

Alta correlação entre ultrassonografia com contraste de microbolhas, ressonância magnética e histopatologia na avaliação do carcinoma hepatocelular

High correlation between microbubble contrast-enhanced ultrasound, magnetic resonance and histopathology in the evaluation of hepatocellular carcinoma

Marcos Roberto Gomes de Queiroz¹, Miguel José Francisco Neto¹, Rodrigo Gobbo Garcia¹, Antonio Rahal Junior¹, Paolo Salvalaggio¹, Marcelo Buarque de Gusmão Funari¹

RESUMO

Objetivo: Avaliar a eficácia da ultrassonografia com contraste de microbolhas no diagnóstico do carcinoma hepatocelular e comparar seus resultados com os de ressonância magnética e anatomia patológica.

Métodos: Foram avaliados 29 hepatopatas crônicos candidatos ao transplante pelo programa de transplante hepático do Hospital Israelita Albert Einstein. Esses pacientes foram submetidos a ressonância magnética, ultrassonografia com contraste de microbolhas e biópsia hepática excisional. **Resultados:** Houve concordância ótima entre os resultados da ultrassonografia com contraste de microbolhas e aqueles da ressonância magnética. Notou-se concordância moderada entre os resultados obtidos pelos dois métodos, quando comparados com os resultados de anatomia patológica. **Conclusão:** A ultrassonografia com contraste de microbolhas mostrou-se um método tão acurado quanto a ressonância magnética na avaliação do carcinoma hepatocelular, resultado corroborado quando realizada a comparação conjunta dos dois métodos com a anatomia patológica.

Descritores: Carcinoma hepatocelular/diagnóstico; Carcinoma hepatocelular/patologia; Transplante; Microbolhas; Imagem por ressonância magnética

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the efficacy of microbubble contrast ultrasound in diagnosis of hepatocellular carcinoma and to compare its results with those of magnetic resonance and histopathology.

Methods: A total of 29 patients suffering from chronic liver diseases and awaiting liver transplants at *Hospital Israelita Albert Einstein* were subject to magnetic resonance, microbubble contrast ultrasound, and excision liver biopsies. **Results:** Excellent agreement between magnetic resonance and microbubble contrast ultrasound

was observed in this study. There was moderate agreement between both imaging methods and histopathology results. **Conclusion:** Microbubble contrast ultrasound was as accurate as magnetic resonance to evaluate hepatocellular carcinoma. These results were confirmed by comparing both methods to histopathological diagnosis.

Keywords: Carcinoma, hepatocellular/diagnosis; Carcinoma, hepatocellular/pathology; Transplantation; Microbubbles; Magnetic resonance imaging

INTRODUÇÃO

O carcinoma hepatocelular (CHC) ocupa o terceiro lugar como causa de morte relacionada ao câncer em todo o mundo e sua incidência aumenta anualmente^(1,2). Além disso, o CHC tem sido diagnosticado com mais frequência em pacientes jovens, especialmente em áreas onde os vírus da hepatite B e C são endêmicos^(1,3).

Em função da crescente importância desse grave problema de saúde, há uma tendência a incluir pacientes com doença hepática crônica, como aqueles com causas alcoólicas, virais ou idiopáticas, com alto risco de desenvolver CHC, em programas de vigilância⁽⁴⁾. Transplantes de fígado são parte essencial do tratamento de pacientes com doenças crônicas do fígado, e o diagnóstico acurado de CHC desempenha um papel importante na determinação de elegibilidade para o transplante, segundo os critérios estabelecidos em Milão⁽⁵⁾.

