



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI  
DI MILANO

Facoltà di Medicina Veterinaria  
Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie  
Sezione di Clinica Medica Veterinaria e Diagnostica di Laboratorio

Corso di Dottorato di Ricerca in  
Scienze Cliniche Veterinari – XXI ciclo

***“Studio ultracontrastografico del fegato  
nel cane e nel gatto”***

VET08

Tesi di Dottorato di Ricerca di:  
Dr. Matteo Lodi

Tutor:  
Prof. Stefano Faverzani

Coordinatore:  
Prof. Angelo Belloli

ANNO ACCADEMICO 2007/2008



## ***Introduzione e scopo***

### **PARTE PRIMA:**

#### ***Sintesi bibliografica***

- 1.1 Generalità sui mezzi di contrasto per ecografia
  - 1.1.1 Storia dei mezzi di contrasto
  - 1.1.2 Classificazione e tipi di mezzi di contrasto
  - 1.1.3 Funzionamento dei mezzi di contrasto
    - 1.1.3.1 Cenni di ecografia
    - 1.1.3.2 Comportamento biologico delle microbolle
  - 1.1.4 Tipi di imaging
- 1.2 Applicazioni dei mezzi di contrasto in medicina umana
- 1.3 Vascolarizzazione epatica
- 1.4 Indicazioni per ecocontrastografia epatica
- 1.5 Epatopatie diffuse
- 1.6 Lesioni focali epatiche: pattern ecocontrastografici
- 1.7 Lesioni focali benigne:
  - 1.7.1 Traumi
  - 1.7.2 Cisti ed ascessi
  - 1.7.3 Emangioma
  - 1.7.4 Iperplasia nodulare focale
  - 1.7.5 Adenoma epatocellulare
  - 1.7.6 Steatosi focale
  - 1.7.7 Nodulo necrotico solitario
  - 1.7.8 Ematopoiesi intraepatica extramidollare
  - 1.7.9 Noduli macrorigenerativi in cirrosi

- 1.8 Lesioni focali maligne:
  - 1.8.1 Carcinoma epatocellulare
  - 1.8.2 Colangiocarcinoma
  - 1.8.3 Lesioni secondarie (metastasi)
  - 1.8.4 Emangiosarcoma
  - 1.8.5 Linfoma
  - 1.8.6 Mastocitoma

## **PARTE SECONDA:**

### ***Ricerca sperimentale personale***

- 2.1 Materiali e metodi
- 2.2 Risultati
- 2.3 Discussione
- 2.4 Conclusioni
- 2.5 Appendice Studio 1
- 2.6 Appendice Studio 2

### ***Bibliografia***

## *Introduzione*

La diffusione dell'ecografia come strumento diagnostico routinario nella pratica clinica ha fornito a questa tecnica di diagnostica per immagini una spinta sempre maggiore in termini di interesse e di ricerca.

La scarsa invasività unita alla possibilità di effettuare l'indagine in assenza di contenimento farmacologico la rende spesso una scelta di primo livello soprattutto per quanto riguarda l'indagine di eventuali patologie addominali tra le quali le affezioni epatiche rivestono sicuramente ruolo primario. Come per la medicina umana infatti l'algoritmo diagnostico in corso di sintomi o segni riferibili a epatopatie o, più di frequente, il riscontro di alterazioni ematochimiche compatibili con stati di sofferenza epatici indica l'ecografia come l'esame di prima scelta nello screening di eventuali patologie epatiche. La sensibilità di tale tecnica nell'identificazione di alterazioni strutturali d'organo la fa preferire ad altre tecniche di diagnostica per immagini per la sua scarsa invasività e l'assenza di controindicazioni. Tuttavia, in particolar modo in medicina veterinaria, il riscontro di alterazioni ecografiche è raramente patognomonico per una specifica patologia. Così alla alta capacità di identificare la presenza di lesioni epatiche si unisce una altrettanto ampia lista di patologie da includere nel diagnostico differenziale. Se poi i soggetti sottoposti all'indagine risultano asintomatici è possibile comprendere la difficoltà interpretativa conseguente al riscontro di un esame positivo. Alcune pubblicazioni negli anni (*Biller 1998*) hanno provato a identificare l'eventuale presenza di pattern ricorrenti in corso di patologie metaboliche, infiammatorie, degenerative e neoplastiche senza tuttavia ottenere risultati apprezzabili. Secondo uno studio condotto da Whiteley (1989) sugli aspetti ecografici delle neoplasie epatiche, il 93% dei cani che presentano una lesione focale singola è affetto da carcinoma epatocellulare. Le lesioni focali singole riferibili ad epatocarcinoma sono iperecogene in dieci casi su quattordici, ipoecogene in un caso e miste in tre casi. Feeney nell'84 descrive l'aspetto ecografico dell'adenoma epatocellulare come una massa generalmente di grandi dimensioni ad ecogenicità mista. Nel 1984 Nyland studia gli aspetti ecografici del linfoma e riconosce tre tipi di pattern ultrasuonografici diversi. Una caratteristica

comune a tutti i casi osservati è l'epatomegalia. In alcuni cani Nyland descrive un fegato omogeneo lievemente ipoecogeno. In altri casi l'aspetto ecografico è caratterizzato da un fegato disomogeneo per la presenza di lesioni focali ipoecogene di dimensioni variabili da 1 a 3 cm o di target lesions. Nyland sottolinea che questi aspetti non sono indicativi solo di linfoma ma possono appartenere anche ad altre patologie per lo più neoplastiche. Lamb nel 1991 afferma che a volte l'ecografia può non rilevare nessuna anomalia in cani affetti da linfoma. Di 14 soggetti reclutati nello studio solo tre presentavano alterazioni del fegato: un parenchima diffusamente ipoecogeno in due casi e il riscontro di una lesione focale ipoecogena nell'altro. L'esame ecografico da solo non risulta perciò diagnostico e in caso di riscontri positivi è mandatorio per ulteriori indagini che vedono spesso nella biopsia l'unica risposta al quesito clinico. Alla luce di queste problematiche l'implementazione dell'esame ecografico standard con la valutazione ultraccontrastografica ha fornito, in medicina umana, risultati eccellenti. Quia nel 2006 assegna all'esame ultraccontrastografico una confidenza diagnostica pari alla CT con mezzo di contrasto nell'identificazione di lesioni metastatiche. Anche in medicina veterinari, negli ultimi anni, la ricerca sui mezzi di contrasto ecografici e la loro applicazione in campo clinico sta suscitando interesse ed aspettative. Diversi sono gli studi fisiologici/ perfusionali/ patologici riguardanti la specie canina mentre nessuna pubblicazione è ancora disponibile sulla specie felina. Fine del nostro lavoro è la valutazione dei parametri perfusionali del fegato nel gatto sano e l'implementazione di quanto già pubblicato in letteratura sullo studio ecocontrastografico delle lesioni focali epatiche nel cane.



*Parte Prima*

*SINTESI BIBLIOGRAFICA*

# ***Generalità sui mezzi di contrasto per ecografia***

## ***1.1.1 Storia dei mezzi di contrasto***

### ***Bolle d'aria libere***

Nel 1968 Gramiak e Shah durante un esame ecocardiografico con cateterismo cardiaco scoprirono accidentalmente che, iniettando una soluzione salina nell'aorta ascendente era possibile ottenere un aumento dell'ecogenicità del lume del vaso e delle camere cardiache.

Studi successivi dimostrarono che, questo fenomeno, era da ricondursi alla presenza di microbolle d'aria libere in soluzione, generatesi, o per agitazione della soluzione stessa, o per fenomeni di cavitazione durante l'iniezione in circolo. In seguito furono scoperte altre soluzioni in grado di determinare tale evento: indocianina verde, renografin, soluzioni di anidride carbonica, emulsioni e sospensioni colloidali (*Burns, Testo Atlante, 2004*).

Le ricerche intraprese dimostrarono che l'intensità del fenomeno variava in modo direttamente proporzionale alla viscosità della soluzione: più era viscosa e maggiore era il numero di microbolle intrappolate nel bolo per un tempo sufficientemente lungo da essere apprezzate ecograficamente.

Questi primitivi mezzi di contrasto furono utilizzati per lo studio di anomalie cardiache quali le alterazioni dimensionali delle camere, la valutazione di insufficienze valvolari o la ricerca di shunts intracardiaci. Con l'avvento del Doppler spettrale e del color Doppler, rivelatisi più pratici ed affidabili, le prime applicazioni contrastografiche caddero in disuso.

Questo primo tipo di microbolle presentava infatti importanti limitazioni durante gli esami ecografici:

- la scarsa stabilità dovuta alla tendenza alla dissoluzione nel giro di pochi secondi
- il loro diametro, incostante e troppo grande da permettere il passaggio delle bolle nei capillari polmonari.

Pertanto l'inoculazione per via endovenosa, non potendo oltrepassare il filtro polmonare, limitava la loro utilità diagnostica allo studio della parte destra del cuore. Per indagare atrio e ventricolo sinistro, circolo coronarico e sistema arterioso si doveva necessariamente ricorrere ad una certa invasività che non rendeva questo metodo concorrenziale ad altre tecniche diagnostiche (*Imperatori, Testo Atlante, 2004*). La riduzione del diametro delle bolle al di sotto dei 10 micron, per permetterne il passaggio transpolmonare, determinava sperimentalmente un brusco calo della loro emivita, a causa della notevole tensione superficiale. D'altra parte, bolle di maggiori dimensioni, con una tensione superficiale minore, restavano facilmente intrappolate all'interno del letto capillare polmonare e, come conseguenza, aumentava il rischio di embolia gassosa. (*Schimd, 1995*)

### ***Bolle d'aria incapsulate***

Per ovviare a questi inconvenienti cercando di mantenere diametri adeguati ed aumentare la stabilità delle bolle d'aria libere, si pensò di racchiudere il gas in una sorta di involucro protettivo, una capsula stabilizzante costituita da matrici zuccherine, microsfele di albumina, lipidi o polimeri vari.

Nel 1980 Carrol et al. incapsularono bolle di azoto in un guscio di gelatina e, dopo averle iniettate nell'arteria femorale di conigli con neoplasie all'altezza della coscia, riuscirono a visualizzare ecograficamente i confini del tumore. Queste bolle risultarono comunque troppo grandi (80  $\mu\text{m}$ ) per essere somministrate per via endovenosa. (*Imperatori, Testo Atlante, 2004*)

Il passo successivo fu quello di diminuirne le dimensioni cercando di ottenere microbolle incapsulate di diametro prossimo a quello dei globuli rossi, al fine di aumentarne l'emivita consentendo contemporaneamente il transito polmonare. Nacquero così i composti denominati "mezzi di contrasto di prima generazione".

Feinstein et al. nell'84, attraverso un processo di sonicazione, cioè un trattamento con ultrasuoni di una soluzione di albumina sierica umana, ottennero microbolle con queste caratteristiche. La somministrazione di tale composto per via endovenosa periferica consentì la visualizzazione la del cuore sinistro(*Imperatori, Testo Atlante, 2004*). Questo composto fu il primo mezzo di contrasto ad essere ufficialmente

approvato negli Stati Uniti e in Giappone per applicazioni cardiache, e fu commercializzato sotto il nome di Albunex® (*Correas, 2001*).

Un altro esempio di mezzo di contrasto di prima generazione è l'Echovist® il costituito da microbolle di aria rivestite da una matrice di cristalli di galattosio. In soluzione nel plasma la matrice si scioglie e le bolle si dissolvono, per questo la sua durata d'azione è limitata. Fu comunque utilizzato per la visualizzazione di strutture duttali non vascolari come le tube di Fallopio. (*Burns, Testo Atlante, 2004*)

Un suo derivato, Levovist®, oltre ad avere una matrice di galattosio (99,9%) è rinforzato dallo 0,1% di acido palmitico che permane come monostrato sottile quando lo zucchero si scioglie. Questo acido conferisce maggior stabilità separando l'interfaccia gas-liquido. Le bolle sono perciò altamente ecogeniche e la loro stabilità aumenta l'emivita fino a qualche minuto e permette più ricircolazioni (*Correas, 2001*).

I mezzi di contrasto di prima generazione risultano quindi meno fragili, con diametro adeguato e più uniforme. Tuttavia la loro prematura disgregazione, in quantità estremamente variabili, è possibile sia nel corso della preparazione, sia durante l'iniezione o nel transito capillare polmonare; l'efficacia diagnostica risulta perciò incostante per intensità e durata.

I gusci di rivestimento molto sottili permettono all'aria di diffondere all'esterno ed entrare in soluzione con il sangue con una velocità che dipende dal tipo di mezzo di contrasto, da altri fattori e varia anche da paziente a paziente. (*Imperatori, Testo Atlante, 2004*)

### ***Bolle di gas incapsulate***

Secondo la legge di Laplace modificata:

$$T = R^2\rho / DCs$$

la sopravvivenza di una microbolla nel sangue (T) è direttamente proporzionale al quadrato del raggio (R<sup>2</sup>) e alla densità del gas (ρ) in essa contenuto ed è inversamente proporzionale alla capacità del gas di diffondere all'esterno della membrana (D) e

alla costante di saturazione del gas nel sangue (Cs). Agendo su questi fattori (membrana stabilizzante, dimensioni della bolla, natura del gas) è quindi possibile modificare l'emivita (T) della bolla. Come detto precedentemente, per mantenere la capacità di transito attraverso il circolo polmonare, non è possibile aumentare le dimensioni delle bolle, di conseguenza, l'unica alternativa è l'impiego di un gas diverso dall'aria. Da questa innovazione prendono origine i "mezzi di contrasto di seconda generazione", contenenti gas inerti a bassa solubilità come i perfluorocarburi, che, avendo un coefficiente di diffusione (D) basso, permangono in circolo a lungo con una durata di effetto clinicamente utile di alcuni minuti. Tali sostanze sono caratterizzate da un'ottima ecogenicità, un diametro medio di 2-4  $\mu\text{m}$  e presentano una variabilità diagnostica intra e interindividuale molto più bassa rispetto ai mezzi di contrasto di prima generazione. (*Imperatori, Testo Atlante, 2004*) Possono, inoltre, essere impiegati con un alto livello di sicurezza. I gas contenuti, in genere, vengono eliminati con la normale respirazione, mentre le componenti stabilizzanti vengono filtrate dal rene ed eliminate dal fegato.

## ***1.1.2 Caratteristiche e tipi di mezzi di contrasto***

### ***1.1.2.1 Caratteristiche dei mezzi di contrasto***

I composti iniettati in circolo al fine di incrementare il contrasto ecografico devono rispondere a determinati requisiti di sicurezza e possedere determinate caratteristiche:

- devono essere biologicamente inerti con tossicità nulla o molto bassa
- devono essere facili da preparare e da conservare
- devono essere iniettabili per via endovenosa e stabili per un tempo sufficientemente lungo da permettere un accurato esame diagnostico
- devono avere la capacità di attraversare il letto capillare polmonare dopo somministrazione periferica
- devono essere in grado di migliorare il rapporto segnale-rumore, cioè modificare una o più proprietà acustiche dei tessuti in modo da visualizzare le varie strutture nel dettaglio
- il loro effetto deve essere dose-dipendente e facilmente riproducibile
- va inoltre valutato il rapporto costo-beneficio mettendoli in relazione ad altre tipologie di tecniche diagnostiche. (*Correas, 2001; Schmid, 1995*)

Per quanto concerne la classificazione i mezzi di contrasto possono essere classificati:

#### **1) in base all'evoluzione :**

- ***Mezzi di contrasto di prima generazione (bolle d'aria incapsulate):***
  - Albunex ®
  - Echovist ®
  - Levovist ®
  - Sonavist ®
  - By 963 ®
- ***Mezzi di contrasto di seconda generazione (bolle di gas incapsulate):***
  - Imagent ®
  - SonoVue ®

-Optison ®

**2) in base alla farmacocinetica:**

• ***Mezzi di contrasto che non oltrepassano il circolo polmonare:***

-microbolle d'aria libere

-Echovist ® SHU 454

• ***Mezzi di contrasto transpolmonari:***

Ad emivita breve (<5 min dopo bolo endovenoso)

-Albunex ®

-Levovist ®

Ad emivita lunga (>5 min dopo bolo endovenoso)

-Echogen ®,

-Sonogen ®

-Optison ®

-SonoVue ®

-Definity ®

-Sonazoid ®

-Imagent ®, Imavist ®

-Sonavist ®

• ***Mezzi di contrasto transpolmonari e con specifica “fase d’organo”:***

-Levovist ®

-Sonazoid ®

-Sonavist ®

Un mezzo di contrasto ideale ha una fase vascolare a seguito della quale viene metabolizzato nel circolo stesso.

Alcuni composti, oltre ad una fase vascolare mostrano anche una “fase d’organo” specifica, determinata dalla fuoriuscita dal letto vascolare e dalla permanenza nel parenchima dell’organo o tessuto indagato rimanendo ecograficamente visualizzabili.

Esempi di mezzi di contrasto con questa caratteristica sono Sonazoid ® e Sonavist ® che, prima di essere eliminati subiscono la fagocitosi da parte delle cellule di Kupffer a livello epatico. Gli ultrasuoni consentono perciò di visualizzare la distribuzione omogenea di queste cellule all'interno del fegato sano ed eventualmente rilevare anomalie di ecogenicità nel contesto di lesioni focali. Infatti, in presenza di lesioni neoplastiche, siano esse primarie o secondarie, è frequente l'identificazione di un'area ipoecogena corrispondente alla mancata distribuzione delle cellule di Kupffer in questa determinata sede.

Anche Levovist ® ha una fase d'organo specifica e tardiva dopo quella vascolare in fegato e milza. Non è ancora chiaro, però se ciò è dovuto alla fagocitosi da parte delle cellule del sistema reticolo endoteliale o piuttosto ad un'adesione delle microbolle ai capillari sinusoidi.

Mezzi di contrasto con fasi cellulari specifiche in futuro potrebbero essere sfruttati sia per indagare eventuali patologie, sia per veicolare farmaci in punti ben determinati del sistema vascolare. (*Burns, Testo atlante, 2004*)

Di seguito sono riportate le caratteristiche principali dei mezzi di contrasto disponibili in commercio.

### **ALBUNEX ® (MBI, San Diego, California)**

Fu il primo mezzo di contrasto approvato negli Stati Uniti ed in Giappone per applicazioni cardiache. È costituito da microbolle d'aria stabilizzate con un sottile guscio di albumina umana di 30-50 nm. Il diametro medio è di 3,8 µm con una deviazione standard di 2,5µm senza elevata uniformità: infatti, solo il 90% delle bolle ha un diametro inferiore a 10 µm. Esse sono inoltre molto sensibili ai cambiamenti di pressione e caratterizzate da una breve emivita, inferiore al minuto. Se iniettate perifericamente per via endovenosa possono comunque passare il filtro polmonare e raggiungere il cuore sinistro. (*Correas, 2001*)

Secondo alcuni studi nel suino e nei ruminanti Albunex ® può causare reazioni allergiche con insorgenza di ipertensione polmonare acuta. Tale fenomeno, mai riscontrato nel cane, può essere spiegato dalla presenza, in suini e ruminanti, di

macrofagi intrapolmonari in grado di rilasciare localmente sostanze vasoattive. E' da escludersi, in ogni caso, un'ostruzione meccanica dei capillari da parte delle microbolle. Nessun cambiamento emodinamico fu osservato nei cani dopo ripetute somministrazioni. L' utilizzo di Albunex®, essendo costituito da albumina umana, è tuttavia da considerarsi potenzialmente problematico negli animali per eventuali risposte di tipo immunologico correlate alla presenza di anticorpi in animali che hanno ricevuto ripetute somministrazioni di questo mezzo di contrasto. Fino ad oggi nessuna ricerca sistematica degli anticorpi è stata messa a punto. (*Schmid, 1995*)

### ***ECHOVIST*® (SHU 454, Schering A.G., Berlin, Germany)**

Fu approvato in ecocardiografia per lo studio della cavità cardiaca destra e per l'identificazione di shunts cardiaci. Fu utilizzato, inoltre, per la visualizzazione di strutture cavitari non vascolari, come le tube di Falloppio. (*Burns, Testo atlante, 2004*) E' costituito da bolle d'aria stabilizzate da una matrice di galattosio in sospensione acquosa. Il galattosio a contatto con il sangue si dissolve rilasciando in soluzione le microbolle di aria. Quest'ultime hanno un diametro medio di 2 µm, con un 97% minore di 6 µm. La stabilità di Echovist non è comunque sufficiente a garantire il passaggio transpolmonare delle microbolle somministrate per via endovenosa periferica. Infatti si dissolvono prima di poter raggiungere il cuore sinistro, con conseguente limitata applicazione clinica. (*Correas, 2001*)

Fu il predecessore di Levovist®.

### ***LEVOVIST*® (SHU 508 A, Schering A.G., Berlin, Germany)**

Fu il primo mezzo di contrasto approvato in Europa e Canada per le applicazioni radiologiche. E' costituito anch'esso da microbolle d'aria rivestite di galattosio (99,9%), ma a differenza del suo predecessore, contiene anche una piccola quantità (0,1%) di acido palmitico in aggiunta alla matrice saccaridica. Questa piccola modifica conferisce al mezzo di contrasto maggiore stabilità perché, quando si scioglie lo zucchero, l'acido palmitico va a rivestire le microbolle, rallentandone la dissoluzione e separando l'interfaccia liquido-gas.

Il diametro medio delle microbolle è approssimativamente di 2  $\mu\text{m}$ , con una percentuale del 99 % inferiore agli 8  $\mu\text{m}$ .

Le piccole dimensioni e la maggior stabilità permettono ricircolazioni multiple dei mezzi di contrasto, aumentando il tempo di permanenza in circolo utile a scopo diagnostico. (*Correas, 2001*)

Inoltre, Levovist ha la caratteristica di possedere una fase d'organo specifica, grazie alla quale si accumula nel parenchima di fegato e milza per 20 minuti dopo l'iniezione endovenosa. Questo fenomeno è probabilmente da ricondursi alle aderenze che si vengono a creare tra le microbolle e i sinusoidi epatici o alla fagocitosi da parte delle cellule del Kupffer.

Numerosi studi con Levovist hanno dimostrato la sua capacità di attraversare il circolo polmonare in quantità sufficienti per rinforzare i segnali sia del colour che dello spectral Doppler, così come negli esami in scala di grigio, usando tecniche di imaging non lineari come, ad esempio, il "pulse inversion imaging". (*Burns, Testo Atlante, 2004*)

Levovist è disponibile in fiale contenenti il 99,9% di galattosio sotto forma di microcristalli e lo 0,1% di acido palmitico; appena prima dell'iniezione viene ricostituito tramite dissoluzione in acqua sterile e agitazione del composto, cosicché si vengano a creare microbolle d'aria disperse. (*Burns, Testo Atlante, 2004*)

### ***ECHOGEN*® (Sonus Pharmaceuticals, Bothell, Wash.)**

È un'emulsione liquido-in-liquido che contiene dodecafluoropentano (DDFP) in fase di dispersione. Si tratta di un perfluorocarburo con basso punto di ebollizione (28,5°C), bassa diffusibilità e bassa solubilità nel plasma. È costituito da goccioline di circa 0,4  $\mu\text{m}$  che, a seguito di attivazione e somministrazione, formano microbolle di DDFP con diametro medio compreso tra i 2 e i 5  $\mu\text{m}$ . La fase di transizione dallo stato liquido a quello gassoso si verifica attraverso una pressione negativa seguita da un'agitazione intensa all'interno della siringa immediatamente prima della somministrazione.

Grazie alla bassa solubilità e diffusibilità le bolle di questo gas permangono in soluzione più a lungo rispetto a bolle d'aria con diametro simile.

Per quanto riguarda la via di eliminazione di questo gas, esso viene escreto invariato attraverso i polmoni durante i normali atti respiratori.

Echogen ha ottenuto l'approvazione in campo cardiologico, ma non è mai stato utilizzato nella pratica clinica. (*Correas, 2001*)

### **SONAVIST® (Schering A.G., Berlin, Germany)**

E' costituito da microbolle di aria rivestite da un sottile strato di cianoacrilato, di diametro medio di circa 1 µm. E' molto resistente in circolo e l'unico meccanismo con il quale le microbolle sono rimosse dal circolo è la fagocitosi da parte delle cellule di Kupffer o dei macrofagi epatici. Quindi, possiede una fase d'organo specifica nel fegato e nella milza. (*Cosgrove, 1997*)

### **OPTISON® (FSO 69, Molecular Biosystems, San Diego, Calif.; and Mallinckrodt, St. Louis, Mo.)**

La composizione di Optison è simile a quella di Albunex, però le microbolle non sono d'aria, ma sono sostituite da gas perfluorocarburo.

Si ottiene tramite sonificazione di albumina umana con octafluoropropano.

Il diametro medio delle microbolle è approssimativamente di 2-4,5 µm e la concentrazione varia da 5 a 8 microsfele per millilitro.

Optison è stato recentemente approvato in Europa, Canada e Stati Uniti per applicazioni cardiache, in casi in cui l'esame ecocardiografico normale non ha dato alcun esito. Permette, infatti, una migliore visualizzazione delle camere cardiache e una più netta delineazione del ventricolo sinistro.

Non sono mai state segnalate reazioni di tipo immunitario dovute alla presenza di proteine eterologhe.

In ogni caso è fortemente controindicato in caso di ipertensione polmonare o diipersensibilità nei confronti di qualsiasi componente. (*Correas, 2001*)

### **IMAGENT® (Alliance Pharmaceutical Corp., San Diego, California)**

Si tratta di un mezzo di contrasto utilizzato oltre che in ecografia, anche in radiologia e nella risonanza magnetica.

E' un'emulsione di fluorocarburo brominato (perfluorocetyl bromide=PFOB) che contiene microbolle di diametro medio di 6 µm. (Cosgrove, 1997)

L'emivita di Imagent è di circa 10 ore e siccome non viene filtrato determina, a livello di un rene normalmente funzionante, un aumento dell'ecogenicità della midollare rispetto alla corticale. Questa caratteristica è stata sfruttata in alcuni studi sui conigli per valutare la capacità di concentrazione in reni sani, o in reni con un'alterata funzionalità. (Schimd, 1995)

Imagent, però, avendo una scarsa capacità di riflessione degli ultrasuoni, richiede somministrazioni ad alte dosi. Questo fatto, sommato al lungo tempo di permanenza in circolo, può causare problemi di tipo tossicologico. (Schimd, 1995)

### **SONOVUE ® (BR1, Bracco, Milano, Italia)**

E' un mezzo di contrasto costituito anch'esso da un perfluorocarburo, l'esafluoruro di zolfo. Le sue microbolle sono stabilizzate da una membrana di glicole polietilenico, fosfolipidi e acido palmitico.

E' disponibile sotto forma di polvere liofilizzata, da ricostituire con soluzione salina al momento dell'utilizzo. Può essere preparato a temperatura ambiente e rimane stabile per sei ore dopo la ricostituzione.

Contiene una concentrazione di  $2 \times 10^8$  microbolle per millilitro.

Il diametro medio delle microbolle è 2,5 µm, con un 90% minore di 8 µm.

In campo radiologico viene utilizzato per lo studio di patologie vascolari e microvascolari. E' indicato per migliorare il rapporto segnale-rumore del Doppler a livello arterioso, permettendo di identificare od escludere la presenza di eventuali anomalie di circolo sia a livello cerebrale, che a livello di arterie periferiche. Consente, inoltre, la caratterizzazione di lesioni vascolari toraciche od epatiche. (Correas, 2001)

Inizialmente approvato per applicazioni ecocardiografiche, SonoVue è stato proibito dall'EMEA nel 2004 in base al riscontro di reazioni allergiche in pazienti affetti da gravi problemi cardiaci.

### ***1.1.2.2 Farmacodinamica dei mezzi di contrasto***

#### ***Farmacocinetica dei mezzi di contrasto a base di microbolle***

Successivamente alla preparazione della sospensione di microbolle è sempre consigliabile eseguire l'iniezione endovenosa attraverso una cannula di almeno 18 gauge. Questo per evitare la presenza dell'effetto Venturi causato dal ridotto calibro degli aghi e determinante la distruzione delle microbolle per la turbolenza creata all'estremità dell'ago. Successivamente alla somministrazione delle microbolle si devono somministrare alcuni ml di soluzione salina per il lavaggio della cannula dalle microbolle che vi rimangono dopo la somministrazione. Le microbolle possono essere iniettate sia a in bolo (2-4 ml/sec) o mediante iniezione lenta (0,5 ml/sec). L'iniezione in bolo è facile da eseguire. La curva tempo intensità mostra una prima parte ripida seguita da una seconda parte che indica una lenta eliminazione. L'aumento della radioattività mostra una relazione lineare con la dose. Il principale limite di questa modalità è la possibilità di creare artefatti durante la concentrazione di picco delle microbolle. Nella modalità di somministrazione lenta l'enhancement è stabile e nella curva intensità-tempo si osserva un plateau di due minuti dall'inizio della somministrazione. Dopo l'iniezione endovenosa il mezzo di contrasto può presentare una distribuzione puramente intravascolare come un agente *blood pool* oppure una fase epato e spleno specifica dopo la preliminare fase vascolare determinata dal *pooling* selettivo delle microbolle a livello dei sinusoidi epatici oppure dalla fagocitosi da parte delle cellule del sistema reticolo-endoteliale nel fegato e nella milza.

Il contenuto gassoso delle microbolle viene comunemente eliminato attraverso i polmoni mediante respirazione mentre i componenti utilizzati come stabilizzatori vengono filtrati attraverso i reni o metabolizzati dal fegato. I perfluorocarburi e l'esafioruro di zolfo sono gas inerti che non vengono metabolizzati dall'organismo e vengono eliminati dopo pochi minuti attraverso i polmoni con la medesima modalità dell'aria. Il 40-50% del volume dell'esafioruro di zolfo viene eliminato in due minuti dall'iniezione mentre l'80-90% del volume viene eliminato dopo circa 11 minuti.

I fosfolipidi della capsula esterna entrano no normale metabolismo fosfolipidico. Il galattosio viene invece trasformato in galattosio-1-fosfato, o ancora può essere metabolizzato e degradato in CO<sub>2</sub> dopo isomerizzazione in glucosio 1-6 fosfato. Se i livelli plasmatici del galattosio superano i 50mg/100ml, e quindi la capacità di eliminazione da parte del fegato, viene eliminato attraverso l'emuntorio renale. La quota di eliminazione del galattosio in pazienti affetti da patologie epatiche è circa un terzo di quella dei pazienti sani nei quali il livello di galattosio diminuiscono del 10÷5 ogni minuto.

### ***1.1.2.3 Effetti collaterali dei mezzi di contrasto***

Negli uomini le microbolle hanno dimostrato un eccellente profilo sicurezza senza tossicità a carico dei reni del fegato e dell'encefalo. Le reazioni avverse sono rare e quando si verificano sono transitorie e di media intensità. Nelle strette vicinanze del sito di iniezione o lungo il decorso della vena utilizzata per l'iniezione , durante o immediatamente dopo l'iniezione stessa , si può manifestare senso di dolore, calore o freddo o irritazione tissutale. Si può inoltre manifestare una transitoria ed aspecifica irritazione dell'endotelio delle vene a causa dell'iperosmolarità delle microbolle.

Sono stati inoltre descritti casi solati di dispnea dolore toracico, ipo/ipertensione, nausea, vomito, alterazioni del gusto, cefalea, vertigini, sensazione di calore facciale, arrossamento generale ed eruzioni cutanee. Sono stati inoltre riportati sensazioni di ronzio più o meno prolungata, torpore, alterazioni del gusto e vertigini. Non sono invece state descritte reazioni di ipersensibilità al mezzo di contrasto a base di microbolle.

Anche se l'insufficienza cardio-respiratoria non è considerata una controindicazione per la somministrazione delle microbolle, bisogna attentamente valutare il rapporto rischio-beneficio nell'insufficienza cardiovascolare severa.

Recentemente la *European Agency for the Evaluation of Medical Products (EMA)* ha predisposto delle precauzioni nell'utilizzo delle microbolle di esafluoruro di zolfo nei pazienti con patologie cardiovascolari., in particolare pazienti con patologia coronarica nota, infarto acuto del miocardio, angina instabile, scompenso cardiaco

acuto o cronico di classe III e IV, aritmie severe, endocarditi acute e protesi vascolari cardiache (Piscaglia 2006). Ciò è stato determinato da un limitato numero di reazioni allergiche, in pazienti sottoposti ad ecocardiografia, che possono causare problemi cardiovascolari secondari come l'ipotensione severa, la bradicardia e lo shock anafilattico oppure l'exitus. Da una recente analisi (Piscaglia 2006) l'incidenza delle reazioni avverse dopo somministrazione di Sonovue è risultata essere pari a circa 0,009% e quindi molto inferiore alle percentuali riportate per i mezzi di contrasto iodati ionici (0,09-0,22%), non ionici (0,02-0,1%) e a base di gadolino (0,1-2%).

Il fenomeno della cavitazione inerziale, consistente nella rapida formazione, crescita e collasso di una bolla di gas all'interno di un liquido, come risultato dell'esposizione a un fascio di ultrasuoni, viene tradizionalmente considerato la causa dei principali effetti avversi dei mezzi di contrasto a base di microbolle sugli animali, quali l'emolisi, l'aggregazione piastrinica ed il danno alle cellule endoteliali. Anche se questi effetti sono stati osservati sia in vitro che in vivo, non sono state riportate prove di effetti biologici conseguenti all'esposizione agli ultrasuoni e ai mezzi di contrasto ecografici in ambito clinico. Effetti biologici significativi sono stati ottenuti sperimentalmente utilizzando condizioni di insonazione estreme con dosi elevate di microbolle, prolungata esposizione alle onde ultrasonore oppure un elevato indice meccanico. I criteri protezionistici consigliano di impiegare il più basso indice meccanico possibile, la più bassa dose di mezzo di contrasto possibile e la più alta frequenza possibile, il tutto compatibilmente con l'ottenimento di adeguate informazioni diagnostiche.

## ***1.1.3 Funzionamento dei mezzi di contrasto in ecografia***

### ***1.1.3.1 Cenni di ecografia***

L'ecografia è un esame diagnostico basato sulle proprietà fisiche degli ultrasuoni che vengono emessi da una sonda ed indirizzati verso la regione anatomica da indagare. A livello di interfaccia tra due tessuti di diversa natura gli ultrasuoni si riflettono e generano delle eco di ritorno che vengono captate dalla sonda stessa e convertite, in tempo reale, in immagini bidimensionali corrispondenti alla regione anatomica sottoposta a scansione. Tale fenomeno è dovuto alla differente densità che caratterizza due tessuti ed alla loro differente impedenza acustica. (Busoni, 2003).

L'impedenza acustica di un tessuto è definita come il prodotto della densità del tessuto stesso per la velocità di propagazione dell'onda e può essere riassunta nella seguente equazione:

$$Z = v \times \rho$$

ove  $Z$  rappresenta l'impedenza acustica,  $v$  la velocità e  $\rho$  la densità tissutale.

L'ampiezza delle eco di ritorno è proporzionale alla differenza di impedenza acustica che si genera tra due tessuti quando un fascio di ultrasuoni passa attraverso l'interfaccia da un tessuto all'altro. Essendoci scarse differenze di impedenza acustica tra i vari tessuti molli dell'organismo (tabella 1), solo una piccola percentuale di ultrasuoni viene riflessa dall'interfaccia tra due tessuti, mentre la maggior parte del fascio l'attraversa e permette la visualizzazione di strutture più profonde. Questo fatto è fondamentale da un punto di vista diagnostico. Come si può osservare nella tabella 1, l'osso ha un'impedenza acustica elevata in quanto è un tessuto ad alta densità che trasmette le onde ultrasonore ad una velocità elevata. L'aria invece ha un'impedenza acustica molto bassa perchè è meno densa e più comprimibile rispetto ai tessuti molli; inoltre rallenta notevolmente gli ultrasuoni. Quindi, a livello di interfaccia tessuto molle-osso o tessuto molle-aria, la differenza di impedenza acustica è elevata. Quasi

tutti gli ultrasuoni vengono riflessi, mentre solo una piccola quantità può raggiungere le strutture più profonde che non vengono visualizzate, se non come ombre acustiche posteriori. (Nyland, 1995)

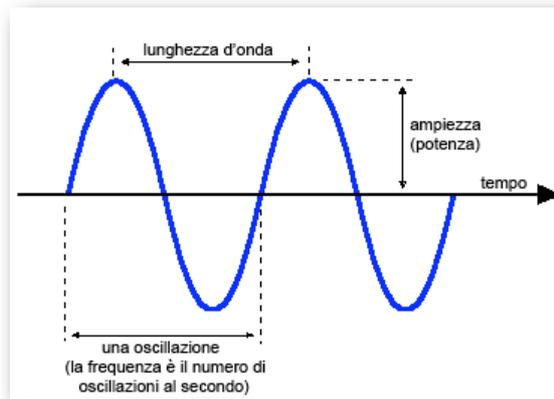
TESSUTO O SOSTANZA	IMPEDENZA ACUSTICA	TESSUTO O SOSTANZA	IMPEDENZA ACUSTICA
Aria	0,0004	Rene	1,62
Tessuto adiposo	1,38	Fegato	1,65
Acqua (50°C)	1,54	Muscolo	1,7
Sangue	1,61	Cristallino	1,84
Osso	7,8		

Tabella 1. *Impedenza acustica* (da Nyland, 1995)

\*Impedenza acustica =  $\times 10^6$  kg/m<sup>2</sup>sec.

Gli ultrasuoni sono onde sonore, caratterizzate da una frequenza più alta di quella massima percepibile dall'orecchio umano, che è approssimativamente di 20,000 cicli al secondo cioè 20 kHz. In diagnostica si utilizzano frequenze comprese tra 2 e 10 MHz, in base al paziente o alla regione anatomica da esaminare. La frequenza è definita come numero di volte in cui l'onda si ripete nell'unità di tempo, ossia numero di cicli per secondo. (Nyland, 1995)

La lunghezza d'onda, invece, corrisponde alla distanza che l'onda compie in un ciclo; all'aumentare di questa grandezza, da una parte, aumenta la capacità di penetrazione degli ultrasuoni nei tessuti, ma dall'altra parte, diminuisce la risoluzione dell'immagine. La velocità, infine, è il prodotto di frequenza per lunghezza d'onda; queste due grandezze fisiche sono inversamente proporzionali tra loro, poiché la velocità degli ultrasuoni attraverso i tessuti molli è pressoché costante (1540 m/sec) ed è indipendente dalla frequenza. (Nyland, 1995)



*Figura 1. Caratteristiche degli ultrasuoni*

Quindi in base a queste definizioni, scegliendo una sonda ad alta frequenza, gli ultrasuoni emessi hanno una minor lunghezza d'onda, cioè penetrano poco in profondità nei tessuti, rendendo esaminabili le strutture anatomiche superficiali. Viceversa, per raggiungere organi più profondi, è necessario aumentare la lunghezza d'onda, cioè utilizzare una sonda a bassa frequenza.

Per quanto riguarda la risoluzione dell'immagine, essa è direttamente proporzionale alla frequenza dell'ultrasuono ed inversamente proporzionale alla lunghezza d'onda, cioè maggiore è la profondità da raggiungere peggiore è la risoluzione.

Quindi da un punto di vista pratico, per ottenere immagini di buona qualità, occorre impiegare la sonda con la massima frequenza possibile in relazione alla profondità della struttura da esaminare e/o alle dimensioni dell'animale, per trovare il giusto compromesso tra capacità di penetrazione degli ultrasuoni e buona risoluzione dell'immagine.

Gli ultrasuoni trasmessi dalla sonda sono delle onde caratterizzate da un moto oscillatorio e presentano due fasi: una positiva di compressione ed una negativa di rarefazione. L'ampiezza dell'onda e di conseguenza l'ampiezza delle due fasi non è costante, ma è modificabile nella pratica ecografica mediante l'indice meccanico.

L'indice meccanico (MI) è la funzione che esprime la pressione acustica di un fascio ultrasonoro sulle strutture insonate. Corrisponde al rapporto tra picco di pressione negativa ( $P_{neg}$ ) e la radice quadrata della frequenza ( $f$ ) dell'ultrasuono incidente:

$$MI = P_{neg} / \sqrt{f}$$

Il picco di pressione negativa cambia in rapporto al tessuto attraversato, decresce all'aumentare dell'attenuazione, cioè della profondità. L'indice meccanico riflette l'energia cui un bersaglio, come ad esempio una bolla di un mezzo di contrasto, è esposto in un campo di ultrasuoni; è, cioè, correlato alla quantità di lavoro meccanico che può essere svolto dalla bolla durante un singolo semiciclo negativo dell'onda ultrasonora. Inoltre fornisce un'indicazione della capacità di determinare fenomeni di cavitazione nel mezzo. (*Burns, Testo Atlante, 2004*)

In clinica l'indice meccanico è compreso tra i valori 0,1 e 2,0. Esso varia all'interno dell'immagine; in assenza di attenuazione l'indice meccanico è massimo a livello del fuoco del fascio di ultrasuoni e decresce ai bordi dello stesso fascio. Inoltre non esprime un valore costante su ogni ecografo, ma, essendo un valore calcolato, varia in base al tipo di apparecchio utilizzato. (*Imperatori, Testo Atlante, 2004*)

### ***1.1.3.2 Funzionamento dei mezzi di contrasto***

Con lo sviluppo dell'ultrasonografia con mezzo di contrasto, emersero evidenti limitazioni nell'applicazione delle tecniche ecografiche tradizionali, definite anche fondamentali o convenzionali. Per aumentare la sensibilità diagnostica gli studi successivi si concentrarono sullo studio di nuove tecniche di imaging basate sulle proprietà specifiche dei mezzi di contrasto. (*Nyland, 1995*)

Prima di analizzare i principi di queste nuove tecniche è fondamentale comprendere cosa si verifica quando un fascio di ultrasuoni interagisce con le microbolle di un mezzo di contrasto.

Una microbolla sottoposta ad un'onda ultrasonora può determinare due tipi di risposta diversi.

- Nel primo tipo l'onda può essere riflessa dalla superficie della bolla a causa della notevole differenza di impedenza acustica tra il gas contenuto all'interno della microbolla ed il sangue circostante.
- Un secondo tipo di risposta, molto più importante, si verifica quando il diametro delle microbolle è molto più piccolo della lunghezza d'onda dell'ultrasuono. A

questa condizione le microbolle possono essere forzate in una pulsazione volumetrica. (*Frinking, 2000*)

Come illustrato nel precedente capitolo, un'onda ultrasonora ha un moto di tipo oscillatorio ed è costituita da una fase positiva e da una fase negativa, che determinano rispettivamente una compressione ed una rarefazione a carico dei tessuti e delle microbolle di gas presenti in circolo. Queste ultime subiscono, per l'appunto, una pulsazione volumetrica, ovvero una variazione di volume in funzione della fase dell'onda ultrasonora: nella situazione più semplice, una microbolla diminuisce di dimensione, quando subisce una compressione, cioè durante la fase positiva dell'onda, mentre durante la fase negativa o di rarefazione il suo diametro aumenta (*Frinking, 2000*). La pulsazione volumetrica è inversamente proporzionale alle dimensioni delle microbolle, ed è dipendente dalla frequenza degli ultrasuoni. Infatti, la massima pulsazione si ha ad una specifica frequenza definita come *frequenza di risonanza* (*Frinking, 2000*), alla quale le microbolle possono sia assorbire che riflettere gli ultrasuoni con un'efficacia peculiarmente alta. Per esempio, una bolla d'aria libera in un mezzo acquoso e con un diametro di 3  $\mu\text{m}$ , diametro medio delle microbolle di un tipico mezzo di contrasto transpolmonare, ha una frequenza risonante di oscillazione di circa 3 MHz (figura 2), che corrisponde alla frequenza normalmente utilizzata per le scansioni addominali. Questa straordinaria coincidenza spiega il perché i mezzi di contrasto siano così efficienti e possano essere somministrati in così piccole quantità (*Burns, Testo Atlante, 2004*).

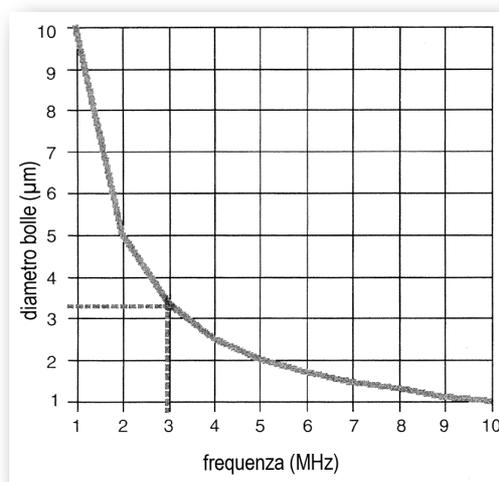


Figura 2 (*Burns, Testo Atlante*)

La pulsazione volumetrica di una microbolla può inoltre variare con l'ampiezza dell'onda ultrasonora cui è sottoposta; in questi termini si possono quindi distinguere tre tipi di comportamento secondo l'ampiezza dell'ultrasuono. (Frinking, 2000)

Utilizzando ultrasuoni con ampiezza ridotta le fasi di compressione e di rarefazione delle bolle sono identiche e costanti. Il volume delle microbolle è linearmente correlato alla pressione acustica applicata, ossia all'indice meccanico. (Frinking, 2000) Questo comportamento viene definito *lineare* e la tecnica è detta imaging a bassa potenza (<50 kPa). (Burns, Testo Atlante, 2004)

Aumentando l'ampiezza dell'onda ultrasonora, ricorrendo cioè ad una tecnica di imaging a media potenza (50-100 kPa), si verifica una risposta *non lineare*, poiché la fase di compressione risulta minore rispetto alla fase di espansione. Come si può notare dallo schema seguente (figura 3), durante la fase positiva la bolle si possono comprimere, irrigidendosi, fino a raggiungere un volume minimo, oltre il quale, anche se aumenta la pressione acustica, il raggio non può ulteriormente diminuire. Durante la fase positiva, invece, le bolle perdono rigidità, si espandono e il loro raggio può aumentare molto, parallelamente all'incremento della pressione acustica negativa. (Burns, Testo Atlante, 2004)

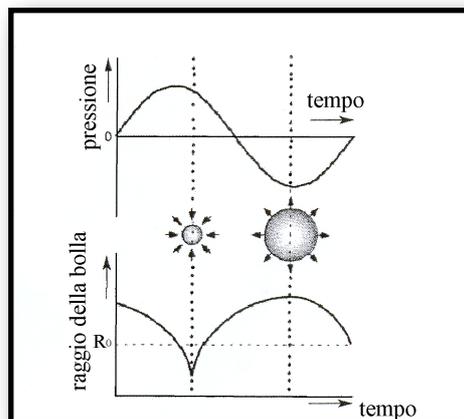


Figura 3 (Burns, Testo Atlante)

Di conseguenza, la dimensione delle microbolle non è più linearmente correlata alla pressione acustica applicata. (Frinking, 2000)

Le bolle hanno un comportamento non lineare e subiscono una vibrazione che genera un segnale di ritorno con picchi non solo in corrispondenza della frequenza

fondamentale, cioè uguale a quella trasmessa (in genere 3,5 MHz), ma anche a frequenze *armoniche* ossia multipli della frequenza fondamentale. Le armoniche più frequenti sono quelle con una frequenza doppia a quella fondamentale e sono definite seconde armoniche.

Anche i tessuti possono generare seconde armoniche, ma, come vedremo, è possibile differenziare i segnali di risposta generati dalle microbolle da quelli provenienti dai tessuti circostanti. (*Frinking, 2000*)

Utilizzando un imaging ad alta potenza (100 kPa), cioè aumentando ulteriormente l'ampiezza delle onde ultrasonore, il segnale di ritorno aumenta improvvisamente ma per un breve periodo di tempo. Questo fenomeno è associato alla rottura delle microbolle e alla dispersione del gas in esse contenuto nel sangue. Si tratta di un effetto irreversibile e transitorio la cui durata dipende dal tipo di gas e dalle sue caratteristiche fisiche di dissoluzione nel sangue. L'eco di ritorno sarà di tipo non-lineare.

A livello pratico per variare l'ampiezza d'onda degli ultrasuoni, cioè per utilizzare imaging a bassa, media o alta potenza, è sufficiente intervenire agendo sull'indice meccanico, cioè sulla pressione acustica. (*Burns, Testo Atlante, 2004*)

### ***1.1.4 Tecniche di imaging***

Le tecniche tradizionali, definite anche fondamentali, utilizzate nello studio con mezzo di contrasto di cuore e grossi vasi, si dimostrarono inadeguate per l'indagine di strutture extracardiache. Infatti, in regioni caratterizzate da un flusso ematico lento o con vasi sanguigni troppo piccoli con una scarsa quantità di microbolle al loro interno, i segnali di ritorno provenienti dai tessuti circostanti andavano a mascherare quello proveniente dalle microbolle. (*Frinking, 2000*)

La ricerca fu quindi rivolta allo studio di nuove tecniche di imaging, capaci di superare i limiti dell'ultrasonografia convenzionale, con lo scopo di aumentare la sensibilità diagnostica anche in regioni con flussi ematici a bassa portata e a bassa velocità. (*Nyland, 1995*)

Le nuove tecniche, basate sulle proprietà specifiche dei mezzi di contrasto, sono state definite come “non convenzionali”.

L'*imaging di seconda armonica* si è sviluppato dalla scoperta che le microbolle possono trasmettere eco di ritorno caratterizzate da una frequenza doppia rispetto a quella fondamentale, proprio per questo definite “seconde armoniche”. Questo tipo di imaging si basa su un sistema in grado di discriminare, all'interno del segnale ricevuto, le seconde armoniche da quelle fondamentali, e quindi processare unicamente il segnale armonico.

La seguente figura (figura 4) rappresenta due curve in un piano cartesiano:  $f_0$  corrispondente al segnale fondamentale trasmesso dall'ecografo e  $2f_0$  corrispondente alle seconde armoniche ricevute.

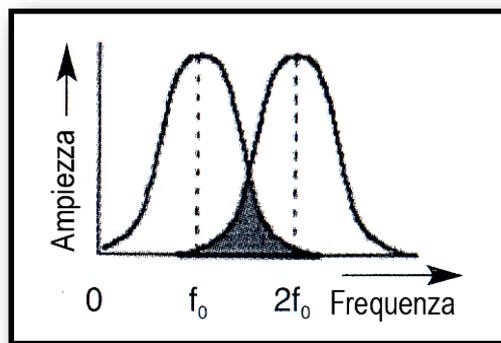


Figura 4 (Burns, Testo Atlante, 2004)

E' evidente una netta sovrapposizione dei due tipi di segnale e ciò si riflette in una scarsa capacità di discriminazione ed isolamento delle eco provenienti dalle microbolle. Per ridurre l'entità di questa sovrapposizione ed ottenere un netto miglioramento della sensibilità si può ricorrere all'emissione e alla ricezione di bande di ultrasuoni ristrette attorno alla frequenza fondamentale e a quella armonica (Figura 5).

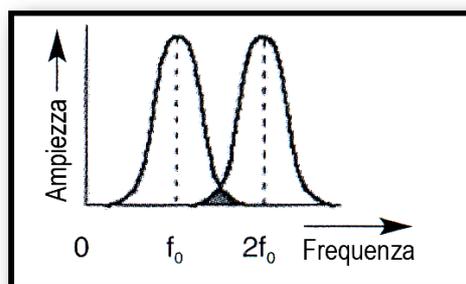


Figura 5 (Burns, Testo Atlante, 2004)

La diminuzione della banda di ultrasuoni comporta, però, una minore risoluzione d'immagine.

Un altro svantaggio di questa tecnica è quello di dover utilizzare un indice meccanico che determina la distruzione precoce delle microbolle presenti in circolo (*Szatmàri, 2003*).

Di conseguenza, per un'ottimizzazione della tecnica, è necessario trovare un equilibrio tra banda di emissione e risoluzione d'immagine e tra indice meccanico e sopravvivenza delle microbolle (*Frinking, 2000*).

Con l'approfondimento degli studi inerenti all'imaging di seconda armonica, si è osservato che è possibile rilevare un segnale armonico proveniente dai tessuti, anche in assenza di mezzo di contrasto; ha così origine l'*imaging di seconda armonica tissutale* (*Frinking, 2000*).

