

**UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE ARDENNE**  
**ECOLE DOCTORALE : Sciences, Technologie, Santé**

**THESE**

Pour l'obtention du titre de Docteur de l'Université de Reims-Champagne-Ardenne

Discipline: Génie biomédical

Présentée et soutenue publiquement par **Christine HOEFFEL** le 22 juin 2009

---

Echographie de contraste et microcirculation tissulaire abdominale. Aspects fondamentaux et Applications cliniques

Directeurs de Thèse:

Mr Jean-Michel Correas, Mr Laurent Lucas

JURY:

Mme Barbara Romaniuk

Mr Jean-Marc Constans

Mr Claude Marcus

Mr Jean-Pierre Tasu

Mr Jean-Michel Tubiana

Examineur

Rapporteur

Examineur

Rapporteur

Rapporteur

# Table des Matières

Introduction	1
Partie Bibliographique	
Chapitre I - Imagerie ultrasonore de contraste	
1.1 Bases physiques	7
1.1.1 L'onde ultrasonore	7
1.1.1.1 Nature de l'onde ultrasonore	8
1.1.1.2 Energie d'une onde ultrasonore	9
1.1.2 Agents de contraste ultrasonores	10
1.1.2.1 Description et caractéristiques	10
1.1.2.2 Dynamique d'une microbulle insonifiée	15
1.1.2.2.1 Fréquence de résonance	15
1.1.2.2.2 Modélisation	17
1.1.2.3 Administration des agents de contraste ultrasonores	19
1.1.3 Interaction des ondes ultrasonores avec le milieu traversé	21
1.1.3.1 Impédance acoustique d'un milieu homogène	21
1.1.3.2 Interface acoustique	22
1.1.3.3 Réflexion, transmission	23
1.1.3.4 Diffusion	25
1.1.3.4.1 Cas des tissus mous	
1.1.3.4.2 Cas des microbulles	
1.1.3.5 Absorption	29
1.1.3.5.1 Cas des tissus mous	
1.1.3.5.2 Cas des microbulles	
1.1.3.6 Atténuation	31
1.1.3.6.1 Cas des tissus	
1.1.3.6.2 Cas des microbulles	
1.2 Imagerie	32
1.2.1 Sondes échographiques	32
1.2.1.1 Emission-réception des ondes ultrasonores	33
1.2.1.1.1 Production des ondes ultrasonores	
1.2.1.1.2 Réception des ondes ultrasonores	
1.2.1.2 Structure interne	35
1.2.1.3 Faisceau ultrasonore	36
1.2.1.3.1 Définition	
1.2.1.3.2 Mode d'émission	
1.2.1.3.3 Géométrie et distribution de l'énergie	
1.2.1.4 Focalisation du faisceau ultrasonore	42
1.2.1.5 Balayage de l'espace	43
1.2.1.6 Fréquence de la sonde	45
1.2.2 Formation de l'image	46
1.2.2.1 Amplification, démodulation et redressement	46
1.2.2.2 Interpolation	47
1.2.2.3 Gamme dynamique	47
1.2.3 Qualité de l'image échographique	48

1.2.3.1	Résolution spatiale	48
1.2.3.2	Résolution temporelle	49
1.2.3.3	Résolution en contraste	50
1.2.3.4	Rapport signal sur bruit	50
1.2.3.5	Rapport contraste sur tissu	50
1.2.4	Méthodes d'imagerie des agents de contraste ultrasonores	51
1.2.4.1	Régimes acoustiques	51
1.2.4.2	Intérêt pour l'imagerie	54
1.2.4.3	Imagerie des tissus et des microbulles	54
1.2.4.3.1	Imagerie fondamentale	
1.2.4.3.2	Imagerie de la deuxième harmonique	
1.2.4.3.3	Imagerie harmonique des tissus	
1.2.4.4	Imagerie des microbulles	59
1.2.4.4.1	Imagerie par inversion de phase	
1.2.4.4.2	Imagerie par modulation d'amplitude	
1.2.4.4.3	Imagerie par modulation d'amplitude et de phase	
1.2.4.4.4	Mode tracking des microbulles	
1.2.4.4.5	Doppler harmonique de puissance	
1.2.4.4.6	Méthodes d'imagerie en phase de recherche	
 Chapitre II- Modélisation de la microcirculation par imagerie ultrasonore de contraste		 76
2.1	La microcirculation	76
2.2	Modélisation de la microcirculation par échographie de contraste	78
2.2.1	Calibrage de l'information	78
2.2.2	Quantification sur l'image finale (vidéodensitométrie)	79
2.2.3	Quantification du signal avant la formation de l'image (raw data) avec compensation de post-traitement	80
2.2.4	Modèles de la microcirculation	80
2.2.4.1	Modélisation de la cinétique de bolus	80
2.2.4.2	Modèles de destruction-reperfusion	82
2.2.4.2.1	Modèle monoexponentiel croissant	
2.2.4.2.2	Modèles sigmoïdes	
2.2.4.3	Modèles de destruction	88
2.2.4.4	Modèle linéaire	89
2.2.4.5	Modèle monoexponentiel décroissant	89
2.2.4.6	Modèle CODIM	89
2.2.5	Choix de la région d'intérêt	91
2.2.6	Critères de qualité	91
 Chapitre III- Echographie de contraste en pathologie abdominale		 97
3.1	Pathologie hépatique	97
3.2	Pathologie rénale	123
3.2.1	Pathologie rénale vasculaire	123
3.2.2	Tumeurs du rein	125
3.2.3	Autres applications	126

3.3. Echographie de contraste et néoangiogénèse. Evaluation de la réponse tumorale	126
<b>Partie expérimentale</b>	<b>156</b>
Chapitre IV- Amélioration de l'évaluation de la perfusion rénale par une prise en compte de l'entrée artérielle-Présentation de l'article	157
<b>Partie clinique</b>	<b>178</b>
Chapitre V- Détection des métastases hépatiques de tumeur carcinoïde en échographie de contraste: évaluation prospective de l'échographie de contraste. Présentation de l'article	179
Chapitre VI- Traitement par radiofréquence des tumeurs rénales: performances diagnostiques de l'échographie de contraste pour la détection précoce du reliquat tumoral après traitement. Présentation de l'article	198
<b>Discussion</b>	<b>238</b>
Discussion de l'étude expérimentale	238
Discussion des études cliniques	243
Présentation de la méthodologie d'une étude sur l'apport de l'analyse quantitative par rapport à l'analyse qualitative pour la caractérisation des tumeurs rénales	245
<b>Conclusion et Perspectives</b>	<b>252</b>
<b>Annexes</b>	<b>26</b>

# INTRODUCTION

La possibilité d'étudier les paramètres de la microcirculation tissulaire grâce à l'injection d'agents de contraste a été démontrée dès les années 1980. A l'époque, les acquisitions étaient longues, et restreintes à une seule coupe. Plus tard, c'est par le biais des développements en IRM que l'étude de la perfusion tissulaire a à nouveau fait l'objet d'études en imagerie médicale. Il est devenu possible actuellement de coupler l'imagerie fonctionnelle de la microcirculation à l'imagerie morphologique et ce, aussi bien en scanner, en IRM qu'en échographie. La technique la plus couramment utilisée en imagerie pour étudier la microcirculation est appelée communément Dynamic Contrast Enhanced Imaging (DCE-Imaging). Elle peut être réalisée avec chaque modalité d'imagerie en coupes. Le principe de l'imagerie de la microcirculation par injection dynamique d'agents de contraste consiste à acquérir une série temporelle d'images sur une zone donnée lors du passage d'un agent de contraste. L'objectif de cette imagerie fonctionnelle de perfusion est d'analyser les caractéristiques fonctionnelles propres à chaque réseau capillaire. Les buts cliniques d'une telle imagerie sont d'améliorer la sensibilité de détection des lésions peu visibles ou non visibles en imagerie morphologique classique, de caractériser des lésions et surtout actuellement d'évaluer et de monitorer les traitements (vasodilatateurs, fibrinolytiques, antimitotiques, antiangiogéniques, radiofréquence, alcoolisation). Les deux grands domaines de développement de l'imagerie fonctionnelle de perfusion sont la pathologie ischémique d'origine vasculaire (détection et quantification des accidents vasculaires cérébraux et de

l'ischémie myocardique) et la pathologie tumorale. L'imagerie fonctionnelle ultrasonore s'est développée avec l'arrivée des produits de contraste ultrasonores injectables par voie veineuse périphérique qui permettent d'augmenter l'intensité du signal échographique du sang circulant. Ces agents sont constitués de microbulles gazeuses et ont une distribution exclusivement intravasculaire, ce qui présente l'avantage de s'affranchir des phénomènes de fuite capillaire, mais ne permet pas d'appréhender et d'analyser la perméabilité capillaire. L'autre originalité de l'échographie de contraste par rapport aux autres techniques d'imagerie est l'effet destructeur des ultrasons sur les microbulles. Cet effet est mis à profit pour développer des méthodes spécifiques d'imagerie ultrasonore qui, en théorie, permettent de déterminer des constantes décrivant les échanges de sang dans un volume en étudiant le remplacement des microbulles détruites.

L'effet des agents de contraste ultrasonores sur l'image est complexe, résultant d'interactions entre l'augmentation de l'énergie rétrodiffusée, l'atténuation du faisceau ultrasonore, la destruction et l'oscillation des microbulles soumises à l'onde de pression ultrasonore. De nombreux progrès ont été accomplis dans la connaissance de ces phénomènes, permettant à l'échographie de contraste de trouver une place prépondérante parmi les investigations d'imagerie. En Europe, l'exploration de la pathologie abdominale, notamment hépatique et rénale, représente un des champs d'applications cliniques majeurs de l'échographie de contraste. L'analyse du rehaussement tissulaire peut se faire de façon qualitative ou quantitative. En ce qui concerne l'aspect qualitatif de cette imagerie fonctionnelle, ses performances comparées et sa place par rapport aux autres méthodes d'imagerie en coupes pour l'évaluation de la perfusion tissulaire, et donc la détection et la caractérisation de pathologies viscérales abdominales ne sont pas encore toujours bien définies.

L'analyse quantitative des courbes du rehaussement tissulaire est réalisée sur des régions d'intérêt (ROIs) ou pixel par pixel, et donne accès aux paramètres fonctionnels de

microcirculation. Si l'étude de la variation d'intensité due à la présence de l'agent de contraste fournit des informations précises, la mesure fiable de paramètres de la microcirculation nécessite encore le développement de techniques et de modèles cinétiques propres à l'échographie de contraste. La quantification absolue et reproductible de la perfusion avec cette technique dépend en effet de nombreux facteurs, dont la variabilité de la concentration de l'agent de contraste. Le nombre exact de microbulles injectées n'est pas connu avec certitude. En effet, la concentration en microbulles est variable non seulement après reconstitution de l'agent de contraste, mais également en fonction des acquisitions échographiques car les ultrasons ont un effet destructeur sur les microbulles, même à très faible index mécanique, qui ne peut être négligé. Par ailleurs, la relation entre l'intensité du signal et la concentration des microbulles est complexe, fonction de facteurs tels que le gain, la puissance acoustique, la zone focale, l'homogénéité de l'énergie acoustique dans le plan de l'étude et de la séquence d'imagerie utilisée.

Dans ce contexte, les objectifs de cette thèse ont été, (1) d'étudier la reproductibilité de la quantification de la perfusion tissulaire en échographie de contraste et de proposer une méthode permettant de diminuer la variabilité des mesures liée à la concentration de l'agent de contraste, ceci grâce à un modèle expérimental porcin, (2) d'évaluer les performances de l'échographie de contraste en tant qu'outil de détection et de caractérisation de la microvascularisation en pratique clinique, dans les domaines de la cancérologie hépatique et rénale.

**Dans la partie bibliographique**, nous examinerons les caractéristiques physiques des ondes ultrasonores et des agents de contraste ultrasonores, utiles à la compréhension des interactions entre les ondes ultrasonores, les tissus et les agents de contraste. Nous décrirons le fonctionnement d'une sonde échographique ainsi que la construction de l'image

échographique. Les différents modes d'imagerie seront présentés, en particulier ceux qui sont spécifiques aux agents de contraste.

En pratique clinique, à la lumière des connaissances sur la microcirculation et la perfusion tissulaire, acquises en particulier par modélisations animales, nous examinerons la place de l'échographie de contraste par rapport aux autres modalités d'imagerie dynamique de la microcirculation. Nous examinerons à partir des données de la littérature, dont nos travaux publiés, la place comparée de l'échographie de contraste en pathologie abdominale par rapport aux autres méthodes d'imagerie radiologiques, que ce soit pour la détection et la caractérisation lésionnelle basées sur la perfusion tissulaire, que pour l'évaluation de la réponse thérapeutique.

**Dans la partie expérimentale**, nous présenterons notre travail effectué sur un modèle porcin de perfusion. Le but de ce travail était d'étudier la reproductibilité des mesures de débit estimé en échographie de contraste, avec le modèle monoexponentiel croissant proposé dans la littérature; puis d'évaluer l'intérêt de la prise en compte de l'intensité du signal au niveau d'une entrée artérielle pour s'affranchir de la variabilité de la concentration de l'agent de contraste.

**Dans la partie clinique**, nous nous intéresserons à l'aspect qualitatif de l'imagerie fonctionnelle de perfusion en échographie de contraste, ceci en pathologie abdominale. Les buts cliniques de l'imagerie fonctionnelle sont d'améliorer la sensibilité de détection des lésions peu visibles ou non visibles en imagerie morphologique classique, de caractériser des lésions et d'évaluer et de suivre les traitements. Nous présentons donc deux études prospectives ayant pour but d'évaluer l'échographie de contraste en tant qu'outil d'analyse qualitative de la perfusion tissulaire abdominale dans la sphère abdominale, pratiquées en fonction des possibilités offertes par le recrutement clinique à disposition. La première étude



visé à évaluer si l'échographie de contraste permet d'améliorer la sensibilité de détection des métastases hépatiques de tumeurs carcinoïdes.

L'imagerie ultrasonore de contraste présente de nombreux avantages par rapport aux autres méthodes d'imagerie en coupes, à savoir, faible coût, innocuité, excellente résolution temporelle et spatiale, et absence de toxicité rénale. Ce dernier avantage est important en matière d'imagerie néphro-urologique, dans des populations de patients où la fonction rénale est susceptible d'être atteinte. Cet atout est particulièrement important chez les patients dont la tumeur rénale va être traitée par radiofréquence. En effet, il a été montré qu'il existe une dégradation temporaire de la fonction rénale après traitement par radiofréquence. De plus, cette technique d'imagerie interventionnelle s'adresse à une population particulière de patients, dont ceux qui ont une insuffisance rénale sévère. La deuxième étude analyse donc les performances diagnostiques de l'échographie de contraste par rapport à celles du scanner multibarettes et de l'IRM dans le suivi précoce des tumeurs rénales traitées par radiofréquence percutanée, à la recherche d'un reliquat tumoral.

L'analyse des limites rencontrées lors du travail expérimental et des études d'application clinique, l'amélioration des logiciels dédiés à l'étude des séquences d'imagerie fonctionnelle de perfusion par échographie de contraste, l'accumulation grâce aux études cliniques effectuées du matériel nécessaire, nous ont permis de mettre au point une méthodologie pour une quatrième étude, portant sur l'analyse qualitative et quantitative des tumeurs rénales. Nous discuterons les études réalisées et détaillerons le protocole de cette dernière étude en cours dans le chapitre **discussion générale**. Enfin, les perspectives de travaux de recherche qui se dégagent au terme de cette thèse seront présentées dans le chapitre **conclusion et perspectives**.

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

# CHAPITRE I

## Imagerie ultrasonore de contraste

L'imagerie ultrasonore de contraste est fondée sur la propagation d'ondes ultrasonores dans le corps et sur leur interaction avec les différents tissus traversés. Le développement et l'utilisation des agents de contraste ultrasonores ont permis une évolution considérable de l'examen échographique, permettant une meilleure visualisation des structures et offrant la possibilité d'observer en temps réel les cinétiques de prise de contraste de lésions variées. Dans ce chapitre, nous examinons les caractéristiques physiques des ondes ultrasonores et des agents de contraste ultrasonores, utiles à la compréhension des interactions entre les ondes ultrasonores, les tissus et les agents de contraste. Nous décrivons le fonctionnement d'une sonde échographique ainsi que la construction de l'image échographique.

### **1.1 Bases physiques**

#### 1.1.1 L'onde ultrasonore

Dans ce paragraphe, nous nous plaçons directement dans le contexte suivant : les ondes ultrasonores se propagent dans des tissus mous et leur célérité est supposée constante. Ainsi, les ondes décrites sont des ondes longitudinales, ce qui signifie que le mouvement des particules élémentaires du milieu a lieu le long de leur direction de propagation, celle-ci étant unidirectionnelle.

### 1.1.1.1 Nature de l'onde ultrasonore

L'onde ultrasonore est une onde acoustique dont la fréquence  $f$  est comprise entre 20 kilohertz (kHz) et plusieurs centaines de mégahertz (MHz). Comme toute onde acoustique, elle correspond à des variations locales de pression sans transport de matière. Sa vitesse de propagation (ou célérité)  $c$  dans un milieu matériel homogène ne dépend que des propriétés mécaniques du milieu traversé :

$$c = \sqrt{\frac{E}{\rho}} \quad (m.s^{-1})$$

où  $\rho$  ( $kg.m^{-2}$ ) correspond à la masse volumique du milieu et  $E$  ( $N.m^{-2}$ ) au module de Young ou module d'élasticité du milieu.

La fréquence et la célérité de l'onde ultrasonore permettent de définir sa pulsation  $\omega$  ( $rad.s^{-1}$ ), sa longueur d'onde  $\lambda$  (m) et son vecteur d'onde  $k$ :

$$\omega = 2\pi f$$

$$\lambda = c/f$$

$$k = 2\pi/\lambda$$

Le déplacement de l'onde étant unidirectionnelle, le vecteur d'onde est appelé nombre d'onde : c'est le nombre d'oscillations que l'on dénombre sur  $2\pi$  unités de longueur. Le long de la direction de propagation, la variation locale de la pression en fonction du temps et de l'espace s'exprime au travers de la pression acoustique  $p(z, t)$ , exprimée en pascals (Pa):

$$p(x, t) = p_0 \sin(\omega t - kx)$$

Dans l'argument du sinus,  $\omega t$  représente la vibration temporelle des particules élémentaires de part et d'autre de leur position d'équilibre et le terme  $kx$  représente la propagation des

vibrations dans l'espace. Il est également possible d'exprimer la vitesse  $u(x, t)$  des particules le long de la direction de propagation en fonction du temps et de l'espace :

$$u(x, t) = u_0 \cos(\omega t - kx) \quad (m.s^{-1})$$

### 1.1.1.2 Energie d'une onde ultrasonore

Au cours de son déplacement, une onde ultrasonore transporte de l'énergie. L'énergie par unité de volume contenue dans une onde, se propageant à la vitesse  $c$ , a pour expression :

$$E = \frac{1}{2} \rho u_0^2$$

C'est la densité volumique d'énergie. Il est alors possible d'exprimer la quantité totale d'énergie traversant une unité de surface par unité de temps, appelée puissance surfacique ou intensité acoustique  $S$  :

$$S = \frac{P_0^2}{2\rho c}$$

L'intensité acoustique s'exprime en  $W.m^{-2}$ . Cependant, les watts par mètre carré ne sont pas adaptés aux valeurs courantes en imagerie ultrasonore et obligent à manipuler des facteurs puissance trop importants. Ainsi, l'unité communément admise pour l'expression de l'intensité ultrasonore est le décibel, qui est une unité relative. Il s'agit d'exprimer la différence d'intensité d'une onde ultrasonore d'intensité absolue  $S$  par rapport à une valeur d'intensité de référence  $S_{ref}$  selon la formule :

$$I = 10 \log_{10} \left( \frac{S}{S_{ref}} \right)$$

L'intensité acoustique de référence est

$$S_{ref} = 10^{-12} W.m^{-2}.$$

## 1.1.2 Agents de contraste ultrasonores

### *1.1.2.1 Description et caractéristiques*

Gramiak et Shah ont été les premiers à décrire un rehaussement du signal échographique de contraste suite à l'injection de microbulles (Gramiak and Shah, 1968). Ils ont mis en évidence un rehaussement du signal dans la lumière aortique et dans les cavités cardiaques en mode Temps Mouvement après injection d'une solution saline, préalablement agitée, dans l'aorte ascendante. L'effet observé a, par la suite, été attribué à la formation de microbulles d'air durant l'acquisition échocardiographique, la création de ces bulles d'air étant liée aux brusques modifications de pression après l'injection rapide de la solution intraveineuse. Les premiers agents de contraste fondés sur ces observations ont été le vert d'indocyanine, le sérum physiologique, le sérum physiologique avec du dextrose à 5% et le sérum alcalin avec du dextrose à 5%. Ils ont été utilisés dans les années 1970 en échocardiographie pour la détection des shunts intracardiaques, de pathologies cardiaques congénitales et l'examen des valves tricuspide et pulmonaire (Nanda, 1975 a, b ; Gramiak, 1972). Cependant, ces agents de contraste composés de microbulles nues n'étaient pas satisfaisants en raison de l'instabilité des microbulles et de leur taille incontrôlable et inadaptée, les empêchant de passer à travers les capillaires pulmonaires (Bouakaz, 1998). L'intérêt de ces agents se limite donc à l'échocardiographie. Un agent de contraste idéal doit être dépourvu de toxicité, stérile, sans effet secondaire et totalement éliminable. Il doit pouvoir être administré par voie intraveineuse, en bolus ou en perfusion continue. Les microbulles gazeuses qui le composent doivent être suffisamment petites pour pouvoir passer à travers les capillaires et être stables durant le passage cardiaque et le passage pulmonaire. Elles doivent également avoir une durée de vie compatible avec la durée d'un examen échographique et de celle de l'acquisition des

images. Afin de se comporter comme un traceur, elles doivent enfin rester dans le compartiment sanguin et montrer les mêmes dynamiques de flux que le sang.

De nombreuses études ont été menées dans le but de produire des agents de contraste remplissant au mieux ces conditions (Butler, 1986 ; Feinstein, 1984 ; Carroll, 1980). Le but initial était de stabiliser la microbulle d'air, très diffusible, pour augmenter sa durée de vie. Ces développements ont abouti à la commercialisation de la première génération d'agents de contraste, la société Schering AG étant la première à mettre sur le marché un agent de contraste ultrasonore : l'Echovist<sup>®</sup>, faiblement stabilisé et de durée de vie trop faible (< 1mn). Les microbulles d'Echovist<sup>®</sup> étant trop grosses pour passer les capillaires des poumons, cet agent n'a été approuvé que pour l'imagerie du cœur droit. Il est d'ailleurs toujours disponible sur le marché et est encore utilisé par les cardiologues. Le premier agent de contraste capable de résister au passage dans les capillaires pulmonaires est l'Albunex<sup>®</sup>. Le premier agent de contraste à fournir un rehaussement vasculaire cliniquement utile pour une utilisation radiologique est le Levovist<sup>®</sup>, dont la durée de vie est un peu plus longue (< 5 min). Le Levovist<sup>®</sup> (SHU 563 A, Schering AG) est composé de microbulles d'air, de diamètre 2-4 µm, stabilisées par une matrice de galactose à 99.9 % et d'acide palmitique à 0.01 % qui diminue les tensions de surface entre la microbulle et le plasma. Ce produit de contraste a la propriété de stagner dans les sinusoides hépatique en raison de forces d'interaction faibles entre l'acide palmitique et la paroi du sinusoides hépatique. Il est phagocyté par le système réticulo-endothélial à 47 %, ce qui lui confère une efficacité particulière pour la détection du carcinome hépatocellulaire (Yanagisawa, 2007).

A partir de 1993, l'air qui constituait les microbulles est remplacé par des gaz de la famille des perfluorocarbones. Ces gaz possèdent un poids moléculaire plus important, permettant d'accroître la durée de vie des microbulles (Fig. 1.1 a). Pour la majorité des agents de contraste ultrasonores de seconde et de troisième générations, les microbulles gazeuses sont

encapsulées et immergées dans une solution liquide. La paroi des microbulles, qui les protège et les stabilise, est composée de particules biocompatibles (protéines, lipides ou polymères). La seconde génération issue d'Albunex<sup>®</sup> est Optison<sup>®</sup>. Il a été approuvé aux Etats-Unis par l'organisme d'habilitation américain Food and Drug Administration (FDA) pour une utilisation commerciale en 1997. Deux autres agents sont actuellement approuvés aux Etats-Unis, Definity<sup>®</sup> et Imagent<sup>®</sup>. Ces deux agents de contraste sont essentiellement indiqués chez les patients chez qui les échocardiographies sont de mauvaise qualité (opacification du ventricule gauche, amélioration de la détection des parois endocardiques). Definity<sup>®</sup> est disponible en Europe pour des applications cardiologiques sous le nom de Luminity<sup>®</sup>. Enfin, les agents de contraste de troisième génération sont actuellement en phase expérimentale et se caractérisent par une importante rémanence en raison d'une stabilité fortement renforcée par leur structure encapsulée. Leur pouvoir de rétrodiffusion acoustique est particulièrement élevé, plus que celui des agents de deuxième génération. Le tableau 1.1 b résume les principaux agents commercialisés ou en cours d'évaluation.

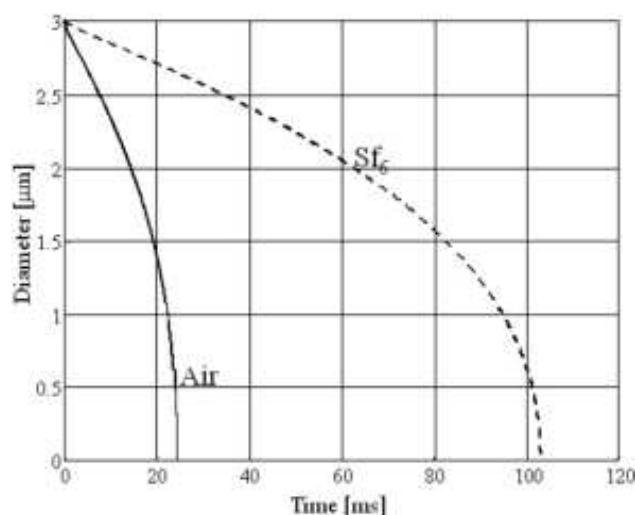


Fig. 1.1 a: Evolution au cours du temps du diamètre d'une microbulle nue (non encapsulée) de diamètre initial égal à 3 µm : (pointillés) microbulle de SonoVue<sup>TM</sup>, (continue) microbulle d'air (Bouakaz and de Jong, 2007).



<b>Fabricant</b>	<b>Nom</b>	<b>Gaz</b>	<b>Paroi</b>	<b>Diamètre moyen</b>	<b>Situation</b>
Acusphère	Imagify™	Decafluorobutane	Polymère	2 (µm)	Phase clin.
Alliance/IMCOR	Imagent®	Perfluorohexane	Lipide	5 (µm)	Autorisé en 2002
Bracco	Sonovue™	Hexafluorure de souffre	Phospholipide	2.5 (µm)	Disponible dans l'UE
Bracco	BR10®	Perfluorocarbone	Phospholipide	3 (µm)	Phase clin.
Byk-Gulden	BY963®	Air	Lipide	3.9 (µm)	Recherche
Dupont/BMS	Definity®	Octafluoropropane	Liposome	1.1-3.3	Disponible
Mallinckrodt	Albunex®	Air	Albumine	3-5 (µm)	Arrêté
Mallinckrodt	Optison®	Octafluoropropane	Albumine	3.6-5.4	Disponible
Nycomed	Sonazoid®	Perfluorocarbone	Lipide	3 (µm)	Autorisé au Japon
Point Biomedical	Bisphere™	Air	Polymère/Albu	4 (µm)	Phase clin.
Porter	PESDA	Perfluorocarbone	Albumine	7 (µm)	Recherche
Schering	Echovist®	Air	Sans	3.5 (µm)	Disponible
Schering	Levovist®	Air	Acide gras	2-4 (µm)	Disponible
Schering	Sonavist®	Air	Polymère		Phase clin.
Sonus	Echogen®	Dodecafluoropentan	Surfactant	2-3 (µm)	Retiré

Fig. 1.1 b : Principaux agents de contraste commercialisés ou en cours d'évaluation

L'agent de contraste utilisé au cours de cette thèse est le SonoVue™, agent de seconde génération fabriqué par la société Bracco SpA (Milan, Italie), il est composé d'hexafluorure de soufre (SF<sub>6</sub>) encapsulé dans une mono paroi de phospholipides très élastique (Fig. 1.2 a). Stabilisé par des phospholipides et l'acide palmitique, il est très peu phagocyté par le système réticulo-endothélial. Le diamètre des microbulles de SonoVue™ s'étend de 1 à 12 µm avec un diamètre moyen de 2,5 µm, 90% des microbulles ont un diamètre inférieur à 8 µm (Fig.1.3). A titre de comparaison, les globules rouges ont un diamètre de 6-8 µm (Fig. 1.2 b). Le SonoVue™ se présente sous forme d'un lyophilisat que l'on reconstitue par injection d'une solution saline. Après reconstitution, la concentration est comprise entre  $1 \times 10^8$  et  $5 \times 10^8$  microbulles/ml, avec une valeur moyenne de  $2 \times 10^8$  microbulles/ml (Schneider, 1995). L'agent reconstitué reste stable quelques heures. Le SonoVue™ ne possède aucune spécificité d'organe.

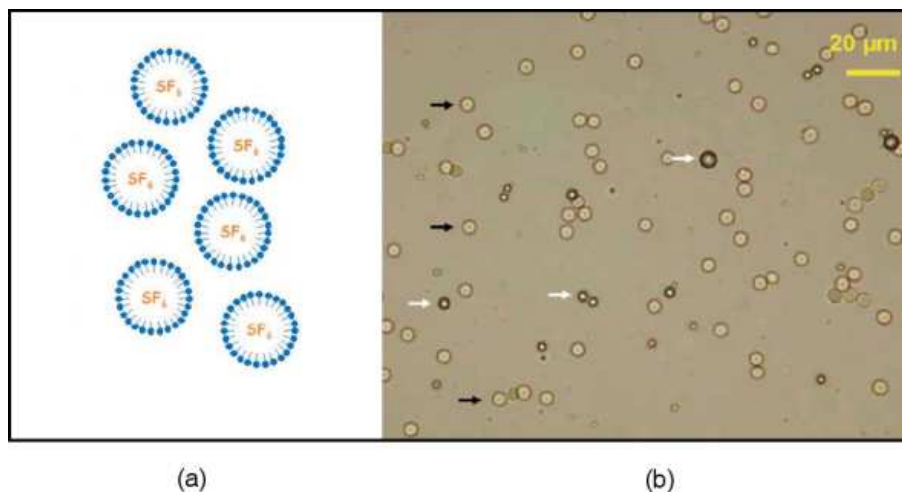


Fig. 1.2: (a) Schéma de microbulles de SonoVue™ (Greis, 2004). (b) Observation au microscope optique de microbulles de SonoVue™ (flèches blanches) et de globules rouges (flèches noires) (Quaia, 2007).

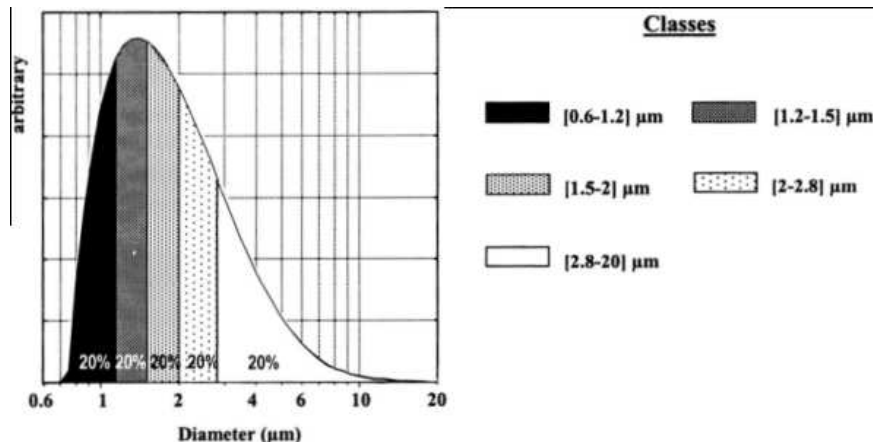


Fig. 1.3: Distribution en taille standard d'une suspension de microbulles de SonoVue™ (Gorce et al., 2000).

#### 1.1.2.2 Dynamique d'une microbulle insonifiée

Sous l'action d'une onde ultrasonore, les microbulles composant les agents de contraste ultrasonores entrent en oscillation. Ainsi, leur taille évolue au cours du temps, diminuant pendant la phase de compression de l'onde ultrasonore (pression positive) et augmentant pendant la phase de décompression de l'onde (pression négative). Par ces vibrations, les microbulles deviennent elles-mêmes une source d'ultrasons.