A ultrassonografia simples e com Doppler⁽⁶⁾ tem sido usada no seguimento de lesões hepáticas em todo o

Trabalho realizado no Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

¹ Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

Autor correspondente: Antonio Rahal Junior – Departamento de Radiologia do Hospital Israelita Albert Einstein – Avenida Albert Einstein, 627/701, Morumbi – CEP: 05652-900 – São Paulo, SP, Brasil – Tel.: (11) 5082-5123 – E-mail: antoniorahal@yahoo.com.br

Data de submissão: 4/3/2013 – Data de aceite: 6/11/2013

Conflito de interesse: não há.

mundo. Entretanto, esses métodos têm limitações na avaliação de lesões focais, como o CHC, especialmente no caso de massas pequenas. A tomografia computadorizada (TC) e a ressonância magnética (RM), ambas modalidades de imagens tridimensionais com realce por contraste (com agentes a base de iodo e paramagnéticos, respectivamente), são bem conhecidas e usadas com sucesso para o diagnóstico de lesões suspeitas e seguimento de CHC nos últimos 20 anos^(7,8).

Na última década, a RM ganhou especial atenção, sendo considerada por muitos autores como o método de imageamento padrão-ouro para o diagnóstico e o seguimento de CHC^(7,9). Apesar de sua precisão diagnóstica, a RM, ela tem desvantagens, como alto custo, baixa acessibilidade e portabilidade, reações adversas e contraindicações a meios de contraste paramagnéticos, contraindicações absolutas ou relativas à exposição a campo magnético, como indivíduos com marca-passo que não podem se submeter a essa exposição, e não é recomendado para pacientes que sofrem de claustrofobia. Essas limitações da RM levaram a comunidade médica a buscar novas técnicas, com semelhante acurácia, mas menos desvantagens.

Técnicas de ultrassonografia com contraste por microbolhas (UCM) foram testadas e aprovadas para uso clínico em mais de 50 países⁽¹⁰⁻¹²⁾. Como os agentes de contraste não são nefrotóxicos, podem ser usados com segurança em pacientes com função renal diminuída. São clinicamente bem tolerados e recomendados para pacientes que não devem receber contraste à base de iodo ou paramagnéticos, usados para TC e RM, respectivamente⁽¹³⁻¹⁵⁾. Quanto à qualidade de imagem, a UCM é semelhante à TC e à RM com realce de contraste em muitos aspectos, incluindo a capacidade de demonstrar o padrão vascular e o grau de diferenciação de CHC⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Além da capacidade de mostrar os padrões morfológico e vascular de lesões hepáticas focais, a UCM pode ser usada para detectar metástases^(19,20), guiar procedimentos intervencionistas e caracterizar lesões em outros órgãos, como intestino, pâncreas, mamas, rins, glândulas adrenais e próstata⁽²¹⁾.

A despeito de todas as vantagens mencionadas acima e de sua aplicabilidade relatada na caracterização de lesões hepáticas focais, até o momento nenhum estudo foi capaz de demonstrar definitivamente a acurácia de UCM quando comparada a técnicas padrão-ouro, como RM e histopatologia. Nesses estudos, alguns pacientes foram avaliados por TC e RM, e outros por UCM, sendo o exame histopatológico reservado exclusivamente para casos considerados inconclusivos pelos métodos de TC e RM^(22,23). Assim, a falta de avaliação sistemática da UCM limita o uso disseminado do método.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi comparar a eficácia da ultrassonografia com contraste por microbolhas na caracterização de carcinoma hepatocelular em pacientes com doença crônica do fígado, independentemente da etiologia, àquela de métodos padrão-ouro, como ressonância magnética e histopatologia.

MÉTODOS

Pacientes

Este foi um estudo prospectivo de série de casos com uma amostra de conveniência selecionada de um grupo de pacientes com doenças hepáticas crônicas (de qualquer etiologia) que aguardavam transplantes hepático e que estavam inscritos no Programa de Transplante do Fígado do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), entre junho de 2008 e junho de 2009. No total, 29 pacientes selecionados durante um período de 1 ano preencheram todos os critérios de inclusão e foram avaliados com UCM e RM. Dezoito, dos 29 pacientes, também tinham uma avaliação histopatológica de suas lesões hepáticas, cujos resultados foram comparados aos obtidos pelos dois métodos de imagem.

Todos os candidatos a transplante foram inicialmente avaliados por ultrassonografia convencional, para triagem de lesões hepáticas e para excluir trombose da veia porta.

Os critérios de exclusão para o estudo estão listados no quadro 1.

