CrossRef](#)]
7. Chiorean, L.; Cantisani, V.; Jenssen, C.; Sidhu, P.; Baum, U.; Dietrich, C. Focal masses in a non-cirrhotic liver: The additional benefit of CEUS over baseline imaging. *Eur. J. Radiol.* **2015**, *84*, 1636–1643. [[CrossRef](#)]

8. Westwood, M.; Joore, M.; Grutters, J.; Redekop, K.; Armstrong, N.; Lee, K.; Gloy, V.; Raatz, H.; Misso, K.; Severens, J.; et al. Contrast-enhanced ultrasound using SonoVue<sup>®</sup> (sulphur hexafluoride microbubbles) compared with contrast-enhanced computed tomography and contrast-enhanced magnetic resonance imaging for the characterisation of focal liver lesions and detection of liver metastases: A systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health Technol. Assess.* **2013**, *17*, 1–243.
9. Strobel, D.; Seitz, K.; Blank, W.; Schuler, A.; Dietrich, C.F.; Von Herbay, A.; Friedrich-Rust, M.; Bernatik, T. Tumor-Specific Vascularization Pattern of Liver Metastasis, Hepatocellular Carcinoma, Hemangioma and Focal Nodular Hyperplasia in the Differential Diagnosis of 1349 Liver Lesions in Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS). *Ultraschall Med. Eur. J. Ultrasound* **2009**, *30*, 376–382. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Claudon, M.; Dietrich, C.F.; Choi, B.I.; Cosgrove, D.O.; Kudo, M.; Nolsøe, C.P.; Piscaglia, F.; Wilson, S.R.; Barr, R.G.; Chammas, M.C.; et al. Guidelines and Good Clinical Practice Recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Liver—Update 2012. *Ultrasound Med. Biol.* **2013**, *39*, 187–210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Battaglia, V.; Cervelli, R. Liver investigations: Updating on US technique and contrast-enhanced ultrasound (CEUS). *Eur. J. Radiol.* **2017**, *96*, 65–73. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Wilson, S.R.; Burns, P.N. An Algorithm for the Diagnosis of Focal Liver Masses Using Microbubble Contrast-Enhanced Pulse-Inversion Sonography. *Am. J. Roentgenol.* **2006**, *186*, 1401–1412. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Gatos, I.; Tsantis, S.; Spiliopoulos, S.; Skouroliakou, A.; Theotokas, I.; Zoumpoulis, P.; Hazle, J.D.; Kagadis, G.C. A new automated quantification algorithm for the detection and evaluation of focal liver lesions with contrast-enhanced ultrasound. *Med. Phys.* **2015**, *42*, 3948–3959. [[CrossRef](#)]
14. Beyer, L.P.; Pregler, B.; Wiesinger, I.; Stroszczyński, C.; Wiggermann, P.; Jung, E.-M. Continuous Dynamic Registration of Microvascularization of Liver Tumors with Contrast-Enhanced Ultrasound. *Radiol. Res. Pract* **2014**, *2014*, 347416. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Goertz, R.S.; Bernatik, T.; Strobel, D.; Hahn, E.G.; Haendl, T. Software-based quantification of contrast-enhanced ultrasound in focal liver lesions—A feasibility study. *Eur. J. Radiol.* **2010**, *75*, e22–e26. [[CrossRef](#)]
16. Bracco Suisse SA—Software Applications: VueBox<sup>™</sup> v5.0: Quantifizierungstoolbox Bedienungsanleitung; Bracco Suisse SA: Genève, Switzerland, 2014.
17. Bittmann, Felix (2018): Einführung in die Logistische Regression mit Stata. Available online: [http://felix-bittmann.de/downloads/artikel/einfuehrung\\_logit\\_regression\\_mit\\_Stata.pdf](http://felix-bittmann.de/downloads/artikel/einfuehrung_logit_regression_mit_Stata.pdf) (accessed on 10 July 2021).
18. Giannetti, A.; Franci, L.; Grechi, C.; Giangregorio, F. Contrast-enhanced sonography in the diagnosis of hepatic hemangiomas: Atypical appearance due to the washout of microbubbles. *J. Clin. Ultrasound* **2012**, *41*, 361–365. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Wildner, D.; Schellhaas, B.; Strack, D.; Goertz, R.S.; Pfeifer, L.; Fiessler, C.; Neurath, M.F.; Strobel, D.; Fießler, C. Differentiation of malignant liver tumors by software-based perfusion quantification with dynamic contrast-enhanced ultrasound (DCEUS). *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **2019**, *71*, 39–51. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Chaubal, N.; Joshi, M.; Bam, A.; Chaubal, R. Contrast-Enhanced Ultrasound of Focal Liver Lesions. *Semin. Roentgenol.* **2016**, *51*, 334–357. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Bartolotta, T.V.; Vernuccio, F.; Taibbi, A.; Lagalla, R. Contrast-Enhanced Ultrasound in Focal Liver Lesions: Where Do We Stand? *Semin. Ultrasound CT MRI* **2016**, *37*, 573–586. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Pei, X.-Q.; Liu, L.; Xiong, Y.-H.; Zou, R.-H.; Chen, M.-S.; Li, A.-H.; Cai, M.-Y. Quantitative analysis of contrast-enhanced ultrasonography: Differentiating focal nodular hyperplasia from hepatocellular carcinoma. *Br. J. Radiol.* **2013**, *86*, 20120536. [[CrossRef](#)]
23. Zheng, S.-G.; Xu, H.-X.; Liu, L.-N.; Wang, Y.; Zhang, Y.-F.; Guo, L.-H.; Liu, C.; Xu, J.-M.; Sun, L.-P.; Wu, J. Parametric imaging with contrast-enhanced ultrasound: Usefulness for characterization of dynamic effects of microvascularization for hepatocellular carcinoma and focal nodular hyperplasia. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **2013**, *55*, 375–389. [[CrossRef](#)]
24. Kong, W.-T.; Ji, Z.-B.; Wang, W.-P.; Cai, H.; Huang, B.-J.; Ding, H. Evaluation of Liver Metastases Using Contrast-Enhanced Ultrasound: Enhancement Patterns and Influencing Factors. *Gut Liver* **2016**, *10*, 283–287. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Pei, X.Q.; Liu, L.Z.; Zheng, W.; Cai, M.Y.; Han, F.; He, J.H.; Li, A.H.; Chen, M.S. Contrast-enhanced ultrasonography of hepatocellular carcinoma: Correlation between quantitative parameters and arteries in neoangiogenesis or sinusoidal capillarization. *Eur. J. Radiol.* **2012**, *81*, e182–e188. [[CrossRef](#)]
26. Seitz, K.; Strobel, D.; Bernatik, T.; Blank, W.; Friedrich-Rust, M.; Von Herbay, A.; Dietrich, C.F.; Strunk, H.; Kratzer, W.; Schuler, A. 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 Med. Eur. J. Ultrasound* **2009**, *30*, 383–389. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Piscaglia, F.; Bolondi, L. The safety of Sonovue<sup>®</sup> in abdominal applications: Retrospective analysis of 23188 investigations. *Ultrasound Med. Biol.* **2006**, *32*, 1369–1375. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Schwarze, V.; Marschner, C.; De Figueiredo, G.N.; Rübenthaler, J.; Clevert, D.-A. Single-Center Study: Evaluating the Diagnostic Performance and Safety of Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) in Pregnant Women to Assess Hepatic Lesions. *Ultraschall Med. Eur. J. Ultrasound* **2019**, *41*, 29–35. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Seitz, K.; Strobel, D. A Milestone: Approval of CEUS for Diagnostic Liver Imaging in Adults and Children in the USA. *Ultraschall Med. Eur. J. Ultrasound* **2016**, *37*, 229–232. [[CrossRef](#)]

30. Marrero, J.A.; Kulik, L.M.; Sirlin, C.B.; Zhu, A.X.; Finn, R.S.; Abecassis, M.M.; Roberts, L.R.; Heimbach, J.K. Diagnosis, Staging, and Management of Hepatocellular Carcinoma: 2018 Practice Guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* **2018**, *68*, 723–750. [[CrossRef](#)]
31. Yang, D.; Li, R.; Zhang, X.-H.; Tang, C.-L.; Ma, K.-S.; Guo, D.-Y.; Yan, X.-C. Perfusion Characteristics of Hepatocellular Carcinoma at Contrast-enhanced Ultrasound: Influence of the Cellular differentiation, the Tumor Size and the Underlying Hepatic Condition. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 4713. [[CrossRef](#)]
32. Kondo, T.; Maruyama, H.; Kiyono, S.; Sekimoto, T.; Shimada, T.; Takahashi, M.; Ogasawara, S.; Suzuki, E.; Ooka, Y.; Tawada, A.; et al. Intensity-Based Assessment of Microbubble-Enhanced Ultrasonography: Phase-Related Diagnostic Ability for Cellular Differentiation of Hepatocellular Carcinoma. *Ultrasound Med. Biol.* **2015**, *41*, 3079–3087. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



## Article

# Diagnostic Value of CEUS Prompting Liver Biopsy: Histopathological Correlation of Hepatic Lesions with Ambiguous Imaging Characteristics

Thomas Geyer <sup>1,\*</sup>, Dirk-André Clevert <sup>1</sup>, Sonja Schwarz <sup>1</sup>, Paul Reidler <sup>1</sup>, Sebastian Gassenmaier <sup>2</sup> , Thomas Knösel <sup>3</sup>, Johannes Rübenthaler <sup>1</sup> , Vincent Schwarze <sup>1</sup> and Marco Armbruster <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Radiology, Ludwig-Maximilians-University, 81377 Munich, Germany; dirk.clevert@med.uni-muenchen.de (D.-A.C.); sonjaschwarz128@gmail.com (S.S.); paul.reidler@med.uni-muenchen.de (P.R.); johannes.ruebenthaler@med.uni-muenchen.de (J.R.); vincent.schwarze@med.uni-muenchen.de (V.S.); marco.armbruster@med.uni-muenchen.de (M.A.)