##### 1.1.2.2.1 Fréquence de résonance

L'amplitude des vibrations est fortement dépendante de la fréquence de l'onde ultrasonore incidente. En effet, comme pour tout système oscillant, la microbulle possède une fréquence propre appelée fréquence de résonance. La fréquence de résonance d'une microbulle est inversement proportionnelle au carré de son diamètre et dépend également des propriétés viscoélastiques et de compression de la paroi ainsi que du gaz utilisés (de Jong, 1992). Les oscillations de la microbulle sont maximales lorsque la fréquence de l'onde incidente est égale à sa fréquence de résonance. Compte-tenu de la distribution en taille des microbulles des

agents de contraste actuels, leurs fréquences de résonance couvrent la plage complète des fréquences utilisées en pratique clinique (1-10 MHz) (Fig. 1.4).

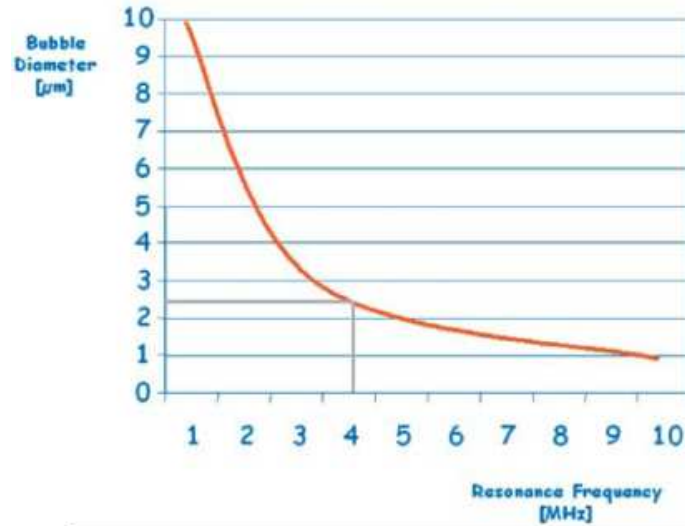


Fig. 1.4: Les fréquences de résonance des microbulles de SonoVue™ couvrent toute la gamme des fréquences utilisées en pratique clinique. Par exemple, une microbulle de diamètre égal à 2,5 µm a une fréquence de résonance de 4 MHz (Greis, 2004).

Ce phénomène de résonance est à l'origine d'un rehaussement significatif de l'amplitude du signal réfléchi. Minnaert (Minnaert, 1933) fut le premier à proposer une expression de la fréquence de résonance d'une microbulle. Cette expression décrit les oscillations de la microbulle à l'aide d'un modèle d'oscillateur harmonique simple sous hypothèse de conditions adiabatiques

$$f_0 = \frac{1}{2\pi R_0} \sqrt{\frac{3\gamma P_0}{\rho}}$$

$R_0$  correspond au rayon de la microbulle sans excitation,  $\gamma$  est le rapport des chaleurs spécifiques du gaz et du liquide environnant et  $P_0$  et  $\rho$  correspondent à la pression et à la

masse volumique du milieu environnant. En pratique, ce modèle n'est valable que pour des microbulles de grande taille ( $> 10 \mu\text{m}$ ). Pour de petites microbulles, l'oscillation devient isotherme. De plus, la tension de surface devient significative, nécessitant l'introduction de termes supplémentaires. Medwin a ainsi décrit la fréquence de résonance isotherme d'une microbulle par l'expression (Medwin, 1977):

$$f_r = \frac{1}{2\pi R_0} \sqrt{\frac{3(\gamma b)(\beta P_0)}{\rho}} = f_0 \sqrt{\beta b}$$

$\beta$  et  $b$  étant des termes correctifs intégrant les effets de tension de surface  $\sigma$ , d'amortissement (thermique, visqueux et dû au rayonnement)  $\delta$  et de viscosité dynamique du liquide  $\mu$ .

#### 1.1.2.2.2 Modélisation

La modélisation du comportement oscillatoire des microbulles dans un champ ultrasonore a fait l'objet de nombreuses recherches. Pour une microbulle entourée d'un milieu liquide supposé infini et incompressible, sa dynamique est décrite par l'équation de Rayleigh-Plesset-Noltingk-Neppiras et Poritsky, connue sous le nom de RPNNP :

$$\rho R \ddot{R} + \frac{3}{2} \rho \dot{R}^2 = \left( p_0 + \frac{2\sigma}{R_0} - p_v \right) \left( \frac{R_0}{R} \right)^{3\Gamma} + p_v - p_0 - \frac{2\sigma}{R} - \frac{4\mu}{R} \dot{R} - P_i(t)$$

Où  $R$  est le rayon instantané de la microbulle,  $p_v$  et  $p_0$  sont respectivement la pression de vapeur et la pression atmosphérique.  $P_i(t)$  correspond à la variation de la pression acoustique au cours du temps. Enfin,  $\Gamma$  correspond au coefficient polytropique. La résolution de cette équation permet d'obtenir le rayon instantané de la microbulle ainsi que la vitesse et l'accélération de sa paroi. A partir de l'équation RPNNP, de nouveaux termes ont été

incorporés afin de modéliser la dynamique d'une microbulle encapsulée. De Jong et al. ont intégré les effets de la paroi de la microbulle et proposent l'expression suivante (de Jong, 1994) :

$$\rho R \ddot{R} + \frac{3}{2} \rho \dot{R}^2 = \left( p_0 + \frac{2\sigma}{R_0} - p_v \right) \left( \frac{R_0}{R} \right)^{3\Gamma} + p_v - p_0 - \frac{2\sigma}{R} + p_p - \delta_{tot} \omega \rho R \dot{R} - P(t)$$

où  $p_p$  est une pression supplémentaire traduisant les effets de l'élasticité de la paroi et s'exprime :

$$p_p = -2S_P \left( \frac{1}{R_0} - \frac{1}{R} \right)$$

où  $S_P$  représente l'élasticité de la paroi.

Ces modèles permettent d'obtenir l'évolution du rayon d'une microbulle au cours du temps. Un exemple obtenu avec et sans prise en compte de la paroi est présenté dans la figure 1.5. Selon les caractéristiques de l'onde ultrasonore incidente, l'oscillation d'une microbulle peut être symétrique ou asymétrique. Selon le type d'oscillation, la réponse acoustique de la microbulle est différente.

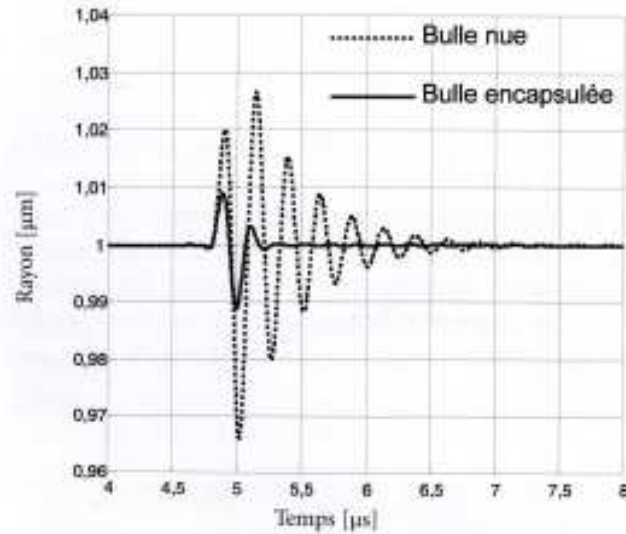


Fig. 1.5: Evolution du rayon d'une microbulle encapsulée et d'une microbulle nue de 1  $\mu\text{m}$  de diamètre sous l'action d'une onde acoustique de 4 MHz. L'épaisseur de la paroi est de 15 nm (Bouakaz, 2007b).

### 1.1.2.3 Administration des agents de contraste ultrasonores

Les agents de contraste ultrasonores peuvent être injectés par voie intraveineuse en bolus ou par infusion continue à l'aide d'une pompe mécanique. Ils sont strictement intravasculaires. Lors d'une injection en bolus, l'intensité ultrasonore augmente très fortement pendant quelques dizaines de secondes jusqu'à atteindre un maximum. Lorsque l'intensité est proche de ce maximum, des artéfacts de type "volume partiel" (blooming artefacts) peuvent apparaître (Forsberg et al., 1994) (Fig. 1.6) : les vaisseaux détectés ont une taille anormalement élevée et des microbulles semblent être détectées à l'extérieur de la lumière des vaisseaux. Ces artéfacts sont dus à l'augmentation importante du signal ultrasonore diffusé en présence de l'agent de contraste (voir paragraphe 1.1.3.4). Au cours de la phase de décroissance du signal ultrasonore apparaît une plage temporelle au cours de laquelle l'intensité ultrasonore affichée est utile au diagnostic (diagnostic window). De nombreuses études ont montré que l'infusion continue permet de limiter les artéfacts de blooming tout en

allongeant la fenêtre temporelle utile au diagnostic (Totaro, 2002 ; Holscher, 2001 ; Albrecht, 1998 ; Okada, 2005) (Fig. 1.6). De plus, elle permet de s'affranchir de la variabilité liée à l'injection en bolus dans le cadre de l'estimation de paramètres de la perfusion. L'infusion continue présente tout de même certaines limites. Tout d'abord, des acquisitions de longue durée (plusieurs dizaines de secondes) sont nécessaires. De plus, l'estimation de la concentration et de la vitesse d'infusion optimales n'est pas toujours évidente. Enfin, le rehaussement est inférieur à celui obtenu avec un bolus, ce qui peut poser problème notamment pour des investigations cérébrales.

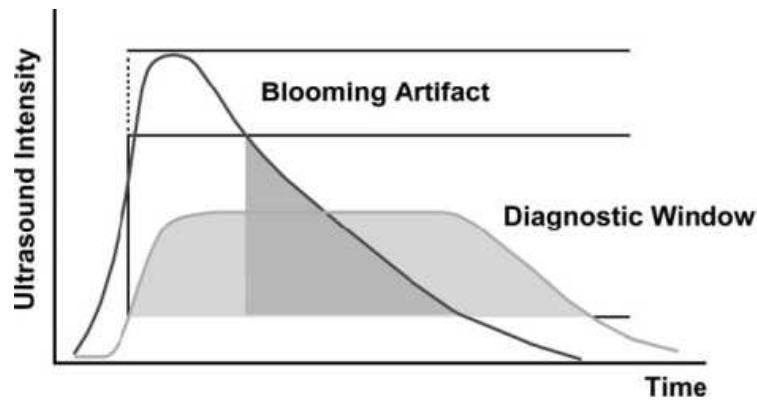


Fig. 1.6: Comparaison des fenêtres temporelles utiles au diagnostic dans le cas d'une injection en bolus (en gris foncé) et d'une infusion continue (en gris clair). Les artéfacts de blooming apparaissent autour du maximum du bolus, i.e. pour de fortes valeurs de concentration de l'agent de contraste (Stolz and Kaps, 2005).

Ainsi, en pratique clinique, l'injection de plusieurs quantités faibles d'agent de contraste en bolus est souvent pratiquée dans le but de réduire les artéfacts de blooming tout en préservant la fenêtre utile au diagnostic. Pour l'estimation de paramètres de la microcirculation, nous verrons plus loin que des modèles cinétiques ont été développés pour les deux types d'administration des agents de contraste ultrasonores.



### 1.1.3 Interaction des ondes ultrasonores avec le milieu traversé

L'intensité de l'onde ultrasonore diminue au cours de sa propagation ; ce phénomène est appelé atténuation. Différents mécanismes sont à l'origine de l'atténuation des ultrasons, que ce soit au cours de la propagation dans un milieu homogène (phénomène d'absorption) ou à l'interface de deux milieux d'impédances acoustiques différentes. Après avoir rappelé la définition des notions d'impédance acoustique d'un milieu homogène et d'interface acoustique, nous détaillerons les différents phénomènes intervenant au cours de la propagation d'une onde ultrasonore dans le corps, à savoir les phénomènes de réflexion, de transmission, de diffusion et d'absorption.

#### *1.1.3.1 Impédance acoustique d'un milieu homogène*

Lorsqu'une onde ultrasonore se propage dans un milieu homogène, sa célérité dépend uniquement du milieu qui est caractérisé par son impédance acoustique  $Z$  :

$$Z = \rho c = \sqrt{\rho E}$$

exprimée en  $kg.m^{-2}.s^{-1}$ . L'impédance acoustique d'un milieu est d'autant plus grande que la densité et le module d'élasticité du milieu sont importants. Elle est caractéristique des propriétés mécaniques de ce milieu et conditionne, avec la masse volumique, la célérité de l'onde ultrasonore, comme le montre l'équation sus-jacente.

Les valeurs d'impédance acoustique de quelques tissus biologiques et de l'air ainsi que les célérités d'une onde ultrasonore dans ces milieux sont indiquées dans le tableau 1.2.

Milieu	Célérité C (m.s <sup>-1</sup> )	Impédance acoustique Z (10 <sup>6</sup> kg.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	Coefficient de réflexion R (interface avec l'eau)
Eau	1480	1.48	0
Sang	1570	1.61	0.01
Cerveau	1540	1.58	0.029
Graisse	1450	1.38	0.042
Foie	1550	1.65	0.054
Muscle	1590	1.70	0.054
Crâne	4000	7.80	0.614
Os	3000-4000	5	0.30
Air	330	0.0004	0.999

**Tab 1.2** : Paramètres acoustiques de différents tissus biologiques et de l'air

### *1.1.3.2 Interface acoustique*

Nous avons vu que la propagation d'une onde ultrasonore dans un tissu ou d'une microbulle dépendait de leur impédance acoustique. A la frontière de deux milieux d'impédances acoustiques différentes  $Z_1$  et  $Z_2$ , appelée interface acoustique, la propagation de l'onde va être modifiée. La notion d'interface acoustique, qui n'est pas forcément liée à la présence d'une interface physique (membrane, paroi, etc), est utilisée dans le corps humain aussi bien au niveau macroscopique qu'au niveau microscopique. Une interface acoustique est caractérisée par :

– la différence d'impédance entre les deux milieux ( $Z_2 - Z_1$ ) ; on différencie ainsi les interfaces acoustiques entre deux tissus mous (myocarde-endocarde, foie-rein) des interfaces très marquées (air-tissus mous, os-tissus mous),

- sa forme, plane ou incurvée,
- son orientation par rapport au faisceau ultrasonore,
- son caractère, lisse ou rugueux,
- sa dimension par rapport à la longueur d'onde de l'onde ultrasonore.

### 1.1.3.3 Réflexion, transmission

L'arrivée d'une onde ultrasonore sous un angle d'incidence  $i$  au niveau d'une interface entre deux milieux d'impédances acoustiques  $Z_1$  et  $Z_2$  donne naissance à deux ondes, une réfléchie vers le premier milieu et l'autre transmise dans le deuxième milieu (Fig. 1.7). Ce phénomène, conditionné par une taille d'interface largement supérieure à la longueur d'onde de l'onde ultrasonore, est appelé réflexion spéculaire. En raison du diamètre des microbulles qui les composent, ce phénomène ne concerne pas les agents de contraste ultrasonores. L'onde ultrasonore réfléchie, dénommée écho ultrasonore, est obtenue sur les capsules d'organes, les fibres tendineuses ou musculaires, les kystes, les parois vasculaires, l'oeil, le diaphragme. L'onde ultrasonore transmise est déviée d'un angle qui dépend de la différence d'impédance acoustique entre les deux milieux. Elle est appelée onde diffractée, le phénomène de déviation de l'onde est appelé diffraction. Les directions de propagation des ondes réfléchies et diffractées sont définies par leurs angles avec la normale à l'interface, respectivement  $\theta_r$  et  $\theta_t$  (Fig. 1.7). Ces angles sont reliés à l'angle d'incidence  $i$  par les relations de Descartes :

$$\theta_r = \theta_i$$

$$c_2 \sin \theta_t = c_1 \sin \theta_i$$

$c_1$  et  $c_2$  étant les célérités respectives de l'onde ultrasonore dans les milieux 1 et 2.

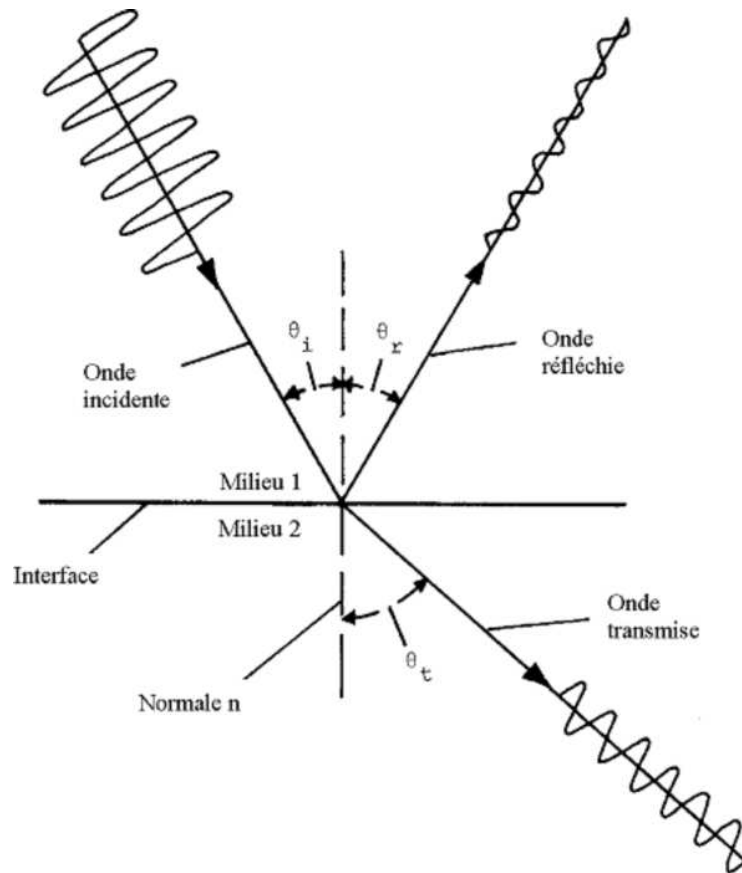


Fig. 1.7 : Comportement d'une onde ultrasonore au niveau de l'interface séparant deux milieux 1 et 2 d'impédances acoustiques  $Z_1$  et  $Z_2$  (Goldstein, 1983).

L'intensité de l'écho dépend fortement de l'interface. La partie  $R$  de l'énergie incidente qui est réfléchie est définie par la formule ci-dessous, l'autre partie étant diffractée :

$$R = \left( \frac{Z_2 \cos \theta_i - Z_1 \cos \theta_t}{Z_2 \cos \theta_i + Z_1 \cos \theta_t} \right)^2$$

Les valeurs de  $R$  au niveau de l'interface entre différents tissus biologiques et l'eau sont indiquées dans le tableau 1.2. Le phénomène de diffraction a pour conséquence une impossibilité d'analyser les tissus en cas de différence significative des impédances

acoustiques. En effet, l'énergie réfléchie, maximale pour une incidence normale, décroît très rapidement dès que l'onde incidente devient oblique. Cependant, les impédances dans les tissus mous sont sensiblement constantes, rendant le phénomène de diffraction négligeable pour la grande majorité des applications échographiques cliniques. Globalement, le faisceau reste rectiligne. Sous cette hypothèse d'incidence orthogonale  $i = 0$ , l'équation précédente se simplifie et devient :

$$R = \left( \frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \right)^2$$

La transmission se fait alors dans la même direction que celle du faisceau incident :

$$\theta_t = \theta_i = 0 \text{ et } c_2 = c_1$$

#### 1.1.3.4 Diffusion

Lorsqu'une onde ultrasonore interagit avec une structure de taille inférieure à sa longueur d'onde ou encore avec un élément irrégulier ou rugueux, la réflexion spéculaire n'a plus lieu. Le phénomène observé est la diffusion de l'onde. La structure rencontrée se comporte alors comme une source secondaire qui émet une petite fraction de l'énergie incidente dans toutes les directions de l'espace. Lorsque la longueur d'onde est très petite devant la taille  $a$  de l'obstacle, l'intensité  $S_d$  diffusée selon une direction est donnée par la loi de Rayleigh :

$$S_d = S(x_0) F(\theta) \frac{a^6}{\lambda^4}$$

$F(\theta)$  est une fonction de l'angle ( $\theta$ ) ainsi que des propriétés mécaniques du milieu et de l'obstacle (masses spécifiques, célérités de l'onde).  $S(x_0)$  correspond à l'intensité incidente. La diffusion vers l'arrière ( $\theta = 180^\circ$ ) s'appelle la rétrodiffusion. En pratique, elle permet de visualiser la structure interne des organes. En effet, en l'absence d'un agent de contraste, les

centres diffusants rencontrés dans le corps sont essentiellement les globules rouges, les microvaisseaux et les petits amas cellulaires qui forment la structure interne des tissus, ceux-ci pouvant ainsi être assimilés à de multiples diffuseurs distribués aléatoirement. L'étude de l'interaction d'une onde ultrasonore avec des tissus mous ou avec un volume de microbulles revient à considérer l'interaction d'une onde ultrasonore avec un ensemble de diffuseurs. L'efficacité de l'interaction entre une onde ultrasonore de fréquence  $f$  et un élément diffusant de taille  $R$  s'exprime au travers de sa section efficace de diffusion  $\sigma_d$  qui correspond à la fraction moyenne de l'énergie incidente qui a été diffusée ; elle est égale au rapport de l'énergie diffusée sur l'intensité incidente :

$$\sigma_d(R, f) = \frac{P_d(f)}{I_i(f)}$$

La section efficace de diffusion totale associée à un ensemble de centres diffusants correspond à la somme des sections efficaces de diffusion  $\sigma_d(R, f)$  de chacun des centres diffusants et vaut  $\sum R n(R) \sigma_d(R, f)$ ,  $n(R)$  étant le nombre de centres diffusants de taille  $R$  par unité de volume. Le coefficient de rétrodiffusion  $\eta(f)$  correspond alors à la section efficace de diffusion différentielle par unité de volume (Campbell and Waag, 1984)

$$\eta(f) = \frac{\sum_R n(R) \sigma_d(R, f)}{4\pi}$$

Le coefficient de diffusion s'exprime en  $cm.sr^{-1}$  ou, pour un volume donné, en décibels. Sa variation en fonction de la fréquence de l'onde incidente est beaucoup plus importante dans le cas de microbulles que dans le cas de tissus mous.

#### 1.1.3.4.1 Cas des tissus mous

La section efficace de diffusion associée à un diffuseur tissulaire varie selon le tissu considéré. Il n'existe pas d'expression mathématique la caractérisant. Les multiples diffuseurs produisent un ensemble d'ondelettes ultrasonores interférant entre elles. Ces interférences sont à l'origine de fluctuations statistiques du signal échographique qui ne reflètent pas la réalité physique de la structure du tissu considéré. La texture d'un tissu à l'image n'est donc pas une représentation directe des microstructures mais un bruit acoustique (*speckle*).

#### 1.1.3.4.2 Cas des microbulles

Sous l'action d'une onde ultrasonore, deux types de réponses acoustiques peuvent être définis pour une microbulle : la réponse acoustique linéaire et la réponse acoustique non linéaire.

Nous avons vu que la réponse acoustique d'une microbulle dépendait de sa dynamique. Dans le cas d'oscillations symétriques de la microbulle, sa réponse acoustique est linéaire. Dans le cas contraire, sa réponse acoustique est non linéaire.

### **Modèle linéaire**

La rétrodiffusion et plus généralement le phénomène de diffusion d'une onde ultrasonore par une microbulle repose sur plusieurs mécanismes, permettant de différencier deux types de rétrodiffusion : la rétrodiffusion passive et la rétrodiffusion active.

Le mécanisme premier du rehaussement du signal ultrasonore dû aux microbulles est similaire à celui de tout autre écho : la variation d'impédance acoustique entre deux structures. L'impédance acoustique de l'air et des autres gaz qui composent les agents de contraste est très faible par rapport à celle du sang et des tissus mous. De ce fait, une large interface acoustique entre la microbulle et le milieu environnant (sang, paroi des vaisseaux) est créée, entraînant un rehaussement de la rétrodiffusion acoustique.

Cette rétrodiffusion de l'onde incidente est dite passive. La section efficace de diffusion  $\sigma_d$  associée à une microbulle de rayon  $R$  peut s'exprimer comme suit (Bouakaz, 2007b) :

$$\sigma_d = \frac{4\pi}{9} k^4 R^6 \left( \left( \frac{\kappa_d - \kappa}{\kappa} \right)^2 + \frac{1}{3} \left( \frac{3(\rho_d - \rho)}{2\rho_d + \rho} \right)^2 \right)$$

$\kappa$  étant le nombre d'ondes, et les compressibilités de la microbulle et du milieu environnant (exprimées en  $Pa^{-1}$ ) et  $\rho_d$  et  $\rho$  les masses volumiques de la microbulle et du milieu (exprimées en  $kg.m^{-3}$ ).

Les microbulles des agents de contraste ultrasonores présentent une section efficace de diffusion très élevée en comparaison des particules solides (facteur 109 par rapport à une particule de fer), justifiant leur intérêt pour l'imagerie.

Deux autres mécanismes permettent d'augmenter la rétrodiffusion acoustique et de produire un rehaussement significatif : l'oscillation (voir le paragraphe 1.1.2.2) et la destruction des microbulles. Il s'agit de la rétrodiffusion active.

Dans le cadre de la rétrodiffusion active, la section efficace de diffusion  $\sigma_d(R, f)$  est également utilisée pour décrire l'efficacité de l'interaction des ondes ultrasonores avec une microbulle. Pour une microbulle d'air, elle s'exprime de la manière suivante (Wildt, 1946) :

$$\sigma_d(R, f) = \frac{4\pi R^2}{\left( \frac{f_0^2}{f^2} - 1 \right)^2 + \delta^2}$$

### **Modèle non linéaire**

Dans le cas d'oscillations non symétriques, la réponse acoustique de la microbulle devient non linéaire, *i.e.* les ondes ultrasonores diffusées ont un spectre fréquentiel contenant, en plus



de la composante fondamentale (incidente), des composantes harmoniques aux fréquences multiples et sous-multiples de la fréquence incidente. Pour chacune de ces composantes fréquentielles, la pression acoustique diffusée à la surface de la microbulle,  $P_d(\omega)$  peut être définie après résolution de l'équation de RPNNP par (Coakley and Nyborg, 1978) :

$$|P_d(n\omega)| = |\rho n R_0 \dot{R}(n\omega)|$$

$n$  étant l'ordre de la composante harmonique et  $\omega$  la fréquence angulaire (ou pulsation).

La section efficace de diffusion est ensuite définie par :

$$\sigma_d(n\omega) = 4\pi R_0^2 \frac{|P_d(n\omega)|^2}{|P_i(\omega)|^2}$$

#### 1.1.3.5 Absorption

La propagation d'une onde ultrasonore s'effectuant par une succession de variations locales de pression sans transport de matière, un transfert d'énergie est nécessaire. Ainsi, l'onde ultrasonore perd de l'énergie qui est absorbée par le milieu. Différents mécanismes sont à l'origine de cette perte énergétique, les plus importants étant ceux de conduction thermique et de viscosité. En effet, l'énergie mécanique de l'onde est essentiellement transformée en chaleur sous l'effet de forces visqueuses s'opposant au mouvement des particules du milieu. Cette perte est définie par la section efficace d'absorption  $\sigma_a(R, f)$ . La section efficace d'absorption totale, qui correspond au coefficient d'absorption linéaire  $\mu_{lin}(f)$ , est :

$$\mu_{lin}(f) = \sum_R n(R) \sigma_a(R, f)$$

Plutôt que le coefficient d'absorption linéaire  $\mu_{lin}(f)$ , le coefficient d'absorption  $\mu(f)$  est plus généralement utilisé :

$$\mu(f) = 10 \frac{\mu_{lin}(f)}{2,3}$$

Il s'exprime en  $dB.cm^{-1}$ .

#### 1.1.3.5.1 Cas des tissus mous

La diminution de l'intensité ultrasonore  $S(x, f)$  dans les tissus mous, supposés homogènes, due au phénomène d'absorption est une fonction croissante de la distance  $x$  parcourue par l'onde et est classiquement modélisée par une fonction exponentielle décroissante :

$$S(x, f) = S(x_0) e^{-\mu(f)x}$$

$S(x_0)$  étant l'intensité initiale. Cependant, deux ondes ultrasonores différentes ne subiront pas forcément la même baisse d'intensité. En effet, l'absorption d'une onde ultrasonore ne dépend pas que de la distance parcourue dans le milieu, elle dépend également de la fréquence de l'onde considérée :

$$\mu(f) = k.f^\beta$$

Dans le corps humain, le paramètre  $\beta$  est compris entre 1 et 2 selon le tissu considéré. Il est égal à 2 pour l'eau et généralement égal à 1 pour les tissus mous. Dans la gamme des fréquences utilisées en pratique clinique, la relation entre le coefficient  $\mu$  et la fréquence est ainsi supposée linéaire ( $\beta = 1$ ). Il apparaît donc que plus la fréquence des ultrasons est grande, plus le phénomène d'absorption est important et donc plus la profondeur d'exploration est faible. En pratique, le choix de la fréquence utilisée est donc en grande partie guidé par la profondeur de la zone que l'on souhaite explorer.

#### 1.1.3.5.2 Cas des microbulles

Dans le cas d'une microbulle, la section efficace d'absorption a pour expression (Coakley and Nyborg, 1978) :

$$\sigma_a(R, f) = \sigma_d(R, f) \left( \frac{\delta}{\delta_{ray}} - 1 \right)$$

où  $\delta$  est la constante d'amortissement et  $\delta_{ray}$  correspond à la perte d'énergie par rayonnement.

### 1.1.3.6 Atténuation

La section efficace d'extinction  $\sigma_e(R, f)$  est égale à la somme de la section efficace de diffusion et de la section efficace d'absorption. Elle traduit la perte totale d'énergie du faisceau ultrasonore lors de sa propagation à travers un diffuseur.

#### 1.1.3.6.1 Cas des tissus

Pour les tissus, nous avons vu qu'il n'existe pas d'expression explicite de la diffusion. Le phénomène d'absorption étant généralement prépondérant par rapport à la diffusion, l'atténuation est souvent modélisée, en pratique, de la même manière que l'absorption, à savoir par une fonction exponentielle décroissante :

$$S(x, f) = S(x_0) e^{-a(f)x}$$

#### 1.1.3.6.2 Cas des microbulles

Pour une microbulle de rayon  $R$ , elle s'exprime :

$$\sigma_e(R, f) = \sigma_d(R, f) + \sigma_a(R, f) = \frac{4\pi R^2 \left( \frac{\delta}{\delta_{ray}} \right)}{\left( \frac{f_0^2}{f^2} - 1 \right)^2 + \delta^2}$$

Considérons la propagation du faisceau dans un ensemble de centres diffusants. La section efficace d'extinction totale, qui correspond au coefficient d'atténuation linéaire  $a(f)$ , s'exprime (Morse and Ingard, 1968) :

$$a(f) = \sum_R n(R) \sigma_e(R, f)$$

L'unité du coefficient d'atténuation linéaire est le neper par centimètre ( $Np.cm^{-1}$ ). De même que pour l'absorption, on utilise plus généralement le coefficient d'atténuation  $\alpha(x, f)$  défini par :

$$\begin{aligned} \alpha(x, f) &= 10 \log_{10} \left( \frac{S(x_0)}{S(x, f)} \right) \\ &= 10 \frac{a(x, f)}{2,3}. \end{aligned}$$

Le coefficient  $\alpha(x, f)$  exprime la perte d'intensité d'une onde ultrasonore, il s'exprime en  $dB.cm^{-1}$ . Plus le coefficient  $\alpha(x, f)$  est grand, plus l'atténuation du signal augmente et plus la pénétration des ultrasons est faible.

## **1.2 Imagerie**

### **1.2.1 Sondes échographiques**

La sonde constitue un élément essentiel de la chaîne d'acquisition d'une image échographique. En effet, elle conditionne en grande partie la qualité de l'image. La sonde échographique a pour fonctions :

- l'émission et la réception des ultrasons ;
- la focalisation du faisceau ultrasonore ;

– le balayage de l'espace par le faisceau ultrasonore pour permettre l'exploration de la région anatomique souhaitée.

#### *1.2.1.1 Emission-réception des ondes ultrasonores*

Les sondes échographiques sont caractérisées par leur capacité à transformer une impulsion électrique en onde ultrasonore et, réciproquement. Cette capacité est basée sur l'effet piézo-électrique (Fig. 1.8). La piézo-électricité est la propriété que possèdent certains matériaux (cristaux, céramiques, polymères ou composites) de se polariser électriquement sous l'action d'une force mécanique (effet direct) et, réciproquement, de se déformer lorsqu'on leur applique un champ électrique (effet inverse). La polarisation de ces matériaux est due à une dissociation des centres de gravité des particules positives et négatives.