Infatti, utilizzando un indice meccanico elevato, un'onda ultrasonora, caratterizzata come visto precedentemente da una fase positiva ed una negativa, si propaga attraverso il corpo determinando compressione e rilasciamento dei tessuti. Durante la fase di compressione l'onda viene trasmessa ad una velocità maggiore rispetto alla fase di rarefazione. Questa distorsione nella forma dell'onda genera un segnale armonico. L'imaging di seconda armonica, inizialmente sviluppatosi per i mezzi di contrasto, è stato quindi applicato ai tessuti ottenendo un miglioramento del rapporto segnale-rumore rispetto alle tecniche convenzionali, soprattutto in pazienti con abbondante tessuto adiposo o masse muscolari particolarmente sviluppate (*Szatmàri, 2003*).

Durante l'utilizzo di mezzi di contrasto le armoniche provenienti dai tessuti costituiscono, però un artefatto, che può essere in parte eliminato agendo sull'indice meccanico. Infatti le armoniche tissutali sono intense e durature solo con un indice meccanico elevato, che agisce sulle microbolle causandone la distruzione e determinando la liberazione di armoniche di breve durata (*Szatmàri, 2003; Burns, 2004*). Quindi, utilizzando un indice meccanico basso si sopprime il segnale non lineare proveniente dai tessuti e si riduce la distruzione delle microbolle del mezzo di contrasto, prolungandone l'emivita. Tutto ciò permette un'indagine effettiva di

diversi minuti con una visualizzazione in tempo reale del pattern di enhancement dinamico (Albrecht, 2004).

Per ottenere un buona risoluzione e diminuire gli artefatti durante l'utilizzo dei mezzi di contrasto, è nata una nuova tecnica ultrasonografica che prende il nome di *pulse inversion imaging* e che oggi viene frequentemente applicata. Anche questa tecnica sfrutta le frequenze armoniche, ma si basa sull'emissione di due impulsi identici ma con polarità invertita. Le due risultanti del segnale di ritorno vengono poi sommate per mettere in evidenza il diverso tipo di risposta di tessuti e microbolle.

La risposta dei tessuti è di tipo lineare: il secondo impulso viene riflesso come copia invertita del primo e quindi la somma delle due risposte è zero. Le microbolle del mezzo di contrasto, invece, interagendo con il fascio di ultrasuoni, generano delle componenti armoniche non-lineari, con deformazione dell'onda di ritorno per cui la somma non può essere pari a zero (Bartolotta, 2005). Nell'immagine seguente (figura 6) sono raffigurati i diversi tipi di risposta e la somma delle eco di ritorno:

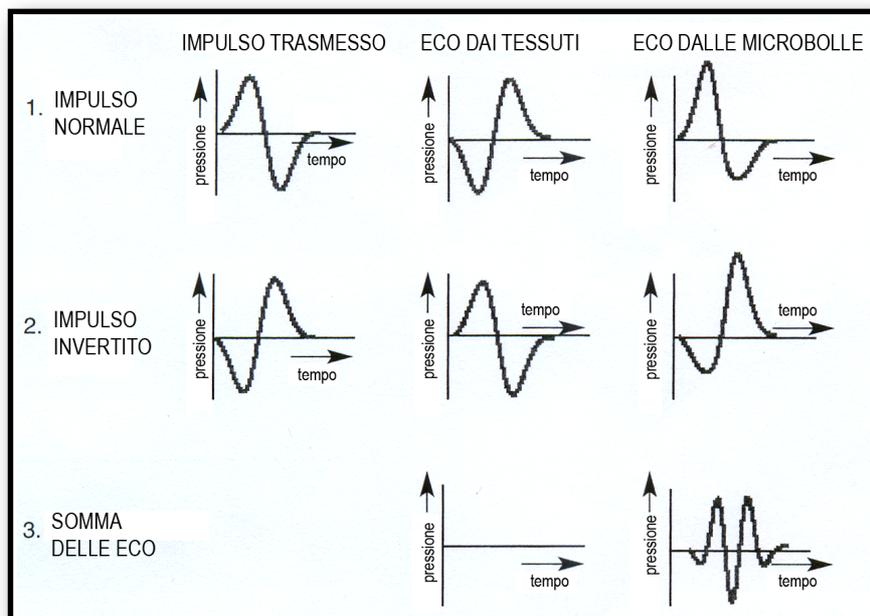


Figura 6 (Burns, Testo Atlante, 2004)

Il grande vantaggio di questa tecnica rispetto all'*imaging di seconda armonica* è la possibilità di utilizzare ultrasuoni a banda larga, senza dover quindi rinunciare ad una buona risoluzione d'immagine. Inoltre è stato dimostrato che la *pulse inversion imaging* può essere applicata con bassi valori di indice meccanico, aumentando il tempo di sopravvivenza delle microbolle in circolo (Szatmàri, 2003).

## ***1.2 Applicazione dei mezzi di contrasto in medicina umana***

L'impiego dell'imaging dedicato ai mezzi di contrasto, sia ad alta sia a bassa potenza, introduce una nuova sensibilità dell'esame ecografico, permettendo di studiare dinamicamente, oltre al cuore ed al macrocircolo, anche il microcircolo caratterizzato da vasi del diametro inferiore a 100  $\mu\text{m}$ . Questa sensibilità fornisce tutta una serie di applicazioni cliniche non possibili senza l'aiuto dei mezzi di contrasto. (*Imperatori, Testo Atlante, 2004*)

In medicina umana le potenziali applicazioni dei mezzi di contrasto sono: applicazioni ecocardiografiche, applicazioni Doppler, studi di perfusione di tessuti ed organi, studio della vascolarizzazione tumorale, imaging funzionali ed applicazioni terapeutiche. (*Correas, 2001; Schmid, 1995*)

### **•Applicazioni ecocardiografiche**

I mezzi di contrasto in ecocardiografia sono stati e vengono tuttora utilizzati per identificare la presenza di difetti cardiaci.

Ad esempio uno shunt tra cuore destro e cuore sinistro si può mettere in evidenza, dopo somministrazione di mezzo di contrasto, come un aumento dell'intensità delle eco prodotte nella parte sinistra del cuore o alla radice dell'aorta. Se, invece, il cuore presenta un difetto settale ventricolare iniettando mezzo di contrasto nel ventricolo sinistro si può visualizzare la presenza delle microbolle nel ventricolo destro. Un altro utile impiego è quello di identificare un rigurgito mitrale dopo iniezione nel ventricolo sinistro. (*Schmid, 1995*)

### **•Applicazioni Doppler**

La contrastografia, inizialmente, ha trovato largo impiego nelle indagini Doppler poiché in grado di aumentarne la sensibilità soprattutto con flussi sanguigni ridotti o troppo lenti oppure con vasi situati troppo in profondità o con un'angolazione non ottimale. La somministrazione lenta di mezzo di contrasto (1 ml/min in infusione continua) poteva determinare un aumento della durata e dell'intensità dell'enhancement con riduzione degli artefatti.

Le principali applicazioni Doppler dei mezzi di contrasto riguardavano disturbi macrovascolari renali ed epatici (stenosi od occlusione di vene e arterie), disturbi del microcircolo (infarti, ipoperfusioni, identificazione e caratterizzazione di lesioni cistiche atipiche o lesioni solide), ed imaging trans-craniale. Tuttavia nell'ultima decade la necessità dell'utilizzo di mezzi di contrasto è andata riducendosi grazie al miglioramento della sensibilità e della risoluzione spaziale delle tecniche Doppler. *(Correas, 2001)*

#### • **Studi di perfusione di tessuti ed organi**

I mezzi di contrasto possono essere utilizzati come metodo non invasivo per valutare la funzione e la vascolarizzazione di un organo o di un tessuto. *(Schmid, 1995)* L'esempio più significativo di tale applicazione è l'imaging di perfusione miocardica, che consente una valutazione non invasiva del circolo e del microcircolo coronarico del miocardio. L'esame ecocardiografico senza mezzo di contrasto, infatti, non permette di valutare la perfusione miocardica. I mezzi di contrasto di seconda generazione e lo sviluppo delle tecniche a bassa potenza hanno consentito lo studio dinamico della distribuzione del flusso coronarico in *real time*. Le validazioni cliniche del metodo sono tuttora in corso. Le prospettive di utilizzo pratico di questa metodologia diagnostica sono particolarmente promettenti nella diagnosi e follow-up del trattamento nell'infarto miocardico acuto e nella diagnosi della malattia ischemica anginosa. *(Imperatori, Testo Atlante, 2004)* L'ecocontrastografia miocardica è usata anche in sede intraoperatoria dopo trapianto cardiaco per valutare la pervietà del nuovo letto vascolare *(Schmid, 1995)*.

Attraverso lo studio della perfusione dei diversi organi è possibile individuare e caratterizzare le lesioni focali di fegato, mammella, prostata, rene, ovaio, milza e linfonodi. In particolare, a livello epatico si possono analizzare i pattern di vascolarizzazione nelle tre diverse fasi vascolari (arteriosa, portale e tardiva) ed è possibile differenziare la natura benigna o maligna delle lesioni. *(Imperatori, Testo Atlante, 2004)*

### •*Imaging funzionale*

I mezzi di contrasto possono essere utilizzati anche come traccianti del circolo sanguigno per studiare l'emodinamica vascolare ed individuare eventuali alterazioni. Dopo l'iniezione di un bolo di mezzo di contrasto è possibile, dalla regione di interesse, ottenere delle curve intensità-tempo basate sul comportamento delle microbolle, da cui si ricavano tutta una serie di indici di funzionalità: tempo necessario a raggiungere il picco di enhancement, intensità del picco, inclinazione della fase di wash-in o di wash-out, durata dell'enhancement contrastografico totale ed area sottesa dalla curva intensità-tempo. *(Correas, 2001)* Lo studio delle curve intensità-tempo si basa sulla considerazione che una patologia possa modificare in modo caratteristico la circolazione di un organo in modo di ricavarne una diagnosi. *(Imperatori, Testo Atlante, 2004)* Tutte queste informazioni aggiuntive ottenibili con i mezzi di contrasto vengono applicate in diversi campi come nelle stenosi parziale o completa dell'arteria renale, dell'aorta o delle sue branche e, a livello di vascolarizzazione cerebrale, nell'individuare malformazioni o danni vasali. Infatti, in regioni dove il flusso è particolarmente rallentato o addirittura assente, i mezzi di contrasto, grazie alla loro capacità di aumentare il rapporto segnale-rumore proveniente dai vasi, mettono chiaramente in evidenza la presenza di vasi stenotici ed il grado della stenosi stessa. *(Schmid, 1995; Correas, 2001)*

Anche in corso di cirrosi epatica, l'impiego dell'imaging funzionale con mezzo di contrasto può essere uno strumento diagnostico promettente e non invasivo. Consente la misurazione del tempo di transito cioè l'intervallo tra iniezione del mezzo di contrasto e comparsa delle microbolle nella vena epatica. A causa della presenza di shunts arterovenosi epatici e polmonari, di uno stato ipercircolatorio sistemico e dell'arterializzazione epatica, tale intervallo è più breve in pazienti con cirrosi epatica rispetto a soggetti sani o con altre patologie epatiche diffuse. Tuttavia anche in corso di neoplasie maligne (epatocarcinoma o metastasi epatiche) si può notare una diminuzione del tempo di transito a causa di shunt arterovenosi all'interno del tumore. *(Szatmári, 2003)* Lo studio della microcircolazione può essere utile nella stadiazione della cirrosi e nella valutazione dei circoli collaterali in caso di

ipertensione portale o la presenza di shunt porto-cavali (*Imperatori, Testo Atlante, 2004*).

In medicina veterinaria O'Brien nel 2006 sfrutta gli stessi principi nella valutazione perfusionale del fegato mediante mezzo di contrasto in tre cani affetti da shunt porto-sistemici congeniti (CPSS). In questi soggetti il picco di enhancement e la upslope della curva intensità tempo sono risultati significativamente più brevi rispetto alla popolazione sana studiata precedentemente. È risaputo che il 70-80% dell'apporto sanguigno al fegato in soggetti sani proviene dalla vascolarizzazione portale. Il fegato di soggetti affetti da CPSS è invece caratterizzato da un maggiore afflusso della componente arteriosa che sembra svolgere una funzione emodinamica protettiva nel tentativo di garantire al fegato un adeguato supporto ematico. Tale meccanismo, alla luce dello studio funzionale mediante esame ultracontrastografico, si traduce in un incremento perfusionale ed in un accorciamento del tempo impiegato per raggiungere il picco di enhancement. L'aumento del flusso arterioso non è tuttavia sufficiente ad emettere una diagnosi di CPSS. In medicina umana come sopra descritto anche la presenza di shunts artero-venosi di natura neoplastica potrebbe determinare caratteristiche perfusionali simili sebbene in medicina veterinaria tali alterazioni siano ancora da dimostrare.

Un approccio più recente dell'imaging funzionale contrastografico si è sviluppato basandosi sulla distruzione delle microbolle con indice meccanico elevato, seguita dallo studio della riperfusione osservata ad indice meccanico basso. Teoricamente la curva di riperfusione è correlata al flusso sanguigno mentre l'entità dell'enhancement è correlata al volume di sangue presente (*Correas, 2001*).

#### • ***Vascolarizzazione tumorale***

Una delle componenti più importanti della diagnosi oncologica è la valutazione delle caratteristiche della vascolarizzazione del tessuto tumorale. L'angiografia ha ampiamente dimostrato che, nelle lesioni di natura maligna, è presente un'architettura vascolare anomala. Le tecniche di color e spectral Doppler sono altrettanto utili, dal punto di vista clinico, per dimostrare un'alterazione della vascolarizzazione in modo non invasivo; tuttavia tali metodiche mostrano delle limitazioni nel rilevare flussi

sanguigni in presenza di vasi di piccole dimensioni o in tessuti particolarmente profondi. I mezzi di contrasto intravascolari, aumentando l'intensità delle eco provenienti dal sangue, migliorano nettamente la sensibilità nella discriminazione dei piccoli flussi sanguigni consentendo di visualizzarne la morfologia e le distorsioni vascolari.

In medicina veterinaria sono recenti le pubblicazioni relative la caratterizzazione di lesioni focali a fegato e milza mediante impiego di mezzo di contrasto. Lo studio di O'Brien 2004 prende in esame 32 soggetti appartenenti alla specie canina con anamnesi di lesioni focali epatiche. lo studio ultracontrastografico di tali lesioni fornisce dati incoraggianti per la similarità con i comportamenti descritti in medicina umana in corso di lesioni neoplastiche.

Sulla base di alcune caratteristiche quali

- il confronto tra numero di lesioni evidenti all'esame standard e mediante mezzo di contrasto
- il comportamento ultracontrastografico di tali lesioni comparato con quello del fegato ecograficamente sano

l'autore ha riscontrato comportamenti significativamente differenti tra lesioni benigne e neoplastiche. Le seconde infatti mostrano frequentemente una perdita di enhancement precoce rispetto al parenchima ecograficamente normale con un conseguente incremento della capacità di identificare le dimensioni reali delle lesioni in esame.

In un altro lavoro del 2007 O'Brien prende in esame l'incremento della capacità di identificazione di metastasi epatiche da emangiosarcoma mediante impiego di esame ecografico con mezzo di contrasto. L'autore valuta il fegato di tre soggetti con anamnesi di emangiosarcoma splenico e confronta la sensibilità dell'esame ecografico standard con quello con mezzo di contrasto nell'identificazione di lesioni epatiche metastatiche. I risultati dimostrano come l'impiego di mezzo di contrasto abbia consentito una più accurata identificazione delle lesioni neoplastiche. Anche in questo caso tali lesioni mostravano una perdita di enhancement precoce rispetto al parenchima circostante.

E' ancora più recente (2008) la pubblicazione di Volta che prende in considerazione l'impiego del Sonovue per la caratterizzazione di lesioni epatiche (un carcinoma biliare, un nodulo di iperplasia ed due degenerazioni idropiche), una lesione splenica, (ematopoiesi extra-midollare), una lesione polmonare (carcinoma bronchiale), una lesione linfonodale (linfoma) ed una neoformazione cutanea (granuloma). Per quanto riguarda il fegato tutte e tre le lesioni benigne mostravano enhancement al picco e di wash out sovrapponibile al parenchima epatico mentre il carcinoma biliare era caratterizzato da una perdita di contrasto precoce. I risultati mostrano così aspetti simili agli studi precedentemente pubblicati rafforzando la tesi che le caratteristiche di malignità possano essere identificate anche nei nostri pazienti.

Il lavoro di Rossi (2008) prende invece in esame la valutazione mediante mezzo di contrasto di 29 lesioni focali spleniche (11 benigne e 18 maligne). I risultati mostrano un comportamento da parte delle benigne in tutti i casi eccetto 2 (1 ematoma ed un istocitoma) caratterizzato enhancement sovrapponibile al parenchima splenico. Le lesioni maligne hanno invece mostrato wash-out precoce. Il mezzo di contrasto in questi casi ha anche incrementato il numero di lesioni maligne identificabili.

### **•Indicazioni terapeutiche**

In alcune sperimentazioni le microbolle sono state utilizzate come *carriers*, per il trasporto di farmaci: una volta raggiunto il sito di interesse viene applicata una potenza elevata che, distruggendo le microbolle, libera il farmaco. Questa tecnica permetterebbe la somministrazione mirata di chemioterapici ad alti dosaggi in tessuti tumorali o di trombolitici in siti di ostruzione causata da trombi. Un'altra ipotetica applicazione potrebbe essere quella di trasportare catene di nucleotidi nella terapia genetica. (Szatmári, 2003; Correias, 2001)

L'utilizzo dei mezzi di contrasto con tecniche a bassa potenza può essere utile anche nel follow-up del trattamento dei tumori, ad esempio, per valutare precocemente la risposta a trattamenti locoregionali di neoplasie maligne epatiche. Durante l'intervento di ablazione della lesione, il mezzo di contrasto può aiutare a guidare meglio il posizionamento dell'ago e a valutarne l'effetto cosicché, in caso di trattamento non completo, il paziente può essere sottoposto immediatamente ad una

nuova applicazione. Il rinforzo del segnale prodotto dal mezzo di contrasto può meglio guidare un prelievo biptico o aiutare a seguire la risposta ad una chemioterapia o ad individuare la presenza di un'eventuale recidiva. L'imaging con mezzo di contrasto può trovare applicazione anche nel rilevare precoci cambiamenti della microcircolazione d'organo come, per esempio, in caso di rigetto di trapianto. *(Imperatori, Testo Atlante, 2004)*

### ***1.3 Vascolarizzazione epatica***

Il fegato è un organo con una doppia vascolarizzazione; possiede infatti un' afferenza arteriosa nutritizia (arteria epatica), che nell'uomo rappresenta il 25-30 per cento dell'apporto ematico, ed una venosa funzionale (vena porta) che costituisce il 70-75 per cento. (*Albrecht, 2004*) Nel cane si ritiene che circa un quinto del sangue che giunge al fegato sia fornito dall'arteria epatica, mentre i restanti quattro quinti provengono dalla vena porta. (*Banks, 1991*) L'arteria epatica è il ramo destro della triforcazione del tronco celiaco. Nei carnivori non esiste un'arteria epatica propria. Infatti, l'arteria epatica stacca dei rami epatici prima di terminare come arteria gastro-duodenale: un ramo destro laterale, che irroro il lobo caudato, un ramo destro mediale per il lobo omonimo, e un ramo sinistro per i lobi sinistri. L'arteria cistica, deputata alla vascolarizzazione della cistifellea, può derivare dal ramo sinistro nel 50 per cento dei casi, oppure staccarsi direttamente dall'arteria epatica nell'altra metà dei casi. (*Barone, 1981*) I rami lobari si dividono nelle arterie interlobulari più piccole che si ramificano nel connettivo diventando i componenti arteriosi delle triadi portalì. Il sangue arterioso, ricco di ossigeno e metaboliti, è infine distribuito ai singoli lobuli dai sinusoidi epatici. (*Banks, 1991*) La vena porta è il vaso funzionale del fegato al quale conduce il sangue refluo da tutti gli organi dell'apparato digerente situati in cavità addominale ed il sangue proveniente da milza e pancreas. Prende origine dalla confluenza delle vene mesenterica craniale e mesenterica caudale. Riceve durante il suo percorso, prima dell'ingresso nel fegato, due affluenti principali, la vena splenica e la vena gastroduodenale, oltre ad esili rami provenienti dalla colecisti (vene cistiche) e rami pancreatico duodenali. A livello del fegato la vena porta si divide in due rami, destro e sinistro, i quali penetrano nell'organo per distribuirsi ai rispettivi lobi. (*Barone, 1981; Barone, 2003*) I rami lobari portalì seguono le ramificazioni di quelli arteriosi andando a costituire i rami interlobulari che, assieme al condotto biliare, formano la triade portale. Il sangue venoso delle venule portalì interlobulari giunge ai sinusoidi epatici dove si mescola con il sangue arterioso proveniente dalle arteriole epatiche. Tutti i sinusoidi drenano il sangue verso la vena centrolobulare

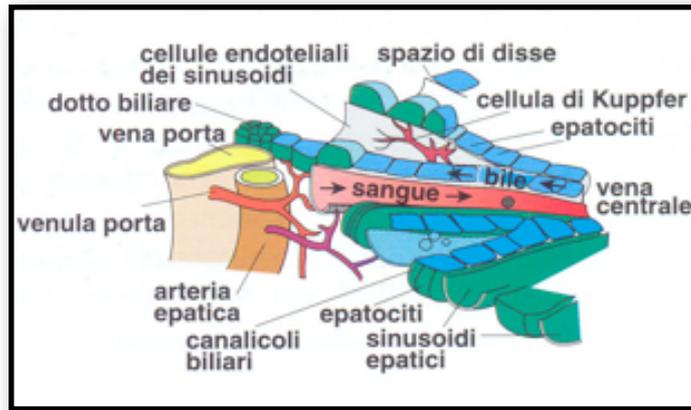


Fig n 7: Rappresentazione schematica della vascolarizzazione di un lobulo epatico  
(Marconato, 2005)

orientata perpendicolarmente all'asse maggiore del lobulo, la quale lo riversa nelle vene sottolobulari, che, a loro volta, confluiscono nelle vene epatiche (Banks, 1991). Nel cane le vene epatiche principali sono tre: la destra raccoglie il sangue del lobo destro laterale e della metà adiacente del lobo destro mediale; l'intermedia, che a volte si anastomizza con la precedente, è la più piccola e riceve il sangue del lobo caudato; infine, la sinistra, di maggiori dimensioni, drena il resto dell'organo. Le vene epatiche si gettano poi nella vena cava caudale (Barone, 1981).

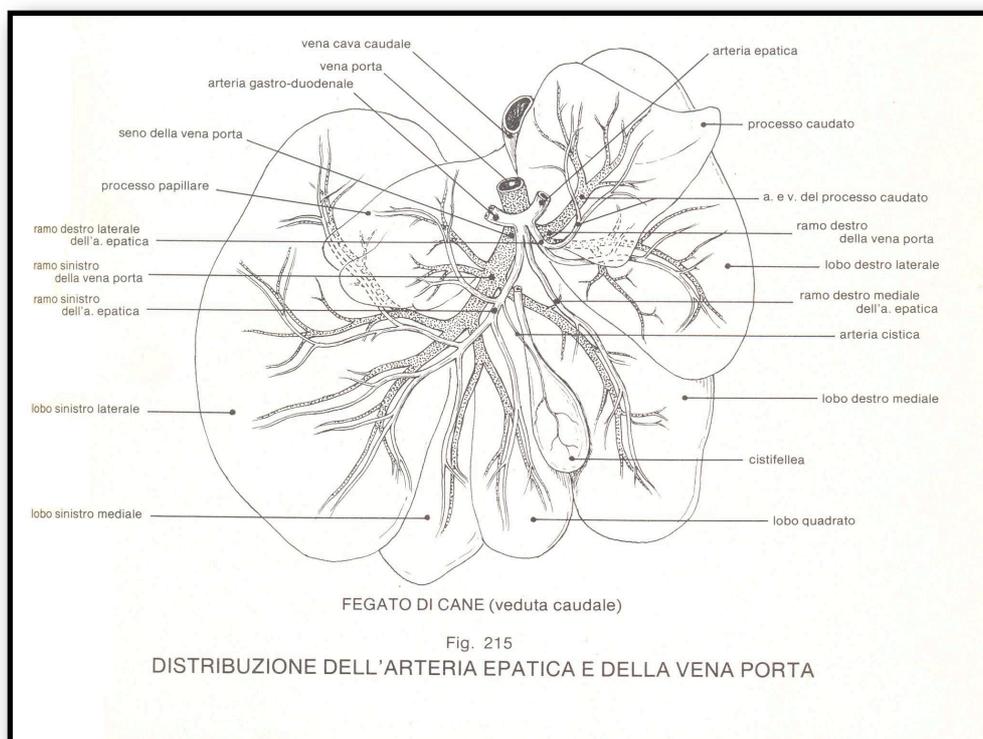


Fig n 8: Distribuzione dell'arteria epatica e della vena porta nel fegato di cane (Barone, 1981)

## ***1.4 Indicazioni per ecocontrastografia epatica***

Lo studio morfologico dinamico della vascolarizzazione epatica può essere effettuato in modo completo mediante l'ecografia standard. Il color Doppler consente di ottenere informazioni sulla morfologia dei vasi e sul flusso ematico valutandone la presenza e la velocità nelle diverse fasi del ciclo cardiaco; inoltre, permette di determinare gli indici di resistenza e di compliance a livello arterioso e venoso. *(Cascina, Testo Atlante, 2004)*

L'ultrasonografia con mezzo di contrasto è particolarmente utile per lo studio dei sistemi vascolari epatici con un netto miglioramento della resa diagnostica e la riduzione dei tempi di indagine rispetto all'ultrasonografia convenzionale ed al color Doppler. *(Cascina, Testo Atlante, 2004)*

Utilizzando i mezzi di contrasto è possibile identificare tre fasi vascolari a livello epatico. In medicina umana, sono stati fatti numerosi studi per calcolare l'inizio e la durata di queste tre fasi. Oggigiorno si fa riferimento alle linee guida recentemente predisposte da un'apposita commissione europea riunitasi a Vienna nel 2004, l'EFSUMB, ossia l'European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology. Secondo queste linee guida, la prima fase, quella arteriosa, inizia 10-20 secondi dopo l'iniezione endovenosa periferica del mezzo di contrasto e perdura per circa 10-15 secondi. Si evidenzia come un aumento del contrasto del parenchima epatico ed è esclusivamente determinata dall'apporto dell'arteria epatica. La seconda fase, quella portale, segue la precedente e perdura fino a 2 minuti dall'iniezione. *(EFSUMB, 2004)* Il ritardo di opacizzazione dei rami portalì è legato al transito del mezzo di contrasto attraverso il letto arterioso, capillare e venoso gastroenterico e splenico. *(Cascina, Testo Atlante, 2004)* La terza ed ultima fase, definita tardiva, prosegue fino alla clearance del mezzo di contrasto dal parenchima epatico che avviene 4-6 minuti dopo l'iniezione per SonoVue® e 15-20 minuti per Levovist®. L'origine della fase tardiva è ancora oggetto di discussione scientifica; le ipotesi più probabili riguardano l'adesione da parte delle microbolle alle pareti dei capillari sinusoidi o la loro fagocitosi da parte delle cellule di Kupffer o delle cellule del

sistema reticolo-endoteliale. (EFSUMB, 2004) Nella seguente tabella vengono riassunti i tempi di inizio e la durata delle tre fasi in medicina umana.

FASE	INIZIO	FINE
Arteriosa	10-20 secondi	25-35 secondi
Portale	30-45 secondi	120 secondi
Tardiva	>120 secondi	Scomparsa delle microbolle (circa 240-360)

Tabella 1. *Fasi vascolari nell'ecocontrastografia epatica (EFSUMB, 2004)*

(tempo di visualizzazione in secondi dopo iniezione endovenosa)

Secondo uno studio effettuato nel periodo compreso tra novembre 2005 e marzo 2006 presso la sezione di Clinica Medica Veterinaria dell'Università degli Studi di Milano e condotto su 11 cani sani, i tempi delle diverse fasi calcolati dal momento della somministrazione del mezzo di contrasto sono stati, in media, i seguenti:

- fase arteriosa 8,6 secondi
- fase portale 13,2 secondi
- fase tardiva 22,8 secondi

La fase arteriosa permette di determinare grado e tipo di vascolarizzazione del fegato. La fase portale e quella tardiva possono fornire informazioni importanti su eventuali lesioni epatiche, infatti consentono di studiare il wash-out del mezzo di contrasto dalle lesioni a confronto con il parenchima sano circostante. (EFSUMB, 2004)

Generalmente, in pazienti umani in cui sono note o si sospettano patologie epatiche, l'iter diagnostico indica l'ultrasonografia come uno degli esami di prima scelta (Bartolotta, 2005); le lesioni focali a carico del fegato possono anche essere reperti occasionali, riscontrati in soggetti sottoposti ad esame ultrasonografico a scopo di screening o per investigare patologie extraepatiche. Grazie all'ecografia in scala di grigi, infatti, è possibile identificare lesioni focali eventualmente presenti, definire le loro caratteristiche ultrasonografiche, il numero, la posizione e le dimensioni. (EFSUMB, 2004) Anche in campo veterinario l'esame ecografico è ormai divenuto

fondamentale per lo studio di patologie epatiche. Quest'indagine diagnostica consente, inoltre, di raccogliere campioni dalle lesioni per l'esame citologico e di valutare, in corso di neoplasia, lo stato dei linfonodi satelliti (epatici, splenici, gastrici e diaframmatici) e degli altri organi addominali. *(Marconato, 2005)* L'ultrasonografia convenzionale, però, limitandosi alla visualizzazione in scala di grigi della morfologia e del flusso macrovascolare, è risultata meno sensibile e specifica nel rivelare e stadiare lesioni epatiche rispetto ad altri esami diagnostici come la TC spirale con mezzo di contrasto o la risonanza magnetica, ampiamente impiegati in medicina umana. I limiti principali riguardano il rilevamento di lesioni di piccole dimensioni o isoecogene rispetto al parenchima circostante, specialmente se situate in profondità o in regioni anatomiche difficilmente raggiungibili con gli ultrasuoni, come ad esempio in aree sotto-diaframmatiche. *(EFSUMB, 2004)*

Le tecniche Doppler sono state utilizzate per lo studio di lesioni focali epatiche allo scopo di differenziare quelle benigne da quelle maligne e di tipizzare il tipo di neoplasia. Ad esempio, in pazienti umani colpiti da carcinoma epatocellulare o da alcuni tumori vascolari metastatici, sono stati descritti segnali Doppler ad alta frequenza compatibili con neovascolarizzazione e shunts arterovenosi ad alta velocità. Sebbene questi segnali non siano presenti in tutte le neoplasie maligne, non si riscontrano mai in quelle di natura benigna. Alcuni autori hanno individuato simili segnali in cani con carcinoma epatocellulare in forma solitaria o con tumore surrenalico metastatico. *(Nyland, Mattoon, 2002)* Anche il color Doppler, però, si è dimostrato poco sensibile a causa degli artefatti dovuti al movimento o in presenza di lesioni situate troppo in profondità. *(Bartolotta, 2005)*

Una volta identificata una lesione focale, la questione più importante è quella di differenziare se si tratta di una lesione di natura benigna o maligna. Sia l'ultrasonografia convenzionale che le tecniche Doppler hanno una modesta accuratezza diagnostica nella caratterizzazione delle lesioni focali epatiche, poiché lesioni benigne e maligne possono avere un pattern ecografico e una vascolarizzazione simili. *(Quaia, Testa Atlante, 2004)* In particolare, nelle neoplasie epatiche del cane, l'aspetto ultrasonografico può essere alquanto variabile in funzione dell'istotipo e, all'interno dello stesso istotipo, può cambiare quando sono presenti

fenomeni emorragici o necrotici. *(Marconato, 2005)* E' stato ormai accertato che, basandosi unicamente sull'esame ecografico, non è possibile diagnosticare con accuratezza il tipo di tumore né differenziare una neoplasia metastatica da una primitiva. L'interessamento epatico può essere sia focalizzato che diffuso; quest'ultimo aspetto può essere più difficile da individuare, può dipendere dalla soggettività dell'operatore e, comunque, non è mai specifico. Ad esempio, un aumento diffuso dell'ecogenicità si può verificare sia in corso di neoplasie infiltrative, come il linfosarcoma, sia nelle epatopatie steroidee o nella cirrosi. *(Nyland, Mattoon, 2002)*

Nelle neoplasie epatiche, lesioni focali o multifocali ipoecogene o ad ecogenicità mista sembrano essere più comuni rispetto a lesioni uniformemente iperecogene. Il carcinoma epatocellulare, ma anche i noduli di iperplasia o i tumori metastatici, possono apparire spesso sottoforma di lesioni a bersaglio (centro iperecogeno e periferia ipoecogena). Il riscontro di una singola lesione focale in un animale in buona salute e senza epatomegalia, fa propendere per una lesione benigna; ma, talvolta, anche le neoplasie primarie o metastatiche possono presentarsi come lesioni solitarie. Un tumore, addirittura, può avere aspetto differente anche all'interno dello stesso animale. *(Nyland, Mattoon, 2002)*

Netti miglioramenti in sensibilità e specificità diagnostica si sono ottenuti con l'introduzione dei mezzi di contrasto nell'ultrasonografia epatica e nell'utilizzo di tecniche contrastografiche specifiche. Infatti, i mezzi di contrasto, permettendo di distinguere le tre diverse fasi caratterizzate da specifici pattern vascolari, hanno consentito una maggior capacità di rilevamento e caratterizzazione delle lesioni focali epatiche, rispetto all'ultrasonografia standard. Studi clinici hanno dimostrato che l'ecocontrastografia può essere paragonata alla TC spirale come accuratezza nella diagnosi di metastasi epatiche, mentre altri studi hanno documentato come possa addirittura rilevare lesioni non visibili con la TC. *(EFSUMB, 2004)*

L'iniezione endovenosa di mezzi di contrasto di prima generazione, permette, dunque, una miglior visualizzazione del circolo ematico normale e soprattutto il rilevamento dell'eventuale presenza di neovascolarizzazione neoplastica. L'impiego di Levovist® ha consentito di identificare pattern di enhancement caratteristici nelle

lesioni focali epatiche e migliorarne la caratterizzazione in termini di accuratezza e di confidenza diagnostica. In fase tardiva, infatti, le lesioni benigne presentano la tendenza a concentrare le microbolle allo stesso modo del parenchima sano circostante, mentre quelle maligne tendono a non mostrare alcun enhancement durante questa fase. Tuttavia con l'utilizzo di Levovist® non è possibile effettuare una valutazione in tempo reale, in quanto le sue microbolle devono essere insonate con una potenza acustica elevata (indice meccanico elevato), che determina una distruzione massiva delle stesse. (Quaia, *Testo Atlante*, 2004) Questo fatto comporta la necessità di un'insonazione intermittente: tra un impulso e l'altro gli spazi vascolari vengono occupati da nuove microbolle che, al nuovo impulso, generano un nuovo segnale. Complessità operativa e breve durata dell'effetto contrastografico sono, dunque, i limiti di questa tecnica. (Gaiani, *Testo Atlante*, 2004) Ulteriori svantaggi sono rappresentati da saturazione del segnale colore e dagli inevitabili artefatti da *blooming*. (Quaia, *Testo Atlante*, 2004)

Attualmente queste limitazioni sono superate attraverso l'utilizzo di mezzi di contrasto di seconda generazione che permettono l'impiego di tecniche specifiche a basso indice meccanico, con notevole riduzione delle microbolle distrutte. Di conseguenza, si ottiene un'indagine contrastografica dinamica, in *real time* che rende possibile l'esplorazione continua di tutte le fasi di distribuzione vascolare e microvascolare del mezzo di contrasto. Per questo tipo di indagine è stato coniato il termine di *angioecografia perfusionale*. (Gaiani, *Testo Atlante*, 2004).

## ***1.5 Epatopatie diffuse***

Sono incluse in questa categoria numerose patologie a diversa eziologia ed evoluzione. In medicina umana le epatopatie più diffuse sono: la cirrosi, l'epatite acuta e cronica, la steatosi epatica, le steatoepatite e le epatopatie alcoliche. Alcune di queste patologie possono determinare interessamento vascolare con ipertensione portale secondaria. La diagnosi definitiva può essere emessa con esecuzione di biopsia epatica e relativo esame istologico, considerato esame *gold standard* nelle epatiti croniche e nelle steatoepatite. In corso di cirrosi epatica l'esame istologico consente di valutare la gravità della patologia. (*Sacerdoti, Testo Atlante, 2004*)

Nel cane l'epatopatia diffusa più comune è l'epatite cronica, termine che, in realtà, racchiude un gruppo eterogeneo di malattie necrotico-infiammatorie ad eziopatogenesi spesso ignota. Le cause accertate comprendono: predisposizione familiare, infezioni (epatite infettiva canina, leptospirosi) o farmaco-indotte (anticonvulsivanti a lungo termine, profilassi per la filariosi con ossibendazolo-dietilcarbamazina, ecc). Quando si riscontrano le caratteristiche di un'epatite cronica e sono state escluse tutte le cause note, la patologia viene definita idiopatica. La predisposizione familiare è stata accertata in alcune razze, come il West Highland White Terrier, il Dobermann, il Labrador retriever o il Cocker spaniel. In generale, nell'epatite cronica non c'è alcuna predisposizione legata al sesso, tuttavia, in razze particolari, sono state notate alcune eccezioni: femmine di Dobermann, femmine di Labrador retriever e maschi di cocker spaniel sembrano essere maggiormente predisposti allo sviluppo della malattia. L'età media dei soggetti colpiti da epatite cronica è di 5-7 anni. (*Ettinger, Feldman, 2000*)

Alcuni cani affetti da tale patologia sembrano rispondere alla terapia con corticosteroidi, lasciando presupporre un'origine autoimmune della malattia, corrispondente ad una forma di epatite cronica attiva presente nell'uomo. (*Ettinger, Feldman, 2000*)

L'accumulo di rame nel fegato è certamente una delle cause di epatite cronica meglio documentate e può causare anche epatite acuta e cirrosi. Normalmente la concentrazione epatica di rame è 400 µg per grammo di peso secco; quando tale

concentrazione supera i 2000  $\mu\text{g}$  per grammo di peso secco si verifica costantemente un danno epatico e la gravità delle lesioni è correlata alla quantità di rame accumulato. Soprattutto nella razza Bedlington terrier, ma anche nel Dobermann, nel West Highland White Terrier e nello Skye terrier, sono stati descritti difetti metabolici ereditari a livello dell'escrezione biliare del rame che ne causano un accumulo epatico. (Ettinger, Feldman, 2000)

I segni clinici di epatite cronica sono vaghi e aspecifici nelle fasi iniziali: anoressia, letargia, perdita di peso, vomito, diarrea, poliuria e polidipsia. L'epatite cronica può progredire fino alla cirrosi epatica, che corrisponde allo stadio finale ed irreversibile della patologia. La cirrosi è caratterizzata da fibrosi e noduli rigenerativi in grado di alterare l'organizzazione e l'architettura dell'intero organo. Inoltre, possono provocare un aumento della resistenza vascolare epatica ed ipertensione portale, con conseguente ascite, apertura degli shunts portosistemici ed encefalopatia epatica.

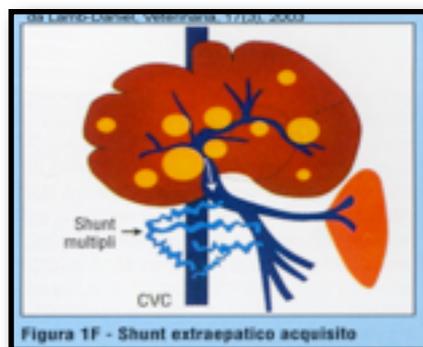


Figura 9: Meccanismo di origine degli shunts portosistemici acquisiti in corso di cirrosi. (Faverzani)

L'esame istologico previa biopsia epatica a cuneo è richiesto per differenziare l'epatite cronica dalle altre patologie epatiche ad andamento cronico, per documentare la presenza, la gravità e la localizzazione dell'infiammazione e della necrosi, per caratterizzare reperti specifici (ad esempio l'accumulo di rame) e per valutare la progressione della cirrosi.

L'incidenza di cirrosi nei cani è sconosciuta, sebbene alcuni studi a riguardo riportano di un 15 per cento di cirrosi in casi di patologie epatiche in cui erano state ottenute biopsie. (Ettinger, Feldman, 2000)

L'ecografia tradizionale svolge un ruolo importante per la diagnosi ed il follow-up delle epatopatie diffuse, sia nell'uomo che nel cane. Spesso, però non consente di ottenere una diagnosi definitiva per la quale è quasi sempre necessario l'esame istologico. (Nyland, Mattoon, 2002)

L'esame ultrasonografico del fegato, negli stadi iniziali di epatite cronica del cane, può essere normale oppure si può rilevare un'alterazione non specifica dell'ecogenicità. Nelle fasi più avanzate, e in particolare nella cirrosi epatica si notano: diminuzione delle dimensioni del fegato, irregolarità dei margini e ascite, quando presente; il parenchima appare iperecogeno a causa dei fenomeni fibrotici e disomogeneo per la presenza di lesioni focali corrispondenti a noduli di rigenerazione. (Ettinger, Feldman, 2000) Secondo l'esperienza di alcuni ecografisti, nel cane, i noduli di rigenerazione sono caratterizzati da un contorno circolare ben distinto dal restante parenchima. Gli stessi autori descrivono possibili lesioni focali iperecogene dovute a fibrosi o a calcificazione distrofica. (Nyland, Mattoon, 2002)

Altri reperti ecografici possibilmente evidenziabili in corso di cirrosi sono la splenomegalia da stasi e la presenza di shunts portosistemici acquisiti.



Figura 10 Cirrosi epatica nel cane: aspetto ecografico e macroscopico (Faverzani)

L'ecografia può anche essere un valido aiuto nella diagnosi differenziale con altre patologie epatiche ad andamento cronico come i disturbi delle vie biliari extraepatiche o le masse del fegato. (Ettinger, Feldman, 2000)

L'eco Doppler, potenzialmente, può fornire informazioni funzionali che possono aiutare il clinico nella diagnosi, nella valutazione della prognosi e nel trattamento dei pazienti colpiti da cirrosi epatica. Le tecniche Doppler, infatti, vengono applicate per valutare l'emodinamica del flusso venoso portale. Tuttavia, in uno studio recente

condotto su cani in cui è stata indotta sperimentalmente una cirrosi epatica, la misurazione della velocità del flusso portale è risultata normale nel 50 per cento dei casi. Per comprenderne l'effettiva utilità clinica sono dunque necessari ulteriori approfondimenti di queste tecniche nei casi di cirrosi e in altre epatopatie diffuse. *(Nyland, Mattoon, 2002)*

Con le tecniche del color Doppler, in medicina umana, si possono valutare le alterazioni dei flussi arterioso e venoso tipici della cirrosi epatica, l'ipertensione portale, fenomeni di trombosi o di stenosi e l'apertura di shunts porto-sistemici. Spesso, però, gli esami ecografici di base non consentono di formulare una diagnosi definitiva, in quanto non permettono di differenziare tra steatosi epatica e steatoepatite, né di individuare una cirrosi epatica in fase iniziale. *(Sacerdoti, Testo Atlante, 2004)*

Per tali motivi, in medicina umana, sono stati condotti studi sull'utilità dell'ultrasonografia con mezzo di contrasto in alcune di queste patologie e, in base a risultati sperimentali, alcuni autori ne hanno proposto l'uso clinico a scopo diagnostico. Nella cirrosi epatica, ad esempio, l'impiego di un mezzo di contrasto di prima generazione, come Levovist®, ha consentito di descrivere alterazioni specifiche della cinetica del mezzo di contrasto. In pazienti affetti da cirrosi, la comparsa di enhancement nelle vene sovraepatiche è risultata precoce, già 23 secondi circa dopo l'iniezione di Levovist®; in soggetti sani, invece, il tempo di comparsa dell'enhancement nelle vene sovraepatiche è in media di 40 secondi. I tempi di comparsa del mezzo di contrasto nell'arteria epatica e nella vena porta sono sovrapponibili nei pazienti sani e in quelli cirrotici. Tale anomalo comportamento contrastografico è secondario all'apertura di shunts porto- ed arteriosupraepatici che si verifica in pazienti con cirrosi epatica. Alcuni studi hanno dimostrato che, un tempo di comparsa dell'enhancement nelle vene sovraepatiche inferiore a 24 secondi, ha una sensibilità del 100 per cento dei casi in corso di cirrosi epatica, con una specificità dell'85 per cento. Mentre in pazienti affetti da epatopatia cronica non cirrotica il tempo di comparsa del mezzo di contrasto nelle vene sovraepatiche è risultato ridotto ma in modo non statisticamente significativo. Tali studi, benché promettenti, includono un limitato numero di pazienti, per cui sono necessari ulteriori

approfondimenti per confermare questi risultati preliminari(*Sacerdoti, Testo Atlante, 2004*). Tuttavia l'ultrasonografia con mezzo di contrasto sembra poter avere un ruolo clinico come test per dimostrare l'evoluzione dall'epatite cronica alla cirrosi epatica in fase iniziale. Anche le alterazioni riscontrate con questa tecnica nell'epatite cronica potrebbero in futuro assumere un significato diagnostico e prognostico(*Sacerdoti, Testo Atlante, 2004*).

Un dato recentemente emerso dall'utilizzo dell'ecocontrastografia è l'effetto emodinamico del mezzo di contrasto. Alcuni autori hanno dimostrato che la somministrazione di un bolo da 2,5 g di Levovist® non determina modificazioni dei parametri Doppler nei vasi epatici e splenici in soggetti normali, mentre induce un temporaneo aumento di tali parametri in pazienti con cirrosi epatica. Tale effetto, che perdura per 15 minuti circa, pur in assenza di una riduzione della velocità del flusso portale, potrebbe essere dovuto ad un aumento della pressione portale che si verifica solo in un soggetto cirrotico. Questa peculiarità della cirrosi epatica potrebbe essere usata in futuro a scopo diagnostico.

Anche la distribuzione del mezzo di contrasto all'interno del parenchima tramite i capillari sinusoidali e le cellule di Kupffer può risultare alterata in corso di epatopatia diffusa. Ciò si verifica soprattutto nella steatosi e nella cirrosi epatica dove il letto sinusoidale è ridotto e vi è una diminuzione dell'attività delle cellule del Kupffer. Nonostante dati preliminari non abbiano rilevato alcuna differenza di densità del segnale dopo tre minuti dall'iniezione di Levovist® tra pazienti cirrotici e soggetti di controllo, è impressione comune che lo studio delle lesioni focali nei pazienti cirrotici sia spesso difficile in fase tardiva. (*Sacerdoti, Testo Atlante, 2004*)

Occorre sottolineare che negli studi finora compiuti e pubblicati è stato utilizzato un mezzo di contrasto di prima generazione attualmente in disuso. Migliori risultati dovrebbero ottenersi con i mezzi di contrasto di seconda generazione in associazione all'imaging non convenzionale. (*Sacerdoti, Testo Atlante, 2004*)

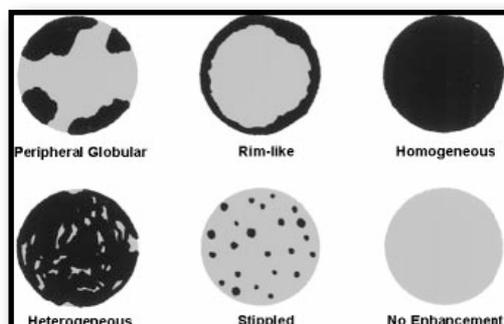
## ***1.6 Lesioni focali epatiche: pattern ecocontrastografici***

In letteratura umana sono stati pubblicati numerosi studi che riguardano l'applicazione dei mezzi di contrasto di seconda generazione e di tecniche innovative, come la pulse inversion imaging, nello studio e nella caratterizzazione delle lesioni focali epatiche (Kim, 2003). Infatti, a seconda della loro natura e della loro vascolarizzazione, le lesioni focali tendono ad assumere un determinato comportamento dopo la somministrazione di mezzo di contrasto. Alcuni autori hanno descritto e classificato tali comportamenti.

Quindi, un pattern di enhancement contrastografico può essere classificato come (Kim, 2000; Quiaia 2004):

- **nodulare periferico**: aspetto nodulare dell'enhancement periferico che può essere continuo oppure discontinuo
- **con orletto periferico, o "rime like"**: anello continuo di enhancement periferico
- **diffuso ed omogeneo**: enhancement omogeneo e completo
- **diffuso ma eterogeneo**: enhancement di tutta la lesione ma con aree disomogenee
- **punteggiato**: piccoli puntini distribuiti in tutta la lesione
- **assente**: nessuna differenza di enhancement tra le lesioni prima e le lesioni dopo la somministrazione del mezzo di contrasto

I pattern appena descritti sono rappresentati in modo schematico in fig (11).



*Fig n 11: Diversi pattern di enhancement nelle lesioni focali epatiche*

*(Kim, 2000; Quiaia 2004)*

Un altro studio, pubblicato da Isozaki et al. nel 2003 analizza e descrive i pattern di lesioni tumorali dell'uomo, in ognuna delle tre fasi vascolari.

In fase *arteriosa* i pattern descrivono il tipo di vascolarizzazione evidente al momento dell'arrivo del mezzo di contrasto:

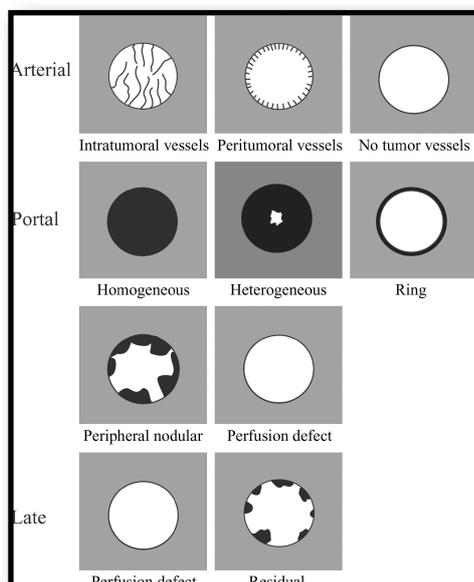
- **vascolarizzazione intratumorale**
- **vascolarizzazione peritumorale**
- **nessuna vascolarizzazione**

In fase *portale* si può osservare un diverso tipo di enhancement da parte delle lesioni:

- **omogeneo**
- **eterogeneo**
- **ad anello**
- **nodulare periferico**
- **difetto di perfusione**

Durante la fase *tardiva* l'enhancement può essere ancora presente in quantità residua oppure mancare completamente:

- **residuale**
- **difetto di perfusione**



*Fig n 12: Pattern di enhancement di lesioni neoplastiche in fase arteriosa portale e tardiva. (Isozaki, 2003)*

Dalla descrizione dei pattern di enhancement vascolare di alcune lesioni tumorali è emerso che:

Su 116 casi di epatocarcinoma:

1. In fase arteriosa si è osservata una vascolarizzazione intratumorale nell'84% dei casi, una vascolarizzazione peritumorale nel 12% dei casi e nessuna vascolarizzazione nel 3% dei casi.
2. In fase portale gli epatocarcinomi hanno mostrato per lo più un enhancement di tipo omogeneo od eterogeneo (91%); l'8% mostra un difetto di riempimento, l'1% un enhancement ad anello ed un altro 1% un enhancement di tipo nodulare periferico.
3. In fase tardiva nel 33% degli epatocarcinomi appare ancora un enhancement residuale, mentre il 67% mostra un difetto di perfusione.

Su 42 casi di lesioni metastatiche:

1. In fase arteriosa si osserva, nel 60% dei casi, una vascolarizzazione intratumorale, nel 12% una vascolarizzazione intratumorale e nei rimanenti casi (29%) non è possibile individuare alcuna vascolarizzazione.
2. In fase portale si ha: enhancement ad anello nel 48% dei casi, difetto di perfusione nel 43%, enhancement omogeneo od eterogeneo nel 7% e un enhancement nodulare periferico nel rimanente 2% dei casi.
3. In fase tardiva tutte le metastasi hanno presentato un difetto di perfusione (100%).

Su 25 casi di emangioma:

1. In fase arteriosa il 76% dei casi non mostra alcuna vascolarizzazione, il 24% dei casi, invece, presenta una vascolarizzazione peritumorale. In nessun caso si osserva un tipo di vascolarizzazione intratumorale.
2. In fase portale si descrive più frequentemente un enhancement di tipo nodulare periferico (88%). L'8% degli emangiomi mostra un enhancement ad anello; il 4% ha un pattern omogeneo od eterogeneo. In nessun caso c'è difetto di perfusione.
3. In fase tardiva la maggior parte degli emangiomi (96%) mostra ancora un enhancement residuale, mentre solo il 4% presenta difetto di perfusione.