<sup>2</sup> Department of Diagnostic and Interventional Radiology, University Hospital Tuebingen, 72076 Tuebingen, Germany; sebastian.gassenmaier@med.uni-tuebingen.de

<sup>3</sup> Institute of Pathology, Ludwig-Maximilians-University, 81377 Munich, Germany; Thomas.knoesel@med.uni-muenchen.de

\* Correspondence: thomas.geyer@med.uni-muenchen.de; Tel.: +49-89-4400-73620

**Abstract:** Background: Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) allows for dynamic analysis of vascularization patterns of unclear hepatic lesions. Our study aimed to evaluate the diagnostic performance of CEUS for further characterizing suspicious liver lesions by comparing findings from CEUS examinations with corresponding histopathology. Methods: Between 2005 and 2016, 160 patients with unclear liver lesions underwent CEUS followed by liver biopsy. All examinations were performed by an experienced consultant radiologist (EFSUMB Level 3) and included native B-mode ultrasound, Color Doppler, and CEUS. A second-generation blood pool contrast agent was applied for CEUS. Results: CEUS was successfully performed in all patients without occurrence of any adverse side effects. CEUS showed a sensitivity of 94.5%, a specificity of 70.6%, a true positive rate of 87.3%, and a true negative rate of 85.7% compared to histopathological results as the reference standard. Conclusions: CEUS represents a safe imaging modality with a high diagnostic accuracy in assessing both—benign and malignant—liver lesions compared to corresponding histopathological results.

**Keywords:** CEUS; contrast-enhanced ultrasound; liver; biopsy; hepatocellular carcinoma



**Citation:** Geyer, T.; Clevert, D.-A.; Schwarz, S.; Reidler, P.; Gassenmaier, S.; Knösel, T.; Rübenthaler, J.; Schwarze, V.; Armbruster, M. Diagnostic Value of CEUS Prompting Liver Biopsy: Histopathological Correlation of Hepatic Lesions with Ambiguous Imaging Characteristics. *Diagnostics* **2021**, *11*, 35.

<https://dx.doi.org/10.3390/diagnostics11010035>

Received: 8 November 2020

Accepted: 24 December 2020

Published: 27 December 2020

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Hepatocellular carcinoma (HCC) depicts the most common primary hepatic malignancy and the second most lethal cancer entity [1,2]. For HCC development, there is a strong predilection in men. Major risk factors comprise chronic hepatitis B and C infections, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), alcoholic liver disease (ALD), or congenital disorders like hemochromatosis [3]. Approximately 90% of HCC develop in underlying liver cirrhosis [4].

Imaging of patients with suspected HCC is of utmost importance and diagnosis is predominantly based on CT or MRI, while biopsy is only performed in indeterminate cases or to define immunologic treatment options [5,6]. The first line imaging tool to screen for HCC lesions in high-risk patients is conventional ultrasound, comprising native B-mode and Color Doppler.

Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) is a well-established, non-invasive method for efficient and cost-effective diagnostics [7–13]. The advantages of CEUS are based on its non-invasive nature, its direct availability and repeatability. Furthermore, the contrast agents applied in the context of CEUS present excellent safety profiles which are far superior compared to iodine- or gadolinium-based contrast media in case of computed tomography

(CT) and magnetic resonance imaging (MRI), respectively. Ultrasound contrast agents do not affect the renal or thyroid function, and allergic reactions occur less frequently [14]. Therefore, CEUS is increasingly applied in various medical fields and provides substantial added diagnostic value for differentiating hepatic lesions [7–12,15–18].

Contrast-enhanced ultrasound has been established as the third imaging modality in the definite diagnosis of HCC and was affirmed in the 2017 iteration of the Liver Imaging Reporting and Data System (CEUS LI-RADS) [19]. Besides, a variety of further benign or malignant hepatic lesions can be identified by applying CEUS [20]. However, the inherent dependency on operator experience makes the use of CEUS outside of high-volume centers controversial [21]. Still, it is among the recommended procedures to define HCC therapy solely according to CEUS. This is supported by reports of high sensitivity and specificity in studies with a focus on patients with cirrhosis [22–26].

In contrast to this extensive research on HCC, the real-world scenario of indeterminate, yet suspicious focal lesions requiring histopathological validation remains unexplored [17]. Therefore, the role of CEUS prompting liver biopsy in this setting needs further investigation. This gains importance, as specific guidelines are missing and peri- and postprocedural risks of biopsy like hemorrhage or tumor seeding need to be considered for each patient individually [21].

This study aimed to compare findings from CEUS examinations of suspicious liver lesions with corresponding histopathology as the reference standard and to evaluate the diagnostic performance of CEUS for further characterizing unclear hepatic lesions.

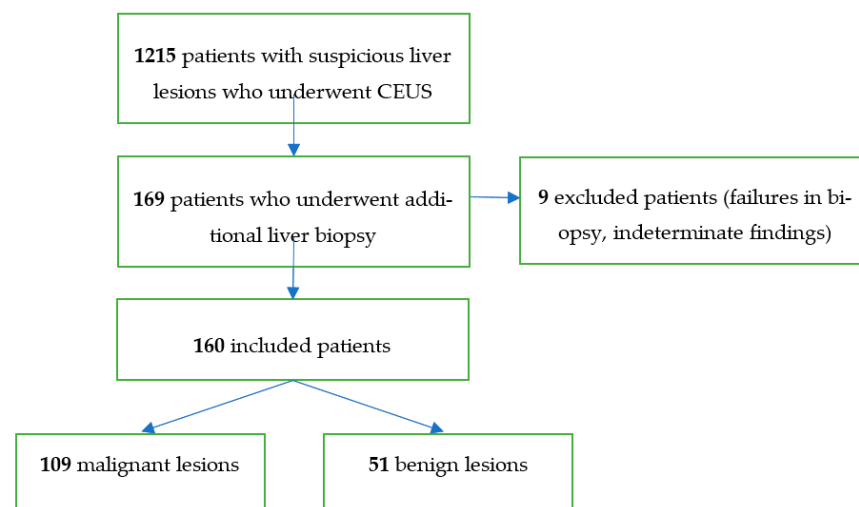
## 2. Materials and Methods

This retrospective single-center study was approved by the local institutional review board (Ethics Committee, Medical Faculty, Ludwig-Maximilians-University Munich; 17-087; date of approval: 14 March 2017). Informed consent was waived. All contributing authors followed the principles of the Declaration of Helsinki/Edinburgh 2002.

First of all, a database of all CEUS examinations between 2005 and 2016 with suspicion of a malignant liver lesion which were all performed by a single skilled radiologist with professional experience since 2000 (EFSUMB Level 3) was established. All included patients either had unclear liver lesions which had been detected using other imaging modalities and required further assessment by CEUS for definitive characterization, and/or suffered from conditions such as liver cirrhosis or malignant extrahepatic tumors (e.g., breast, lung, colon) and underwent CEUS in order to rule out malignant hepatic lesions. All CEUS examinations were performed with up-to-date high-end ultrasound devices (Siemens ACUSON Sequoia, S2000 and S3000, Mountain View, CA, USA; Philips EPIQ 7, Seattle, WA, USA) with adequate scanning protocols available at the date of the study corresponding to previous studies [18,27–29]. All transducers were suitable for abdominal imaging with a frequency ranging from 1.0 to 9.0 MHz. The Siemens ultrasound systems were used with a C4-1 and C6-1 HD probe, whereas the Philips ultrasound system required a C9-2 probe. All systems were programmed with a low mechanical index (<0.2) to prevent early microbubble destruction.

In all patients, we used 1.4–2.0 mL of a second-generation blood pool contrast agent (SonoVue<sup>®</sup>, Bracco, Milan, Italy) that was administered via a 20–22 gauge needle in an antecubital vein by a bolus injection followed by a saline flush of 5–10 mL. Following the contrast agent injection, cine loops of the CEUS study were acquired and saved in the picture archiving and communication system (PACS) of our institution. Mean examination time ranged between 3–5 min for the complete study.