##### 1.2.1.1.1 Production des ondes ultrasonores

La structure d'une sonde échographique est organisée autour d'un élément piézo-électrique : la céramique. Des impulsions électriques de haute fréquence sont délivrées à la surface de la céramique, faisant ainsi varier son épaisseur (exploitation de l'effet indirect). La fréquence élevée des impulsions électriques s'explique par la nécessité d'avoir une fréquence proche de la fréquence de résonance de la céramique, dont la valeur est directement liée à son épaisseur. L'intensité des impulsions électriques permet donc d'interférer directement sur l'intensité des ondes ultrasonores émises. En pratique, le réglage de l'intensité des impulsions électriques correspond au réglage de la puissance à l'émission, exprimée sur un échographe en décibels relatifs ou en pourcentage.

La sonde assurant l'émission et la réception des ondes ultrasonores, l'excitation de la céramique n'est pas continue mais impulsionnelle. De courtes impulsions électriques sont émises et répétées à intervalles réguliers, produisant des trains d'ondes ultrasonores (Fig. 1.9).

Le nombre d'impulsions électriques produites par seconde définit la fréquence de répétition (Pulse Repetition Frequency ou PRF).

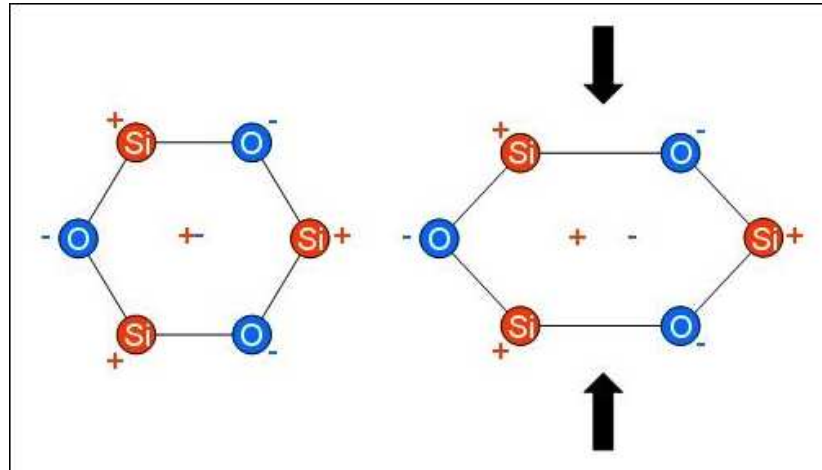


Fig. 1.8: Effet piézo-électrique du quartz. S'il n'est soumis à aucune contrainte mécanique, les centres de gravité des particules positives et négatives sont superposés (à gauche). En revanche, ils se dissocient sous l'effet d'une contrainte mécanique, entraînant la polarisation du cristal (à droite).

#### 1.2.1.1.2 Réception des ondes ultrasonores

Entre deux excitations, la sonde réceptionne les échos provenant de la région anatomique explorée (Fig. 1.9). Par exemple, pour une PRF (pulse repetition frequency) de 5 kHz, si l'émission d'une impulsion dure 1  $\mu$ s, la sonde sera réceptrice pendant 199  $\mu$ s. Cette durée dite d'écoute conditionne la profondeur maximale d'exploration : une durée plus élevée permet l'exploration de régions plus profondes mais entraîne une diminution de la cadence image. A la réception d'un écho, les contraintes mécaniques dues aux variations de pression de cet écho et exercées sur la céramique créent une différence de potentiel à la surface de celle-ci (effet piézo-électrique direct) directement proportionnelle à l'intensité de l'écho et dont la fréquence est identique à celle de l'écho.

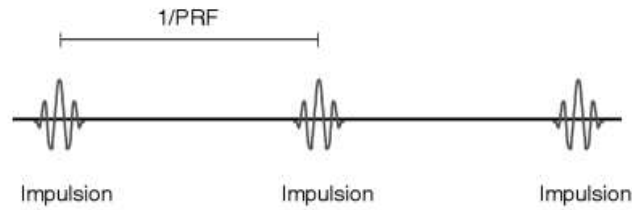


Fig. 1.9: Emission-réception d'ondes ultrasonores. Entre deux impulsions, la sonde réceptionne les échos. La fréquence de répétition correspond à l'inverse du temps entre deux impulsions successives.

### 1.2.1.2 Structure interne

Au sein de la sonde, la céramique, l'amortisseur et l'isolant sont les trois éléments principaux (Fig. 1.10).

**La céramique**, comme nous l'avons précédemment mentionné, est l'élément de la sonde permettant la production et la réception des trains d'ondes ultrasonores par effet piézo-électrique. Des progrès sont continuellement introduits par les firmes pour améliorer les performances en termes de caractéristiques acoustiques et de couplage électromagnétique des céramiques. La taille, l'utilisation de lentilles complexes, l'agencement des céramiques et leur isolation sont des éléments clés de la qualité. Il est possible de les disposer sur plusieurs couches (technique multilayer), ce qui augmente la bande passante. Le contrôle de la durée et de la morphologie des impulsions ultrasonores (pulse shaping) est obtenu en profilant la vibration des céramiques par adaptation de l'impulsion et de l'amortissement. C'est essentiel pour produire les impulsions très courtes nécessaires aux sondes large bande. Nous verrons plus loin que les sondes actuelles comportent plusieurs éléments piézo-électriques agencés les uns à côté des autres, obtenus par découpe à partir d'un même bloc (sondes multi-éléments).

**L'amortisseur** est placé en arrière de la céramique. Sa fonction est double. D'une part, il amortit les vibrations de la céramique dans le but d'émettre des trains d'ondes de courte

durée, d'autre part, il absorbe les ondes émises vers l'arrière, celles-ci pouvant être à l'origine d'échos parasites. Le choix de cet élément est crucial car il influe directement sur la bande passante et le rendement de la sonde. Un amortissement important permet d'obtenir une bande passante large mais diminue le rendement. **L'isolant** ou adaptateur d'impédance est lui, situé en avant de la céramique. Non conducteur, il isole la peau et protège la céramique. De plus, il possède une impédance intermédiaire entre celles de la céramique et de la peau, permettant d'éviter une trop forte réflexion à l'interface entre la sonde et la peau. Afin d'améliorer la sensibilité de la sonde, son épaisseur  $E$  doit être égale au quart de la longueur d'onde :

$$E = (2n + 1) \frac{\lambda}{4}$$

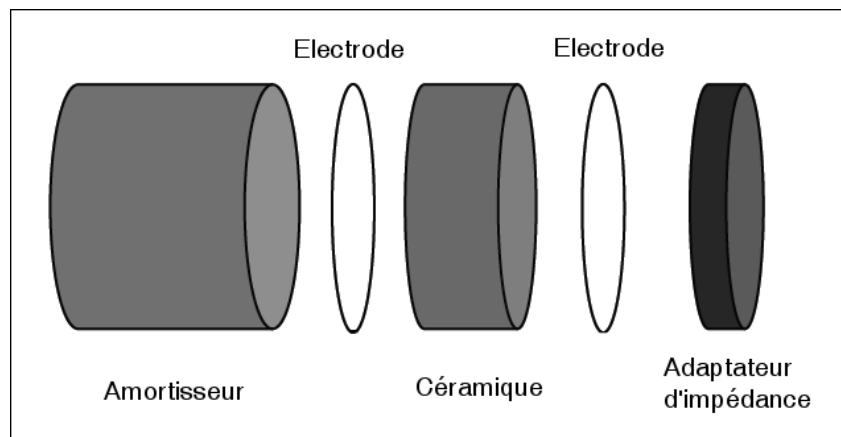


Fig. 1.10: Structure schématique d'une sonde échographique

### 1.2.1.3 Faisceau ultrasonore

#### 1.2.1.3.1 Définition



Les trains d'ondes ultrasonores générées par la céramique de la sonde se déplacent sous forme de faisceau avec des propriétés très spécifiques. Pour définir la notion de faisceau, il convient de s'intéresser aux différents modes de déplacement possibles des ondes dans l'espace.

Une onde ultrasonore émise par une source considérée comme ponctuelle est dite sphérique: elle se déplace dans toutes les directions de l'espace (déplacement multidirectionnel). La dispersion de l'énergie s'effectue sur un front d'onde sphérique et croissant avec la distance à la source. Plus on s'éloigne de la source ultrasonore, plus l'intensité est faible, l'énergie se répartissant sur une surface plus grande. Dans un milieu homogène, la décroissance de l'intensité ultrasonore (indépendamment du phénomène d'atténuation) est proportionnelle au carré de la distance.

Si la source est plane et de dimension fortement supérieure à la longueur d'onde de l'onde ultrasonore, l'onde est dite plane et elle est caractérisée par un déplacement unidirectionnel parallèle à l'axe d'émission. Le front d'onde ne varie plus avec la distance, permettant la conservation de l'énergie et donc une meilleure pénétration dans le milieu. Une modification de la surface de la source permet de modifier la surface d'onde et d'obtenir ainsi des surfaces d'onde convexes ou concaves selon la forme de la source. L'obtention d'une surface d'onde concave permet la focalisation du faisceau.

Les ondes directionnelles permettent d'introduire la notion de faisceau ultrasonore. Celle-ci englobe en effet toutes les ondes unidirectionnelles obtenues à partir d'une source. La longueur d'onde des ondes ultrasonores devant être inférieure à la dimension de la source, la notion de longueur d'onde maximale et donc de fréquence ultrasonore minimale en dessous de laquelle on ne peut produire de faisceau est introduite. En imagerie ultrasonore médicale, la limite se situe autour de 1 MHz, en raison de la taille et des propriétés électromécaniques des cristaux constituant la source (*i.e.* la sonde échographique).

#### 1.2.1.3.2 Mode d'émission

Deux modes d'émission d'ondes ultrasonores par la sonde sont possibles : l'émission continue et l'émission impulsionnelle. Selon le mode utilisé, la géométrie du faisceau ultrasonore est considérablement différente. Notamment, les interférences entre des impulsions courtes générées en mode d'émission impulsionnelle sont beaucoup moins importantes qu'avec les longues oscillations utilisées en mode d'émission continue. Une sonde échographique étant chargée à la fois d'émettre et de recevoir les ondes ultrasonores, l'émission est impulsionnelle dans la quasi-totalité des utilisations médicales. Ainsi, la géométrie du faisceau ultrasonore et la distribution de l'énergie dans ce faisceau décrit ci après concernent un faisceau ultrasonore émis en mode impulsionnel.

#### 1.2.1.3.3 Géométrie et distribution de l'énergie

La géométrie du faisceau dépend de la distance à laquelle on se place de la source ainsi que de sa forme. En effet, le faisceau ultrasonore n'est pas uniforme de sa source à l'infini. Deux zones peuvent être différenciées, définies à partir de la distribution de l'énergie le long de l'axe de propagation : le champ proche et le champ lointain. Le long de l'axe de propagation, l'énergie varie avec la distance, une succession de maxima locaux pouvant être détectés (Fig. 1.11). Le champ proche est la zone se situant entre la sonde et le dernier maximum d'énergie, le champ lointain se situe au-delà de ce maximum. Dans le plan de coupe, la géométrie du faisceau ultrasonore est conditionnée par la fréquence et la forme des impulsions ultrasonores ainsi que par le diamètre de la source. Lorsqu'ils augmentent, la zone de champ proche augmente s'allonge et la divergence de la zone de Fraunhofer diminue, améliorant ainsi la géométrie du faisceau. Le faisceau étant tridimensionnel, il convient de mentionner l'épaisseur ou élévation du faisceau (beam elevation). Une focalisation du faisceau selon cette

direction est donc également nécessaire. A la distance focale, l'épaisseur du faisceau est généralement de quelques millimètres.

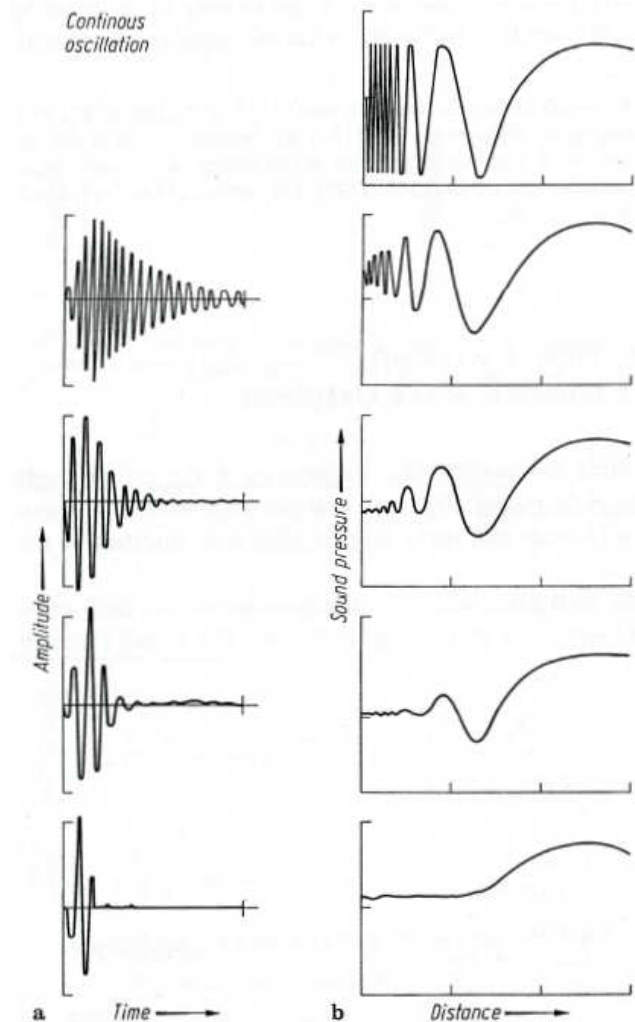


Fig. 1.11: Distribution axiale de l'énergie acoustique du faisceau ultrasonore selon la forme de l'impulsion (Krautkrämer and Krautkrämer, 1990).

La distribution de l'énergie dans le faisceau ultrasonore est le résultat de la superposition des différentes ondes émises par la source, considérée comme une infinité de sources ponctuelles, et n'est pas homogène. Elle varie à la fois le long de l'axe de propagation (Fig. 1.11), dans sa latéralité (Fig. 1.12) et dans la direction de l'élévation du faisceau. Dans le champ proche, les

interférences entre les différentes ondes ultrasonores émises peuvent être importantes et entraîner une dégradation du faisceau ultrasonore. La distribution de l'énergie est très fortement dépendante de la forme de l'impulsion (Fig. 1.11). En mode d'émission continue, les interférences constructives et destructives entraînent une dispersion complexe de l'énergie (Fig. 1.12 a). En mode d'émission impulsionnelle, la distribution de l'énergie est plus homogène. Plus les impulsions sont courtes et plus l'homogénéité est grande (Fig. 1.11). Le faisceau est beaucoup plus homogène à la fin de la zone de champ proche, quel que soit le mode d'émission (Fig. 1.13).

Dans le champ lointain, l'intensité diminue progressivement le long de l'axe de propagation du faisceau. De même, latéralement, elle décroît de part et d'autre de l'axe de propagation et atteint un minimum aux extrémités latérales du faisceau. Au-delà de la limite latérale théorique du faisceau, une augmentation de l'intensité est observée, due à la présence de lobes latéraux (ou secondaires). Ces lobes proviennent des ondes émises radialement aux extrémités de la source et leur importance augmente avec l'obliquité du faisceau par rapport à la surface de la source. Bien que la majorité de l'énergie soit contenue dans le faisceau, l'énergie se propageant à l'extérieur du faisceau n'est pas négligeable. La présence de lobes secondaires altère grandement la résolution spatiale et est à l'origine d'artéfacts au niveau de l'image échographique.

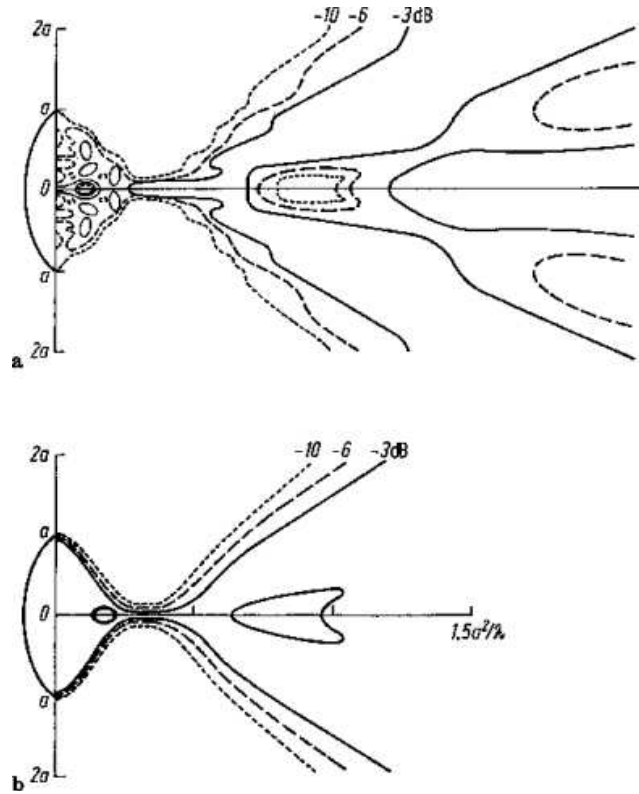


Fig. 1.12: Distribution de l'énergie acoustique du faisceau ultrasonore obtenu avec une source de diamètre  $D$  vérifiant  $D/\lambda = 20$  (a) en mode d'émission continue et (b) en mode d'émission impulsionnelle (Krautkrämer and Krautkrämer, 1990).

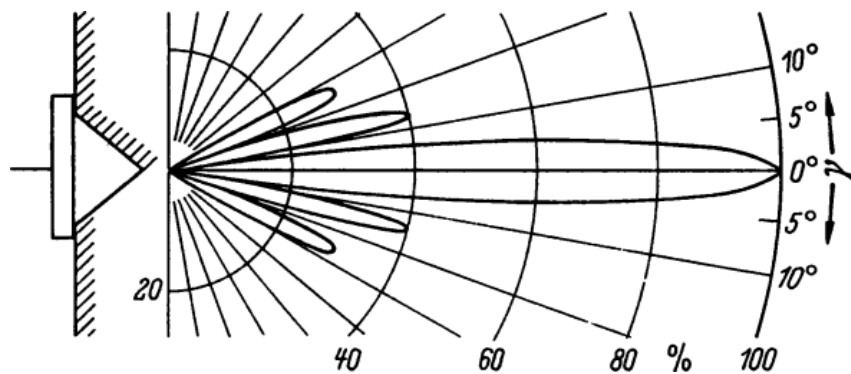


Fig. 1.13: Distribution de l'énergie acoustique du faisceau ultrasonore en mode d'émission impulsionnelle avec une source ponctuelle. Autour du lobe central principal, qui concentre la majorité de l'énergie, apparaissent des lobes latéraux. Les premiers, dits secondaires, sont ici atténués de 40 dB par rapport au lobe principal.

#### *1.2.1.4 Focalisation du faisceau ultrasonore*

Après émission des ondes ultrasonores sous forme de faisceau, la seconde fonction de la sonde échographique est la focalisation de ce faisceau. En effet, la forme du faisceau ultrasonore conditionne notamment la résolution spatiale des images obtenues (voir 1.2.3). La focalisation peut être mécanique ou électronique. La focalisation mécanique repose sur l'utilisation d'une céramique ayant une surface concave selon un ou deux axes, permettant d'obtenir un front d'onde concave. L'obtention d'un front d'onde concave est également possible avec une lentille acoustique convexe dans laquelle la vitesse de propagation des ultrasons est plus faible que dans les tissus mous : la partie centrale du faisceau est ralentie par rapport à la partie périphérique. Cette focalisation est fixe et non modifiable, ne permettant pas d'explorer différentes profondeurs avec une même précision. De plus, la résolution latérale est faible en dehors de la zone de focalisation. La focalisation électronique (Fig. 1.14) à l'émission consiste à donner au front d'onde une forme concave en désynchronisant l'excitation électrique des différents éléments piézo-électriques : on utilise pour cela des "lignes à retard", circuits électroniques interposés entre le générateur de courant et les éléments. L'excitation des éléments sera d'autant plus retardée qu'ils seront proches du milieu de la surface de la sonde. Cette focalisation possède l'avantage d'être modulable par simple réglage des lignes à retard. Lorsque la sonde est en réception, il est également possible d'appliquer ce principe (focalisation à la réception). Notamment, plusieurs points de focalisation peuvent être obtenus : un premier train d'ondes est émis avec un point de focalisation proche pour construire la partie proximale de l'image, puis un second train d'ondes avec une focalisation plus éloignée pour la partie moyenne de l'image, et ainsi de suite. La définition de plusieurs points de focalisation diminue la cadence d'acquisition des images. Cependant, pour un nombre de points de focalisation n'excédant pas cinq, la fréquence d'acquisition des images reste compatible avec les exigences du temps réel pour la

plupart des applications cliniques. Le balayage électronique a aujourd'hui supplanté le balayage mécanique pour la grande majorité des sondes échographiques. Le balayage mécanique n'est plus utilisé que pour des sondes particulières : les sondes haute résolution de fréquence supérieure à 20 MHz et les sondes cathéter miniaturisées utilisées pour l'exploration vasculaire.

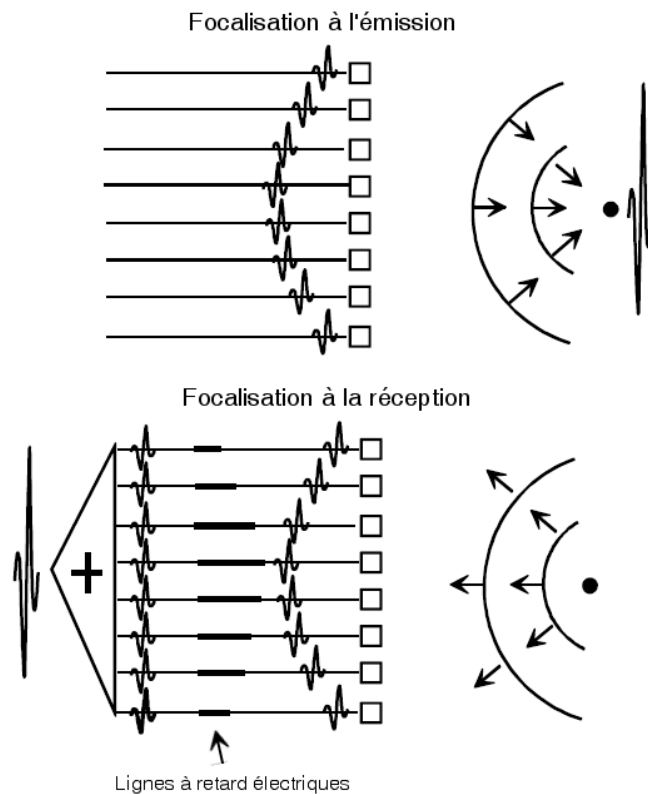


Fig. 1.14: Focalisation électronique à l'émission (en haut) et à la réception (en bas).

### 1.2.1.5 Balayage de l'espace

Enfin, la troisième fonction de la sonde échographique est d'assurer le balayage complet du champ anatomique que l'on souhaite explorer. Pour les sondes à balayage mécanique, plusieurs types de balayage sectoriel sont possibles. Il peut s'agir d'un disque rotatif motorisé

sur lequel sont disposés plusieurs éléments piézo-acoustiques, d'une demi-roue oscillant sous l'effet d'un électro-aimant et sur laquelle est placée une céramique ou encore d'un miroir acoustique oscillant positionné face aux éléments piézo-acoustiques. Ce type de balayage limite la fréquence d'acquisition des images, qui ne dépasse pas 30 images par seconde, et est sensible aux mouvements durant l'acquisition. Pour les sondes à balayage électronique, le balayage est réalisé soit de manière linéaire, soit de manière sectorielle.

Les sondes à balayage linéaire sont constituées d'un grand nombre d'éléments piézo-électriques (256 par exemple), de petites dimensions, placés côte à côte. Plusieurs éléments successifs sont excités simultanément. Le faisceau résultant, dont le front d'onde est plan, est focalisé électroniquement, à la fois à l'émission et à la réception. Le groupe d'éléments excité est ensuite progressivement décalé le long du transducteur à l'émission de chaque nouveau train d'ondes, permettant l'exploration du plan de coupe ligne par ligne. L'image échographique finale est de forme rectangulaire. Les sondes à balayage sectoriel exploitent les retards de phase pour parcourir l'ensemble du champ à explorer. En effet, un léger décalage temporel de l'excitation d'éléments piézo-électriques successifs permet de modifier la direction du front d'onde résultant : c'est le principe de Huygens. Ainsi, une modification régulière du décalage temporel entre deux éléments successifs permet de balayer l'ensemble du champ à explorer. Ces retards sont également intégrés au traitement des échos reçus par la sonde. Cette technique de balayage permet une grande fréquence d'acquisition, celle-ci pouvant dépasser 100 images par seconde. En pratique, le choix du type de balayage dépend en grande partie de la fenêtre d'entrée. Par exemple en échocardiographie, la présence des côtes nécessite l'utilisation d'une sonde à balayage sectoriel. Par contre, une sonde à balayage linéaire sera utilisée pour l'imagerie de l'aorte.



### *1.2.1.6 Fréquence de la sonde*

Par fréquence de la sonde, nous entendons fréquence centrale du faisceau ultrasonore émis par la sonde. La fréquence est un élément déterminant de la sonde échographique. En effet, nous avons vu que la profondeur maximale d'exploration d'une sonde est directement déterminée par la fréquence des ondes ultrasonores qu'elle émet. De plus, les résolutions axiale et latérale du faisceau ultrasonore dépendent, elles aussi, de la fréquence ultrasonore (voir paragraphe 1.2.3). Une fréquence élevée permet d'améliorer la résolution spatiale mais diminue la pénétration des ultrasons. En pratique, comme nous l'avons déjà souligné, c'est donc la profondeur qui guide le choix de la fréquence à utiliser. Les premières sondes développées ne possédaient qu'une fréquence de résonance unique. De plus, les amortisseurs utilisés ne permettaient pas d'obtenir une bande passante très large sans amortissement excessif des ondes émises. En pratique, les sondes n'étaient ainsi utilisables que pour un seul type d'exploration.

Le développement de sondes large bande, grâce à l'utilisation de nouveaux amortisseurs, a considérablement bouleversé l'imagerie ultrasonore. Les sondes à large bande passante possèdent un spectre en fréquence très large, permettant d'explorer des régions à des profondeurs variées sans changer de sonde. La gamme de fréquences varie entre deux valeurs extrêmes qui, de part et d'autre de la fréquence moyenne, donne un signal de -6 dB par rapport à celui de la fréquence moyenne (Claudon M, 2002). Cependant, l'amortissement à une fréquence éloignée de la fréquence centrale de la sonde est important. Des sondes associant différentes céramiques dont les fréquences de résonance sont différentes ont ensuite été développées (sondes multifréquences), améliorant considérablement la répartition de l'énergie dans la bande passante. Ainsi, ces sondes sont capables de couvrir une large bande de fréquence et donc d'explorer différentes régions avec des résolutions comparables. Mais

ces sondes ont surtout permis le développement de l'imagerie harmonique en étant capable de recueillir et d'analyser les échos dans une large bande de fréquence (voir paragraphe 1.2.4).

### 1.2.2 Formation de l'image

Une fois que la sonde a réceptionné les échos provenant de la zone explorée, les impulsions électriques générées sont transmises à l'échographe et subissent plusieurs opérations permettant la construction de l'image échographique. L'ensemble des signaux électriques généré par les éléments piézo-électriques de la sonde et transmis à l'échographe est appelé signal radiofréquence (RF). Cette information étant analogique, une conversion en information numérique est nécessaire dans la chaîne de traitement. Selon l'échographe, la numérisation des signaux intervient plus ou moins tôt. Selon leur position par rapport à la numérisation dans la chaîne de traitement, les autres opérations sont donc soit analogiques, soit numériques. Dans la plupart des échographes actuels, le signal RF est immédiatement numérisé en sortie de sonde et les différentes opérations de la chaîne de traitement sont numériques.

#### *1.2.2.1 Amplification, démodulation et redressement*

L'intensité du signal RF est faible. Il est donc tout d'abord amplifié pour permettre sa prise en charge numérique ultérieure. Toute amplification électronique générant du bruit, l'intérêt d'une numérisation antérieure est important. L'amplitude des signaux électriques est très variable, le facteur d'échelle entre les plus faibles et les plus importants étant généralement de l'ordre du millier. Il est donc nécessaire de le réduire tout en améliorant la perception de l'information liée aux faibles amplitudes. Pour cela, une transformation logarithmique est appliquée. Ces deux opérations d'amplification et de transformation logarithmique constituent l'opération dite de compression logarithmique. Lors de leur propagation dans les tissus, les

ondes ultrasonores ont été atténuées, l'atténuation étant différente selon la distance parcourue et les tissus traversés. Ainsi, l'amplitude des signaux électriques associés sera elle aussi variable. Il est donc nécessaire de modifier l'amplitude des signaux électriques selon la provenance des échos. Pour cela, une amplification de l'intensité en fonction de la profondeur est réalisée à l'aide du système appelé correction de gain en profondeur (Time-Gain Compensation, TGC). Cette amplification n'est pas entièrement automatique. En effet, à un gain global automatique est associé une série de potentiomètres permettant à l'utilisateur de régler le niveau d'amplification pour chaque profondeur. Ainsi, pour une profondeur donnée, une même correction de l'atténuation est appliquée. Le signal RF est ensuite transformé en signal vidéo : il est tout d'abord redressé, puis une détection d'enveloppe lui est appliquée.

#### *1.2.2.2 Interpolation*

Dans le cas de sondes sectorielles, l'écart entre les lignes de tir n'est pas constant dans la zone explorée. A proximité de la sonde, elles sont très proches les unes des autres. Par contre, plus on s'éloigne de la sonde et plus l'espacement entre deux lignes de tir adjacentes augmente. Il faut donc combler ces espaces, ce qui est généralement réalisé par interpolation.

#### *1.2.2.3 Gamme dynamique*

L'étape suivante consiste à trier les signaux de manière à identifier l'information utile pour la construction de l'image. En effet, en plus du bruit électronique créé en cas d'amplification électronique, les artefacts ultrasonores ont été amplifiés. Afin de les éliminer, l'information d'amplitude inférieure à un certain seuil est éliminée. Ce seuil est appelé niveau de réjection. La limite supérieure des amplitudes, qui correspond au niveau de saturation du signal, dépend de la qualité des éléments piézo-électriques.

La gamme dynamique est définie comme la plage s'étirant du niveau de réjection au niveau de saturation du signal, et est en pratique réglée par modification du niveau de réjection par l'opérateur. La dynamique des signaux électriques, en décibels, doit ensuite être adaptée à celle de l'écran de l'échographe. Pour cela, une adaptation de dynamique est réalisée en appliquant une courbe de contraste.

### 1.2.3 Qualité de l'image échographique

La qualité de l'image échographique s'évalue en terme de résolution : spatiale, temporelle et en contraste. L'amélioration de l'une de ces caractéristiques se faisant généralement au détriment d'une (des) autre(s), une bonne qualité d'image n'est pas toujours évidente à obtenir et correspondra à des compromis différents entre les trois types de résolution selon le type d'étude envisagé.

#### *1.2.3.1 Résolution spatiale*

La résolution spatiale se décompose en deux composantes : la résolution axiale et la résolution latérale, toutes deux dépendantes des caractéristiques du faisceau ultrasonore, comme nous l'avons vu précédemment.

La résolution axiale correspond à l'aptitude à différencier des détails placés dans l'axe de propagation des ultrasons. Elle est égale à la distance minimale devant séparer deux points placés sur l'axe de propagation du faisceau pour que leurs échos soient séparés. Sa limite théorique est la longueur d'onde des ondes ultrasonores. Elle dépend de la durée des impulsions ultrasonores : plus la durée des impulsions est brève, meilleure est la résolution axiale. Une diminution de la durée des impulsions s'obtient soit par un amortissement plus important des vibrations de la sonde (Fig. 1.15 a), soit par une fréquence plus élevée (Fig. 1.15 b).

La résolution latérale caractérise le pouvoir séparateur dans la direction perpendiculaire à la propagation du faisceau. Elle correspond à la distance minimale devant séparer deux points placés perpendiculairement à l'axe de propagation du faisceau pour que leurs échos soient séparés. Cette résolution est liée à la largeur du faisceau ultrasonore et donc à la focalisation du faisceau. On retrouve notamment l'intérêt de la focalisation électronique à la réception, qui permet d'obtenir plusieurs zones focales à différentes profondeurs.