Quadro 1. Critérios de exclusão para o estudo

Critérios de exclusão para transplante de fígado
Trombose da veia porta, com ou sem recanalização
Trombose da veia hepática e/ou de seus ramos
Doença cardíaca com shunt da direita para a esquerda, arritmia grave, após infarto agudo do miocárdio
Doença pulmonar grave
Hipersensibilidade conhecida aos componentes do contraste de microbolhas
Contraindicações para ressonância magnética
Marca-passo
Prótese metálica magnética
Hipersensibilidade ao contraste paramagnético
Claustrofobia (relativo – evitável com sedação)
Pacientes renais que não fazem diálise com clearance de creatinina abaixo de 60
Recusa do paciente a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Os pacientes que não atendiam aos critérios de exclusão descritos no quadro 1, mas que apresentavam alguma lesão hepática focal à ultrassonografia conven-

Quadro 2. Sequências e parâmetros de ressonância magnética selecionados para avaliar nódulos hepáticos

Sequência	2D coronal SSFSE	2D axial FRFSE	2D axial FAT FSE	2D axial SPGR IN/OUT	Timing bolus SPGR	3D axial SPGR FAT dinâmico	2D coronal SPGR FAT
Opções de imagem	Fast, Fc, Zip 512,SS	Fast,TRF, Zip 512, Fc, VB,SCIC	Fast, Fc,TRF, Zip 512, SCIC	Fast, Zip 512,SCIC	Fast, Real Time	Fast, Zip2,	Fast
Nome PSD	-	FRFSEopt	FRFSEopt	-	-	-	-
TE	80	180	80	-	Mínimo	Mínimo	Mínimo
TR	Mínimo	4.900	2.800	190	-	PREP AUTO 12	165
TI/FLIP	-	-	-	90	90?	-	60
ETL	-	43	20	-	-	-	-
VB	62,50	31,25	31,25	62,50	31,25	41,67	31,25
SAT	-	-	FAT	-	Si	FAT	FAT
FOV	40*	34*	34*	34*	31	40*	40*
Espes/Gap	7/1	7/1	7/1	7/1	5/0	4,2/0	7/1
Matriz	256x160	256x192	256x192	256x192	256x128	256x160	256x160
NEX	-	1	1	1	1	1	1
RectFOV	0,90	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	1
Frequência	SI	RL	RL	RL	-	RL	SI
FlowComp	Freq	Freq	Freq	-	-	-	-
Número de cortes	20	24	24	24	-	1slab = 42 loc	20
		2 blocos de 12	2 blocos de 12	-		-	
Tempo	0:25s	0:49s	0:56s	0:24s	0:24s	0:26s	0:27s

cional (sem contraste), foram, então, submetidos à RM e à UCM. Cirróticos sem nódulos visíveis na ultrassonografia convencional, mas com níveis de alfafetoproteína acima de 50 também foram submetidos à RM e à UCM.

Ressonância magnética: metodologia aplicada

Exames abdominais por RM foram feitos segundo protocolos antes do transplante e compreendiam uma série sem contraste, seguida por outra com contraste e por uma sequência ponderada de difusão. Um equipamento de alto campo (1,5T) foi usado para todos os exames (General Electric, Healthcare).

As sequências de RM e os parâmetros estão dispostos no quadro 2.

A interpretação de imagens foi feita por dois radiologistas da equipe do HIAE, com experiência comprovada em RM abdominal e técnicas de radiologia.

Os principais aspectos analisados em lesões focais foram: número, localização, dimensões, comportamento do sinal em diferentes varreduras ponderadas, padrão dinâmico pós-contraste e restrição de difusão. Com base nas características de imagem, cada lesão foi classificada como compatível com CHC ou com nódulo não CHC. Com respeito à escolha de terminologia para classificação, é importante mencionar que o número de casos foi relativamente baixo durante o período do estudo, considerando que os pacientes devem apresentar requisitos específicos, como estar na lista de espera, ter lesões hepáticas focais e permeabilidade da veia porta,

em conformidade com normas éticas. A inclusão no estudo devia ser consentida e muitos pacientes não concordaram em participar.