In total, 1215 patients could be included. In a second step, all patients without histopathological assessment of the suspicious lesions were excluded resulting in 169 remaining patients. Nine patients had to be excluded due to failures in biopsy and indeterminate pathologic findings so that the final study group consisted of 160 patients (Figure 1). All sonographic reports were compared with the histopathological reports regarding the classification of the suspicious lesion into malignant or benign.



**Figure 1.** Flowchart illustrating the included patients who underwent CEUS followed by liver biopsy.

Proprietary software was used for the statistical analysis (IBM SPSS Statistics, Version 23, Armonk, NY, USA; Microsoft Excel 2016, Redmond, WA, USA; GraphPad Prism, Version 7.04 for Windows, GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). The sensitivity and specificity were calculated using the histopathological results as the reference standard. We calculated the true positive rate by dividing the number of patients which CEUS classified as malignant by the number of patients which were classified as malignant in histopathology, and the true negative rate by dividing the number of patients which CEUS classified as benign by the number of patients which were classified as benign in histopathology.

### 3. Results

In all included 160 patients, CEUS examinations were successfully conducted without occurrence of any adverse side effects. The mean age of the patients was 59 years (range: 20–83 years) with a male predominance (97 men, 63 women; ratio: 1.5:1). The mean liver lesion size was 2.6 cm (range: 0.5–8.7 cm). Image quality was sufficient in each case. The histopathological assessment was definitive in all cases.

The histopathological results are illustrated in Table 1. Most suspicious lesions were classified as metastases ( $n = 59$ ). Primary tumor entities were colorectal cancer ( $n = 14$ ), neuroendocrine tumors ( $n = 10$ ), pancreatic cancer ( $n = 7$ ), malignant melanoma ( $n = 5$ ), breast cancer ( $n = 5$ ), lung cancer ( $n = 5$ ), ovarian cancer ( $n = 4$ ), prostate cancer ( $n = 2$ ), renal cell carcinoma ( $n = 2$ ), leiomyosarcoma ( $n = 2$ ), duodenal cancer ( $n = 1$ ), mandibular cancer ( $n = 1$ ), and cervical cancer ( $n = 1$ ).

38 lesions were classified as HCC with 9 well differentiated, 17 moderately differentiated, and 12 poorly differentiated lesions.

In 43 cases pathological, but benign changes were diagnosed. In four cases, histopathology revealed histological features of hepatitis without patterns of malignancy. Two of these patients suffered from chronic hepatitis C and two patients from autoimmune hepatitis. In ten cases, fibrotic changes without patterns of malignancy were described, including four patients with mild liver fibrosis, two patients with moderate fibrosis, and four patients with advanced fibrotic changes of the liver parenchyma. Three cases were summarized to “other reactive changes” in Table 1. In these cases, histopathological assessment revealed minor nonspecific changes of the liver parenchyma which might have been caused by medication, intoxication, or inflammation. In thirteen cases which are classified as “inconspicuous” in Table 1, no pathological changes of the liver parenchyma were revealed in histopathological assessment.



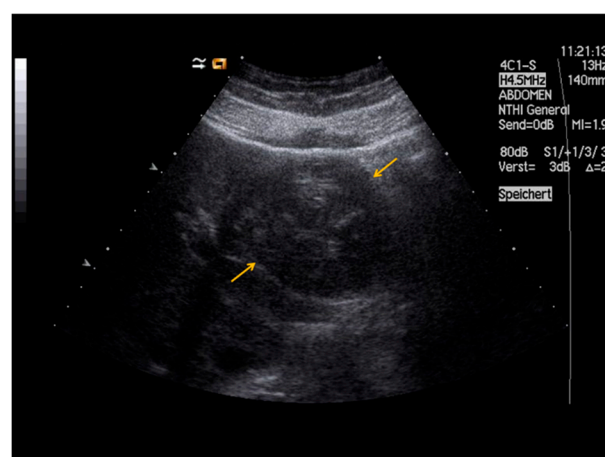
**Table 1.** Histopathological results.

Histopathology	Frequency
HCC	38
CCC	4
Metastasis	59
Lymphoma	4
HCC/CCC mixed type	4
Hemangioma	3
Cyst	2
Abscess	3
Hepatitis	4
Fibrosis	10
Cirrhosis	9
Candida infection	1
FNH	2
Hemangioma/FNH mixed type	1
Echinococcus cyst	1
Focal hepatic steatosis	3
Other reactive changes	3
Inconspicuous	13

HCC: hepatocellular carcinoma; CCC: cholangiocellular carcinoma; FNH: focal nodular hyperplasia.

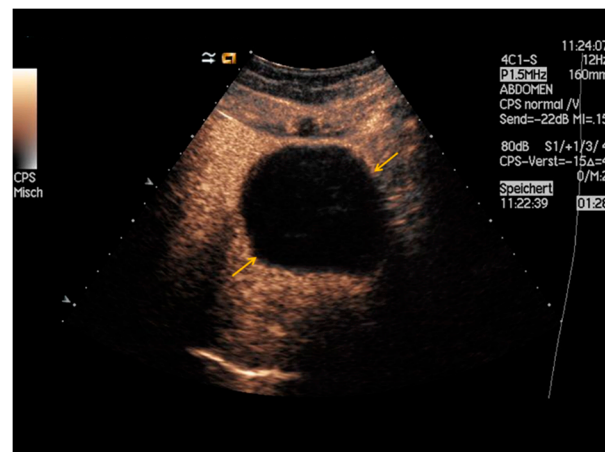
Findings from CEUS and histopathological assessment in patients with echinococcal cyst, HCC, and liver metastases are shown in Figures 2 and 4 and Section 3.

Regarding the classification of malignant lesions, CEUS showed a sensitivity of 94.5%, a specificity of 70.6%, a true positive rate of 87.3%, and a true negative rate of 85.7% compared to histopathology as the reference standard. In 7 cases, CEUS classified lesions as malignant that revealed to be fibrotic changes in the histopathological analysis. Results from CEUS and subsequent histopathological assessment of one of these patients are shown in Figure 5. In two lesions, no pathologic changes were observed in the histopathological analysis after CEUS suspected malignancy. In three cases, cirrhotic changes were misinterpreted as malignant changes. Further lesions that CEUS misinterpreted as malignant were diagnosed as a hepatocellular adenoma, as reactive changes in the liver, and as a liver abscess.

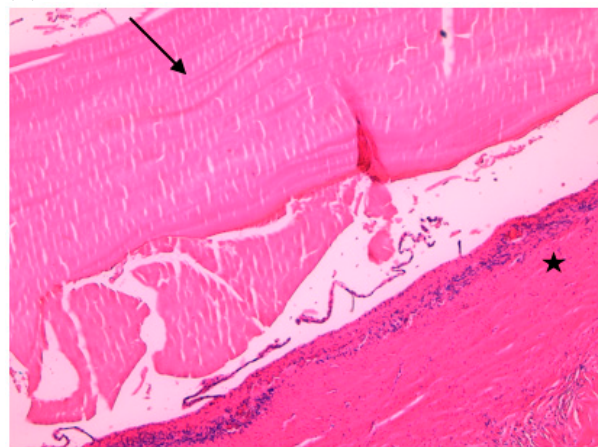


(a)

**Figure 2.** Cont.



(b)



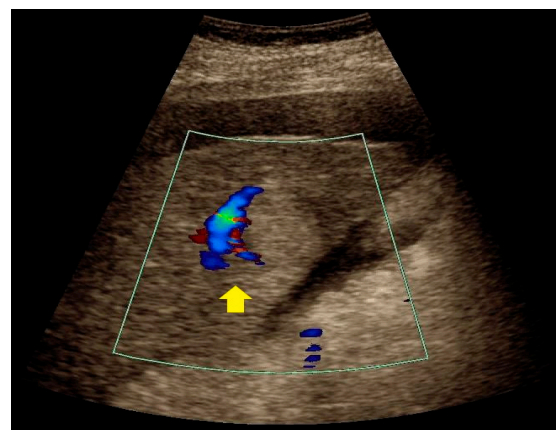
(c)

**Figure 2.** 34-year-old patient with an echinococcal cyst in liver segments II/III. (a) Native B-mode ultrasound reveals an inhomogeneous cystic lesion in the left liver lobe (yellow arrows). (b) In contrast-enhanced ultrasound, no enhancement of the cystic lesion is detected (yellow arrows, portal venous phase). Sonomorphological differentials included haemorrhagic cyst or cystic echinococcosis. The sonomorphological appearance in combination with positive serological findings confirmed the diagnosis of cystic echinococcosis. After interdisciplinary evaluation, the patient underwent laparoscopic resection of the liver segments II and III. (c) Hematoxylin and Eosin staining of the echinococcal cyst, 50× magnification. The fibrous tissue (pericyst, black star) surrounding the cuticula (black arrow) is shown.