I risultati ottenuti da Isozaki indicano che i pattern riscontrati nell'esame ecocontrastografico delle lesioni tumorali possono essere, in alcuni casi, un valido mezzo nel prevedere la natura della neoplasia. (*Isozaki, 2003*)

Un lavoro svolto da Kim e altri nel 2003 con Levovist come mezzo di contrasto, oltre a descrivere i pattern di enhancement di lesioni focali epatiche durante la fase vascolare, osservati tramite tecniche di imaging continuo a bassa potenza (basso indice meccanico), analizza il comportamento delle microbolle durante la fase tardiva, quando sottoposte ad alto indice meccanico. L'elevata potenza, nella regione di scansione determina la distruzione delle microbolle accumulate e la liberazione da parte loro di eco non lineari ad alta intensità, che possono essere ottimamente individuate proprio nella fase tardiva.

Durante la fase vascolare sono stati descritti 4 pattern:

- **vascolarizzazione interna:** presenza di ramificazioni lineari vascolari all'interno della lesione
- **vascolarizzazione marginale:** presenza di vasi lineari o puntiformi alla periferia della lesione
- **enhancement nodulare periferico:** noduli di enhancement periferico che descrivono un anello ben definito
- **enhancement minimo o assente:** mancanza di vascolarizzazione evidente all'interno o alla periferia della lesione

L'intensità delle eco prodotte durante la fase tardiva, quando viene applicato l'imaging con indice meccanico elevato, è proporzionale al numero delle microbolle presenti nel piano di scansione.

Levovist, il mezzo di contrasto utilizzato in questa sperimentazione possiede una fase tardiva epatospecifica, in quanto si ritiene che le sue microbolle vengano fagocitate dalle cellule di Kupffer o che rimangano adese alla superficie dei sinusoidi. Le sue microbolle possono quindi essere rilevate anche a distanza di diversi minuti dall'iniezione. Poiché la maggior parte delle neoplasie epatiche non contiene sinusoidi o cellule di Kupffer, questi tumori, al momento dell'emissione acustica ad

alta potenza, dovrebbero apparire come aree prive o con poco contrasto rispetto al parenchima circostante.

L'effetto di emissione acustica all'interno della lesione tumorale, osservata durante la fase tardiva a 5 minuti dall'iniezione del mezzo di contrasto, può essere classificato in uno di questi quattro pattern:

- **enhancement disomogeneo:** irregolare e disomogeneo enhancement all'interno del tumore
- **ipoecogeno, diminuzione dell'enhancement:** presenza di contrasto ma ecogenicità inferiore rispetto a quella del parenchima epatico
- **isoecogeno, enhancement omogeneo:** enhancement omogeneo e simile per ecogenicità al parenchima circostante
- **ipoecogeno e ad ecogenicità invertita:** lesioni focali che appaiono iperecogene all'esame ecografico convenzionale senza mezzo di contrasto, mentre nella fase tardiva invertono la loro ecogenicità.

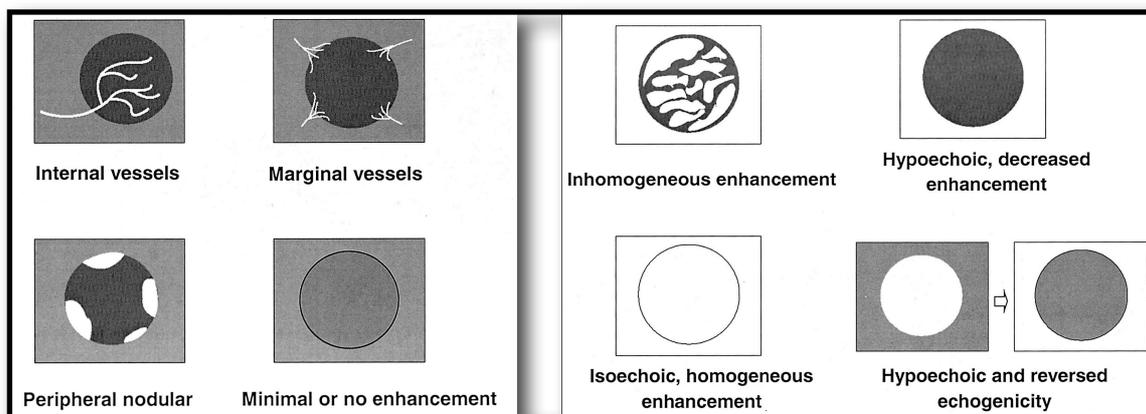
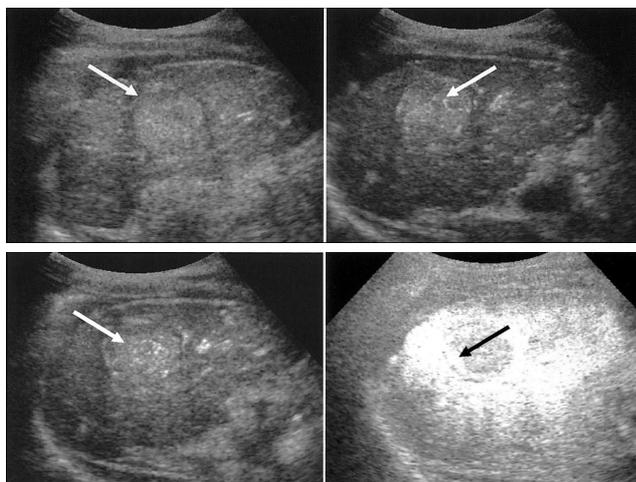


Fig 13: Pattern di enhancement contrastografico osservati nella fase vascolare (a sinistra) e nella fase tardiva (a destra). (Kim, 2003)

Dalla sperimentazione di Kim è emerso che, in corso di epatocarcinoma, il pattern più rappresentato durante la fase vascolare è quello della vascolarizzazione interna. Questa neoplasia, generalmente, è caratterizzata da una profusa vascolarizzazione ma non contiene cellule di Kupffer o sinusoidi epatici, tuttavia, alcune forme ben differenziate o forme precoci di epatocarcinoma possono contenere porzioni di aspetto normale con epatociti e cellule di Kupffer. Durante la fase tardiva, quindi,

queste forme di epatocarcinoma dovrebbero generare dei segnali intensi che determinano un enhancement disomogeneo. Nello studio, l'89 per cento delle lesioni diagnosticate come epatocarcinomi hanno mostrato un enhancement disomogeneo. Questo risultato è in contrasto con quello ottenuto in precedenti lavori, nei quali era stato osservato che il pattern di più comune riscontro in corso di epatocarcinoma, è quello di un'area con rapido wash-out che, in fase tardiva, appare ipoecogena o priva di enhancement. I casi di emangioma osservati da Kim hanno avuto come pattern quello di enhancement nodulare periferico oppure quello di enhancement minimo o assente; in nessun caso è stata rilevata la presenza di vascolarizzazione all'interno del tumore o in periferia. Questo risultato corrisponde a quello ottenuto da studi precedenti riportati in letteratura. In fase tardiva l'emangioma ha mostrato due tipi di pattern: ipoecogeno e ad ecogenicità invertita oppure isoecogeno con enhancement omogeneo. Gli emangiomi che mostrano un enhancement del primo tipo hanno un numero di sinusoidi inferiore rispetto al parenchima epatico. Gli emangiomi che si comportano nel secondo modo sono quelli caratterizzati da ampi spazi sinusoidali. La maggior parte (93%) delle metastasi hanno mostrato in fase tardiva un pattern ipoecogeno con diminuzione dell'enhancement; questo sta a significare che le neoplasie metastatiche sono per lo più scarsamente vascolarizzate e non contengono cellule del sistema reticoloendoteliale. Tuttavia, in qualche lesione secondaria sono presenti segnali di emissione acustica alla loro periferia: si ritiene che rappresenti una capillarizzazione dei sinusoidi e un processo di fibrosi del parenchima epatico. Poche lesioni metastatiche hanno mostrato un pattern di enhancement disomogeneo. I risultati ottenuti per le metastasi sono simili a quanto ha descritto la letteratura.



A) massa iperecogena (ecografia convenzionale)  
 B),C) fase vascolare con imaging a bassa potenza, a 15" ed a 45" dalla somministrazione del mezzo di contrasto; sono evidenti vasi interni tumorali (freccia). D) fase tardiva ottenuta con imaging ad alta potenza, 5 minuti dopo iniezione mezzo di contrasto; è visibile un enhancement disomogeneo nella lesione (freccia) e l'effetto di emissione acustica da parte del parenchima  
*Fig 13: Esempio di carcinoma epatocellulare che mostra vasi interni durante la fase vascolare ed enhancement disomogeneo durante la fase tardiva. (Kim, 2003)*

### ***1.6.1 Lesioni focali epatiche:detection delle metastasi***

Il fegato è il principale organo bersaglio di metastasi a partenza da numerose neoplasie primitive, soprattutto del tratto gastrointestinale. Una precisa identificazione e una corretta stadiazione delle metastasi epatiche è di importanza determinante nel definire la prognosi e il piano terapeutico ottimale in diversi contesti clinici quali l'inquadramento prima dell'asportazione del tumore primitivo, nella sorveglianza del paziente sottoposto a intervento di resezione radicale del tumore primitivo, nel follow-up di pazienti con metastasi epatiche già note per definire la risposta terapeutica e nella stadiazione in vista di un intervento di resezione epatica delle metastasi stesse.

L'ecografia è la tecnica più diffusa per la ricerca di metastasi epatiche e si caratterizza per una elevata specificità, tuttavia limitata da una sensibilità inferiore ad altre tecniche di imaging (Nies, Zerhouni). L'ecografia armonica con mezzo di contrasto è in grado di rivelare le metastasi anche di piccole dimensioni, che vengono visualizzate come aree nettamente ipoecogene rispetto al parenchima circostante in fase tardiva, quando il mezzo di contrasto permane nel microcircolo (e nel sistema reticolo-endoteliale) del parenchima epatico ma non nel tessuto tumorale. Studi recenti riportano una sensibilità estremamente elevata dell'ecografia con mezzo di contrasto nella individuazione di metastasi anche di piccole dimensioni, sovrapponibile o addirittura superiore a quella della TC (Albrecht 2003, Bernatik, Dalla Palma), con il vantaggio di un minor costo e in assenza di radiazioni ionizzanti.

Pur se esiste oggi un orientamento unanime nell'indicare la maggiore sensibilità dell'ecografia con mezzo di contrasto rispetto all'ecografia convenzionale, non esiste un consenso sull'impiego indiscriminato di questa metodica in tutti i pazienti a rischio di metastasi epatiche. Le linee guida recentemente predisposte da una apposita commissione europea (EFSUMB guidelines for the use of contrast agents in liver ultrasound - 2004) raccomandano l'impiego dell'ecografia con mezzo di contrasto nelle seguenti condizioni:

- in aggiunta alla TC spirale e/o alla RM per l'esclusione o la dimostrazione di

una singola metastasi o di ulteriori metastasi epatiche in ogni paziente neoplastico che può essere considerato potenzialmente eligibile per una terapia chirurgica, loco-regionale o farmaceutica, nel quale la scelta terapeutica dipende da una precisa stima del coinvolgimento neoplastico epatico; raccomandazione che deve essere considerata sia alla prima diagnosi che durante il follow-up del paziente.

- Ricerca di piccole metastasi in pazienti con sospetto clinico di metastasi epatiche (ad esempio per elevazione dei markers tumorali) e in cui l'ecografia convenzionale, la TC spirale e/o la RM forniscono risultati dubbi o negativi.

Tali indicazioni valgono per metastasi di ogni tipo ma assumono particolare rilievo nel caso di metastasi da tumore del colon-retto, per il quale le opzioni terapeutiche rappresentate dalla chirurgia resettiva e, in casi selezionati, dalla termoablazione ecoguidata, possono influenzare favorevolmente la sopravvivenza. Un ulteriore punto da definire riguarda il timing del programma di sorveglianza. Uno studio recente (Howell) riporta che in pazienti operati per carcinoma del colon-retto, un programma di sorveglianza basato su ecografia convenzionale ogni tre mesi e su TC spirale annuale è in grado di identificare l'88% dei pazienti con metastasi epatiche asintomatiche, che possono essere sottoposte a resezione chirurgica o chemioterapia. E' verosimile ipotizzare un ulteriore incremento dell'efficacia di un tale programma di sorveglianza qualora l'ecografia trimestrale venga completata dall'indagine con mezzo di contrasto.

Le tabelle sottostanti riassumono i criteri diagnostici per l'analisi retrospettiva delle lesioni focali epatiche benigne e maligne. Oltre agli aspetti comunemente riscontrabili all'ecografia convenzionale e all'esame Doppler, si descrivono i comportamenti più caratteristici delle singole lesioni focali osservati previa somministrazione di mezzo di contrasto (Sonovue). (Da: *Quaia, 2003 e EFSUMB, 2004*)

LESIONI	ECOGRAFIA CONVENZIONALE E COLOR DOPPLER	ECOGRAFIA CON MEZZO DI CONTRASTO (Sonovue)
<b>Criteria diagnostici di benignità</b>		
<b>Emangioma</b>	Omogeneamente iperecogeno, vasi arteriosi o venosi periferici e intranodulari assenti o scarsi	Enhancement periferico nodulare in fase arteriosa con progressivo riempimento centripeto in fase portale e tardiva
<b>Iperplasia nodulare focale</b>	Ecogenicità omogenea e variabile, vaso arterioso centrale con aspetto a ruota di carro	Enhancement centrale con aspetto a ruota di carro in fase arteriosa precoce che diviene omogeneo in fase tardiva, enhancement omogeneo simile al parenchima circostante in fase portale e tardiva
<b>Adenoma epatocellulare</b>	Ecogenicità variabile ed ecostruttura omogenea oppure disomogenea, segnali venosi intralesionali, segnali arteriosi e venosi peritumorali, assenza di arteria centrale	Enhancement diffuso omogeneo o disomogeneo in fase arteriosa. Enhancement simile al fegato circostante in fase portale e tardiva con aspetto spesso disomogeneo
<b>Nodulo macrorigenerativo</b>	Aspetto variabile, nessuno o pochi segnali vascolari	Ipoenhancement o enhancement simile rispetto al parenchima circostante durante tutte le tre fasi
<b>Steatosi focale</b>	Aree di forma triangolare ipoecogene, distribuzione segmentale, nessun vaso	Enhancement simile a quello del parenchima circostante durante tutte le tre fasi
<b>Steatosi diffusa</b>	Omogeneamente iperecogeno	Enhancement simile a quello del parenchima circostante durante tutte le tre fasi
<b>Cisti</b>	Anecogene	Nessun enhancement in nessuna fase
<b>Ascessi</b>	Aspetto semplice o pluricamerato, variabile con l'età della lesione	Enhancement solo marginale con eventuali setti iperecogeni o segmenti epatici iperecogeni in fase arteriosa. Margine iper- o isoecogeno con eventuali setti iperecogeni in fase portale. Margine ipoecogeno, nessun enhancement centrale in fase tardiva

LESIONI	ECOGRAFIA CONVENZIONALE E COLOR DOPPLER	ECOGRAFIA CON MEZZO DI CONTRASTO (Sonovue)
<b>Criteria diagnostici di malignità</b>		
<b>Epatocarcinoma</b>	Aspetto disomogeneo, ecogenicità variabile, noduli satelliti, prevalenza di vasi arteriosi periferici* con rami intratumorali	Enhancement diffuso in fase arteriosa, che si riduce in fase portale e tardiva con aspetto ipoecogeno
<b>Colangiocarcinoma</b>		Enhancement marginale o nessun enhancement in fase arteriosa. Ipoenhancement o nessun enhancement in fase portale e tardiva
<b>Metastasi</b>	Aspetto disomogeneo, ecogenicità variabile, nessuno o scarsi segnali vascolari. Vallo ipoecogeno periferico	Enhancement a rim periferico. Enhancement intralesionale variabile in fase arteriosa che si riduce in fase portale e tardiva con aspetto ipoecogeno

\* ) vasi che circondano la lesione. ° ) vasi che entrano nella lesione in periferia o al centro. # ) vaso arterioso che dal centro si porta verso la periferia della lesione

## ***1.7 Lesioni focali benigne***

### ***1.7.1 Traumi***

In caso di trauma addominale chiuso il fegato è uno degli organi, insieme a milza e reni, che più frequentemente può subire delle lesioni, sia nell'uomo che nei piccoli animali. La gravità della lesione varia in funzione dell'entità del trauma: si può verificare una contusione semplice, una lacerazione, la formazione di un ematoma con lesioni confinate all'interno del parenchima senza lacerazione della glissoniana, oppure, nei casi più gravi, si può verificare una lacerazione del sistema vascolare, soprattutto delle vene sovraepatiche e della vena cava inferiore. L'atteggiamento terapeutico attuale in medicina umana tende ad essere di tipo conservativo, anche in caso di lesioni parenchimali estese, a meno che non vi sia sanguinamento attivo, o lesione del sistema vascolare. Per questa ragione è importante, da un punto di vista diagnostico, rilevare la presenza di un'emorragia attiva e monitorare le lesioni particolarmente estese.

La TC spirale rappresenta per l'uomo la tecnica radiografica di riferimento in corso di trauma addominale chiuso, in quanto consente una visione panoramica ed un'elevata velocità di acquisizione delle immagini.

L'ultrasonografia convenzionale, invece, si è dimostrata inefficace nel rilevare la presenza di lesioni epatiche nel 50 per cento dei casi, non è in grado di valutare la gravità del quadro o la presenza di sanguinamento attivo e richiede particolare abilità ed esperienza da parte dell'operatore. (*Borghini, Testo Atlante, 2004*) L'aspetto ecografico di una lesione traumatica varia in relazione alla sua età, ossia alla sua evoluzione nel corso del tempo che consiste in una progressiva organizzazione del materiale in essa contenuto. Il pattern di una lesione traumatica con emorragia acuta è quello di un'area più o meno ecogena; in un secondo momento diviene anecogena o ipoecogena, mentre con la successiva organizzazione del coagulo il contenuto della lesione appare iperecogeno. I margini sono generalmente irregolari e sfumati, non ben definiti. Durante la fase di risoluzione si riscontra un pattern variabile, di tipo

misto con componenti iperecogene ed ipoecogene contemporaneamente. Nel giro di diverse settimane o di qualche mese i coaguli vengono completamente lisi e, di conseguenza, il contenuto appare ecograficamente anecogeno. (Nyland, Mattoon, 2002) Possono comparire anche aree di mineralizzazione che permangono come addensamenti iperecogeni. (Ettinger, Feldman, 2000) Una tale variabilità d'aspetto nel corso del tempo è simile anche in altre lesioni epatiche, quali necrosi, ascessi o neoplasie. Non è possibile, quindi, differenziare le lesioni traumatiche basandosi unicamente su pattern ecografici, ma occorre tenere in considerazione i dati anamnestici, l'età dell'animale, la visita clinica e i risultati degli esami di laboratorio, ed eventualmente ricorrere ad una biopsia con ago sottile. (Nyland, Mattoon, 2002) In ogni caso l'esame ecografico offre il vantaggio di essere un'indagine non invasiva ed applicabile a pazienti emodinamicamente instabili prima di una laparotomia esplorativa; può essere ripetuta nel tempo senza effetti biologici ed è poco costosa. (Borghesi, Testa Atlante, 2004)

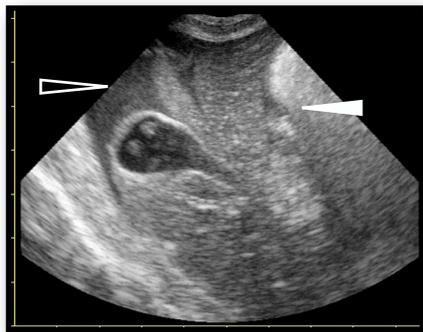


Figura 14: Ematoma epatico (freccia bianca) e versamento addominale (freccia nera) in un gatto traumatizzato (Faverzani)

L'ultrasonografia con mezzo di contrasto si è dimostrata più sensibile rispetto all'esame tradizionale, anche se, allo stato attuale, la letteratura a riguardo è estremamente scarsa, soprattutto in medicina veterinaria. Le lesioni contusive, le lacerazioni e gli ematomi presentano una diminuzione della vascolarizzazione, per cui dopo somministrazione di mezzo di contrasto rimangono anecogene e prive di enhancement durante tutte e tre le fasi vascolari. Tramite questa tecnica è possibile rilevare la presenza di sanguinamento attivo, individuando segnali di enhancement dovuti alla presenza di microbolle al di fuori delle normali strutture anatomiche nel contesto di una raccolta intraepatica e/o peritoneale. La sostanziale innocuità del

mezzo di contrasto ecografico consente l'utilizzo dell'ultrasonografia contrastografica per eseguire controlli seriali di monitoraggio nel tempo in modo più agevole rispetto alla TC spirale, poiché eseguibile anche al letto del paziente. (*Borghini, Testo Atlante, 2004*)

### **1.7.2 Cisti ed Ascessi**

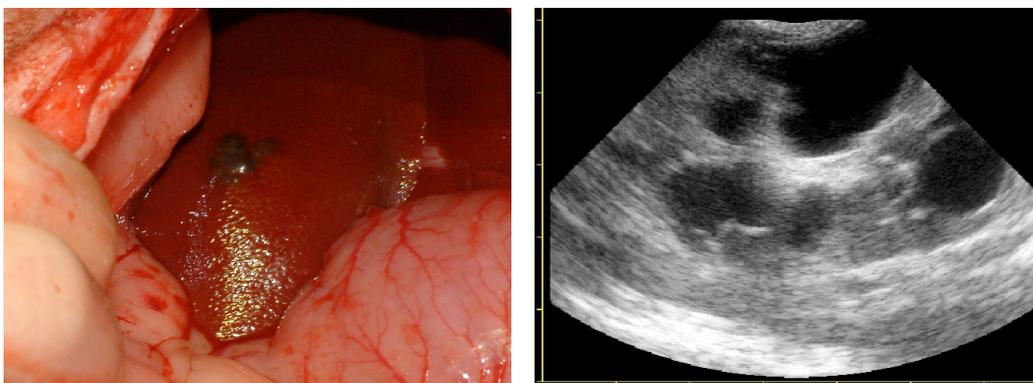
*Le cisti epatiche* si identificano occasionalmente, nel fegato di cani e gatti, di solito durante la necropsia, ma a volte anche nell'animale vivo.

Possono essere singole o multiple, ovoidali o sferiche e di dimensioni variabili; possono colpire sia il parenchima epatico che i dotti biliari. Secondo l'eziopatogenesi le cisti epatiche si distinguono in congenite o acquisite; quelle congenite sono solitamente multiple, mentre quelle acquisite sono per lo più solitarie. Nelle razze Cairn terrier e West Highland White Terrier è stata segnalata una malattia policistica congenita che colpisce fegato e reni. Le cisti acquisite possono rappresentare degli adenomi biliari benigni o cistoadenomi (pseudocisti), oppure possono essere secondarie ad un trauma o ad una patologia infiammatoria, parassitaria, infettiva o neoplastica. (*Ettlinger, Feldman, 2000; Nyland, Mattoon, 2002*)

La maggior parte delle cisti epatiche è un reperto accidentale e non causa alcun segno clinico apprezzabile, ad eccezione del caso in cui determinano compressione su organi o strutture vicine (ad esempio il tratto biliare extraepatico) o se le cisti stesse vanno incontro ad infezione. (*Nyland, Mattoon, 2002*) La distensione dell'addome secondaria all'allargamento di una cisti è un reperto comunemente presente. Le cisti epatiche devono essere prese in considerazione nella diagnosi differenziale di qualsiasi massa cavitaria scoperta durante la palpazione, l'esame radiografico o l'ecografia. La chirurgia consente di confermare la diagnosi ed eventualmente, permette l'escissione delle grandi cisti solitarie che causano qualche risentimento. (*Ettlinger, Feldman, 2000*)

Ecograficamente le cisti epatiche tipiche appaiono come delle formazioni circolari anecogene con limiti netti e circondate da una parete sottile, regolare e ben definita; sono caratterizzate dal fatto che generalmente determinano due artefatti, un marcato

rinforzo acustico posteriore ed ombre acustiche laterali. Anche piccole cisti di diametro inferiore a 1 centimetro possono essere individuate, poiché vi è una differenza marcata di impedenza acustica a livello dell'interfaccia fegato-cisti. Secondo l'esperienza di Nyland e Mattoon, una grande percentuale di cisti di piccole dimensioni possono determinare anche un pattern iperecogeno per la presenza di interfacce di riflessione multiple. Occasionalmente sono state individuate anche cisti atipiche con pareti irregolari, setti, oppure contenenti detriti; in questi casi, occorre distinguere, attraverso anamnesi, visita clinica ed esami di laboratorio, le cisti da tutte quelle patologie infiammatorie, tossiche o neoplastiche che possono determinare lesioni simili. La centesi percutanea del liquido in esse contenuto, da sottoporre ad esame citologico e colturale, è in grado di fornire una diagnosi precisa, e generalmente si associa l'esame citologico del parenchima circostante la lesione, il quale risulta normale. Un altro fatto che può aiutare il clinico nella diagnosi sono le dimensioni delle cisti che tendono a rimanere costanti nel tempo. (Nyland, Mattoon, 2002)



*Figura 15: Aspetto macroscopico ed ecografico di cisti epatiche multiple (Faverzani)*

In letteratura, i lavori sull'impiego di tecniche ecocontrastografiche per lo studio di lesioni cistiche ed ascessuali a livello epatico sono numericamente pochi e limitati alla medicina umana. Alcuni risultati sperimentali sono apparsi comunque promettenti dal punto di vista di sensibilità e specificità diagnostica (Brunetti, Testo Atlante, 2004).

Nell'uomo l'infestazione da *Echinococcus granulosus* può causare la formazione di cisti a livello epatico, splenico e polmonare.

Caratteristica di questa cisti parassitaria è il fatto che l'endocistio (parte larvale della cisti costituita da uno strato interno, o membrana germinativa, ed uno esterno, o membrana laminata) è una struttura non vascolarizzata. Solo il pericistio, che è quella porzione di tessuto dell'organo parassitato che risulta compresso, ma non infiltrato dalla crescita della parte larvale, è vascolarizzato. Per cui, con somministrazione di mezzo di contrasto, la cisti appare ecograficamente priva di enhancement, sia nella fase arteriosa che in quelle portale e tardiva.

Questa caratteristica permette la diagnosi differenziale tra cisti da echinococco ed altre formazioni cistiche o similcistiche settate o plurisetate o formazioni neoplastiche similcistiche e/o ascessualizzate che sono dotate di vascolarizzazione e che, pertanto, dopo somministrazione di mezzo di contrasto mostrano enhancement in corrispondenza dei vasi sanguigni. (Brunetti, *Testo Atlante*, 2004)

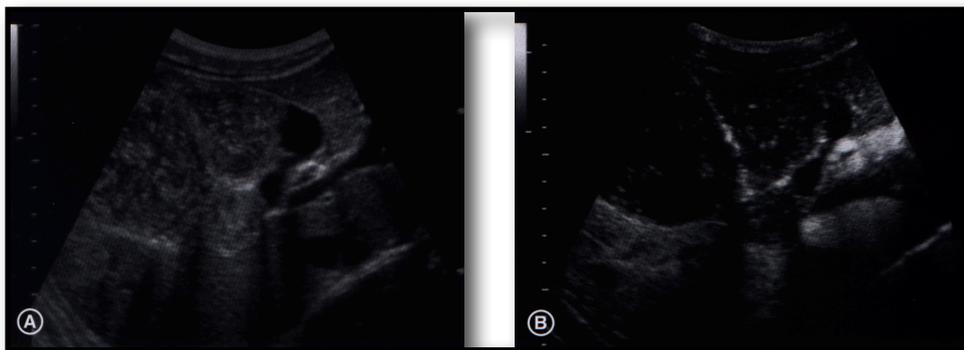


Figura 16: Cisti da Echinococco (Brunetti, *Testo Atlante*, 2004)

A) Ultrasonografia convenzionale: formazione ad ecostruttura disomogenea di circa 10 cm di diametro. B) Fase arteriosa dopo somministrazione di mezzo di contrasto: la formazione non presenta contrast enhancement, mentre il parenchima circostante assume enhancement.

**Gli ascessi epatici**, in medicina umana, costituiscono un'evenienza piuttosto rara. Vengono distinti in *piogenici* se l'eziologia è batterica (solitamente batteri aerobi gram+ o gram-), *amebici* se causati dal protozoo *Entamoeba histolytica*, e *micotici* quando i responsabili sono i miceti *Candida* e *Aspergillus*, i quali tendono a colpire per lo più soggetti immunodepressi. L'ultrasonografia, grazie alle sue caratteristiche

di accuratezza, ripetibilità e costo relativamente basso, è importante nella fase diagnostica e in quella terapeutica. (Brunetti, *Testo Atlante*, 2004)

Il pattern ecografico di un ascesso epatico ad eziologia batterica può essere semplice o pluricamerato per la presenza di setti ed è correlato allo stadio evolutivo. Nella fase iniziale, quella necrotica, l'ascesso si presenta come una formazione ipoecogena a margini sfumati. Nella fase successiva, o colliquativa, il centro diviene ipocogeno per la presenza di pus al suo interno; nelle parti più declivi dell'ascesso tendono a depositarsi detriti necrotici. Se i batteri responsabili sono anaerobi, all'interno della formazione ascessuale, possono comparire spot ecogeni con cono d'ombra posteriore e artefatti da riverbero dovuti alla presenza di gas. Nella fase di risoluzione l'ascesso epatico assume i caratteri di una formazione iso- ipoecogena con cerchie iperecogene e si riduce fino a scomparire. Dopo la risoluzione a volte possono permanere formazioni iperecogene con cono d'ombra posteriore riferibili a calcificazioni.

*Entamoeba histolytica* a livello epatico provoca un'epatite necrotico-colliquativa che presenta diversi stadi evolutivi, evidenziabili sia ecograficamente che con esame istologico. Nella fase iniziale il pattern ultrasonografico corrisponde ad una formazione ipoecogena, priva di parete propria, e con rinforzo acustico posteriore. Nella fase colliquativa l'interno diventa anecogeno con fini echi sparsi e mobili nelle parti declivi. In caso di cronicizzazione l'aspetto può divenire di tipo pseudotumorale o a *nido d'ape*. In un periodo variabile da 1 a 6 mesi si può avere risoluzione dell'ascesso con completa *restitutio ad integrum* del parenchima epatico o con persistenza di una formazione anecogena, definita, impropriamente, *cisti amebica*.

Il pattern ultrasonografico degli ascessi micotici può essere estremamente variabile: ipoecogeno, a bersaglio (iperecogeno con alone ipoecogeno o, viceversa, ipoecogeno con alone iperecogeno) oppure a cerchi concentrici ad ecogenicità alternata (aspetto "ruota nella ruota"). Talora coesistono ascessi micotici con pattern differenti nello stesso fegato. Possono essere singoli o multipli, di dimensioni variabili e diversamente localizzati nel parenchima epatico. (Brunetti, *Testo Atlante*, 2004)

Anche in medicina veterinaria, gli ascessi epatici sono un reperto poco comune. (Nyland, *Mattoon*, 2002) Di solito, sono il risultato di emboli settici provenienti da un

sito addominale di infezione batterica. I soggetti più a rischio sono i cuccioli con onfaloflebite ed i cani adulti con pancreatite od infezioni del sistema epatobiliare oppure animali immunodepressi, come quelli affetti da diabete mellito o ipercorticosurrenalismo. Generalmente, in corso di ascesso epatico si manifesta una sintomatologia di tipo sistemico con anoressia, letargia, vomito, ipertermia, dolore addominale, e tachicardia. Anomalie clinicopatologiche sono l'aumento degli enzimi ALT e ALP e una leucocitosi neutrofila con spostamento a sinistra. (*Ettinger, Feldman, 2000*) La diagnosi definitiva si ottiene con esame citologico e colturale del materiale prelevato dalla lesione tramite biopsia eco-guidata con ago sottile. (*Nyland, Mattoon, 2002*) In uno studio su cani con ascessi epatici l'esame colturale ha segnalato la presenza di batteri aerobi in 24 casi su 25. I più isolati sono stati microrganismi enterici gram negativi; in sei cani è stato identificato lo *Staphylococcus* spp., mentre l'unico anaerobio identificato è stato il *Clostridium* sp.. Importante è eseguire anche l'antibiogramma, per attuare la terapia antibiotica più idonea da associare ad un'eventuale rimozione chirurgica del tessuto infetto. (*Ettinger, Feldman, 2000*)

Secondo quanto riportato in letteratura veterinaria, ecograficamente le lesioni ascessuali possono apparire come lesioni di aspetto variabile (anecogene, ipoecogene, iperecogene o miste) in base all'età dell'ascesso stesso e alla presenza di necrosi al suo interno. Inoltre, talvolta, possono apparire isoecogene rispetto al parenchima circostante e, quindi, difficilmente identificabili. Il pattern iperecogeno con ombra acustica posteriore si riscontra quando c'è produzione di gas da parte di batteri. Secondo l'esperienza di Nyland e Mattoon gli ascessi epatici nel cane hanno generalmente aspetto di *target lesion* o lesioni a bersaglio, ossia con un'area centrale anecogena o ipoecogena, corrispondente a necrosi, e margini periferici iperecogeni irregolari e non ben definiti, che sono dovuti ad infiltrazione di tessuto di granulazione e cellule polimorfonucleate. Quando è presente necrosi liquefatta, si può osservare rinforzo acustico posteriore. Nelle fasi iniziali dell'ascesso i margini possono apparire ecogeni per la presenza di numerosi vasi neoformati nel tessuto di granulazione; in seguito i capillari e le cellule infiammatorie vengono via via sostituiti con collagene che appare ecogeno. Negli ascessi cronici l'ecogenicità

diminuisce progressivamente con il passare del tempo. Vari gradi di rinforzo acustico possono comparire con la maturazione dell'ascesso se la necrosi coagulata diventa liquefatta. (Nyland, Mattoon, 2002)

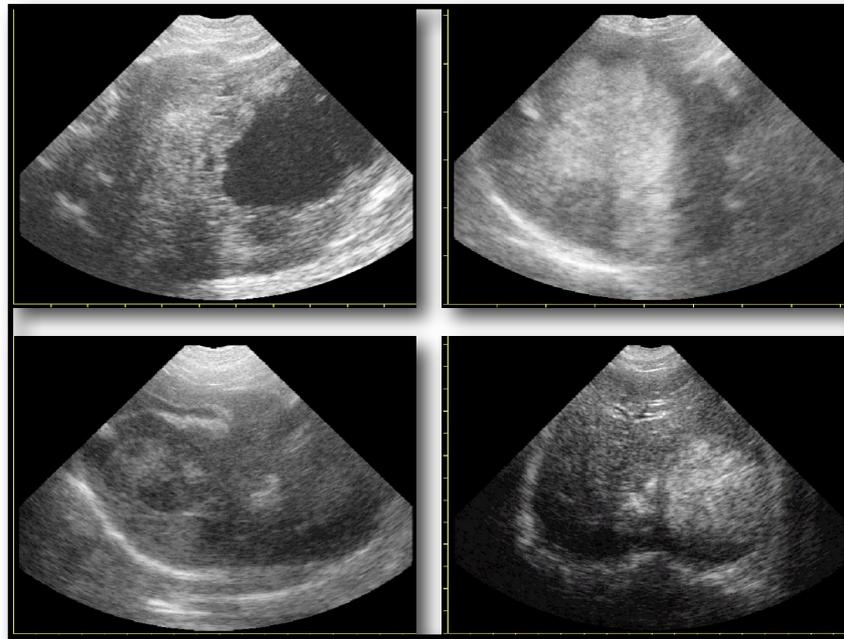


Figura 17: Esempi ecografici di ascesso epatico nel cane (Faverzani)

Gli studi ecografici effettuati con mezzo di contrasto, riportati in bibliografia, descrivono gli ascessi *piogenici* ed *amebici* dell'uomo con pattern che variano secondo lo stadio evolutivo. Nelle fasi iniziale e colliquativa il centro della formazione ascessuale non presenta enhancement né in fase arteriosa né in fase portale e tardiva, a differenza del tessuto circostante la lesione che mostra un intenso e fugace enhancement in fase arteriosa e diventa isoecogeno con il restante parenchima in fase portale e tardiva. In fase di risoluzione il centro dell'ascesso, che si riduce di volume, assume un enhancement simile al parenchima circostante nel corso di tutte e tre le fasi vascolari, mentre il tessuto circostante può presentare un tenue e fugace enhancement in fase arteriosa. Gli ascessi piogenici pluricamerati mostrano un intenso enhancement a livello dei setti e del tessuto circostante la lesione ascessuale in fase arteriosa, mentre in fase portale e tardiva tali setti mostrano un enhancement simile a quello del parenchima epatico; durante la fase di risoluzione dell'ascesso i setti si ispessiscono fino ad apparire come tessuto epatico normale.

Gli ascessi *micotici* possono presentare un cerchio periferico di enhancement fugace in fase arteriosa diventando poi completamente ipoecogeni in fase portale e tardiva oppure non assumono enhancement in nessuna delle tre fasi vascolari.

In conclusione, l'ultrasonografia con mezzo di contrasto può essere un valido aiuto nella diagnosi differenziale tra gli ascessi piogenici ed amebici in fase colliquativa e le neoplasie ascessualizzate e/o similcistiche o emorragiche. Potrebbe essere utile anche nella diagnosi differenziale tra ascessi micotici e lesioni metastatiche e linfomatose del fegato, le quali presentano un enhancement a mosaico in fase arteriosa precoce ed un cerchio di enhancement di spessore generalmente maggiore. *(Brunetti, Testo Atlante, 2004)*

### **1.7.3 Emangioma**

L'emangioma è la neoplasia benigna epatica di più comune riscontro nella popolazione umana, con un'incidenza variabile tra lo 0,4 ed il 20 per cento. Epidemiologicamente è molto più frequente nel sesso femminile rispetto a quello maschile (rapporto 2:1-5:1), mentre non vi è una netta prevalenza per fascia d'età. *(Quaia, Testo Atlante, 2004)* Questa patologia determina raramente un risentimento sintomatologico, infatti è frequentemente diagnosticata come reperto occasionale durante l'ecografia addominale *(Bartolotta, 2005)*.

In letteratura veterinaria l'emangioma viene inserito, secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), tra i tumori benigni di origine mesenchimale nella classificazione istologica dei tumori epatici del cane e del gatto. Tuttavia è estremamente raro *(Marconato, 2005)*.

L'emangioma dell'uomo può essere distinto in due tipi: il tipo capillare ha un diametro medio inferiore ai 3 cm e presenta sottili strutture vascolari venose periferiche; il tipo cavernoso, invece, ha un diametro medio superiore ai 3 cm e una vascolarizzazione interna venosa *(Quaia, Testo Atlante, 2004)*.

Con l'ultrasonografia convenzionale gli emangiomi sono facilmente identificabili. Quelli capillari generalmente hanno un pattern iperecogeno rispetto al parenchima circostante, o ipoecogeno in pazienti con cirrosi epatica. I margini sono netti e non raramente è presente rinforzo acustico posteriore. Spesso, però, possono avere pattern atipici: ipoecogeno, isoecogeno, o ipoecogeno con alone iperecogeno periferico. Gli emangiomi cavernosi hanno per lo più ecostruttura disomogenea o mista. Non è quindi possibile, con l'esame ecografico di base, differenziare gli emangiomi atipici da tutte le altre lesioni focali epatiche o distinguere quelli iperecogeni dalle metastasi in pazienti con anamnesi oncologica positiva, dai noduli di rigenerazione o dal carcinoma epatocellulare in pazienti con cirrosi epatica ed epatite cronica attiva (*Quaia, Testo Atlante, 2004*).

Il color Doppler può dimostrare l'assenza o una riduzione della vascolarizzazione all'interno della lesione (*Bartolotta, 2005*), ma non aumenta in modo significativo l'accuratezza diagnostica dell'ultrasonografia convenzionale nella caratterizzazione degli emangiomi, in quanto non ne identifica aspetti tipici ed è inoltre gravato dalla scarsa sensibilità in presenza di flussi lenti e dalla genesi di artefatti di movimento (*Quaia, Testo Atlante, 2004*).

Miglior sensibilità si ottiene con l'ecocontrastografia epatica. Dopo iniezione endovenosa periferica di mezzo di contrasto nella maggior parte degli emangiomi si rileva un enhancement nodulare periferico durante la fase arteriosa, con progressivo riempimento centripeto durante la fase portale e quella tardiva. (*Quaia, Testo Atlante, 2004; Bartolotta, 2005*) Lo stesso comportamento si identifica con la TC associata a somministrazione di mezzo di contrasto iodato o con la risonanza magnetica con gadolinio (*Bartolotta, 2005*).

Il riempimento centripeto può essere completo nel 40-50 per cento dei casi oppure parziale se sono presenti aree di trombosi o di fibrosi all'interno della lesione. (*Quaia, Testo Atlante, 2004*) Quello parziale è più frequente in lesioni piuttosto grandi e può essere in minima parte riferibile all'emivita di SonoVue che è generalmente più breve rispetto ai mezzi di contrasto iodati o paramagnetici correntemente utilizzati. Comunque, occorre sottolineare che il riempimento

centripeto nell'emangioma può richiedere anche più di 15 minuti durante la TC o la RM.

In un numero non trascurabile (16%) di emangiomi di piccole dimensioni (< 2 cm) non si osserva il tipico enhancement periferico, ma piuttosto una rapida presa di contrasto con ipercogenicità già nella fase arteriosa. Questo comportamento atipico, che può causare serie difficoltà di interpretazione, è stato verificato anche con la TC e la RM, ed è stato riscontrato più frequentemente in pazienti cirrotici.

Gli emangiomi che con l'ultrasonografia convenzionale mostravano un pattern ipercogeno, dopo somministrazione di mezzo di contrasto mostrano frequentemente una persistente evidenza di spot ipercogeni separati e distinti nel contesto della lesione (*Quaia, Testo Atlante, 2004*).

#### ***1.7.4 Iperplasia nodulare focale***

L'iperplasia nodulare focale, in medicina umana, è la neoplasia di più frequente riscontro dopo l'emangioma, con un'incidenza variabile dall'1 al 3 per cento. Anche questo tipo di lesione può essere un reperto occasionale in pazienti asintomatici e da un punto di vista epidemiologico, è prevalente in giovani donne, probabilmente perchè sottoposte con maggior frequenza ad ultrasonografia addominale. (*Bartolotta, 2005*) L'iperplasia nodulare è multipla nel 20 per cento dei casi, generalmente molto vascolarizzata e può presentare emorragia intralesionale e necrosi nel 6 per cento dei casi. La genesi di queste lesioni probabilmente è legata ad una risposta parenchimale di tipo iperplastico ad un'anomalia vascolare localizzata. (*Quaia, Testo Atlante, 2004*) In ambito veterinario l'iperplasia nodulare focale è un fenomeno correlato all'età dell'animale; tipicamente colpisce soggetti di età superiore agli 8 anni. Non è stata riscontrata predisposizione di razza o sesso. In passato queste lesioni venivano individuate casualmente in corso di laparotomia esplorativa oppure erano un comune reperto autoptico. Con la diffusione dell'ecografia questa patologia è diventata diagnosticabile anche in vita o senza ricorrere alla laparotomia. Nella specie canina i

noduli iperplastici non costituiscono uno stadio preneoplastico. (*Ettinger, Feldman, 2000, Morrison, 1998*) Alcuni autori in veterinaria ritengono che l'iperplasia nodulare focale del fegato rappresenti una lesione pseudotumorale, mentre altri la descrivono con il termine di epatomi multipli, in quanto non è stata identificata la causa di stimolazione iperplastica e non è stata dimostrata la capacità di regressione di questa iperplasia, una volta cessato l'ipotetico stimolo. Nel cane l'iperplasia nodulare è caratterizzata dalla presenza di noduli multipli, fino a 5 centimetri di diametro, variamente distribuiti nel parenchima epatico. L'iperplasia nodulare e l'adenoma epatocellulare non sono da confondere con la *rigenerazione nodulare* del fegato, secondaria a necrosi epatocitaria da cause tossiche, infettive o fibrosanti croniche. In questo caso le lesioni conferiscono all'organo un aspetto macronodulare. La diagnosi conclusiva è istopatologica (*Marconato, 2005*).

Generalmente a queste lesioni non vi sono associati segni clinici specifici, ma si può osservare un aumento lieve o moderato dell'attività degli enzimi sierici ALP e ALT (*Ettinger, Feldman, 2000*).

All'esame istologico dell'iperplasia nodulare, si repertano elementi cellulari normali (epatociti, cellule di Kupffer e cellule dei dotti biliari) ma organizzati in modo anomalo rispetto al parenchima circostante. Generalmente non presentano una pseudocapsula e hanno dimensioni inferiori ai 5 cm al momento della diagnosi. (*Quaia, Testo Atlante, 2004*) L'istologia, comunque, può non fornire una diagnosi definitiva per iperplasia nodulare e talvolta risulta difficoltoso distinguere questa patologia da un adenoma epatocellulare o da un carcinoma epatocellulare ben differenziato (*Nyland, Mattoon, 2002*).

L'ultrasonografia convenzionale in scala di grigio nell'uomo non è comunemente considerata una tecnica specifica per il rilevamento di iperplasia nodulare focale a causa della mancanza di un pattern ecografico specifico. Tali lesioni appaiono generalmente isoecogene rispetto al parenchima epatico, ma possono anche risultare iper o ipoecogene o addirittura mostrare un'ecogenicità mista. Nelle iperplasie nodulari di grandi dimensioni è possibile individuare una cicatrice ipoecogena centrale (*Bartolotta, 2005*) o *scar*, la quale rappresenta un reperto tipico che, però,

può essere presente in altre lesioni focali epatiche, come nel carcinoma epatocellulare di tipo fibrolamellare (*Quaia, Testo Atlante, 2004*).

Anche nel cane l'iperplasia nodulare può avere aspetti variabili e solitamente non può essere differenziata sulla base del solo esame ecografico. Si stima sia presente nel 60 per cento dei cani anziani ma il suo riscontro durante le indagini ultrasonografiche non è così frequente. Similmente a quanto riportato nell'uomo, le lesioni di iperplasia nodulare possono apparire ipoecogene, isoecogene, moderatamente iperecogene o miste per la presenza contemporanea di vasodilatazione, necrosi o emorragia. Nel diagnostico differenziale vanno quindi inserite tutte quelle patologie che possono dare aspetti simili: ematomi, ascessi, fenomeni di necrosi e neoplasie epatiche primarie o metastatiche (*Nyland, Mattoon, 2002*).

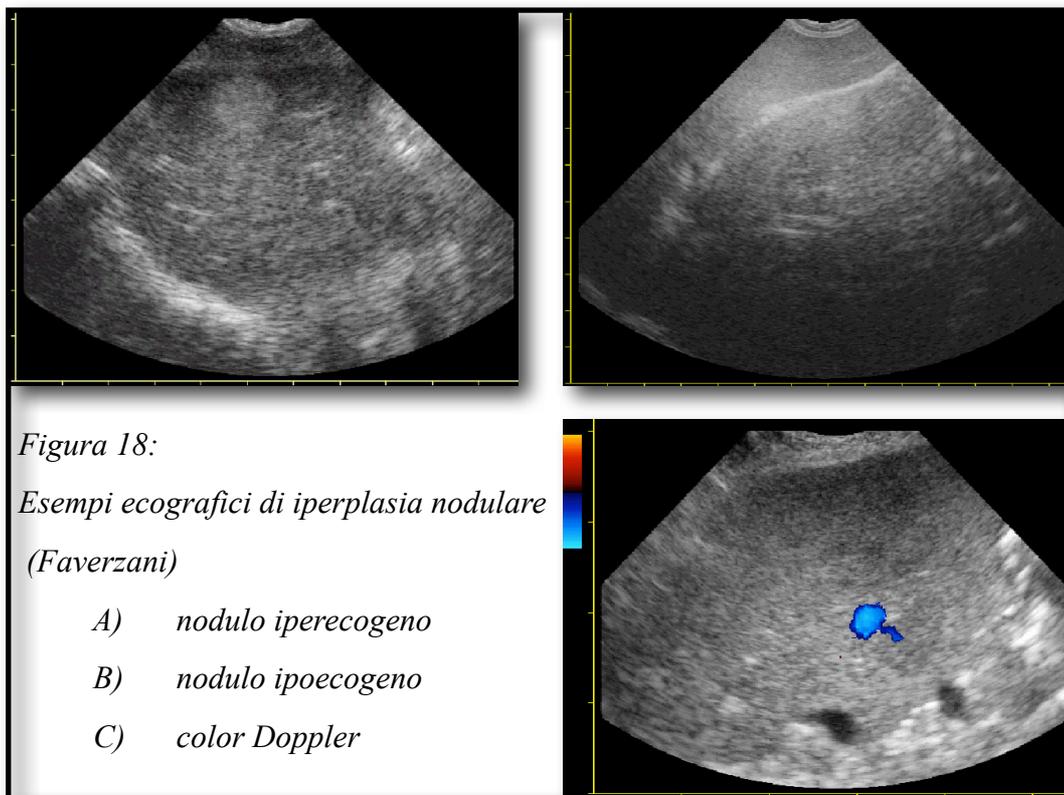
Lo studio con color o power Doppler o con il Doppler pulsato può dimostrare la presenza di una vascolarizzazione arteriosa caratteristica con disposizione a ruota di carro; questo fatto può fornire ulteriori indizi per la diagnosi (*Bartolotta, 2005*).

Nell'uomo dopo somministrazione di mezzo di contrasto, le iperplasie nodulari focali di dimensioni inferiori ai 3 cm presentano un enhancement arterioso precoce e diffuso, che persiste in fase portale e tende a divenire isoecogeno rispetto al parenchima epatico adiacente in fase tardiva.

Le lesioni maggiori di 3 cm generalmente presentano un enhancement di tipo centrale con morfologia tipica *a ruota di carro* durante la fase arteriosa. Nelle fasi successive la presa di contrasto diventa diffusa ed omogenea, spesso, però, persiste un'area ipoecogena centrale che corrisponde alla *scar* (*Quaia, Testo Atlante, 2004*).

Uno studio riporta che, per avere il 100 per cento di specificità nella caratterizzazione dell'iperplasia nodulare focale, un riempimento centrale a stella deve iniziare meno di 30 secondi dall'iniezione di Levovist. Comunque questo comportamento dipende molto dal tempo di scansione e dalla tecnica ultrasonografica impiegata. Nello stesso studio è riportato anche un pattern diffuso a puntini. Con tecniche a scansione continua, che sono correntemente utilizzate per i mezzi di contrasto di seconda generazione, si ottengono migliori risultati rispetto a tecniche a scansione intermittente. Con le nuove tecniche, tuttavia, la cicatrice centrale non è sempre

facilmente identificabile nell'iperplasia nodulare focale, in accordo con studi precedenti di ecocontrastografia e reperti di TC e RM. (Bartolotta, 2005)



### ***1.7.5 Adenoma epatocellulare (o Epatoma)***

L'adenoma epatocellulare è un tumore benigno che prende origine dagli epatociti. Nell'uomo è relativamente raro e la sua incidenza è correlata all'assunzione di contraccettivi orali estroprogestinici oppure a terapie con androgeni steroidei. Generalmente si presenta come un nodulo singolo, ma può essere multiplo, e frequentemente capsulato. (Quaia, *Testo Atlante*, 2004)

Nel cane l'epatoma è poco comune, similmente a tutte le altre neoplasie epatiche primitive; nel gatto è estremamente raro. Solitamente l'adenoma epatocellulare, nel cane, si presenta come una massa singola localizzata in un singolo lobo epatico, anche se, occasionalmente, può apparire sottoforma di lesioni multiple. La massa neoplastica è spesso pedunculata e presenta margini arrotondati. Generalmente gli

adenomi epatocellulari di piccole dimensioni sono asintomatici, mentre quelli più voluminosi possono essere percepiti durante la palpazione addominale e possono dislocare caudalmente lo stomaco, l'intestino e la testa della milza. Più dell'80 per cento di queste neoplasie determina arrotondamento dei margini epatici. Essendo un tumore di origine epiteliale, l'adenoma ha un indice di coesività piuttosto basso, ossia è particolarmente friabile, ed inoltre è altamente vascolarizzato. Quindi, se si verifica una rottura, conseguente ad un trauma, anche lieve, oppure alla palpazione addominale, può insorgere un emoperitoneo con i relativi segni clinici (distensione addominale, mucose pallide, anemia). In questo caso la diagnosi differenziale deve essere posta con l'emangiosarcoma, la cui prognosi è nettamente più sfavorevole rispetto all'adenoma epatocellulare che non dà metastasi ed è trattabile attraverso resezione chirurgica. La differenziazione tra emangiosarcoma e adenoma si ottiene facilmente grazie all'esame istologico. (*Morrison, 1998; Marconato, 2005*)

Macroscopicamente ed istologicamente può essere difficile differenziare l'epatoma dall'iperplasia nodulare focale o dal carcinoma epatocellulare ben differenziato o, in alcuni casi, anche dal tessuto epatico normale. A livello microscopico l'adenoma epatocellulare è caratterizzato dalla compressione sul tessuto epatico attiguo, che, però, non viene invaso, e dall'assenza della normale architettura lobulare. I criteri istologici differenziali si basano sull'infiltrazione locale, sull'invasione vascolare o linfatica e sulla presenza di atipie cellulari. (*Morrison, 1998; Marconato, 2005*)

La letteratura, in umana, riporta che istologicamente l'adenoma è costituito da epatociti ricchi di depositi di lipidi e glicogeno, organizzati in cordoni, con scarso stroma connettivale e una vascolarizzazione prevalentemente arteriosa. Non si riscontrano dotti biliari e le cellule di Kupffer sono scarse o assenti. L'estesa presenza di sinusoidi e arterie afferenti predispongono alla genesi di emorragie. Infatti, in oltre il 60 per cento dei casi è presente emorragia e necrosi intratumorale. (*Quaia, Testo Atlante, 2004*) La diagnosi esatta di questa neoplasia ha un'importanza clinica rilevante, in quanto le emorragie possono mettere a rischio la vita del paziente; inoltre è possibile, anche se rara, una trasformazione maligna del tumore. Per via di queste complicanze il trattamento elettivo dell'adenoma è la sua asportazione chirurgica (*Bartolotta, 2005*).