A interpretação das imagens foi feita de maneira cega, e os radiologistas não tiveram acesso aos dados clínicos ou laboratoriais dos pacientes. Exames anteriores de RM também não estavam disponíveis para comparação.

Ultrassonografia com contraste por microbolhas: metodologia aplicada

Todos os exames de UCM foram feitos por radiologistas com experiência comprovada nessa técnica específica, usando o mesmo equipamento (Philips IU22, convex transducer 5MHz), com o mesmo índice mecânico (0,8). O agente de contraste de microbolhas (Definity® Bristol; dose de 0,1mL/10kg) foi administrado por via intravenosa, seguido por 10mL de soro fisiológico 0,9% em bólus após visualização da lesão de interesse.

A análise do comportamento dinâmico do contraste foi realizada tanto por imagens estáticas quanto contínuas, com destaque para as seguintes fases:

- fase arterial: iniciada 15 a 20 segundos após a injeção, com duração de 10 a 20 segundos;
- fase portal: com duração de 20 a 30 segundos, quando o contraste é visualizado predominantemente dentro da veia porta e de seus ramos;
- fase sinusoidal: com duração de 6 a 10 minutos. Durante essa fase, o contraste penetra através dos ca-

pilares sinusoides hepáticos e produz um eco claro e homogêneo;

- fase tardia: quando a concentração de microbolhas dentro do parênquima hepático diminui significativamente e apenas algumas microbolhas permanecem na circulação.

A necessidade de uma imagem estática durante a fase com realce de contraste permite apenas a visualização apropriada das lesões próximas umas das outras, e não do parênquima hepático inteiro. Por causa dessa limitação, quando mais de uma lesão estava presente em diferentes campos de visão, foi necessário estabelecer algumas prioridades. A saber, a técnica de *split-bolus* de injeção do contraste foi usada, seguida de destruição de microbolhas após o primeiro bólus (alto índice mecânico), a fim de tornar todas as avaliações de lesões nodulares equivalentes.

Todos os estudos de UCM foram registrados em DVD para análise posterior, quando necessário.

A interpretação de imagens foi feita por dois radiologistas com competência comprovada em interpretação de imagens de UCM e que poderiam, ou não, ter realizado o exame original.

A análise de imagens foi feita aleatoriamente. Vários aspectos foram analisados para cada lesão focal, incluindo tamanho, ecogenicidade e ecotextura em imagens convencionais, padrão de realce e realce dinâmico pós-contraste, além dos tempos de *wash-in* e *wash-out*. Considerando as características mencionadas acima, cada lesão foi classificada como compatível com CHC ou com nódulo não CHC, da mesma maneira que foi feito para a RM.

Semelhante à RM, a interpretação de imagens de UCM foi feita de forma cega, com omissão de identificação do paciente, dados clínicos e outros resultados laboratoriais. Resultados anteriores de imagens do mesmo paciente não estavam disponíveis para comparação.

Histopatologia

A análise histopatológica foi feita por biópsias excisionais do fígado. As técnicas e o processamento para o estudo patológico seguiram o protocolo estabelecido pela equipe de Transplante de Fígado e o Serviço de Patologia do HIAE. O exame histológico do fígado explantado é considerado padrão-ouro, e seus resultados tinham sido comparados aos das imagens de ultrassonografia e RM.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição sob número CAAE 0231.0.028.000-08.

Análise estatística

Todos os resultados de imagens foram comparados e confirmados por avaliação histológica, quando disponível, realizada via TRU-CUT (*core*) e/ou biópsia excisional do fígado. A concordância entre os métodos de imagem e a histopatologia foi avaliada pelo índice Kappa.

RESULTADOS

Os resultados das duas modalidades de imagem de 29 pacientes foram analisados. Para avaliar o desempenho do método UCM, comparamos seus resultados, além dos de RM de um total de 18 pacientes, com seu diagnóstico histopatológico obtido quer por biópsia excisional (17) ou *core* (1). O exame histopatológico não foi realizado em lesões dos 11 pacientes restantes por estes terem sido excluídos do programa de transplante, terem falecido, ou por ainda não terem recebido transplante na ocasião do encerramento do estudo.