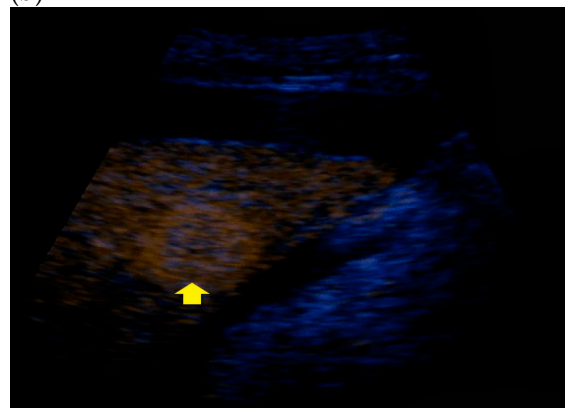


(a)

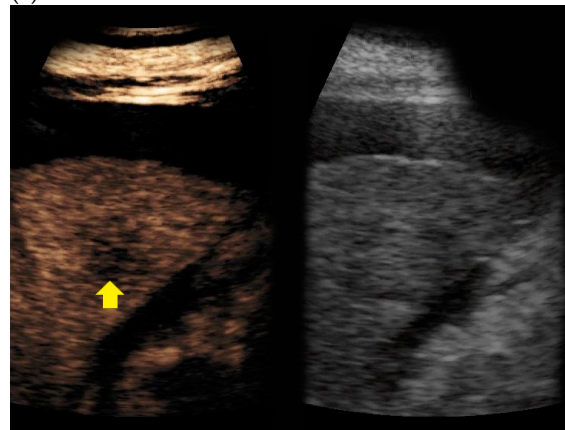
**Figure 3.** Cont.



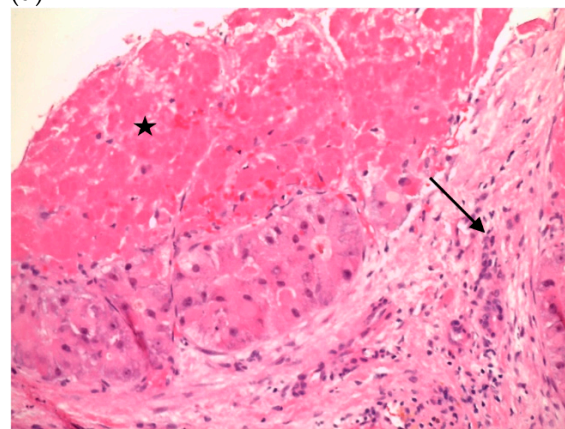
(b)



(c)



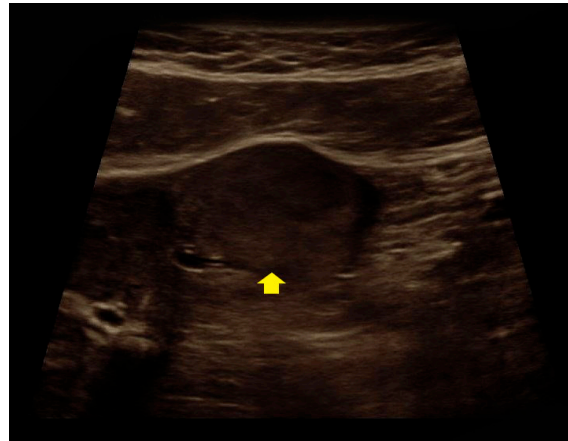
(d)



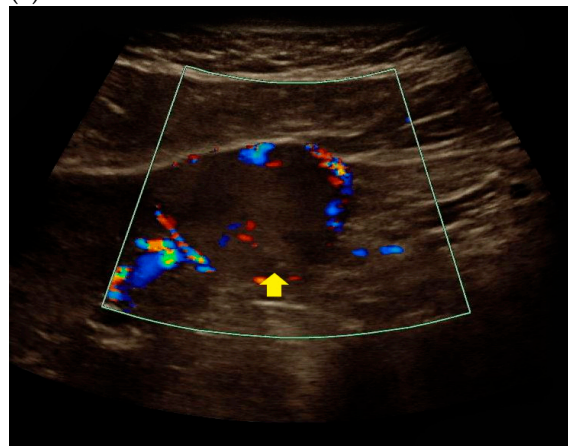
(e)

**Figure 3.** Sonomorphological features and histopathological assessment of poorly differentiated hepatocellular carcinoma (HCC). (a) Homogeneous, hyperechoic liver lesion in native B-mode (yellow arrow). (b) The lesion shows peripheral hypervascularization in Doppler mode (yellow arrow). (c) In CEUS,

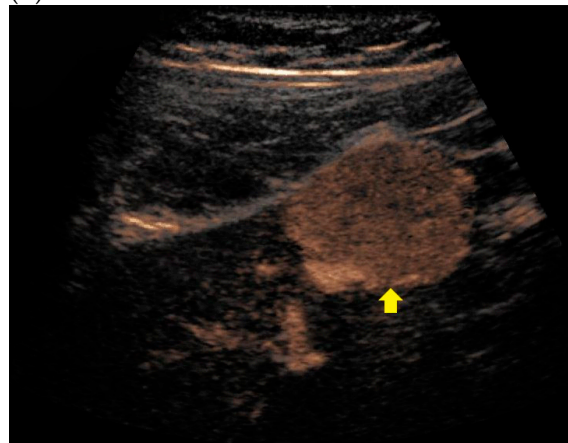
peripheral rim contrast enhancement was detected in the arterial phase (yellow arrow). (d) In the late venous phase, the lesion showed typical rapid wash-out (yellow arrow), thus indicating HCC. (e) Hematoxylin and Eosin staining of the suspicious lesion, 20× magnification. Poorly differentiated hepatocellular carcinoma with concomitant necrosis (black star) and fibrous septa (black arrow) is shown.



(a)



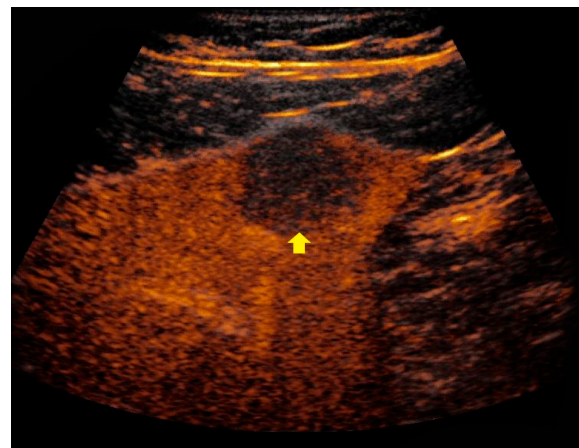
(b)



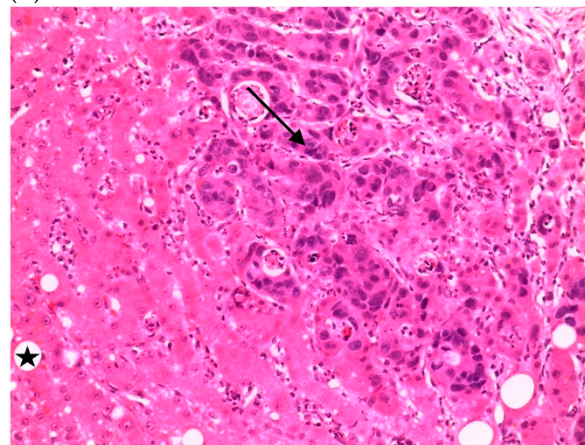
(c)

Figure 4. Cont.



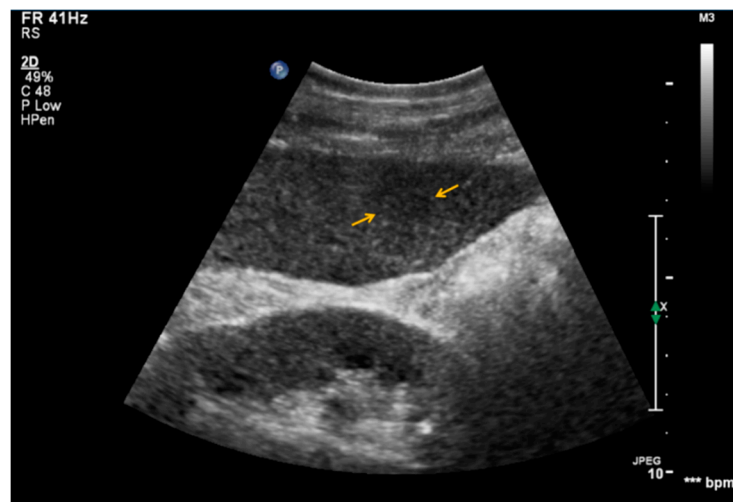


(d)

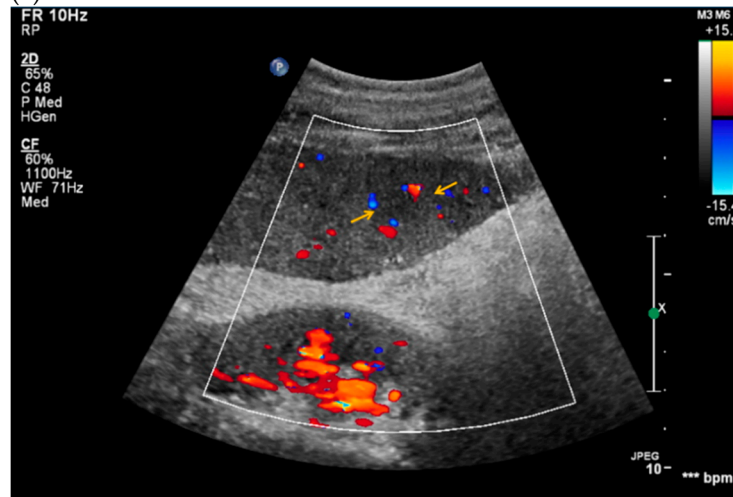


(e)