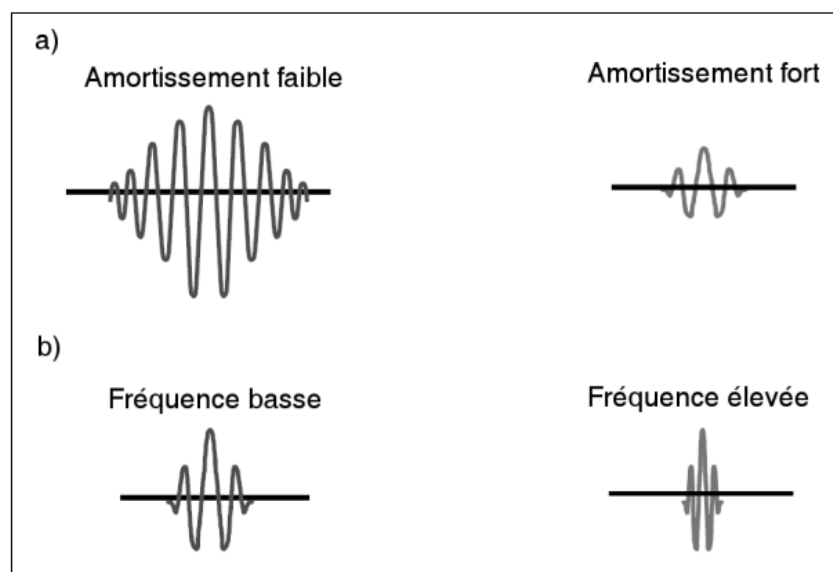


Fig. 1.15: La résolution axiale peut être améliorée (a) par un meilleur amortissement des vibrations de la sonde ou (b) par une fréquence centrale des ondes émises plus élevée, pour un même nombre de périodes.

### 1.2.3.2 Résolution temporelle

La résolution temporelle correspond au nombre d'images affichées par seconde et s'exprime en Hertz. Dans le cas d'acquisitions dynamiques (échocardiographie, acquisitions après injection d'un agent de contraste), il s'agit un élément particulièrement important. La résolution temporelle est directement liée à la profondeur d'exploration. En effet, plus la

région à explorer est profonde, plus la durée d'écoute de la sonde est importante afin de laisser le temps aux échos les plus lointains d'atteindre la sonde. Pour une profondeur d'exploration donnée, une résolution temporelle maximale est définie, correspondant à l'inverse du temps  $t$  nécessaire pour la construction d'une image :

$$t = n \cdot \frac{2d}{c}$$

$n$  étant le nombre de lignes de tir et  $c$  la célérité des ondes ultrasonores supposée constante.

#### *1.2.3.3 Résolution en contraste*

La résolution en contraste est la capacité à différencier deux objets de faibles différences d'amplitude. Elle est liée à la gamme dynamique et est en pratique limitée par le codage numérique des signaux.

#### *1.2.3.4 Rapport signal sur bruit*

Le rapport signal sur bruit (RSB) est un paramètre important de la qualité d'une image. Il désigne le rapport entre l'intensité du signal utile et l'intensité du bruit. Le RSB est souvent exprimé en décibels, dans une échelle logarithmique. Le principal bruit échographique est le speckle, précédemment évoqué, dû aux interférences entre les ondes ultrasonores et donnant un aspect granuleux aux images ultrasonores et qui entraîne une diminution de la résolution en contraste. La recherche de méthodes permettant une réduction du speckle constitue ainsi un domaine de recherche actif depuis de nombreuses années (Badawi and Rushdi, 2006).

#### *1.2.3.5 Rapport contraste sur tissu*

En présence d'agent de contraste, la capacité de détection des microbulles constitue bien évidemment un élément important dans l'évaluation de la qualité des images. Cette détection des microbulles est souvent exprimée par le rapport contraste sur tissu (RCT), qui correspond

au rapport entre l'intensité diffusée par les microbulles et l'intensité diffusée par les tissus (Bouakaz, 2002 a). Il s'exprime lui aussi en décibels.

#### 1.2.4 Méthodes d'imagerie des agents de contraste ultrasonores

L'arrivée des agents de contraste ultrasonores et l'étude de leurs interactions avec les ultrasons ont permis à l'échographie de connaître une avancée majeure et d'élargir considérablement ses applications cliniques. Ces avancées sont également dues à l'apparition, dans le même temps, de nouvelles méthodes d'imagerie spécifiques, basées sur les propriétés non linéaires des microbulles qui composent les agents de contraste. Ces propriétés permettent de mettre en évidence différents régimes acoustiques des microbulles selon les caractéristiques du faisceau ultrasonore incident. La connaissance de ces régimes est essentielle pour une imagerie optimale des microbulles. Après avoir détaillé les différents régimes acoustiques possibles et leurs intérêts respectifs pour l'imagerie, les méthodes d'imagerie des agents de contraste seront décrites.

##### *1.2.4.1 Régimes acoustiques*

Le comportement des microbulles lorsqu'elles sont soumises à un champ ultrasonore dépend fortement des propriétés du faisceau incident. Nous venons de voir que la fréquence incidente avait un rôle majeur dans la dynamique des microbulles. L'intensité du faisceau ultrasonore possède également une grande influence sur le comportement des microbulles. Elle est généralement exprimée par l'index mécanique (IM), index défini par mesure de sécurité et exprimant la quantité de travail mécanique exercée sur une microbulle pendant la moitié d'une période ultrasonore. Cet index est imposé aux constructeurs par la FDA, ses valeurs autorisées étant comprises en 0 et 1,9. Il est défini comme étant égal à la racine carrée du

rapport de la pression négative  $P$ , exprimée en mégapascal ( $MPa$ ), sur la fréquence ultrasonore  $f$  ( $MHz$ ) (Abbott, 1999) :

$$IM = \sqrt{\frac{P_-}{f}}$$

Selon la valeur d'index mécanique employée, trois régimes acoustiques différents peuvent être observés (Fig.1.16)

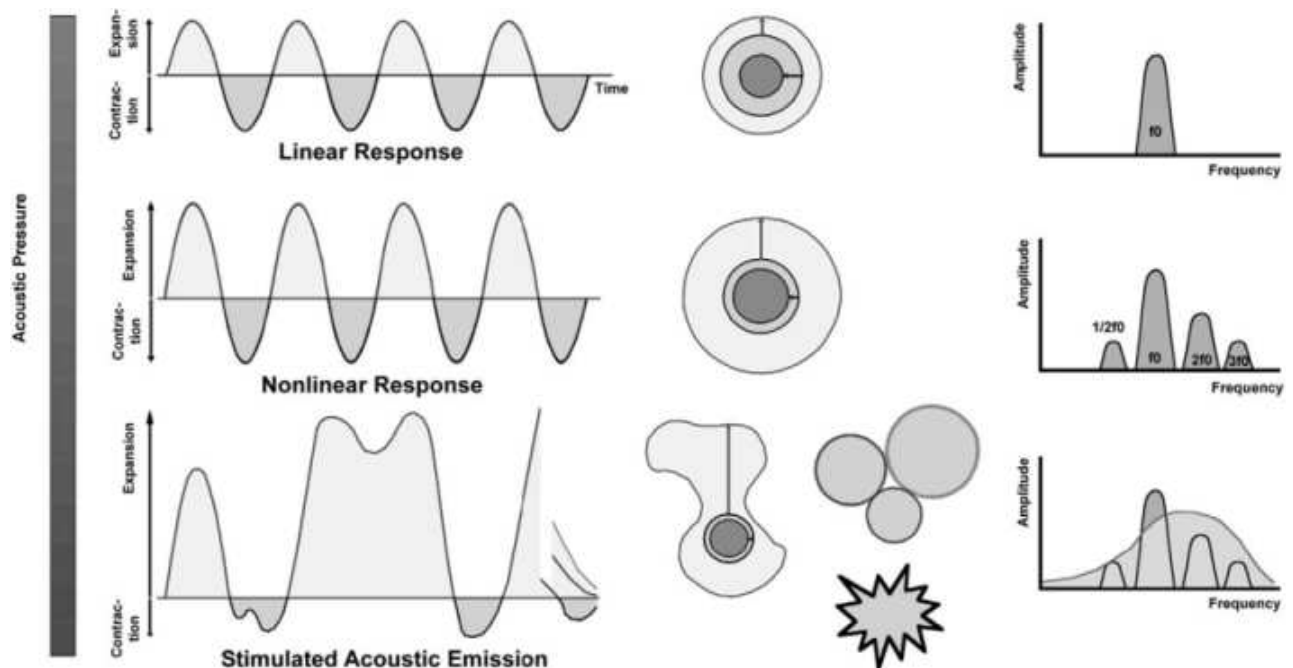


Fig. 1.16: Réponse acoustique d'une microbulle en fonction de l'index mécanique. En haut : à faible index mécanique ( $<0,1$ ), l'oscillation de la microbulle est symétrique et sa réponse acoustique linéaire. La fréquence du signal réfléchi est identique à celle du signal incident. Au milieu : pour des index mécaniques supérieurs à  $0,1$ , l'oscillation devient asymétrique, l'expansion étant plus importante que la dilatation. La réponse acoustique est alors non linéaire et des composantes harmoniques sont générées. En bas : à fort index mécanique ( $>0,5$ ), l'oscillation devient très fortement non linéaire, entraînant la formation de bulles plus petites, la coalescence ou encore la destruction de microbulles. De nombreuses composantes harmoniques sont générées (Stolz and Kaps, 2005).



Pour de faibles valeurs ( $IM < 0,1$ ), la compression et la dilatation des microbulles sont symétriques et de faible amplitude, les microbulles oscillent volumétriquement et réfléchissent les ultrasons de façon linéaire.

Pour des index mécaniques supérieurs à 0,1, la dilatation des microbulles devient plus importante que leur compression. Ce comportement asymétrique se traduit au niveau de la réponse acoustique des microbulles par la génération de composantes fréquentielles non linéaires, appelées harmoniques. Ce régime non linéaire est stationnaire.

Enfin, pour des valeurs d'IM élevées, différents phénomènes non linéaires et transitoires peuvent être observés. Les microbulles peuvent prendre différentes formes oscillatoires non volumétriques, appelées oscillations de surface (Leighton, 1994). Les formes possibles prises par les microbulles sont multiples. Le phénomène de coalescence des microbulles est également observé : après collision, plusieurs microbulles peuvent se réunir pour ne plus faire qu'une seule microbulle. Ce phénomène a été décrit par Postema et al. (Postema, 2004 a). De même, le phénomène inverse est possible, à savoir la fragmentation d'une microbulle. Il est également possible d'observer l'expulsion d'une partie du gaz contenu dans une microbulle : la paroi se rompt en un endroit, le gaz est éjecté puis la paroi se reforme (Postema, 2004 b). Enfin, les microbulles peuvent être détruites (Bouakaz, 2005 ; Stride and Saffari, 2003; Chomas, 2001). Il convient de préciser que ces différents phénomènes, ainsi que l'index mécanique à partir duquel ils peuvent être observés, dépendent considérablement du type d'agent de contraste étudié, et notamment de la composition de la paroi qui encapsule les microbulles (Bevan, 2007).

Ces trois régimes acoustiques ne sont pas facilement séparables et se chevauchent en pratique. De plus, ils apparaissent pour des valeurs d'index mécanique différentes d'un agent de contraste à un autre.

#### *1.2.4.2 Intérêt pour l'imagerie*

Le régime acoustique le plus intéressant pour l'imagerie est le régime non linéaire stationnaire. Ainsi, la paroi des agents de contraste ultrasonores doit être suffisamment flexible pour permettre une réponse non linéaire des microbulles avec un IM le plus faible possible, mais également suffisamment solide pour n'être détruite qu'à fort IM. Cependant, le régime non linéaire transitoire, obtenu pour des valeurs d'IM très élevées, fait l'objet d'un intérêt croissant, notamment pour l'étude de la perfusion. En effet, la destruction des microbulles a permis la définition de méthodes originales de détection et d'évaluation de la perfusion en échographie de contraste. Ce point est largement détaillé dans le chapitre consacré à la modélisation de la perfusion en échographie de contraste. Notons enfin que l'étude du régime non linéaire transitoire et de la destruction des microbulles est devenu essentiel pour les applications de distribution locale de médicaments ou de gènes transportés par les microbulles et libérée par destruction des microbulles (Bekeredjian, 2005 ; Ng and Liu, 2002 ; Unger, 2002). Ce domaine, qui sort du cadre de cette thèse, mérite néanmoins d'être cité car il représente l'une des voies les plus prometteuses de l'utilisation des agents de contraste ultrasonores.

#### *1.2.4.3 Imagerie des tissus et des microbulles*

##### *1.2.4.3.1 Imagerie fondamentale*

Comme nous l'avons mentionné précédemment, la rétrodiffusion passive des ondes ultrasonores par les microbulles permet un rehaussement du signal ultrasonore à la fréquence incidente. Les premières utilisations de microbulles ont ainsi pu mettre en évidence, par exemple, une amélioration de l'échogénicité des cavités cardiaques ou encore une augmentation du signal Doppler, celle-ci pouvant atteindre plusieurs dizaines de décibels.

Ce mode d'imagerie, appelé mode fondamental, permet la détection des microbulles dans des cavités telles que les cavités cardiaques ou la vessie. Néanmoins, les index mécaniques utilisés étant très faibles, la sensibilité aux microbulles est médiocre. Par conséquent, l'échogénicité des microbulles, i.e. leur aptitude à rétrodiffuser les ondes ultrasonores incidentes, est peu ou pas supérieure à celle des tissus environnants, ne permettant pas une utilisation large de ce mode d'imagerie. Il s'est donc avéré nécessaire de développer de nouveaux modes spécifiques aux agents de contraste ultrasonores. A l'origine, le mode fondamental a pour objectif l'imagerie des tissus. Or ceux-ci ont des propriétés acoustiques différentes des microbulles. En effet, les tissus ont une réponse acoustique considérée comme linéaire, indépendante de l'amplitude et de la fréquence de l'onde incidente ; ce qui signifie que le signal réfléchi possède la même fréquence que l'onde incidente. A l'opposé, la réponse acoustique des microbulles est non linéaire et dépend fortement des caractéristiques de l'onde incidente : fréquence, amplitude. En plus d'une composante à la fréquence d'excitation, l'onde réfléchie possède des composantes harmoniques et notamment la deuxième harmonique, appelée fréquence harmonique (Fig.1.17).

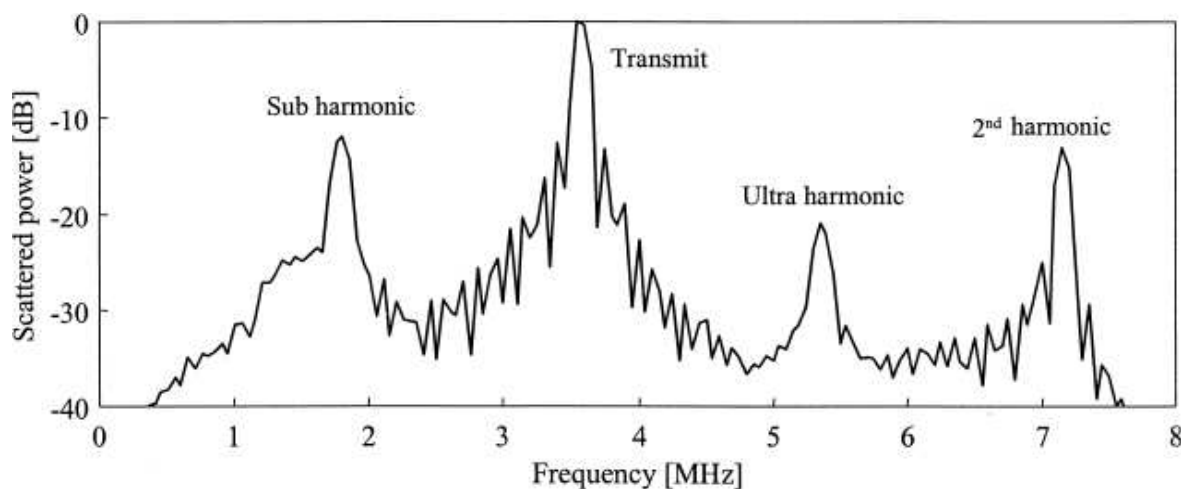


Fig. 1.17: Spectre du signal réfléchi par des microbulles de SonoVue™ (fréquence d'excitation de 3,5 MHz) (Frinking, 2000).

### 1.2.4.3.2 Imagerie de la deuxième harmonique

L'imagerie harmonique en mode B exploite la résonance des microbulles à la fréquence double de la fréquence de transmission (Schrope and Newhouse, 1993; Burns, 1992). De toutes les harmoniques des microbulles, c'est en effet la deuxième harmonique qui possède l'amplitude maximale. En supposant la réponse harmonique des tissus négligeable, l'étude de cette composante permet a priori d'isoler la réponse acoustique des microbulles (de Jong, 1991). Dans ce mode d'imagerie, le faisceau ultrasonore incident est émis autour de la fréquence  $f_0$  et l'image est reconstruite à partir de signaux réfléchis autour de la fréquence  $2f_0$  uniquement. Pour augmenter la sensibilité aux agents de contraste, le recouvrement des bandes fréquentielles d'émission et de réception doit être minimal, comme indiqué dans la figure 1.18. Dans le cas contraire, la composante fréquentielle à  $2f_0$  serait transmise, entraînant une perte d'une partie de la réponse harmonique des microbulles. Pour cela, des signaux à bande fréquentielle étroite sont transmis, ce qui a pour conséquence immédiate une diminution de la résolution axiale du système d'imagerie (Frinking, 2000). Par conséquent, l'optimisation de ce mode d'imagerie correspond à la recherche du meilleur compromis entre sensibilité aux microbulles et résolution spatiale de l'image.

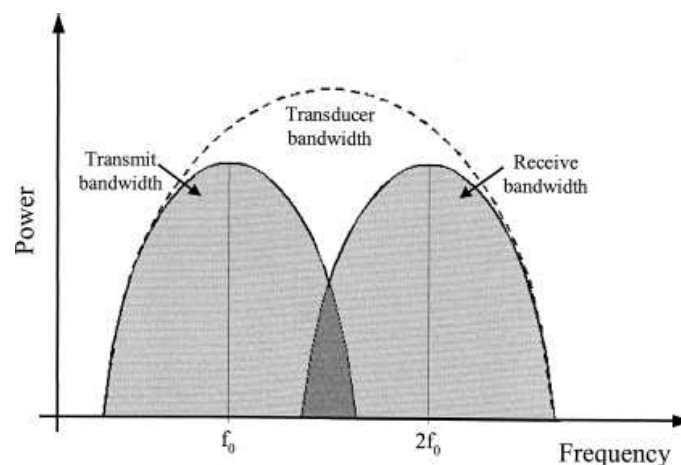


Fig. 1.18: Chevauchement des bandes d'émission (de fréquence centrale  $f_0$ ) et de réception (de fréquence centrale  $2f_0$ ) entraînant un signal résiduel de l'image fondamentale dans l'image harmonique obtenue par filtrage (Frinking, 2000)

En pratique, ce mode permet une amélioration considérable du rapport contraste sur tissu (RCT) par rapport à l'imagerie fondamentale, cette amélioration pouvant être de plusieurs dizaines de décibels (Bouakaz, 2002a). Cependant, les performances de ce mode d'imagerie sont limitées par la largeur de bande des transducteurs, le phénomène d'atténuation ou encore la propagation non linéaire des ultrasons. Ainsi, la bande d'émission doit notamment être étroite afin de limiter le chevauchement entre les bandes fondamentale et harmonique (Fig. 1.18).

#### 1.2.4.3.3 Imagerie harmonique des tissus

Bien que l'imagerie harmonique ait été initialement développée pour l'imagerie des agents de contraste ultrasonores, il apparaît que, même en l'absence d'agent de contraste, l'imagerie harmonique des tissus, également appelée imagerie harmonique native, présente une qualité d'image nettement supérieure à l'imagerie fondamentale. En effet, l'hypothèse de linéarité de la propagation ultrasonore dans les tissus sous-jacente à l'imagerie fondamentale classique s'est en fait avérée invalide aux fréquences et intensités acoustiques actuellement utilisées (Carstensen, 1999). Une distorsion graduelle des ondes ultrasonores peut être observée au cours de sa propagation dans les tissus (Hamilton and Blackstock, 1998). Ce phénomène, qui se renforce avec la profondeur, donne naissance à des composantes harmoniques qui n'étaient pas contenues initialement dans le spectre de l'onde incidente et qui vont être réfléchies linéairement par les tissus.

Trois éléments permettent d'expliquer le gain en terme de qualité d'image obtenu par l'imagerie harmonique (Bouakaz, 2003 b). Tout d'abord, la génération d'harmoniques étant graduelle en fonction de la distance parcourue par les ondes ultrasonores, le signal harmonique est très faible dans le champ proche de la sonde (Fig. 1.19 a). Ainsi, les interférences multiples dues à la peau, aux côtes ou au tissu graisseux classiquement obtenues

dans le champ proche sont ici minimales. Le deuxième élément résulte de l'examen du champ harmonique latéral (Fig. 1.19 b). La composante harmonique possède une relation quadratique, donc non linéaire, avec la composante fondamentale. Ainsi, l'essentiel de l'énergie harmonique est concentré dans le lobe principal ; le niveau des lobes secondaires est fortement diminué. Ces lobes sont à l'origine d'artéfacts provenant d'obstacles situés loin du lobe principal, ce qui explique l'amélioration de la qualité des images harmoniques. Enfin, le dernier élément concerne la largeur du faisceau harmonique. Celui-ci est plus étroit que le faisceau fondamental (Fig. 1.19 b), entraînant une amélioration de la résolution latérale des images échographiques obtenues.

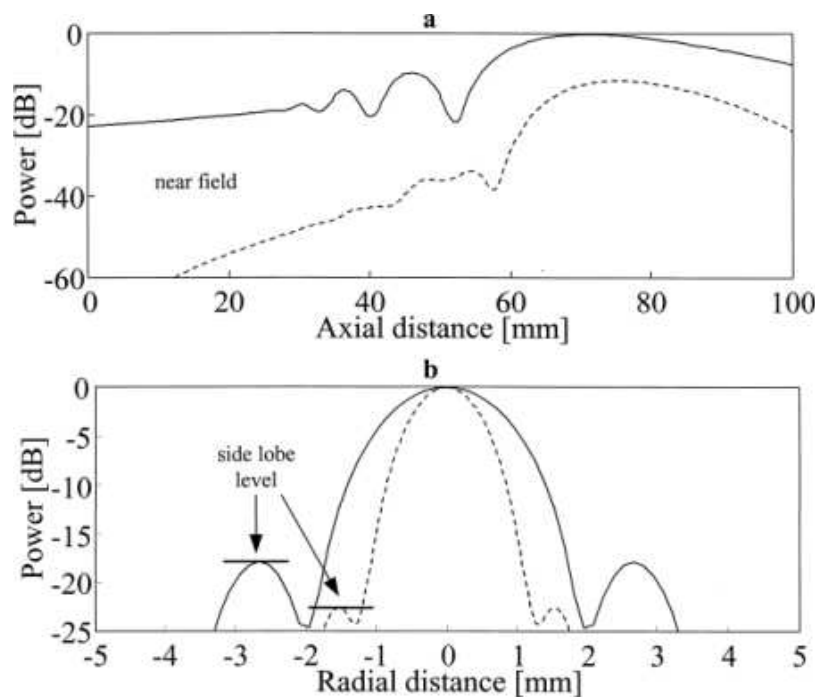


Fig. 1.19: Simulations de la propagation non linéaire d'un faisceau ultrasonore transmis par un transducteur monoélément à 2,5 MHz et 100 kPa :  
(a) Profils normalisés du faisceau fondamental (ligne continue) et du faisceau harmonique (pointillés) en fonction de la profondeur.  
(b) Profil latéral normalisé du faisceau fondamental (ligne continue) et du faisceau harmonique (pointillés) dans le plan focal du transducteur (Frinking, 2000).

#### 1.2.4.4 Imagerie des microbulles

Nous avons vu que l'imagerie harmonique nécessite un compromis entre résolution axiale et sensibilité aux microbulles. Ce compromis constitue le principal inconvénient de l'imagerie harmonique. Pour y remédier, plusieurs techniques exploitant l'ensemble de la bande fréquentielle du transducteur ont été développées, basées sur l'émission de plusieurs impulsions ayant des amplitudes et/ou des phases différentes (Haider and Chiao, 1999).

##### 1.2.4.4.1 Imagerie par inversion de phase

La première des techniques d'imagerie harmonique est appelée méthode par inversion de phase ou pulse inversion (Hwang and Simpson, 1999). Cette technique d'imagerie est basée sur l'asymétrie des oscillations des microbulles dans un champ ultrasonore. En effet, nous avons vu que la compression d'une microbulle est plus faible que sa dilatation en régime non linéaire. Cette technique exploite l'ensemble des composantes non linéaires des échos.

L'imagerie par inversion de phase consiste en l'émission de deux impulsions successives. La seconde impulsion, émise après un délai approprié, est une copie inversée de la première (Fig. 1.20). Pour chaque réflecteur, deux échos sont donc obtenus. Dans le cas d'un réflecteur linéaire, les deux échos sont similaires aux impulsions émises, l'un étant par conséquent la réplique inversée de l'autre. La somme des deux échos est donc nulle.

Dans le cas d'un réflecteur non linéaire, comme une microbulle, les deux échos ne sont plus de simples copies inversées : leur somme est non nulle et varie selon le degré de non linéarité du réflecteur. Cette technique permet donc d'améliorer considérablement la détection des microbulles par rapport à l'imagerie harmonique et au Doppler harmonique de puissance. Cette plus grande sensibilité permet d'une part l'emploi de faibles intensités acoustiques, d'autre part d'exploiter toute la bande fréquentielle du transducteur, améliorant de ce fait la résolution spatiale des images. L'imagerie par inversion de phase permet ainsi de réaliser une

imagerie en émission continue (et non intermittente) des microbulles avec une résolution accrue des images échographiques (Simpson, 2001). Cependant, la méthode d'imagerie par inversion de phase étant basée sur l'émission de plusieurs impulsions, elle est sensible aux mouvements des tissus, ce qui pose particulièrement problème en échocardiographie. En effet, un mouvement des tissus entre les deux impulsions émises engendre des artefacts, les échos linéaires n'étant plus exactement des copies inversées. Cette limite a conduit à combiner cette technique avec des techniques Doppler permettant l'élimination des artefacts dus au mouvement des tissus.

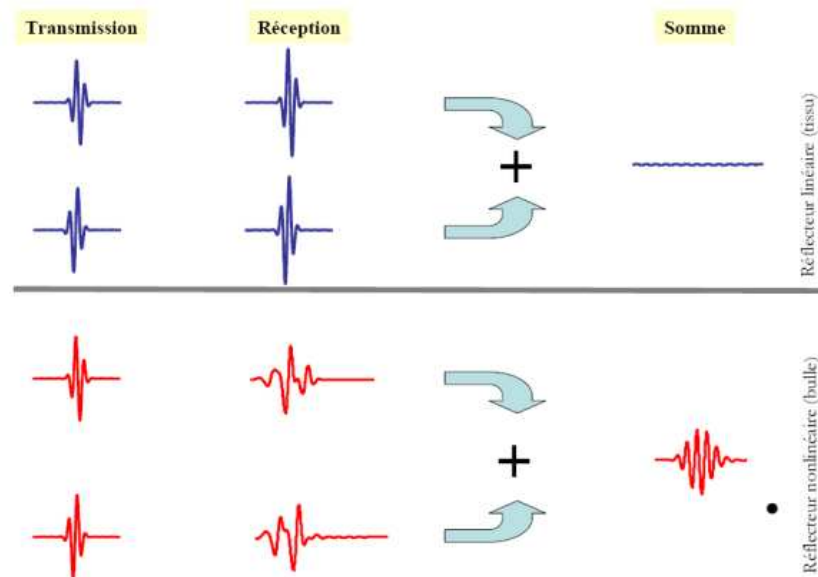


Fig. 1.20: Principe de l'imagerie par inversion de phase. Deux impulsions sont transmises successivement, la seconde étant une réplique inversée de la première. Les deux échos obtenus seront des copies inversées pour un réflecteur linéaire (haut) mais pas pour un réflecteur non linéaire (bas). La somme des deux échos sera donc nulle dans le premier cas et non nulle dans le second. (Bouakaz, 2007 a).



Cette technique est appelée Doppler de puissance par inversion de phase (Power Pulse Inversion Doppler) (Simpson, 1999). Elle exploite la sensibilité aux microbulles de l'inversion de phase et la capacité de filtres Doppler à éliminer les artéfacts dus au mouvement des tissus. Les deux principales limites de cette technique sont d'une part la réduction de la cadence image due à l'envoi de plusieurs impulsions, et d'autre part la limitation du rapport contraste sur tissu en rapport avec les effets de propagation non linéaire.

#### 1.2.4.4.2 Imagerie par modulation d'amplitude

Une autre méthode basée sur l'envoi de plusieurs impulsions successives et exploitant l'ensemble de la bande fréquentielle du transducteur a été développée, connue sous le nom d'imagerie par modulation d'amplitude (Brock-Fisher, 1996).

Les impulsions émises ne se différencient plus par leur phase mais par leur amplitude. Dans le cas le plus simple, deux impulsions sont transmises, la première possédant une amplitude double de la seconde. L'écho correspondant à l'impulsion de faible amplitude est ensuite amplifié par un facteur 2. Les deux échos sont alors soustraits de manière à éliminer la réponse acoustique des réflecteurs linéaires (Fig. 1.21). L'intérêt clinique de cette méthode a été démontré par Mor Avi et al. (Mor-Avi, 2001). Tout comme l'imagerie par inversion de phase, une imagerie des microbulles à faible puissance et donc en continu est possible. Cependant, cette technique est également limitée par sa sensibilité aux mouvements des tissus, sensibilité résultant de l'émission de plusieurs impulsions successives.

#### 1.2.4.4.3 Imagerie par modulation d'amplitude et de phase

L'idée de combiner les deux modulations que nous venons de présenter afin de renforcer et d'exploiter les échos non linéaires dans la même bande de fréquence que celle du signal transmis a été suggérée par Haider et Chiao (Haider and Chiao, 1999). En effet, la modulation

d'amplitude permet d'obtenir un signal non linéaire à la fréquence fondamentale, appelé signal fondamental non linéaire (Phillips and Gardner, 2004). La modulation de phase permet d'améliorer la détection des microbulles. Cette approche a été généralisée et a abouti au développement d'une méthode d'imagerie couplant modulation d'amplitude et de phase, appelée CPS (Cadence™ Contrast Pulse Sequencing, Siemens-Acuson) (Phillips, 2001). Trois impulsions successives sont transmises sur chaque ligne de tir. La seconde possède une amplitude double et est inversée par rapport aux deux autres (Fig. 1.22). La somme des trois échos recueillis par la sonde sera nulle dans le cas d'un réflecteur linéaire, tandis qu'elle sera non nulle pour un réflecteur non linéaire, présentant des composantes fondamentale et harmonique.

L'imagerie par modulation d'amplitude et de phase permet donc de représenter à la fois le signal fondamental non linéaire et le signal harmonique issus des microbulles tout en éliminant les échos correspondant aux tissus environnants, offrant ainsi une forte sensibilité aux microbulles et donc la possibilité d'utiliser de faibles puissances d'émission. La principale limite de cette technique concerne la cadence image, limitée par l'émission de nombreuses impulsions.

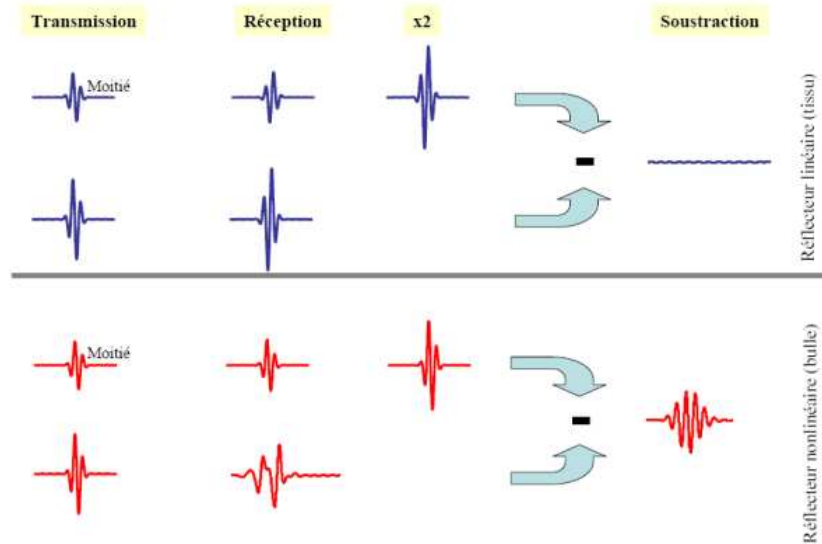


Fig. 1.21: Principe de l'imagerie par modulation d'amplitude. Deux impulsions sont transmises successivement, la première ayant une amplitude double de la seconde. Les deux échos obtenus sont ensuite combinés de manière à éliminer les échos provenant des réflecteurs linéaires tels que les tissus (haut) tout en préservant ceux provenant des microbulles (bas) (Bouakaz, 2007 a).