Os resultados para as imagens de UCM e RM são mostrados na figura 1. A sensibilidade dos dois métodos de imagem para a detecção de CHC em pacientes com doenças hepáticas crônicas foi semelhante.

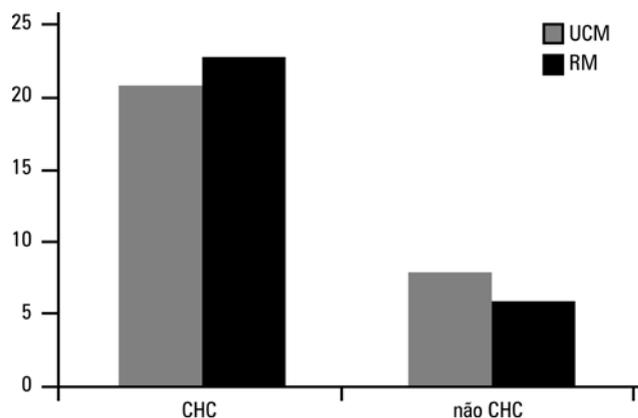
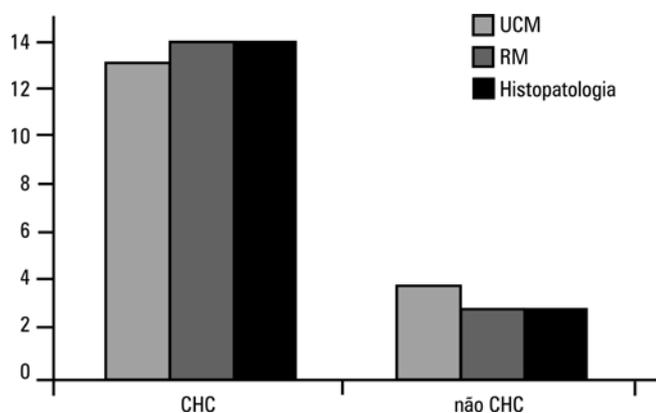


Figura 1. Sensibilidade da ultrassonografia com contraste por microbolhas (UCM) e da imagem de ressonância magnética (RM) para diagnosticar carcinoma hepatocelular (CHC) em 29 pacientes com doenças crônicas e lesões hepáticas focais

Assim como a RM, a UCM foi um método acurado de detecção de CHC em pacientes hepatopatas crônicos. A figura 2 mostra que os resultados de UCM e RM foram semelhantes e comparáveis ao diagnóstico de histopatologia, considerado o padrão-ouro.

Para avaliar a concordância entre os métodos, usamos estatística Kappa. Os resultados de UCM e RM foram comparados entre si (Tabela 1) e com os achados histopatológicos (Tabela 2). Todos os valores de Kappa obtidos estavam entre 0 e 1, sendo que 1 significa concordância perfeita.



CHC: carcinoma hepatocelular.

Figure 2. Comparação dos resultados de ultrassonografia com contraste por microbolhas (UCM) e imagem por ressonância magnética (RM) com os achados histopatológicos de 18 pacientes com doenças crônicas e lesões focais do fígado

Tabela 1. Taxas de concordância Kappa para ultrassonografia com contraste por microbolhas (UCM) e imagem por ressonância magnética (RM) para o diagnóstico de carcinoma hepatocelular (CHC) em pacientes doenças crônicas do fígado (n=29)

Não CHC (UCM)/não CHC (RM)	Não CHC (UCM)/CHC (RM)
5 (17,2%)	1 (3,4%)
CHC (UCM)/não CHC (RM)	CHC (UCM)/CHC (RM)
2 (6,9%)	21 (72,4%)

Kappa= 0,70 (0,52;0,89)

Tabela 2. Taxas de concordância Kappa para ultrassonografia com contraste por microbolhas (UCM) e imagem por ressonância magnética (RM) com histopatologia para o diagnóstico de carcinoma hepatocelular (CHC) em pacientes doenças crônicas do fígado (n=18)