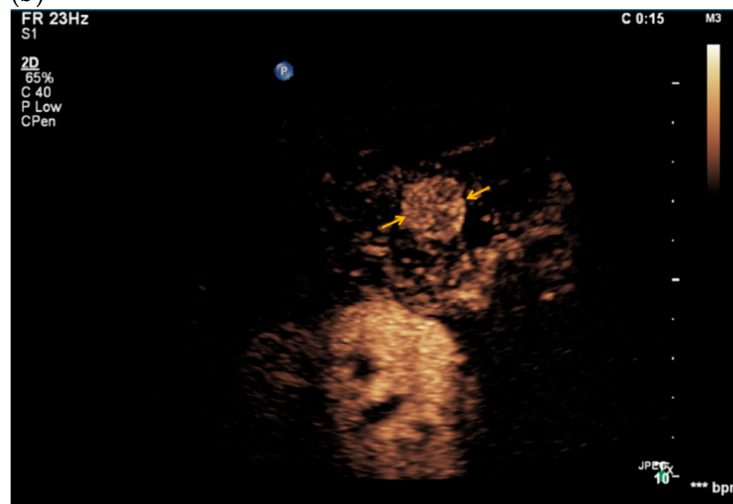
**Figure 4.** Sonomorphological features of a suspicious liver lesion in CEUS. Subsequent biopsy with histopathological assessment revealed colorectal cancer metastasis. (a) An inhomogeneous, slightly hyperechoic liver lesion is visualized in native B-mode (yellow arrow). (b) The lesion appears hypervascularized in Doppler mode (yellow arrow). (c) In CEUS, rapid and homogeneous contrast enhancement was registered in the arterial phase (yellow arrow). (d) In the venous phase, the lesion showed homogeneous wash-out compared to the liver parenchyma (yellow arrow). (e) Hematoxylin and Eosin staining of the lesion, 20 $\times$  magnification. Colorectal adenocarcinoma metastasis is shown on the right (black arrow), normal liver tissue is shown on the left with concomitant steatosis (black star).



(a)

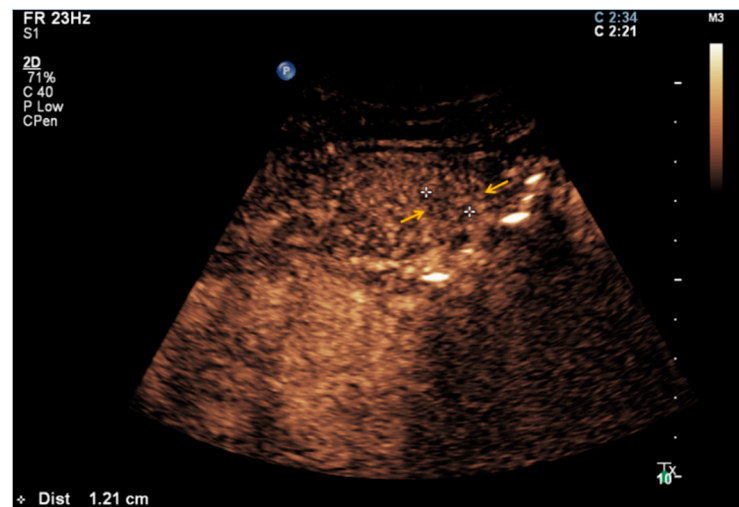


(b)

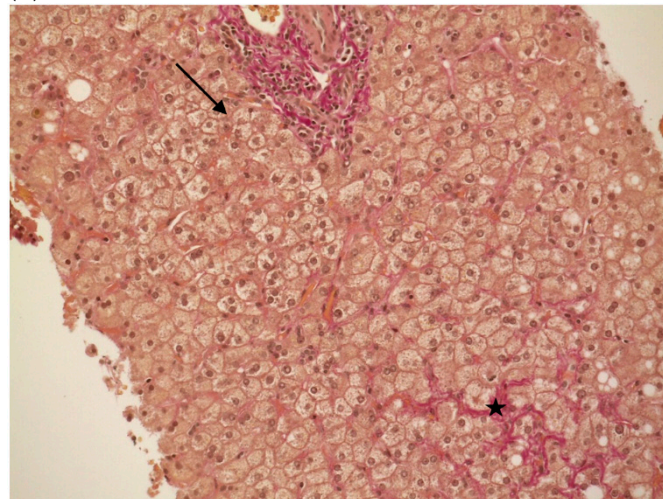


(c)

Figure 5. Cont.



(d)



(e)

**Figure 5.** Sonomorphological features of a suspicious lesion in the right liver lobe. Subsequent histopathological assessment revealed liver fibrosis. (a) A slightly hypoechoic lesion is visualized in liver segment VI in native B-mode (yellow arrows). (b) The lesion appears hypervascularized in Doppler mode (yellow arrows). (c) In CEUS, rapid contrast enhancement was visualized in the arterial phase (yellow arrows). (d) The lesion showed only slight wash-out compared to the liver parenchyma in the venous phase (yellow arrows). Subsequent biopsy was performed due to the atypical sonomorphological appearance of the lesion. (e) Elastica van Gieson staining of the lesion, 20 $\times$  magnification. Liver parenchyma with thin (black star) and broad (black arrow) fibrous septa is shown. No patterns of malignant neoplasms were detected.

In four cases CEUS characterized lesions as benign that were finally diagnosed as HCC in histopathology (lesion sizes: 0.8 cm, 2.0 cm, 3.4 cm, 6.2 cm). In one case CEUS described a lesion as an hepatic abscess that was histopathologically classified as a pancreatic cancer metastasis (lesion size: 6.9 cm). One lesion that CEUS characterized as benign revealed to be a metastasis of a well-differentiated neuroendocrine tumor originated in the ileum (lesion size: 2.5 cm). Diagnostic characteristics and details on misclassifications are displayed in Tables 2 and 3.

**Table 2.** Distribution positive and negative results from CEUS among malignant and benign focal liver lesions determined by histopathology.

	Total ( <i>n</i> = 160)	CEUS Positive	CEUS Negative	
Malignant	<i>n</i> = 109	103	6	Sensitivity 94.5%
Benign	<i>n</i> = 51	15	36	Specificity 70.6%
		TPR/ Concordance 87.3%	TNR/ 1-Discordance 85.7%	

CEUS: contrast-enhanced ultrasound; TPR: true positive rate; TNR: true negative rate.

**Table 3.** Misclassifications of CEUS in comparison to the histopathological results.

Misclassification	Histopathology
False positive	Fibrotic lesions: <i>n</i> = 7
	Cirrhotic lesions: <i>n</i> = 3
	No pathologic changes: <i>n</i> = 2
	Adenoma: <i>n</i> = 1
	Reactive changes: <i>n</i> = 1
False negative	Abscess: <i>n</i> = 1
	HCC: <i>n</i> = 4
	Neuroendocrine tumor (Metastasis): <i>n</i> = 1 Adenoma carcinoma (Metastasis): <i>n</i> = 1

HCC: hepatocellular carcinoma.

#### 4. Discussion

Contrast-enhanced ultrasound is a frequently used imaging modality that allows for characterizing unclear hepatic lesions by dynamically assessing lesional and parenchymal microperfusion. The findings from the present study demonstrate that CEUS depicts a valid and reliable method for characterizing suspicious liver lesions of unclear origin into benign or malignant.

Our study is in line with previous investigations regarding the decision between benign and malignant liver lesions using CEUS [18,30–33]. Our data clearly show that CEUS has high diagnostic accuracy in assessing both benign and malignant hepatic lesions and thereby represents a powerful diagnostic tool that can be used as a first means for assessing unclear liver lesions. Previously, it was already shown that CEUS provides high diagnostic accuracy for analyzing HCC lesions, hemangioma, and focal nodular hyperplasia [20,30]. Our results indicate that the application of CEUS may not only be useful in diagnosing these entities but may also enable the diagnosis of a variety of further liver diseases. Nevertheless, further trials are necessary to investigate if CEUS may help to define the origin of liver metastases. Still, CEUS is not able to replace CT and MRI for adequate tumor staging.

Amongst the liver lesions which CEUS wrongly classified as malignant, histopathology most frequently revealed fibrotic lesions (*n* = 7) and cirrhotic lesions (*n* = 3). In patients with advanced liver cirrhosis, the destruction of the hepatic parenchyma may result in confluent liver fibrosis which is known to show varying characteristics in dynamic contrast-enhanced imaging. Confluent liver fibrosis may show hyperenhancement in the arterial phase and thereby mimic the enhancement characteristics of HCC, thus prompting liver biopsy [34]. In two cases, liver biopsy and histopathological assessment revealed hepatic cysts. However, these lesions had shown suspicious sonomorphological features in CEUS (solid components with early enhancement and late wash-out). Therefore, biopsy was performed in order to rule out malignancy.