L'ultrasonografia in scala di grigio non è un esame diagnostico specifico per l'adenoma epatocellulare; il suo aspetto, infatti, può essere variabile, pur apparendo spesso come lesione iperecogena a causa dell'alto tenore lipidico. Quando si verificano emorragie o sono presenti aree di necrosi il pattern può essere disomogeneo o misto (*Quaia, Testo Atlante, 2004*).

Con il color Doppler si può dimostrare la presenza di arterie perinodulari e vasi venosi intranodulari, ma non è possibile tramite questo esame emettere una diagnosi definitiva (*Quaia, Testo Atlante, 2004*).

Lo studio ultrasonografico con mezzo di contrasto riflette la natura ipervascolare dell'adenoma epatocellulare, mostrando in lesioni più piccole ed omogenee un chiaro enhancement durante la fase arteriosa, che perdura, pur diventando meno intenso, nella fase portale e in quella tardiva. Nelle lesioni di maggiori dimensioni con un aspetto ecografico misto o con aree emorragiche o necrotiche, l'iniezione di mezzo di contrasto può mostrare un enhancement principalmente periferico con difetti di riempimento e disomogeneità (*Bartolotta, 2005*).

E' importante sottolineare che l'iperplasia nodulare focale e l'adenoma epatocellulare, dopo somministrazione di mezzo di contrasto, generalmente, si presentano entrambe come lesioni iperecogene. Quindi è fondamentale la diagnosi differenziale tra l'adenoma epatocellulare e tutte le altre lesioni tumorali benigne e ipervascolarizzate come l'iperplasia nodulare focale e l'emangioma capillare. (*Bartolotta, 2005*).

### **1.7.6 Steatosi focale**

La steatosi epatica è un accumulo di trigliceridi all'interno degli epatociti; la sua distribuzione all'interno del fegato può essere di tipo diffuso o focale.

Con l'ultrasonografia convenzionale la steatosi focale si presenta come area a margini sfumati con pattern ipo o iperecogeno. Le aree ipoecogene sono più frequenti in determinate sedi: pericolecistica, sovraportale, a livello di ilo epatico o nel legamento falciforme. Quelle iperecogene, invece, possono essere variamente distribuite.

Quando la steatosi interessa uno o più segmenti epatici in toto assume un aspetto a carta geografica. La steatosi focale può avere aspetto pseudonodulare che si differenzia da altre lesioni occupanti spazio per l'assenza di effetto massa sulle strutture circostanti e per la mancata deformazione dei margini epatici.

All'esame Doppler vengono usualmente identificati dei vasi che attraversano l'area focale senza subire alterazioni nel loro percorso (*Quaia, Testo Atlante, 2004*).

Dopo somministrazione di SonoVue® le aree di steatosi focale mostrano un enhancement omogeneo, sia in fase arteriosa precoce che in fase portale e tardiva, con ecogenicità simile al parenchima epatico circostante. Pertanto, l'ultrasonografia contrastografica è in grado di discriminare le aree di steatosi focale dalle altre lesioni focali epatiche. Tuttavia occorre sottolineare il fatto che la presenza di steatosi diffusa comporta un limite per l'utilizzo dei mezzi di contrasto: gli ultrasuoni hanno scarsa capacità di penetrazione e vengono riflessi dai piani superficiali. Ciò rende non adeguato lo studio dei piani più profondi (*Quaia, Testo Atlante, 2004*).

Aree focali "magre", ossia ipoecogene in un fegato iperecogeno per la presenza di abbondante deposito adiposo, o aree focali iperecogene e ricche di adipe nel contesto di un fegato sano, non mostrano differenze nella presa del mezzo di contrasto rispetto al parenchima circostante. Durante la fase arteriosa queste "pseudo-lesioni" non presentano enhancement; durante la fase portale e quella venosa diventano isoecogene rispetto al fegato circostante. (*Bartolotta, 2005*)

Gli studi contrastografici riportati in letteratura veterinaria da O'Brien descrivono le lesioni focali steatosiche nello stesso modo: comportamento del tutto sovrapponibile a quello del parenchima epatico in tutte le tre fasi vascolari. (*O'Brien, 2004*)

### ***1.7.7 Nodulo necrotico solitario***

Il nodulo necrotico solitario è una rara lesione epatica caratterizzata da un nucleo di materiale necrotico circondato da una capsula contenente fibre elastiche. E' generalmente singolo e localizzato in sede sottoglissoniana. (*Quaia, Testo Atlante, 2004*)

Può essere lo stadio finale di diverse lesioni epatiche come l'emangioma, ascessi, granulomi parassitari ed ematomi. *(Bartolotta, 2005)*

All'esame ecografico convenzionale appare come una lesione focale ad ecostruttura ipoecogena o mista, priva di flussi interni se esaminata con il Doppler.

Dopo somministrazione di mezzo di contrasto non assume enhancement, né in sede centrale né in periferia, in alcuna delle tre fasi dinamiche. *(Quaia, Testo Atlante, 2004).*

La diagnosi definitiva si ha solo dopo biopsia e relativo esame istologico. *(Bartolotta, 2005)*

### ***1.7.8 Ematopoiesi intraepatica extramidollare***

Si tratta di una lesione che con ecografia tradizionale si presenta ipoecogena e che mostra una vascolarizzazione arteriosa al suo interno con l'esame Doppler.

Tramite ecocontrastografia con somministrazione di SonoVue® si ha un forte enhancement arterioso che persiste con pattern iperecogeno rispetto al parenchima circostante, seppur meno intenso, in fase portale e in fase tardiva. Questo comportamento mima ciò che si osserva nell'iperplasia nodulare focale, che quindi viene inserita nel diagnostico differenziale. *(Bartolotta, 2005)*

### ***1.7.9 Noduli macrorigenerativi in cirrosi***

Il nodulo di rigenerazione rappresenta un'area di parenchima epatico in fase rigenerativa, in risposta ad un processo di necrosi o di alterata circolazione. Può essere circondato da fibrosi o meno. I noduli di diametro maggiore di 5 mm vengono definiti macrorigenerativi. Quelli di dimensioni maggiori ai 2 cm contengono foci displasici. All'esame ecografico in scala di grigio appaiono come formazioni ipo- o isoecogene nel contesto di un parenchima epatico ad ecostruttura disomogenea.

Con mezzo di contrasto la maggior parte dei noduli macrorigenerativi mostra un enhancement a spot con pattern ipoecogeno in fase arteriosa precoce ed isoecogeno in fase portale e tardiva. I noduli con foci di displasia possono mostrare enhancement di tipo diffuso in fase arteriosa e pattern ipoecogeno in fase tardiva, simile a quello del carcinoma epatocellulare. (*Quaia, Testo Atlante, 2004*)

## ***1.9 Lesioni focali maligne:***

### ***Neoplasie Primitive***

#### ***1.8.1 Carcinoma epatocellulare***

Il carcinoma epatocellulare, nell'uomo, è la più frequente neoplasia primitiva maligna del fegato; in oltre il 90 per cento dei casi è associato a cirrosi epatica, che costituisce il più importante fattore di rischio per il suo sviluppo. L'incidenza annua di carcinoma epatocellulare in pazienti affetti da cirrosi epatica varia dal 2 all'11 per cento. La presentazione clinica è variabile. I carcinomi di tipo nodulare e di piccole dimensioni (< 3 cm) possono essere asintomatici e costituire reperti occasionali in indagini ecografiche eseguite per altri motivi o nel follow-up di pazienti affetti da cirrosi epatica. In altri casi è presente una sintomatologia sistemica di tipo aspecifico: malessere generale, anoressia, vomito, calo ponderale ed ipertermia, associata a sintomi di disfunzione epatica e/o segni di ipertensione portale: ittero, ascite, eccetera. Il carcinoma epatocellulare ha tendenzialmente uno sviluppo intraepatico, ed interessa tutte le strutture anatomiche dell'organo e in particolare il sistema venoso portale. La trombosi neoplastica della vena porta è stata riscontrata nel 62,2 per cento dei pazienti deceduti per epatocarcinoma e sottoposti ad autopsia. Le vene sovraepatiche e le vie biliari vengono coinvolte più raramente. Nel 23,5 per cento dei casi questa neoplasia può dare metastasi ai linfonodi regionali, soprattutto quelli dell'ilo epatico. Rare, invece, sono le metastasi extraepatiche che interessano più frequentemente il polmone, lo scheletro e i surreni. Istologicamente, i carcinomi epatocellulari si distinguono in *nodulari*, *di tipo massivo* e *di tipo diffuso*. Quelli nodulari hanno generalmente diametro inferiore ai 3 cm e possono essere, a loro volta, suddivisi in 4 tipi: *nodulare singolo*, *nodulare con crescita extranodulare*, *multinodulare confluyente* e *infiltrante*. (Lencioni, *Testo Atlante*, 2004)

Nel cane, il carcinoma epatocellulare rappresenta il tumore primario epatico più comune, se si escludono le iperplasie epatiche dalle lesioni neoplastiche. Tra i tumori

primari del gatto, invece, il carcinoma epatocellulare è al secondo posto in ordine di frequenza, dopo il colangiocarcinoma. (Marconato, 2005; Hammer, Sikkema, 1995)

I cani di sesso maschile sembrano essere maggiormente predisposti. (Marconato, 2005) Secondo quanto riportato in letteratura veterinaria sembra che non ci sia una correlazione tra carcinoma epatocellulare e cirrosi epatica, come invece accertato nell'uomo. Infatti, solo l'8 per cento dei cani affetti da questa neoplasia sono colpiti contemporaneamente da cirrosi epatica. (Hammer, Sikkema, 1995)

In qualche caso, l'epatocarcinoma può essere asintomatico, ma più sovente i soggetti affetti da questa neoplasia manifestano una sintomatologia aspecifica, che include vomito, diarrea, anoressia, perdita di peso, letargia, epatomegalia, poliuria, polidipsia, eccessivo sanguinamento ed ittero. (Marconato, 2005, Morrison, 1998) Nel gatto si osservano più frequentemente letargia ed anoressia, mentre poco comuni sono l'ascite, il vomito e l'ittero. (Ettinger, Feldman, 2000) Alcuni soggetti affetti da epatocarcinoma possono manifestare segni neurologici (disorientamento, tremori, convulsioni e coma) secondari all'encefalopatia epatica o all'ipoglicemia paraneoplastica. (Marconato, 2005) Come l'adenoma, anche il carcinoma epatocellulare può andare incontro a rottura con emorragie che causano emoperitoneo, anemia e mucose pallide. Escludendo quest'ultima evenienza, i segni clinici, generalmente, hanno un'insorgenza lenta e non si rendono evidenti fino agli stadi più avanzati della malattia. Attraverso gli esami ematologici e biochimici si rilevano alterazioni comuni ad altre patologie epatiche: leucocitosi, anemia non rigenerativa o rigenerativa, aumento degli enzimi ALT e ALP, ipoglicemia, diminuzione delle albumine e aumento delle globuline. L'ipoglicemia, che si manifesta clinicamente con apatia e debolezza, potrebbe essere causata da fattori di crescita simili all'insulina prodotti dalle stesse cellule tumorali. L'aumento delle concentrazioni sieriche di alfa-fetoproteina (oltre 250 ng/ml) può essere un indicatore di carcinoma epatocellulare, ma è presente anche nel carcinoma biliare e nelle marcate rigenerazioni epatiche. (Ettinger, Feldman, 2000)

I carcinomi epatocellulari dei piccoli animali, a seconda dell'aspetto macroscopico, possono essere suddivisi in carcinomi di tipo *massivo*, di tipo *nodulare* e di tipo *diffuso*. La forma massiva solitaria è la più frequente nel cane (60%), ed è

caratterizzata dalla presenza di un'unica massa di grosse dimensioni che interessa un solo lobo epatico, solitamente il sinistro, oppure più lobi epatici adiacenti, con eventuali piccoli noduli metastatici nel restante parenchima. Le masse singole, inoltre, hanno una prognosi più favorevole rispetto alle altre forme, in quanto hanno più probabilità di poter essere asportate chirurgicamente. La forma nodulare (30%) si presenta sottoforma di noduli multipli di varie dimensioni localizzati in tutto il fegato, mentre nella forma diffusa (10%) si riscontrano, in tutto il parenchima, diverse masse non incapsulate e poco distinte corrispondenti a tessuto neoplastico infiltrante. Gli anatomopatologi descrivono l'epatocarcinoma in base all'aspetto microscopico che può essere *trabecolare*, *adenoide*, *solido* o *poco differenziato*. I casi di carcinoma epatocellulare riportati non sono stati in numero sufficiente a determinare, nei diversi tipi istologici, differenze per quanto riguarda il comportamento biologico o la risposta alle terapie. Per questo motivo in clinica devono essere considerati tutti allo stesso modo. (*Marconato, 2005, Morrison, 1998*)

Anche nel cane i carcinomi epatocellulari sono localmente invasivi e altamente metastatici. (*Morris, 2001*) Il potenziale metastatico varia notevolmente in funzione della forma macroscopica: il tipo diffuso può dare metastasi nel 60 per cento dei casi mentre nella forma diffusa il tasso varia dal 4,8 al 36,6 per cento, a seconda dello studio considerato. L'epatocarcinoma si può diffondere per estensione diretta in altre parti del fegato oppure agli organi vicini, come, ad esempio, il peritoneo (carcinomatosi). I linfonodi regionali sono spesso interessati, mentre le metastasi a distanza colpiscono frequentemente i polmoni, dove giungono per diffusione ematogena attraverso le vene epatiche. Molti altri organi, comunque, possono essere sede di metastasi di carcinoma epatico. (*Marconato, 2005, Morrison, 1998*)

La diagnosi definitiva di carcinoma epatocellulare richiede la biopsia epatica e l'esame istopatologico, tuttavia, radiogrammi ed esami ecografici sono importanti per individuare localizzazione e tipologia della lesione e per escludere altre patologie. I reperti più comuni riscontrati con esame radiografico sono l'epatomegalia simmetrica o non simmetrica, la presenza di masse addominali craniali che determinano spostamento caudale degli altri organi, ascite e le eventuali metastasi polmonari. (*Ettinger, Feldman, 2000*)

L'ultrasonografia convenzionale è molto utile sia per l'identificazione che per la caratterizzazione del carcinoma epatocellulare; può integrare altre tecniche radiologiche di imaging, quali TC e RM, nella stadiazione della neoplasia e, in medicina umana, può essere impiegata per l'esecuzione di terapie ablative percutanee. In letteratura umana sono ampiamente descritti i pattern ecografici dei diversi tipi di carcinoma epatocellulare. Ecograficamente i carcinomi epatocellulari di tipo *nodulare singolo* hanno una forma rotondeggiante od ovalare, margini netti, ed un pattern variabile ipoecogeno (48-77 % dei casi), iperecogeno (16-44 %), isoecogeno o misto (nei rimanenti casi). L'aspetto iperecogeno è correlato a fenomeni di steatosi, all'organizzazione pseudoghiandolare delle cellule cancerose ed alla presenza di peliosi degli spazi vascolari tumorali o a processi desmoplastici. Nei carcinomi epatocellulari di piccole dimensioni è possibile evidenziare un orletto ipoecogeno corrispondente alla presenza di una capsula fibrosa o di una pseudocapsula, determinata dalla compressione del parenchima epatico circostante. In altri casi, invece, è possibile notare un rinforzo di parete posteriore, che riflette la maggior capacità degli ultrasuoni di attraversare il tessuto neoplastico e può essere molto utile per individuare piccoli noduli a presentazione isoecogena. I carcinomi di tipo *nodulare con crescita extranodulare*, di tipo *multinodulare confluenti* o quelli *infiltranti* sono caratterizzati da margini irregolari, non netta demarcazione rispetto ai tessuti circostanti ed ecostruttura variabile. I carcinomi epatocellulari in fase medio-avanzata possono essere suddivisi in base alla modalità di crescita in forme *nodulari espansive*, *infiltranti* e *diffuse*. Il tipo *nodulare espansivo*, unifocale o multifocale, generalmente ha margini netti, ecostruttura mista ed un alone ipoecogeno periferico con rinforzo di parete posteriore. Gli epatocarcinomi di maggiori dimensioni hanno una struttura disomogenea con aree a differente ecogenicità separate da sottili setti (*aspetto a mosaico*). Questa caratteristica è legata alla presenza all'interno del nodulo di componenti con un diverso grado di degenerazione steatosica o di differenziazione (*nodo intra nodo*). Nel contesto di tali lesioni non è raro rilevare aree necrotiche, emorragiche o calcifiche, che contribuiscono a conferire al tumore un'ecostruttura disomogenea. Gli epatocarcinomi di tipo *infiltrante* hanno margini irregolari e sfumati ed infiltrano il parenchima epatico circostante e le strutture vascolari

adiacenti. Il pattern ecografico di tali carcinomi è variabile; può essere ipo-, iper-isoecogeno o misto. Quelli isoecogeni sono difficilmente distinguibili all'interno del parenchima sano e, generalmente, vengono identificati per la presenza di una linea di demarcazione ipoecogena. I carcinomi di tipo *diffuso* sono poco comuni e determinano totale alterazione dell'ecostruttura del parenchima epatico per la presenza di noduli diffusi. Tali noduli possono avere tutti i tipi di pattern ultrasonografici già descritti, e all'interno dello stesso fegato possono essere presenti noduli con pattern differenti. In un fegato non colpito da epatite cronica o cirrosi l'epatocarcinoma, generalmente, è di tipo *fibrolamellare*, che ecograficamente si presenta come una massa singola, a margini lobulati, ben delimitata, ad ecostruttura spesso disomogenea. Tipico è il riscontro di una cicatrice centrale iperecogena (*scar*) con eventuali setti fibrosi disposti a raggiera all'interno della massa. La presenza di calcificazioni, non frequente, è comunque più comune che in altre forme. (*Lencioni, Testo Atlante, 2004*)

Mentre in medicina umana in corso di questa neoplasia si riscontrano diversi pattern ecografici, in letteratura veterinaria si riporta che l'aspetto più frequente del carcinoma epatocellulare è quello di una lesione focale iperecogena. (*Hammer, Sikkema, 1995; Whiteley, 1989*) In uno studio condotto da Whiteley su 48 cani con neoplasia primaria o metastatica, sono risultati affetti da carcinoma epatocellulare il 93 per cento dei casi che, all'esame ecografico, presentavano una lesione focale epatica ed il 71 per cento di queste lesioni erano costituite da masse iperecogene. Più raramente i carcinomi epatocellulari hanno l'aspetto di lesioni focali ipoecogene o ad ecogenicità mista. (*Whiteley, 1989*)

Con l'utilizzo della tecnica del color Doppler, nei noduli di carcinoma epatocellulare, si rilevano generalmente segnali vascolari intra- e perinodulari che determinano due tipi di pattern: a canestro (o *basket pattern*) oppure intranodulare (*vessel within the tumor*). Il pattern a canestro è contraddistinto dalla presenza di vasi disposti alla periferia del nodulo con eventuali diramazioni centripete. Nel tipo intranodulare, invece, manca una significativa componente perilesionale ed i vasi sono apprezzabili solo all'interno del nodulo. Il DSA dei segnali di flusso intra- e perilesionali rileva solitamente un pattern di tipo arterioso con velocità di picco sistolico ed indici di

resistenza elevati. Queste caratteristiche consentono la differenziazione tra noduli di carcinoma epatocellulare e, in pazienti cirrotici, noduli di rigenerazione o displasici che presentano un apporto ematico prevalentemente di tipo portale. Tuttavia, il rilievo di una vascolarizzazione peri- e/o intranodulare con pattern arterioso non è patognomonica per epatocarcinoma, ma può essere presente anche in altri tumori epatici benigni e maligni. Inoltre, è necessario ricordare che a volte noduli di carcinoma epatocellulare possono non mostrare segnali di flusso al color Doppler ma risultano ipervascolarizzati alla TC o alla RM dinamica. (*Lencioni, Testo Atlante, 2004*)

L'introduzione dei mezzi di contrasto in ecografia e l'utilizzo delle nuove tecniche ultrasonografiche hanno permesso, rispetto agli esami ecografici convenzionali, una migliore valutazione del microcircolo tissutale e della neovascolarizzazione tumorale, in maniera simile alla TC e alla RM. Lo studio con mezzo di contrasto dell'epatocarcinoma, durante la fase arteriosa precoce, mette in evidenza i vasi arteriosi localizzati in sede peri- e/o intranodulare. Sempre in fase arteriosa, 15-30 secondi dopo somministrazione del mezzo di contrasto, la lesione neoplastica mostra un intenso enhancement e diviene iperecogena rispetto al parenchima circostante. Nelle fasi portale (tra 50 e 80 secondi) e tardiva (tra 180 e 240 secondi) il wash-out del mezzo di contrasto dal tessuto neoplastico avviene prima rispetto al tessuto sano circostante, per cui la lesione neoplastica risulta essere iso- ed ipoecogena nel contesto di un parenchima che mostra enhancement omogeneo. Al contrario, i noduli di rigenerazione e quelli displasici non mostrano alcun enhancement in fase arteriosa, risultando ipoecogeni, e diventano via via isoecogeni con il parenchima circostante nelle fasi seguenti. Questo comportamento ecografico, che corrisponde a quello rilevato con la TC spirale e la RM dinamica, è dovuto alla neovascolarizzazione neoplastica. Infatti, durante la trasformazione dai noduli rigenerativi o displasici all'epatocarcinoma si osserva una progressiva sostituzione dell'apporto ematico portale con quello arterioso per la neoformazione di vasi arteriosi non triadali. (*Lencioni, Testo Atlante, 2004*)

Tuttavia, oltre a queste caratteristiche tipiche, una piccola percentuale di carcinomi epatocellulari può avere un comportamento anomalo: in fase tardiva tali lesioni

possono mostrare un certo enhancement normalmente non presente, oppure possono risultare isoecogene e non ipoecogene rispetto al parenchima circostante. Questa variabilità di comportamento durante la fase tardiva e la breve durata della fase arteriosa precoce possono creare qualche difficoltà nell'identificare noduli di carcinoma epatocellulare soprattutto in corso di cirrosi epatica. (EFSUMB, 2004)

In letteratura veterinaria si ritrova uno studio condotto da O' Brien, il quale, nell'epatocarcinoma del cane, descrive una fase di wash-in caratterizzata da un enhancement eterogeneo, ossia ad ecogenicità mista, e con evidenti vasi tortuosi afferenti la massa. In fase tardiva, come tutte le lesioni di natura maligna da lui campionate, si evidenzia un rapido wash-in del mezzo di contrasto dalle lesioni che, quindi, rimangono ipo-aneecogene.

## **1.8.2 Colangiocarcinoma**

Il colangiocarcinoma è una neoplasia maligna che origina dall'epitelio dei dotti biliari. In medicina umana, come ordine di frequenza all'interno dei tumori epatici primari, si trova al secondo posto, dopo il carcinoma epatocellulare, e ne rappresenta una percentuale variabile dal 5 al 30 per cento.

Generalmente si presenta in forma sporadica, tuttavia, sono state identificate alcune condizioni predisponenti, quali colangite sclerosante primitiva, malattia cistica delle vie biliari, litiasi intraepatica e infezione parassitaria da *Clonorchis sinensis*.

Il colangiocarcinoma, in letteratura umana, viene classificato a seconda della localizzazione in *intraepatico* (35%) ed *extraepatico* (65%).

Il primo, a sua volta, può essere classificato come *periferico* (10%) se origina dall'epitelio dei dotti intraepatici o *ilare* (25%) se nasce dall'epitelio dei dotti biliari principali o dalla loro convergenza.

La forma ilare viene definita anche come “tumore di Klatsin”.

Un'altra classificazione di queste neoplasie viene fatta a seconda dell'aspetto macroscopico, del tipo di crescita e del comportamento biologico, considerando le implicazioni per il paziente.

Per cui, si differenziano sostanzialmente tre gruppi di colangiocarcinomi:

- tumori *formanti massa*
- tumori con *infiltrazione periduttale*
- tumori *a crescita intraduttale*.

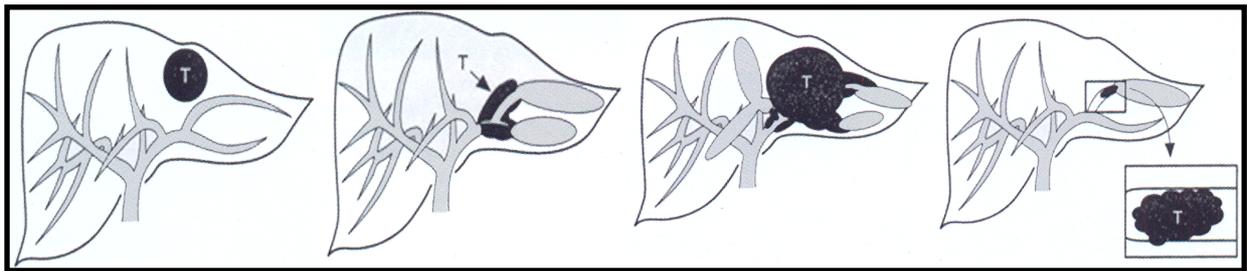


Figura n 19: classificazione del colangiocarcinoma (Testo Atlante)

A)formante massa; B)infiltrazione periduttale; C)formante massa e infiltrazione periduttale;  
D)crescita intraduttale.

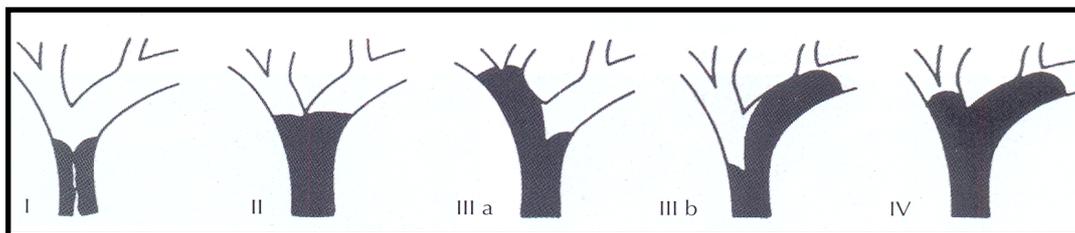


Figura 20: classificazione colangiocarcinoma ilare

La sintomatologia è correlata alla sede. Nell'uomo i colangiocarcinomi ilari ed extraepatici si manifestano precocemente con aumento degli indici di colestasi ed ittero, mentre le forme periferiche determinano un risentimento più tardivo correlato all'aumento delle dimensioni della massa neoplastica, con senso di peso, dolore addominale e sintomi sistemici come calo ponderale, astenia, ipertermia. Anche la prognosi varia a seconda della sede: è sfavorevole nelle forme nodulari formanti massa e infiltranti periduttali, mentre è migliore per le forme a crescita intraduttale, la quali possono essere asportate chirurgicamente. Meno dell'uno per cento dei pazienti

affetti da colangiocarcinoma senza trattamento sopravvive a 5 anni; la percentuale sale al 20 per cento in quelli sottoposti a resezione chirurgica. (Cabassa, Testo Atlante, 2004)

Nel cane il colangiocarcinoma è, in ordine di frequenza, il secondo tumore epatico primario e maligno dopo il carcinoma epatocellulare, mentre nel gatto è quello più comune, rappresentando il 52-64 per cento tra i tumori di origine epiteliale. Per quel che riguarda il segnalamento, sembra esservi una predisposizione per i cani di sesso femminile e di razza Labrador retriever; nella specie felina sono più colpiti i maschi ed i gatti di razza siamese. In passato alcuni casi nel gatto sono stati correlati a *Fasciola hepatica*. Secondo diversi studi, risulta essere maggiormente interessato il lobo laterale sinistro. Il colangiocarcinoma nei piccoli animali può prendere origine dal dotto biliare intraepatico nel 53 per cento dei casi, dal dotto biliare extraepatico nell'11 per cento dei casi oppure dalla cistifellea. Inoltre, sono state descritte tre forme di colangiocarcinoma: quella *infiltrante*, quella *massiva* che può interessare anche un intero lobo epatico e quella *nodulare*, la più frequente sia nel cane che nel gatto, e caratterizzata da noduli di varie dimensioni diffusi in tutto il parenchima. Sia i noduli che le masse contengono frequentemente aree necrotiche o cistiche. Se predominano ampi spazi cistici delimitati da cellule epiteliali, da cuboidali a colonnari, e contenenti secreto mucoso, si parla di cistoadenocarcinoma biliare. Il comportamento biologico è aggressivo e si riscontrano metastasi in oltre l'80 per cento dei casi. La via di diffusione è quella linfoematogena e i siti metastatici più frequenti sono i linfonodi regionali, il peritoneo (carcinomatosi), ed i polmoni. (Marconato, 2005, Morrison, 1998) La letteratura descrive un caso di metastasi al midollo osseo in un bovino del bernese. (Marconato, 2005)

I segni clinici di colangiocarcinoma nel cane e nel gatto, come in altre neoplasie maligne epatobiliari, non sono caratteristici. Con il progredire della crescita neoplastica compaiono sintomi per lo più subdoli e aspecifici, come anoressia, dimagrimento, vomito, diarrea, poliuria e polidipsia, opacità del mantello, febbre, depressione e debolezza. (Marconato, 2005) Sorprendentemente, solo nel 15 per cento dei cani colpiti da colangiocarcinoma è stata descritta la presenza di ittero, che, comunque è più frequente quando il tumore origina dai dotti biliari extraepatici.

(Morrison, 1998) In letteratura si riporta un probabile caso di miastenia gravis paraneoplastica in un cane con colangiocarcinoma. (Marconato, 2005)

Sia in medicina umana che in veterinaria, la diagnosi definitiva di questa patologia e la sua stadiazione si ottengono solo con l'integrazione di diverse tecniche di imaging, quali TC, RM, ultrasonografia, biopsia TC o ecoguidata, ecoendoscopia, e colangiopancreatografia retrograda endoscopica. (Cabassa, Testo Atlante, 2004)

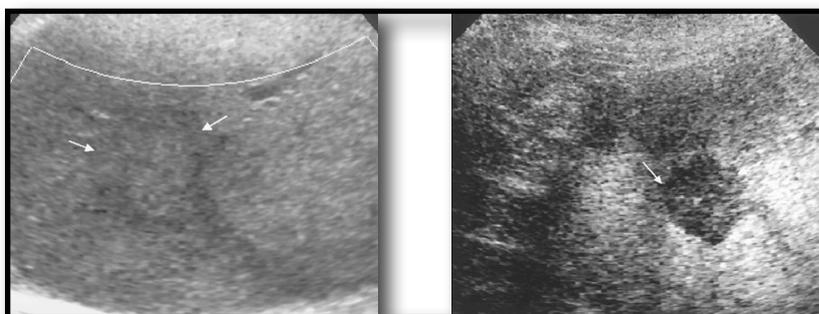
L'ultrasonografia convenzionale può essere utile per differenziare la natura di un ittero (ostruttivo o non ostruttivo), per identificare nel fegato le lesioni neoplastiche e per valutare l'interessamento dei linfonodi regionali.

Gli aspetti ecografici dei diversi tipi di carcinoma colangiocellulare nell'uomo sono ben descritti in letteratura. I colangiocarcinomi periferici, che originano cioè dai dotti biliari intraepatici, non forniscono segni ecografici specifici. La forma nodulare è quella più facilmente identificabile; appare come una lesione ipoecogena quando ha un diametro inferiore a 3 centimetri, oppure iperecogena o ad ecostruttura mista quando di dimensioni maggiori. In un terzo dei casi si evidenzia dilatazione delle vie biliari. La forma infiltrante può essere più difficile da identificare, poiché si può rivelare solo con segni indiretti, quali dilatazione segmentaria delle vie biliari, atrofia epatica segmentaria ed ispessimento delle pareti dei dotti. Il colangiocarcinoma ilare, o tumore di Klatskin, considerato per lungo tempo non diagnosticabile con l'ultrasonografia, oggi è identificabile tramite questa metodica nell'80 per cento dei casi, con una sensibilità variabile dal 21 al 74 per cento. Si può presentare nel 60 per cento dei casi come un nodulo ipoecogeno o come area ipoecogena disomogenea oppure può essere di tipo infiltrante (30%) e apparire come un'irregolare ispessimento delle pareti delle vie biliari e/o come un'alterazione dell'ecostruttura parenchimale a ridosso della via biliare. In quest'ultimo caso si devono ricercare segni indiretti della neoplasia, quali dilatazione delle vie biliari intraepatiche, non continuità tra le due vie biliari principali e atrofia segmentaria o lobare. (Cabassa, Testo Atlante, 2004)

Gli studi ecografici effettuati sul cane descrivono i colangiocarcinomi come lesioni multifocali ipoecogene, iperecogene o ad ecogenicità mista (Hammer, Sikkema, 1995; Whiteley, 1989)

In umana l'ultrasonografia con mezzo di contrasto è stata applicata anche ai diversi tipi di carcinoma colangiocellulare; tuttavia, la scarsità di lavori sino ad oggi pubblicati in letteratura e la rarità di questa neoplasia non consentono di trarre conclusioni definitive. L'utilizzo dei mezzi di contrasto nelle forme di colangiocarcinoma ilare e intraluminale ha evidenziato forti limitazioni; a volte, comunque, è possibile identificare, all'interno del lume delle vie biliari, segnali di neovascolarizzazione riferibili a presenza di tessuto neoplastico che mostra debole enhancement durante la fase arteriosa precoce, mentre in fase portale e tardiva diviene ipoecogeno e ben demarcato rispetto al parenchima epatico circostante.

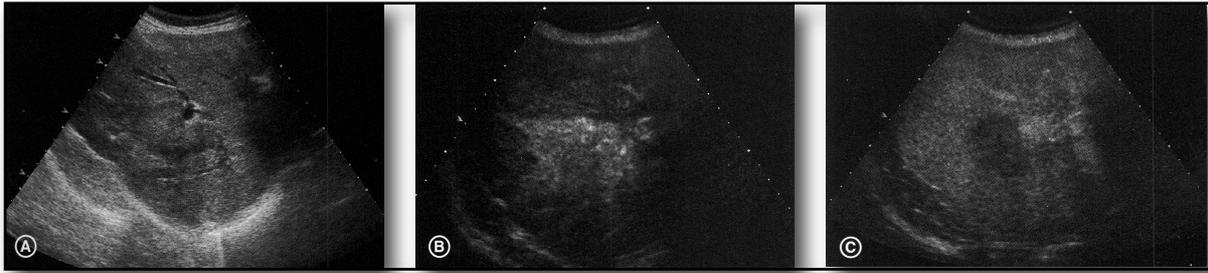
Le forme nodulari periferiche di piccole dimensioni, dopo iniezione di mezzo di contrasto, mostrano un enhancement relativamente omogeneo in fase arteriosa precoce. Nelle fasi portale e tardiva le lesioni appaiono nettamente ipoecogene rispetto al parenchima epatico circostante. I colangiocarcinomi periferici di grandi dimensioni presentano un orletto di enhancement periferico in fase arteriosa con centro privo di enhancement. In fase portale e tardiva anch'essi sono ipoecogeni rispetto al tessuto epatico sano adiacente. Da quanto descritto, si evince che i colangiocarcinomi periferici hanno un comportamento simile alle metastasi tumorali, pertanto non è possibile differenziare su base ecocontrastografica questi due tipi di lesione (Cabassa, Testo Atlante, 2004). Inoltre, l'ultrasonografia contrastografica si è dimostrata meno efficace rispetto alla TC spirale e alla RM, a causa dell'impossibilità di valutare la fase tardiva a 15-20 minuti che consente di rilevare la caratteristica impregnazione tardiva del colangiocarcinoma. (Cabassa, Testo Atlante, 2004)



*Figura 19: Colangiocarcinoma in una donna di 59 anni (Von Herbay, 2002)*

*A. l'ultrasonografia convenzionale mostra un'area ipoecogena (freccie)*

*B. fase tardiva del mezzo di contrasto: la lesione appare ipoecogena mentre il parenchima circostante mostra enhancement.*



*Figura 20: Colangiocarcinoma (Testo Atlante, 2004)*

*A. nodulo isoecogeno di circa 4 cm di diametro B. fase arteriosa dell'ecocontrastografia: il nodulo presenta intenso e precoce contrast enhancement  
C. fase tardiva: il nodulo appare ipoecogeno*

### ***1.8.5 Neoplasie secondarie (metastasi)***

E' di importanza cruciale, in tutti i pazienti con anamnesi oncologica positiva, eseguire un'accurata stadiazione della neoplasia allo scopo di emettere un giudizio prognostico e pianificare un protocollo terapeutico adeguato. La ricerca di eventuali metastasi è uno degli aspetti fondamentali nella stadiazione delle neoplasie maligne, ed il fegato, per le sue caratteristiche di organo filtro, è uno dei visceri più frequentemente interessato da metastasi.

Le metastasi epatiche di più frequente riscontro nell'uomo originano da neoplasie primarie di colon, stomaco, pancreas, mammella e polmoni. (O'Brien, 2004)

Nel fegato di cane i tumori secondari sono, in assoluto, i più frequenti tumori maligni. Le metastasi epatiche sono 2,5 volte più frequenti rispetto ai tumori primari. (O'Brien, 2004) Secondo uno studio, la necropsia di cani affetti da diverse forme tumorali ha rivelato un interessamento epatico secondario nel 7-36 per cento dei casi. (Hammer, Sikkema, 1995) Teoricamente tutte le neoplasie possono metastatizzare al fegato, anche se, nel cane, è segnalata un'incidenza maggiore per i tumori gastroenterici, l'emangiosarcoma, i tumori pancreatici, l'adenocarcinoma mammario (Marconato, 2005) ed il fibrosarcoma. Nel fegato di gatto le neoplasie metastatiche non sono risultate frequenti né si è potuto osservare la prevalenza di un singolo tipo tumorale. I più comunemente diagnosticati sono stati il carcinoma pancreatico, il carcinoma intestinale ed il carcinoma renale. (Hammer, Sikkema, 1995)

Anche i tumori epatici primitivi possono metastatizzare al parenchima epatico stesso; in questo caso la diffusione avviene attraverso il sistema biliare duttale o i sinusoidi e l'aspetto tipico è quello di una lesione voluminosa (tumore primitivo) accanto a tanti piccoli noduli (metastasi) (Marconato, 2005)

La letteratura, in umana, riporta che le metastasi epatiche sono generalmente solide, mentre di rado possono essere cistiche. La vascolarizzazione è quasi esclusivamente di tipo arterioso, con contributo portale scarso o assente. Tutte le metastasi epatiche presentano vasi neoformati localizzati prevalentemente in periferia, mentre al centro prevalgono fenomeni di necrosi. In generale, le metastasi epatiche che originano dal tratto gastroenterico sono scarsamente vascolarizzate, a differenza di quelle che originano da altri organi che possono essere riccamente vascolarizzate. (Martegani, Testo Atlante, 2004)

Secondo la letteratura veterinaria, le metastasi epatiche nel cane e nel gatto possono avere caratteristiche macroscopiche variabili: possono presentarsi come masse solitarie, lesioni nodulari multifocali oppure come patologie di tipo infiltrativo. Le metastasi di carcinomi e di sarcomi si presentano, in oltre il 90 per cento dei casi, in forma diffusa o come lesioni multifocali ed in meno del 5 per cento in forma solitaria. (Hammer, Sikkema, 1995)

Cani e gatti con neoplasia metastatica al fegato possono presentare una sintomatologia variabile e non specifica; spesso presentano segni correlati alla neoplasia primaria. I sintomi derivati dal danno epatico e di più frequente riscontro sono: vomito, diarrea, poliuria, polidipsia ed anoressia. L'epatomegalia non è un rilievo clinico frequente, come invece accade nelle neoplasie primarie. L'ittero non è un segno comune, né in soggetti con tumori primari, né in quelli con forme metastatiche. (Hammer, Sikkema, 1995) Nelle forme tumorali epatiche secondarie si osserva con una certa frequenza l'aumento della bilirubina e dell'attività dell'enzima aspartato amino-transferasi (AST). Il rapporto tra ALT (alanina amino-transferasi, che aumenta frequentemente in corso di neoplasie primarie) e AST (ALT:AST) potrebbe aiutare nella differenziazione tra tumore primario e tumore metastatico. Se tale rapporto è inferiore a 1 il tumore può essere metastatico, un carcinoide o un sarcoma; se è maggiore di 1 è solitamente un carcinoma epatocellulare oppure un

colangiocarcinoma. Tuttavia esistono numerose eccezioni a queste regole che, di conseguenza ne limitano l'utilità clinica. (Hammer, Sikkema, 1995)

Nell'individuazione delle metastasi epatiche, in medicina umana, l'ecografia ha una sensibilità diagnostica relativamente scarsa, compresa tra il 53 ed il 77 per cento, ed inferiore rispetto a quella della TC o della RM con mezzo di contrasto. I limiti sono dovuti alla difficoltà nell'identificare le lesioni con diametro inferiore ad 1 centimetro o con ecostruttura isoecogena rispetto al parenchima circostante. Inoltre, la presenza di artefatti da movimento e l'eventuale meteorismo intestinale possono rendere l'ultrasonografia tecnicamente complessa e aumentare la dipendenza dell'accuratezza diagnostica dall'abilità dell'operatore. (Martegani, Testo Atlante, 2004) All'esame ecografico convenzionale le metastasi epatiche, sia in medicina umana che in campo veterinario, possono avere aspetti diversi e per nulla specifici. Le lesioni metastatiche infatti, possono apparire ipoecogene, isoecogene o iperecogene rispetto al parenchima epatico circostante; in alcuni casi presentano un'ecogenicità mista e in altri casi possono essere anecogene o similcistiche. Frequente è l'aspetto a target lesion o lesione a bersaglio, con centro ipo o isoecogeno ed alone iperecogeno periferico. (Martegani, Testo Atlante, 2004; Ettinger, Feldman, 2000) Una neoplasia metastatica appare generalmente come una massa solitaria o come masse multiple, ben circoscritte o fuse insieme disseminate in tutto il parenchima. Le metastasi di emangiosarcoma nel cane, sono descritte in letteratura come lesioni multifocali ipoecogene o ad ecogenicità mista. I carcinomi o i sarcomi che metastatizzano al fegato, sempre nel cane, possono avere un pattern a target lesion con centro iperecogeno e periferia ipoecogena, oppure possono apparire come lesioni multifocali iper- ipoecogene o con ecogenicità mista. (O' Brien, 2004)

La presenza di lesioni secondarie, anche di piccole dimensioni, comporta delle alterazioni nell'emodinamica epatica. Secondo alcuni autori, confrontando con tecniche Doppler il flusso nell'arteria epatica e nella vena porta si possono ottenere informazioni importanti per la diagnosi di metastasi occulte. Tuttavia tale tecnica presenta un certo grado di difficoltà ed è dipendente dall'abilità dell'operatore. (Martegani, Testo Atlante, 2004)

L'ultrasonografia con mezzo di contrasto, rispetto alle indagini ecografiche convenzionali, consente netti miglioramenti nell'identificazione e nella caratterizzazione delle metastasi epatiche. Infatti, permette di individuare anche le lesioni isoecogene o di piccole dimensioni che ecograficamente non sono visibili. Inoltre, tramite somministrazione di mezzo di contrasto è possibile differenziare le lesioni di natura benigna da quelle di natura maligna. La maggior parte dei lavori scientifici sull'applicazione dell'ecocontrastografia per lo studio delle metastasi epatiche nell'uomo, è stata ottenuta utilizzando Levovist®, mezzo di contrasto di prima generazione, in associazione a tecniche Doppler o tecniche dedicate che rilevano la presenza delle microbolle causandone la rottura. L'ultrasonografia con Levovist® consente di identificare le metastasi epatiche con una sensibilità compresa tra l'80 e il 98 per cento, quindi significativamente superiore a quella dell'ecografia convenzionale. (Martegani, Testo Atlante, 2004) Levovist, come precedentemente descritto, ha una fase epatospecifica tardiva postvascolare, che si rende manifesta 2-3 minuti dopo l'iniezione endovenosa e che, probabilmente, coincide con il suo accumulo all'interno delle cellule del sistema reticolo-endoteliale. La presenza del mezzo di contrasto viene messa in evidenza ecograficamente utilizzando la pulse inversion imaging. Diversi studi hanno dimostrato che, durante la fase tardiva specifica di Levovist®, le metastasi non presentano alcun enhancement a differenza del parenchima sano circostante che mostra un chiaro ed omogeneo accumulo di mezzo di contrasto. (Von Herbay, 2002; Albrecht, 2003; Martegani, Testo Atlante, 2004) Anche altre lesioni focali epatiche, come gli ascessi, le cisti, i noduli necrotici e gli angiomi sclerotici possono non mostrare enhancement in fase tardiva. In questi casi la diagnosi differenziale si ottiene con una biopsia eco-guidata. Circa il 50 per cento delle metastasi presenta un anello di enhancement perilesionale, che tuttavia, può essere presente anche in altri tumori maligni, quali il carcinoma epatocellulare ed il colangiocarcinoma; questo tipo di comportamento comunque non è mai presente in lesioni benigne. (Martegani, Testo Atlante, 2004)

I mezzi di contrasto di seconda generazione, come ad esempio Sonovue®, consentono di studiare la vascolarizzazione del parenchima epatico e delle lesioni in tempo reale per almeno 3-4 minuti dopo la somministrazione, senza ricorrere a

tecniche distruttive. E' così possibile valutare l'enhancement delle lesioni in modo completo, dalla fase arteriosa precoce a quella tardiva. Durante la fase arteriosa le metastasi epatiche appaiono vascolarizzate, con enhancement variabile a seconda delle dimensioni, dell'istotipo tumorale e della presenza o meno di necrosi. L'enhancement precoce è fugace, ha una distribuzione di tipo puntiforme o disomogeneo ed è prevalentemente periferico. In genere le lesioni diventano ipoecogene rispetto al parenchima epatico circostante dopo 20-30 secondi dalla somministrazione del mezzo di contrasto. Il rapido wash-out è dovuto al fatto che le metastasi hanno una vascolarizzazione esclusivamente arteriosa, mentre il parenchima epatico ha una doppia vascolarizzazione, arteriosa e portale. Alcune metastasi ipervascolarizzate possono mostrare un enhancement arterioso che perdura fino alla fase portale. L'enhancement perilesionale ad anello è rilevabile in fase arteriosa in circa il 50 per cento delle metastasi epatiche e ciò corrisponde a quanto si reperta in TC ed in RM. Durante la fase portale e quella tardiva le metastasi epatiche sono costantemente ipoecogene rispetto al parenchima circostante; l'individuazione delle lesioni è facilitata in particolare durante la fase portale in quanto è massima la differenza di enhancement rispetto al parenchima epatico. (Martegani, Testo Atlante, 2004)

Normalmente le microbolle somministrate per via endovenosa periferica raggiungono le vene sovraepatiche in circa 40 secondi. Studi preliminari hanno dimostrato una riduzione statisticamente significativa del tempo di transito in pazienti umani con metastasi epatiche rispetto ai soggetti sani. L'utilità effettiva di tali osservazioni per l'individuazione di metastasi occulte deve però essere supportata da ulteriori studi. (Martegani, Testo Atlante, 2004)

Attualmente non sono ancora disponibili in letteratura umana studi sulla sensibilità e specificità dell'ultrasonografia con mezzo di contrasto di seconda generazione nell'individuazione delle metastasi epatiche. Falsi positivi per metastasi sono stati riportati per l'errata interpretazione di artefatti che si presentano come difetti di enhancement legati a coste, cicatrici o rotture delle microbolle in precedenti scansioni. In linea generale l'ultrasonografia con mezzo di contrasto è uno strumento diagnostico utile nei pazienti ben esplorabili, mentre in altri poco esplorabili è

preferibile ricorrere ad altre indagini come la TC o la RM. (Martegani, Testo Atlante, 2004)

E' stato dimostrato che lesioni secondarie millimetriche, le quali possono sfuggire all'esame tomografico, possono invece essere individuate con l'ecocontrastografia. (Martegani, Testo Atlante, 2004; O' Brien, 2004) Nella pratica clinica la TC e l'ultrasonografia con mezzo di contrasto possono essere complementari ma occorre definire meglio i rispettivi ruoli su casistiche più ampie nonché analizzare i costi comparativi delle due indagini. Attualmente si ritiene che l'ecocontrastografia vada riservata a pazienti con reperti ecografici dubbi o con un numero limitato di lesioni apprezzabili all'ultrasonografia convenzionale, quando una stadiazione migliore può modificare l'approccio terapeutico. (Martegani, Testo Atlante, 2004)

In letteratura sono recentemente comparsi studi contrastografici anche in medicina veterinaria. O' Brien et al. hanno valutato il pattern ecografico con somministrazione di mezzo di contrasto (Definity® e Sonovue®) in 32 cani con lesioni focali epatiche, confrontando la sensibilità diagnostica delle nuove tecniche ecocontrastografiche con l'ultrasonografia convenzionale. La diagnosi definitiva è stata ottenuta con esame citologico dopo biopsia ecoguidata con ago sottile o con esame istologico dopo biopsia ecoguidata o biopsia escissionale. In 17 cani le lesioni sono risultate benigne, maligne nei 15 casi rimanenti. Le neoplasie primarie sono state solo 2 su 15: un carcinoma epatocellulare e un adenocarcinoma sclerosante. Delle 13 lesioni secondarie, 5 sono risultate essere metastasi di tumori neuroendocrini, 3 emangiosarcomi, 1 linfoma, 1 carcinoma metastatico, 1 sarcoma metastatico a cellule fusate, 1 fibrosarcoma ed 1 sarcoma istiocitico. Il pattern ecocontrastografico nei cani con neoplasia epatica maligna è risultato uniformemente differente da quello dei cani con tumori di natura benigna: tutti i 15 noduli sono apparsi ipoecogeni nel momento in cui il parenchima epatico circostante ha raggiunto il picco di enhancement. La maggior parte delle lesioni maligne, comprendenti, tra le altre neoplasie, carcinomi e sarcomi metastatici, ha mostrato in fase arteriosa un wash-in precoce ed in fase portale/tardiva un rapido wash-out.

I noduli del cane con epatocarcinoma hanno mostrato un enhancement eterogeneo, cioè un'ecogenicità mista nei confronti del parenchima sano adiacente; durante la fase arteriosa si sono potuti osservare vasi tortuosi che vascolarizzano la massa.