Exame	Não CHC (exame)/não CHC (H)	Não CHC (exame)/CHC (H)
	n (%)	n (%)
UCM	2 (11,1)	2 (11,1)
RM	2 (11,1)	1 (5,6)
	CHC (exame)/não CHC (H)	CHC (exame)/CHC (H)
	n (%)	n (%)
UCM	1 (5,6)	13 (72,2)
RM	1 (5,6)	14 (77,8)
Kappa		
UCM	0,47 (0,16;0,78)	
RM	0,60 (0,32;0,88)	

H: histopatologia.

A concordância entre os dois métodos de imagem (Tabela 1) mostrou um índice Kappa de 0,70, que é considerado bom. O intervalo de confiança de 95% (IC95%) para essa correlação ficou entre 0,52 e 0,89.

A respeito das taxas de concordância entre UCM e CHC, e RM e CHC (Tabela 2), houve concordância moderada com valores Kappa de 0,47 e 0,6 (UCM e RM, respectivamente).

Quando os três métodos foram comparados, o valor Kappa foi de 0,63 (IC95%: 0,365-0,899; $p < 0,001$).

DISCUSSÃO

Nosso objetivo foi avaliar a eficácia de UCM na detecção e na caracterização de CHC em pacientes com doenças crônicas do fígado, independentemente da etiologia. Procuramos validar a UCM em relação à RM e H, considerados os métodos diagnósticos padrão-ouro para essa doença.

Observou-se boa taxa de concordância, ao se compararem os métodos UCM e RM em 29 pacientes. Quando tais métodos de imagens foram comparados à histopatologia (18 pacientes), houve uma taxa moderada de concordância.

Alguns estudos validaram RM como um método de imagem padrão-ouro para caracterizar carcinomas hepatocelulares e mostraram excelentes taxas de concordância entre RM e H na avaliação de lesões hepáticas focais^(5,7,9).

Levando-se em consideração o fato de que tanto UCM como RM apresentaram taxas de concordância semelhantes aos resultados de histopatologia, pode-se presumir que os dois métodos tenham acurácia parecida e que, em princípio, sejam clinicamente intercambiáveis. É importante enfatizar que, em nosso estudo, a concordância entre RM (e UCM) e H foi apenas moderada. Se um número suficiente de pacientes tivesse sido analisado, as correlações entre RM e histopatologia (e, provavelmente, entre UCM e H também) teriam sido boas, como indicado por estudos anteriores. Essa hipótese é sustentada pelo bom valor de Kappa (0,63) obtido quando dois métodos de imagem combinados são comparados à histopatologia.

A literatura internacional relata que mais de 3 milhões de exames de UCM foram realizados na Europa até 2010, sem relatos de morte e com complicações extremamente raras, em geral limitadas à anafilaxia (1:7.000 – 0,014%).

Na revisão de literatura, encontramos muitos estudos que avaliavam a eficiência da ultrassonografia e comparavam a sensibilidade da ultrassonografia com Doppler e UCM^(6,16,18,24). Entretanto, esses estudos avaliaram lesões extra-hepáticas e não forneceram informações sobre a aplicabilidade de UCM para o diagnóstico de CHC. Alguns estudos buscaram comparar a eficiência de UCM em comparação com TC e RM^(9,15), mas não incluíram H. Outros ainda avaliaram UCM, RM, TC e H, mas limitaram a avaliação histopatológica para aqueles casos em que as imagens eram inconclusivas⁽²⁴⁻²⁶⁾.

A força do presente estudo está no fato de não somente comparar UCM e RM, mas também avaliar

esses dois métodos de imagem com os resultados de histopatologia na biópsia excisional, que é considerado o diagnóstico definitivo para CHC. Essa última comparação torna os resultados confiáveis. Ademais, um dos critérios de inclusão para pacientes neste estudo foi o de estar aguardando um transplante de fígado e, portanto, em conformidade com os critérios de Milão. Os casos que atendem aos critérios de Milão, em nossa opinião, são mais homogêneos e têm menos viés. Assim, a comparação de imagens por UCM e RM, assim como a histopatologia, dentro de uma população de casos tão homogêneos, confere relevância aos resultados relatados no presente estudo.