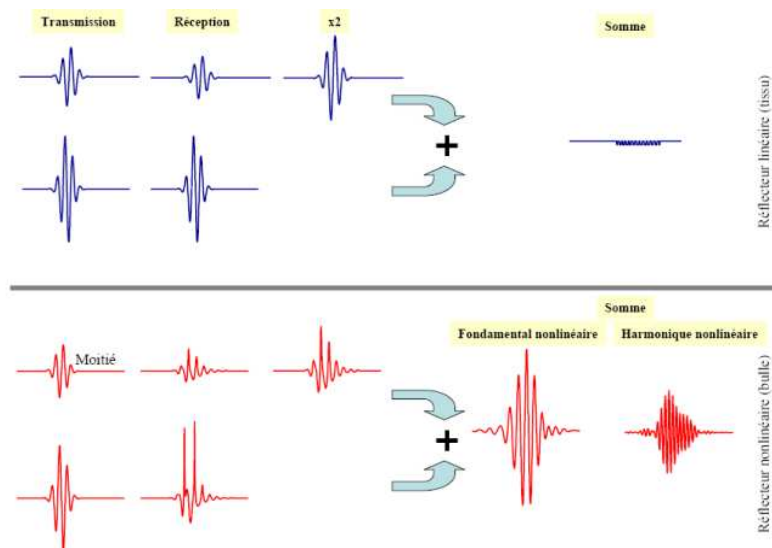


Fig. 1.22: Principe de l'imagerie par modulation d'amplitude et de phase (CPS). Trois impulsions sont transmises successivement, permettant de visualiser les réponses fondamentale et harmonique des microbulles (en bas) tout en éliminant les réponses tissulaires (en haut). La troisième impulsion (non représentée) est identique à la première, ce qui explique le doublement des réponses obtenues pour la première (Bouakaz , 2007a).

#### 1.2.4.4.4 Mode tracking des microbulles

La forte sensibilité aux microbulles des différentes modalités d'imagerie non linéaires permet de détecter les microbulles de manière individuelle. La mesure des changements entre deux images successives pixel à pixel, l'élimination du signal tissulaire puis la superposition des changements sur l'image précédente permettent ainsi la reconstruction de l'ensemble du réseau vasculaire. Cette méthode de suivi du parcours des microbulles est aujourd'hui proposée par différents constructeurs (MicroVascular Imaging, Philips, Micro Flow Imaging, Toshiba). Associé à une technique de destruction reperfusion, ce mode offre une forte sensibilité et spécificité aux microbulles. Cependant, cette méthode reposant sur une comparaison d'images successives, elle est très sensible aux artéfacts de mouvement.

#### 1.2.4.4.5 Doppler harmonique de puissance

L'imagerie Doppler conventionnelle permet de mesurer le flux sanguin en suivant le déplacement des diffuseurs dans une région d'intérêt. Sa combinaison avec l'imagerie harmonique de contraste, qui permet d'augmenter les échos issus des microbulles tout en diminuant ceux provenant des tissus, permet non seulement d'augmenter l'intensité de l'écho Doppler (Hartley, 1993), mais aussi de réduire le bruit dû aux mouvements des tissus environnants (cluter ou flash artifact). Néanmoins, si les méthodes Doppler sont particulièrement efficaces pour l'étude de flux rapides, elles se révèlent limitées pour la détection des flux, plus lents, dans les petits vaisseaux. En effet, les méthodes Doppler, basées sur l'envoi d'impulsions successives, sont très sensibles au mouvement des tissus. Dans le cas de petits vaisseaux ayant une circulation lente, le décalage de la fréquence Doppler devient très faible et l'amplitude de l'écho diminue en raison d'un nombre de microbulles plus faible. Les vitesses de flux peuvent même s'avérer plus faibles que celles des tissus environnants, comme c'est le cas dans le myocarde, où le flux dans les capillaires est souvent plus faible

que la vitesse de déplacement du tissu cardiaque. Le mode Doppler harmonique de puissance permet de contourner ce problème. Contrairement au mode Doppler conventionnel, il ne fournit pas d'information relative à la direction du flux mais visualise l'intensité du signal Doppler (Fig. 1.23), ce qui augmente fortement la sensibilité de la méthode en termes de rapport signal sur bruit et de détection de flux lents (Powers, 1997). L'injection d'un agent de contraste augmente alors considérablement l'intensité du signal Doppler, entraînant une meilleure détectabilité des flux très faibles dans les petits vaisseaux. De plus, le mode harmonique permet de minimiser les échos provenant des tissus. En effet, les techniques de Doppler de puissance sont basées sur l'envoi de plusieurs impulsions ultrasonores sur la même ligne de tir.

L'une de ces techniques, appelée Doppler harmonique puissance intermittente, exploite la destruction des microbulles. Plusieurs impulsions sont envoyées simultanément sur la même ligne de tir. Les variations des échos correspondants sont alors détectées. En cas d'absence de microbulles, la décorrélation entre les échos successifs n'est due qu'aux mouvements des tissus et reste faible. En revanche, en présence de microbulles, leur destruction par l'une des impulsions va engendrer une forte décorrélation entre les échos successifs. Cette technique, qui nécessite l'emploi d'un index mécanique suffisamment élevé pour permettre la destruction des microbulles, est actuellement considérée comme l'une des plus sensibles pour la détection des microbulles en termes de rapport agent de contraste sur tissu. Cette imagerie est aussi appelée mode reconnaissance vasculaire ou vascular recognition imaging (VRI).

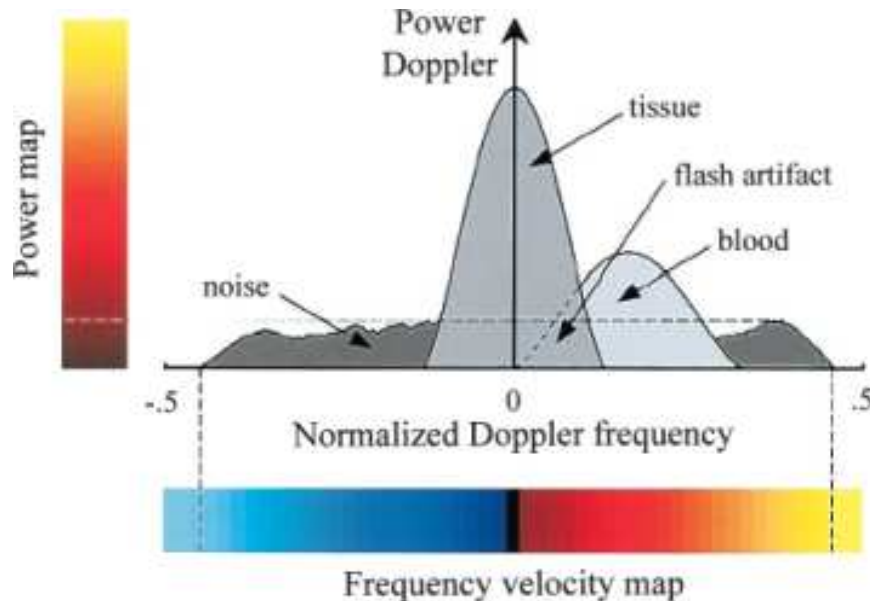


Fig. 1.23: Diagramme présentant la différence entre le Doppler conventionnel (Doppler couleur) et le Doppler de puissance. Alors que le Doppler couleur affiche la fréquence Doppler, le Doppler de puissance affiche l'intensité du signal Doppler. Le bruit est ainsi codé par une seule couleur, permettant d'augmenter la gamme dynamique. Le chevauchement du signal tissulaire sur le signal sanguin crée des artefacts (flash artifact) qui peuvent être réduits par filtrage de la seconde harmonique (Frinking, 2000).

#### 1.2.4.4.6 Méthodes d'imagerie en phase de recherche

Les nombreuses méthodes d'imagerie précédemment décrites ont permis d'améliorer de manière significative la détection des microbulles, aussi bien au niveau de l'intensité du signal provenant des microbulles qu'au niveau de la durée d'observation des microbulles, permettant notamment l'étude fonctionnelle de la microcirculation. Si toutes ces méthodes exploitent les réponses non linéaires fondamentales (fréquence  $\omega$ ) et de la seconde harmonique (fréquence  $2\omega$ ) des microbulles, d'autres composantes harmoniques (fréquences  $3\omega$ ,  $4\omega$ , ...) et subharmoniques (fréquences  $\omega/2$ ,  $\omega/3$ , ...) sont générées (Fig.1.18) et peuvent être exploitées. Les tissus environnants produisant des échos à la fréquence fondamentale et à la

deuxième harmonique, l'exploitation d'autres fréquences semble très prometteuse. Dans cette section, ces méthodes d'imagerie, encore en phase de recherche, sont présentées.

### **Imagerie subharmonique**

Comme son nom l'indique, l'imagerie subharmonique exploite les signaux générés par les microbulles aux fréquences subharmoniques. La génération de ces fréquences a été étudiée par des nombreuses équipes (Eller and Flynn, 1969 ; Neppiras, 1969 ; Lotsberg, 1996). La réponse subharmonique des tissus est négligeable (Bhagavatheeshwaran, 2004), les échos provenant des microbulles peuvent donc être plus facilement détectés. Les signaux subharmoniques offrent ainsi un rapport contraste sur tissu supérieur à celui obtenu avec la seconde harmonique (Shankar, 1998). Cependant, pour des valeurs usuelles de pression acoustique, la génération de subharmoniques n'a pas lieu. Des valeurs élevées de pression acoustique sont nécessaires, entraînant une destruction non négligeable de l'agent de contraste et limitant sa durée d'observation. Le seuil théorique de pression acoustique est minimum lorsque la fréquence incidente est double par rapport à la fréquence de résonance des microbulles (Shankar, 1999). Des valeurs de seuil supérieures aux valeurs théoriques ont été obtenues expérimentalement lorsqu'un volume de microbulles a été considéré, cet écart s'expliquant probablement par la destruction des microbulles (Kimmel, 2007). La génération de signaux subharmoniques nécessite également des impulsions ultrasonores relativement longues, ce qui limite la résolution spatiale des images (Wu, 2005). La faisabilité de l'implémentation d'une méthode d'imagerie subharmonique sur un échographe clinique a été récemment montrée et validée *in vitro* par Forsberg et al. (Forsberg, 2000). Des images subharmoniques de contraste *in vivo* ont également été obtenues sur un modèle canin (Fig. 1.24) (Shi, 1999).

Cependant, si cette méthode réduit considérablement la contribution des tissus, des nouveaux développements sont nécessaires pour maximiser la génération et la détection des signaux subharmoniques tout en maintenant une bonne résolution spatiale. Une solution a récemment été proposée par Maikusa et al. et repose sur la combinaison des composantes subharmonique et harmonique des échos. Pour cela, des impulsions modulées en amplitude, contenant ainsi deux fréquences, sont transmises (Maikusa, 2007). Une forte augmentation du rapport signal sur bruit a été mise en évidence sur un fantôme d'agar.

### **Imagerie superharmonique**

Une autre approche possible pour limiter la prise en compte des échos provenant des tissus consiste à s'intéresser aux harmoniques générées par les microbulles qui sont supérieures à la seconde harmonique. Une méthode d'imagerie dite superharmonique a été proposée (Bouakaz, 2002b). La composante superharmonique est définie comme la somme des harmoniques d'ordre trois, quatre et cinq. Une amélioration du rapport contraste sur tissu par rapport à l'imagerie harmonique conventionnelle a été démontrée in vitro (Fig. 1.25). Le mode superharmonique permet une élimination des échos en provenance des tissus tout en offrant une sensibilité accrue aux microbulles par rapport au mode harmonique (Ma, 2006). Cet apport du mode superharmonique repose sur l'utilisation de fréquences plus faibles en transmission, fréquences auxquelles l'atténuation des ultrasons par les tissus mais aussi par les microbulles est réduite. De plus, une transmission à de faibles fréquences permet à la fois d'obtenir un faisceau ultrasonore plus uniforme et de réduire fortement la distorsion des ondes ultrasonores par les tissus, même à forte puissance acoustique. Ceci limite considérablement la génération d'harmoniques par les tissus. Un inconvénient majeur de cette méthode est la nécessité de transducteurs à large bande fréquentielle. Une solution consiste à utiliser une sonde double fréquence qui traite séparément la transmission et la réception (Bouakaz, 2002



b). La principale limite reste l'intensité des échos superharmoniques, beaucoup plus faible que celle de la seconde harmonique. Ce faible niveau d'énergie rend la détection des microbulles dépendante du bruit de fond et réduit ainsi le rapport signal sur bruit. La faisabilité de l'utilisation clinique de cette méthode pour l'étude de la perfusion myocardique a été récemment démontrée (Bouakaz, 2003 a).

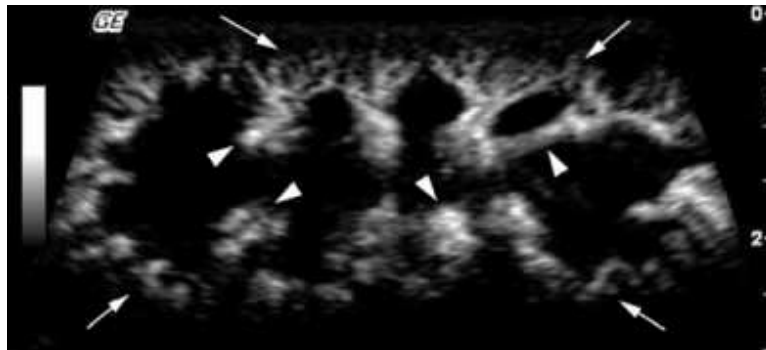


Fig. 1.24: Acquisition de rein par imagerie subharmonique sur un modèle canin avec Optison® (Shi, 1999).

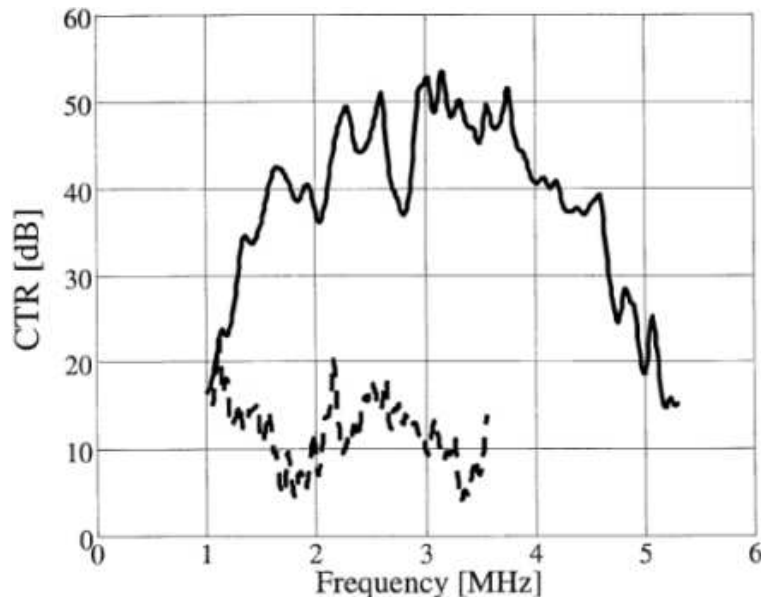


Fig. 1.25: Exemple de mesures expérimentales du rapport contraste sur tissu en mode harmonique (ligne discontinue, émission à 1,7 MHz) et en mode superharmonique (ligne continue, émission à 0,8 MHz) en fonction de la fréquence (Bouakaz, 2002 b).

## Bibliographie

Abbott, J. G. (1999). Rationale and derivation of mi and ti—a review. *Ultrasound Med Biol*, 25:431–41.

Albrecht, T., Urbank, A., Mahler, M., Bauer, A., Dore, C., Blomley, M., Cosgrove, D., and Schlieff, R. (1998). Prolongation and optimization of doppler enhancement with a microbubble us contrast agent by using continuous infusion : preliminary experience. *Radiology*, 207:339–347.

Badawi, A. and Rushdi, M. (2006). Speckle reduction in medical ultrasound : A novel scatterer density weighted nonlinear diffusion algorithm implemented as a neural network filter. In *Proceedings of the 2006 IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, p 2776–2782. TY - CONF.

Bekeredjian, R., Grayburn, P. A., and Shohet, R. V. (2005). Use of ultrasound contrast agents for gene or drug delivery in cardiovascular medicine. *Journal of the American College of Cardiology*, 45 :329–335.

Bevan, P. D., Karshafian, R., Tickner, E. G., and Burns, P. N. (2007). Quantitative measurement of ultrasound disruption of polymer-shelled microbubbles. *Ultrasound Med Biol*, 33 :1777–1786.

Bhagavatheeshwaran, G., Shi, W. T., Forsberg, F., and Shankar, P. M. (2004). Subharmonic signal generation from contrast agents in simulated neovessels. *Ultrasound Med Biol*, 30 :199–203.

Bouakaz, A. and de Jong, N. (2007). Wfumb safety symposium on echo-contrast agents : nature and types of ultrasound contrast agents. *Ultrasound Med Biol*, 33:187–96.

Bouakaz, A., de Jong, N., Cachard, C., and Jouini, K. (1998). On the effect of lung filtering and cardiac pressure on the standard properties of ultrasound contrast agent. *Ultrasonics*, 36:703–8.

Bouakaz, A., Frigstad, S., Ten Cate, F. J., and de Jong, N. (2002a). Improved contrast to tissue ratio at higher harmonics. *Ultrasonics*, 40 :575–8.

Bouakaz, A., Frigstad, S., Ten Cate, F. J., and de Jong, N. (2002b). Super harmonic imaging : a new imaging technique for improved contrast detection. *Ultrasound Med Biol*, 28 :59–68.

Bouakaz, A., Krenning, B. J., Vletter, W. B., ten Cate, F. J., and De Jong, N. (2003a). Contrast superharmonic imaging : A feasibility study. *Ultrasound Med Biol*, 29:547–553.

Bouakaz, A., Lancee, C. T., and de Jong, N. (2003b). Harmonic ultrasonic field of medical phased arrays : simulations and measurements. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, 50:730–5.

Bouakaz, A., Palanchon, P., Bleuzen, A., Correas, J. M., and Tranquart, F. (2007a). Principes physiques des méthodes d'imagerie de contraste. In *Tranquart, F., Correas, J. M., and*

- Bouakaz, A., editors, *Echographie de contraste : méthodologie et applications cliniques*, pages 45–57. Springer.
- Bouakaz, A., Palanchon, P., and de Jong, N. (2007b). Dynamique de la microbulle. In Tranquart, F., Correas, J. M., and Bouakaz, A., editors, *Echographie de contraste : méthodologie et applications cliniques*, pages 25–43. Springer.
- Bouakaz, A., Versluis, M., and de Jong, N. (2005). High-speed optical observations of contrast agent destruction. *Ultrasound Med Biol*, 31 :391–9.
- Brock-Fisher, G., Poland, M., and Rafter, P. (1996). Means for increasing sensitivity in nonlinear ultrasound imaging systems. US Patent 5577505.
- Burns, P. N., Powers, J., and Fritzsche, T. (1992). Harmonic imaging : A new imaging and doppler method for contrast enhanced ultrasound. *Radiology*, 185 :142.
- Butler, B. D. (1986). Production of microbubbles for use as echo contrast agents. *J Clin Ultrasound*, 14 :408–12.
- Campbell, J. A. and Waag, R. C. (1984). Ultrasonic scattering properties of three random media with implications for tissue characterization. *J Acoust Soc Am*, 75 :1879–1886.
- Carroll, B. A., Turner, R. J., Tickner, E. G., Boyle, D. B., and Young, S. W. (1980). Gelatin encapsulated nitrogen microbubbles as ultrasonic contrast agents. *Invest Radiol*, 15 :260–6.
- Carstensen, E. L., Dalecki, D., Gracewski, S. M., and Christopher, T. (1999). Nonlinear propagation and the output indices. *J Ultrasound Med*, 18 :69–80.
- Chomas, J. E., Dayton, P., Allen, J., Morgan, K., and Ferrara, K. W. (2001). Mechanisms of contrast agent destruction. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, 48 :232–48.
- Claudon, M., Tranquart, F., Evans DH, Lefèvre F, Correas M. (2002). Advances in ultrasound. *Eur Radiol*, 26: 1-27.
- Coakley, W. and Nyborg, L. (1978). Cavitation : Dynamics of gas bubbles ; applications. In Frey, F., editor, *Ultrasound : Its application in medicine and biology : Part one*, volume 3, pages 77–159. Elsevier Scientific, Amsterdam.
- de Jong, N., Cornet, R., and Lancee, C. T. (1994). Higher harmonics of vibrating gas-filled microspheres. part one : simulations. *Ultrasonics*, 32 :447–453.
- de Jong, N., Hoff, L., Skotland, T., and Bom, N. (1992). Absorption and scatter of encapsulated gas filled microspheres : theoretical considerations and some measurements. *Ultrasonics*, 30 :95–103.
- de Jong, N., Ten Cate, F. J., Lancee, C. T., Roelandt, J. R. T. C., and Bom, N. (1991). Principles and recent developments in ultrasound contrast agents. *Ultrasonics*, 29 :324–330.

- Elie, N., Kaliski, A., A. Peronneau, P., Opolon, P., Roche A., and Lassau, N. (2007). Methodology for quantifying interactions between perfusion evaluated by dce-us and hypoxia throughout tumor growth. *Ultrasound Med Biol*, 33 : 549-60.
- Eller, A. and Flynn, H. G. (1969). Generation of subharmonics of order one-half by bubbles in a sound field. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 46:722-727.
- Feinstein, S. B., Shah, P. M., Bing, R. J., Meerbaum, S., Corday, E., Chang, B. L., Santillan, G., and Fujibayashi, Y. (1984). Microbubble dynamics visualized in the intact capillary circulation. *J Am Coll Cardiol*, 4 :595-600.
- Forsberg, F., Liu, J. B., Burns, P. N., Merton, D. A., and Goldberg, B. B. (1994). Artifacts in ultrasonic contrast agent studies. *J Ultrasound Med*, 13 :357-65.
- Forsberg, F., Shi, W. T., and Goldberg, B. B. (2000). Subharmonic imaging of contrast agents. *Ultrasonics*, 38:93-98.
- Frinking, P. J., Bouakaz, A., Kirkhorn, J., Ten Cate, F. J., and de Jong, N. (2000). Ultrasound contrast imaging : current and new potential methods. *Ultrasound Med Biol*, 26 :965-75.
- Goldstein, A. (1983). Broadband transducers improve image quality. *Diagnostic Imaging*, 5 :89-93.
- Gorce, J. M., Arditi, M., and Schneider, M. (2000). Influence of bubble size distribution on the echogenicity of ultrasound contrast agents : a study of sonovue. *Invest Radiol*, 35 :661-71.
- Gramiak, R., Nanda, N. C., and Shah, P. M. (1972). Echocardiographic detection of the pulmonary valve. *Radiology*, 102 :153-7.
- Gramiak, R. and Shah, P. M. (1968). Echocardiography of the aortic root. *Invest Radiol*, 3:356-66.
- Greis, C. (2004). Technology overview : Sonovue (bracco, milan). *Eur Radiol*, 14 :11-5.
- Haider, B. and Chiao, R. (1999). Higher order nonlinear ultrasonic imaging. In *Ultrasonics Symposium, 1999. Proceedings. 1999 IEEE, volume 2, pages 1527-1531 vol.2. TY - CONF.*
- Hamilton, M. F. and Blackstock, D. T. (1998). *Nonlinear acoustics*. Academic Press, San Diego.
- Hartley, C. J., Cheirif, J., Collier, K. R., Bravenec, J. S., and Mickelson, J. K. (1993). Doppler quantification of echo-contrast injections in vivo. *Ultrasound Med Biol*, 19 :269-78.
- Holscher, T., Schlachetzki, F., Bauer, A., Rosin, L., Gotz, B., and Bogdahn, U. (2001). Echo-enhanced transcranial color-coded US : Clinical usefulness of intravenous infusion versus bolus injection of SHU 508a. *Radiology*, 219:823-827.
- Hwang, J. and Simpson, D. H. (1999). Two pulse technique for ultrasonic harmonic imaging. US Patent 5951478.

Kimmel, E., Krasovitski, B., Hoogi, A., Razansky, D., and Adam, D. (2007). Subharmonic response of encapsulated microbubbles : Conditions for existence and amplification. *Ultrasound Med Biol*, 33:1767–1776.

Krautkrämer, J. and Krautkrämer, H. (1990). *Ultrasonic Testing of Materials*. Springer-Verlag.

Leighton, T. (1994). *The acoustic bubble*. Academic Press, London.

Lotsberg, O., Hovem, J. M., and Aksum, B. (1996). Experimental observation of subharmonic oscillations in infuson bubbles. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 99 :1366–1369.

Ma, Q., Zhang, D., Gong, X., and Ma, Y. (2006). Investigation of superharmonic sound propagation and imaging in biological tissues in vitro. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 119 :2518–2523.

Maikusa, N., Fukami, T., Yuasa, T., Tamura, Y., and Akatsuka, T. (2007). Fundamental study on subharmonic imaging by irradiation of amplitude-modulated ultrasound waves. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 122 :672–676.

Medwin, H. (1977). Counting bubbles acoustically : a review. *Ultrasonics*, 1 :7–13.

Minnaert, M. (1933). On musical air bubbles and the sound of running water. *Phil Mag*, 16: 235–248.

Mor-Avi, V., Caiani, E. G., Collins, K. A., Korcarz, C. E., Bednarz, J. E., and Lang, R. M. (2001). Combined assessment of myocardial perfusion and regional left ventricular function by analysis of contrast-enhanced power modulation images. *Circulation*, 104 :352–7.

Morse, P. and Ingard, K. (1968). *Theoretical acoustics*. New York, mc graw hill edition.

Nanda, N. C., Gramiak, R., and Manning, J. A. (1975a). Echocardiography of the tricuspid valve in congenital left ventricular-right atrial communication. *Circulation*, 51:268–72.

Nanda, N. D., Stewart, S., Gramiak, R., and Manning, J. A. (1975b). Echocardiography of the intra-atrial baffle in dextro-transposition of the great vessels. *Circulation*, 51:1130–5.

Neppiras, E. A. (1969). Subharmonic and other low-frequency emission from bubbles in sound-irradiated liquids. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 46 :587–601.

Ng, K. Y. and Liu, Y. (2002). Therapeutic ultrasound : Its application in drug delivery. *Medicinal Research Reviews*, 22 :204–223.

Okada, M., Hoffmann, C. W., Wolf, K. J., and Albrecht, T. (2005). Bolus versus infusion of microbubble contrast agent for liver us : Initial experience. *Radiology*, 237 :1063–1067.

Phillips, P. (2001). Contrast pulse sequences (CPS) : imaging nonlinear microbubbles. In *Ultrasonics Symposium, 2001 IEEE*, volume 2, pages 1739–1745 vol.2. TY - CONF.

Phillips, P. and Gardner, E. (2004). Contrast-agent detection and quantification. *Eur Radiol*, 14 :4–10.

Postema, M., Marmottant, P., Lancee, C. T., Hilgenfeldt, S., and de Jong, N. (2004a). Ultrasound-induced microbubble coalescence. *Ultrasound Med Biol*, 30 :1337–44.

Postema, M., van Wamel, A., Lancee, C. T., and de Jong, N. (2004b). Ultrasound-induced encapsulated microbubble phenomena. *Ultrasound Med Biol*, 30 :827–40.

Powers, J., Burns, P., and Souquet, J. (1997). Imaging instrumentation for ultrasound contrast agents. In Nanda, N. C., Schlieff, R., and Goldberg, B. B., editors, *Advances in echo imaging using contrast enhancement*, pages 139–70. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, The Netherlands, 2nd edition.

Quaia, E. (2007). Microbubble ultrasound contrast agents : an update. *Eur Radiol*. 13

Schneider, M., Arditì, M., Barrau, M. B., Brochot, J., Broillet, A., Ventrone, R., and Yan, F. (1995). Br1 : a new ultrasonographic contrast agent based on sulphur hexafluoride-filled microbubbles. *Invest Radiol*, 30:451–7.

Schrope, B. A. and Newhouse, V. L. (1993). Second harmonic ultrasonic blood perfusion measurement. *Ultrasound Med Biol*, 19 :567–79.

Shankar, P. M., Krishna, P. D., and Newhouse, V. L. (1998). Advantages of subharmonic over second harmonic backscatter for contrast-to-tissue echo enhancement. *Ultrasound Med Biol*, 24 :395–399.

Shankar, P. M., Krishna, P. D., and Newhouse, V. L. (1999). Subharmonic backscattering from ultrasound contrast agents. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 106 :2104–2110.

Shi, W. T., Forsberg, F., Hall, A. L., Chiao, R., Liu, J. B., Miller, S., Thomenius, K. E., Wheatley, M. A., and Goldberg, B. B. (1999). Subharmonic imaging with microbubble contrast agents : initial results. *Ultrason Imaging*, 21 :79–94.

Simpson, D., Chin, C. T., and Burns, P. (1999). Pulse inversion doppler : a new method for detecting nonlinear echoes from microbubble contrast agents. *Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, IEEE Transactions on*, 46 : 372–382.

Simpson, D. H., Burns, P. N., and Averkiou, M. A. (2001). Techniques for perfusion imaging with microbubble contrast agents. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, 48 : 1483–94.

Stolz, E. P. and Kaps, M. (2005). Ultrasound contrast agents and imaging of cerebrovascular disease. *Seminars in Cerebrovascular Diseases and Stroke*, 5 : 111–131.

Stride, E. and Saffari, N. (2003). On the destruction of microbubble ultrasound contrast agents. *Ultrasound Med Biol*, 29 : 563–73.

Totaro, R., Baldassarre, M., Sacco, S., Marini, C., and Carolei, A. (2002). Prolongation of tcd-enhanced doppler signal by continuous infusion of levovist. *Ultrasound Med Biol*, 28 : 1555–1559.

Unger, E. C., Matsunaga, T. O., McCreery, T., Schumann, P., Sweitzer, R., and Quigley, R. (2002). Therapeutic applications of microbubbles. *European Journal of Radiology*, 42: 160–168.

Wildt, R. (1946). Acoustic theory of bubbles. In *Physics of Sound in the Sea*, N.D.R.C. Summary Technical Report Div. 6, volume 8. Washington, D. C.

Wu, C. Y., Tsao, J., and Chou, Y. H. (2005). An ultrasonic microbubble semiintermodulated imaging technique. *Ultrasound Med Biol*, 31: 1199–210.

Yanagisawa, K., Moriyasu F., Miyahara T., Yuki M., Iij ima H. (2007). Phagocytosis of ultrasound contrast agent microbubbles by Kupffer cells. *Ultrasound Med Biol*, 33: 318-25

## CHAPITRE II

### Modélisation de la microcirculation par imagerie ultrasonore de contraste

#### **2.1 La microcirculation**

La perfusion tissulaire est assurée par la circulation capillaire. A un instant donné  $t$ , il n'y a que 5 % du sang circulant dans les capillaires mais cette proportion est cruciale car c'est à travers la paroi des capillaires systémiques que l'oxygène et les substances nutritives passent du sang vers le liquide interstitiel et que le gaz carbonique et les déchets du métabolisme passent dans le sang.

Il existe deux mécanismes principaux pour adapter la perfusion aux besoins tissulaires. Dans un tissu au repos, la plupart des capillaires sont affaissés et la plus grande partie du sang passe directement des artérioles aux veinules par les canaux préférentiels. Quand un tissu devient actif, les métartérioles et les sphincters précapillaires se dilatent. La pression intracapillaire devient supérieure à la pression critique de fermeture et le sang se met à circuler dans les capillaires. Au cours d'un processus pathologique (tumeur, inflammation) ou au cours d'un processus de réparation tissulaire (par exemple, récupération après infarctus du myocarde) survient une prolifération des vaisseaux capillaires dont les différentes étapes sont regroupées sous le terme d'angiogénèse.

La microcirculation, circulation s'effectuant à l'échelle des capillaires, est classiquement modélisée par une approche compartimentale définissant les échanges entre le volume



intracapillaire ou volume sanguin  $V_s$ , le volume extracapillaire extracellulaire  $V_e$  et le volume intracellulaire  $V_i$  (Fig.1).