I noduli dei tre casi di emangiosarcoma non hanno mostrato segni di perfusione in nessuna delle tre fasi vascolari e sono rimasti ipoecogeni nei confronti del tessuto circostante per tutta la durata dell'osservazione; alla periferia di questi noduli sono stati osservati vasi piccoli ma ben distinti. Un pattern simile a questo dell'emangiosarcoma è stato osservato in altri tre casi: nel sarcoma metastatico a cellule fusate, nel carcinoma metastatico e nel tumore neuroendocrino metastatico. (O'Brien, 2004)

### ***1.8.4 Emangiosarcoma***

L'emangiosarcoma è un tumore altamente maligno delle cellule endoteliali dei vasi sanguigni e, come tale, può essere teoricamente riscontrato in qualsiasi organo. (Morrison, 1998)

Il cane è, in assoluto, la specie più colpita da emangiosarcoma, neoplasia che rappresenta circa il 2 per cento di tutti i tumori canini ed il 7 per cento di quelli maligni. Nell'uomo la prevalenza è molto più bassa rispetto al cane e l'insorgenza nell'adulto sembra essere collegata all'esposizione a determinate sostanze, come diossido di torio, arsenico o cloruro di vinile. (Morrison, 1998)

Nel cane, la localizzazione più frequente di emangiosarcoma primario è a livello splenico. Altri siti primari possono essere: atrio destro, cute e sottocute, fegato, osso, sistema nervoso centrale, rene, vescica, tessuto muscolare e cavità orale. L'emangiosarcoma si può diffondere dalla sede primaria a qualunque parte dell'organismo, tuttavia, le metastasi più comuni coinvolgono fegato e polmoni. Per quanto riguarda l'emangiosarcoma epatico, esso può essere primario nel 10% dei casi, secondario nei rimanenti. (Morrison, 1998) Le metastasi di emangiosarcoma splenico possono raggiungere il fegato in modi diversi: per via ematogena (il sangue venoso proveniente dalla milza viene drenato dalla vena porta), per via linfatica oppure anche per via transcelomatica. (Wrigley et al., 1988)

Generalmente, questa neoplasia colpisce soggetti adulti-anziani di età superiore agli 8 anni (età media 9-11 anni). La maggior parte degli studiosi ha dimostrato la mancanza di predisposizione di sesso o di razza nell'emangiosarcoma del cane. Tuttavia, una maggior incidenza per i cani maschi e per la razza Pastore Tedesco è stata descritta in alcuni lavori.

Nel gatto l'emangiosarcoma è sicuramente meno frequente rispetto al cane. Secondo studi necroscopici, le sedi colpite possono essere: cute e sottocute, milza, fegato, cuore e vasi sanguigni, bocca, naso, polmoni, mesentero e mediastino. A livello epatico l'emangiosarcoma rappresenta il terzo tumore più frequente dopo il carcinoma epatocellulare ed il colangiocarcinoma. Alcuni studi riportano che sia responsabile dell'1,5% di tutti i tumori felini di origine non ematopoietica. (Morrison, 1998)

Le metastasi di emangiosarcoma possono essere presenti nel 67% dei casi. L'età media dei gatti affetti da emangiosarcoma è 9,6 anni (range da 4 a 15 anni).

La sintomatologia, sia nel cane che nel gatto, varia a seconda della localizzazione dell'emangiosarcoma primario, a seconda della presenza o meno di metastasi ed in base al fatto che si verifichino rotture del tumore e/o anomalie della coagulazione. La maggior parte dei pazienti con emangiosarcoma vengono portati alla visita clinica in seguito a collassi improvvisi, provocati da rotture del tumore primario o delle sue metastasi. I cani con emangiosarcoma epatico o splenico generalmente presentano distensione addominale, secondaria all'organomegalia neoplastica oppure all'emoperitoneo. Debolezza progressiva o episodica, perdita di peso, anoressia, depressione, pallore delle mucose, vomito e dispnea sono altri segni clinici che si possono riscontrare. (Morrison, 1998)

L'emangiosarcoma epatico, primario o metastatico, determina frequenti alterazioni ematologiche: anemia rigenerativa (in presenza di emorragie o emolisi) o non rigenerativa (nelle forme a lungo termine), leucocitosi neutrofilica (correlata alla liberazione di citochine da parte del tumore o alla presenza di emorragia necrosi al suo interno), trombocitopenia (risultato dell'emolisi o di fenomeni di coagulazione intravasale disseminata). Frequente è anche il ritrovamento in circolo di eritrociti nucleati e neutrofili a banda. (Hammer, Sikkema, 1995)

La diagnosi di emangiosarcoma si ottiene considerando segni clinici e reperti di laboratorio, eseguendo radiogrammi di torace e addome, ecocardiografie ed esami ultrasonografici. In particolare, l'ecografia di un organo colpito da emangiosarcoma può essere utile per riscontrare anomalie di ecostruttura o la presenza di lesioni cavitare tipiche di questa neoplasia. Il pattern ecografico di un emangiosarcoma splenico può essere o completamente anecogeno, oppure anecogeno con aree iperecogene disseminate all'interno. Molte lesioni anecogene o ipoecogene presentano dei margini ben definiti senza essere incapsulate. (Morrison, 1998)

Nel fegato l'immagine ecografica dell'emangiosarcoma non è specifica e può essere evidenziata in corso di altre neoplasie primarie o metastatiche. In letteratura veterinaria sono descritte lesioni di dimensioni variabili da 1 a 9 cm, con diversi possibili aspetti che variano da lesioni multifocali ipoecogene, a quelle anecogene, a quelle miste. Ciò è giustificato da un quadro anatomopatologico caratterizzato dalla presenza di lacune vascolari, aree di necrosi e di emorragia (Wrigley et al., 1988) e dall'aspetto macroscopico. Infatti, l'emangiosarcoma epatico primario, nel cane, appare spesso come un'ampia massa, contenente formazioni cistiche ripiene di sangue e lesioni secondarie intraepatiche più piccole, mentre le forme metastatiche del fegato, generalmente, si presentano come cisti multiple e ripiene di sangue. (Hammer, Sikkema, 1995) Il riscontro di aree iperecogene nell'ambito della lesione è probabilmente il risultato di processi di fibrosi, mineralizzazioni od ematomi. Il parenchima epatico circostante le lesioni è per lo più ipoecogeno e disomogeneo. Anche se l'ecografia epatica non è patognomonica per emangiosarcoma, il concomitante riscontro di lesioni spleniche che presentino gli aspetti precedentemente descritti, può fortemente orientare la diagnosi verso questa neoplasia. (Wrigley et al., 1988)

La conferma definitiva può essere ottenuta con esame istologico ma anche la citologia può essere sufficiente a fini diagnostici. Tuttavia, secondo alcuni, la tecnica di prelievo con ago sottile può costituire un rischio di disseminazione della neoplasia lungo il tragitto dell'ago o causare un'emorragia dal tessuto tumorale, che risulta maggiormente friabile. La citologia di un eventuale versamento è di solito inconclusiva e solo nel 25% dei casi è diagnostica. (Morrison, 1998)

O' Brien, in uno studio pubblicato nel 2004, analizza il comportamento dopo somministrazione di mezzo di contrasto di alcune neoplasie benigne e maligne del cane. I noduli diagnosticati come emangiosarcoma non hanno mostrato alcuna perfusione e sono rimasti ipoecogeni rispetto al parenchima durante tutte le fasi vascolari. Alla periferia di questi noduli il mezzo di contrasto ha evidenziato la presenza di piccoli ma ben distinti vasi sanguigni. Questo pattern ecocontrastografico è stato riscontrato, nel corso dello stesso studio, anche in altre neoplasie: nel carcinoma metastatico, nel sarcoma a cellule fusate e nella neoplasia neuroendocrina metastatica. Nessuna lesione focale benigna, invece, ha mostrato un enhancement di questo tipo. (O' Brien, 2004)

In un altro studio sono stati valutati i pattern ecocontrastografici delle lesioni focali spleniche. L'emangiosarcoma splenico ha presentato un pattern di perfusione specifico: lesioni omogenee, ben delineate, anecogene (non perfuse) e circondate da parenchima splenico molto vascolarizzato, con la presenza di sottili setti di tessuto iperecogeno che entrano nelle aree anecogene. (Rossi, 2006)

### ***1.8.5 Linfoma***

Il linfoma o linfo sarcoma è una neoplasia maligna che colpisce i linfociti, e che si può riscontrare come forma primaria in linfonodi, midollo osseo, fegato e milza. (Morrison, 1998)

Nel cane rappresenta uno dei tumori maligni più comuni ed il più frequente tra quelli di origine ematopoietica. Il tasso di incidenza annua riportato, varia da 6 a 30 casi su 100,000 cani. Una maggiore prevalenza è stata registrata per alcune razze: Boxer, Scottish Terrier, Basset Hound, Airdale Terrier, Chow Chow, Pastore Tedesco, Barboncino, San Bernardo, Bulldog Inglese, Beagle e Golden Retriever. Mentre per altre, come il Bassotto Tedesco ed il Cocker Spaniel il rischio è minore. (Morrison, 1998)

L'eziologia di questa neoplasia non è nota, anche se questioni genetiche, ambientali o infettive potrebbero essere cause possibili. Fattori ambientali simili a quelli descritti per i tumori dell'uomo (esposizione a campi magnetici a bassa frequenza, sostanze

tossiche usate come erbicidi, ecc) sono stati recentemente relazionati allo sviluppo del linfoma canino, ma occorrono ulteriori studi a riguardo. (Morrison, 1998)

Oltre ad una classificazione di tipo istologico, i linfomi possono essere suddivisi in base alla localizzazione anatomica: multicentrico (84% dei linfomi), alimentare ( $\leq 7\%$ ), mediastinico ( $\leq 7\%$ ) o extranodale ( $\leq 2\%$ ).

Il linfoma multicentrico è caratterizzato dal coinvolgimento di linfonodi in più parti del corpo. Inoltre, possono essere presenti epato e splenomegalia, infiltrazione del midollo osseo o altri segni extranodali. I cani con questo tipo di linfoma sono generalmente soggetti di mezza età, che presentano aumento di volume dei linfonodi esplorabili ed eventuale distensione addominale secondaria all'epato-splenomegalia. Altri segni aspecifici possono essere anoressia, letargia, ipertermia, vomito e dimagrimento. L'ipercalcemia può costituire una sindrome paraneoplastica nel 10-15% dei cani con linfoma multicentrico. (Morrison, 1998)

Nella forma alimentare si può riscontrare una massa solitaria oppure un coinvolgimento diffuso del tratto gastroenterico, con o senza interessamento dei linfonodi, del fegato e della milza. I segni clinici sono riferibili a disturbi dell'apparato digerente: dimagrimento, vomito, anoressia e melena. (Morrison, 1998)

La forma mediastinica colpisce il timo ed i linfonodi mediastinici, causando dispnea, tosse, rigurgito, disfagia e intolleranza all'esercizio. Circa il 40% dei cani con linfoma mediastinico presenta ipercalcemia, che comporta poliuria, polidipsia, anoressia vomito, diarrea, costipazione, depressione, debolezza e aritmie cardiache. (Morrison, 1998)

Il linfo sarcoma extranodale include tutte le altre forme: renale, cutanea, neurale, oculare, mucocutanea, cardiaca ecc. I sintomi possono essere aspecifici oppure specifici e correlati a quel determinato organo o apparato coinvolto. (Morrison, 1998)

Gli esami di laboratorio, in corso di linfoma canino, evidenziano frequenti anomalie, tra cui anemia nel 38% dei casi, trombocitopenia nel 58%, variazioni della formula leucocitaria (leucopenia 19% o leucocitosi 32%, linfopenia 25% e linfocitosi 20%), gammopatia e ipoglicemia. (Morrison, 1998)

I tumori di origine ematopoietica, rappresentando il 30 per cento di tutte le neoplasie feline, sono i più frequenti tumori del gatto domestico; il 90% di questi sono linfomi.

In letteratura non è mai stata segnalata alcuna predisposizione di sesso o di razza in questa specie. L'età media dei gatti colpiti da linfoma è compresa tra i 2 e i 6 anni.

In molti casi il linfoma è conseguente ad infezione da virus della leucemia felina (FeLV) o da quello dell'immunodeficienza felina (FIV) o da entrambi. Quando paragonato con gatti non infettati, il rischio relativo di sviluppare linfoma o leucemia è circa 6 volte maggiore in gatti persistentemente infetti con FIV, 62 volte maggiore in quelli persistentemente infetti con FeLV e 77 volte maggiore nei soggetti infetti contemporaneamente con FIV e FeLV. (Morrison, 1998)

Il linfoma multicentrico si riscontra più di sovente in gatti di giovane età e FeLV positivi; interessa più linfonodi periferici con o senza coinvolgimento epatico e/o splenico e con frequente diffusione extranodale. L'epato-splenomegalia e l'infiltrazione del midollo osseo tendono ad essere secondari e si riscontrano per lo più nelle fasi tardive della patologia. In gatti con linfoma multicentrico si osservano frequentemente anemia, pallore delle mucose e altri segni aspecifici come letargia, febbre, dimagrimento ed anoressia. A differenza del cane, l'ipercalcemia paraneoplastica è rara. (Morrison, 1998)

I gatti con linfoma alimentare sono tendenzialmente più vecchi (>7 anni) e, nel 70 per cento dei casi, sono FeLV negativi. Il linfoma alimentare può presentarsi sottoforma di masse singole o multifocali oppure come infiltrazione gastroenterica diffusa, con o senza coinvolgimento linfonodale, splenico od epatico. Le sedi colpite, in ordine decrescente di frequenza, sono: piccolo intestino, stomaco, giunzione ileociecocolica e colon. I sintomi, di tipo gastroenterico (vomito, diarrea, melena, perdita di peso), sono legati a malassorbimento ed enteropatie proteino-disperdenti e hanno andamento cronico. Tuttavia, in caso di ostruzione o rottura del tratto gastroenterico interessato dalla neoplasia, la sintomatologia è acuta. (Morrison, 1998)

I gatti con linfoma mediastinico hanno un'età media di 2-3 anni, e sono FeLV positivi. Vengono coinvolti i linfonodi mediastinici craniali e caudali ed il timo. I segni clinici sono simili a quelli elencati per il linfoma mediastinico del cane, ad eccezione dell'ipercalcemia, che è rara.

La forma extranodale può colpire cute e sottocute, sistema nervoso centrale o periferico, cavità nasali e seni paranasali ed il rene. I sintomi possono essere aspecifici o associati all'organo specificatamente colpito. (Morrison, 1998)

Per la diagnosi definitiva e la stadiazione del linfosarcoma sia nel cane che nel gatto dovrebbero essere intraprese diverse procedure di routine. Lo schema del WHO suggerisce di eseguire esami di laboratorio che comprendano esame emocromocitometrico, conta piastrinica, profilo biochimico, analisi delle urine, aspirato o "core biopsy" del midollo osseo, agoaspirato e biopsia linfonodale; dopo questi esami si dovrebbe ricorrere a tecniche di diagnostica per immagini, tra cui radiografia e ultrasonografia di torace e addome. Possono essere necessari altri esami come, ad esempio, esame del liquido cefalorachidiano, esame oftalmologico o test FIV e FeLV nel gatto. (Morrison, 1998)

In particolare, l'ultrasonografia dell'addome può essere utile per analizzare le dimensioni, l'ecostruttura o la presenza di lesioni focali negli organi indagati e per valutare la grandezza e l'omogeneità dei linfonodi. Inoltre è un'ottima guida per effettuare prelievi bioptici. (Morrison, 1998)

Il linfoma epatico nel cane si presenta, generalmente, come un'alterazione diffusa dell'ecogenicità, che può essere aumentata o diminuita; ma, occasionalmente, può apparire come un'area focale o multifocale scarsamente circoscritta ed ipoecogena, oppure anche sottoforma di noduli iperecogeni ben delimitati e circondati da aree ipoecogene (aspetto a bersaglio). (O' Brien, 2004; Ettinger, Feldman, 2000) Secondo quanto riportato da alcuni autori, oltre il 90 per cento dei linfomi epatici si presenta in forma diffusa o come lesioni multifocali, mentre meno del 5 per cento appare come forma solitaria. (Hammer, Sikkema, 1995)

I pazienti con linfoma a carico del fegato presentano epatomegalia e aumento degli enzimi epatici. Escludere l'interessamento epatico da parte della neoplasia è un passo importante nella scelta dei chemioterapici adeguati, in quanto, alcuni di questi (ciclofosfamide), avendo un metabolismo epatico, necessitano strettamente della sua funzionalità. (Morrison, 1998)

Per quanto concerne l'esame con mezzo di contrasto di questa neoplasia, esso non è mai stato descritto in letteratura umana, mentre esiste un caso di linfoma epatico nel

cane nello studio contrastografico riportato da O'Brien. In tale studio il comportamento identificato è sovrapponibile a quello di tutte le altre neoplasie maligne: wash-in e wash-out precoci, con lesioni ipoecogene al momento del picco di enhancement del parenchima. (O'Brien, 2004)

### **1.8.6 Mastocitoma**

I mastociti sono una popolazione eterogenea di cellule che originano nel midollo osseo e che maturano nei tessuti connettivi. (Morrison, 1998) Si concentrano nella cute, nell'apparato respiratorio, nella mucosa e sottomucosa gastrointestinale, nel midollo osseo e negli organi linfoidi. Nel cane e nel gatto in particolare, i mastociti si ritrovano in alta concentrazione a livello di derma, di mucosa intestinale e nel fegato. (Sato, Solano, 2004)

Mentre nell'uomo le patologie che riguardano i mastociti sono molto rare e comprendono disordini di entità variabile dall'orticaria pigmentosa alla leucemia mastocitica, nei nostri carnivori domestici sono assai frequenti i tumori che derivano da queste cellule. (Sato, Solano, 2004)

Infatti, nel cane, il mastocitoma è la seconda neoplasia più comune e la sua forma primaria si localizza prevalentemente a livello di cute e sottocute e può essere singola o multipla. Secondo quanto riportato in letteratura, questo tumore comprende una percentuale che va dal 7 al 21% di tutte le neoplasie della cute del cane e l'11-27% di tutti i tumori maligni della cute stessa. I mastocitomi primari non-cutanei sono molto rari, ma in letteratura sono descritti a livello di nasofaringe, cavità orale, linfonodi epatopancreatici e linfonodi mesenterici. Alcuni di questi tumori possono avere un comportamento benigno, ma tutti i mastocitomi si dovrebbero considerare come potenzialmente metastatici. Nel 16-79% dei pazienti sono presenti lesioni secondarie oppure interessamento sistemico. La diffusione metastatica coinvolge i linfonodi locoregionali, la milza, il fegato, i polmoni, il midollo osseo ed il rene. (Sato, Solano, 2004; Morrison, 1998)

La mastocitosi sistemica in assenza di lesioni cutanee non è frequentemente riportata. (Morrison, 1998)

L'eziologia non è stata ancora compresa, tuttavia potrebbero essere implicati diversi fattori, come l'ereditarietà, le infezioni virali e le flogosi croniche. (Sato, Solano, 2004)

L'età media dei cani colpiti da mastocitoma è compresa tra gli 8 ed i 9 anni, ma questo tumore è stato riscontrato anche in cani di appena 14 settimane o di oltre 18 anni. Dal punto di vista epidemiologico non c'è predilezione di sesso, mentre le razze maggiormente predisposte sono: Boxer, Rhodesian Ridgeback, Boston Terrier, American Pitt Bull Terrier, Weimaraner, Bullmastiff, Labrador Retriever, English Setter, Beagle, Golden Retriever, Bulldog, Basset Hound, Pointer, e Scottish Terrier. (Morrison, 1998; Sato, Solano, 2004)

I segni clinici riflettono l'estensione del coinvolgimento sistemico e la presenza o assenza di sindromi paraneoplastiche. Disordini come ulcera gastrica, flogosi peritumorale, anomalie cardiorespiratorie ed emorragie locali prolungate possono essere causati dalla liberazione, da parte dei mastociti, di granuli contenenti sostanze biologicamente attive, come l'istamina, l'eparina, il fattore attivante le piastrine, il TNF e tante altre. La gravità della sintomatologia può variare dal semplice prurito fino ad anoressia, vomito, diarrea, melena, algia addominale, con eventuale anemia microcitica ed ipocromica. A volte si può riscontrare una massa addominale oppure la presenza di ascite. Comunque, nelle forme strettamente cutanee è raro riscontrare una sintomatologia sistemica. La prognosi varia in funzione della localizzazione dei tumori cutanei, del grado istopatologico e dello stadio della malattia. (Sato, Solano, 2004; Morrison, 1998)

Nel gatto il mastocitoma ha tre presentazioni cliniche ugualmente predominanti: può coinvolgere la cute, i visceri ed il sistema linfo-reticolare oppure l'apparato gastroenterico. La forma viscerale infiltrativa interessa fegato, milza e/o linfonodi addominali, la forma cutanea colpisce cute e sottocute ed è generalmente solitaria. (Morrison, 1998) In questa specie il mastocitoma rappresenta il tumore ematopoietico più comune della milza, il terzo più frequente a livello gastroenterico dopo il linfoma e l'adenocarcinoma ed il secondo a livello cutaneo. Il potenziale metastatico varia dal

35% delle forme cutanee al 65% delle forme gastroenteriche. Le sedi più frequentemente colpite da metastasi sono: la milza, i linfonodi regionali, il fegato, i polmoni ed il mediastino craniale. (Sato, Solano, 2004)

Anche nel gatto l'eziologia non è nota. (Sato, Solano, 2004) Le forme cutanee sembrano essere non correlate al virus della leucemia felina, ma tra mastocitoma cutaneo multiplo e virus dell'immunodeficienza felina potrebbe esserci una correlazione positiva. (Morrison, 1998)

L'età media dei gatti colpiti è compresa tra i 9 ed i 13 anni. Per alcuni autori non c'è predilezione di sesso, mentre altri descrivono una maggior incidenza di mastocitoma nei gatti di sesso maschile. Non c'è predisposizione di razza, anche se, il Siamese sembra essere maggiormente a rischio per l'insorgenza di tumori cutanei. (Sato, Solano, 2004)

La sintomatologia, similmente a quanto riportato per il cane, dipende dalla localizzazione della forma primaria e dalla presenza di metastasi. Nella mastocitosi gastroenterica ed in quella linfo-reticolare si possono osservare anoressia, vomito, diarrea, perdita di peso, abbattimento e distensione addominale. Nelle forme viscerali è frequente la splenomegalia e, tipicamente, possono essere coinvolti fegato, linfonodi mesenterici e/o midollo osseo. La prognosi in questa specie dipende più dalla forma della malattia piuttosto che dal grado del tumore. (Sato, Solano, 2004; Morrison, 1998)

La diagnosi di mastocitoma cutaneo, sia nel gatto che nel cane, si ottiene generalmente con un semplice esame citologico di un aspirato con ago sottile dalla lesione, procedura che andrebbe seguita prima dell'escissione di qualsiasi neoformazione cutanea. L'istologia, poi, è necessaria per confermare la diagnosi, per definire il grado del tumore e per determinare se i margini della ferita chirurgica risultano liberi da neoplasia, onde evitare recidive. Anche nelle forme gastroenteriche, viscerali e linfo-reticolari del gatto, i campioni citologici ottenuti tramite aspirato ecoguidato con ago sottile dai linfonodi o dai tessuti infiltrati, sono ugualmente diagnostici. (Morrison, 1998)

La stadiazione del mastocitoma nel cane è un passo molto importante per l'approccio alla malattia. Le linee guida per la ricerca di metastasi sono dettate dalla WHO

(World Health Organization) e consentono mediante l'ausilio di protocolli diagnostici (aspirati dei linfonodi regionali, radiografia ed ecografia dell'addome, buffy coat, ago aspirato del midollo) di collocare il paziente in un determinato stadio clinico.

Per quel che concerne l'esame ultrasonografico, esso si è dimostrato poco specifico per il mastocitoma, probabilmente a causa dell'estrema variabilità biologica della neoplasia; in alcuni studi, infatti, è stato possibile osservare fegato e milza di normali dimensioni, omogenei e normoecogeni pur in presenza di infiltrazione mastocitica nel parenchima. L'unico rilievo ecografico attendibile emerso da alcuni lavori sembra essere il riscontro di linfadenopatia retroperitoneale lombo-aortica o ipogastrica, con linfonodi di diametro maggiore a 2 centimetri e di aspetto disomogeneo. (Faverzani et al., 2004) Uno studio condotto da Sato e Solano su 12 cani e 7 gatti affetti da mastocitoma ha analizzato in modo retrospettivo gli aspetti emersi dalla loro ecografia addominale. Nei casi in cui è stata dimostrata l'infiltrazione epatica da parte della neoplasia, il fegato è apparso normale in tutti i gatti e in 2 cani, aumentato di dimensioni ed iperecogeno con o senza noduli ipoecogeni negli altri cani. L'epatomegalia in corso di mastocitoma può essere spiegata con l'infiltrazione del parenchima da parte dei mastociti oppure con la fibrosi causata dal rilascio di mediatori della flogosi da parte degli stessi mastociti. Il mancato riscontro di anomalie verificatosi in due cani potrebbe essere dovuto, secondo gli autori, alla bassa sensibilità dell'ultrasonografia nell'identificare l'epatomegalia o piccoli cambiamenti di ecogenicità. Sebbene nel loro studio nessun gatto ha mostrato ecograficamente interessamento epatico, la letteratura riporta il caso di un gatto con mastocitoma gastroenterico e con evidenti masse iperecogene a livello epatico corrispondenti a secondarismi. (Sato, Solano, 2004)

La diagnosi differenziale di fronte ad un fegato aumentato di volume ed iperecogeno è da farsi con il linfoma e le altre neoplasie infiltrative, la fibrosi epatica, le epatiti croniche e l'infiltrazione lipidica in corso di epatopatie steroidee o diabete mellito. Le lesioni focali ipoecogene, invece, si possono riscontrare anche nell'iperplasia nodulare focale, in neoplasie primarie o metastatiche e in presenza di necrosi, ascessi od ematomi (Sato, Solano, 2004).



*Parte Seconda*

**RICERCA SPERIMENTALE PERSONALE**

# ***MATERIALI E METODI***

## ***Descrizione del campione***

### ***Studio 1***

La prima fase dello studio è stata condotta su 8 gatti sani nel mese di luglio del 2008 presso il dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, sezione di Clinica Medica

Veterinaria dell'Università degli Studi di Milano. Il segnalamento del campione è riportato nella tabella a lato. In previsione dell'indagine ecografica, gli animali sono stati sottoposti ad un digiuno di circa 12 ore ed è stato eseguito un prelievo ematico per la valutazione di: glucosio, urea, creatinina, colesterolo totale, trigliceridi, bilirubina totale, ammoniemia, proteine totali,

<b><i>Soggetto</i></b>	<b><i>Razza</i></b>	<b><i>Sesso</i></b>	<b><i>Peso</i></b>
Gatto 1	Comune europeo	M	3,2 kg
N° 2	Comune europeo	F	1,8 kg
N° 3	Comune europeo	F	3,3 kg
N° 4	Comune europeo	F	2,8 kg
N° 5	Comune europeo	F	3 kg
N° 6	Comune europeo	M	3,1 kg
N° 7	Comune europeo	M	1,5 kg
N° 8	Comune europeo	M	1,8 kg

albumine, alanina aminotransferasi (ALT), aspartato aminotransferasi (AST), gamma glutamil transpeptidasi (GGT), fosfatasi alcalina (ALP). I soggetti sono inoltre stati testati per il virus della leucemia felina (Fiv) e quello dell'immunodeficienza felina (Felv) risultando tutti negativi.

Per consentire un corretto svolgimento dell'esame ed una valutazione ecocontrastografica standardizzabile i soggetti sono stati sedati mediante somministrazione di atropina (0,1 ml capo), tiletamina+zolazepam (Zoletil 0,35 ml capo) e tramadolo (2 mg/kg). Per l'intera durata dell'esame sono state monitorate frequenza cardiaca e frequenza respiratoria.

Tutti i soggetti sono stati sottoposti ad ampia tricotomia della regione craniale dell'addome al fine di ottenere scansioni ottimali per una corretta valutazione

perfusione dell'organo. Per l'esame contrastografico del fegato i soggetti sono stati posti in decubito dorsale al fine di fornire una migliore visualizzazione dell'organo.

## ***Studio 2***

Con uno studio di tipo retrospettivo sono state analizzate tutte cartelle ecografiche relative ai soggetti sottoposti ad esame ecografici presso il dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, sezione di Clinica Medica Veterinaria dell'Università degli Studi di Milano nel periodo compreso tra gennaio 2005 e giugno 2008. Di questi sono state selezionate le cartelle con i che rispettavano i seguenti criteri di inclusione:

- Il riscontro mediante esame ecografico standard di lesioni focali singole multiple o di neoformazioni ascrivibili al parenchima epatico.
- La caratterizzazione perfusionale di tali lesioni mediante studio ultracontrastografico
- Una diagnosi citologica o istologica definitiva di patologia epatica benigna o maligna (primaria o secondaria).

Il campione così ottenuto è stato di 27 soggetti appartenenti alla specie canina.

Il segnalamento e le diagnosi del campione sono riportate in Tabella 1 per quanto riguarda le lesioni benigne con le seguenti patologie: 3 casi di epatoma, due casi di iperplasia nodulare, due casi di steatosi focale o multifocale, tre casi di cirrosi in tre soggetti.

Nella Tabella 2 sono invece riportati segnalamento e diagnosi delle patologie maligne. Le patologie diagnosticate sono state le seguenti: l'epatocarcinoma in 5 soggetti, il carcinoma primario o metastatico in 2 cani, il linfoma in due soggetti, il mastocitoma in un soggetto, metastasi da carcinoma (pancreatico, gastrico e mammario) in tre soggetti, l'emangiosarcoma in due soggetti, metastasi da osteosarcoma in un soggetto.

<b>N°</b>	<b>Razza</b>	<b>Sesso</b>	<b>Eta'</b>	<b>Diagnosi</b>
1	Scottish Terrier	M	10	<b>Epatoma</b>
2	Yorkshire Terrier	M	12	<b>Epatoma</b>
3	Meticcio	MC	12	<b>Epatoma</b>
4	Meticcio	FS	14	<b>Iperplasia nodulare</b>
5	Fox Terrier	FS	11	<b>Iperplasia nodulare</b>
6	Meticcio	F	11	<b>Steatosi focale</b>
7	Yorkshire Terrier	M	12	<b>Steatosi multifocale</b>
8	Meticcio	FS	13	<b>Epatite cronica attiva</b>
9	Meticcio	M	11	<b>Epatite cronica attiva</b>
10	Labrador	FS	12	<b>Cirrosi</b>
11	Meticcio	FS	10	<b>Cirrosi</b>
12	Setter Inglese	F	10	<b>Cirrosi</b>

**Tabella 1 :Patologie epatiche benigne**

<b>N°</b>	<b>Razza</b>	<b>Sesso</b>	<b>Età</b>	<b>Diagnosi</b>
13	<i>Schnauzer</i>	<i>F</i>	<i>6</i>	<i>Epatocarcinoma</i>
14	<i>Dogue de Bordeaux</i>	<i>M</i>	<i>10</i>	<i>Epatocarcinoma</i>
15	<i>Meticcio</i>	<i>FS</i>	<i>8</i>	<i>Epatocarcinoma</i>
16	<i>WHWT</i>	<i>F</i>	<i>12</i>	<i>Epatocarcinoma</i>
17	<i>Boxer</i>	<i>FS</i>	<i>15</i>	<i>Carcinoma indifferenziato</i>
18	<i>Boxer</i>	<i>M</i>	<i>8</i>	<i>Carcinoma indifferenziato</i>
19	<i>Pastore Tedesco</i>	<i>M</i>	<i>8</i>	<i>Linfoma</i>
20	<i>Meticcio</i>	<i>M</i>	<i>11</i>	<i>Linfoma</i>
21	<i>Setter Inglese</i>	<i>F</i>	<i>10</i>	<i>Mastocitoma</i>
22	<i>Meticcio</i>	<i>FS</i>	<i>7</i>	<i>Metastasi da Carcinoma Pancreatico</i>
23	<i>Pastore Tedesco</i>	<i>M</i>	<i>8</i>	<i>Metastasi da Carcinoma Gastrico</i>
24	<i>Meticcio</i>	<i>FS</i>	<i>18</i>	<i>Metastasi da Carcinoma Mammario</i>
25	<i>Golden</i>	<i>M</i>	<i>7</i>	<i>HSA</i>
26	<i>Pastore Tedesco</i>	<i>F</i>	<i>9</i>	<i>HSA</i>
27	<i>Pastore Maremmano</i>	<i>FS</i>	<i>13</i>	<i>Metastasi da Osterosarcoma</i>

**Tabella 2: Patologie epatiche neoplastiche**

La scansione impiegata durante l'esame è stata scelta in base alla localizzazione delle lesioni. I pazienti sono stati contenuti manualmente.

In tutti i soggetti è stato posizionato, nella vena cefalica destra o sinistra, un catetere endovenoso della dimensione di 22 gauge quale successiva via di accesso al MDCU.

### ***Ecografo***

L'ecografo utilizzato è stato ESAOTE MEGAS CVX munito di modulo CnTI (Contrast Tuned Imaging).

***Per lo Studio 1*** l'esame ha previsto

- una valutazione ecografica del fegato in b-mode mediante scansioni longitudinali e trasversali standard per assicurarsi che la ghiandola avesse caratteristiche ecografiche riferibili alla normalità (dimensioni, ecogenicità ed omogeneità del parenchima).
- l'esame ultracontrastografico è stato effettuato con il soggetti in decubito dorsale attraverso scansioni longitudinali o trasversali retro sternali che consentissero una corretta valutazione del parenchima epatico e delle strutture vascolari. In modalità CnTI la macchina è stata settata con una potenza acustica di 35 KPa. I guadagni complessivi e parziali sono stati impostati in maniera tale da ottenere una immagine in cui sia possibile identificare il fegato come struttura omogenea con una scala di grigi uniforme dalle porzioni più superficiali a quelle più profonde del parenchima.

***Per lo Studio 2*** l'esame ha previsto

- una valutazione ecografica del fegato in b-mode mediante scansioni longitudinali e trasversali al fine di visualizzare accuratamente le alterazioni riscontrate e di poterle così caratterizzare sia topograficamente sia ecograficamente mediante valutazione delle loro caratteristiche.
- l'esame ultracontrastografico è stato effettuato con il soggetti in decubito variabile a seconda della localizzazione della regione da sottoporre allo studio(scansioni trasversali, longitudinali e decubito laterali sinistro/destro/dorsale).In modalità CnTI la macchina è stata settata con una potenza acustica di 35 KpA.I guadagni complessivi e parziali sono stati impostati in maniera tale da ottenere una immagine in cui sia possibile identificare il fegato come

struttura omogenea con una scala di grigi uniforme dalle porzioni più superficiali a quelle più profonde del parenchima.

Le sonde utilizzate sono state

- per l'esame cografico standard una sonda microconvex CA123 con frequenza variabile 5-7,5 MHz ed una sonda lineare LA 523 con frequenza variabile di 7.5-10 MHz per l'esame ecografico standard
- per l'esame ultracontrastografico una sonda convex CA430 con frequenza variabile di 3,5-5 MHz.

### ***Mezzi di contrasto***

Il MDC utilizzato è stato SonoVue® (Bracco, Italia) costituito da microbolle di esafluoruro di zolfo, rivestite da membrane lipidiche. L'MDC è stato somministrato mediante posizionamento di un catetere venoso cefalico.

***Studio 1*** (studio fisiologico sul fegato in 8 soggetti appartenenti alla specie felina)

Sono così stati somministrati tre boli consecutivi al dosaggio di 0,06 ml/Kg (Olerth 2005) alla distanza di circa 10 minuti uno dall'altro. Nell'intervallo intercorso tra i singoli boli l'indice meccanico è stato nuovamente innalzato al fine di eliminare eventuali residui del mezzo di contrasto somministrato col bolo precedente.

***Studio 2*** (studio patologico sul fegato in soggetti appartenenti alla specie canina )

Il dosaggio impiegato è stato quello descritto da O'Brien nel 2004 corrispondente a 0.5 ml di Sonovue in soggetti di peso inferiore a 20 Kg ed 1 ml in soggetti di peso superiore a 20 kg.

In tutti i soggetti la somministrazione endovenosa del MDCU mediante il catetere era seguita da un'inoculazione di circa 2 ml di soluzione fisiologica per permettere al MDCU di arrivare in bolo nell'area da esaminare.

### ***Acquisizione dei filmati***

Abbiamo registrato tutti gli esami eseguiti, ottenendo un filmato basale in B-mode di circa 5 secondi prima di ogni somministrazione di MDCU, quindi un filmato di durata variabile per ogni somministrazione. Tutti i filmati sono stati registrati su un personal computer mediante una scheda di acquisizione video e programma dedicato (AverMEDIA-AverTV USB 2.0-DVD quality).

## ***Elaborazione dei filmati***

### ***Studio 1***

Tutti i filmati ad eccezione dei basali, sono stati scomposti in singoli fotogrammi (Windows Movie Maker<sup>®</sup>) ad intervalli variabili da 2 a 4 secondi nei primi 100 secondi e poi ogni dieci secondi al fine di valutare la porzione di parenchima presa in esame sempre nella stessa posizione. I singoli fotogrammi sono poi stati analizzati con il programma WCIF Image J. In ogni immagine abbiamo selezionato una regione d'interesse (ROI) di forma quadrata corrispondente a 0.5 centimetri quadri (accertandosi che in tale regione di interesse non fossero incluse strutture vascolari e/o graficamente evidenti) e per ognuna di esse è stata calcolata la media dell'intensità dei pixel.

Abbiamo riportato i valori medi di intensità di pixel su un foglio di lavoro di Apple Numbers.

Mediante questo programma sono state calcolati i valori di intensità media di pixel per ogni ROI. I valori medi dei dati ottenuti dalle tre somministrazioni sono in relazione al tempo ottenendo in questo modo le curve intensità/tempo. Per ognuna di queste sono state calcolate:

- l'intensità di picco (I.P.), che è il valore massimo di intensità raggiunto durante l'esame, ricavato dalle curve dei valori relativi;
- il tempo di picco ( $T_0$ ), definito come il tempo di raggiungimento del picco di intensità massima a partire dal momento dell'iniezione del MDCU;
- il tempo di picco ( $T_{up}$ ), definito come il tempo raggiungimento del picco di intensità massima a partire dal valore precedente l'iniziazione della upslope.

- la upslope o inclinazione della curva durante la fase di wash in: attraverso il calcolo della media dei punti della curva di valore compreso tra il 10% e il 90% del valore di picco.
- la downslope o inclinazione della curva durante la fase wash out: indice calcolato considerando i 10 valori successivi al picco di enhancement a partire da quello con valore inferiore al 90%.

## ***Studio 2***

Riesaminando i filmati basali abbiamo descritto gli aspetti ecografici delle lesioni focali che sono state classificate in base alla loro distribuzione (massa singola, unifocale e multifocale) e alla loro ecogenicità rispetto al parenchima circostante (iperecogene, isoecogene o ipoecogene). In un secondo momento abbiamo analizzato i filmati dopo somministrazione del MDCU prendendo in considerazione l'enhancement delle lesioni, confrontandoli con il parenchima epatico circostante nelle tre diverse fasi vascolari: arteriosa, portale e tardiva di equilibrio, e i pattern vascolari riscontrati.

# Risultati

## STUDIO 1

Al campione appartenevano 8 soggetti tutti comuni europei di età inferiore all'anno, 4 femmine intere e quattro maschi interi. Il soggetti avevano un peso compreso tra 1,5 e 3,3 kg ( $2,8 \pm 0,6$ ).

Tutti i soggetti inclusi nello studio hanno mostrato valori degli esami ematochimici nella norma compresi i test per FIV e FELV (vedi tabella).



● Maschi ● Femmine

	GLICEMIA (mg/dl)	COLESTEROLO (mg/dl)	TRIGLICERIDI (mg/dl)	BILIRUBINA TOTALI (mg/dl)	PROTEINE TOTALI (g/dl)	ALT (U/l)	AST (U/l)	ALP (U/l)	GGT (U/l)	AMMOMNIACA (µg/dl)
GATTO 1	117	85	11	0,1	8,3	26	10	57	1	70
GATTO 2	219	94	55	0,2	6,4	75	96	25	1	61
GATTO 3	100	129	32	0,1	6,3	25	40	28	1	44
GATTO 4	94	179	29	0,1	59	27	7	23	1	47
GATTO 5	115	58	21	0,05	65	20	10	98	1	63
GATTO 6	171	86	17	0,1	7,1	37	9	58	1	64
GATTO 7	88	98	35	0,05	7,2	30	21	150	1	70
GATTO 8	107	101	15	0,1	6	30	20	180	1	71

Esami biochimici dei soggetti appartenenti al campione dello Studio 1

Per consentire ripetizioni standardizzate dell'esame i soggetti sono stati contenuti mediante sedazione farmacologica (Zoletil 0,35 ml/capo e Atropina 0,1 ml /capo).

I dosaggi del mezzo di contrasto in funzione del peso sono riassunti nella tabella a fianco.

Per tutti gli esperimenti il valore di potenza acustica applicata è stato di 35KpA.

La finestra acustica prescelta è stata la restrosternale sagittale.

Mediante registrazione e elaborazione dei filmati dei tre boli sono state costruite le curve intensità/tempo di ciascun paziente (Appendice Studio 1) e da queste abbiamo ricavato:

Soggetto	Peso	Dose
N° 1	3,2 kg	0,2 ml
N° 2	1,8 kg	0,1 ml
N° 3	3,3 kg	0,2 ml
N° 4	2,8 kg	0,2 ml
N° 5	3 kg	0,2 ml
N° 6	3,1 kg	0,2 ml
N° 7	1,5 kg	0,1 ml
N° 8	1,8 kg	0,15 ml

- intensità di picco
- il tempo di picco  $T_0$
- il tempo di picco  $T_{up}$
- upslope
- downslope

La upslope media è risultata di  $3,88 \pm 1,5$  intensità media di pixel mentre la downslope media è risultata pari a  $-0,24 \pm 0,31$  intensità media di pixel.

Il tempo di picco ( $T_0$ ) stabilito misurando il tempo trascorso dalla somministrazione del bolo alla raggiungimento della massima intensità di pixel è risultato essere pari a  $59 \pm 24,52$  sec.

Un secondo tempo di picco denominato ( $T_{up}$ ) è stato calcolato misurando il tempo trascorso tra l'attimo che precede l'inizio della upslope e il raggiungimento della massima intensità di picco.  $T_{up}$  è risultato pari a  $50,25 \pm 23,6$  sec.

La massima intensità di pixel media è risultata essere pari a  $104,88 \pm 17,51$ .

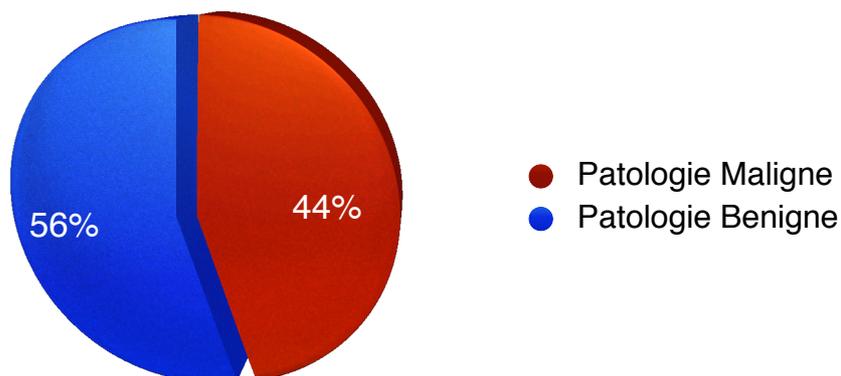
Le curve intensità tempo sono risultate essere più coerenti tra differenti boli nello stesso soggetto piuttosto che tra soggetti differenti.

## **STUDIO 2**

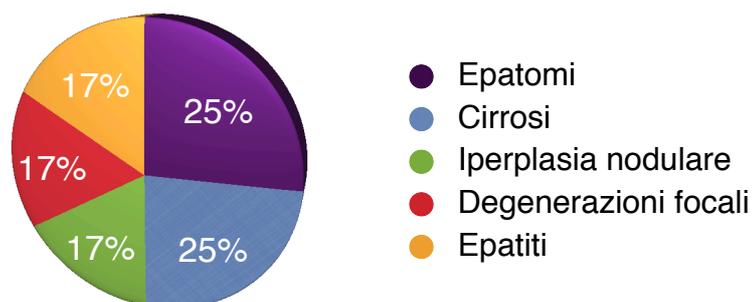
Il campione era costituito da 27 cani. Di questi 9 erano maschi interi, 1 maschio castrato, 7 femmine intere e 10 sterilizzate. L'età dei pazienti è compresa tra 6 e 18 anni ( $10 \pm 2,5$ ). le razze rappresentate sono state: 10 Meticci, 3 Pastori Tedeschi, 2 Boxer, 2 Setter Inglesi e 2 YorkShire Terrier, ed 1 soggetto per le seguenti razze: Fox Terrier, Scottish Terrier, Labrador, Schnauzer, Dogue de Bordeaux, West Highland White Terrier, Golden e Maremmano.

Le patologie benigne hanno rappresentato il 44% (12/27) contro il 56% delle maligne (15/27).

## Patologie

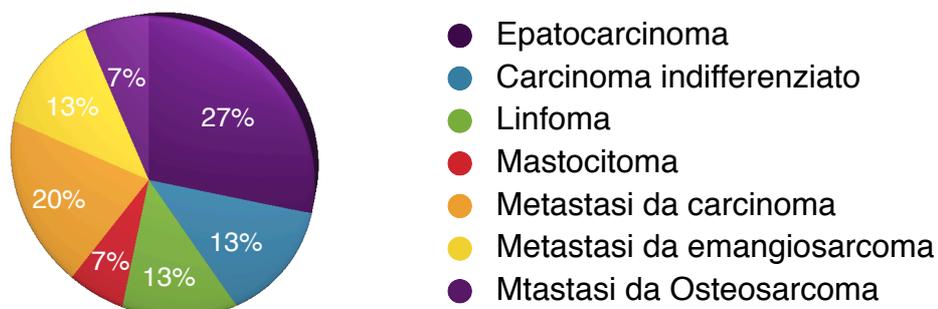


Nel nostro campione, mediante esame cito-istologico sono state diagnosticate dodici patologie di natura benigna: 3 epatomi, 3 casi di cirrosi epatica, 2 casi di iperplasia nodulare, 2 casi di degenerazione focale e 2 casi di epatite associata a fenomeni degenerativi.



Le lesioni diagnosticate come maligne sono state: quattro epatocarcinomi, 2 carcinomi indifferenziati, 2 linfomi, 1 mastocitoma, 3 metastasi da carcinoma (pancreatico, gastrico e mammario), 2 metastasi da emangiosarcoma e 1 metastasi da osteosarcoma.

## Patologie Maligne



A seguito della valutazione dell'aspetto delle lesioni focali epatiche tramite ultrasonografia convenzionale, associata o meno a tecniche Doppler, ed esame ultracontrastografico abbiamo riclassificato le lesioni in funzione dei pattern di enhancement e dei pattern vascolari riscontrati nelle tre fasi. I risultati descritti di seguito sono riassunti nelle tabelle riportate nell' Appendice dello Studio.

## **LESIONI FOCALI BENIGNE**

### ***EPATOMA***

***Cane n. 1:*** YhorkShire Terrier, maschio di dodici anni

L'esame ecografico dell'addome identifica la presenza di una voluminosa massa di di considerevoli dimensioni ed aspetto disomogeneo. Tale struttura appare in continuità con il parenchima epatico ecograficamente normale. Il restante fegato appare omogeneo, normoecogeno.

L'esame ultracontrastografico mostra una captazione precoce ed omogenea del mezzo di contrasto con fase arteriosa intratumorale, fase portale e fase tardiva diffusa e omogenea. non sono evidenti alterazioni ecocontrastografiche a carico del parenchima epatico ecograficamente sano.

La diagnosi istologica emessa è stata di epatoma

***Cane n. 2:*** Scottish Terrier, maschio di 10 anni.

All'esame ultrasonografico convenzionale il fegato di questo soggetto risulta aumentato di dimensioni e disomogeneo per il riscontro di una massa voluminosa (5x7 cm circa) a partenza dal lobo caudato, complessivamente disomogenea e caratterizzata da periferia ipoecogena e centro iperecogeno.

L'esame Doppler descrive la presenza di flussi sia arteriosi (I.R. 0,56) che venosi all'interno della massa.

Dopo l'iniezione endovenosa del mezzo di contrasto, la massa presenta una captazione di contrasto precoce rispetto al parenchima. Nella fase portale la massa mostra un enhancement omogeneo ed appare in equilibrio con il resto del fegato.

Anche in fase tardiva essa appare omogenea ed isoecogena con il parenchima circostante.

Nella fase arteriosa si riconosce un pattern di vascolarizzazione intratumorale per la presenza di ramificazioni lineari vascolari all'interno della massa. In fase portale e in fase tardiva è diffuso ed omogeneo.

A seguito di un esame citologico non sufficiente a determinare la natura della neoformazione, il soggetto viene sottoposto a laparotomia esplorativa ed epatectomia parziale. L'istologia è compatibile con diagnosi di epatoma.

***Cane n. 3:*** meticcio, maschi castrato di dodici anni

L'esame ecografico convenzionale mostra un fegato aumentato di dimensioni, disomogeneo per la presenza di una lesione focale ipoecogena di circa 1 cm e di una massa (9x4 cm) pressochè isoecogena con il fegato entrambe localizzate in corrispondenza del lobo quadrato. Tale neoformazione determina alterazione del profilo dell'organo ed è caratterizzata da scarsa evidenza del disegno portale.

All'esame ultracontrastografico la massa mostra una assunzione del mezzo di contrasto contemporanea al parenchima ecograficamente normale, l'assunzione è altresì omogenea. la fase di equilibrio e wash out appaiono sovrapponibili al parenchima ecograficamente sano. In fase arteriosa è evidente un pattern intratumorale mentre la fase portale e tardiva mostrano un pattern diffuso e omogeneo.

Non sono evidenti ulteriori alterazioni a carico del parenchima epatico.

La diagnosi istologica posta attraverso prelievo biotico ecoguidato è stata di epatoma.

### ***IPERPLASIA NODULARE***

***Cane n. 4:*** meticcio femmina sterilizzata di quattordici anni.

L'esame ecografico convenzionale mostra un fegato aumentato di dimensioni, normoecogeno. in corrispondenza del lobo caudato si identifica la presenza di una massa disomogenea ed in continuità vascolare con il parenchima epatico. all'esame Doppler tale struttura risulta vascolarizzata prevalentemente alla periferia.

All'esame ultracontrastografico la massa mostra una fase arteriosa contemporanea al parenchima epatico ed omogenea e fase portale e wash-out sono anch'esse sovrapponibili al fegato ecograficamente normale.

La fase arteriosa mostra inizialmente un pattern peritumorale mentre le fasi portale e tardiva appaiono con pattern diffuso e omogeneo e sovrapponibili al resto del fegato che appare omogeneo.

La diagnosi istologica emessa è stata di iperplasia nodulare

***Cane n. 5:*** fox terrier, femmina sterilizzata di undici anni.

L'esame ecografico convenzionale mostra fegato modicamente aumentato di dimensioni, disomogeneo per la presenza di lesioni focali ipoecogene diffuse, la maggiore delle quali è localizzata in corrispondenza del lobo quadrato e misure 1,19x1,19 cm.

All'esame ultracontrastografico l'assunzione del mezzo di contrasto è contemporanea al parenchima ecograficamente normale, l'assunzione è altresì omogenea. la fase di equilibrio e wash-out appaiono sovrapponibili al parenchima ecograficamente sano.

In fase arteriosa è evidente un pattern intratumorale mentre la fase portale e tardiva mostrano un pattern diffuso e omogeneo.

Il proprietario ha accettato la proposta di una biopsia ecoguidata che ha fornito diagnosi istologica di iperplasia nodulare.

### ***DEGENERAZIONE FOCALE***

***Cane n. 6:*** meticcio, femmina intera di undici anni.

Durante l'esame ecografico del fegato si reperta un aumento di volume dell'organo, che è apparso disomogeneo per la presenza di un'ampia area (4x5 cm circa) con centro iper-isoecogeno con il parenchima e parti periferiche ipoecogene. Presenta contorni irregolari e occupa gran parte del lobo sinistro, determinandone anche alterazione del profilo. L'esame spettrale Doppler della lesione mostra un flusso pulsatile riferibile a vascolarizzazione arteriosa (I.R. 0,53-0,57).

Analizzando il filmato dell'esame contrastografico, si nota che le microbolle del mezzo di contrasto compaiono in fase arteriosa sia nel parenchima che nella lesione 5-6 secondi dopo la loro somministrazione endovenosa periferica. In questa prima fase non è possibile individuare, in modo netto, la presenza di vasi all'interno della lesione focale. La diffusione del mezzo di contrasto nella massa è disomogenea fino alla fase portale precoce quando si verifica il riempimento completo a 15 secondi, ed essa appare omogenea ed isoecogena con il parenchima circostante, rimanendo tale durante tutta la fase di equilibrio. Il pattern si può descrivere, quindi, come di enhancement diffuso disomogeneo in fase arteriosa e portale precoce, diffuso omogeneo nel resto dell'esame.