Considerando os desfechos do presente estudo, sugerimos que UCM pode seguramente substituir RM na caracterização e seguimento de carcinomas hepatocelulares em pacientes hepatopatas crônicos. A UCM fornece aspectos de imagens diferentes daqueles da ultrassonografia convencional com Doppler, já que demonstra os padrões de vascularização dos nódulos no nível histológico de perfusão.

A principal limitação do método é que o fígado não pode ser avaliado como um todo, e as lesões hipervasculares não podem ser analisadas simultaneamente, tornando essa modalidade inadequada para estadiamento. Entretanto, além de apresentar a mesma acurácia, a UCM é mais acessível, mais portátil, e tem menor custo que a RM, a modalidade padrão-ouro atual. A UCM pode também ser usada em casos em que a RM é contraindicada, já que os agentes de contraste por microbolhas não são tóxicos e podem ser usados em pacientes com comorbidades. Futuros estudos com um número maior de pacientes serão necessários para avaliar o uso de UCM no diagnóstico de CHC, dando sustentação aos nossos resultados.

CONCLUSÃO

Considerando a concordância entre os métodos encontrada neste estudo, sugerimos que a ultrassonografia com contraste por microbolhas pode ser tão adequado e preciso quanto a ressonância magnética na comparação de seus achados com os de histopatologia, para caracterizar e acompanhar os nódulos hepáticos, especificamente carcinomas hepatocelulares, em pacientes cirróticos.