In four cases, CEUS misclassified hepatic lesions as benign which revealed as HCC in the histopathological assessment. In one of these cases, the patient underwent hepatectomy due to liver cirrhosis and a solitary small well-differentiated HCC lesion (0.8 cm)



was detected in the enlarged left liver lobe in the histopathological analysis. The diagnostic accuracy of CEUS might have been limited by the hepatomegaly, the advanced cirrhotic changes of the liver parenchyma, and the small lesion size. Two further well-differentiated HCC lesions were wrongly classified as benign due to their atypical contrast enhancement patterns with absence of wash-out in the late phase. Typically, HCC lesions are characterized by early arterial contrast enhancement and portal venous wash-out in contrast-enhanced imaging. However, it is known that well-differentiated HCCs generally show atypical contrast enhancement characteristics in CEUS more frequently [35]. In one case, CEUS misdiagnosed an HCC lesion as a hepatic abscess. In addition, one lesion which CEUS initially classified as malignant revealed to be an abscess. Liver abscesses are known to show heterogeneous enhancement patterns and can therefore complicate safe differentiation from HCC in some cases [36]. Therefore, the patient's clinical presentation including symptoms like fever or elevated inflammatory blood markers should also be considered for allowing safe discrimination between HCC and liver abscesses.

One lesion which CEUS misdiagnosed as benign was eventually revealed as neuroendocrine metastasis by histopathology. This is in line with previously published data indicating that CEUS is less sensitive for characterizing neuroendocrine metastases compared to metastases of different origin [37]. Neuroendocrine metastases tend to show prolonged arterial contrast enhancement due to their hypervascularization which may overlap the lesions' hypoenhancement especially in the early venous phase.

Up to recently, clinical studies investigating CEUS for a plethora of indications have considerably increased. Several recent studies could show that CEUS does not only allow for precise liver imaging but is also feasible for visualizing the kidney, gallbladder, pancreas, or the vasculature [8–10,29,38].

Moreover, it was recently demonstrated that the combination of CEUS with previously acquired CT or MRI data in the context of advanced Fusion Imaging could help to decipher initially as indeterminate classified hepatic lesions [39].

The advantages of CEUS are primarily based upon its non-ionizing nature that is especially relevant in patients of younger age. Low financial costs, and its easy accessibility and repeatability are also expedient. Sonographic contrast agents bear only few risks and can be applied regardless of renal and thyroid impairment. Several authors previously described the safe use of CEUS in pediatric patients which therefore was recently approved by the Food and Drug Administration [40]. Furthermore, recent studies showed that CEUS also depicts a safe imaging tool for assessing hepatic lesions during pregnancy, thereby preventing potential risks of additional use of gadolinium-based contrast agents in MRI or ionizing radiation in CT [31,41]. However, CEUS provides only limited information in patients with high body mass index or bowel gas overlay. Another important limitation is the dependence on the skills and experience of the sonographer.

There are several limitations to this study. Firstly, this was a single-center study that was performed retrospectively. Secondly, only one single radiologist (however, with long-lasting experience since 2000 and EFSUMB Level 3) performed all sonographic procedures. Thirdly, several different ultrasound systems were used for the examinations with various dosages of contrast media.

In conclusion, our study results suggest that CEUS is a highly accurate and safe method for classifying focal liver lesions of unclear origin into benign or malignant. Considering its multiple benefits compared to the potential risks associated with ionizing radiation in CT or gadolinium-based contrast agents in MRI, CEUS depicts a promising imaging modality for detecting and characterizing focal hepatic lesions.

**Author Contributions:** Conceptualization, T.G., D.-A.C., and M.A.; methodology, T.G., D.-A.C., and M.A.; validation, T.G., D.-A.C., V.S., J.R., M.A.; formal analysis, T.G., M.A.; investigation, T.G., S.S., V.S., P.R., S.G., J.R., D.-A.C., and M.A.; resources, M.A., J.R., D.-A.C., V.S.; data curation, T.G., S.S., V.S., P.R., S.G., J.R., D.-A.C., and M.A.; writing—original draft preparation, T.G., V.S., and M.A.; writing—review and editing, T.G., S.S., V.S., P.R., S.G., T.K., J.R., D.-A.C., and M.A.; visualization,

T.G., V.S., T.K., J.R., D.-A.C., M.A.; supervision, T.G., J.R., D.-A.C., and M.A.; project administration, D.-A.C., and M.A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Institutional Review Board (Ethics Committee, Medical Faculty, Ludwig-Maximilians-University Munich; 17-087; date of approval: 14 March 2017).

**Informed Consent Statement:** Patient consent was waived since all data was anonymized and analyzed retrospectively.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Ferlay, J.; Soerjomataram, I.; Dikshit, R.; Eser, S.; Mathers, C.; Rebelo, M.; Parkin, D.M.; Forman, D.; Bray, F. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer* **2015**, *136*, E359–E386. [\[CrossRef\]](#)
2. Villanueva, A. Hepatocellular Carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *380*, 1450–1462. [\[CrossRef\]](#)
3. Ghouri, Y.A.; Mian, I.; Rowe, J.H. Review of hepatocellular carcinoma: Epidemiology, etiology, and carcinogenesis. *J. Carcinog.* **2017**, *16*, 1.
4. Zhang, D.Y.; Friedman, S.L. Fibrosis-dependent mechanisms of hepatocarcinogenesis. *Hepatology* **2012**, *56*, 769–775. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Choi, J.Y.; Lee, J.M.; Sirlin, C.B. CT and MR imaging diagnosis and staging of hepatocellular carcinoma: Part I. Development, growth, and spread: Key pathologic and imaging aspects. *Radiology* **2014**, *272*, 635–654. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Choi, J.Y.; Lee, J.M.; Sirlin, C.B. CT and MR imaging diagnosis and staging of hepatocellular carcinoma: Part II. Extracellular agents, hepatobiliary agents, and ancillary imaging features. *Radiology* **2014**, *273*, 30–50. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Claudon, M.; Dietrich, C.F.; Choi, B.I.; Cosgrove, D.O.; Kudo, M.; Nolsøe, C.P.; Piscaglia, F.; Wilson, S.R.; Barr, R.G.; Chammas, M.C.; et al. Guidelines and good clinical practice recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the liver—Update 2012: A WFUMB-EFSUMB initiative in cooperation with representatives of AFSUMB, AIUM, ASUM, FLAUS and ICUS. *Ultrasound Med. Biol.* **2013**, *39*, 187–210. [\[CrossRef\]](#)
8. Rübenthaler, J.; Bogner, F.; Reiser, M.; Clevert, D.A. Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) of the Kidneys by Using the Bosniak Classification. *Ultraschall Med.* **2016**, *37*, 234–251. [\[CrossRef\]](#)
9. Rübenthaler, J.; Paprottka, K.; Marcon, J.; Hameister, E.; Hoffmann, K.; Joiko, N.; Reiser, M.; Clevert, D.-A. Comparison of magnetic resonance imaging (MRI) and contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in the evaluation of unclear solid renal lesions. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **2016**, *64*, 757–763. [\[CrossRef\]](#)
10. Rübenthaler, J.; Reiser, M.; Clevert, D.-A. Diagnostic vascular ultrasonography with the help of color Doppler and contrast-enhanced ultrasonography. *Ultrasonography* **2016**, *35*, 289–301. [\[CrossRef\]](#)
11. Greis, C. Ultrasound contrast agents as markers of vascularity and microcirculation. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **2009**, *43*, 1–9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Clevert, D.A.; D’Anastasi, M.; Jung, E.M. Contrast-enhanced ultrasound and microcirculation: Efficiency through dynamics—Current developments. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **2013**, *53*, 171–186. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Gassert, F.; Schnitzer, M.; Kim, S.H.; Kunz, W.G.; Ernst, B.P.; Clevert, D.-A.; Nönerberg, D.; Rübenthaler, J.; Froelich, M.F. Comparison of Magnetic Resonance Imaging and Contrast-Enhanced Ultrasound as Diagnostic Options for Unclear Cystic Renal Lesions: A Cost-Effectiveness Analysis. *Ultraschall Med.* **2020**. Epub ahead of print. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Piscaglia, F.; Bolondi, L. The safety of Sonovue in abdominal applications: Retrospective analysis of 23,188 investigations. *Ultrasound Med. Biol.* **2006**, *32*, 1369–1375. [\[CrossRef\]](#)
15. Mueller-Peltzer, K.; Rübenthaler, J.; Reiser, M.; Clevert, D.-A. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) of the liver: Critical evaluation of use in clinical routine diagnostics. *Radiology* **2017**, *57*, 348–355.
16. Kaltenbach, T.E.; Engler, P.; Kratzer, W.; Oeztuerk, S.; Seufferlein, T.; Haenle, M.M.; Graeter, T. Prevalence of benign focal liver lesions: Ultrasound investigation of 45,319 hospital patients. *Abdom. Radiol.* **2016**, *41*, 25–32. [\[CrossRef\]](#)
17. Strobel, D.; Seitz, K.; Blank, W.; Schuler, A.; Dietrich, C.; Von Herbay, A.; Friedrich-Rust, M.; Kunze, G.; Becker, D.; Will, U.; et al. Contrast-enhanced Ultrasound for the Characterization of Focal Liver Lesions—Diagnostic Accuracy in Clinical Practice (DEGUM multicenter trial). *Ultraschall Med.* **2008**, *29*, 499–505. [\[CrossRef\]](#)
18. Clevert, D.A.; Jung, E.; Stock, K.; Weckbach, S.; Feuerbach, S.; Reiser, M.; Jung, F. Evaluation of malignant liver tumors: Biphasic MS-CT versus quantitative contrast harmonic imaging ultrasound. *Z. Gastroenterol.* **2009**, *47*, 1195–1202. [\[CrossRef\]](#)
19. Dietrich, C.F.; Kono, Y.; Cosgrove, D.O.; Jang, H.-J.; Kim, T.K.; Piscaglia, F.; Sirlin, C.B.; Willmann, J.K.; Vezeridis, A.; Wilson, S.R.; et al. Contrast Enhanced Ultrasound: Liver Imaging Reporting and Data System (CEUS LI-RADS). *Ultrasound Med. Biol.* **2017**, *43*, S38–S39. [\[CrossRef\]](#)