La citologia della massa ha dato esito negativo per neoplasia che, tuttavia non può escludere. Per questo è stato eseguito anche un prelievo biotico che riconosce una marcata steatosi e la presenza di un focolaio infiammatorio con elementi linfoplasmacellulari e granulocitari.

**Cane n. 7:** York Shire Terrier, maschio di 12 anni; soggetto cardiopatico.

L'esame ultrasonografico convenzionale consente di visualizzare un fegato aumentato di volume e disomogeneo per la presenza di lesioni focali ipoecogene, distribuite in tutto il parenchima e caratterizzate da margini mal definiti. Queste lesioni sono di dimensioni variabili da pochi millimetri a oltre 2 centimetri di diametro e hanno un carattere espansivo, in quanto determinano deviazione del percorso delle vene sovraepatiche.

L'esame con mezzo di contrasto viene effettuato con il soggetto in narcosi per l'esecuzione, nella stessa seduta, di una biopsia epatica.

La somministrazione di 1,2 ml di Sonovue, dose consigliata per cani di questa taglia, non produce enhancement; si aumenta, quindi, la dose a 2 ml che risultano sufficienti a visualizzare la presa di contrasto nel fegato. Dopo 10 secondi il mezzo di contrasto compare nel parenchima e si diffonde omogeneamente, sia in fase arteriosa che in fase portale. A 1 minuto e 22 secondi si assiste ad una perdita diffusa e precoce dell'enhancement da parte del parenchima. Quindi, durante l'esame ecocontrastografico, non è possibile evidenziare alcuna lesione focale, poiché esse

tendono a mostrare un enhancement del tutto sovrapponibile a quello del fegato ecograficamente sano. Il pattern è di tipo diffuso omogeneo.

Nei campioni istologici inviati al laboratorio, si rinvengono lesioni degenerative diffuse in tutto il parenchima e lesioni di tipo steatosico con distribuzione multifocale e, per lo più, periportale. Non si rinvengono processi di tipo flogistico né neoplastico.

### ***EPATITI***

***Cane n. 8:*** meticcio, femmina sterilizzata di 13 anni.

L'esame ultrasonografico convenzionale mostra un fegato aumentato di dimensioni, normoecogeno, disomogeneo per la presenza di una lesione focale a carico del lobo quadrato e localizzata in prossimità del diaframma. Tale lesione misura 2x1,5 cm ed è caratterizzata da un margine ipoecogeno ed un centro iperecogeno.

L'esame con mezzo di contrasto mostra una captazione precoce rispetto al parenchima epatico ed un pattern omogeneo diffuso nella fase portale e di wash-out. Il pattern vascolare in fase arteriosa è intratumorale mentre in fase portale e di equilibrio appare omogeneo e diffuso.

A qualche giorno di distanza il paziente viene sottoposto a esame T.C. che conferma la presenza di tale lesione, la sua localizzazione e un comportamento contrastografico sovrapponibile a quello ecografico con captazione in fase arteriosa e isodensa in fase di equilibrio. In quella sede viene effettuato un prelievo bioptico che fornisce la diagnosi istologica di epatite cronica attiva.

***Cane n. 9:*** meticcio, maschio intero di undici anni

L'esame ultrasonografico convenzionale mostra un fegato di normali dimensioni, disomogeneo complessivamente e per la presenza di una lesione cistica in corrispondenza del lobo caudato e di una lesione ipoecogena in corrispondenza del lobo quadrato.

L'esame con mezzo di contrasto della lesione ipoecogena mostra un ritardato enhancement in fase arteriosa e un pattern omogeneo e diffuso in fase portale di wash-out.

Il pattern vascolare in fase arteriosa appare intratumorale mentre le fasi portale e tardiva appaiono omogenee e diffuse. Non sono evidenti ulteriori lesioni a parte la lesione cistica che mostra mancato enhancement in tutte le fasi.

All'esame istologico della lesione si riscontrano aspetti degenerativi/regressivi (glicogenosi ed emosiderosi) epatocitari stromali ed aspetti flogistici. Fibrosi degli spazi portali evolvente in alcuni casi a cirrosi. In corrispondenza dei sinusoidi, dell'interstizio e degli spazi portali è evidente la presenza di neutrofili. Il quadro appare compatibile con quadro di epatite proliferativa cronica attiva con segni di fibrosi/cirrosi.

## ***CIRROSI***

***Cane n. 10:*** labrador, femmina sterilizzata di 12 anni.

L'esame ultrasonografico convenzionale mostra un fegato aumentato di dimensioni, disomogeneo, con completa perdita della normale architettura. Si repertano molteplici lesioni focali ipoecogene ed a target determinanti alterazione del profilo e dei vasi portali.

L'esame ultracontrastografico del parenchima epatico mostra complessivamente un disegno vascolare arterioso solo a livello portale, seguito da una fase portale prolungata in assenza di una significativa captazione da parte del parenchima epatico. In sede di esame le lesioni appaiono nel complesso con comportamento sovrapponibile al parenchima con scarsa perfusione arteriosa e prolungata fase portale. I pattern vascolari delle lesioni mostrano ridotta perfusione intratumorale in fase arteriosa e omogeneo diffusa in fase portale e tardiva.

L'esame istologico descrive la presenza di una diffusa degenerazione epatocitaria torbido-vacuolare a tratti steatoica. Si rilevano gravi reperti di fibrosi cui si associa proliferazione di numerosi piccoli dotti biliari. Nella compagine del connettivo neoformato si rinvengono ectasie di vasi ematici e linfatici, piccole emorragie e modica quantità di pigmento emosiderinico. I campioni appaiono diffusamente infiltrati da una flogosi linfocitaria e in minor misura neutrofilica. Quadro compatibile con cirrosi epatica avanzata.

***Cane n. 11:*** meticcio, femmina sterilizzata di dieci anni.

Il paziente ha una anamnesi oncologica positiva per neoplasia vescicale (carcinoma delle cellule di transizione) asportato il mese prima. Durante l'intervento l'aspetto macroscopico del fegato ha suggerito al chirurgo ulteriori approfondimenti diagnostici.

L'esame ultrasonografico convenzionale mostra un fegato aumentato di dimensioni, con margini irregolari, iperecogeno e complessivamente disomogeneo in assenza di lesioni focali.

L'esame ultracontrastografico mostra fase arteriosa portale e wash out diffuso e omogeneo in tutte le fasi senza evidenti aree ipocaptanti /non captanti.

All'esame istologica si riscontra la presenza di diffusi reperti degenerativi di varia natura (glicogenosi, steatosi) cui si associano la presenza di granulomi da pigmento ceroidale, fibrosi portale e lieve epatite proliferativa. L'aspetto è compatibile con quadro di fibrosi/cirrosi.

***Cane n. 12:*** setter inglese, femmina intera di dieci anni.

L'esame ultrasonografico convenzionale mostra la presenza di abbondante versamento addominale. Il fegato appare aumentato di dimensioni, iperecogeno, complessivamente disomogeneo. Sono inoltre identificabili alcune lesioni focali ipoecogene/anecogene in corrispondenza del lobo mediale sinistro.

L'esame ultracontrastografico mostra un fase arteriosa e portale omogenea e diffusa, la fase di wash out appare omogenea e prolungata. Le lesioni non mostrano differenze perfusionali dal restante parenchima epatico in nessuna delle fasi. Non sono evidenti aree non captanti o ipocaptanti.

La diagnosi istologica emessa è stata di cirrosi.

## LESIONI FOCALI MALINGNE

### *EPATOCARCINOMA*

**Cane n. 13:** Schnauzer, femmina intera di sei anni

L'esame ultrasonografico convenzionale mostra la presenza di modico versamento addominale localizzato nelle porzioni declivi. A carico del fegato si reperta la presenza di una massa disomogenea di circa 11x8 cm . tale struttura sembra originare dal lobo quadrato. il restante parenchima epatico appare omogeneo e normecogeno.

L'esame ultracontrastografico mostra una fase arteriosa precoce e disomogenea , per la presenza di un'area non captante, mentre la fase portale e di wash-out mostrano tempi di perfusione simili al parenchima epatico ed una regione nella quale permane l'assenza di presa di contrasto. Il pattern della fase arteriosa appare disomogeneo intratumorale, i pattern della fase portale e tardiva mostrano la persistenza del difetto di perfusione, il resto della neoformazione appare omogenea.

La diagnosi emessa è stata di epatocarcinoma.

**Cane n. 14:** Dogue de Bordeaux, maschio di dieci anni, con leishmaniosi.

Dall'esame ecografico convenzionale, il fegato di questo soggetto è apparso aumentato di volume e complessivamente omogeneo, ad eccezione di una struttura ovalare delle dimensioni di 3,8x5,2 cm, situata nel lobo caudato in corrispondenza dell'ilo epatico e determinante compressione sulla vena cava caudale e conseguente stasi venosa a monte. La massa, a contorni ben definiti, appare relativamente disomogenea ed ipoecogena rispetto al parenchima circostante. All'esame color Doppler si identifica una vascolarizzazione prevalentemente periferica e mediante Doppler pulsato è possibile rilevare un segnale di tipo arterioso (I.R. 0,54).

L'esame contrastografico ha messo in evidenza, in fase arteriosa, una captazione precoce del mezzo di contrasto: già a 6 secondi le porzioni più periferiche della massa cominciano a mostrare enhancement e a 12 secondi appaiono iperecogene rispetto al parenchima circostante. Le parti centrali della lesione, invece, non assumono enhancement. Durante la fase portale le porzioni periferiche della massa sono ancora iperecogene, mentre il centro non mostra alcun contrasto. In fase tardiva la periferia della massa mostra un'ecogenicità simile a quella del parenchima sano circostante. Il pattern è di tipo nodulare periferico continuo, che da iperecogeno diventa isoecogeno con il parenchima in fase tardiva.

La citologia della lesione si è dimostrata inconclusiva, mentre la biopsia TAC guidata ha portato alla diagnosi di carcinoma ben differenziato.

***Cane n. 15:*** meticcio, femmina sterilizzata di 8 anni

L'esame ultrasonografico convenzionale mostra un fegato di normali dimensioni, modicamente iperecogeno, disomogeneo per la presenza di un'area di circa 4x4 cm, disomogenea a margini scarsamente definiti e localizzata nel lobo mediale destro. Il restante parenchima epatico appare ecograficamente normale.

L'esame ultracontrastografico mostra da parte della massa un enhancement disomogeneo caratterizzato dalla mancata presa di contrasto sia in fase arteriosa che in fase portale e di wash-out da parte della maggior parte della lesione. Il pattern vascolare in fase arteriosa appare di tipo peritumorale con fase portale di tipo nodulare periferico e fase tardiva caratterizzata da difetto di riempimento.

La diagnosi emessa è stata di epatocarcinoma.

***Cane n. 16:*** West Highland White Terrier, femmina di dodici anni.

L'esame ultrasonografico di questo cane ha messo in evidenza, nella porzione destra dell'addome, una massa del diametro di circa 6 centimetri, originante dal margine caudale del lobo epatico destro. La massa appare vascolarizzata all'esame Doppler. Dal punto di vista morfologico, si presenta disomogenea e complessivamente iperecogena, con margini ben definiti.

In prossimità dell'ilo epatico si reperta, inoltre, una lesione focale iperecogena, omogenea, di 1,7x0,9 cm e a margini ben definiti.

Dopo somministrazione di mezzo di contrasto le dimensioni della massa appaiono di dimensioni maggiori rispetto all'esame ecografico in B-mode. Dopo 4 secondi dall'iniezione, le microbolle appaiono già nelle porzioni più periferiche della neoformazione. A 10 secondi la massa appare iperecogena rispetto al parenchima circostante ma con aree multiple centrali che non assumono enhancement. A partire dai 25 secondi e per tutta la fase di equilibrio, le porzioni periferiche risultano isoecogene con il parenchima circostante.

Non è possibile inquadrare questo caso in uno dei pattern descritti nella parte bibliografica, per la presenza di aree multiple centrali senza presa di contrasto. Il pattern che più si avvicina è quello nodulare periferico continuo.

La citologia è stata di per sé sufficiente a diagnosticare un epatocarcinoma.

### ***CARCINOMA INDIFFERENZIATO***

***Cane n. 17:*** Boxer, femmina di quindici anni.

Il fegato appare ecograficamente disomogeneo ed ipoecogeno. A carico del lobo destro mediale si reperta una massa ipoecogena e disomogenea di 5x4,5 centimetri di dimensioni. Tale massa si presenta vascolarizzata prevalentemente in periferia; inoltre, determina compressione sulle vie biliari extraepatiche e sulla vena porta. Sono altresì evidenti lesioni focali a bersaglio negli altri lobi epatici.

A 8" si osserva una presa di contrasto precoce da parte dei vasi che attraversano la massa epatica e delle sue porzioni periferiche. Si evidenzia un riempimento centripeto che determina, in fase portale (20"), una presa di contrasto omogenea in quasi tutta la massa, ma con centro che rimane lievemente iporiflettente. A 29 secondi inizia il wash-out del mezzo di contrasto nelle parti più centrali della massa fino a diventare completo in fase tardiva quando la lesione appare anecogena rispetto al parenchima.

Il pattern della massa si può descrivere come vascolarizzazione intratumorale in fase arteriosa, diffuso eterogeneo in fase portale e con difetto di perfusione in fase tardiva.

Per quanto riguarda le altre lesioni focali epatiche non sono visualizzate nella prima parte dell'esame, in quanto l'attenzione dell'operatore è focalizzata sulla massa. In fase tardiva, quando la sonda viene spostata, esse appaiono anecogene.

La citologia della massa epatica ha consentito di definirla come carcinoma, anche se, non distingue l'origine primaria o metastatica di tale neoplasia.

***Cane n. 18:*** Boxer maschio di 8 anni, con sospetta neoplasia testicolare.

Il fegato appare notevolmente aumentato di volume, a margini irregolari e disomogeneo per la presenza di numerose lesioni focali di dimensioni, variabili fino a 5 cm, caratterizzate da periferia iperecogena e centro anecogeno. In tali lesioni è possibile identificare una vascolarizzazione solo in periferia. Nella fase arteriosa, 8 secondi dopo la somministrazione del mezzo di contrasto, le parti periferiche delle lesioni mostrano una presa di contrasto contemporanea a quella del parenchima, mentre le regioni centrali non assumono enhancement.

A 25", durante la fase portale, le parti periferiche delle lesioni sono isoecogene con il parenchima. Da tali regioni inizia un wash-out precoce intorno al trentacinquesimo secondo, cosicché a 52" la periferia è ipoecogena rispetto al fegato circostante, mentre il centro è sempre anecogeno.

In fase arteriosa si rileva un pattern a vascolarizzazione marginale o a "marginal vessels". Si può, inoltre identificare un pattern di tipo nodulare periferico continuo in fase portale ed un difetto di perfusione in fase tardiva.

Come nel caso precedente, anche qui la citologia è stata sufficiente a diagnosticare un carcinoma non differenziato.

## ***LINFOMA***

***Cane n. 19:*** Pastore Tedesco, maschio, di otto anni.

All'esame ecografico, il fegato del soggetto in esame appare notevolmente aumentato di dimensioni, con margini irregolari e non omogeneo per la presenza di numerose lesioni focali ipoecogene, disomogenee ed irregolari. All'esame Doppler, tali lesioni mostrano una vascolarizzazione arteriosa prevalentemente periferica (I.R. 0,5).

Dopo somministrazione del mezzo di contrasto, nel parenchima apparentemente sano si evidenzia una fase arteriosa a 11". In tale fase le lesioni focali non manifestano enhancement ed appaiono anecogene fino a 17" quando si osservano i primi segni dell'arrivo del mezzo di contrasto al loro interno. Le microbolle disegnano dei vasi che dalla periferia si diffondono al centro della lesione. A circa 35" è possibile identificare un enhancement omogeneo in gran parte delle lesioni. Tale rinforzo appare comunque inferiore rispetto al parenchima circostante. Altre lesioni appaiono completamente anecogene anche in fase di equilibrio.

A circa 45" si comincia a vedere un wash-out da parte delle lesioni che hanno mostrato precedentemente una presa di contrasto.

I pattern delle lesioni che mostrano enhancement sono: di vascolarizzazione marginale o "marginal vessels" in fase arteriosa, omogeneo diffuso ed ipoecogeno in fase portale e con difetto di perfusione in quella tardiva. Nelle lesioni che non mostrano presa di contrasto, il pattern è chiaramente quello di non-enhancement.

La diagnosi citologica è stata di linfoma.

***Cane n. 20:*** meticcio, maschio, undici anni.

L'esame ultrasonografico convenzionale mostra un fegato di normali dimensioni, normoecogeno, disomogeneo per la presenza di una lesione focale iperecogena di 8,7 mm localizzata in corrispondenza del lobo mediale destro in prossimità dell'ilo epatico, adiacente all'ingresso della vena porta, prossima alla superficie viscerale dell'organo ed al duodeno discendente. Il restante parenchima appare di normale ecostruttura.

Dopo somministrazione di mezzo di contrasto mostra da parte della lesione un comportamento della lesione sovrapponibile al parenchima epatico in tutte le fasi. Allo stesso modo il pattern vascolare appare intratumorale in fase arteriosa e omogeneo diffuso in fase portale e tardiva.

Poichè la localizzazione della lesione non consentiva un approccio sicuro per un campionamento a cielo chiuso viene effettuato un prelievo mediante biopsia ad ago sottile. L'esame citologico ha emesso diagnosi di linfoma.

## ***MASTOCITOMA***

***Cane n. 21:*** Setter Inglese, femmina di dieci anni.

L'esame ecografico di questo soggetto è stato richiesto per la stadiazione di un mastocitoma. Il fegato è apparso disomogeneo per la presenza di una voluminosa massa (7x9 cm) a carico della porzione destra del fegato, complessivamente disomogenea, con le porzioni periferiche ipoecogene e quelle centrali iperecogene. Il resto del parenchima invece è omogeneo e normoecogeno.

In fase arteriosa, 12 secondi dopo l'iniezione del mezzo di contrasto, si evidenzia nella porzione più laterale della massa un anello vascolare con centro non captante che appare attraversato da un vaso, mentre la porzione mediale appare ipocaptante rispetto al parenchima epatico. In fase portale avanzata la porzione mediale raggiunge l'equilibrio con il restante parenchima, mentre l'area anecogena della porzione laterale rimane tale. A 2' le porzioni captanti appaiono ancora in equilibrio con il parenchima. A 3', invece, esse appaiono lievemente ipoecogene rispetto al parenchima.

In questo caso, si identificano nella parte laterale della massa un pattern ad anello periferico o "rime like" ed un pattern di vascolarizzazione intratumorale per la presenza del vaso che attraversa il centro anecogeno. La porzione mediale presenta un pattern di tipo diffuso omogeneo che in fase arteriosa è ipoecogeno, in fase portale è isoecogeno e in fase tardiva è di nuovo ipoecogeno.

L'esame citologico di un campione prelevato dalla lesione epatica ha messo in evidenza la presenza di voluminosi mastociti, con un moderato numero di granuli citoplasmatici e l'assenza di epatociti; la diagnosi è quindi compatibile con una metastasi epatica di mastocitoma.

## ***NEOPLASIE METASTATICHE***

### ***Metastasi da carcinoma pancreatico***

***Cane n. 22 :*** meticcio, femmina sterilizzata di sette anni

L'esame ultrasonografico convenzionale mostra un fegato aumentato di dimensioni e disomogeneo per la presenza di una lesione focale disomogenea a margini irregolari localizzata nel lobo sinistro laterale di circa 3x2 cm. Il restante parenchima epatico appare di normale ecostruttura.

In corrispondenza dell'area di proiezione del pancreas si identifica la presenza di una massa disomogenea caratterizzata da numerose aree iperecogene determinanti attenuazione acustica posteriore riferibili a aree calcifiche in parte coinvolgenti la parete del duodeno.

L'esame ultracontrastografico della lesione epatica mostra una presa di contrasto precoce in fase arteriosa con fase portale e di wash-out che mostrano una progressiva perdita di enhancement da parte della lesione rispetto al parenchima epatico circostante; sono altresì evidenti aree non captanti con mancata assunzione del mezzo di contrasto in tutte le fasi. Il pattern vascolare è in fase arteriosa prevalentemente peritumorale con fase portale nodulare periferica e fase tardiva con difetto di perfusione.

Il proprietario, vista la prognosi e lo stato clinico del soggetto ormai cachettico decide per l'eutanasia. L'esame necroscopico conferma la diagnosi di carcinoma pancreatico e metastasi epatiche.

### ***Metastasi da carcinoma gastrico***

***Cane n. 23*** : pastore tedesco, maschio di otto anni

L'esame ultrasonografico convenzionale mostra la presenza di una voluminosa massa nella regione craniale dell'addome, tale struttura appare disomogenea per la presenza di aree anecogene diffuse.

Il fegato appare disomogeneo complessivamente e per la presenza di lesioni focali ipoecogene diffuse.

La somministrazione di mezzo di contrasto mostra in tutte le fasi una mancata captazione delle lesioni focali epatiche con pattern arterioso portale e tardivo caratterizzati da una mancata perfusione lesionale.

Il soggetto è stato sottoposto a laparotomia esplorativa che ha identificato il piloro come sede di origine della neof ormazione addominale. Vista la prognosi infausta il proprietario ha acconsentito per l'eutanasia intraoperatoria. L'esame istologico dei campioni inviati ha fornito diagnosi di carcinoma gastrico e secondarismi epatici.

### ***Metastasi da carcinoma mammario***

**Cane n. 24 :** meticcio, femmina castrata di quattordici anni

Il soggetto presenta una anamnesi di carcinoma mammario.

L'esame ultrasonografico convenzionale mostra un fegato aumentato di dimensioni, disomogeneo per la presenza di lesioni focali distribuite soprattutto nei lobi di sinistra. Tali lesioni appaiono di aspetto disomogeneo e deformanti la superficie dell'organo e con vascolarizzazione prevalentemente periferica.

L'esame ultracontrastografico mostra una mancata captazione del mezzo di contrasto in tutte le fasi da parte delle lesioni focali. Il pattern in fase arteriosa appare peritumorale, in fase portale nodulare periferico e in fase tardiva con difetto di perfusione.

L'esame istologico delle lesioni conferma il sospetto di metastasi epatiche da carcinoma mammario.

### ***Metastasi da emangiosarcoma***

**Cane n. 25:** golden retriever, maschio di sette anni

Soggetto sottoposto a splenectomia per emangiosarcoma splenico.

L'esame ultrasonografico convenzionale mostra un fegato aumentato di dimensioni, normoecogeno, disomogeneo per la presenza di almeno tre lesioni focali iperecogene di diametro variabile tra 1,5-2,5 cm.

L'esame ultracontrastografico mostra in fase arteriosa una captazione attenuata rispetto al parenchima circostante ed una perdita precoce del mezzo di contrasto in

fase portale e di wash out. I pattern vascolari appaiono: Peritumorale in fase arteriosa, nodulare periferico in fase portale e con difetto di perfusione in fase tardiva.

La necropsia ha fornito diagnosi di secondarismi da emangiosarcoma

***Cane n. 26:*** pastore tedesco, femmina di 9 anni

Anamnesi di emoperitoneo alcuni giorni fa. L'esame ultrasonografico convenzionale mostra un fegato aumentato di dimensioni, disomogeneo per la presenza di lesioni iperecogene ed ipoecogene. Le lesioni iperecogene mostrano una vascolarizzazione periferica di tipo venoso. All'esame ecografico la milza appare aumentata di dimensioni e disomogenea per la presenza di una lesione focale ipoecogena di circa 3 cm. L'esame ultracontrastografico del fegato mostra una mancata assunzione del mezzo di contrasto in tutte le fasi con pattern vascolari corrispondenti a peritumorale in fase arteriosa, nodulare periferico in fase portale e di difetto perfusionale in fase tardiva.

A distanza di qualche giorno il proprietario ha deciso per l'eutanasia visto lo stato di forte prostrazione del soggetto.

La diagnosi definitiva è stata di emangiosarcoma splenico e epatico.

### ***Metastasi da osteosarcoma***

***Cane n. 27:*** pastore maremmano femmina sterilizzata di tredici anni

Soggetto con anamnesi di osteosarcoma localizzato alla epifisi distale del femore destro e quadro radiologico e ecocardiologico riferibile a ipertensione polmonare.

L'esame ecografico convenzionale mostra un fegato aumentato di dimensioni, normoecogeno, disomogeneo per la presenza di lesioni focali ipoecogene diffuse a tutta la ghiandola. L'esame ultracontrastografico del fegato mostra da parte delle lesioni una fase arteriosa precoce rispetto al parenchima normale, la fase portale appare prolungata ed il wash-out appare precoce. I pattern vascolari appaiono come intratumorale in fase arteriosa, omogeneo e prolungato in fase portale e con modico difetto residuale in fase tardiva.

La diagnosi istologica delle lesioni epatiche ha confermato il sospetto di secondarismi da osteosarcoma.



## ***Discussione***

### ***Studio 1***

La scelta di un campione composto da otto soggetti è stata fatta sulla base dei campioni reclutati in studi precedenti (Waller 2007, Ziegler 2003).

La necessità di standardizzare la metodica effettuando i singoli esami con modalità ripetibili ha reso necessaria la sedazione dei soggetti. Nella specie felina infatti, a differenza di quella canina, il solo contenimento manuale non è spesso sufficiente a garantire un corretto posizionamento del soggetto per l'intera durata dell'esame, condizionando in tal modo la riuscita dell'esperimento. Durante l'esecuzione dell'indagine è infatti necessario che l'animale rimanga immobile consentendo all'operatore sia la scelta della migliore finestra acustica da utilizzare sia il mantenimento di quest'ultima durante tutto lo studio perfusionale. La decisione di utilizzare come standard una scansione sagittale retrosternale per consentire una maggiore esplorazione del parenchima epatico richiedeva infatti il posizionamento dei soggetti in decubito dorsale, generalmente poco gradito dai gatti.

Nel lavoro pubblicato da Ziegler (2003) sei su otto soggetti erano stati sottoposti a narcosi (induzione con propofolo e mantenimento con isofluorano); nel nostro caso la sedazione è avvenuta mediante somministrazione parenterale di Zoletil® (tiletamina+zolazepam) e atropina.

Il dosaggio scelto per il mezzo di contrasto (0,06 ml/kg) è stato quello impiegato negli studi perfusionali effettuati sul cane sano (Olhert 2005). La scelta da noi fatta di somministrare più boli per soggetto allo stesso dosaggio è stata fatta in funzione di esperienze personali sul cane che dimostrano una migliore capacità di visualizzazione delle strutture epatiche e di eventuali lesioni; inoltre anche nel precedente studio di Ziegler nel 2003 l'autore aveva scelto di adottare somministrazioni ripetute.

I filmati ottenuti mediante registrazione digitale dell'esame ecografico sono stati scomposti in singoli fotogrammi estratti a intervalli prestabiliti. La scelta degli intervalli di tempo tra i singoli fotogrammi è stata effettuata cercando di selezionare le immagini nel quale si fosse certi di poter identificare la porzione di parenchima

inclusa nel ROI: regione di interesse. Tale regione corrisponde alla superficie dell'immagine ecografica su cui viene effettuato lo studio di intensità di pixel mediante un software di image processing(Image J). Sono perciò stati selezionati fotogrammi caratterizzati dalla stessa fase respiratoria.

Secondo alcuni lavori il dosaggio del mezzo di contrasto può condizionare l'enhancement dei piani distali dell'immagine. Il concetto si basa sulla natura intrinseca delle microbolle e sulle caratteristiche pulsatili indotte mediante insonazione a determinate frequenze. Come descritto nella sintesi bibliografica le microbolle non solo riflettono gli ultrasuoni ma interagiscono con loro attraverso fasi di compressione ed espansione in risposta alla lunghezza d'onda incidente divenendo una vera e propria sorgente secondaria di ultrasuoni. Questo comportamento se da una parte è alla base dei meccanismi ultracontrastografici può però determinare problemi interpretativi a dosaggi elevati. Alte concentrazioni di mezzo di contrasto dovute a dosaggi inadeguati determinano un incremento del segnale di scattering (dispersione del fascio di ultrasuoni emesso a seguito di riflessioni non speculari) con conseguente perdita di segnale ed attenuazione dei piani distali.

Le dimensioni dei soggetti hanno condizionato la possibilità di selezionare due ROI a differente profondità (due e quattro centimetri) impedendo così la comparazione di curve perfusionali rappresentative differenti profondità di scansione e di eventuali artefatti.. Infatti posizionamento della regione di interesse in corrispondenza di profondità pari a due centimetri non consentiva una chiara lettura dei segnali. Tale limite è in parte dovuto alla settaggio della apparecchiatura in modalità CnTI. Questa tecnica armonica è infatti basata sulla trasmissione della specifica frequenza di risonanza che caratterizza le microbolle a base di esafluoruro di zolfo e sulla selettiva registrazione del segnale armonico prodotto. Questo permette una notevole riduzione della potenza acustica di insonazione (circa 35 KPa) con una conseguente riduzione del comportamento armonico non lineare dei tessuti stazionari ed una selettiva produzione di frequenze armoniche da parte delle microbolle. L'impostazione dell'ecografo per questa metodica prevede la modificazione dei guadagni complessivi e parziali in maniera tale da ottenere una immagine in cui sia possibile identificare il fegato come struttura omogenea con una scala di grigi uniforme dalle porzioni più

superficiali a quelle più profonde del parenchima. Questa regolazione fa sì che i guadagni parziali nella regione prossimale dello schermo siano praticamente azzerati determinando in questo modo una difficile valutazione delle strutture in essa comprese. Il dato è di notevole importanza se si tiene conto della necessità di posizionare il ROI nella medesima posizione in tutti i fotogrammi esaminati al fine di garantire una corretta valutazione perfusionale. Infatti le fasi respiratorie del soggetto determinano lo spostamento delle strutture in esame comprese nel ROI e la mancanza di punti di riferimento riconoscibili.

A complicare ulteriormente il posizionamento del ROI nelle porzioni epatiche più superficiali ha contribuito la maggiore escursione a cui queste sono sottoposte durante le fasi respiratorie. La polipnea presentata dai soggetti ha reso necessario una maggiore variabilità degli intervalli di tempo tra singoli fotogrammi al fine di mantenere il ROI nel medesimo punto.

Abbiamo così deciso di impiegare un solo ROI ad una profondità di circa 3 cm nell'intento di ottenere una lettura contrastografica media tra le regioni prossimali e quelle distali.

Le intensità di pixel determinate dal ROI sono state poi rielaborate mediante un foglio di calcolo al fine di rappresentare la perfusione d'organo mediante la rappresentazione di una curva intensità/tempo ottenuta mettendo in relazione per ogni immagine le intensità di pixel misurate ed il tempo corrispondente la fotogramma esaminato. L'aspetto della curva rappresentata può variare in relazione a differenti fattori in grado di condizionare i valori di intensità media di pixel in una data regione del fegato (Quaia 2008). Alcuni di essi, come i settaggi dei guadagni, sebbene capaci di determinare alterazioni complessive dell'intensità, inducono modificazione nell'intensità della scala di grigi che però resta costante sia durante il normale esame ecografico sia in modalità CnTI non determinando quindi alterazioni a carico delle caratteristiche dinamiche della curva quali la sua inclinazione o il tempo richiesto per il raggiungimento del massimo enhancement (tempo di picco).

Altri fattori invece sono in grado di determinare modificazioni dinamiche responsabili di curve intensità tempo alterate. Alcuni esempi sono rappresentati da fattori estrinseci (meccanici, frequenza di trasmissione, il numero dei fuochi ed il

loro posizionamento, la potenza acustica di insonazione ed il frame-rate) ed intrinseci alla composizione delle microbolle impiegate.

Fattori meccanici quali la somministrazione in bolo mediante catetere venoso possono condizionare il tempo di picco a seguito di cause iatrogene quali l'incompleta somministrazione del bolo, o il non corretto posizionamento del catetere venoso.

La frequenza di trasmissione, il numero dei fuochi il loro posizionamento ed il frame-rate se non impostati adeguatamente sono invece in grado di determinare un'incremento nella distruzione delle microbolle in circolo. E' infatti dimostrato che il punto di massima potenza acustica corrisponde al punto in cui è posizionato il fuoco e che conseguentemente un maggior numero di fuochi determinerà una esposizione maggiore delle microbolle al rischio di ressi ed a una conseguente riduzione del tempo di transito epatico(Quaia 2005).

Il discorso è sovrapponibile per quanto riguarda il frame rate (aggiornamneto dell'immagine espressa in fotogrammi per secondo). Sirlin (1999) ha dimostrato come il numero di frame rate sia direttamente proporzionale alla quantità di energia emessa dalla sonda nell'unità di tempo ed inversamente proporzionale all'enhancement ottenuto.

Anche un elevato indice meccanico elevato può determinare un incremento della distruzione del mezzo di contrasto. Tale comportamento induce un incremento della intensità media del segnale dovuto alla rottura delle microbolle nella regione di interesse mediante il rilascio di elevate quantità di segnale armonico. Queste pulsazioni possono essere impiegate come imaging macrovascolre.

Nel nostro lavoro è stato impiegato un basso indice meccanico caratterizzato da una potenza acustica pari a 35 KPa al fine di ridurre al minimo la rottura delle microbolle permettendo un loro accumulo nel sistema microvascolare e conseguentemente la valutazione di quel'ultimo. L'indice meccanico veniva elevato nell'intervallo tra un bolo e l'altro al fine di consentire la distruzione delle microbolle rimaste in circolo.

I fattori intrinseci dipendono invece essenzialmente dalla natura del mezzo di contrasto, così alcuni di essi vengono captati dal sistema reticolo-endoteliale mostrando una fase tissutale a carico di fegato e milza ed una conseguente

prolungamento del tempo di enhancement (Nakamura 2009); altri come quello da noi impiegato mancano di questa fase e si comportano da veri e propri *pool-agent*.

Altri fattori ascrivibili al paziente possono inoltre condizionare la velocità di eliminazione delle microbolle in relazione al respiro ed al movimento che questo induce sulle porzioni di fegato visualizzate. Sappiamo dalla letteratura che l'esafluoruro di zolfo contenuto nel Sonovue viene metabolizzato attraverso il filtro polmonare, mentre le membrane lipidiche vengono escrete attraverso l'emuntorio renale. Quiaia (2005) afferma che dopo somministrazione, il tempo di emivita del Sonovue a livello di circolo periferico è di circa sei minuti, il 40-50% del volume dell'esafluoruro di zolfo viene eliminato dopo due minuti dall'iniezione mentre l'80% del composto viene eliminato attraverso i polmoni in circa undici minuti. Variazioni dei caratteri del respiro (in particolare frequenza, celerità e ampiezza) possono condizionare in maniera inversa l'emivita del mezzo di contrasto. La polipnea marcata determina infatti un respiro prevalentemente superficiale che in teoria dovrebbe ridurre l'eliminazione polmonare del mezzo di contrasto. Al contrario frequenze respiratorie normali caratterizzate da respiri profondi determinano una maggior ossigenazione del circolo polmonare e conseguentemente una maggiore eliminazione del mezzo di contrasto.

Sempre le fasi respiratorie condizionano anche a livello epatico la distruzione delle microbolle nel microcircolo. Esse determinano infatti spostamenti della porzione di parenchima insonato con conseguente esposizione agli ultrasuoni di porzioni precedentemente non insonate. Tali regioni a seguito della loro minore esposizione agli ultrasuoni conservano una maggiore concentrazione del mezzo di contrasto e mostrano di conseguenza una maggiore intensità di pixel.

La concentrazione del mezzo di contrasto è infine dipendente dalla vascolarizzazione arteriosa e portale, rappresentanti il sistema vascolare afferente, e dalla vascolarizzazione venosa rappresentante il sistema efferente.

Alla luce di quanto detto il confronto dei dati ottenuti con quanto disponibile in letteratura suggerisce alcune considerazioni.

La upslope o inclinazione della curva durante la fase di wash in è un indice calcolato mediante il calcolo della media dei punti della curva di valore compreso tra il 10% e il

90% del valore di picco da noi ottenuto. La scelta di questo cut-off viene fatta al fine di ridurre il rumore (noise) mediante la selezione dei valori più omogenei (Ziegler 2003).

Il valore da noi riscontrato di  $3,88 \pm 1,5$  mostra appare comparabile a quelli ricavati da Ziegler indice di una discreta sovrapponibilità dei dati in fase di wash-in. Tale aspetto è desumibile anche dalla osservazione dei grafici in Appendice 1 che ricalcano per quanto riguarda la fase di wash-in quelli riportati in letteratura umana e veterinaria.

I dati riferibili al tempo di picco risultano invece prolungati: il tempo di picco  $T_0$  (tempo per il raggiungimento del massimo enhancement a partire dalla inoculazione del bolo) è risultato essere pari a  $59 \pm 24,52$  sec mentre il  $T_{up}$  (tempo per il raggiungimento del massimo enhancement a partire dal punto precedente l'inizio della up-slope) è risultato pari a  $50,25 \pm 23,6$  sec. I valori degli stessi riportati in letteratura per il cane risultano rispettivamente  $22,8 \pm 6,79$  per il  $T_0$  e  $13,88 \pm 1,55$  per il  $T_{up}$ . Questi riscontri associati alla valutazione dei grafici dei singoli boli suggeriscono come nonostante un adeguata fase di wash in l'enhancement del parenchima epatico permanga con una intensità superiore alle esperienze effettuate sul cane per un tempo maggiore. Non solo, l'intensità in alcuni casi fluttua in prossimità del picco di enhancement per diversi secondi come a sottolineare una permanenza protratta di mezzo di contrasto ad alte concentrazione nella regione di parenchima analizzata. Anche la downslope (o inclinazione della curva durante la fase wash out: indice calcolato considerando i 10 valori successivi al picco di enhancement a partire da quello con valore inferiore al 90%) da noi ottenuta mostra valori più elevati rispetto a quelli pubblicati finora:  $-0,24 \pm 0,31$  contro i  $-0,71 \pm 0,30$  ottenuti da O'Brien. L'osservazione dei grafici delle intensità medie illustra bene come il declino dell'enhancement avvenga con modalità graduale e per un tempo prolungato.

Le difformità presenti sia per la downslope sia per il  $T_0$  ed il  $T_{up}$  mostrano come tali differenze non possano essere attribuibili a fattori meccanici quali la via di somministrazione impiegata. La modalità di somministrazione condiziona infatti

principalmente l'arrivo delle microbolle al fegato ed è quindi descritto dalla upslope che come detto mostra valori comparabili con la letteratura.

Non essendo il Sonovue caratterizzato da una fase parenchimale, dovuta alla captazione delle microbolle da parte delle cellule del sistema reticolo-endoteliale con conseguente enhancement extravascolare la spiegazione per noi più logica per questo comportamento è il possibile impiego di dosaggi elevati determinanti alte concentrazioni di microbolle in circolo ed a livello epatico. La valutazione dei valori del ROI dei fotogrammi iniziali dei singoli boli in tutti i soggetti mostra come all'inizio di ogni somministrazione il mezzo di contrasto del bolo precedente non sia più presente e pertanto l'intensità di pixel risulti prossima allo zero. E' così da escludere un accumulo dovuto alla mancata distruzione delle microbolle somministrate nei boli precedenti. Una causa più probabile appare l'impiego di dosaggi eccessivi del prodotto o da una ritardata eliminazione dello stesso.

Il dosaggio da noi impiegato è stato quello riportato per il Sonovue in letteratura veterinaria nel cane ed è possibile che tali concentrazioni siano eccessive per la specie felina.

Altra considerazione per tali difformità riguarda il possibile rallentamento della escrezione del mezzo di contrasto per via polmonare . Come spiegato precedentemente una alterazione delle caratteristiche respiratorie potrebbe essere in grado di modificare la curva intensità tempo. Tutti i soggetti arruolati nel nostro studio hanno mostrato, in sedazione, una polipnea (media di 20 atti respiratori al minuto) ed una conseguente riduzione del volume corrente (misura il volume di aria inspirato ed espirato in un singolo movimento respiratorio in condizioni di riposo). E' possibile che il minor scambio di gas respiratori e conseguentemente di minore ossigenazione del sangue comporti una riduzione del metabolismo polmonare delle microbolle con conseguente ricircolo e prolungamento dell'enhancement epatico dei singoli boli. Questo aspetto unito ad un dosaggio elevato può fornire una possibile spiegazione dei nostri risultati.

In ultimo è da sottolineare come i dati qui esposti siano stati sottoposti a numerose elaborazioni al fine di poter essere analizzati in maniera standardizzabile. La mancanza di un programma completo che consenta svolgimento di tutte le operazioni

dall'estrazione dei fotogrammi alla selezione del ROI e del suo posizionamento alla estrapolazione delle intensità di picco e delle loro elaborazioni statistiche in funzione del tempo per ottenere le curve perfusionali sottopone questo genere di indagini ad un maggior rischio circa la uniformità dei risultati ottenuti(O'Brien).

Nessuno dei soggetti sottoposti all'esame ha manifestato durante o dopo lo studio contrastografico segni o sintomi riferibili ad eventuali effetti collaterali indotti dalle microbolle.

## ***Studio 2***

Nell'ultimo periodo anche in medicina veterinaria sono diverse le pubblicazioni riguardanti l'impiego di mezzi di contrasto ecografici nella caratterizzazione di lesioni focali epatiche o spleniche (O'Brien 2004, O'Brien 2007, Rossi 200, Volta 2008). Attraverso questo studio retrospettivo abbiamo voluto identificare le caratteristiche ultracontrastografiche di lesioni focali epatiche riferibili a patologie benigne e maligne nell'intento di riscontrare la presenza di eventuali pattern ecografici suggestivi di benignità o malignità. Dei soggetti appartenenti al campione selezionato sono state prese in esame sia le caratteristiche ecografiche riscontrate all'esame convenzionale, sia quelle identificate dopo la somministrazione del mezzo di contrasto. Mediante tecnica Doppler si sono valutate le caratteristiche vascolari delle lesioni (Catalano 2007). Purtroppo tale metodica, largamente impiegata in medicina umana riveste in medicina veterinaria relativa importanza dovuta alla difficile applicazione di questo strumento in soggetti vigili. Lo stato di agitazione generalmente manifestato dalla maggior parte dei soggetti durante lo svolgimento dell'esame, condiziona la possibilità di una corretta valutazione dei flussi vascolari. Infatti la semplice presenza di una aumentata frequenza respiratoria determina spostamenti minimi (dovute alla fasi respiratorie di inspirazione ed espirazione) ma

tecnicamente rilevanti delle strutture vascolari in esame impedendo l'ottenimento di segnali puliti.

La valutazione delle lesioni esaminate mediante solo impiego di queste due modalità ha confermato quanto ormai comunemente accettato in ambito veterinario ed ambito umano. La sola descrizione dei pattern ecografici non appare sufficiente per emettere un sospetto di benignità o malignità (Nyland 2002, Quaia 2008). Così anche tra i nostri risultati è possibile constatare come per esempio l'aspetto ecografico dei tre epatomi diagnosticati (n°1-3) vari dalla lesione iperecogena omogenea ad una ipoecogena passando per una disomogenea. Allo stesso modo dei quattro epatocarcinomi diagnosticati (n°13-16) uno appariva come una lesione disomogenea, uno come una lesione ipoecogena, un altro come una lesione iperecogena disomogenea. Questo estremo overlap di aspetti ecografici non consente spesso di formulare ipotesi diagnostiche anche per il fatto che i pazienti a noi riferiti sono spesso asintomatici. L'impiego dell'esame ultracontrastografico appare di notevole interesse in ragione dei dati disponibili in letteratura umana dove tale metodica incrementa la capacità di identificazione delle lesioni maligne rispetto all'esame convenzionale e rivela una performance diagnostica ed una confidenza simile alla TC. Inoltre la mancata necessità della narcosi per lo studio ultracontrastografico, a differenza della TC, lo rende preferibile soprattutto in quei soggetti che per compromissioni sistemiche hanno un rischio anestesiológico più elevato. Nei tre casi di epatoma identificati il comportamento ultracontrastografico ha mostrato un comportamento del tutto sovrapponibile a quello descritto in medicina umana ove l'epatoma (o adenoma) rappresenta una lesione focale epatica rara e viene riscontrato soprattutto nelle donne che assumono contraccettivi orali. Quaia, in accordo con le linee guida della EFSUMB (European Federation Society for Ultrasound in Medicine and Biology) lo descrive con un enhancement diffuso con aspetto ipervascolare di tipo omogeneo o disomogeneo in relazione alle dimensioni. La crescita della lesione sembra infatti determinare la formazione di lacune vascolari dovute a ressi vasale che all'esame con mezzo di contrasto risultano per loro natura non captanti. In letteratura veterinaria il lavoro di O'Brien che differenzia il comportamento delle lesioni epatiche benigne da quelle maligne riporta quattro casi di epatoma con

comportamento sovrapponibile a quello riportato in umana descrivendolo come isoecogeneo al parenchima epatico al picco di enhancement ed in tre casi su quattro omogeneo. La lesione che ha mostrato caratteristiche di disomogeneità, l'unica fra tutte le patologie benigne, mostrava regioni con scarsa assunzione delle microbolle e riconducibili alle lacune vascolari descritte in umana. Anche i nostri dati confermano tale comportamento. In due casi su tre gli epatomi hanno mostrato, in fase arteriosa, una captazione precoce del mezzo di contrasto ed un enhancement omogeneo e di ecogenicità simile al parenchima epatico sia in fase portale che tardiva. L'altro epatoma, il n°3, ha mostrato un comportamento in tutto e per tutto sovrapponibile a quello descritto in letteratura con fasi arteriosa, portale e tardiva simili al parenchima epatico ed omogenee. Per quanto riguarda i pattern vascolari invece abbiamo notato in tutti e tre un pattern arterioso intratumorale, caratterizzato dalla presenza diffusa di strutture vascolari arteriose che afferiscono alla lesione irrorandola con direzione centripeta (Isozaky 2003), ed un pattern diffuso omogeneo in fase portale e tardiva.. L'iperplasia nodulare rappresenta in medicina umana una alterazione molto frequente. Nell'80% dei casi è caratterizzabile mediante color doppler grazie alla evidenza di un vaso arterioso centrale diramantesi verso la periferia della lesione con aspetto a "ruota di carro", e di un vaso venoso periferico di drenaggio. Nei nostro lavoro la valutazione Doppler è stata effettuabile solamente in uno (n°4) dei due casi (n°4 e 5) che ha mostrato una vascolarizzazione prevalentemente periferica. La somministrazione del mezzo di contrasto ha mostrato in fase arteriosa un enhancement modicamente precoce in un caso ed sovrapponibile al parenchima epatico nell'altro, Le fasi portali e tardive hanno mostrato invece enhancement omogenei e sovrapponibili al parenchima epatico. Le caratteristiche vascolari hanno mostrato per entrambi i soggetti un pattern intratumorale in fase arteriosa ed un pattern diffuso omogeneo in fase portale e tardiva. L'aspetto ultracontrastografico di tale patologia appare coerente con quanto riscontrato da O'Brien ove tra l'altro ben tredici delle diciassette lesioni benigne erano rappresentate da noduli di iperplasia. tutti e tredici i casi assumono il mezzo di contrasto in maniera uniforme e sovrapponibile in tutte le fasi al parenchima epatico. Anche i risultati ottenuti da Volta (2008) in un caso di iperplasia nodulare mostrano comportamento sovrapponibile con

fase arteriosa precoce e fase portale e tardiva omogenea. In medicina umana il pattern più frequente in corso di esame ecografico con mezzo di contrasto è caratterizzato da un enhancement centrale con aspetto a ruota di carro in fase arteriosa precoce che diviene omogeneo in fase tardiva ed un enhancement omogeneo simile al parenchima circostante in fase portale e tardiva. Il riscontro di un enhancement precoce in fase arteriosa in uno dei due soggetti, del nostro studio potrebbe suggerire aspetti simili con l'enhancement a ruota di carro. L'ampliamento della casistica per questa patologia potrebbe fornire ulteriori informazioni riguardanti le caratteristiche vascolari al fine di identificare ulteriori elementi distintivi rispetto alle altre patologie descritte.

I due casi di steatosi focale (n°6-7) da noi riscontrati presentavano all'esame ultracontratografico un enhancement diffuso ed omogeneo di aspetto del tutto sovrapponibile al parenchima circostante. La sovrapponibilità tra lesione e parenchima determinava in sede di studio con mezzo di contrasto una evidente incapacità di distinguere le lesioni focali dal fegato ecograficamente normale. In medicina umana queste alterazioni sono legate alla presenza di steatosi macrovescicolare. In termini di vascolarizzazione tali aree non differiscono dal parenchima epatico circostante e presentano tipicamente un aspetto iperecogeno o ipoecogeno con morfologia triangolare a base capsulare (Quaia 2008). Questo aspetto riveste carattere diagnostico e non richiede ulteriori accertamenti. Quando invece, come nei nostri casi, le lesioni assumono morfologia rotondeggiante o sono in numero maggiore di una, le linee guida dell'EFSUMB ritengono necessaria una loro valutazione contrastografica. Il comportamento a seguito di somministrazione di mezzo di contrasto mostra un enhancement ipo/iso vascolare in fase arteriosa ed isovascolare nelle altre due mostrando corrispondenza con i risultati da noi ottenuti.

Nei due casi di epatite cronica attiva (n°8-9), i riscontri dell'esame con mezzo di contrasto hanno mostrato in fase arteriosa un enhancement precoce omogeneo in un caso, ed un enhancement ritardato omogeneo nell'altro, mentre nelle fasi portali e tardive le lesioni mostravano caratteristiche sovrapponibili al parenchima epatiche

così come i pattern vascolari (diffuso e omogeneo). La mancanza di dati disponibili per questa patologia in medicina veterinaria suggerisce sicuramente la necessità di un ampliamento della casistica; appare tuttavia confortante ai fini prognostici l'affinità di comportamento con le altre lesioni benigne.

In due casi (N°11-12) sui tre riscontrati in corso di cirrosi epatica il comportamento vascolare del fegato post somministrazione di mezzo di contrasto mostra enhancement e pattern vascolari omogenei e diffuso in tutte le fasi. Il terzo caso (n° 10) mostra invece enhancement diffusamente disomogeneo sia durante la fase arteriosa sia in fase portale e tardiva. Il pattern vascolare mostrano ridotta perfusione intratumorale in fase arteriosa e omogeneo diffusa in fase portale e tardiva. Il differente comportamento potrebbe essere riconducibile alle due categorie morfologiche di cirrosi descritte nel cane dallo WSAVA Liver Standardization Group e rappresentati dalla cirrosi micronodulare e dalla macronodulare. La prima è caratterizzata da noduli inferiori ai tre millimetri mentre la seconda presenta noduli di dimensioni fino ad alcuni centimetri nel cui contesto sono spesso presenti focolai necrotici. Nel terzo caso la ridotta assunzione del mezzo di contrasto associata alla presenza di piccole e diffuse aree ipocaptanti potrebbe suggerire la presenza di focolai necrotici delle forme macronodulari, supportata anche dalla disarchitettura riscontrata all'esame B-mode.