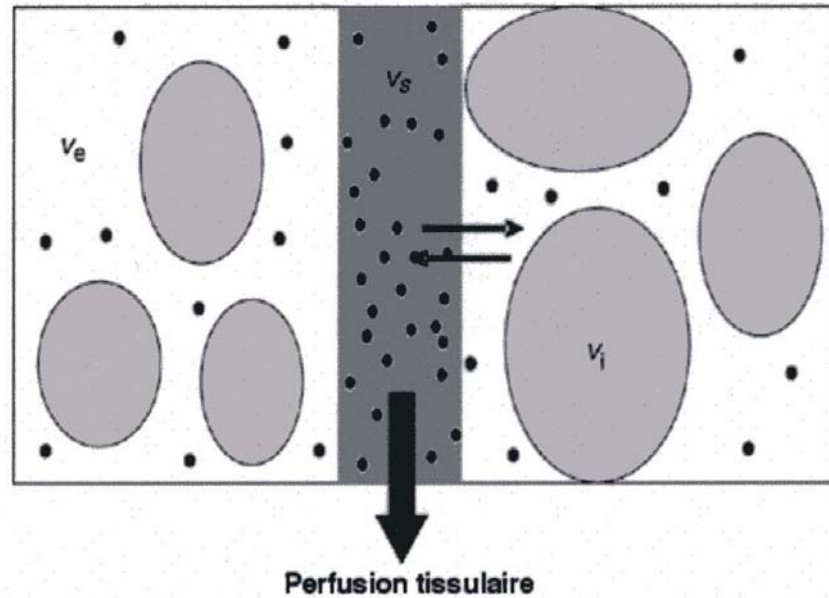


Fig.2.1: Modélisation compartimentale de la microcirculation. Le sang contenant des molécules de l'agent de contraste perfuse les tissus, permettant théoriquement la distribution de l'agent dans trois compartiments différents ; le volume intracapillaire ou volume sanguin  $V_s$ , le volume extracapillaire extracellulaire  $V_e$  et le volume intracellulaire  $V_i$ . Les agents de contraste ultrasonores n'évoluent que dans le volume intracapillaire (O'Connor et al, 2007)

L'étude de la microcirculation intravasculaire se fait par l'évaluation de deux paramètres : la perfusion tissulaire  $F_s$ , qui correspond au débit de sang dans les capillaires par unité de volume de tissu et la fraction volumique sanguine  $v_s$ , qui correspond au volume de sang  $V_s$ , contenu dans le réseau capillaire par unité de volume de tissu. D'autres paramètres de la microcirculation permettant la caractérisation de la diffusion transcapillaire et extracapillaire existent : ce sont la perméabilité, l'indice de perméabilité ou la diffusion interstitielle.

Cependant, les agents de contraste ultrasonores étant strictement intravasculaires, nous ne nous intéresserons qu'aux deux paramètres de la microcirculation intravasculaire, la perfusion tissulaire et la fraction volumique sanguine.

## **2.2 Modélisation de la microcirculation par échographie de contraste**

L'utilisation de l'échographie de contraste pour l'évaluation des paramètres microcirculatoires est de plus en plus répandue. La nature des agents utilisés et leurs interactions avec les ultrasons ont permis le développement de modèles cinétiques propres à l'échographie de contraste. Les différents modèles de perfusion utilisés en échographie de contraste sont présentés dans cette partie, avec leurs avantages et leurs limites. Le choix d'une méthode d'optimisation ainsi que la définition de critères permettant d'évaluer la qualité de la modélisation sont également discutés.

Après injection d'un agent de contraste, dont la concentration locale varie au cours du temps, des séquences d'images dynamiques sont obtenues. Elles représentent des variations d'intensité au cours du temps (cinétiques). Ces cinétiques peuvent ensuite être modélisées afin d'obtenir des paramètres caractérisant la microcirculation. La modélisation comprend plusieurs étapes.

### 2.2.1 Calibrage de l'information

Le calibrage des données a pour objectif de convertir les informations fournies par l'imagerie dynamique, soit les cinétiques, en données pertinentes pour une modélisation ultérieure. Il s'agit donc, en théorie, de convertir les valeurs affichées dans l'image en valeurs proportionnelles à la concentration de l'agent de contraste à l'aide d'une fonction de conversion. Nous avons vu que la relation entre le rehaussement de l'intensité de signal produit par un agent de contraste et la concentration de cet agent est complexe en échographie de contraste. D'autres opérations, liées à la propagation des ultrasons dans les tissus, peuvent s'avérer nécessaires pour un calibrage correct des données. Les cinétiques devant être mesurées dans la même région d'intérêt tout au long de l'acquisition, l'immobilité des structures observée est requise. Ainsi, les mouvements présents dans l'acquisition doivent être compensés si l'acquisition des images n'est pas synchronisée. Le phénomène d'atténuation du

signal ultrasonore doit également être pris en compte. Une des étapes essentielles du traitement du signal RF consiste à compenser l'atténuation du faisceau ultrasonore en amplifiant de façon exponentielle le signal reçu. En effet, l'atténuation due aux mécanismes d'absorption et de diffusion est à l'origine d'une décroissance exponentielle de l'intensité de l'onde ultrasonore avec la distance parcourue dans le milieu atténuant. En pratique clinique, la compensation de l'atténuation est donc approximative ce qui perturbe la signification de la mesure de l'énergie rétrodiffusée.

### 2.2.2 Quantification sur l'image finale (vidéodensitométrie)

Si l'on suppose négligeable les phénomènes d'atténuation non compensés, la quantification de l'intensité de l'image (vidéodensitométrie) en niveaux de gris (de 0 à 255) est la technique la plus largement accessible pour quantifier la réponse à l'agent de contraste en pratique clinique. Ainsi, un grand nombre d'études présentées dans la littérature utilisent les logiciels de vidéodensitométrie pour la quantification du rehaussement du signal suite à l'injection d'un produit de contraste. Le signal subit en général une compression logarithmique. Le niveau de brillance de l'image est alors grossièrement proche du logarithme de la valeur du coefficient de rétrodiffusion et donc du logarithme du nombre de microbulles. En vidéodensitométrie corrigée, la quantification se fait par rétrocalcul de la courbe de compression à partir de la bande de gris (Image Lab, Toshiba ; Noesis ; Amid, Bracco ; Axius, Siemens Acuson). Cette technique ne permet cependant pas en théorie une mesure précise et sans biais du coefficient de diffusion en raison des nombreuses étapes de compression non linéaire et de seuillage subies par le signal. Elle permet néanmoins de faire une comparaison quantitative et objective du niveau de rehaussement de l'image moyennant quelques précautions d'affichage : compression vidéo linéaire à la dernière étape du traitement, niveaux de gris comparables d'une injection à l'autre

### 2.2.3 Quantification du signal avant la formation de l'image (raw data) avec compensation de post-traitement

Pour se rapprocher de la relation directe entre le signal radiofréquence et le coefficient de rétrodiffusion, certains constructeurs d'échographe proposent désormais des logiciels de quantification du signal dite linéaire. Le principe est d'étudier la valeur du signal dans une région d'intérêt (ROI) définie sur l'image mais en recueillant le signal en provenance de cette ROI en amont de la conversion de standard et de la compression vidéo et en tentant par le calcul de remonter en amont du processus de compressions et de seuillages. Cet objectif est imparfaitement obtenu car une partie des informations est irréversiblement perdues suite à ces derniers processus. Ces logiciels (type HDI Lab®, ATL-Philips) permettent donc d'échapper aux ultimes étapes de compression logarithmique et d'extrapolation mais le signal qu'ils fournissent ne correspond pas exactement aux informations contenues dans l'amplitude du signal RF.

### 2.2.4 Modèles de la microcirculation

#### *2.2.4.1 Modélisation de la cinétique de bolus*

Après injection de l'agent de contraste en bolus, l'étude des variations d'intensité au cours du temps (ou cinétiques) pendant la phase de remplissage (wash-in) et la phase d'élimination (wash-out) du bolus permet l'estimation de la microcirculation. Les différentes modalités d'imagerie utilisent des méthodes identiques, la plus utilisée étant la modélisation compartimentale. Cependant, celle-ci nécessite d'avoir accès à une entrée artérielle, utilisée comme fonction d'entrée. En échographie de contraste, cet accès n'est pas toujours assuré. Ainsi, les modèles de déconvolution et les modèles compartimentaux sont difficilement

utilisables. Par conséquent, seuls des paramètres descriptifs sont extraits des cinétiques de bolus : le pic du maximum d'intensité (*i.e.* l'intensité maximale), le temps du pic maximum d'intensité, la largeur du pic maximum d'intensité, le temps de transit moyen ( $\tau$ ) et l'aire sous la courbe.

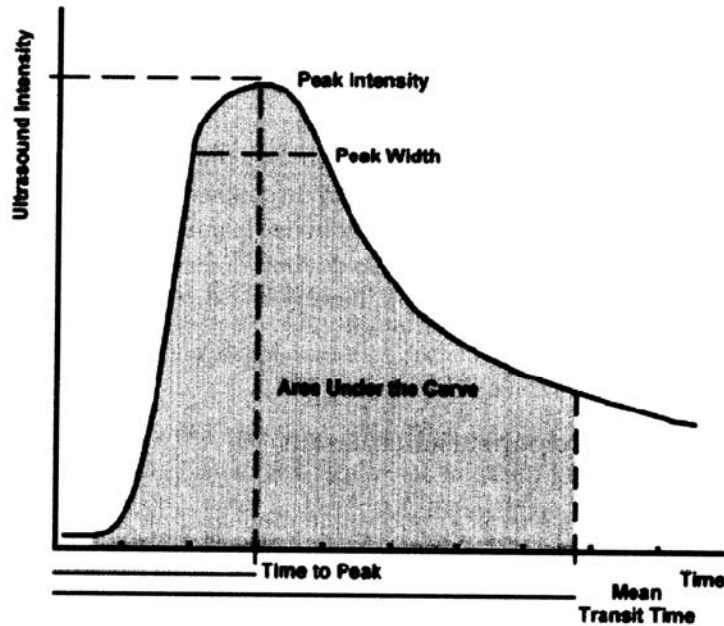


Fig.2.2: Modélisation du bolus et représentation des différents paramètres pouvant être extraits (Stoltz and Kaps, 2005).

Afin de rendre l'extraction de ces paramètres plus robuste, un modèle peut être ajusté aux cinétiques de passage du bolus. Wilkening et al. ont proposé le modèle suivant (Wilkening 2000 ; Postert, 2000):

$$I(t) = I_0 + a_1 \frac{e^{-a_2 t}}{1 + e^{-a_3(t-t_0)}}$$

où  $I(t)$  correspond à l'intensité du signal,  $I_0$  est l'intensité sans agent de contraste,  $a_1$  est un facteur d'échelle,  $a_2$  et  $a_3$  sont respectivement les paramètres de décroissance et de croissance exponentielles,  $t_0$  correspond au retard temporel. La modélisation des cinétiques de bolus a été très peu appliquée chez le petit animal. Quelques applications sur un modèle tumoral murin (Elie, 2007) ou sur un modèle murin à base d'implants de Matrigel (Lucidarme, 2004 ; Stieger, 2006) pour l'évaluation de l'angiogénèse ont été réalisées.

#### 2.2.4.2 Modèles de destruction-reperfusion

L'imagerie par destruction-reperfusion est une technique qui repose sur l'étude de la cinétique de remplissage d'un volume vierge de tout agent de contraste, perfusé par des vaisseaux afférents contenant une concentration constante de produit de contraste. Cette technique nécessite donc :

- L'injection à un débit constant des microbulles. L'injection continue est en effet plus facile à modéliser que l'injection en bolus car les courbes de rehaussement ne sont pas dépendantes de la forme du bolus et les calculs de déconvolution ne sont pas nécessaires. Chez le petit animal cependant, une injection en bolus peut être utilisée également car, en raison d'une fréquence cardiaque élevée, d'un faible volume sanguin, et de valeurs de concentration en agents de contraste utilisées élevées, on peut considérer qu'un équilibre est atteint quelques dizaines de secondes après injection (Lucidarme, 2006) ;
- Un volume exempt de tout agent de contraste alors même que la concentration de microbulles dans les vaisseaux afférents est constante. Condition qui n'est remplie que grâce aux propriétés des microbulles qui peuvent être détruites localement en un temps très court par un faisceau ultrasonore d'intensité élevée, ce qui équivaut à nettoyer un volume de son agent de contraste à un instant  $t=0$ . Ainsi, après destruction des

microbulles, au temps  $t=0$ , la concentration sanguine du produit de contraste est nulle dans ce volume et non nulle, avec une valeur constante, hors du plan de coupe ;

- Les vaisseaux afférents vont alors remplir de microbulles le volume étudié : c'est la phase de remplissage ou reperfusion (fig 2.3 a). Afin de limiter au maximum la destruction des microbulles lors de la phase de reperfusion, l'imagerie est réalisée à très faible puissance acoustique.

#### 2.2.4.2.1 Modèle monoexponentiel croissant

Wei et al. sont les premiers à avoir proposé une modélisation de la cinétique de reperfusion, à l'aide d'une fonction exponentielle suivante (Wei, 1998) :

$$I(t) = a \frac{V_s}{V} C(t) = a \frac{V_s}{V} C_0 (1 - e^{-\beta t}) = A(1 - e^{-\beta t})$$

où  $I(t)$  correspond à l'intensité linéaire du signal en fonction du temps,  $C_0$  est la valeur constante de la concentration de l'agent de contraste en dehors du plan de l'image, le ratio  $V_s/V$  correspond à la fraction volumique sanguine  $v_s$  et  $1/\beta$  est le temps de remplissage caractéristique (temps de transit moyen) de l'agent de contraste. Le coefficient de proportionnalité  $a$  entre la concentration de l'agent de contraste et l'intensité ultrasonore est influencé par la section efficace de rétrodiffusion des microbulles.  $A$  est la valeur du plateau et  $A*\beta$  correspond à la pente à l'origine (Fig.2.3 b). Wei and al. ont relié les paramètres  $A$  et  $\beta$  respectivement à la fraction volumique sanguine et à l'inverse du temps de transit moyen dans le tissu. Le produit  $A*\beta$  correspond alors au flux sanguin et constitue une approximation de la perfusion tissulaire  $F_s$ .

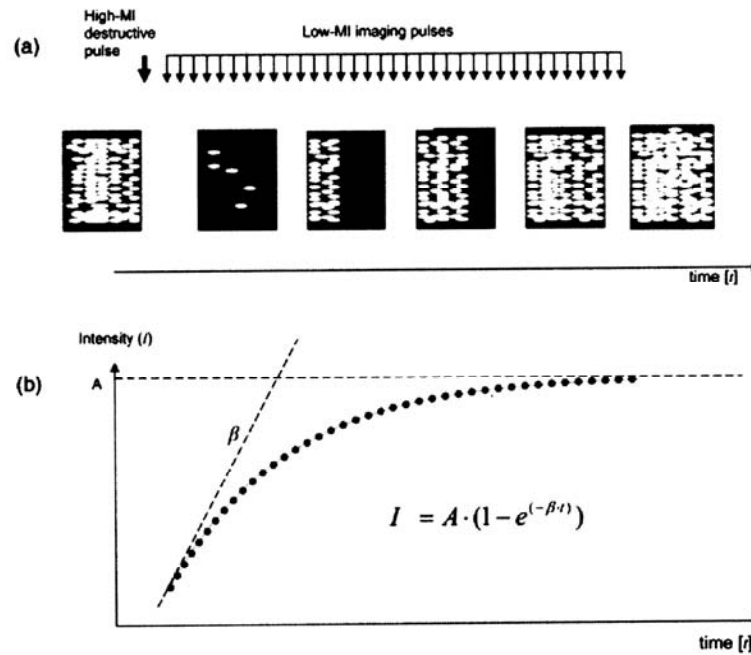


Fig. 2.3: Modélisation de la cinétique de reperfusion. Après destruction de l'agent de contraste avec une impulsion à très fort index mécanique (en pratique, quelques impulsions), la reperfusion du volume est observée par imagerie à faible index mécanique et est modélisée par une fonction monoexponentielle (Seidel and Meyer-Wiethe, 2005).

Chez l'animal, ce modèle a été appliqué pour l'étude de la perfusion cardiaque chez le rat (Thibault, 2005) et la souris (Raheer, 2007), de la perfusion rénale chez le porc (Schlosser, 2001), de la perfusion hépatique chez le lapin (Metoki, 2006), de la perfusion cérébrale chez le chien (Rim, 2001; Seidel, 2001) ou encore pour l'étude de la perfusion tumorale chez le petit animal (Broumas, 2005 ; Ferrara, 2000 ; Chomas, 2001 ; Pollard, 2003, 2007).

Cependant, ce modèle ne fait pas l'unanimité et il est faiblement corrélé avec les résultats expérimentaux. De nombreux travaux présentent également des cinétiques de reperfusion ayant une faible pente initiale puis un point d'inflexion avant de tendre vers une valeur asymptotique, présentant la forme d'une courbe sigmoïde. Ce phénomène a été observé in vivo dans le rein (Schlosser, 2001) et dans le cœur (Rim, 2001) (fig 2.4).



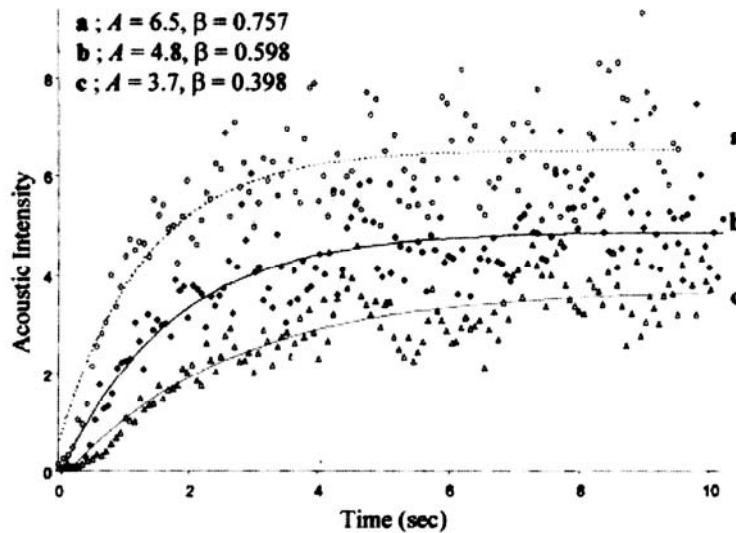


Fig.2.4: cinétiques de reperfusion cérébrales obtenues sur un chien avec injection continue de Sonazoid®. Les cinétiques, enregistrées pendant les manœuvres d'hypoventilation (a), de normoventilation (b) et d'hyperventilation (c). Un écart au modèle exponentiel est clairement visible lors de la première seconde et l'aspect sigmoïde des cinétiques est souligné. Les valeurs des paramètres des exponentielles sont précisées (Rim, 2001).

#### 2.2.4.2.2 Modèles sigmoïdes

Lucidarme et al. ont souligné la différence entre les cinétiques de perfusion, en forme de  $S$ , et le modèle exponentiel et ont proposé un modèle multicompartimental prenant en compte la destruction de l'agent de contraste dans les vaisseaux afférents situés dans le plan de l'image (Lucidarme, 2003 a). En effet, le modèle monoexponentiel croissant, qui fait l'hypothèse d'une concentration de l'agent de contraste constante dans les vaisseaux alimentant le volume étudié, ne tient pas compte de cet élément. L'arrivée séquentielle de l'agent de contraste dans la zone étudiée, due à l'existence de différents flux et d'angles variables des vaisseaux afférents, a amené l'équipe de Krix à proposer un modèle multivaisseaux (Krix, 2003, 2004). Ce modèle a été validé sur un modèle tumoral de rat.

Arditi et al. ont proposé une explication de la forme des cinétiques observées basées sur la distribution spatiale du faisceau ultrasonore dans la direction d'élévation (Arditi, 2006).

L'influence de la fonction de transfert du faisceau acoustique, qui caractérise l'image d'un point source observée à travers un milieu diffusant, avait déjà été proposée pour justifier la forme des cinétiques par Potdevin et al. (Potdevin, 2004), sans toutefois qu'un modèle prenant en compte ce phénomène et fournissant des paramètres reflétant des grandeurs physiologiques ne soit proposé. Ardit et al. ont proposé et validé *in vitro* le modèle sigmoïde suivant :

$$I(t) = \frac{A}{2} \left( 1 + \operatorname{erf} \left( 1,94 \cdot \frac{KD}{2\tau} \cdot (t - \tau) \right) \right)$$

où  $A$  est la valeur du plateau final atteint,  $\tau$  est le temps de transit moyen entre le bord et le centre de la zone de destruction.  $K$  et  $D$  sont des paramètres propres à la sonde :  $K$  correspond au paramètre de transmission-réception de la sonde et s'exprime en  $\text{m}^{-1}$ , tandis que  $D$  est l'épaisseur du faisceau ultrasonore dans la direction de l'élévation du faisceau.

La fonction *erf* est la fonction d'erreur de Gauss (Gautschi, 1964), définie par :

$$\operatorname{erf}(q) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^q e^{-p^2} dp$$

Des exemples de modèle de reperfusion sont présentés sur la figure 2.5. La principale limite de ce modèle est la nécessité de connaître certaines informations relatives à la zone de destruction et au profil du faisceau ultrasonore.

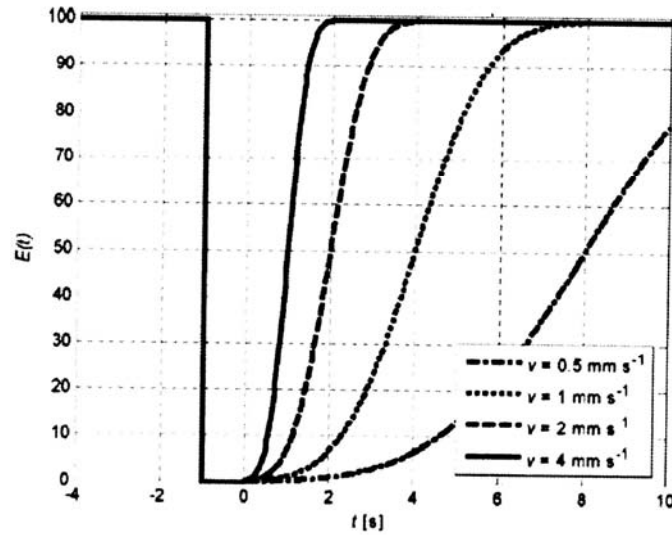


Fig.2.5: Exemples de fonction de remplissage normalisées  $E(t)$ , pour quatre vitesses de flux différentes, avec  $A=100$ ,  $K=0.276 \text{ mm}^{-1}$  et  $D=8 \text{ mm}$ . L'origine du temps est prise à la fin des impulsions de destruction des microbulles (Arditi, 2006).

Ce modèle fait l'hypothèse d'une vitesse de flux unique. Une adaptation à la présence de plusieurs vitesses de flux a également été proposée. En présence d'une répartition des temps de transit moyens du flux, l'expression de l'intensité linéaire  $I(t)$  de la reperfusion devient :

$$I(t) = \frac{A}{2} \int_0^{\infty} DP(\tau) \cdot \left( 1 + \operatorname{erf} \left( 1,94 \cdot \frac{KD}{2\tau} \cdot (t - \tau) \right) \right) d\tau$$

La distribution des temps de transit moyens est supposée suivre une distribution de densité de probabilité (DP) lognormale dont l'expression est (Zwillinger and Kokoska, 2000) :

$$DP(\tau) = \frac{e^{-\frac{(\ln(\tau)-m)^2}{2s^2}}}{\tau \cdot s\sqrt{2\pi}}$$

où  $m$  et  $s^2$  correspondent à la moyenne et à la variance de la distribution du logarithme des temps de transit moyens  $\tau$ .

### 2.2.4.3 Modèles de destruction

Les limitations du modèle de destruction-reperfusion ont conduit à envisager d'autres techniques, le principal objectif étant d'écourter la durée d'acquisition. En effet, l'analyse des cinétiques de diminution de la concentration des microbulles permet de répondre favorablement à cette contrainte. Cette approche consiste à observer la diminution de la concentration des microbulles par imagerie à index mécanique modéré. La concentration des microbulles dans la région d'intérêt étudiée diminue puis se stabilise à une valeur d'équilibre qui dépend à la fois de la destruction et de la reperfusion de l'agent de contraste, et donc de la fréquence d'acquisition et de la quantité d'agent de contraste injectée. Trois modèles mathématiques différents ont été proposés : un modèle linéaire simple (Meyer-wiethe, 2005), un modèle monoexponentiel décroissant (Meyer et Seidel, 2002) et un modèle de décroissance exponentielle plus complexe appelé CODIM (Contrast Burst Depletion imaging) (Eyding, 2003 ; Wilkening, 2000 ; Lucidarme, 2003a) (Fig 2.6).

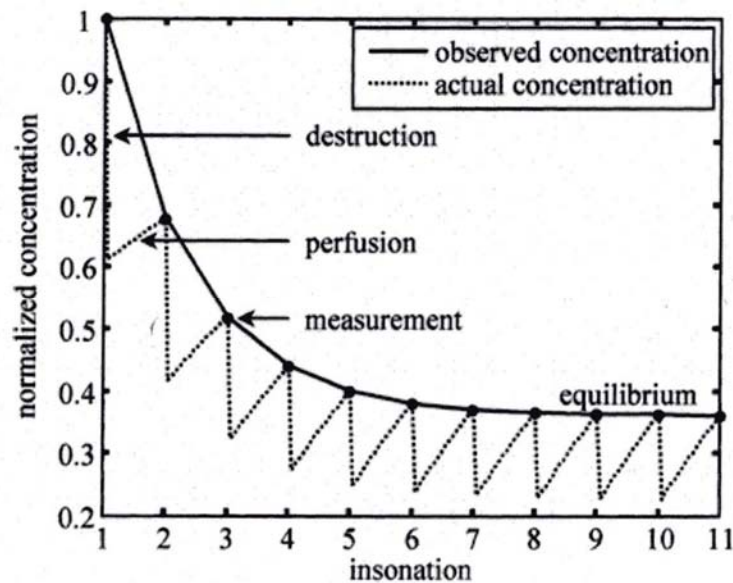


Fig. 2.6: Modélisation de l'évolution de la concentration de l'agent de contraste au cours de l'acquisition par imagerie intermittente (Eyding, 2003)

#### 2.2.4.4 Modèle linéaire

Le modèle linéaire est le suivant :

$A = I_0 - I_1$ , où  $A$  est l'amplitude,  $I_0$  est l'intensité initiale du signal et  $I_1$  est l'intensité du signal après une impulsion.

#### 2.2.4.5 Modèle monoexponentiel décroissant

Le modèle exponentiel décroissant a la forme suivante :

$$I(t) = I_0 e^{-\beta t} + B$$

où  $I(t)$  correspond à l'intensité du signal,  $I_0$  est la valeur du plateau final atteint,  $\beta$  correspond à la pente à l'origine et  $B$  est l'intensité initiale du signal.

#### 2.2.4.6 Modèle CODIM

Enfin, le modèle CODIM a pour expression :

$$C(n) = C_0 \left( x^{n-1} + y \frac{x^{n-1} - 1}{x - 1} \right)$$

$$\begin{cases} x = e^{-D} e^{-P\Delta t} \\ y = (1 - e^{-P\Delta t}) \end{cases}$$

où  $C$  représente la concentration de microbulles,  $D$  la fraction de microbulles détruites par chaque série d'impulsions,  $P$  le coefficient de perfusion et  $\Delta t$  l'intervalle entre deux impulsions,  $n$  est le numéro de l'image considérée.

La modélisation des cinétiques de premier passage après injection de l'agent de contraste en bolus permet d'obtenir des paramètres intéressants pour une approche descriptive de la perfusion chez l'animal. Toutefois, l'accès à une fonction d'entrée artérielle n'est pas toujours possible. De ce fait, il est difficile d'obtenir des mesures des paramètres de la perfusion que sont la perfusion tissulaire et la fraction volumique sanguine. Pour y remédier, des modèles de destruction-reperfusion ont été développés. Nous avons vu que le modèle monoexponentiel croissant proposé par Wei et al. (Wei, 1998) n'était pas entièrement satisfaisant, et ceci en dépit de nombreux résultats encourageants. Pour pallier ces limites dues à la simplicité du modèle vis-à-vis du phénomène que l'on cherche à modéliser, plusieurs modèles de type sigmoïde (ou S-shape) ont été proposés, permettant notamment une meilleure prise en compte du début des cinétiques de reperfusion.

La méthode de destruction-reperfusion comporte certaines limites. Elle nécessite un temps d'acquisition relativement long (souvent 30 secondes ou plus). Le même plan devant être imagé tout au long de l'acquisition, cette méthode est limitée par le mouvement, quasi incontournable en pathologie abdominale. Elle peut nécessiter alors une synchronisation de l'imagerie aux mouvements de l'organe (étude de la perfusion myocardique). De plus, une destruction incomplète ou inégale des microbulles dans le plan d'acquisition peut biaiser l'estimation des paramètres microcirculatoires. L'imagerie étant réalisée à faible index mécanique, les images obtenues ont un rapport signal sur bruit assez faible, ce qui peut limiter la visualisation des structures profondes. Enfin, l'injection continue de l'agent de contraste n'est pas toujours aisément réalisable, en particulier pour des études chez le petit animal, où les faibles flux et volumes de l'agent de contraste constituent un handicap important.

La méthode de destruction permet de diminuer considérablement le temps d'acquisition. En effet elle ne requiert l'acquisition que de quelques images pour une durée d'acquisition de quelques secondes, ce qui permet de diminuer fortement l'influence du mouvement. Quelques

problèmes sont liés à la modélisation de la destruction des microbulles. L'intensité acoustique des impulsions émises et la fréquence d'acquisition des images doivent être optimisées afin de pouvoir modéliser la diminution de l'intensité du signal ultrasonore. Par exemple, si l'intensité acoustique et/ou la fréquence d'acquisition choisie(s) est (sont) trop faible (s), les microbulles détruites entre deux séries d'impulsions seront entièrement remplacées, et aucune diminution significative de l'intensité du signal ne pourra être observée et a fortiori modélisée. L'optimisation de ces deux paramètres s'avère donc déterminante. Une autre contrainte est d'avoir un lit capillaire entièrement rempli avant le début de l'étude de la destruction. Il s'agit donc d'attendre 15 ou 20 secondes pour permettre le remplissage du réseau microvasculaire, attente qui permet de choisir le meilleur plan pour l'étude ultérieure de la destruction des microbulles. (Lucidarme, 2003b). Cette nécessité d'un remplissage complet du réseau microvasculaire implique en revanche une quantité importante d'agent de contraste dans le plan d'intérêt et donc la présence d'atténuation due aux microbulles.

#### 2.2.5 Choix de la région d'intérêt

Lorsque le modèle de perfusion a été déterminé, il faut déterminer si l'on souhaite travailler au niveau du pixel (analyse par pixel = paramétrique) ou bien au niveau de blocs de pixels (ou régions d'intérêt) préalablement définis par l'opérateur. L'analyse paramétrique permet théoriquement une estimation plus précise alors que l'approche par régions d'intérêt entraîne une perte d'information et une dégradation de la résolution spatiale. Cependant, elle permet de réduire le bruit présent dans les données, ce qui peut parfois s'avérer déterminant.

#### 2.2.6 Critères de qualité

La qualité d'une modélisation repose sur de nombreux éléments et son évaluation s'avère complexe. La qualité des résultats de la modélisation ne peut être garantie sans vérification de la qualité de la modélisation, d'où la proposition de critères de qualité de la modélisation.

Les différents critères d'estimation actuellement utilisés, et en particulier les critères mesurant l'amplitude du résidu de la modélisation (erreur quadratique, coefficient de corrélation  $r^2$  et erreur normalisée) ne sont pas toujours satisfaisantes, en raison notamment de leur sensibilité au rapport signal sur bruit. Deux types d'erreurs survenant au cours de la modélisation, sont à distinguer : l'erreur aléatoire  $b(t)$  dans les données  $d(t)$  et l'erreur non aléatoire due à un mauvais ajustement des données, indépendamment de la présence d'un bruit aléatoire dans les données.

L'objectif de la modélisation est de minimiser l'erreur non aléatoire. L'erreur non aléatoire ou erreur de modélisation  $e(t)$  a été définie théoriquement comme l'écart entre la modélisation effective  $m(t)$  et la composante informative du signal  $d_o(t)$  que l'on cherchait à modéliser (Fig. 2.7). Du fait de cette erreur, les données modélisées  $m(t)$  et les données résiduelles  $r(t)$  peuvent contenir à la fois de l'information et du bruit. L'erreur de modélisation peut ainsi être décomposée en deux composantes de natures distinctes, l'information perdue  $e^-$  (mauvais ajustement des données) et le bruit modélisé à tort  $e^+$  (incertitude sur l'ajustement optimal) :  $e(t) = e^-(t) + e^+(t)$  (Fig.2.7).

La méthode de séparation mise au point par Balvay et al. permet de décomposer l'erreur quadratique (amplitude du résidu) en deux parties : l'amplitude de l'information perdue d'une part et l'amplitude du bruit résiduel d'autre part. Elle permet également d'estimer le rapport signal sur bruit dans les données initiales.