20. Seitz, K.; Strobel, D.; Bernatik, T.; Blank, W.; Friedrich-Rust, M.; Von Herbay, A.; Dietrich, C.F.; Strunk, H.; Kratzer, W.; Schuler, A. 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 Med.* **2009**, *30*, 383–389. [[CrossRef](#)]
21. Marrero, J.A.; Kulik, L.M.; Sirlin, C.B.; Zhu, A.X.; Finn, R.S.; Abecassis, M.; Roberts, L.R.; Heimbach, J.K. Diagnosis, Staging, and Management of Hepatocellular Carcinoma: 2018 Practice Guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* **2018**, *68*, 723–750. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Dietrich, C. Liver Tumor Characterization—Comments and Illustrations Regarding Guidelines. *Ultraschall Med.* **2012**, *33* (Suppl. 1), S22–S30. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Dietrich, C.F.; Cui, X.W.; Barreiros, A.P.; Hocke, M.; Ignee, A. EFSUMB Guidelines 2011: Comment on Emergent Indications and Visions. *Ultraschall Med.* **2012**, *33* (Suppl. 1), S39–S47. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Dietrich, C.F.; Cui, X.W.; Boozari, B.; Hocke, M.; Ignee, A. Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Diagnostic Algorithm of Hepatocellular and Cholangiocellular Carcinoma, Comments on the AASLD Guidelines. *Ultraschall Med.* **2012**, *33* (Suppl. 1), S57–S66. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Dietrich, C.F.; Cui, X.W.; Schreiber-Dietrich, D.G.; Ignee, A. EFSUMB Guidelines 2011: Comments and Illustrations. *Ultraschall Med.* **2012**, *33* (Suppl. 1), S11–S21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Sporea, I.; Badea, R.; Martie, A.; Dumitru, E.; Ioanițescu, S.; Șirli, R.; Socaciu, M.A.; Popescu, A.; Danilă, M.; Voiculescu, M. Contrast Enhanced Ultrasound for the evaluation of focal liver lesions in daily practice. A multicentre study. *Med Ultrason.* **2012**, *14*, 95–100.
27. Rübenthaler, J.; Paprottka, K.; Hameister, E.; Hoffmann, K.; Joiko, N.; Reiser, M.; Clevert, D. Vascular complications in liver transplantation: Beneficial role of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in the postoperative phase. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **2016**, *64*, 475–482. [[CrossRef](#)]
28. Rübenthaler, J.; Paprottka, K.; Hameister, E.; Hoffmann, K.; Joiko, N.; Reiser, M.; Clevert, D.-A. Malignancies after liver transplantation: Value of contrast-enhanced ultrasound (CEUS). *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **2016**, *64*, 467–473. [[CrossRef](#)]
29. De Figueiredo, G.N.; Mueller-Peltzer, K.; Zengel, P.; Armbrüster, M.; Rübenthaler, J.; Clevert, D.-A. Diagnostic performance of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for the evaluation of gallbladder diseases1. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **2018**, *69*, 83–91. [[CrossRef](#)]
30. Palmieri, V.O.; Santovito, D.; Marano, G.; Minerva, F.; Ricci, L.; D’Alitto, F.; Angelelli, G.; Palasciano, G. Contrast-enhanced ultrasound in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Radiol. Med.* **2015**, *120*, 627–633. [[CrossRef](#)]
31. Schwarze, V.; Marschner, C.; De Figueiredo, G.N.; Rübenthaler, J.; Clevert, D.-A. Single-Center Study: Evaluating the Diagnostic Performance and Safety of Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) in Pregnant Women to Assess Hepatic Lesions. *Ultraschall Med.* **2019**, *41*, 29–35. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Schwarze, V.; Marschner, C.; Völckers, W.; Grosu, S.; De Figueiredo, G.N.; Rübenthaler, J.; Clevert, D.-A. Diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound versus computed tomography for hepatocellular carcinoma: A retrospective, single-center evaluation of 234 patients. *J. Int. Med Res.* **2020**, *48*, 300060520930151. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Schwarze, V.; Marschner, C.; Völckers, W.; De Figueiredo, G.N.; Rübenthaler, J.; Clevert, D.-A. The diagnostic performance of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for evaluating hepatocellular carcinoma (HCC) juxtaposed to MRI findings; a retrospective single-center analysis of 292 patients. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **2020**, *76*, 155–160. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Kim, T.K.; Lee, E.; Jang, H.J. Imaging findings of mimickers of hepatocellular carcinoma. *Clin. Mol. Hepatol.* **2015**, *21*, 326–343. [[CrossRef](#)]
35. Jang, H.-J.; Kim, T.K.; Burns, P.N.; Wilson, S.R. Enhancement Patterns of Hepatocellular Carcinoma at Contrast-enhanced US: Comparison with Histologic Differentiation. *Radiology* **2007**, *244*, 898–906. [[CrossRef](#)]
36. Brown, K.T.; Gandhi, R.T.; Covey, A.M.; Brody, L.A.; Getrajdman, G.I. Pylephlebitis and liver abscess mimicking hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* **2003**, *2*, 221–225.
37. Mörk, H.; Ignee, A.; Schuessler, G.; Ott, M.; Dietrich, C.F. Analysis of neuroendocrine tumour metastases in the liver using contrast enhanced ultrasonography. *Scand. J. Gastroenterol.* **2007**, *42*, 652–662. [[CrossRef](#)]
38. 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* **2017**, *96*, e7463. [[CrossRef](#)]
39. Schwarze, V.; Rübenthaler, J.; Marschner, C.; Fabritius, M.P.; Rueckel, J.; Fink, N.; Pühr-Westerheide, D.; Gresser, E.; Froelich, M.F.; Schnitzer, M.L.; et al. Advanced Fusion Imaging and Contrast-Enhanced Imaging (CT/MRI-CEUS) in Oncology. *Cancers* **2020**, *12*, 2821. [[CrossRef](#)]
40. Seitz, K.; Strobel, D. A Milestone: Approval of CEUS for Diagnostic Liver Imaging in Adults and Children in the USA. *Ultraschall Med.* **2016**, *37*, 229–232. [[CrossRef](#)]
41. Schwarze, V.; Froelich, M.F.; Marschner, C.; Knösel, T.; Rübenthaler, J.; Clevert, D.-A. Safe and pivotal approaches using contrast-enhanced ultrasound for the diagnostic workup of non-obstetric conditions during pregnancy, a single-center experience. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2020**. Epub ahead of print. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