REFERÊNCIAS

1. Yang JD, Roberts LR. Hepatocellular carcinoma: A global view. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010;7(8):448-58.
2. Wong R, Frenette C. Updates in the management of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol Hepatol (NY)*. 2011;7(1):16-24.
3. El-Serag HB, Mason A. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med*. 1999;340(10):745-50.
4. Bruix J, Sherman M; American Association for the Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology*. 2011; 53(3):1020-2.
5. Singh AK, Cronin CG, Verma HA, Boland GW, Saini S, Mueller PR, et al. Imaging of preoperative liver transplantation in adults: what radiologists should know. *Radiographics*. 2011;31(4):1017-30.
6. McNaughton DA, Abu-Yousef MM. Doppler US of the liver made simple. *Radiographics*. 2011;(31):161-88. Review. Erratum in: *Radiographics*. 2011; 31(3):904.
7. Hussain SM, Reinhold C, Mitchell DG. Cirrhosis and lesions characterization at MR imaging. *Radiographics*. 2009;29(6):1637-52.
8. Gandhi SN, Brown MA, Wong JG, Aguirre DA, Sirlin CB. MR contrast agents for liver imaging: what, when, how? *Radiographics*. 2006;26(6):1621-36. Review.
9. Trillaud H, Bruel JM, Valette PJ, Vilgrain V, Schmutz G, Oyen R, et al. Characterization of focal liver lesions with SonoVue®-enhanced sonography: international multicenter-study in comparison to CT and MRI. *World J Gastroenterol*. 2009;15(30):3748-56.
10. Claudon M, Cosgrove D, Albrecht T, Bolondi L, Bosio M, Calliada F, Correas JM, Darge K, Dietrich C, D'Onofrio M, Evans DH, Filice C, Greiner L, Jäger K, JongNd, Leen E, Lencioni R, Lindsell D, Martegani A, Meairs S, Nolsøe C, Piscaglia F, Ricci P, Seidel G, Skjoldbye B, Solbiati L, Thorelius L, Tranquart F, Weskott HP, Whittingham T. Guidelines and good clinical practice recommendations for contrast-enhanced ultrasound (CEUS) - update 2008. *Ultraschall Med*. 2008;29(1):28-44.
11. Wilson SR, Burns PN. Microbubble-enhanced US in body imaging: what role? *Radiology*. 2010;257(1):24-39. Review.
12. Piscaglia F, Bolondi L. Italian Society for Ultrasound in Medicine and Biology (SIUMB). Study Group on Ultrasound Contrast Agents. The safety of SonoVue in abdominal applications: retrospective analysis of 23188 investigation. *Ultrasound Med Biol*. 2006;32(9):1369-75.
13. Thorelius L. Contrast-enhanced ultrasound for extrahepatic lesions: preliminary experience. *Eur J Radiol*. 2004;51Suppl:S31-8. Review.
14. Kim SH, Lee JM, Lee JY, Han JK, An SK, Han CJ, et al. Value of contrast-enhanced sonography for the characterization of focal hepatic lesions in patients with diffuse liver disease: receiver operating characteristic analysis. *AJR Am J Roentgenol*. 2005;184(4):1077-84.
15. Passamonti M, Vercelli A, Azzaretti A, Rodolico G, Calliada F. Characterization of focal liver lesions with a new ultrasound contrast agent using continuous low acoustic power imaging: comparison with contrast-enhanced spiral CT. *Radiol Med*. 2005;109(4):358-69.
16. Liu GJ, Xu HX, Lu MD, Xie XY, Xu ZF, Zheng YL, et al. Enhancement pattern of hepatocellular carcinoma: comparison of real-time contrast-enhanced ultrasound and contrast-enhanced computed tomography. *Clin Imaging*. 2006;30(5):315-21.
17. Chen MH, Dai Y, Yan K, Fan ZH, Yin SS, Yang W, et al. The role of contrast-enhanced ultrasound on the diagnosis of small hepatocellular carcinoma ($\leq 3\text{cm}$) in patients with cirrhosis. *Hepatol Res*. 2006;35(4):281-8.
18. Tranquart F, Bleuzen A, Correas JM, Kissel A, Tchuembou J, Vandooren E. [Contrast ultrasound imaging in liver disease]. *J Radiol*. 2003;84(12 Pt 2): 2025-40. Review. French.
19. Borghi C, Aiani L, Soprani M, Belloni G, Martegani A. Current state of the use of sonographic contrast agents with low acoustic pressure techniques in the study of focal liver lesions. *Radiol Med*; 2004;107(3):174-86.
20. Pompili M, Riccardi L, Semeraro S, Orefice R, Elia F, Barbaro B, et al. Contrast-enhanced ultrasound assessment of arterial vascularization of small nodules arising in the cirrhotic liver. *Dig Liver Dis*. 2008;40(3):206-15.
21. Kitzman DW, Goldman ME, Gillam LD, Cohen JL, Aurigemma GP, Gottdiener JS. Efficacy and safety of the novel ultrasound contrast agent perflutren (definity) in patients with suboptimal baseline left ventricular echocardiographic images. *Am J Cardiol*. 2000;86(6):669-74.
22. Bialecki ES, Ezenekwe AM, Brunt EM, Collins BT, Ponder TB, Bieneman BK, et al. Comparison of liver biopsy and noninvasive methods for diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Clinical Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(3):361-8.

23. Celli N, Gaiani S, Piscaglia F, Zironi G, Camaggi V, Leoni S, et al. Characterization of liver lesions by real-time contrast-enhanced ultrasonography. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007;19(1):3-14.
24. Quaia E, D'Onofrio M, Cabassa P, Vecchiato F, Caffarri S, Pittiani F, et al. Diagnostic value of hepatocellular nodule vascularity after microbubble injection for characterizing malignancy in patients with cirrhosis. *AJR Am J Roentgenol.* 2007;189(6):1474-83.
25. Jang HJ, Kim TK, Burns PN, Wilson SR. Enhancement patterns of hepatocellular carcinoma at contrast-enhanced US: comparison with histologic differentiation. *Radiology.* 2007;244(3):898-906.
26. Hoyt K, Warram JM, Umphrey H, Belt L, Lockhart ME, Robbin ML, et al. Determination of breast cancer response to bevacizumab therapy using contrast-enhanced ultrasound and artificial neural networks. *J Ultrasound Med.* 2010;29(4):577-85.