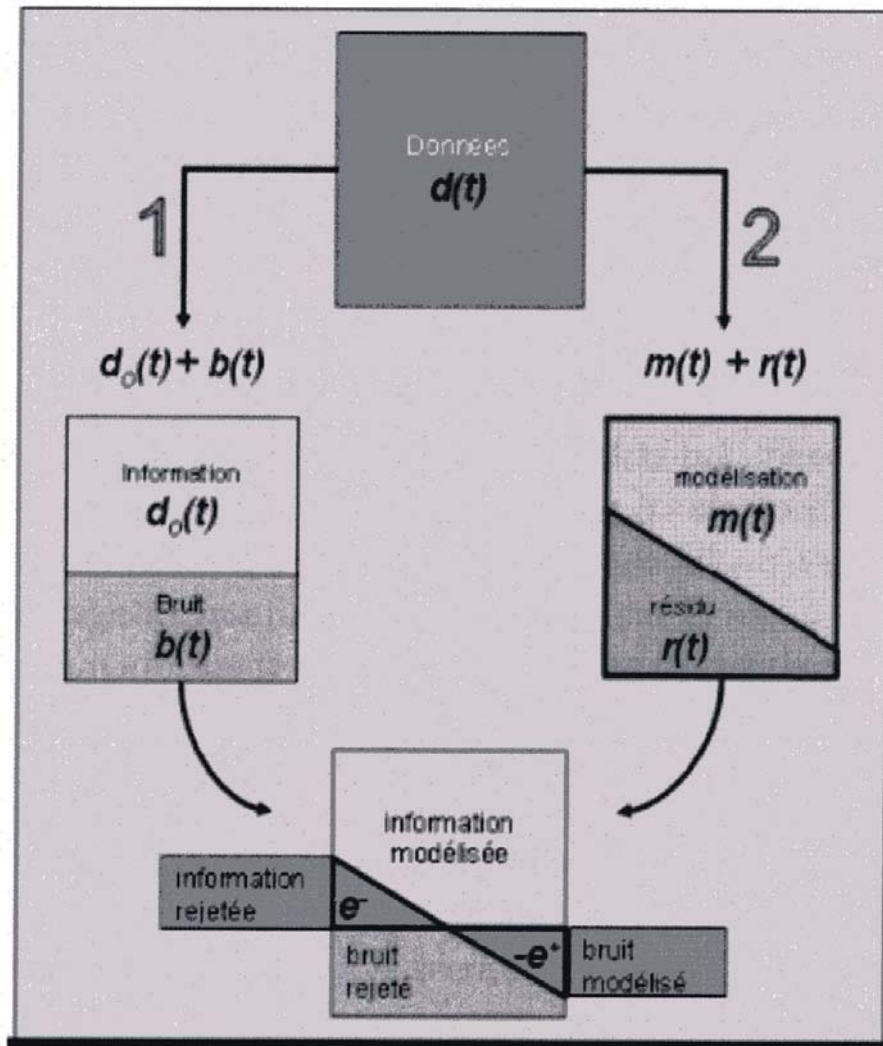


Fig.2.7: Les données expérimentales sont considérées (1) comme étant issues du processus physiologique  $d_o(t)$  et du bruit  $b(t)$ . (2) Leur décomposition en données modélisées  $m(t)$  et données résiduelles  $r(t)$  peut donner lieu à deux erreurs distinctes: les données modélisées peuvent contenir une fraction du bruit modélisé à tort (erreur  $-e^+$ ) et avoir perdu une partie de l'information (erreur  $e^-$ ) (Balvay, 2005)

L'estimation de l'amplitude des pertes d'information a permis de définir deux nouveaux critères de fiabilité normalisés : la fraction d'information modélisée (FIM) et la fraction d'information résiduelle (FIR). La FIM correspond au rapport entre l'amplitude du signal modélisé et l'amplitude du signal qu'il y avait effectivement à modéliser, à savoir l'amplitude des données auxquelles on aurait retiré le bruit. La FIM indique la qualité de modélisation dans le cadre de modèles simples. La FIR correspond au rapport entre l'amplitude de

l'information perdue et l'amplitude du résidu. Les critères de qualité mis au point permettent donc de différencier les problèmes d'ajustement des problèmes d'incertitudes liées au bruit. Cette différenciation, cohérente d'un point de vue théorique, permet aux critères d'être efficaces numériquement. La supériorité des nouveaux critères pour estimer la qualité des ajustements a été démontrée sur des séquences d'IRM réelles (Balvay et al, 2005).

## Bibliographie

Arditi, M., Frinking, P., Zhou, X., and Rognin, N. (2006). A new formalism for the quantification of tissue perfusion by the destruction-replenishment method in contrast ultrasound imaging. *Ultrasonics, Ferroelectrics and frequency control*, IEEE Transactions on, 53: 118-1129.

Balvay, D., Frouin, F., Calmon, G., Bessoud, B., Kahn, E., Siauve, N., Clément, O., and Cuenod, C.A. (2005). New criteria for assessing quality fit in dynamic contrast-enhanced t1-weighted MRI for perfusion and permeability imaging. *Magn Reson Med*, 54 : 868-77.

Broumas, A.R., Pollard, R.E, Bloch, S.H., Wisner, E.R., Griffey, S., and Ferrara K.W. (2005). Contrast-enhanced computed tomography and ultrasound for the evaluation of tumor blood flow. *Invest Radiol*, 40 : 134-47.

Chomas, J., Pollard, R.E, Wisner, E.R, and Ferrara, K.W. (2001). Subharmonic phase-inversion for tumor perfusion estimation. In *Ultrasonics Symposium, 2001 IEEE*, volume 2, pages 1713-1716.

Eyding, J., Wilkening, W., Reckhardt, M., Schmid, G., Meves, S., Ermert, H., Przuntek, H., and Postert, T. (2003). Contrast burst depletion imaging (codim): a new imaging procedure and analysis method for semiquantitative ultrasonic perfusion imaging. *Stroke*, 34: 77-83.

Eyding, J., Krogias, C., Schollhammer, M., Eyding, D., Wilkening, W., Meves, S., Schroder, A., Przuntek, H., and Postert, T. (2005). Contrast-enhanced ultrasonic parametric perfusion imaging detects dysfunctional tissue at risk in acute mca stroke. 26: 576-582.

Gautschi W. (1964). Error function and fresnel integrals. In Abramowitz, M. and Stegun, I., editors, *Handbook of mathematical functions*, volume 55, pages 295-329. NBS Appl. Math. Series, Washington, D.C.

Krix, M., Kiessling, F., Farhan, N., Schmidt, K., Hoffend, J., and Delorme, S. (2003). A multivessel model describing replenishment kinetics of ultrasound contrast agent for quantification of tissue perfusion. *Ultrasound Med Biol*, 29: 1421-1430.

Krix, M., Plathow, C., Kiessling, F., Herth, F., Karcher, A., Essig, M., Schmitteckert, H., Kauczor, H.-U., and Delorme, S. (2004). Quantification of perfusion of liver tissue and

metastases using a multivessel model for replenishment kinetics of ultrasound contrast agents. *Ultrasound Med Biol*, 30: 1355-1363.

Lucidarme, O., Franchi-Abella, S., Correas, J. M., Bridal, S. L., Kurtisovski, E., and Berger, G. (2003a). Blood flow quantification with contrast-enhanced US: "entrance in the section" phenomenon-phantom and rabbit study. *Radiology*, 228:473-9.

Lucidarme, O., Kono, Y., Corbeil, J., Choi, S. H., and Mattrey, R. F. (2003b). Validation of ultrasound contrast destruction imaging for flow quantification. *Ultrasound Med Biol*, 29 :1697-704.

Lucidarme, O., Nguyen, T., Kono, Y., Corbeil, J., Choi, S. H., Varner, J., and Mattrey, R. F. (2004). Angiogenesis model for ultrasound contrast research : exploratory study. *Acad Radiol*, 11:4-12.

Metoki, R., Moriyasu, F., Kamiyama, N., Sugimoto, K., Iijima, H., Xu, H.-X., Aoki, T., Miyata, Y., Yamamoto, K., Kudo, K., Shimizu, M., and Yamada, M. (2006). Quantification of hepatic parenchymal blood flow by contrast ultrasonography with flash-replenishment imaging. *Ultrasound Med Biol*, 32 :1459-1466.

Meyer, K. and Seidel, G. n. (2002). Transcranial contrast diminution imaging of the human brain : a pilot study in healthy volunteers. *Ultrasound Med Biol*, 28 :1433-1437.

Meyer-Wiethe, K., Cangur, H., and Seidel, G. U. (2005). Comparison of different mathematical models to analyze diminution kinetics of ultrasound contrast enhancement in a flow phantom. *Ultrasound Med Biol*, 31:93-8.

O'Connor, J.P.B, Jackson, A., Parker. G.J.M., and Jayson, G.C. (2007). DCE-mri biomarkers in the clinical evaluation of antiangiogenic and vascular disrupting agents. *Br J cancer*, 96: 189-95.

Pollard, R. E., Sadlowski, A., Chomas, J., Wisner, E., Griffey, S., and Ferrara, K. (2003). Contrast-enhanced destruction replenishment ultrasound for monitoring angiogenesis in a rat tumor model. *Ultrasound Med Biol*, 29 (Supplément 1):S73-S74.

Pollard, R. E., Broumas, A. R., Wisner, E. R., Vekich, S. V., and Ferrara, K. W. (2007). Quantitative contrast enhanced ultrasound and assessment of tumor response to antiangiogenic therapy in rats. *Ultrasound Med Biol*, 33:235-245.

Postert, T., Hoppe, P., Federlein, J., Helbeck, S., Ermert, H., Przuntek, H., Buttner, T., and Wilkening, W. (2000). Contrast agent specific imaging modes for the ultrasonic assessment of parenchymal cerebral echo contrast enhancement. *J Cereb Blood Flow Metab*, 20:1709-1716.

Potdevin, T. G., Fowlkes, J. B., Moskalik, A. P., and Carson, P. L. (2004). Analysis of refill curve shape in ultrasound contrast agent studies. *Medical Physics*, 31:623-632.

Raher, M. J., Thibault, H., Poh, K. K., Liu, R., Halpern, E. F., Derumeaux, G., Ichinose, F., Zapol, W. M., Bloch, K. D., Picard, M. H., and Scherrer-Crosbie, M. (2007). In vivo characterization of murine myocardial perfusion with myocardial contrast echocardiography :

Validation and application in nitric oxide synthase 3 deficient mice. *Circulation*, 116 :1250-1257.

Rim, S. J., Leong-Poi, H., Lindner, J. R., Couture, D., Ellegala, D., Mason, H., Durieux, M., Kassel, N. F., and Kaul, S. (2001). Quantification of cerebral perfusion with "real-time" contrast-enhanced ultrasound. *Circulation*, 104:2582-7.

Schlosser, T., Pohl, C., Veltmann, C., Lohmaier, S., Goenechea, J., Ehlgen, A., Koster, J., Bimmel, D., Kuntz-Hehner, S., Becher, H., and Tiemann, K. (2001). Feasibility of the flash-replenishment concept in renal tissue: which parameters affect the assessment of the contrast replenishment? *Ultrasound Med Biol*, 27:937-44.

Schneider, M., Arditi, M., Barrau, M. B., Brochot, J., Broillet, A., Ventrone, R., and Yan, F. (1995). Br1 : a new ultrasonographic contrast agent based on sulfur hexafluoride-filled microbubbles. *Invest Radiol*, 30 :451-7.

Seidel, G., Claassen, L., Meyer, K., and Vidal-Langwasser, M. (2001). Evaluation of blood flow in the cerebral microcirculation : analysis of the refill kinetics during ultrasound contrast agent infusion. *Ultrasound Med Biol*, 27: 1059-64.

Seidel, G. and Meyer-Wiethe, K. (2005). Ultrasound perfusion imaging of cerebro-vascular disease. *Seminars in Cerebrovascular diseases and stroke*, 5: 132-140.

Stieger, S.M., Bloch, S.H., Foreman, O., Wisner, E.R., Ferrara, K.W., and Dayton, P.A. (2006). Ultrasound assessment of angiogenesis in a matrigel model in rats. *Ultrasound Med Biol*, 32: 673-81.

Stoltz, E.P. and Kaps, M. (2005). Ultrasound contrast agents and imaging of cerebrovascular disease. *Seminars in Cerebrovascular diseases and stroke*, 5: 111-131.

Thibault, H., Lafitte, S., Timperley, J., Tariosse, L., Becher, H., Roudaut, R., and Dos Santos, P. (2005). Quantitative analysis of myocardial perfusion in rats by contrast echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*, 18: 1321-1328.

Wei, K., Jayaweera, A.R., Firoozan, S., Linka, A.; Skyba, D.M., and Kaul, S. (1998). Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation*, 97: 473-83.

Wilkening, W., Postert, T., Federlein, J., Kono, Y., Mattrey, R., and Ermert, H. (2000). Ultrasonic assessment of perfusion conditions in the brain and in the liver. In *Ultrasonics Symposium, 2000 IEEE*, volume 2, pages 1545-1548.

Zwillinger, D. and Kokoska, S. (2000). Continuous probability distributions. In Hall/CRC, C., editor, *Standard Probability and Statistics Tables and Formulae*, pages 81-130. boca Raton, Florida.

## **CHAPITRE III**

### **Echographie de contraste en pathologie abdominale**

### **3.1 Pathologie hépatique**

La possibilité de rehausser le signal doppler dans les circonstances où il est spontanément trop faible (exploration de la macrocirculation) a trouvé très tôt plusieurs indications en pathologie hépatique. Ainsi, l'échographie de contraste a été utilisée pour confirmer ou infirmer l'existence d'une thrombose portale chez des patients difficiles à imager (obésité, flux porte très ralenti) (Braunschweig, 1996), d'une occlusion de l'artère hépatique immédiatement après transplantation hépatique (Herold, 2001). Ses indications se sont ensuite progressivement étendues à l'analyse des rehaussements parenchymateux et tumoraux. En pratique clinique, l'analyse de la microcirculation hépatique reste le plus souvent qualitative mais l'analyse des rehaussements parenchymateux s'inspire des enseignements obtenus à partir des modèles cinétiques théoriques. Grâce aux modes d'imagerie spécifiques, les échographes modernes disposent d'une excellente sensibilité aux très faibles doses de contraste. Ainsi, l'absence de rehaussement signe l'absence de flux sanguin.

Il existe une différence notable quant à la signification du rehaussement obtenu en échographie par rapport à l'IRM ou au scanner. En IRM et au scanner, le rehaussement parenchymateux dépend du flux sanguin local, du volume sanguin local et de la perméabilité capillaire aux molécules de contraste. Or, c'est plus souvent le rehaussement dû à l'extravasation de produit de contraste dans l'interstitium tumoral qui est à l'origine des descriptions sémiologiques des tumeurs en IRM ou en scanner (Francica G, 2008 ; Leen E, 2004) : par exemple, la prise de contraste tardive en faveur de la présence d'un contingent fibreux ou la différence de rehaussement entre les métastases hypervascularisées et les autres est due à l'importance de leur perfusion mais aussi à l'importance de l'extravasation de produit de contraste dès le premier passage du bolus.

En échographie, le rehaussement ne dépend que du flux sanguin et de la richesse du lit capillaire, ce qui occasionne quelques différences sémiologiques, notamment en ce qui concerne les flux tardifs après injection. De plus, l'échographie de contraste possède un avantage déterminant sur les autres techniques d'imagerie : elle permet de voir l'arrivée du produit de contraste en temps réel au cours de la phase artérielle, apportant ainsi de nombreuses informations sur le degré et le profil de vascularisation tumorale.

Nous rapportons les performances relatives de l'échographie de contraste en pathologie hépatique par rapport aux autres modalités d'imagerie en coupes grâce à deux articles que nous avons récemment publié et qui sont une synthèse de notre expérience personnelle et de la littérature.

# Performance de l'échographie de contraste en pathologie hépatique : synthèse de la littérature

V Ladam-Marcus, G Mac, L Job, S Piot-Veron, C Marcus et C Hoeffel

## Abstract

Contrast-Enhanced Ultrasound and liver imaging: review of the literature

J Radiol 2009;90:93-108

The advent of second-generation microbubble ultrasound contrast agents and the development of contrast specific ultrasound techniques improved the ability of contrast enhanced ultrasound (CEUS) in detecting and characterizing focal liver lesions, opening new prospects in liver imaging.

A Medline search in June 2008 identified 72 published studies that used CEUS in focal liver lesion detection, characterization, and follow-up to monitor tumor ablation procedures and antiangiogenic treatment.

The purpose of this paper, based on literature review, is to describe the technical recommendations when using CEUS for liver imaging and to define the different vascular patterns of the most relevant benign and malignant lesions. Diagnostic performance of CEUS and the important clinical indications are also presented and discussed.

CEUS is increasingly accepted in clinical use for diagnostic imaging and post-interventional workup liver imaging. It may replace many computed tomography and magnetic resonance imaging examinations in the near future, according to the European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology guidelines.

**Key words:** Ultrasonography. Ultrasound contrast agents. Contrast-enhanced ultrasonography. Liver, tumor.

## Résumé

L'utilisation de produits de contraste ultrasonores de seconde génération et le développement de techniques spécifiques d'échographie de contraste ultrasonore (ECUS) ont permis d'améliorer la capacité de l'ECUS à détecter et caractériser les lésions hépatiques, ouvrant la voie à de nouvelles perspectives en imagerie hépatique. Une recherche Medline réalisée en juin 2008 a permis de sélectionner 72 études publiées ayant utilisé l'ECUS pour la détection de lésions focales hépatiques, leur caractérisation, la surveillance de patients après une procédure de thermoablation par radiofréquence ou sous traitement antiangiogénique.

L'objectif de cet article, basé sur une revue de la littérature, est de décrire pour l'ECUS les recommandations techniques en pathologie hépatique et de définir les différents aspects observés dans les lésions hépatiques bénignes et malignes les plus fréquentes. Les performances diagnostiques de l'ECUS ainsi que les principales indications cliniques sont également présentées et discutées.

L'ECUS est une technique de plus en plus acceptée et utilisée en routine clinique pour le diagnostic, la caractérisation et la surveillance per et post-thérapeutique des lésions en imagerie hépatique. Dans un futur proche, cette technique se substituera vraisemblablement à de nombreux examens scanner et IRM, en accord avec les recommandations de la Fédération Européenne des Sociétés d'Ultrasons en Médecine et Biologie

**Mots-clés :** Échographie. Produit de Contraste. Échographie avec injection de contraste. Foie, tumeur.

## Introduction

L'échographie de contraste a bénéficié récemment de l'introduction de nouveaux agents de contraste échographiques et du développement de techniques spécifiques d'échographie de contraste (1-4).

Le développement des techniques d'imagerie en temps réel à bas index mécanique permet d'explorer en temps réel la cinétique des lésions hépatiques et d'étudier en continu le rehaussement hépatique aux différents temps artériel, portal et tardif. L'introduction d'agents de contraste de seconde génération a facilité l'utilisation de l'ECUS hépatique et amélioré sa reproductibilité. Ces développements ont fait l'objet d'une littérature très abondante ces dernières années qui a démontré que l'ECUS améliore de façon significative la détection et la caractérisation des lésions focales hépatiques par rapport à l'échographie conventionnelle (4-11) (*tableau I*), concurrençant la tomodensitométrie TDM triphasique et l'Imagerie par Résonance Magnétique IRM (12-22) (*tableau II*). La disponibilité de nombreuses études validées et la

conférence de consensus tenue sous l'égide de l'EFSUMB (European Federation for Society of Ultrasound in Medicine and Biology) en 2008 (23) ont permis d'intégrer largement l'échographie de contraste à la pratique courante d'exploration hépatique. Cet article rappelle les recommandations techniques nécessaires à une bonne exploration hépatique en échographie de contraste, fait le point sur les performances diagnostiques de l'ECUS dans quatre grands domaines cliniques de l'exploration hépatique, à savoir la caractérisation des lésions hépatiques de découverte fortuite, le diagnostic du carcinome hépatocellulaire (CHC) sur cirrhose, la détection des métastases hépatiques dans un contexte de cancer et enfin le guidage et la surveillance du traitement par radiofréquence des lésions hépatiques. Pour chacune de ces applications, l'aspect sémiologique des lésions est décrit et la place de l'ECUS par rapport aux autres modalités d'imagerie en matière de performances diagnostiques et ses indications sont détaillées.

## Recommandations techniques en exploration hépatique

L'ECUS doit être réalisée selon une technique rigoureuse afin d'améliorer les performances de la méthode en imagerie hépatique

CHU de Reims, Hôpital Robert Debré, Pôle d'imagerie, Service de Radiologie, 51092 Reims cedex, France.  
Correspondance : V Ladam-Marcus  
E-mail : vladammarcus@chu-reims.fr

**Tableau I**  
Comparaison de la sensibilité, spécificité, précision diagnostique et de la reproductibilité entre l'échographie conventionnelle et l'ECUS dans la caractérisation bénin/malin en pathologie hépatique.

Auteur	Patients (n)	Type de tumeur	Sensibilité, Spécificité, Précision diagnostique (%)			K	
			US	ECUS	US	ECUS	
Quaia (5)	452	Tout	Se	51	88	0,61	0,71
			Spe	54	85		
			DA	51	88		
Leen (4)	104	Tout	Se	28,6	76,9	0,23	0,66
			Spe	34,6	80,8		
			DA	63,5	86,5		
<i>Sur site</i>			Se	42,5	95,4		
			Spe	30,6	83,7		
			DA	38,2	91,2		
<i>Hors site A</i>			Se	59,8	90,8		
			Spe	32	89,8		
			DA	41,2	90,4		
Barlotta (6)	105	Tout sur stéatose hépatique	Se	100	98,1	0,748	0,882
			Spe	30,2	100		
Kim (8)	75	Tout	Spe	12	91	0,656	0,919
Quaia (9)	236	Tout	Se	38	86	0,66	0,92
			Spe	28	61		
			DA	32	71		
Von Herbay (10)	124	Tout	Se	78	100		
			Spe	23	92		

Se : Sensibilité, Spe : Spécificité, DA : précision diagnostique, K : coefficient de concordance kappa, US : échographie conventionnelle, ECUS : Echographie de contraste ultrasonore.

**Tableau II**  
Comparaison des taux de sensibilité, spécificité, et précision diagnostique de l'ECUS versus TDM ou IRM dans la caractérisation tumorale en pathologie hépatique.

Auteur	Patients (n)	Lésions (n)	Type de Tumeur	Type d'examen	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Précision diagnostique (%)
Forner (16)	60	60	CHC < 20 mm	ECUS	52	93	
				IRM	62	97	
Dai (14)	72	103	CHC 10-20 mm	ECUS	91	87	89,3
				CT	80	98	88,4
Dietrich (15)	125	125	Métastases	ECUS	88,5	94	
				CT	92,3	89,2	
Quaia (17)	253		Métastases	ECUS	83	84	
				CT	89	89	
Catala (13)		77	Tout	ECUS	91	90	91
				CT	88	89	88

CHC : Carcinome Hépatocellulaire, ECUS : Echographie de contraste ultrasonore, IRM : Imagerie par résonance magnétique, CT : Tomodensitométrie.

et après avoir éliminé les éventuelles contre-indications de l'injection du produit de contraste ultrasonore.

Après une étude initiale en mode conventionnel (harmonique tissulaire, complétée d'une étude Doppler) et après identification de la ou les lésion(s) cibles (5), la sonde est maintenue en position stable pendant que l'on change le mode d'imagerie en imagerie de contraste à faible index mécanique. Le double écran est intéressant car on peut s'assurer sur l'image en échelle de gris que l'on est toujours en regard de la cible (23-26).

Lorsque l'on utilise les modes d'imagerie de contraste à bas index mécanique, il est crucial d'obtenir une annulation suffisante du signal des tissus tout en maintenant une profondeur de pénétration suffisante. Cette annulation se caractérise par la disparition du signal du parenchyme hépatique, associée à une faible visibilité des grosses structures vasculaires et de certains repères anatomiques comme le diaphragme (24, 26).

Un chronomètre doit être mis en route au début de l'injection, afin de bien suivre la durée de chaque phase de rehaussement. En effet dans la pratique courante, le temps d'arrivée du produit varie de 8 à 30 secondes après le début de l'injection en bolus. L'enregistrement doit être continu et durer de 60 à 90 sec, puis les séquences peuvent être discontinues, jusqu'à la disparition des bulles et s'étaler de 240 à 360 sec. Le temps artériel se situe entre 10 à 35 secondes, le temps veineux entre 30 à 120 sec, le temps tardif au-delà de 120 sec.

En raison du caractère dynamique des examens temps réel d'échographie de contraste, il est recommandé d'enregistrer l'examen sur des supports numériques pour permettre la relecture des examens (23-26).

Un seul bolus de 2,4 ml suffit en général, mais des injections supplémentaires peuvent être utilisées si l'examen réalisé après le premier bolus n'est pas concluant. En effet, il n'y a pas



d'accumulation du produit de contraste ultrasonore dans le corps humain. De plus, il n'est pas nécessaire de vérifier la fonction rénale car les produits ne sont pas néphrotoxiques, l'élimination du gaz étant pulmonaire (25, 26). On respectera les précautions d'usage avant d'injecter le produit de contraste (23).

Parfois, il peut être utile de n'injecter qu'une demi-dose d'agent de contraste en cas de petits hémangiomes et d'HNF afin de pouvoir mieux apprécier le remplissage, celui-ci pouvant être masqué par une saturation du signal dans ces cas.

### Caractérisation des lésions hépatiques focales de découverte fortuite

La caractérisation des lésions hépatiques de découverte fortuite est un des problèmes les plus fréquemment rencontrés en imagerie hépatique. L'échographie conventionnelle fait souvent le diagnostic en cas de kystes simples ou d'angiomes d'aspect typique, mais les lésions d'aspect aspécifique nécessitent un complément d'exploration, scanographique ou IRM. Les recommandations éditées par l'EFSUMB (23) préconisent la pratique d'une échographie de contraste pour le diagnostic des lésions focales bénignes qui n'ont pas été caractérisées en échographie conventionnelle.

De nombreuses études prospectives ont porté sur l'ECUS dans les différentes pathologies focales hépatiques bénignes et malignes avec description de la séméiologie et évaluation de la reproductibilité, sensibilité, spécificité, précision diagnostique de l'examen selon le type de tumeur hépatique (3, 8, 10, 14-16, 19, 20, 27-29) (tableau III).

Le défaut classiquement attribué à l'échographie est son manque de reproductibilité. Les études multicentriques récentes montrent pourtant que la concordance interobservateur est meilleure en ECUS qu'en échographie conventionnelle toutes tumeurs confondues (4-6, 8, 9) (tableau I). Elle apparaît semblable à celle observée en IRM ou en TDM (4-6, 9, 11, 19, 27).

Les critères diagnostiques de bénignité et de malignité des tumeurs hépatiques en ECUS sont maintenant bien définis (23, 25, 26). En ECUS, la présence d'un rehaussement prolongé à la phase portale tardive caractérise la plupart des lésions bénignes solides. La différenciation entre tumeur bénigne et tumeur maligne se fait dans 95 % des cas sur la phase tardive entre 2 minutes 30 et 5 minutes (10, 12, 27, 28, 30). Pour Jung (22), la sensibilité passe de 67,8 % lors de la phase artérielle à 98 % en phase tardive. La valeur prédictive positive VPP de 67,8 à 93,5 %, la valeur prédictive négative VPN passe de 53,7 à 97 %. Les lésions bénignes peuvent en outre être diagnostiquées selon leur mode de rehaussement à la phase artérielle : rehaussement global de la lésion ou initial périphérique, en mottes (23).

### 1. Hyperplasie nodulaire focale (HNF)

L'HNF est une tumeur hépatocytaire bénigne, considérée comme un processus régénératif hyperplasique ou un pseudotumeur. C'est la lésion focale hépatique solide la plus fréquente après l'hémangiome, avec une incidence de 1/100. Il est important de faire le diagnostic d'HNF car ces lésions sont bénignes, sans risque de complication. Elle se caractérise sur le plan anatomopathologique par une cicatrice centrale qui contient une artère nourricière dont partent des vaisseaux en rayon de roue. Cette artère est parfois visible en écho Doppler avec, d'après Quaia (5), une bonne spécificité, mais une faible sensibilité.

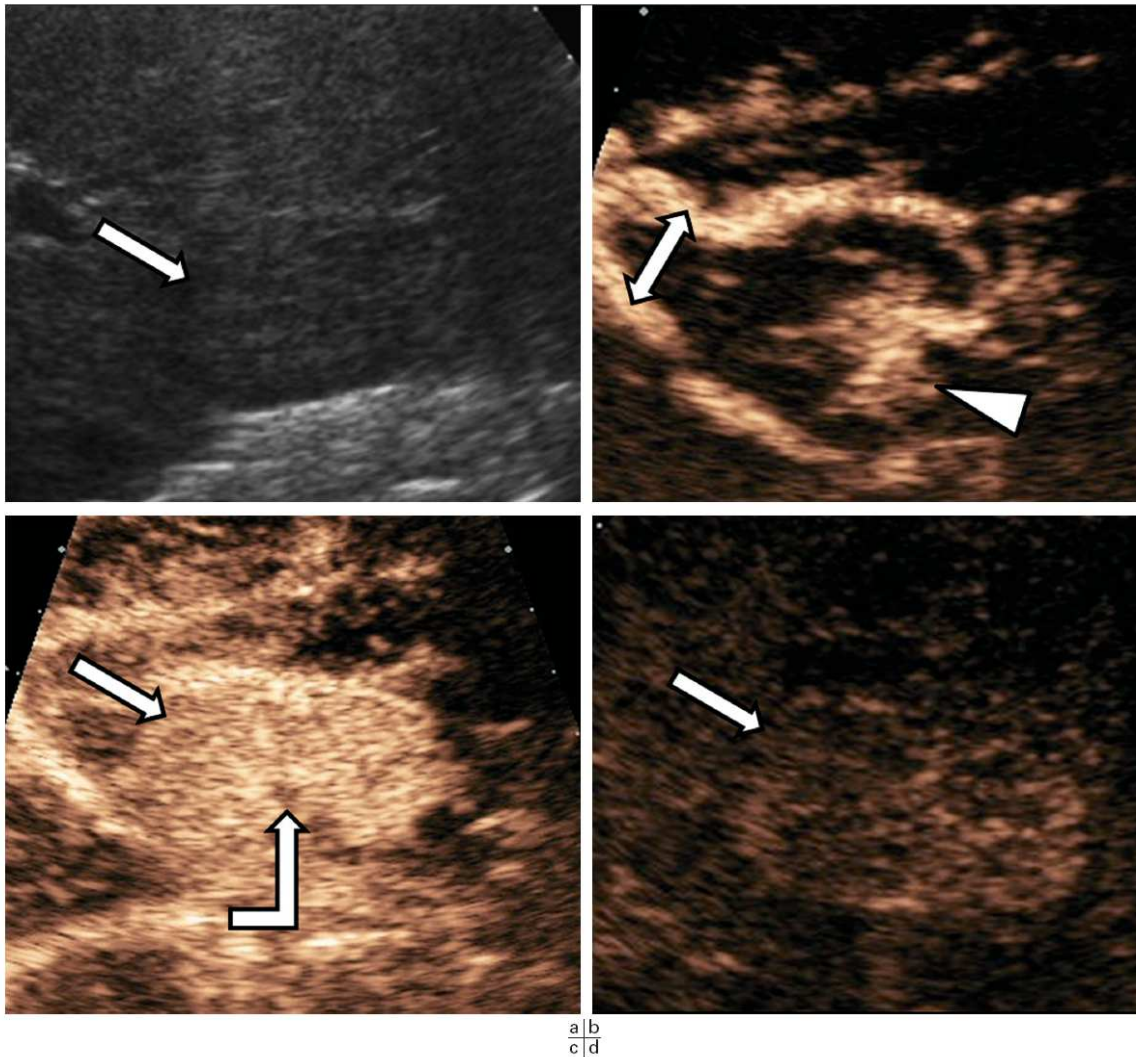
#### 1.1. Séméiologie en ECUS

Le diagnostic positif en échographie de contraste repose sur la mise en évidence d'un rehaussement centrifuge en rayon de roue caractéristique au temps artériel très précoce suivi par un rehaussement homogène en phase artérielle. Cet aspect doit être centré par rapport à la tumeur (3-5, 10, 12, 18, 29-35) (fig. 1) et correspond à l'artère nourricière centrale avec ses branches radiées. Dans notre expérience, l'artère centrale et le rayon de roue ne sont pas centrés dans la plupart des cas, sauf quand la coupe échographique passe par le plan médian. L'artère centrale et le rayon de roue sont présents dans 95 à 100 % des cas, si la tumeur mesure

**Tableau III**  
Performance de l'ECUS dans la caractérisation tumorale en pathologie hépatique.

Auteur	Type Tumeur	Nombre (n)	Corrélation	Résultats (%)		
				Se	Spe	VPP, VPN, DA
Tranquart (19)	HNF	137	CT, IRM, Histo	82,5	94,3	VPP 89 VPN 88 DA 89
Kim (8)	HNF	43	IRM, Histo	95	74	DA 94,3
Numata (28)	Angiome	114	CT, IRM, Histo	95,6	94,1	DA 94
Numata (28)	CHC	205	CT, IRM, Histo	93,2	96,2	VPP 91,3
Xu (29)	CHC	107	CT, IRM, Histo	88,8	89,2	VPP 92,2 VPN 71,4
Forner (16)	CHC	60	IRM, Histo	78,3	86,2	VPP 97,9 VPN 76,6
Wen (20)	CHC	153	CT	92,8	92,3	DA 91,2
Dietrich (15)	Métastases	102	CT, IRM, Histo	88,5	94	DA 98,2
Numata (28)	Métastases	89	CT, IRM, Histo	87,9	99,6	92,5
Tranquart (19)	Métastases	135	CT, IRM, Histo	79,3	92,5	

HNF : Hyperplasie nodulaire focale, CHC : carcinome hépatocellulaire, CT : Tomodensitométrie, IRM : Imagerie par résonance magnétique, Histo : examen anatomo-pathologique, Sensibilité : Se, Spécificité : Spe, Valeur prédictive positive : VPP, Valeur prédictive négative : VPN, DA : Précision diagnostique.