## 7. Literaturverzeichnis

1. Kaltenbach TE-M, Engler P, Kratzer W, et al.: Prevalence of benign focal liver lesions: Ultrasound investigation of 45,319 hospital patients. *Abdom Radiol (NY)* 2016; 41(1): 25–32.
2. Claudon M, Dietrich CF, Choi BI, et al.: Guidelines and good clinical practice recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the liver - update 2012: A WFUMB-EFSUMB initiative in cooperation with representatives of AFSUMB, AIUM, ASUM, FLAUS and ICUS. *Ultrasound Med Biol* 2013; 39(2): 187–210.
3. Sophie Roenneberg: Die Bedeutung von Laborwerten bei der Differentialdiagnose sonographisch erkannter, benigner Leberumherde unter besonderer Berücksichtigung der Fokalen Nodulären Hyperplasie. Eine retrospektive Studie. Dissertation. München [u.a.] 2014.
4. Spangenberg HC: Der Leberumherd. *Ärzteblatt* 2009(2/2009): 34 a-34 i.
5. Perrakis A, Vassos N, Grützmann R, Croner RS: What is Changing in Indications and Treatment of Focal Nodular Hyperplasia of the Liver. Is There Any Place for Surgery? *Ann Hepatol* 2017; 16(3): 333–41.
6. Riede U-N, Werner M, Schäfer H-E: *Allgemeine und spezielle Pathologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag 2004.
7. Riede U-N, Werner M (eds.): *Allgemeine und Spezielle Pathologie*. 2nd ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg Heidelberg Springer Berlin Heidelberg, 2017.
8. Toro A, Mahfouz A-E, Ardiri A, et al.: What is changing in indications and treatment of hepatic hemangiomas. A review. *Ann Hepatol* 2014; 13(4): 327–39.
9. Possinger K, Engelhardt D (eds.): *Facharzt Hämatologie, Onkologie*. 1st ed. München [u.a.], München [u.a.]: Urban und Fischer/Elsevier 2006.
10. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF): Diagnostik und Therapie des hepatozellulären Karzinoms: Diagnostik und Therapie des hepatozellulären Karzinoms. 1st ed.(032/053OL): AWMF online 2013. doi:10.1007/s00761-013-2552-7.[http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/fileadmin/user\\_upload/Downloads/Leitlinien/HCC/S3-HCC-OL-Langversion-V1.0.pdf](http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/fileadmin/user_upload/Downloads/Leitlinien/HCC/S3-HCC-OL-Langversion-V1.0.pdf). [December 01, 2021].
11. Strobel D, Bernatik T: Diagnostik bei fokalen Leberläsionen: Stellenwert der Kontrastmittel-sonographie. *Deutsches Ärzteblatt* 2006; 103(12): A 789–793.
12. Drebber U, Dries V, Dienes HP, Kasper HU: Lebermetastasen. Inzidenz und Verteilung. Eine Untersuchung aus dem Leber-Register der Universität zu Köln. *Z Gastroenterol* 2005; 43(05).
13. Bracco International B.V.: Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels 2018. [https://imaging.bracco.com/sites/braccoimaging.com/files/technica\\_sheet\\_pdf/de-de-2018-07-10-spc-sonovue.pdf.pdf](https://imaging.bracco.com/sites/braccoimaging.com/files/technica_sheet_pdf/de-de-2018-07-10-spc-sonovue.pdf.pdf). [July 05, 2019].
14. Boozari B, Lotz J, Galanski M, Gebel M: Bildgebende Diagnostik von Lebertumoren: Aktueller Stand. *Internist (Berl)* 2007; 48(1): 8, 10-2, 14-6, 18-20.
15. Forner A, Vilana R, Ayuso C, et al.: Diagnosis of hepatic nodules 20 mm or smaller in cirrhosis: Prospective validation of the noninvasive diagnostic criteria for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 47(1): 97–104.
16. Piscaglia F, Wilson SR, Lyschik A, et al.: American College of Radiology Contrast Enhanced Ultrasound Liver Imaging Reporting and Data System (CEUS LI-RADS) für die Diagnose von Hepatozellulären Karzinomen: Ein Bild-Essay. *Ultraschall Med* 2017; 38(3): 320–4.
17. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF): S3-Leitlinie zum exokrinen Pankreaskarzinom. 1st ed.(032/010OL): AWMF online 2019. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/032-](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/032-)

- 010OLI\_S3\_Exokrines\_Pankreaskarzinom\_21112013-abgelaufen.pdf. [December 01, 2021].
18. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF): S2k-Leitlinie Neuroendokrine Tumore(AWMF-Reg. 021-27): AWMF online 2018. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/021-026l\\_S2k\\_Neuroendokrine\\_Tumore\\_2018-07.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/021-026l_S2k_Neuroendokrine_Tumore_2018-07.pdf). [December 01, 2021].
  19. Tang A, Bashir MR, Corwin MT, et al.: Evidence Supporting LI-RADS Major Features for CT- and MR Imaging-based Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review. *Radiology* 2018; 286(1): 29–48.
  20. Kondo T, Maruyama H, Kiyono S, et al.: Intensity-Based Assessment of Microbubble-Enhanced Ultrasonography: Phase-Related Diagnostic Ability for Cellular Differentiation of Hepatocellular Carcinoma. *Ultrasound Med Biol* 2015; 41(12): 3079–87.
  21. Pei XQ, Liu LZ, Zheng W, et al.: Contrast-enhanced ultrasonography of hepatocellular carcinoma: Correlation between quantitative parameters and arteries in neoangiogenesis or sinusoidal capillarization. *Eur J Radiol* 2012; 81(3): e182-8.
  22. Wang J, Huang J, Ma Q, Liu G: Association between quantitative parameters of CEUS and Sall4/Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Manag Res* 2019; 11: 3339–47.
  23. Zhuang P-H, Xu L, Gao L, Lu W, Ruan L-T, Yang J: Correlations of microvascular blood flow of contrast-enhanced ultrasound and HGF/c-Met signaling pathway with clinicopathological features and prognosis of patients with hepatocellular carcinoma. *Oncotargets Ther* 2017; 10: 847–57.
  24. Schellhaas B, Wildner D, Pfeifer L, et al.: LI-RADS-CEUS mit kontrastverstärktem Ultraschall – Vorschlag für eine standardisierte Klassifikation HCC-suspekter Leberräumforderungen bei Risikopatienten. *Ultraschall Med* 2016; 37(6): 627–34.
  25. Wildner D, Schellhaas B, Strack D, et al.: Differentiation of malignant liver tumors by software-based perfusion quantification with dynamic contrast-enhanced ultrasound (DCEUS). *Clin Hemorheol Microcirc* 2019; 71(1): 39–51.
  26. Lu Q, Zhang X-L, Han H, Huang B-J, Ding H, Wang W-P: Value of Perfusion Parameters for Differentiating Hepatocellular Carcinoma and Liver Metastasis With Hypervascularity and a Normal Hepatic Background on Contrast-Enhanced Ultrasound Imaging. *J Ultrasound Med* 2019.
  27. Yue W-W, Wang S, Xu H-X, et al.: Parametric imaging with contrast-enhanced ultrasound for differentiating hepatocellular carcinoma from metastatic liver cancer. *Clin Hemorheol Microcirc* 2016; 64(2): 177–88.
  28. Pei X-Q, Liu L-Z, Xiong Y-H, et al.: Quantitative analysis of contrast-enhanced ultrasonography: Differentiating focal nodular hyperplasia from hepatocellular carcinoma. *Br J Radiol* 2013; 86(1023): 20120536.
  29. Zheng S-G, Xu H-X, Liu L-N, et al.: Parametric imaging with contrast-enhanced ultrasound: Usefulness for characterization of dynamic effects of microvascularization for hepatocellular carcinoma and focal nodular hyperplasia. *Clin Hemorheol Microcirc* 2013; 55(3): 375–89.
  30. Wildner D, Pfeifer L, Goertz RS, et al.: Dynamic contrast-enhanced ultrasound (DCE-US) for the characterization of hepatocellular carcinoma and cholangiocellular carcinoma. *Ultraschall Med* 2014; 35(6): 522–7.
  31. Kong W-T, Ji Z-B, Wang W-P, Cai H, Huang B-J, Ding H: Evaluation of Liver Metastases Using Contrast-Enhanced Ultrasound: Enhancement Patterns and Influencing Factors. *Gut Liver* 2016; 10(2): 283–7.
  32. Chaubal N, Joshi M, Bam A, Chaubal R: Contrast-Enhanced Ultrasound of Focal Liver Lesions. *Semin Roentgenol* 2016; 51(4): 334–57.
  33. Goertz RS, Bernatik T, Strobel D, Hahn EG, Haendl T: Software-based quantification of contrast-enhanced ultrasound in focal liver lesions--a feasibility study. *Eur J Radiol* 2010; 75(2): e22-6.
  34. Battaglia V: Liver investigations: Updating on US technique and contrast-enhanced ultrasound (CEUS). *Eur J Radiol* 2017; 96: 65–73.

## Danksagung

Ein großes Dankeschön geht an Dr. Marco Armbruster, der diese Arbeit mit viel Engagement und Kompetenz begleitet und überhaupt erst möglich gemacht hat.

Ebenso danke an meinen Doktorvater, Prof. Dirk Clevert, für das zur Verfügung gestellte Bildmaterial, die Initiative und Beratung. Auch ohne ihn wäre diese Arbeit unmöglich gewesen.

Danke an Prof. Michael Ingrisch und sein Team, für die statistische Beratung, technische Unterstützung, jederzeit bestehende Ansprechbarkeit bei Problemen, herzliche Aufnahme in ihre die Räumlichkeiten während der zeitintensiven Prozessierung und Motivationssteigerung durch gelegentliche Brauchtumpflege.

Danke allen Zweitautoren, insbesondere Dr. Thomas Geyer und Dr. Vincent Schwarze, für gute Kommentare und hilfreiche Ergänzungen, sowie die Zusammenarbeit bei der Konzeptionierung der Paper.

Für die Unterstützung meiner Promotion, aber auch aller anderen Lebensbereiche danke ich meinem Mann, der Reviewer, mentaler Unterstützer und Liebe meines Lebens ist, meinen Eltern, in diesem Zusammenhang insbesondere für die treue Kinderbetreuung jede Woche und ich danke Jesus, für das liebevolle und souveräne Choreographieren all meiner beruflichen und persönlichen Wege.