I quattro casi di carcinoma mostravano in tutti e quattro i soggetti (N°13-16) lesioni ipercaptanti caratterizzate da una presa di contrasto precoce in fase arteriosa. Le fasi portali e tardive erano invece caratterizzate da un enhancement isoecogeno al parenchima epatico in 3 casi e ed iso/ipoecogeno nell'altro caso. Tutte le lesioni mostrano inoltre la presenza di aree non captanti (centrale e singola in un caso, multiple diffuse negli altri due) in tutte le fasi. Tuttavia come riscontrato in medicina umana e veterinaria (Quaia 2008, O'Brien 2004) la presenza di aree non captanti è rilievo frequente anche in corso di epatoma e dovuto alla presenza di aree necrotiche. Tale reperto non appare quindi utile nel discriminare tra lesione maligna o benigna. In un soggetto (n°15) lo studio con microbolle ha permesso una migliore stima della

lesione anche in termini dimensionali permettendo una più netta demarcazione dei confini neoplastici rispetto allo studio in B-mode. I pattern vascolari riscontrati nei quattro pazienti sono quello arterioso intratumorale disomogeneo in un caso (n°13) e perinodulare periferico negli altri tre. In medicina umana il pattern classico dell'epatocarcinoma dopo somministrazione del mezzo di contrasto riproduce il pattern mostrato in TC e RM consistente in un aspetto francamente ipervascolare in fase arteriosa spesso con l'evidenza di vasi afferenti, determinata dalla prevalente perfusione tumorale a carattere principalmente arteriosa, ed un aspetto ipovascolare in fase tardiva, a volte con evidenza di rim periferico. L'enhancement è frequentemente disomogeneo in lesioni di diametro maggiore di 3 cm per la presenza di componenti necrotiche. L'aspetto ipovascolare in fase tardiva è riscontrabile in circa il 60% degli epatocarcinomi mentre nel 40% rimanente, costituito soprattutto da carcinomi ben differenziati, si apprezza un aspetto isovascolare in fase tardiva che rende tali lesioni simili ai noduli di natura benigna. In medicina veterinaria O'Brien descrive gli epatocarcinomi come lesioni caratterizzate da un enhancement eterogeneo con evidenza di vasi tortuosi afferenti ed una fase tardiva di washout precoce da parte della neoplasia. Tale comportamento risulta sovrapponibile a tutte le lesioni maligne da lui riscontrate. Le affinità di comportamento sono quindi evidenti. La fase arteriosa caratteristica nell'uomo appare presente anche nei nostri risultati, ed in quelli di O'Brien, così come la presenza di aree non captanti riferibili ai focolai necrotici riscontrati in sede di esame istologico. Il comportamento in fase portale e tardiva sembra assomigliare invece a quanto descritto per i carcinomi ben differenziati mostrando un enhancement tendenzialmente isoecogeno al parenchima. Dato interessante se si tiene conto che uno dei casi da noi studiati la diagnosi istologica era appunto questa (N° 14). Per quanto concerne pattern vascolari tra i nostri casi uno su tre mostra comportamento simile al pattern più comune descritto da Isozaky in corso di epatocarcinoma: pattern intratumorale in fase arteriosa, diffuso omogeneo/eterogeneo in fase portale e con difetto di captazione in fase tardiva. Gli altri tre soggetti nel nostro campione hanno evidenziato un pattern prevalentemente perinodulare riscontrato in medicina umana solo nell'1% dei casi. Questo risultato può fornire utili indicazioni in termini di

distinzione tra lesioni maligne e benigne. Infatti il riscontro di enhancement simili a quelli identificati in corso di epatoma (precoce in fase arteriosa ed isoecogeno in nelle fasi successive) suggerisce la necessità di identificare altre caratteristiche utili al fine diagnostico. Il pattern perinodulare non è da noi mai stato rilevato in corso di patologie benigne e può rappresentare quindi un importante parametro di discriminazione.

Nei due casi di carcinoma indifferenziato (n°17-18) sono stati osservati comportamenti differenti. Nel primo caso (n°17) l'esame con mezzo di contrasto ha presentato una fase arteriosa con captazione precoce da parte dei vasi che attraversano la massa e delle sue porzioni periferiche. Il riempimento è apparso disomogeneo per la presenza di un'area centrale ipocaptante. In fase tardiva il wash-out è risultato precoce e rapido. Il pattern vascolare appare intratumorale in fase arteriosa, diffuso eterogeneo in fase portale e con difetto di riempimento in fase tardiva. Nell'altro caso (n°18) invece la regione periferica della lesione ha mostrato captazione sovrapponibile al parenchima epatico mentre la parte centrale, verosimilmente necrotica, è risultata priva di enhancement. In fase portale ha mostrato comportamento analogo mentre in fase tardiva la periferia della lesione ha mostrato un wash-out precoce risultando ipoecogena rispetto al parenchima. I pattern identificati sono stati nodulare periferico continuo in fase portale e di difetto perfusionale in fase tardiva. Nei tre casi di carcinoma metastatico (carcinoma pancreatico n°22, gastrico n°23, mammario n°24) le lesioni hanno mostrato in un caso (carcinoma pancreatico) un enhancement precoce in fase arteriosa con progressiva perdita e conseguente wash-out precoce in fase tardiva. Gli altri due soggetti hanno evidenziato l'assenza di enhancement in tutte le fasi. Il pattern vascolare riscontrato in corso di secondarismi da carcinoma pancreatico è stato perinodulare mentre per gli altri due soggetti le lesioni hanno mostrato assenza di perfusione. Il caso di metastasi da osteosarcoma (n°27) ha mostrato un enhancement lesionale in fase arteriosa e portale sovrapponibile a quello parenchimale mentre la fase tardiva ha presentato wash-out precoce. I pattern vascolari identificati sono stati: peritumorale in fase arteriosa, eterogeneo in fase portale e con difetto perfusionale in

fase tardiva. In medicina umana gli enhancement in corso di metastasi epatiche possono essere di tre tipi: ipovascolare persistente, a rim periferico in fase arteriosa con aspetto ipovascolare in fase tardiva oppure con enhancement diffuso ipervascolare in fase arteriosa ed ipovascolare in fase tardiva. Dato saliente è che tutti i tipi di lesioni metastatiche in fase portale e tardiva appaiono ipovascolari determinando un netto aumento della loro cospicuità e perciò una migliore visibilità. I casi di carcinoma metastatico riscontrati da O'Brien hanno presentato wash-in e wash-out precoce. Il confronto di quanto pubblicato con i nostri dati suggerisce quindi come anche in medicina veterinaria la presenza di lesioni caratterizzate da wash-out precoce debba indirizzare il clinico verso un sospetto di malignità così come il riscontro di lesioni non captanti in tutte le fasi ma caratterizzate da un aspetto in b-mode differente dalle lesioni cistiche. Anche nelle metastasi da carcinoma, quando identificabile (3 casi su 5) il pattern è stato perinodulare in 2 casi e intratumorale eterogeneo fornendo così ulteriori informazioni riguardo la possibile origine maligna dell'organo.

Nei due casi di linfoma (n°19-20) uno di essi, il n°20, mostra comportamento del tutto sovrapponibile al parenchima sano rendendo difficile la distinzione tra parenchima epatico e lesione. L'altro mostra invece differente comportamento delle lesioni identificando alcune di esse un enhancement ritardato rispetto la parenchima epatico sano ed altre caratterizzate invece dalla persistente mancanza di captazione delle microbolle. In fase tardiva poi le lesioni captanti hanno mostrato wash-out precoce rispetto al parenchima. Il pattern vascolare in questo caso è risultato periferico nelle lesioni caratterizzate da enhancement e di mancata perfusione nelle altre. L'unico caso descritto da O'Brien mostra comportamento sovrapponibile a tutte le altre lesioni maligne caratterizzate da wash-in e wash-out precoce. I nostri risultati appaiono più in sintonia con quanto descritto in medicina umana da Quaia dove, sebbene poco frequente, il linfoma sembrerebbe caratterizzato da aspetti iper/ipovascolare in fase arteriosa e ipovascolare in fase tardiva (Quaia 2008). Una casistica più ampia potrà forse chiarire il comportamento di tale patologia. Questo rappresenta tra l'altro l'unico caso nel quale una lesione maligna abbia mostrato un

comportamento del tutto sovrapponibile al parenchima epatico ecograficamente normale a conferma di quanto le neoplasie a cellule rotonde siano caratterizzate da aspetti ecograficamente subdoli sulla base dei quali è impossibile emettere un sospetto ecografico di benignità o malignità. I protocolli per la stadiazione di soggetti affetti da linfoma richiedono infatti oltre ad un'esame ecografico standard il campionamento mediante biopsia ad ago sottile di milza e fegato nonostante l'esito dell'indagine abbia emesso un referto negativo per neoplasia.

L'unico caso di mastocitoma ha presentato un comportamento complesso. Il wash-in ha mostrato una minore captazione della porzione mediale mentre nella laterale abbiamo notato la presenza di un anello vascolare con centro non captante ed attraversato da un vaso. In fase portale la parte mediale ha raggiunto enhancement sovrapponibile al parenchima sano permanendo isoecogena anche in fase tardiva mentre la porzione laterale ha continuato a manifestare la presenza di una area priva di enhancement compatibile con la presenza di un focolaio necrotico. I pattern vascolari sono stati di tipo di tipo periferico (fase arteriosa) e intratumorale (fase portale e tardiva) nella parte laterale mentre la mediale ha mostrato un pattern costante diffuso omogeneo. In medicina umana e nel lavoro di O'Brien il mastocitoma non è descritto. Sono possibili però alcune considerazioni. Un comportamento così complesso potrebbe essere in parte determinato dalle dimensioni della lesione. Sebbene il wash-out sia avvenuto tardivamente ha comunque preceduto quello del parenchima confermando almeno in parte quanto riscontrato nella maggior parte delle altre patologie maligne. Le due lesioni da emangiosarcoma hanno mostrato comportamento differente, nel paziente che presentava lesioni iperecogene lo studio contrastografico ha mostrato una captazione disomogenea ed un wash-out precoce mentre il paziente con lesioni ipoecogene ha presentato una mancata captazione in tutte le fasi. O'Brien nel 2007 ha riscontrato come la somministrazione di mezzo di contrasto sia in grado di incrementare la capacità di identificazione delle lesioni epatiche da emangiosarcoma. Le lesioni inoltre apparivano ipocaptanti rispetto al parenchima epatico, caratteristica comune anche a nostro secondo paziente. Come suggerito da Olerth (2008) la causa di tale comportamento potrebbe

essere riconducibile alla presenza di lacune vascolari nel contesto della lesione determinanti compressione sul tessuto circostante ostacolando così la perfusione da parte del mezzo di contrasto. In corso di emangiosarcoma la formazione di lacune vascolari. Il primo soggetto ha invece mostrato comportamento contrastografico sovrapponibile a quello comunemente riscontrato in corso di metastasi epatiche: il wash-out precoce. Il differente comportamento dei due casi potrebbe essere spiegato con i due stadi evolutivi che le lesioni possono rappresentare iniziale quello iperecogene con wash-out precoce e tardivo quelle ipoecogene con assenza di enhancement.

Riassumendo: in corso di patologie benigne l'esame ultracontrastografico ha mostrato un comportamento abbastanza omogeneo caratterizzato da presa di contrasto contemporanea o leggermente precoce rispetto al parenchima epatico in fase arteriosa e da fasi portali e tardive tendenzialmente omogenee e sovrapponibili al parenchima epatico. Questo comportamento è risultato presente anche in un caso di linfoma. In corso di epatocarcinoma i dati appaiono simili a quelli descritti in umana come meno frequenti e riconducibili a lesioni di piccolo calibro o a epatocarcinomi ben differenziati. In questi casi infatti l'enhancement riscontrato appare anche in fase tardiva isoecogeno con il parenchima. Il rischio pertanto è quello di interpretare come benigno (pensando per esempio all'epatoma) un epatocarcinoma. L'overlap da noi riscontrato tra epatoma e epatocarcinoma per quanto riguarda l'enhancement delle lesioni può essere ridotto attraverso la valutazione del pattern vascolare. Questo, infatti, in tre epatocarcinomi su quattro è risultato essere di tipo nodulare periferico, pattern mai riscontrato nelle lesioni benign. Per quanto riguarda le lesioni metastatiche da carcinoma osteosarcoma e emangiosarcoma esse hanno mostrato comportamenti in linea con quanto descritto in letteratura umana e con quanto disponibile in letteratura veterinaria. Il riscontro di lesioni focali con wash-out precoce in soggetti con anamnesi oncologica deve far propendere il clinico verso un maggior sospetto di malignità.

## *Conclusioni*

La differente epidemiologia delle patologie epatiche nell'uomo e la pratica ormai consolidata di studi clinici multicentrici ha consentito alla medicina umana la raccolta di casistiche di considerevoli dimensioni. Sono stati così impostati studi contrastografici riguardanti singole patologie al fine di identificarne le caratteristiche perfusionali ricorrenti. In medicina veterinaria l'implementazione dell'esame ecografico mediante studio contrastografico riguarda ancora l'ambito della ricerca sia per la scarsa diffusione di apparecchiature predisposte per tale metodica sia perchè, sebbene le prime pubblicazioni siano incoraggianti, le sue possibilità diagnostiche sono in fase di studio. Inoltre l'elevato costo del mezzo di contrasto unito all'impossibilità di conservarlo per più di qualche ora rendono tale metodica poco applicabile nella pratica clinica ambulatoriale.

Nel nostro lavoro lo studio perfusionale su soggetti appartenenti alla specie felina ha fornito indicazioni utili per l'identificazione di un eventuale protocollo.

La maggiore difficoltà incontrata è stata sicuramente l'adozione di un dosaggio (0,06 ml/kg) che, dimostratosi funzionale nella popolazione canina ha invece messo in evidenza problemi di sovradosaggio nel gatto.

Infatti, nonostante il riscontro di valori sovrapponibili a quelli identificati nel cane per quanto riguarda l'upslope media ( $3,88 \pm 1,5$ ) gli indici perfusionali rappresentati dai tempi di picco  $T_0$  ( $59 \pm 24,52$  sec) e  $T_{up}$  ( $50,25 \pm 23,6$  sec) mostrano una persistenza dell'enhancement e conseguentemente del mezzo di contrasto prolungata. Il rilievo di valori di intensità di pixel prossimi allo zero riscontrati nei fotogrammi iniziali nei singoli boli suggerisce un problema dovuto al sovradosaggio del mezzo di contrasto piuttosto che ad un accumulo di microbolle secondario alla somministrazione di boli in successione. Quanto detto, assieme alla possibile interferenza con le fasi di eliminazione dell'esafluoruro di zolfo per via respiratoria esercitata da polipnea caratterizzata da respiro superficiale e ridotto volume corrente, suggerisce lo svolgimento di ulteriori studi con dosaggi inferiori ed effettuato su soggetti sottoposto a respirazione controllata. Questa modalità consentirebbe infatti di eliminare le problematiche riscontrate in fase di studio nella scelta di posizionamento

della regione di interesse (ROI) in funzione della fase respiratoria e di sottoporre alle successive elaborazioni sempre la stessa porzione di parenchima epatico.

Nonostante il dosaggio il mezzo di contrasto impiegato si è rivelato sicuro senza evidenti effetti collaterali.

Per quanto riguarda invece lo studio contrastografico delle lesioni focali epatiche nel cane i risultati da noi ottenuti sono in linea con le pubblicazioni disponibili.

Le lesioni diagnosticate come benigne hanno mostrato in due casi (due epatomi) un enhancement precoce in fase arteriosa con fasi portali e tardive sovrapponibili al parenchima epatico. Tutte le altre lesioni non hanno mostrato differenze di enhancement dal resto del fegato durante tutto l'esame. I pattern vascolari riscontrati sono stati tutti intratumorale in fase arteriosa e diffuso omogeneo caratterizzato da portale e tardiva sovrapponibile al parenchima epatico ecograficamente sano con pattern vascolare intratumorale in fase arteriosa e diffuso omogeneo in quelle successive. In corso di epatocarcinoma i dati appaiono simili a quelli meno frequenti descritti in umana e riconducibili a lesioni di piccolo calibro o a epatocarcinomi ben differenziati. Tutti i casi di epatocarcinoma hanno mostrato infatti enhancement precoce in fase arteriosa con fase portale e tardiva sovrapponibile al parenchima epatico e disomogenea. In letteratura, umana e veterinaria, la captazione disomogenea non è ritenuto un parametro discriminante tra benigno e maligno perchè riscontrato anche in corso di epatoma a seguito della presenza di componenti emorragiche intratumorali. E' perciò risultato interessante il riscontro di un pattern vascolare arterioso perinodulare in tre casi su quattro di epatocarcinoma, pattern mai identificato in corso di lesioni benigne.

Le lesioni maligne di origine metastatica hanno mostrato comportamento simile tra loro e in accordo con la letteratura caratterizzato prevalentemente da un wash-out precoce rispetto la restante parenchima epatico.

Il linfoma infine si conferma patologia subdola rappresentando l'unico caso (su due di Linfoma) in cui una patologia maligna abbia dimostrato caratteristiche contrastografiche del tutto sovrapponibili al restante parenchima epatico.

***APPENDICE***  
***TABELLE STUDIO 1***

## GATTO 1

	Bolo 1	Bolo 2	Bolo 3	Media
0	0	0	0,045	0,254
3	0	0,04	0,677	0,239
7	0,091	0,011	0,435	0,179
10	24,87	0,341	12,806	12,672333
13	66,737	50,84	54,808	57,461667
17	113,376	54,914	58,869	75,719667
20	125,159	58,025	68,093	83,759
23	125,72	60,139	86,222	90,693667
26	125,607	95,993	87,201	102,93367
29	141,558	104,303	100,573	115,478
32	130,678	107,698	115,954	118,11
35	127,408	113,814	105,163	115,461667
38	114,035	103,614	101,92	106,523
41	105,385	84,218	108,233	99,278667
44	121,178	92,558	98,579	104,105
47	113,129	88,641	94,31	98,693333
51	110,215	82,823	102,377	98,471667
54	115,68	101,535	103,004	106,73967
57	113,924	101,556	113,421	109,63367
60	113,451	104,163	100,76	106,12467
63	105,999	105,656	105,177	105,61067
66	102,212	99,787	103,128	101,709
69	109,346	100,054	102,562	103,98733
72	98,681	106,649	106,779	104,03633
75	101,547	91,264	93,028	95,279667
78	82,435	97,751	94,189	91,458333
82	95,953	97,366	90,183	94,500667
83	95,279	89,962	71,755	85,665333
86	82,814	101,494	92,495	92,267667
88	66,722	90,974	97,199	84,965
95	59,974	94,668	98,829	84,490333
99	48,641	92,017	71,361	70,673
102	47,085	87,683	85,792	73,52
113	34,553	77,423	65,312	59,096
122	21,659	74,059	59,5	51,739333
132	15,018	75,628	64,96	51,868667
142	16,537	72,976	42,978	44,163667
153	5,185	81,285	39,315	41,928333
163	4,049	70,017	42,403	38,823
173		69,802	26,645	48,2235
183		53,002	13,487	33,2445
193			21,948	21,948

**TABELLA INTENSITA' MEDIE**

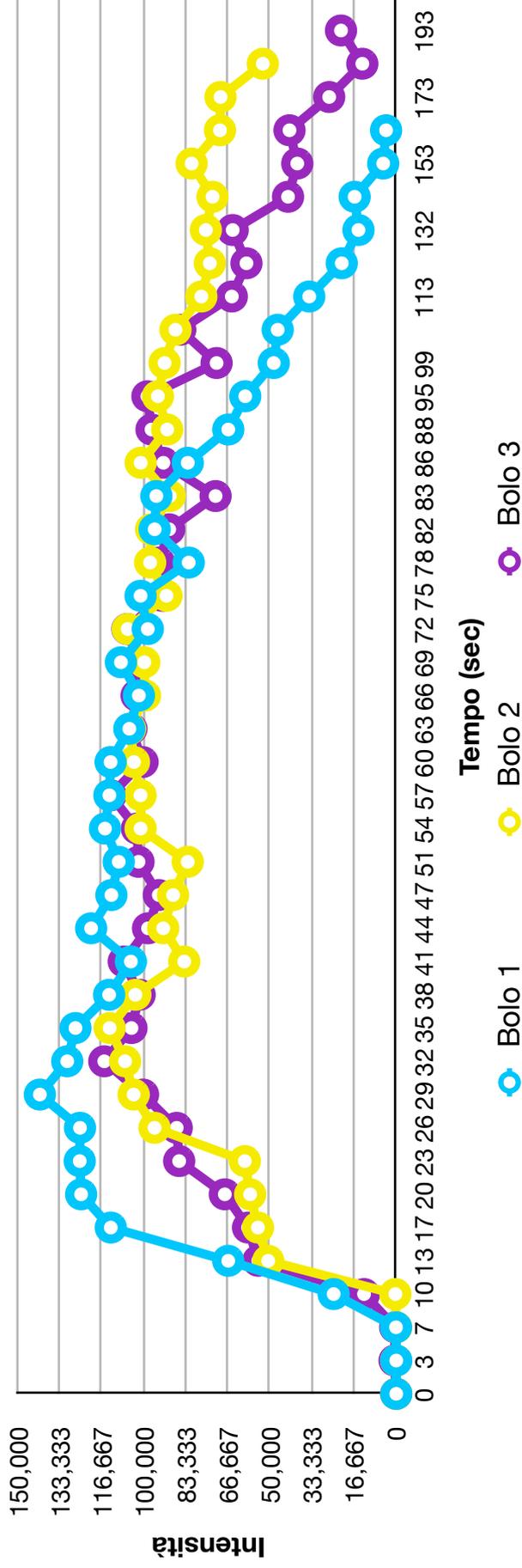
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
10	24,87	0,341	12,806	12,672333
13	66,737	50,84	54,808	57,461667
17	113,376	54,914	58,869	75,719667
20	125,159	58,025	68,093	83,759
23	125,72	60,139	86,222	90,693667
26	125,607	95,993	87,201	102,93367

**TABELLA UPSLOPE**

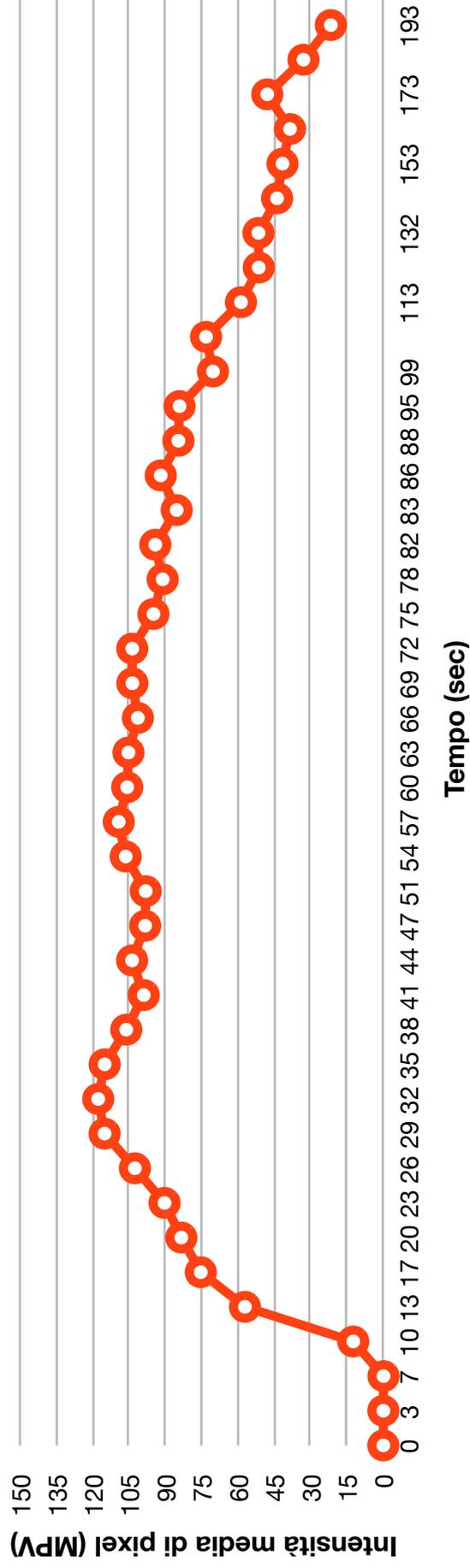
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
38	114,035	103,614	101,92	106,523
41	105,385	84,218	108,233	99,27867
44	121,178	92,558	98,579	104,105
47	113,129	88,641	94,31	98,69333
51	110,215	82,823	102,377	98,47167
54	115,68	101,535	103,004	106,7397
57	113,924	101,556	113,421	109,6337
60	113,451	104,163	100,76	106,1247
63	105,999	105,656	105,177	105,6107
66	102,212	99,787	103,128	101,709

**TABELLA DOWNSLOPE**

**Gatto 1: Curve Intensità/Tempo Singoli Boli**



**Gatto 1: Curva Intensità/Tempo**



## GATTO 2

	Bolo 1	Bolo 2	Bolo 3	Media
0	0	0	0,02	0,0066667
3	1,305	0,747	12,18	4,744
7	27,241	25,381	29,995	27,539
10	48,475	24,03	61,941	44,815333
13	72,296	32,205	55,057	53,186
17	91,27	26,073	65,203	60,848667
20	93,378	37,099	88,48	72,985667
23	112,736	44,375	97,67	84,927
26	105,858	54,092	87,69	82,546667
29	125,635	52,522	102,691	93,616
32	114,745	68,626	118,863	100,74467
35	132,891	62,001	115,366	103,41933
38	129,969	73,816	118,707	107,49733
41	131,649	72,356	121,294	108,433
44	121,264	62,683	120,423	101,45667
47	135,722	52,762	115,912	101,46533
51	126,259	67,7	112,377	102,112
54	110,981	63,942	102,83	92,584333
57	110,208	61,311	97,905	89,808
60	97,535	78,079	87,155	87,589667
63	95,952	71,529	89,257	85,579333
66	115,539	80,497	102,804	99,613333
69	108,073	80,569	100,2	96,280667
72	112,682	82,281	91,182	95,381667
75	115,54	76,606	104,275	98,807
78	112,214	78,354	104,535	98,367667
82	117,082	72,725	113,696	101,16767
83	112,567	69,466	99,252	93,761667
86	98,297	71,822	102,384	90,834333
88	95,035	64,869	89,652	83,185333
95	111,832	66,284	87,998	88,704667
99	92,767	71,667	89,276	84,57
102	114,34	64,423	68,802	82,521667
113	101,974	66,623	83,608	84,068333
122	103,792	66,99	55,061	75,281
132	91,008	62,509	67,916	73,811
142	101,392	52,954	50,821	68,389
153	92,511	56,14	45,675	64,775333
163	95,909	45,515	32,485	57,969667
173	97,873	44,116	44,151	62,046667
183	85,587	37,459	25,322	49,456
193	84,938	37,511	20,562	47,670333
200	87,739	38,961	22,096	49,598667

**TABELLA INTENSITA' MEDIE**

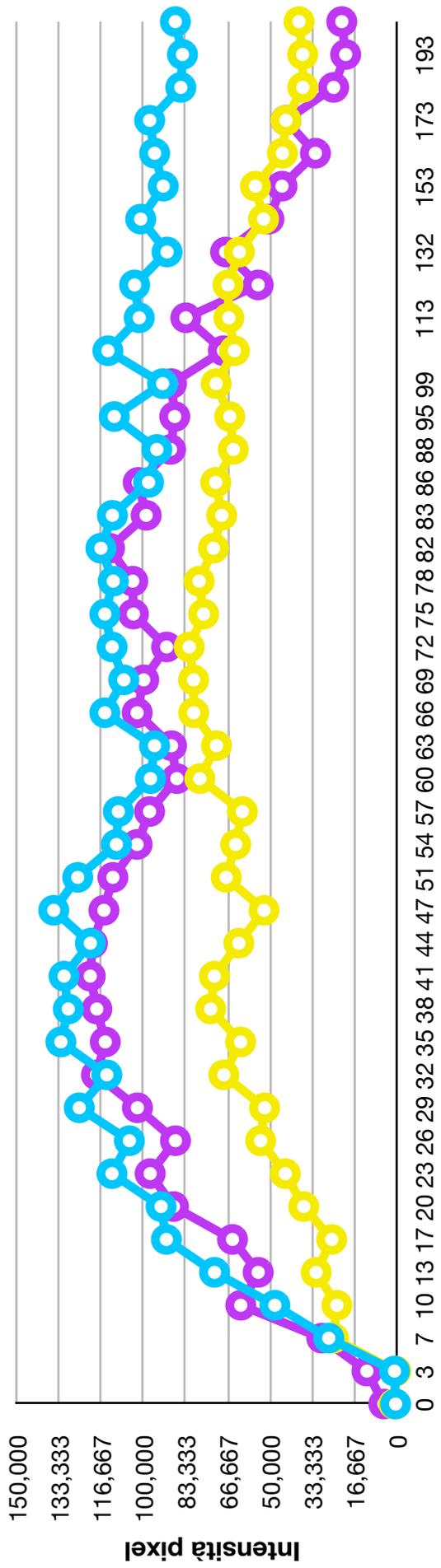
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
7	27,241	25,381	29,995	27,539
10	48,475	24,03	61,941	44,81533
13	72,296	32,205	55,057	53,186
17	91,27	26,073	65,203	60,84867
20	93,378	37,099	88,48	72,98567
23	112,736	44,375	97,67	84,927
26	105,858	54,092	87,69	82,54667
29	125,635	52,522	102,691	93,616

**TABELLA UPSLOPE**

	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
54	110,981	63,942	102,83	92,5843
57	110,208	61,311	97,905	89,808
60	97,535	78,079	87,155	87,5897
63	95,952	71,529	89,257	85,5793
66	115,539	80,497	102,804	99,6133
69	108,073	80,569	100,2	96,2807
72	112,682	82,281	91,182	95,3817
75	115,54	76,606	104,275	98,807
78	112,214	78,354	104,535	98,3677
82	117,082	72,725	113,696	101,168

**TABELLA DOWNSLOPE**

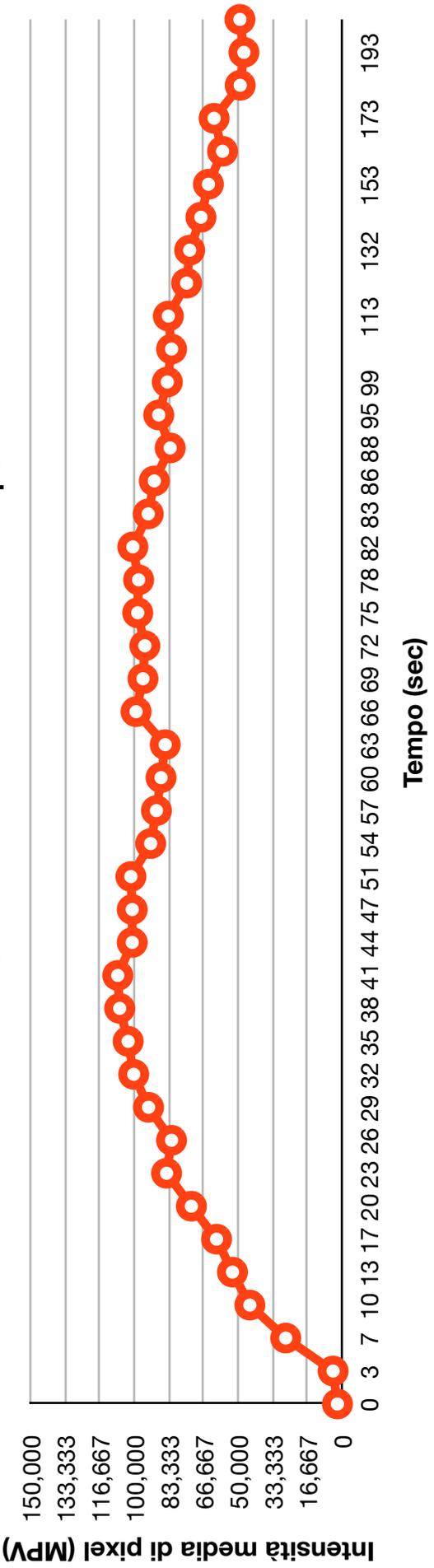
Gatto 2: Curve Intensità/Tempo Singoli Boli



Tempo (sec)

- Bolo 1
- Bolo 2
- Bolo 3

Gatto 2: Curva Intensità media/Tempo



Tempo (sec)

### GATTO 3

	Bolo 1	Bolo 2	Bolo 3	Media
0	0,02	0,079	0,02	0,0396667
3	0,942	0,601	0,523	0,6886667
7	2,17	0,711	1,259	1,38
10	2,535	36,481	1,129	13,381667
13	35,608	55,095	22,112	37,605
17	55,585	80,466	56,577	64,209333
20	78,825	91,331	105,121	91,759
23	72,312	98,752	110,826	93,963333
26	76,047	91,264	118,211	95,174
29	77,634	104,574	116,394	99,534
32	79,623	118,271	117,051	104,98167
35	94,89	114,959	115,532	108,46033
38	86,557	118,48	109,625	104,88733
41	86,994	119,126	112,94	106,35333
44	86,059	116,279	117,584	106,64067
47	92,706	102,987	111,118	102,27033
51	94,132	96,483	101,23	97,281667
54	101,504	93,1	97,25	97,284667
57	94,945	96,683	118,452	103,36
60	99,241	105,945	115,63	106,93867
63	98,69	97,787	115,223	103,9
66	97,463	113,911	111,156	107,51
69	77,425	94,144	108,395	93,321333
72	79,219	109,554	112,848	100,54033
75	76,948	123,736	107,88	102,85467
78	63,554	123,378	104,587	97,173
82	85,947	117,794	126,268	110,003
83	99,649	121,122	111,664	110,81167
86	88,747	124,993	103,672	105,804
88	75,325	116,787	102,816	98,309333
95	89,503	108,397	101,607	99,835667
99	91,273	106,322	90,775	96,123333
102	95,62	124,409	87,548	102,52567
113	93,805	116,351	81,362	97,172667
122	87,115	92,478	77,319	85,637333
132	51,719	94,994	69,999	72,237333
142	74,584	69,382	74,209	72,725
153	45,842	75,876	54,881	58,866333
163	29,143	78,664	37,789	48,532
173	17,166	82,785	42,562	47,504333
183	20,217	56,809	67,228	48,084667
193	9,594	57,435	79,111	48,713333
200	27,508	32,506	33,305	31,106333

**TABELLA INTENSITA' MEDIE**

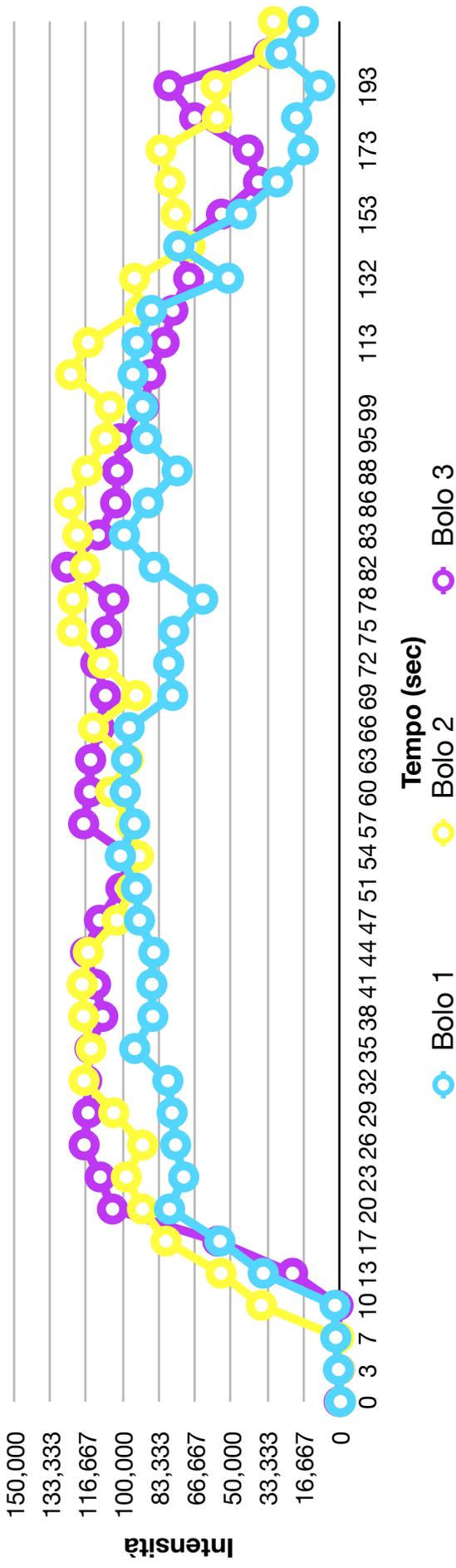
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
10	2,535	36,481	1,129	13,3817
13	35,608	55,095	22,112	37,605
17	55,585	80,466	56,577	64,2093
20	78,825	91,331	105,121	91,759
23	72,312	98,752	110,826	93,9633
26	76,047	91,264	118,211	95,174
29	77,634	104,574	116,394	99,534

**TABELLA UPSLOPE**

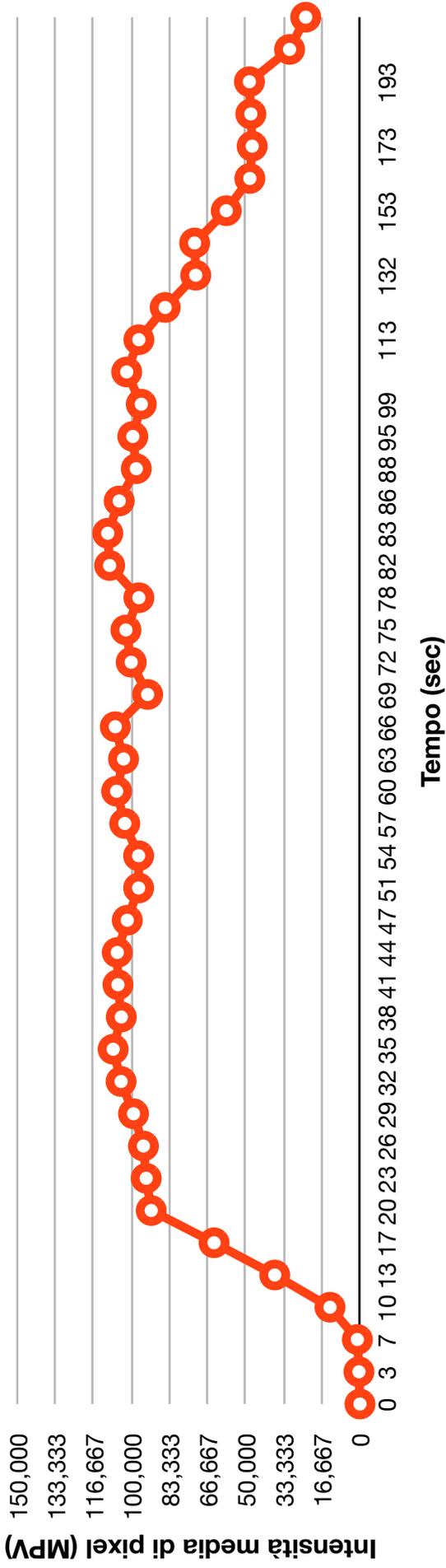
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
88	75,325	116,787	102,816	98,3093
95	89,503	108,397	101,607	99,8357
99	91,273	106,322	90,775	96,1233
102	95,62	124,409	87,548	102,526
113	93,805	116,351	81,362	97,1727
122	87,115	92,478	77,319	85,6373
132	51,719	94,994	69,999	72,2373
142	74,584	69,382	74,209	72,725
153	45,842	75,876	54,881	58,8663
163	29,143	78,664	37,789	48,532

**TABELLA DOWNSLOPE**

**Gatto 3: Curve Intensità/Tempo Singoli Boli**



**Gatto 3: Curva Intensità media/tempo**



## GATTO 4

	Bolo 1	Bolo 2	Bolo 3	Media
0	0	0	0	0
3	2,287	8,338	3,819	4,8146667
7	10,646	9,897	19,306	13,283
10	48,358	51,086	45,541	48,328333
13	72,8	75,563	80,866	76,409667
17	75,674	94,004	112,533	94,070333
20	95,561	86,568	116,2	99,443
23	119,198	96,624	127,607	114,476333
26	120,914	93,518	119,512	111,31467
29	117,862	102,202	118,647	112,90367
32	122,23	102,476	117,223	113,97633
35	105,141	100,905	106,624	104,22333
38	110,242	89,486	112,76	104,16267
41	105,872	129,03	125,724	120,20867
44	107,318	133,156	136,525	125,66633
47	98,528	130,283	126,796	118,53567
51	101,087	143,326	109,073	117,82867
54	95,039	139,573	111,279	115,297
57	91,78	133,595	115,978	113,78433
60	88,678	142,294	115,126	115,366
63	94,255	136,552	95,59	108,799
66	127,027	140,449	116,453	127,97633
69	111,236	125,039	110,665	115,64667
72	94,665	132,336	114,522	113,841
75	86,855	120,548	114,864	107,42233
78	85,527	124,703	121,647	110,62567
82	93,772	114,446	122,81	110,34267
83	86,481	115,599	114,191	105,42367
86	79,565	120,067	116,144	105,25867
88	58,627	123,188	120,558	100,791
95	72,816	111,837	114,691	99,781333
99	86,754	104,805	108,814	100,12433
102	89,62	106,482	107,447	101,183
113	86,541	99,215	109,46	98,405333
122	79,449	77,832	105,23	87,503667
132	61,587	75,778	112,064	83,143
142	63,788	89,809	114,601	89,399333
153	77,269	79,469	112,554	89,764
163	73,672	66,282	106,451	82,135
173	60,341	50,918	101,931	71,063333
183	56,572	34,163	83,454	58,063
193	27,584	36,878	73,825	46,095667
200	31,341	24,915	77,824	44,693333

**TABELLA INTENSITA' MEDIE**

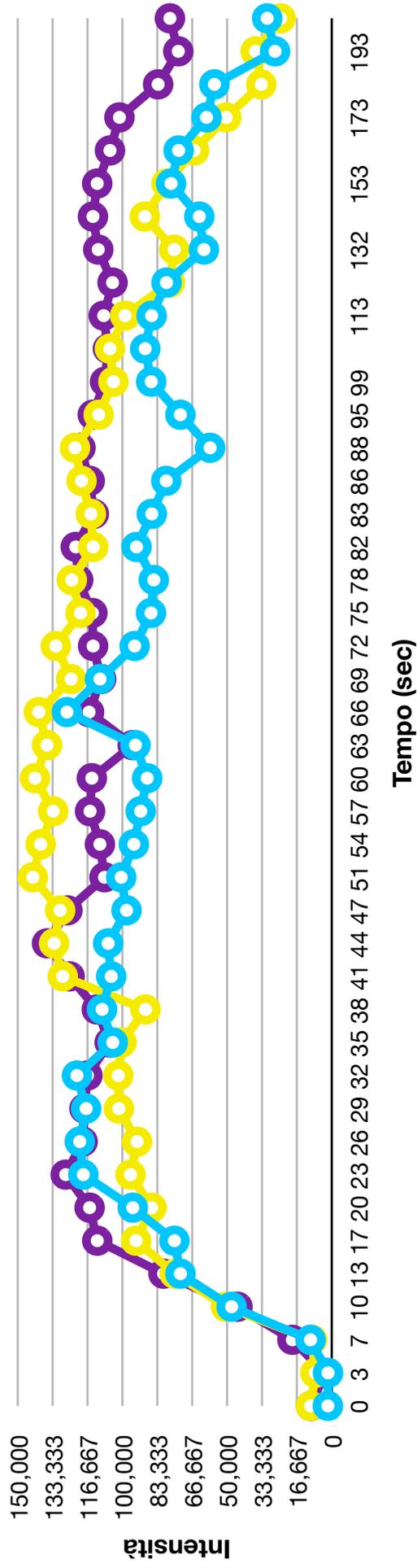
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
7	10,646	9,897	19,306	13,283
10	48,358	51,086	45,541	48,3283
13	72,8	75,563	80,866	76,4097
17	75,674	94,004	112,533	94,0703
20	95,561	86,568	116,2	99,443
23	119,198	96,624	127,607	114,476

**TABELLA UPSLOPE**

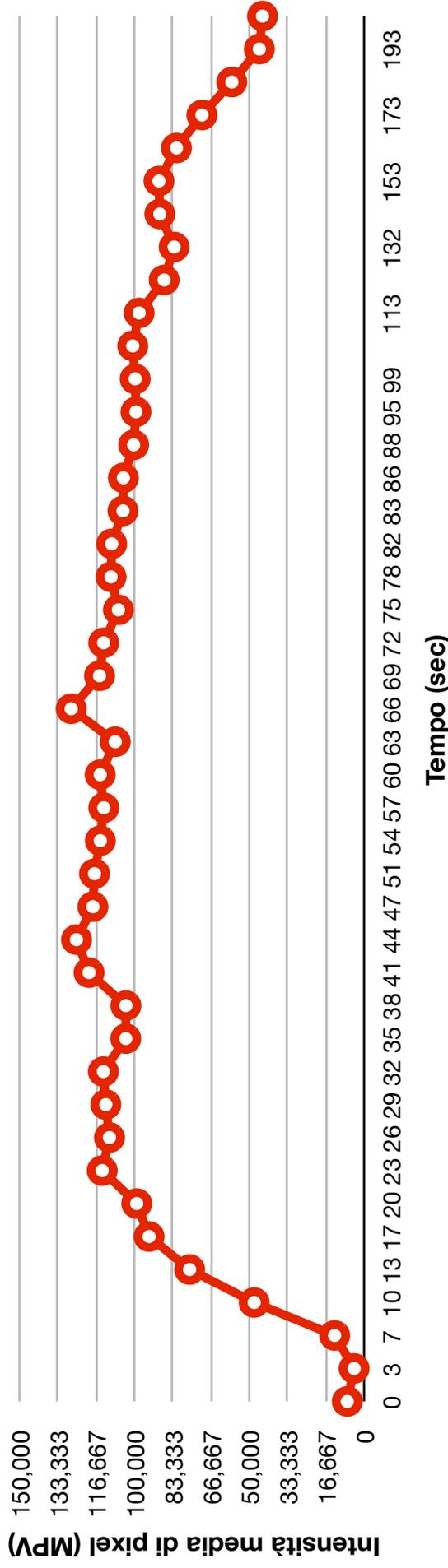
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
72	94,665	132,336	114,522	113,841
75	86,855	120,548	114,864	107,4223
78	85,527	124,703	121,647	110,6257
82	93,772	114,446	122,81	110,3427
83	86,481	115,599	114,191	105,4237
86	79,565	120,067	116,144	105,2587
88	58,627	123,188	120,558	100,791
95	72,816	111,837	114,691	99,78133
99	86,754	104,805	108,814	100,1243
102	89,62	106,482	107,447	101,183

**TABELLA DOWNSLOPE**

**Gatto 4: Curve Intensità/Tempo Singoli Boli**



**Gatto 4: Curva Intensità media/tempo**



## GATTO 5

	Bolo 1	Bolo 2	Bolo 3	Media
0	0	0	0	0
3	0,378	0	20,081	6,8196667
7	1,127	0,005	69,29	23,474
10	22,767	18,695	83,522	41,661333
13	35,954	22,756	95,489	51,399667
17	29,908	25,694	93,275	49,625667
20	33,504	33,908	99,79	55,734
23	32,492	39,384	97,59	56,488667
26	36,211	34,21	111,155	60,525333
29	53,949	44,548	116,69	71,729
32	55,736	48,45	106,041	70,075667
35	45,567	42,984	114,784	67,778333
38	56,197	45,301	106,89	69,462667
41	56,07	48,185	111,929	72,061333
44	42,083	45,197	113,82	67,033333
47	47,121	46,599	121,315	71,678333
51	48,738	42,634	110,632	67,334667
54	42,309	42,649	105,923	63,627
57	47,41	50,795	102,038	66,747667
60	42,922	48,825	100,062	63,936333
63	39,262	58,634	93,601	63,832333
66	38,929	61,567	95,339	65,278333
69	39,849	55,227	93,914	62,996667
72	37,511	54,949	95,145	62,535
75	38,646	60,037	98,064	65,582333
78	36,084	59,73	97,849	64,554333
82	42,572	62,961	83,561	63,031333
83	47,938	63,642	73,729	61,769667
86	42,423	54,23	77,491	58,048
88	46,862	57,622	82,968	62,484
95	44,933	57,647	77,838	60,139333
99	38,005	56,249	94,994	63,082667
102	34,969	49,402	92,037	58,802667
113	40,181	54,95	79,638	58,256333
122	33,973	48,376	100,861	61,07
132	21,743	50,028	69,742	47,171
142	23,12	40,359	74,606	46,028333
153	18,3	32,725	66,632	39,219
163	15,957	43,589	83,754	47,766667
173	17,83	35,197	53,594	35,540333
183	28,159	31,678		29,9185
193	20,337			20,337
200	13,683			13,683

**TABELLA INTENSITA' MEDIE**

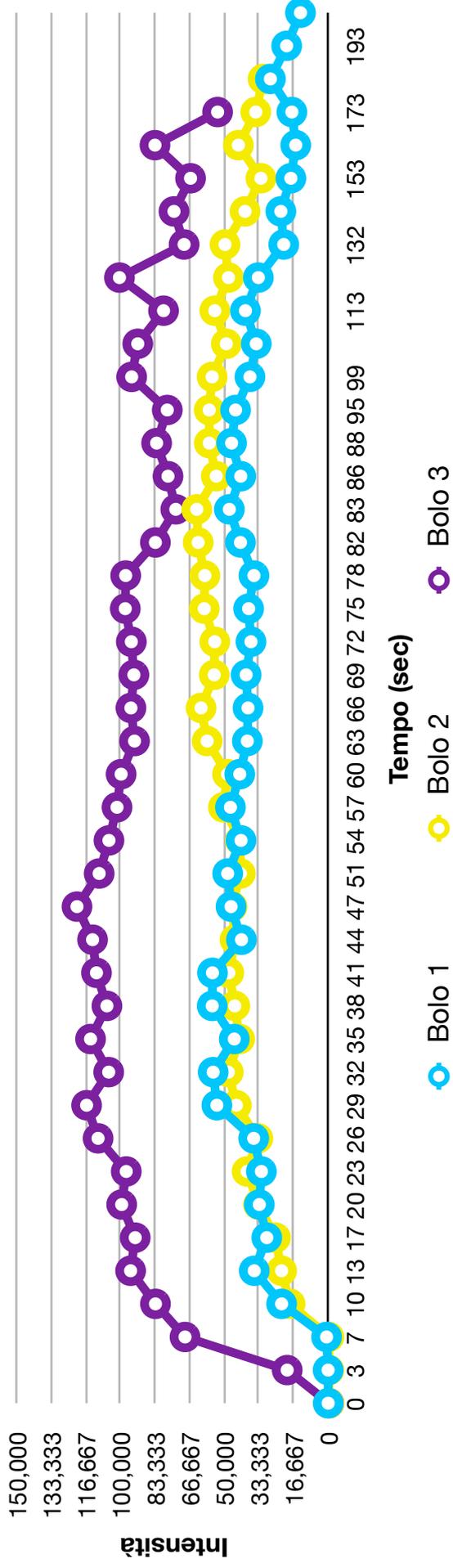
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
7	1,127	0,005	69,29	23,474
10	22,767	18,695	83,522	41,6613
13	35,954	22,756	95,489	51,3997
17	29,908	25,694	93,275	49,6257
20	33,504	33,908	99,79	55,734
23	32,492	39,384	97,59	56,4887
26	36,211	34,21	111,155	60,5253

**TABELLA UPSLOPE**

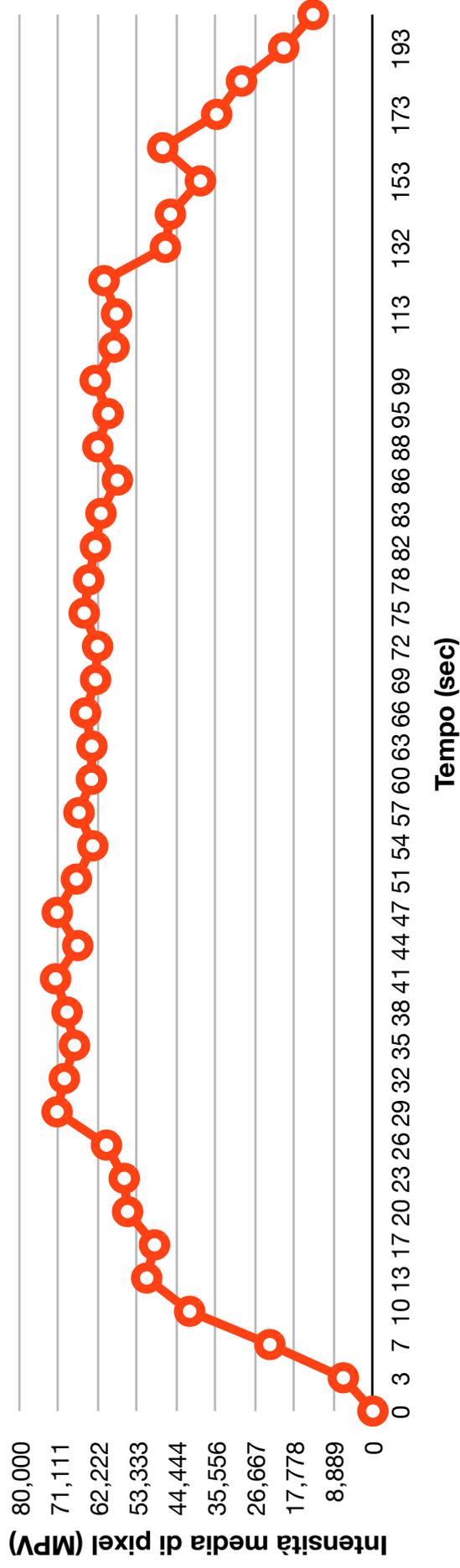
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
54	42,309	42,649	105,923	63,627
57	47,41	50,795	102,038	66,74767
60	42,922	48,825	100,062	63,93633
63	39,262	58,634	93,601	63,83233
66	38,929	61,567	95,339	65,27833
69	39,849	55,227	93,914	62,99667
72	37,511	54,949	95,145	62,535
75	38,646	60,037	98,064	65,58233
78	36,084	59,73	97,849	64,55433
82	42,572	62,961	83,561	63,03133

**TABELLA DOWNSLOPE**

**Gatto 5: Curve Intensità/Tempo Singoli Boli**



**Gatto 5: Curva Intensità media/tempo**



## GATTO 6

	Bolo 1	Bolo 2	Bolo 3	Media
0	0	0	0	0
3	0	0,101	0,116	0,0723333
7	0,944	6,844	0,131	2,6396667
10	25,927	31,148	27,868	28,3143333
13	64,455	53,895	57,309	58,553
17	65,929	54,683	94,879	71,8303333
20	71,792	52,108	73,28	65,7266667
23	67,549	65,534	71,387	68,1566667
26	65,634	60,436	81,471	69,1803333
29	79,607	71,891	85,766	79,088
32	68,825	72,421	85,219	75,4883333
35	57,235	79,889	90,163	75,7623333
38	66,397	72,319	92,153	76,9563333
41	63,508	66,801	89,501	73,27
44	67,1	69,517	91,397	76,0046667
47	65,808	57,218	95,873	72,9663333
51	61,469	61,358	84,955	69,2606667
54	57,643	54,677	85,09	65,8033333
57	78,426	62,631	94,885	78,6473333
60	40,757	66,688	90,852	66,099
63	67,696	69,112	94,744	77,184
66	58,789	52,688	97,301	69,5926667
69	57,613	62,486	101,575	73,8913333
72	49,591	67,752	87,062	68,135
75	42,688	66,897	92,567	67,384
78	67,016	73,949	88,554	76,5063333
82	78,798	74,174	88,853	80,6083333
83	89,017	44,665	90,099	74,5936667
86	92,74	44,986	88,401	75,3756667
88	82,604	69,065	113,545	88,4046667
95	82,648	69,005	112,583	88,0786667
99	96,653	76,352	92,52	88,5083333
102	71,309	67,806	125,288	88,1343333
113	81,879	50,26	102,775	78,3046667
122	74,433	50,022	102,667	75,7073333
132	85,632	35,337	82,397	67,7886667
142	57,046	29,893	83,447	56,7953333
153	48,073	23,758	80,725	50,852
163	61,499	23,365	84,728	56,5306667
173	22,963	19,802	83,298	42,021
183	17,129	12,78	68,95	32,953
193			71,32	71,32
200			56,543	56,543

**TABELLA INTENSIA' MEDIE**

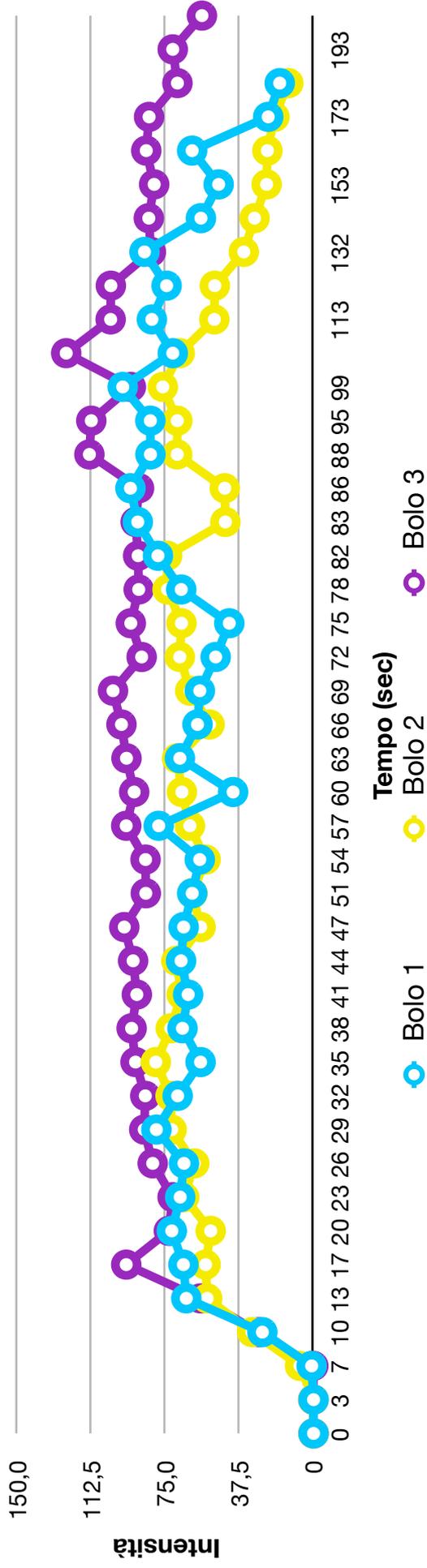
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
10	25,927	31,148	27,868	28,3143333
13	64,455	53,895	57,309	58,553
17	65,929	54,683	94,879	71,8303333
20	71,792	52,108	73,28	65,7266667
23	67,549	65,534	71,387	68,1566667
26	65,634	60,436	81,471	69,1803333
29	79,607	71,891	85,766	79,088

**TABELLA UPSLOPE**

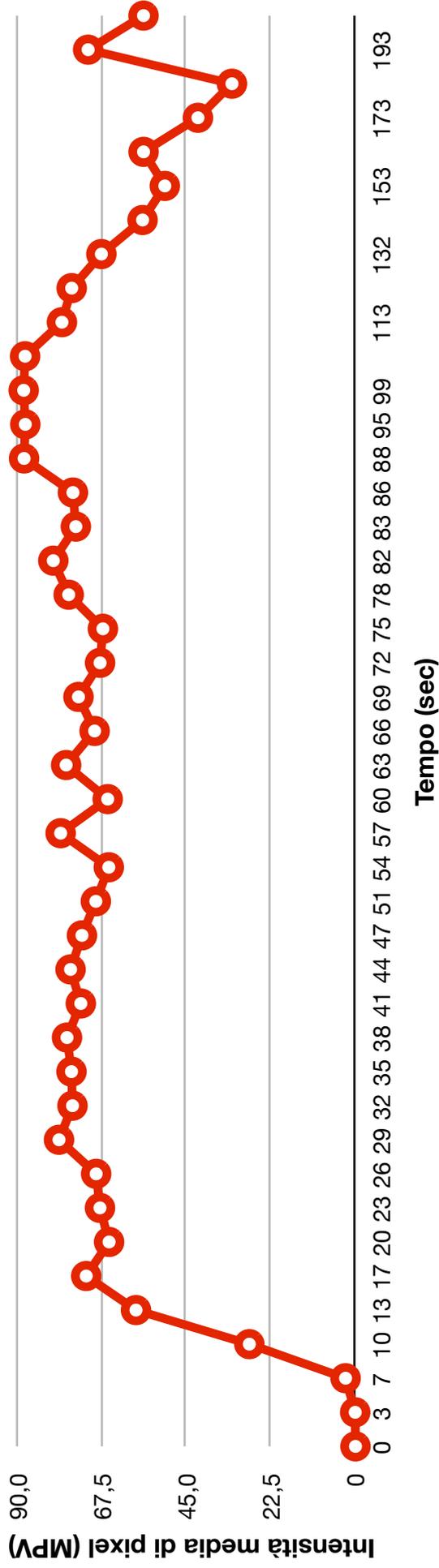
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
113	81,879	50,26	102,775	78,30467
122	74,433	50,022	102,667	75,70733
132	85,632	35,337	82,397	67,78867
142	57,046	29,893	83,447	56,79533
153	48,073	23,758	80,725	50,852
163	61,499	23,365	84,728	56,53067
173	22,963	19,802	83,298	42,021
183	17,129	12,78	68,95	32,953
193			71,32	71,32
200			56,543	56,543

**TABELLA DOWNSLOPE**

**Gatto 6: Curve Intensità/Tempo Singoli Boli**



**Gatto 6: Curva Intensità media/tempo**



## GATTO 7

	Bolo 1	Boo 2	Bolo 3	Media
0	0	0	0	0
3	0,185	1,652	0,83	0,889
7	4,791	3,394	1,357	3,180667
10	48,519	19,071	27,397	31,66233
13	68,223	51,226	49,547	56,332
17	60,257	58,378	44,502	54,379
20	66,442	73,801	70,834	70,359
23	92,455	86,074	77,433	85,32067
26	92,12	93,068	88,792	91,32667
29	80,1	90,822	96,253	89,05833
32	99,542	81,875	97,336	92,91767
35	101,546	99,201	94,757	98,50133
38	92,027	106,34	88,27	95,54567
41	86,807	112,934	84,56	94,767
44	90,995	108,175	94,289	97,81967
47	83,221	114,361	79,384	92,322
51	80,291	114,797	89,982	95,02333
54	78,891	106,319	96,477	93,89567
57	76,97	105,604	97,478	93,35067
60	81,691	114,431	97,067	97,72967
63	82,13	101,756	98,435	94,107
66	80,281	106,871	99,416	95,52267
69	68,258	122,498	100,864	97,20667
72	77,486	123,406	105,556	102,1493
75	86,429	121,665	94,194	100,7627
78	80,259	126,478	97,215	101,3173
82	72,355	117,88	89,369	93,20133
83	77,753	93,47	90,931	87,38467
86	81,138	103,991	105,268	96,799
88	71,326	104,078	98,643	91,349
95	73,157	85,943	92,555	83,885
99	67,349	99,61	86,966	84,64167
102	76,387	98,585	81,61	85,52733
113	81,78	104,712	87,122	91,20467
122	68,783	99,77	83,533	84,02867
132	81,77	95,189	78,576	85,17833
142	57,516	90,382	60,084	69,32733
153	57,529	113,429	65,156	78,70467
163	52,226	72,342	48,64	57,736
173	33,3	104,661	49,626	62,529
183	35,744	83,869	49,929	56,514
193	35,744	79,773	20,696	45,40433
200		71,266	72,352	71,809

**TABELLA INTENSITA' MEDIE**

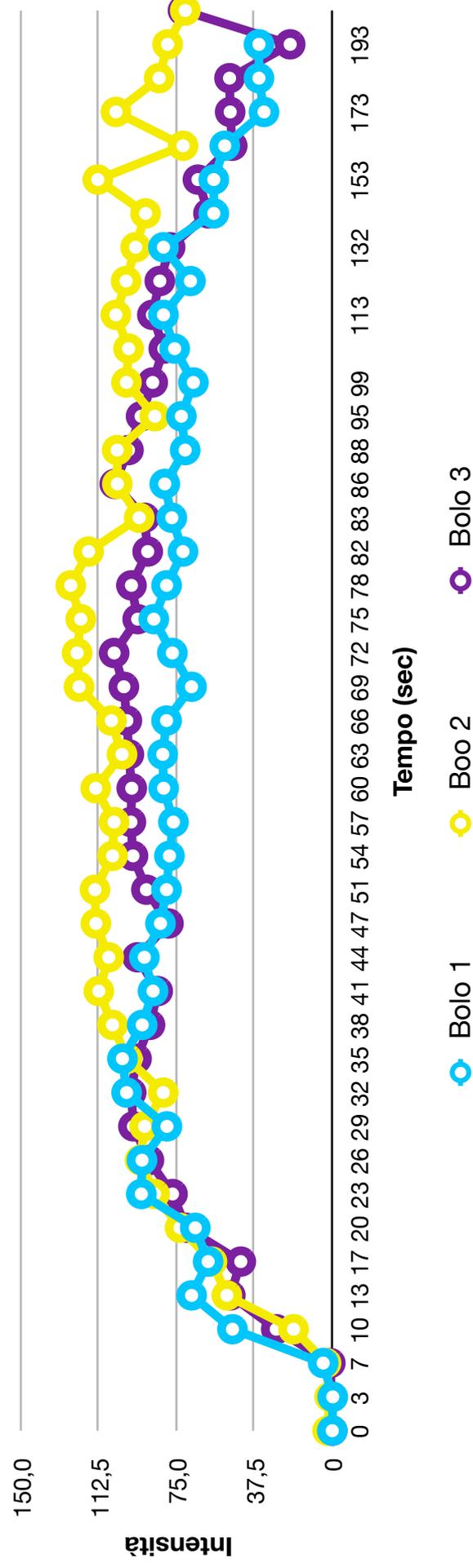
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
10	48,519	19,071	27,397	31,6623333
13	68,223	51,226	49,547	56,332
17	60,257	58,378	44,502	54,379
20	66,442	73,801	70,834	70,359
23	92,455	86,074	77,433	85,3206667
26	92,12	93,068	88,792	91,3266667

**TABELLA UPSIOPE**

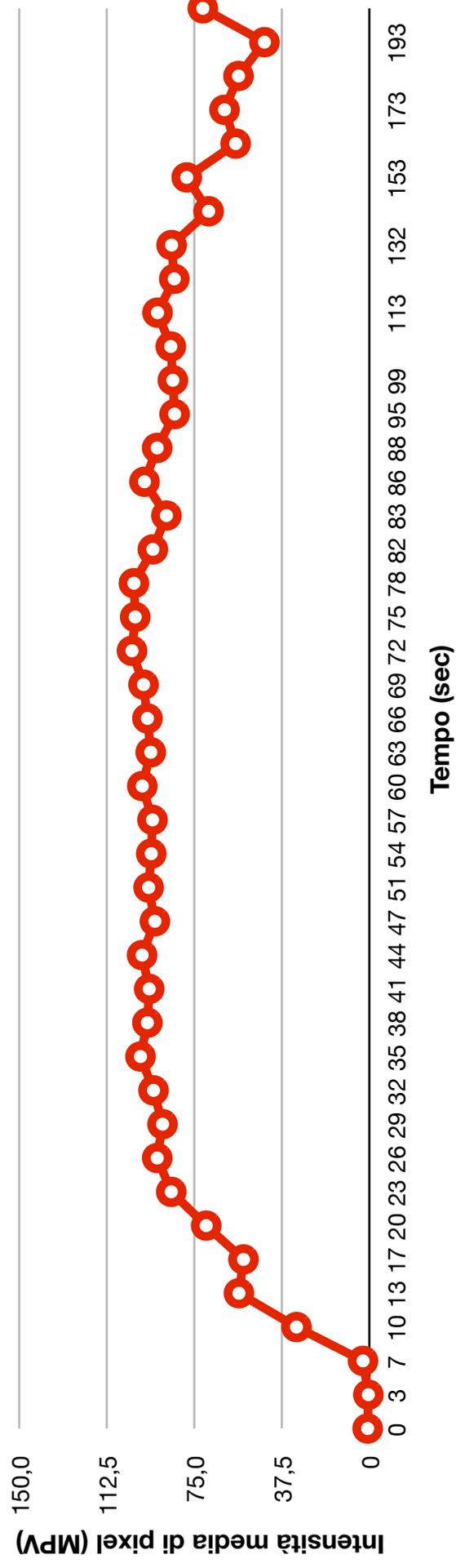
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
83	77,753	93,47	90,931	87,384667
86	81,138	103,991	105,268	96,799
88	71,326	104,078	98,643	91,349
95	73,157	85,943	92,555	83,885
99	67,349	99,61	86,966	84,641667
102	76,387	98,585	81,61	85,527333
113	81,78	104,712	87,122	91,204667
122	68,783	99,77	83,533	84,028667
132	81,77	95,189	78,576	85,178333
142	57,516	90,382	60,084	69,327333

**TABELLA DOWNSLOPE**

**Gatto 7: Curve Intensità/Tempo Singoli Boli**



**Gatto 7: Curva Intensità media/tempo**



## GATTO 8

	Bolo 1	Bolo 2	Bolo 3	Media
0	0	0	0	0
3	0,023	5,857	0,559	2,14633333
7	2,105	14,661	33,415	16,727
10	37,203	46,556	74,626	52,795
13	57,193	56,222	90,531	67,982
17	64,301	44,297	80,439	63,0123333
20	67,438	101,21	93,758	87,4686667
23	69,432	92,765	108,468	90,2216667
26	54,278	117,679	106,866	92,941
29	57,084	117,657	114,216	96,319
32	64,667	117,712	113,203	98,5273333
35	81,092	121,723	129,157	110,657333
38	90,755	123,504	120,024	111,427667
41	71,114	105,165	112,95	96,4096667
44	82,467	104,739	118,123	101,776333
47	77,219	106,039	116,748	100,002
51	52,688	105,01	122,669	93,4556667
54	82,501	108,074	120,777	103,784
57	55,382	108,898	125,484	96,588
60	58,662	94,291	118,873	90,6086667
63	64,608	96,639	123,198	94,815
66	56,665	96,729	116,382	89,9253333
69	51,762	100,522	122,883	91,7223333
72	54,364	102,024	130,865	95,751
75	59,157	115,209	136,109	103,491667
78	57,625	114,943	130,891	101,153
82	47,923	100,587	126,046	91,5186667
83	48,069	93,985	129,679	90,5776667
86	51,554	91,978	128,289	90,607
88	40,96	88,433	129,786	86,393
95	53,509	102,885	119,51	91,968
99	45,67	91,976	127,089	88,245
102	36,694	115,391	134,875	95,6533333
113	46,851	67,124	133,756	82,577
122	35,571	69,437	133,395	79,4676667
132	24,788	69,537	143,309	79,2113333
142	36,113	72,095	141,289	83,1656667
153	34,344	55,791	136,511	75,5486667
163	7,965	71,759	120,459	66,7276667
173	6,338	41,333	120,18	55,9503333
183	11,161	43,797	122,428	59,1286667
193	8,523	16,345	111,23	45,366
200		15,877	105,197	60,537

**TABELLA INTENSITA' MEDIE**

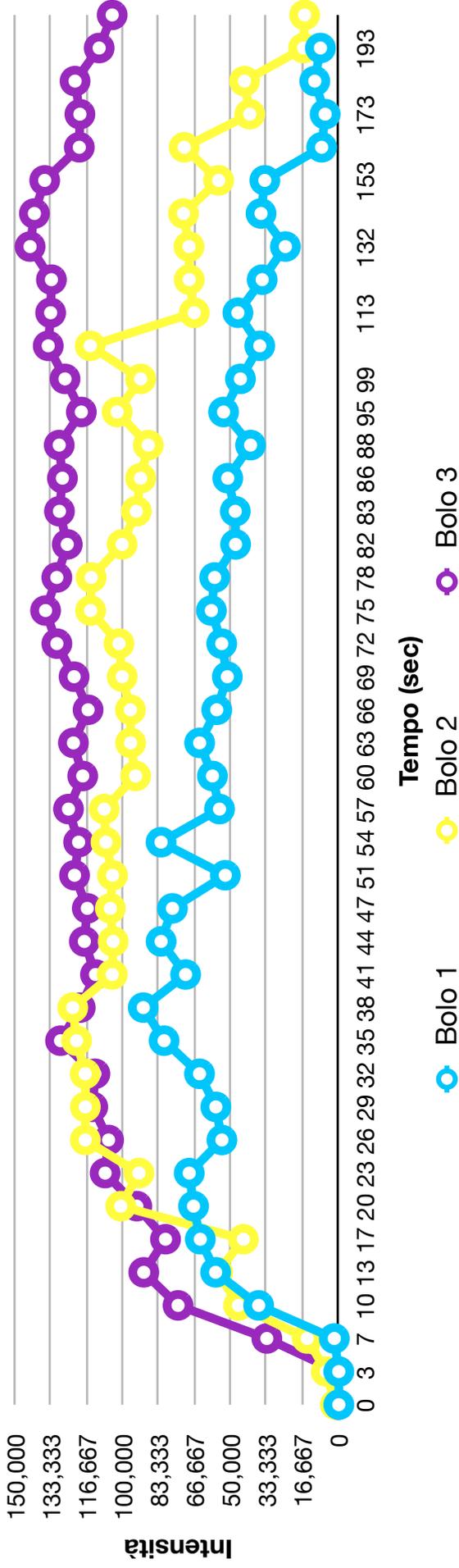
	BOLO	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
7	2,105	14,661	33,415	16,73
10	37,2	46,556	74,626	52,8
13	57,19	56,222	90,531	67,98
17	64,3	44,297	80,439	63,01
20	67,44	101,21	93,758	87,47
23	69,43	92,765	108,47	90,22
26	54,28	117,68	106,87	92,94
29	57,08	117,66	114,22	96,32
32	64,67	117,71	113,2	98,53

**TABELLA UPSLOPE**

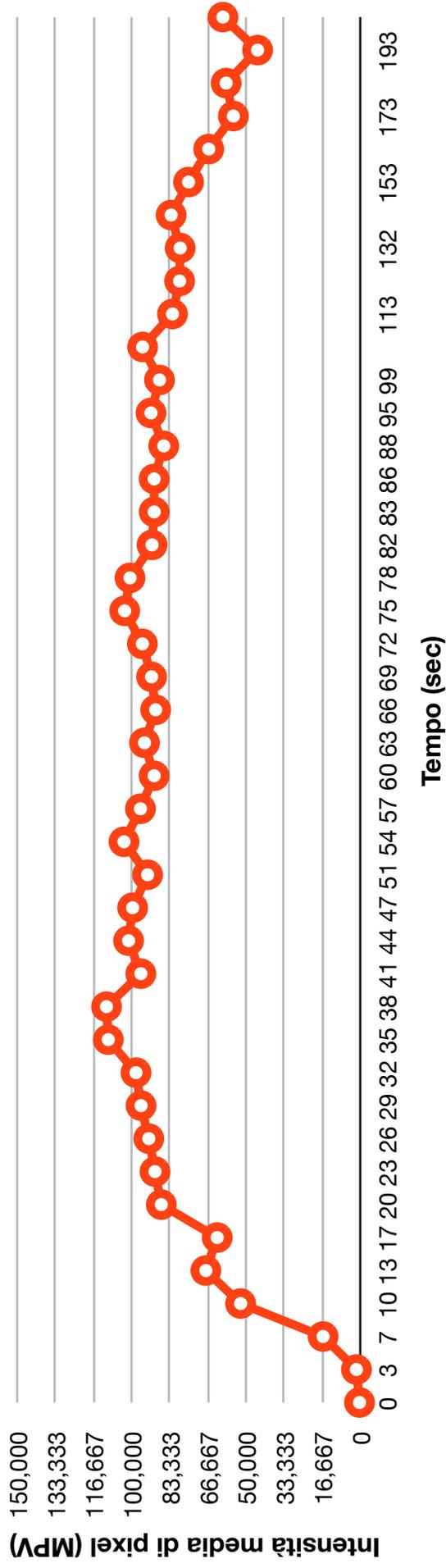
	BOLO 1	BOLO 2	BOLO 3	MEDIA
47	77,219	106,04	116,748	100
51	52,688	105,01	122,669	93,456
54	82,501	108,07	120,777	103,78
57	55,382	108,9	125,484	96,588
60	58,662	94,291	118,873	90,609
63	64,608	96,639	123,198	94,815
66	56,665	96,729	116,382	89,925
69	51,762	100,52	122,883	91,722
72	54,364	102,02	130,865	95,751
75	59,157	115,21	136,109	103,49

**TABELLA DOWNSLOPE**

**Gatto 8: Curve Intensità/Tempo Singoli Boli**



**Gatto 8: Curva Intensità media/tempo**



***APPENDICE 2***  
***TABELLE STUDIO 2***

CANE	RAZZA	SESSO	ETA'	DIAGNOSI	N° LESIONI FOCALI	ASPETTO ECOGRAFICO CONVENZIONALE	PATTERN CON MDC			PATTERN VASCOLARI
							FASE ARTERIOSA	FASE PORTALE	FASE TARDIVA	
1	York-Shire	M	12	Epatoma	Singola	Fegato aumentato di dimensioni, presenza di una massa disomogenea.	Captazione precoce	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo	Sovrapponibile al parenchima epatico	Pattern di vascolarizzazione intratumorale in fase arteriosa. Pattern diffuso omogeneo ed isocogeno in fase portale e in fase tardiva.
2	Schottish Terreur	M	10	Epatoma	Singola	Fegato aumentato di dimensioni e disomogeneo per presenza di una massa voluminosa (5x7 cm circa) iperecogena. Presenza di flussi sia di tipo arterioso che di tipo venoso.	Captazione precoce del mezzo di contrasto da parte della massa	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo	Sovrapponibile al parenchima epatico	Pattern di vascolarizzazione intratumorale in fase arteriosa. Pattern diffuso omogeneo ed isocogeno in fase portale e in fase tardiva.
3	Meticcio	MC	12	Epatoma	Singola	Fegato aumentato di dimensioni, presenza di una lesione ipoecogena di 9x4 cm. Assenza di disegno portale	Sovrapponibile al parenchima epatico	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo	Sovrapponibile al parenchima epatico	Pattern vascolare intratumorale in fase arteriosa. Pattern diffuso omogeneo in fase portale e tardiva.
4	Meticcio	FS	14	Iperplasia nodulare	Singola	Fegato aumentato di dimensioni, normocogeno, disomogeneo per la presenza di una massa disomogenea che all'esame Doppler rivelava vascolarizzazione prevalentemente periferica	Captazione arteriosa modificamente precoce rispetto al parenchima epatico.	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo	Pattern vascolare intratumorale in fase arteriosa. Pattern diffuso omogeneo in fase portale e tardiva.
5	Fox Terrier	FS	11	Iperplasia nodulare	Multiple	Fegato modificamente aumentato di dimensioni, disomogeneo per la presenza di lesioni focali ipoecogene diffuse, la maggiore della quali localizzata nel lobo quadrato misura 1,19x1,19 cm	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo	Pattern vascolare intratumorale in fase arteriosa. Pattern diffuso omogeneo in fase portale e tardiva.
6	Meticcio	F	11	Steatosi focale	Singola	Fegato di normali dimensioni, normocogeno, disomogeneo per la presenza di una lesione focale iperecogena in corrispondenza del lobo mediale destro	Fase arteriosa precoce rispetto al parenchima epatico	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo	Pattern vascolare diffuso disomogeneo in fase arteriosa. Pattern diffuso omogeneo in fase portale e tardiva.

CANE	RAZZA	SESSO	ETA'	DIAGNOSI	N° LESIONI FOCALI	ASPETTO ECOGRAFICO CONVENZIONALE	PATTERN CON MDC			PATTERN VASCOLARI
							FASE ARTERIOSA	FASE PORTALE	FASE TARDIVA	
7	York-Shire	M	12	Steatosi multifocale	Multiple	Fegato aumentato di dimensioni, disomogeneo per la presenza di lesioni focali multiple ipocogene di dimensioni variabili da pochi millimetri a due centimetri.	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo-	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo-	Perdita precoce dell'enhancement epatico in assenza di lesioni focali	Diffuso, omogeneo ed isoecogeno in tutte e tre le fasi.
8	Meticcio	FC	13	Epatite cronica attiva	Singola	Fegato aumentato di dimensioni, disomogeneo per la presenza di una lesione focale di 2x1,5 CM nel lobo quadrato. Tale lesione è caratterizzata da margine ipocogeno e centro iperecogeno.	Captazione arteriosa precoce	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo-	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo-	Diffuso, omogeneo ed isoecogeno in tutte e tre le fasi.
9	Meticcio	M	11	Epatite cronica attiva	Multiple	Fegato di normali dimensioni, disomogeneo complessivamente e per la presenza di una lesione cistica in corrispondenza del lobo caudato e di una lesione ipocogna di 1,3 cm nel lobo quadrato.	Complessivamente ritardata e omogenea	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo-	Sovrapponibile al parenchima epatico che risulta omogeneo-	Diffuso, omogeneo ed isoecogeno in tutte e tre le fasi.
10	Labrador	FS	12	Cirrosi	Multiple	Fegato aumentato di dimensioni con completa perdita della normale architettura, presenza di lesioni focali ipocogene e a target diffuse.	Complessivamente ridotta e disomogenea	Complessivamente ridotta e disomogenea	Complessivamente e ridotta e disomogenea	I pattern vascolari delle lesioni mostrano ridotta perfusione intratumorale in fase arteriosa e omogeneo diffusa in fase portale e tardiva.
11	Meticcio	FS	10	Cirrosi		Fegato aumentato di dimensioni, a margini irregolari, iperecogeno complessivamente disomogeneo in assenza di evidenti lesioni focali.	Complessivamente omogenea	Complessivamente omogenea	Complessivamente e omogenea	Diffuso, omogeneo in tutte e tre le fasi.
12	Setter Inglese	F	10	Cirrosi	Multiple	Presenza di versamento addominale, fegato aumentato di dimensioni, disomogeneo per la presenza di lesioni focali multiple ipocogene localizzate nel lobo mediale sinistro.	Complessivamente omogenea	Complessivamente omogenea	Complessivamente e omogenea	Diffuso, omogeneo in tutte e tre le fasi.

CANE	RAZZA	SESSO	ETA'	DIAGNOSI	N° LESIONI FOCALI	ASPETTO ECOGRAFICO CONVENZIONALE	PATTERN CON MDC			PATTERN VASCOLARI
							FASE ARTERIOSA	FASE PORTALE	FASE TARDIVA	
13	Schnauzer	F	6	EPATOCAR CINOMA	SINGOLA	Fegato aumentato di dimensioni, presenza di una massa nel lobo quadrato di 11x8 cm disomogenea	Presenza di contrasto precoce e disomogenea per la presenza di aree non captanti	Sovrapponibile al parenchima epatico con persistenza di aree non captanti	Sovrapponibile al parenchima epatico con persistenza di aree non captanti	Il pattern della fase arteriosa appare disomogeneo intratumorale, i pattern della fase portale e tardiva mostrano la persistenza del difetto di perfusione, il resto della neoformazione appare omogenea
14	Dogue de Bordeaux	M	10	EPATOCAR CINOMA	SINGOLA	Fegato aumentato di volume. Nel lobo caudato in prossimità con l'ilo epatico si rinvia una struttura ovoidale di dimensioni 3,8x5,2 cm, omogenea, ipocogena e a contorni ben definiti. La massa presenta vascolarizzazione arteriosa in periferia.	Presenza di contrasto precoce nelle porzioni periferiche che in fase avanzata risultano iperogenee rispetto al parenchima. Parti centrali non assumono enhancement.	Parti periferiche della massa iperogenee rispetto al parenchima; centro anecogeno.	30" parte periferica della massa isocogena con parenchima circostante	Pattern nodulare periferico continuo che da iperogeneo diventa isocogeno in fase tardiva.
15	Meficcio	FS	8	EPATOCAR CINOMA	SINGOLA	Fegato aumentato di dimensioni iperogeneo. Presenza di una massa di 4x4 cm ipocogena disomogenea a contorni non definiti	Presenza di contrasto precoce nelle porzioni periferiche che in fase avanzata risultano iperogenee rispetto al parenchima. Parti centrali non assumono enhancement.	Enhancement disomogeneo per la presenza di una ampia area non captante	Enhancement disomogeneo per la presenza di una ampia area non captante	Il pattern vascolare in fase arteriosa appare di tipo peritumorale con fase portale di tipo nodulare periferico e fase tardiva caratterizzata da difetto di riempimento.
16	WHWT	F	12	EPATOCAR CINOMA	MULTIPLE	Dal margine caudale del lobo epatico destro origina una massa di circa 6 cm di diametro, a margini definiti, disomogenea, complessivamente iperogenea e vascolarizzata all'esame Doppler. Inoltre, in prossimità dell'ilo si reperta una lesione focale iperogenea, omogenea, a margini ben definiti e di 1,7x0,9 cm di dimensioni.	Captazione precoce da parte delle porzioni periferiche della massa; vascolarizzazione anche del parenchima con massa che appare iperogenea ma contenente aree multiple centrali che non assumono enhancement.	Porzioni periferiche isocogene con parenchima. Aree multiple centrali non mostrano enhancement.	1° porzioni periferiche isocogene con parenchima. Aree multiple centrali non mostrano enhancement.	Pattern simile a quello nodulare periferico continuo, ma con aree multiple centrali di non enhancement.

CANE	RAZZA	SESSO	ETA'	DIAGNOSI	N° LESIONI FOCALI	ASPETTO ECOGRAFICO CONVENZIONALE	PATTERN CON MDC			PATTERN VASCOLARI
							FASE ARTERIOSA	FASE PORTALE	FASE TARDIVA	
17	Boxer	FS	15	CARCINOMA INDIFFERENZIATO	MULTIPLE	Fegato ipoecogeno e disomogeneo. Nel lobo destro mediale si riscontra una massa di circa 5x4,5 cm, ipoecogena e disomogenea che presenta una vascolarizzazione periferica. Sono evidenti anche lesioni focali a bersaglio negli altri lobi epatici.	Presenza di contrasto precoce da parte dei vasi che attraversano la massa e delle sue porzioni periferiche, seguita da riempimento centripeto	Enhancement quasi omogeneo (centro lievemente iporiflettente) della massa che appare isoecogena rispetto a parenchima. 29" inizio wash-out del mdc nelle parti più centrali della massa.	1' wash-out completo dalla massa che rimane anecogena. Spostando la sonda si visualizzano altre lesioni anecogene.	Pattern di vascolarizzazione intratumorale in fase arteriosa, diffuso eterogeneo in fase portale e con difetto di perfusione in fase tardiva.
18	Boxer	M	8	CARCINOMA INDIFFERENZIATO	MULTIPLE	Fegato notevolmente aumentato di dimensioni, a margini irregolari e disomogeneo per la presenza di numerose lesioni focali, di dimensioni variabili fino a 5 cm, iperecogene in periferia e con centro anecogeno. Al Doppler risultano vascolarizzate solo in periferia.	Arrivo del mezzo di contrasto nel parenchima e nei vasi delle porzioni periferiche delle lesioni. Le parti centrali non assumono enhancement.	Il centro delle lesioni permane anecogeno, le parti periferiche sono isoecogene con il parenchima circostante.	35" inizio wash-out dalla periferia delle lesioni 52" lesioni con parte periferica ipoecogena rispetto a parenchima e centro anecogeno.	Pattern a vascolarizzazione marginale o a "marginal vessels" in fase arteriosa. Pattern di tipo nodulare periferico continuo in fase portale. Difetto di perfusione in fase tardiva.
19	P.T.	M	8	LINFOMA	MULTIPLE	Fegato notevolmente aumentato di volume, con margini irregolari e non omogeneo per la presenza di numerose lesioni focali ipoecogene ed disomogenee ed irregolari, che all'esame Doppler evidenziano una vascolarizzazione arteriosa prevalentemente periferica	Enhancement del parenchima apparentemente sano.	Enhancement ritardato di alcune lesioni con riempimento centripeto. A 35" tali lesioni appaiono omogenee ed ipoecogene rispetto al parenchima. Altre lesioni non assumono il mezzo di contrasto e risultano anecogene.	Wash-out da parte delle lesioni che avevano mostrato enhancement.	Pattern delle lesioni che mostrano enhancement: vascolarizzazione marginale o "marginal vessels" in fase arteriosa, diffuso omogeneo ed ipoecogeno in fase portale e difetto di perfusione in quella tardiva. Pattern di non enhancement nelle altre lesioni.

CANE	RAZZA	SESSO	ETA'	DIAGNOSI	N° LESIONI FOCALI	ASPETTO ECOGRAFICO CONVENZIONALE	PATTERN CON MDC			PATTERN VASCOLARI
							FASE ARTERIOSA	FASE PORTALE	FASE TARDIVA	
20	Meficcio	M	11	LINFOMA	SINGOLA	Fegato di normali dimensioni, normocogeno, disomogeneo per la presenza di una lesione focale iperecogena di 8.7 mm nel lobo mediale destro	Enhancement omogeneo del parenchima ecograficamente sano	Fase portale omogenea	Wash out omogeneo	Non evidenza di alterazioni perfusionali
21	Setter Inglese	F	10	MASTOCITOMA	SINGOLA	Fegato disomogeneo per la presenza di una voluminosa massa (7x9 cm circa), disomogenea con centro iperecogeno e periferia ipocogena.	Nella parte laterale della massa compare un anello vascolare con centro non captante ed attraversato da un vaso. Nella parte mediale c'è enhancement omogeneo ma inferiore rispetto a quello del parenchima.	L'area anecogena della parte laterale rimane tale mentre la parte mediale diviene isocogena con il parenchima.	A 2' porzioni captanti in equilibrio con il parenchima. A 3' parti captanti sono lievemente ipocogene rispetto al parenchima.	Parte laterale della massa: pattern ad anello periferico o "rime like" e pattern di vascolarizzazione intratumorale. Porzione mediale: pattern di tipo diffuso omogeneo che in fase arteriosa è ipocogeno, in fase portale è isocogeno e in fase tardiva di
22	Meficcio	FC	7	METASTASI DA CARCINOMA PANCREATICO	SINGOLA	Fegato aumentato di dimensioni disomogeneo per la presenza di una lesione focale disomogenea a margini irregolari, di circa 3x2 cm nel lobo sinistro laterale	La lesione mostra una presa precoce rispetto al parenchima epatico, sono evidenti almeno tre aree non captanti	Complessivamente ritardata	La lesione mostra un wash out disomogeneo e precoce rispetto al parenchima epatico.	Pattern peritumorale in fase arteriosa, nodulare periferica in fase portale e difetto di perfusione in fase tardiva.
23	Pastore Tedesco	M	8	METASTASI DA CARCINOMA PILORICO	MULTIPLE	Fegato aumentato di dimensioni, disomogeneo complessivamente e per la presenza di lesioni focali ipocogene.	Le lesioni mostrano mancato enhancement	Le lesioni mostrano mancato enhancement	Le lesioni mostrano mancato enhancement	Mancata perfusione lesionale

CANE	RAZZA	SESSO	ETA'	DIAGNOSI	N° LESIONI FOCALI	ASPETTO ECOGRAFICO CONVENZIONALE	PATTERN CON MDC			PATTERN VASCOLARI
							FASE ARTERIOSA	FASE PORTALE	FASE TARDIVA	
24	Meficcio	FS	18	Metastasi da carcinoma mammario	Multiple	Fegato aumentato di dimensioni, disomogeneo per la presenza di lesioni ipocogene distribuite soprattutto nei lobi di sinistra.	Mancato enhancement da parte delle lesioni	Mancato enhancement da parte delle lesioni	Mancato enhancement da parte delle lesioni	Difetto di perfusione in tutte le fasi
25	Golden	M	7	Emangiosarcoma	Multiple	Fegato disomogeneo per la presenza di lesioni focali ipercogene di diametro variabile tra 1 e 2,5 cm diffuse a tutto il fegato	Disomogenea con enhancement ridotto rispetto al parenchima epatico	Disomogenea	Perdita precoce rispetto a parenchima epatico	Fase arteriosa prevalentemente peritumorale, fase portale eterogenea, fase tardiva con difetto perfusionale
26	Pastore Tedesco	F	9	Emangiosarcoma	Multiple	Fegato aumentato di dimensioni disomogeneo per la presenza di numerose lesioni focali ipocogene	Mancato enhancement da parte delle lesioni	Mancato enhancement da parte delle lesioni	Mancato enhancement da parte delle lesioni	Difetto di perfusione in tutte le fasi
27	Pastore Maremmano	F	13	Metastasi da osteosarcoma	Multiple	Fegato aumentato di dimensioni disomogeneo per la presenza di numerose lesioni focali ipocogene	Sovrapponibile al parenchima epatico	Sovrapponibile al parenchima epatico	Perdita precoce rispetto al parenchima epatico	Fase arteriosa intratumorale, fase portale eterogenea, fase tardiva con difetto perfusionale.

## ***Bibliografia***

**Albrecht** et al. Improved detection of hepatic metastases with pulse-inversion US during the liver specific phase of SHU508A: multicenter study. *Radiology* 2003;227:361-370.

**Pires A** et al. Intermediaty spleen microvasculature in canis familiaris- morphological evidences of a closed and open type. *Ant Hisol. Embryol*;2003;32:2063-2070.

**Bahr A** et al. Quantitative evaluation of Imagent as a medium in dogs". *Vet Radiol Ultrasound* 2000;41:50-55.

**Banks WJ** et al. Apparato digerente II-organi extra-epatici. In : Banks WJ. *Istologia e anatomia microscopica veterinaria*. Piccin Nuova Libreria, Padova, 1991.

**Barone R.** Ghiandole annesso all'intestino-Fegato. In : Barone R. *Anatomia comparata dei mammiferi domestici*. Agricola ed, Bologna, 1981.

**Barone R.** Vena Porta. In : Barone R. *Anatomia comparata dei mammiferi domestici*. Agricola ed, Bologna, 1981.

**Bartolotta VC** et al. Benign focal liver lesion: spectrum of findings on SonoVue-enhanced pulse-inversion ultrasonography. *Eur Radiol* 2005;15:1643-1649.

**Biller DS** et al. Hepatic ultrasonography: A valuable tool in small animals; *Vet Med* 1998 July, pp 646-653.

**Bokor D** et al. Clinical safety of SonoVue, a new contrast agent for ultrasound imaging in healthy volunteers and patient with chronic obstructive pulmonary disease. *Investigative Radiology* 2001; 36:104-109.

**Borghi C** et al. Patologia traumatica. In Rossi S, Callida F, Mertegani A. *Mezzi di contrasto in ecografia*, Testo Atlante; Paletto ed, Gaggiano Milano 2004.

**Brunetti** et al. Cisti ed ascessi. In Rossi S, Callida F, Mertegani A. *MEzzi di contrasto in ecografia*, Testo Atlante; Paletto ed, Gaggiano Milano 2004.

**Bruni AC, Zimmerl U.** *Anatomia degli animali domestici*; casa editrice Francesco Vallardi, Società editrice Libreria, Milano 1992.

**Burns P** et al. Microbubble contrast agent for ultrasound. physical principles. In Rossi S, Callida F, Mertegani A. Mezzi di contrasto in ecografia, Testo Atlante; Paletto ed, Gaggiano Milano 2004.

**Cabassa P** et al. Tumori maligni-Colangiocarcinoma. In Rossi S, Callida F, Mertegani A. Mezzi di contrasto in ecografia, Testo Atlante; Paletto ed, Gaggiano Milano 2004.

**Cascina A** et al. Sistema vascolare epatico. In Rossi S, Callida F, Mertegani A. Mezzi di contrasto in ecografia, Testo Atlante; Paletto ed, Gaggiano Milano 2004.

**Catalano O** et al. Ecografia splenica con mezzo di contrasto in tempo reale: metodologia d'esame ed esperienza clinica preliminare. Radiol Med 2003; 106:338-356.

**Catalano O** et al. Identificazione e caratterizzazione delle lesioni focali epatiche: il soggetto non epatopatico. In Ecografia Oncologia- Tasto Atlante di Ultrasonologia Diagnostica e Interventistica dei Tumori. Ed Springer Verlag Italia 2007

**Correas JM** et al. Ultrasound contrast agents properties, principles of action, tolerance and artifacts. Eur Radiol 2001;11:1361-1328.

**Deng CX** et al. A review of physical phenomena associated with ultrasonic contrast agent and illustrative clinical application. Ultrasound in Med & Biol 2002;28:277-286.

**Drudi F** et al. La radiologia medica-Radiol Med 2004; 107 (Suppl 1 al n° 4):36-37.

EFSUMB Study Group (Albrecht T et al). Guidelines for the use of contrast agent in ultrasound. Ultraschall in Med 2004;25:249-256.

**Ettinger SJ, Feldman EC.** Trattato di clinica medica veterinaria: malattie del cane e del gatto. Antonio Delfino ed, Roma 2001.

**Faverzani S** et al. Rilievi ecografici in corso di mastocitoma cutaneo. Atti LVIII Congresso Società Italiana Scienze Veterinarie, Grado 2004:157-158.

**Frinking PJA** et al. Ultrasound Contrast Imaging: new potential methods. Ultrasound in Med & Biol 2000; 26:965-975.

**Gaiani S** et al. Contrast enhanced ultrasonography negli algoritmi diagnostici. In Rossi S, Callida F, Mertegani A. Mezzi di contrasto in ecografia, Testo Atlante; Paletto ed, Gaggiano Milano 2004.

**Hammer AS** et al. Hepatic neoplasia in the dog and cat. *Vet Clinics of North Am: small animal practice* 1995;25:419-435.

**Imperatori L.** Mezzi di contrasto per ecografia. In Rossi S, Callida F, Mertegani A. Mezzi di contrasto in ecografia, Testo Atlante; Paletto ed, Gaggiano Milano 2004.

**Isozaki T.** Differential diagnosis of hepatic tumors by using contrast enhancement patterns at US. *Radiology* 2003; 229:798-805.

**Jackobsen JA** et al. Safety of ultrasound contrast agents. *Eur Radiol* 2005;15:941-945.

**Jey L** et al. Grey-scale contrast enhanced in the rabbit liver with Sonovue at different doses. *Ultrasound in Med & Biol* 2005; 31:185-190.

**Kim EA** et al. "Focal hepatic lesions:contrast-enhanced patterns at pulse inversion harmonic US using a microbubble contrast agent". *Korean J Radiol* 2003; 4:224-233

**Kim TK** et al. Hepatic tumors: contrast agentenhancement patterns with pulse-inversion harmonic US". *Radiology* 2000;216:411-417.

**Lencioni R** et al. Tumori maligni-Carcinoma epatocellulare. In Rossi S, Callida F, Mertegani A. Mezzi di contrasto in ecografia, Testo Atlante; Paletto ed, Gaggiano Milano 2004.

**Marconato L.** Tumori epatici e dell'apparato biliare. In Marconato L, Del Piero F. *Oncologia medica dei piccoli animali.* Poletto ed, Gaggiano Milano 2005.

**Martegani A** et al. Tumori maligni-Metastasi. In Rossi S, Callida F, Mertegani A. Mezzi di contrasto in ecografia, Testo Atlante; Paletto ed, Gaggiano Milano 2004.

**Morris J.** Apparato gastroenterico-Fegato. In Morris J. *Oncologia Cinica del cane e del gatto.* Utet Torino 2001.

**Morrison WB:** Blood vasculare limphatic and splenic cancer. In Morrison WB. *Cancer in dogs and cats: medical and surgical management.* Williams & Wilkins, Baltimora 1998.

**Morrison WB.** Primary cancer and cancer lesions of the liver, biliary epithelium and exocrine pancreas. In Morrison WB. *Cancer in dogs and cats: medical and surgical management.* Williams & Wilkins, Baltimora 1998.

**Nakamura K** et al. Quantitative contrast-enhanced ultrasonography of canine spleen. *Vet Radiol Ultrasound* 2009;50:104-108

**Nyland TG** et al “Physical principles, instrumentations and safety of diagnostic ultrasound. In: Nylanda TG, Mattoon JS: *Small Animal Diagnostic Ultrasound*, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 2009; 93,127

**Nyland TG**. Ultrasonic patterns of canine hepatic lymphosarcoma. *Veterinary Radiology* 1984; 25: 167-172

**Nyland TG** et al. Ultrasonography of the liver. In: Nylanda TG, Mattoon JS: *Small Animal Diagnostic Ultrasound*, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 2009; 93,127.

**Nyman HT** et al. Contrast-enhanced ultrasonography in normal canine liver. Evaluation of imaging and safety parameters. *Vet Radiol Ultrasound* 2005; 3:243-250.

**O’Brien RT**. Contrast harmonic ultrasound of spontaneous liver nodules in 32 dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 2004; 45:547-553.

**O’Brien RT**. Improved detection of metastatic hepatic hamngiosarcoma nodules with contrast ultrasound in three dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 2007;48:146-148.

**Olerth S** et al. Assesment of tissue perfusion in the normal canine spleen with kontras harmonic imaging. *Vet Radiol Ultrasound* 2005;47:110

**Ohlerth S** et al. Contrast Harmonic Imaging Characterization of Canine Splenic Lesions. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008;22: 1095-1102

**Ostensen J** et al. Intravenosus injection of albuminex microspheres causes thromboxane mediated pulmonary hypertension in pig but not in monkeys or rabbit. *Acta Physiol Scand* 1992;144:307-315.

**Piscaglia F** et al. The safety of Sonovue in abdominal applications: retrospective analysis of 23188 investigations. *Ultrasound Med Biol* 32:1369-1375. 2006

**Postema S** et al. Bubble dynamics involved in ultrasonic imaging; *Expert Rev Mol Diagn* 2006;6:493-502.

**Price RJ** et al. Contrast ultrasound targeted drug and gene delivery: an update on new therapeutic modality. *J cardiovac Pharmacol Thrapeut* 2002; 7:171-180.

**Quiaia E** et al. Tumori benigni. In Rossi S, Callida F, Mertegani A. *Mezzi di contrasto in ecografia*, Testo Atlante; Paletto ed, Gaggiano Milano 2004.

**Quaia E** et al. Studi di confronto tra la performance diagnostica dell'ecografia di base e dell'ecografia con mezzo di contrasto Sonovue nella caratterizzazione delle lesioni focali epatiche. Esperienza di tre centri italiani. *Radiol Med* 2004;108:71-81.

**Quaia E** et al. Comparison of contrast-enhanced ultrasonography versus baseline ultrasound and contrast-enhanced computed tomography in metastatic disease of the liver: diagnostic performance and confidence. *Eur Radiol* 2006;16:1599-109

**Quaia E**. Principi fisici e tecniche contrasto specifiche. In: Quaia E :Mezzi di contrasto in Ecografia. Edizioni Springer Verlag Italia, 2008;7-20.

**Quaia E** et al. Caratterizzazione delle lesioni focali epatiche. In: Quaia E :Mezzi di contrasto in Ecografia. Edizioni Springer, 2008;21-44.

**Rossi F** et al. Use of contrast enhanced ultrasound for characterization of focal splenic lesions. *Vet Radiol Ultrasound* 2008;49:154-164.

**Sacerdoti D** et al. Epatopatie diffuse. In Rossi S, Callida F, Mertegani A. Mezzi di contrasto in ecografia, Testo Atlante; Paletto ed, Gaggiano Milano 2004.

**Sato AF** et al. Ultrasonographic findings in abdominal mast cell disease: a retrospective study of 19 patients. *Vet Radiol Ultrasound* 2004; 45:51-57.

**Salwey MR** et al. Use of contrast harmonic ultrasound for the diagnosis of congenital portosystemic Shunts in the dogs. *Vet Radiol ultrasound* 2003; 44: 301-305

**Schmid V** et al. Intravascular Contrast Media. *Vet Radiol Ultrasound* 1995;36:307-314.

**Schneider M** et al. BR1 a new ultrasonographic contrast agent based on sulphur hexafluoride-filled microbubbles. *Investigative Radiology* 1995; 30:451-457.

**Swartz K** et al. The Doppler kinetics of microbubbles echo contrast. *Ultrasound in Med e Biol* 1996;22:453-462.

**Sirlin C** et al. Effect of acquisition rate on liver and portal vein enhancement with microbubble contrast. *Ultrasound Biomed* 1999;25:331-338

**Shohet RV** et al. Potential bioeffects of ultrasonic destruction of microbubble contrast agent. *JAAC* 2006; 47:1469-1470.

**Szatmary V** et al. A review of nonconventional ultrasound techniques and contrast-enhanced ultrasonography of noncardiac canine disorders. *Vet Radiol Ultrasound* 2003;44:380-391.

**Tzucuda T** et al. Pre and postprandial alteration of portal venous flow: evaluation with single breath-hold three-dimensional half fourier fast spin-echo Mr imaging and a selective inversion recovery tagging pulse. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 2005; 22:527-533.

**Ugolini P** et al. In vitro flow quantification with contrast power doppler imaging. *Ultrasound in Med & Biol* 2000;26:113-120.

**Volta A** et al. L'ecografia con mezzo di contrasto di seconda generazione: indagine preliminare. *Atti del LXII Convegno Nazionale SISVET, Settembre 2008* , San Benedetto del Tronto.

**Von Herbay A** et al. Late phase pulse-inversion sonography using the contrast agent Levovist: differentiation between benign and malignant focal lesions of the liver. *AJR* 2002; 179: 1273-1279.

**Whiteley MB** et al. Ultrasonographic appearance of primary and metastatic canine hepatic tumors: a review of 48 cases. *J Ultrasound Med* 1989; 8: 621-630

**Wrigley RH** et al. Ultrasonographic features of splenic hemangiosarcoma in dogs: 18 cases(1980-1986). *J Am Vet Med Assoc* 1998; 192: 1113-1117.

**Waller KR** et al. Quantitative contrast ultrasound analysis of renal perfusion in normal dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 2007;48:373-377

**Ziegler L** et al. Quantitative contrast harmonic imaging of the normal canine liver. *Vet Radiol Ultrasound* 2003;44:451-454.