**Fig. 1 :** Hyperplasie nodulaire focale de découverte fortuite chez une femme de 25 ans.  
a Echographie standard : masse isoéchogène (flèche).  
b ECUS au temps artériel très précoce T 14 sec : aspect caractéristique de la prise de contraste en rayon de roue (tête de flèche blanche), branches de l'artère hépatique gauche rehaussées (⇔).  
c Au temps artériel T 18 sec : prise de contraste globale (→), cicatrice centrale en hyposignal (⌞).  
d Temps tardif T 3 min après injection : la lésion est en isosignal au parenchyme hépatique (flèche).

plus de 3 cm et seulement dans 20 à 30 % des cas dans les lésions de moins de 3 cm (5, 12). L'HNF reste hyperéchogène par rapport au parenchyme sain adjacent à la phase portale puis devient isoéchogène à la phase tardive, ou reste discrètement hyperéchogène au foie. Cet aspect typique est observé dans 85 à 100 % des HNF.

À côté de cet aspect caractéristique, certaines HNF (6, 21, 35), peuvent présenter un hyposignal au temps tardif, notamment sur les foies stéatotiques.

### 1.2. Performance diagnostique

L'IRM est l'examen de référence actuel pour le diagnostic d'HNF avec une sensibilité de 75 % et une spécificité de 95 à

100 %. L'ECUS atteint une sensibilité de 82,5 % à 95 % et une spécificité de 74 % à 97,8 % selon les auteurs (tableau III) (8, 19). Dans la littérature, la cicatrice centrale est observée en IRM dans 60 % des cas. Cet aspect caractéristique du rayon de roue est bien mieux vu en ECUS qu'en IRM, du fait de l'aspect dynamique de l'ECUS. Pour Yen (34) sur une analyse de 34 HNF, la sensibilité du signe rayon de roue et de la cicatrice centrale est de 97,1 % en ECUS, de 40 % en Doppler associé à l'échographie, de 28,6 % en TDM multiphasique et de 33 % en IRM. Dans cette étude, la lésion la plus petite où le rayon de roue était visible en ECUS mesurait 1,3 cm. La visualisation de cet aspect, qui ne dure que quelques secondes, est une supériorité potentielle de l'échographie de contraste qui a la capacité d'étu-

**Tableau I**  
 Comparaison de la sensibilité, spécificité, précision diagnostique et de la reproductibilité entre l'échographie conventionnelle et l'ECUS dans la caractérisation bénin/malin en pathologie hépatique.

Auteur	Patients (n)	Type de tumeur	Sensibilité, Spécificité, Précision diagnostique (%)			K	
			US	ECUS	US	ECUS	
Quaia (5)	452	Tout	Se Spe DA	51 54 51	88 85 88	0,61	0,71
Leen (4)	104	Tout					
<i>Sur site</i>			Se Spe DA	28,6 34,6 63,5	76,9 80,8 86,5	0,23	0,66
<i>Hors site A</i>			Se Spe DA	42,5 30,6 38,2	95,4 83,7 91,2		
<i>Hors site B</i>			Se Spe DA	59,8 32 41,2	90,8 89,8 90,4		
Barlotta (6)	105	Tout sur stéatose hépatique	Se Spe	100 30,2	98,1 100	0,748	0,882
Kim (8)	75	Tout	Spe	12	91	0,656	0,919
Quaia (9)	236	Tout	Se Spe DA	38 28 32	86 61 71	0,66	0,92
Von Herbay (10)	124	Tout	Se Spe	78 23	100 92		

Se : Sensibilité, Spe : Spécificité, DA : précision diagnostique, K : coefficient de concordance kappa, US : échographie conventionnelle, ECUS : Echographie de contraste ultrasonore.

**Tableau II**  
 Comparaison des taux de sensibilité, spécificité, et précision diagnostique de l'ECUS versus TDM ou IRM dans la caractérisation tumorale en pathologie hépatique.

Auteur	Patients (n)	Lésions (n)	Type de Tumeur	Type d'examen	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Précision diagnostique (%)
Forner (16)	60	60	CHC < 20 mm	ECUS IRM	52 62	93 97	
Dai (14)	72	103	CHC 10-20 mm	ECUS CT	91 80	87 98	89,3 88,4
Dietrich (15)	125	125	Métastases	ECUS CT	88,5 92,3	94 89,2	
Quaia (17)	253		Métastases	ECUS CT	83 89	84 89	
Catala (13)		77	Tout	ECUS CT	91 88	90 89	91 88

CHC : Carcinome Hépatocellulaire, ECUS : Echographie de contraste ultrasonore, IRM : Imagerie par résonance magnétique, CT : Tomodensitométrie.

et après avoir éliminé les éventuelles contre-indications de l'injection du produit de contraste ultrasonore.

Après une étude initiale en mode conventionnel (harmonique tissulaire, complétée d'une étude Doppler) et après identification de la ou les lésion(s) cibles (5), la sonde est maintenue en position stable pendant que l'on change le mode d'imagerie en imagerie de contraste à faible index mécanique. Le double écran est intéressant car on peut s'assurer sur l'image en échelle de gris que l'on est toujours en regard de la cible (23-26).

Lorsque l'on utilise les modes d'imagerie de contraste à bas index mécanique, il est crucial d'obtenir une annulation suffisante du signal des tissus tout en maintenant une profondeur de pénétration suffisante. Cette annulation se caractérise par la disparition du signal du parenchyme hépatique, associée à une faible visibilité des grosses structures vasculaires et de certains repères anatomiques comme le diaphragme (24, 26).

Un chronomètre doit être mis en route au début de l'injection, afin de bien suivre la durée de chaque phase de rehaussement. En effet dans la pratique courante, le temps d'arrivée du produit varie de 8 à 30 secondes après le début de l'injection en bolus. L'enregistrement doit être continu et durer de 60 à 90 sec, puis les séquences peuvent être discontinues, jusqu'à la disparition des bulles et s'étaler de 240 à 360 sec. Le temps artériel se situe entre 10 à 35 secondes, le temps veineux entre 30 à 120 sec, le temps tardif au-delà de 120 sec.

En raison du caractère dynamique des examens temps réel d'échographie de contraste, il est recommandé d'enregistrer l'examen sur des supports numériques pour permettre la relecture des examens (23-26).

Un seul bolus de 2,4 ml suffit en général, mais des injections supplémentaires peuvent être utilisées si l'examen réalisé après le premier bolus n'est pas concluant. En effet, il n'y a pas

d'accumulation du produit de contraste ultrasonore dans le corps humain. De plus, il n'est pas nécessaire de vérifier la fonction rénale car les produits ne sont pas néphrotoxiques, l'élimination du gaz étant pulmonaire (25, 26). On respectera les précautions d'usage avant d'injecter le produit de contraste (23).

Parfois, il peut être utile de n'injecter qu'une demi-dose d'agent de contraste en cas de petits hémangiomes et d'HNF afin de pouvoir mieux apprécier le remplissage, celui-ci pouvant être masqué par une saturation du signal dans ces cas.

### Caractérisation des lésions hépatiques focales de découverte fortuite

La caractérisation des lésions hépatiques de découverte fortuite est un des problèmes les plus fréquemment rencontrés en imagerie hépatique. L'échographie conventionnelle fait souvent le diagnostic en cas de kystes simples ou d'angiomes d'aspect typique, mais les lésions d'aspect aspécifique nécessitent un complément d'exploration, scanographique ou IRM. Les recommandations éditées par l'EFSUMB (23) préconisent la pratique d'une échographie de contraste pour le diagnostic des lésions focales bénignes qui n'ont pas été caractérisées en échographie conventionnelle.

De nombreuses études prospectives ont porté sur l'ECUS dans les différentes pathologies focales hépatiques bénignes et malignes avec description de la sémiologie et évaluation de la reproductibilité, sensibilité, spécificité, précision diagnostique de l'examen selon le type de tumeur hépatique (3, 8, 10, 14-16, 19, 20, 27-29) (tableau III).

Le défaut classiquement attribué à l'échographie est son manque de reproductibilité. Les études multicentriques récentes montrent pourtant que la concordance interobservateur est meilleure en ECUS qu'en échographie conventionnelle toutes tumeurs confondues (4-6, 8, 9) (tableau I). Elle apparaît semblable à celle observée en IRM ou en TDM (4-6, 9, 11, 19, 27).

Les critères diagnostiques de bénignité et de malignité des tumeurs hépatiques en ECUS sont maintenant bien définis (23, 25, 26). En ECUS, la présence d'un rehaussement prolongé à la phase portale tardive caractérise la plupart des lésions bénignes solides. La différenciation entre tumeur bénigne et tumeur maligne se fait dans 95 % des cas sur la phase tardive entre 2 minutes 30 et 5 minutes (10, 12, 27, 28, 30). Pour Jung (22), la sensibilité passe de 67,8 % lors de la phase artérielle à 98 % en phase tardive. La valeur prédictive positive VPP de 67,8 à 93,5 %, la valeur prédictive négative VPN passe de 53,7 à 97 %. Les lésions bénignes peuvent en outre être diagnostiquées selon leur mode de rehaussement à la phase artérielle : rehaussement global de la lésion ou initial périphérique, en mottes (23).

### 1. Hyperplasie nodulaire focale (HNF)

L'HNF est une tumeur hépatocytaire bénigne, considérée comme un processus régénératif hyperplasique ou une pseudotumeur. C'est la lésion focale hépatique solide la plus fréquente après l'hémangiome, avec une incidence de 1/100. Il est important de faire le diagnostic d'HNF car ces lésions sont bénignes, sans risque de complication. Elle se caractérise sur le plan anatomopathologique par une cicatrice centrale qui contient une artère nourricière dont partent des vaisseaux en rayon de roue. Cette artère est parfois visible en écho Doppler avec, d'après Quaia (5), une bonne spécificité, mais une faible sensibilité.

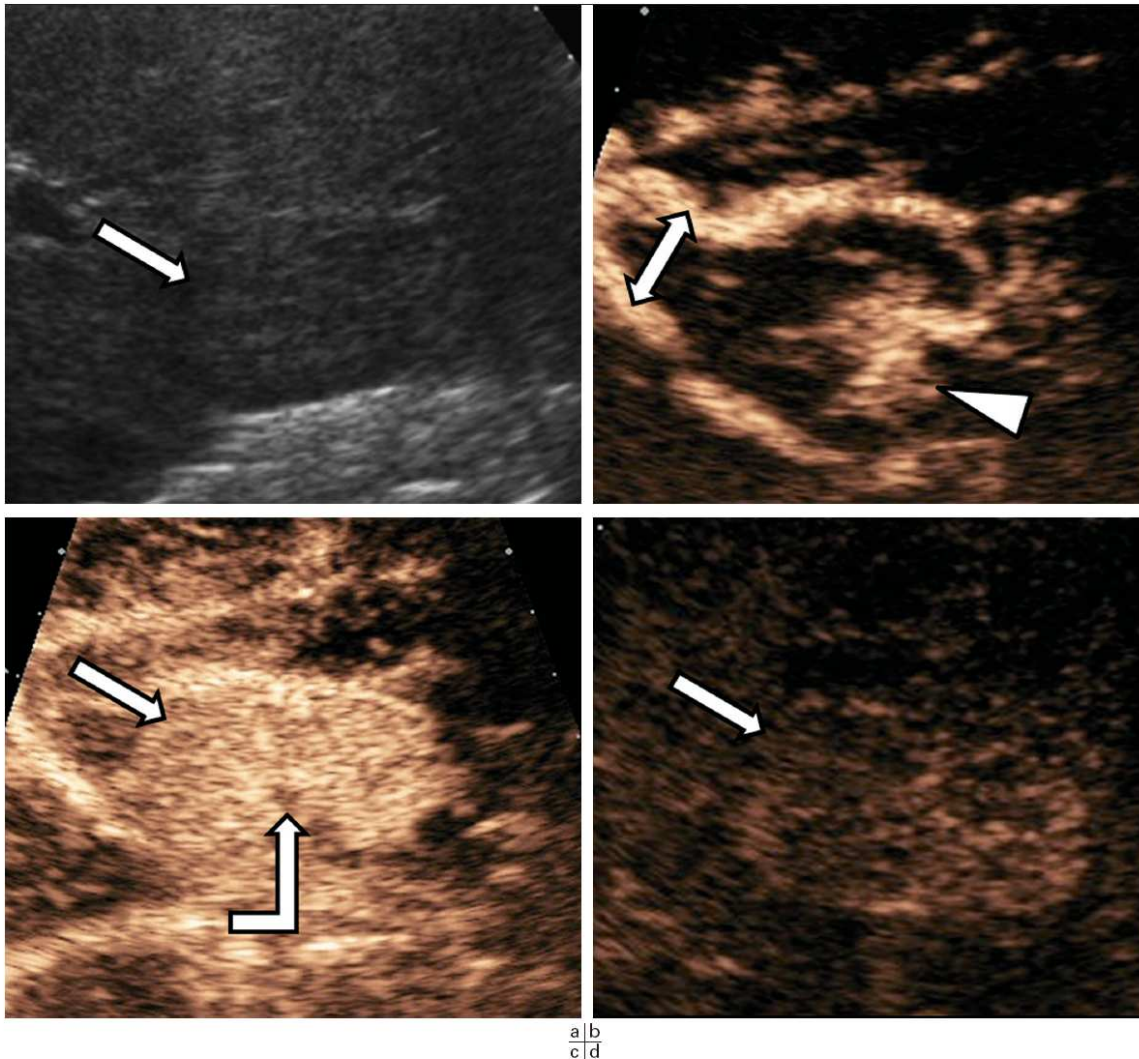
#### 1.1. Sémiologie en ECUS

Le diagnostic positif en échographie de contraste repose sur la mise en évidence d'un rehaussement centrifuge en rayon de roue caractéristique au temps artériel très précoce suivi par un rehaussement homogène en phase artérielle. Cet aspect doit être centré par rapport à la tumeur (3-5, 10, 12, 18, 29-35) (fig. 1) et correspond à l'artère nourricière centrale avec ses branches radiales. Dans notre expérience, l'artère centrale et le rayon de roue ne sont pas centrés dans la plupart des cas, sauf quand la coupe échographique passe par le plan médian. L'artère centrale et le rayon de roue sont présents dans 95 à 100 % des cas, si la tumeur mesure

**Tableau III**  
Performance de l'ECUS dans la caractérisation tumorale en pathologie hépatique.

Auteur	Type Tumeur	Nombre (n)	Corrélation	Résultats (%)		
				Se	Spe	VPP, VPN, DA
Tranquart (19)	HNF	137	CT, IRM, Histo	82,5	94,3	
Kim (8)	HNF	43	IRM, Histo	95	74	VPP 89 VPN 88 DA 89
Numata (28)	Angiome	114	CT, IRM, Histo	95,6	94,1	DA 94,3
Numata (28)	CHC	205	CT, IRM, Histo	93,2	96,2	DA 94
Xu (29)	CHC	107	CT, IRM, Histo	88,8	89,2	VPP 91,3
Forner (16)	CHC	60	IRM, Histo	78,3	86,2	VPP 92,2 VPN 71,4
Wen (20)	CHC	153	CT	92,8	92,3	VPP 97,9 VPN 76,6
Dietrich (15)	Métastases	102	CT, IRM, Histo	88,5	94	DA 91,2
Numata (28)	Métastases	89	CT, IRM, Histo	87,9	99,6	DA 98,2
Tranquart (19)	Métastases	135	CT, IRM, Histo	79,3	92,5	

HNF : Hyperplasie nodulaire focale, CHC : carcinome hépatocellulaire, CT : Tomodensitométrie, IRM : Imagerie par résonance magnétique, Histo : examen anatomo-pathologique, Sensibilité : Se, Spécificité : Spe, Valeur prédictive positive : VPP, Valeur prédictive négative : VPN, DA : Précision diagnostique.



**Fig. 1 :** Hyperplasie nodulaire focale de découverte fortuite chez une femme de 25 ans.  
a Échographie standard : masse isoéchogène (flèche).  
b ECUS au temps artériel très précoce T 14 sec : aspect caractéristique de la prise de contraste en rayon de roue (tête de flèche blanche), branches de l'artère hépatique gauche rehaussées (⇔).  
c Au temps artériel T 18 sec : prise de contraste globale (→), cicatrice centrale en hyposignal (⚡).  
d Temps tardif T 3 min après injection : la lésion est en isosignal au parenchyme hépatique (flèche).

plus de 3 cm et seulement dans 20 à 30 % des cas dans les lésions de moins de 3 cm (5, 12). L'HNF reste hyperéchogène par rapport au parenchyme sain adjacent à la phase portale puis devient isoéchogène à la phase tardive, ou reste discrètement hyperéchogène au foie. Cet aspect typique est observé dans 85 à 100 % des HNF.

À côté de cet aspect caractéristique, certaines HNF (6, 21, 35), peuvent présenter un hyposignal au temps tardif, notamment sur les foies stéatosiques.

### 1.2. Performance diagnostique

L'IRM est l'examen de référence actuel pour le diagnostic d'HNF avec une sensibilité de 75 % et une spécificité de 95 à

100 %. L'ECUS atteint une sensibilité de 82,5 % à 95 % et une spécificité de 74 % à 97,8 % selon les auteurs (tableau III) (8, 19). Dans la littérature, la cicatrice centrale est observée en IRM dans 60 % des cas. Cet aspect caractéristique du rayon de roue est bien mieux vu en ECUS qu'en IRM, du fait de l'aspect dynamique de l'ECUS. Pour Yen (34) sur une analyse de 34 HNF, la sensibilité du signe rayon de roue et de la cicatrice centrale est de 97,1 % en ECUS, de 40 % en Doppler associé à l'échographie, de 28,6 % en TDM multiphasique et de 33 % en IRM. Dans cette étude, la lésion la plus petite où le rayon de roue était visible en ECUS mesurait 1,3 cm. La visualisation de cet aspect, qui ne dure que quelques secondes, est une supériorité potentielle de l'échographie de contraste qui a la capacité d'étu-

dier le nodule en temps réel, par rapport aux autres modalités d'imagerie. Pour Huang-Wei (33), la quantification est importante : en effet sur les 42 HNF étudiées, le temps d'arrivée du produit de contraste dans la lésion est plus précoce et la pente de rehaussement est significativement plus élevée dans l'HNF que pour toutes les autres tumeurs. Ce critère semble donc le plus discriminant pour le diagnostic différentiel avec le CHC, les métastases hypervasculaires et l'adénome. D'autres études soulignent aussi cette donnée (22, 29).

### 1.3. Principales indications

L'ECUS sera réalisée après l'échographie pour caractériser un nodule découvert fortuitement. Si l'aspect est caractéristique, pour Cokkinos et Lanka, les investigations ne doivent pas être poursuivies (36, 37). Un contrôle par ECUS peut être préconisé. L'économie financière réalisée semble intéressante (38).

L'ECUS peut aussi aider à caractériser un nodule n'ayant pas réuni tous les critères en IRM, en particulier si la cicatrice centrale n'est pas visible.

## 2. Adénome

L'adénome est une lésion beaucoup moins fréquente que l'HNF, avec une incidence de 3/10 000, une prédominance féminine de 3/1. Il est unique dans 85 % des cas. Il est souvent symptomatique. L'ablation chirurgicale est recommandée en raison du double risque hémorragique et dégénératif. L'aspect sémiologique de la tumeur est variable en imagerie en fonction de l'importance des contingents hépatocytaires, hémorragique, nécrotique ou graisseux. En cas de doute diagnostique, une biopsie sera réalisée avant le geste chirurgical.

Les corrélations génotype-phénotype en anatomopathologie ont permis d'identifier 4 groupes d'adénomes. Les plus nombreux 50 %, mutés *HNF1a* ont une composante graisseuse marquée (adénomes stéatosiques). Ceux qui sont mutés  $\beta$ -caténine (environ 15 %) ont un risque élevé de transformation maligne. Le troisième groupe (environ 20 %) présente un infiltrat inflammatoire avec des vaisseaux nombreux et dystrophiques. Il correspond plus ou moins à celui qui était appelé HNF télangiectasique, avec un risque hémorragique plus marqué. Le quatrième groupe n'a pas de caractéristique morphologique ou moléculaire particulière (39).

On observe relativement peu de cas d'adénome explorés en échographie de contraste parmi les différentes séries de la littérature. Les plus grandes séries sont celles de Kim (19 adénomes) (32), Quaia (9 cas) (5) et Dietrich (8 cas) (31). Les autres auteurs rapportent de 2 à 4 adénomes au sein d'une population de patients avec diverses pathologies hépatiques (3, 10, 18, 33).

### 2.1. Sémiologie en ECUS

L'adénome présente un rehaussement marqué, centripète à la phase artérielle. Ce rehaussement est hétérogène dans la majorité des cas en raison de zones de nécrose qui ne sont pas retrouvées dans les HNF (fig. 2). L'hyperéchogénicité persiste au temps portal alors qu'à la phase tardive, l'adénome apparaît plutôt en iso- ou hyposignal modéré, avec une capsule qui reste généralement hyperéchogène. L'absence d'artère centrale, la présence d'une capsule et de zone de nécroses sont en faveur de l'adénome.

### 2.2. Performance diagnostique

L'examen de référence pour le diagnostic des adénomes est l'IRM. Dans un article très récent d'une équipe bordelaise (40) portant sur 50 cas, l'IRM semble montrer des signes particuliers en fonction des classes d'adénomes avec un taux de spécificité très élevé.

Il est difficile de préciser actuellement les performances diagnostiques de l'ECUS dans les adénomes hépatiques en raison du très faible nombre de cas étudiés dans les différentes séries. Dans l'étude de Kim (32), la sensibilité, spécificité, VPP, VPN et la précision diagnostique, pour différencier un adénome d'une HNF, étaient respectivement de 95 %, 74 %, 89 %, 88 %, 89 % sans différence significative dans la performance entre les deux relecteurs. Dans cet article Kim précise que les critères diagnostiques pour l'HNF sont à la phase artérielle, la prise de contraste centrifuge stellaire avec un rehaussement important qui diminue à la phase portale, alors que l'adénome a une vascularisation centripète ou mixte sans vascularisation stellaire. Il souligne qu'il ne faut pas confondre nécrose et cicatrice centrale, la nécrose étant plus irrégulière. Dans son étude seulement 7 adénomes pour le premier lecteur, et 10 adénomes sur 19 pour le second lecteur, étaient en hyposignal en phase veineuse et tardive alors que, dans l'étude de Dietrich (31), les 8 adénomes étaient en hyposignal. Ces différences semblent dues à l'utilisation d'un index mécanique différent et au produit de contraste injecté.

### 2.3. Principales indications

L'ECUS est réalisée pour caractériser un nodule découvert sur une échographie conventionnelle. Parfois l'ECUS viendra en complément d'une IRM pour s'assurer de l'absence du signe « rayon de roue » caractéristique d'une HNF avant de continuer les investigations.

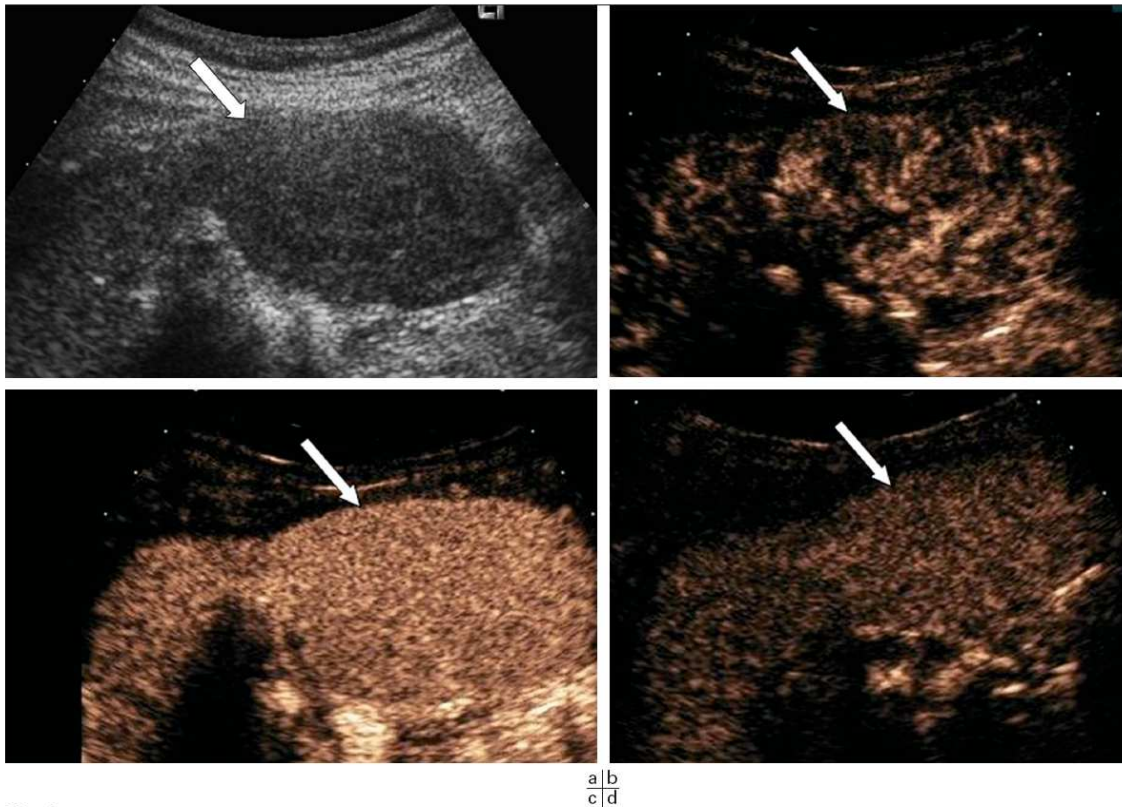
## 3. Angiome

L'angiome est la lésion bénigne solide la plus fréquente avec une incidence de 3/10 et une prédominance féminine de 2/1. Sa découverte est fortuite, le plus souvent sur une échographie conventionnelle. Son aspect est souvent caractéristique en échographie : hyperéchogène, bien délimité, avec parfois un renforcement postérieur. L'échographie suffit au diagnostic dans la grande majorité des cas, ce d'autant que la biologie hépatique est normale (41).

### 3.1. Sémiologie en ECUS

Pour Ricci et Quaia (18, 42), la sémiologie de la prise de contraste est la même en ECUS et en IRM (fig. 3). Elle associe dans 70 à 80 % des cas un rehaussement nodulaire périphérique artérioportal suivi d'un rehaussement quasi complet en phase tardive. Cette cinétique est spécifique de l'angiome indiquant qu'aucune autre procédure n'est requise (5, 20).

Parfois, l'aspect est moins typique avec un rehaussement intense, homogène au temps artériel ou hétérogène au temps veineux. Le centre de la lésion peut rester en hyposignal au temps tardif. Cela représente 7 à 10 % des cas et se voit en particulier dans les petits angiomes ou les volumineux hémangiomes caverneux avec une fibrose ou une thrombose centrale (18, 42, 43).



**Fig. 2 :** Adénome de découverte fortuite chez une femme de 32 ans.  
 a Échographie standard ; masse isoéchogène (flèche).  
 b ECUS au temps artériel T 18 sec ; rehaussement de signal diffus hétérogène (flèche).  
 c Temps portal T 55 sec ; lésion en isosignal au parenchyme (flèche).  
 d Temps tardif T 2 min30 sec ; lésion en isosignal au parenchyme hépatique.

L'aspect de la lésion peut être encore plus atypique. Bartolotta (44) a observé dans 12 cas sur 158 hémangiomes revus, une prise de contraste centrale, sans rayon de roue au temps artériel, puis un remplissage centrifuge. La persistance de contraste intralésionnel en phase tardive confirme le caractère bénin et il est exceptionnel qu'il soit nécessaire de réaliser une IRM de complément.

### 3.2. Performance diagnostique

En IRM, la sensibilité et la spécificité sont supérieures à 95 %. En ECUS, selon les séries, la sensibilité va de 92 à 94 % et la spécificité de 94 à 100 % (tableau III) (20, 28). L'échographie de contraste permet une meilleure détection de l'aspect spécifique de l'angiome par rapport au scanner, toujours en raison du caractère temps réel de cette méthode.

### 3.3. Principales indications

Le diagnostic d'angiome peut parfois être difficile à porter en échographie standard. Dans certains cas, la lésion est bien hyperéchogène mais doit faire sa preuve dans le cadre d'un bilan d'extension tumorale ou sur foie de cirrhose. Dans d'autres cas, elle est hypoéchogène, en particulier en cas de stéatose. L'ECUS a un

rôle important à jouer pour affirmer le diagnostic de ces angiomes difficiles à caractériser.

## 4. Stéatose hépatique nodulaire

La surcharge en lipides du cytoplasme des hépatocytes est responsable de la stéatose hépatique.

Elle est hyperéchogène en échographie, en plage lorsqu'elle est focale. Elle se reconnaît car elle siège dans le segment IV près des vaisseaux portes ou autour de la vésicule. À l'inverse il peut s'agir d'une plage hypoéchogène de foie sain dans un foie hyperéchogène de stéatose.

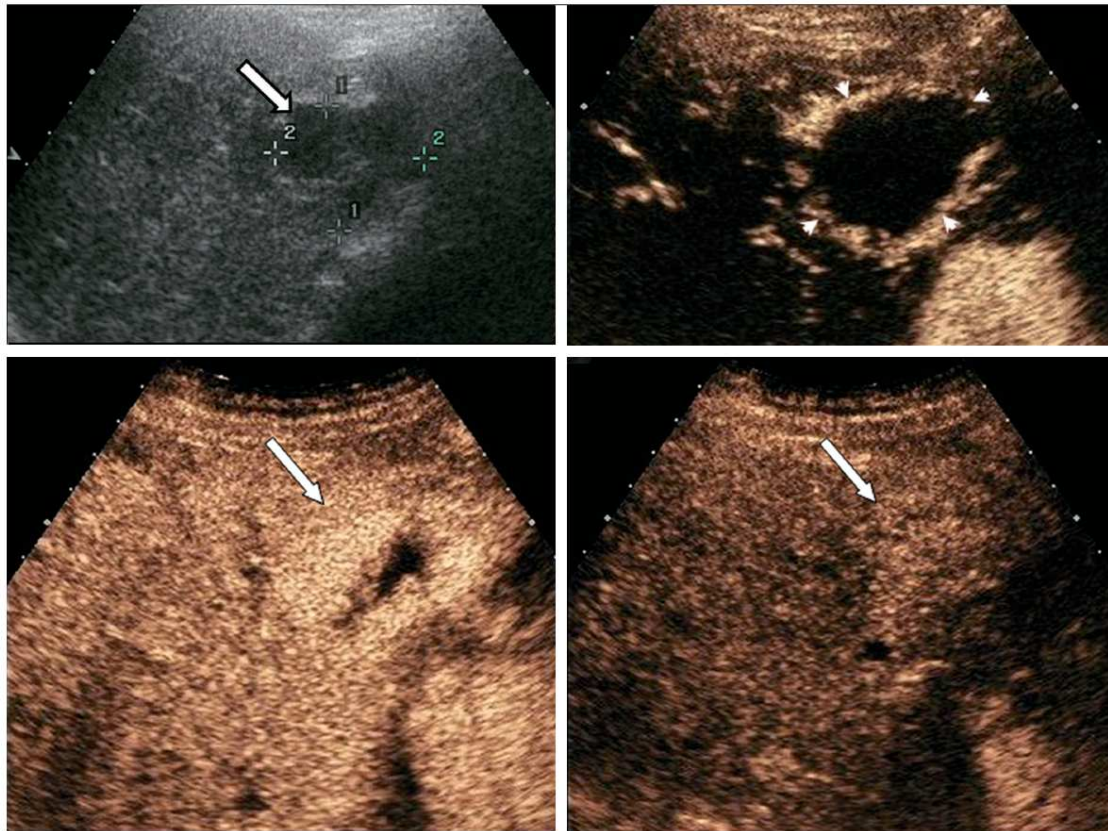
On ne devra compléter les investigations que si la lésion est nodulaire et intra-hépatique, ce d'autant que l'on veut éliminer une pathologie maligne.

### 4.1. Séméiologie en ECUS

L'échographie de contraste objective une cinétique de rehaussement identique à celle du foie sain adjacent.

### 4.2. Performance diagnostique

La sensibilité et la spécificité sont celles des tumeurs bénignes : 92 et 98 % respectivement (14).



**Fig. 3 :** Angiome hépatique de découverte fortuite chez un homme de 54 ans.  
 a | b  
 c | d  
 a Échographie standard, masse hypoéchogène (flèche).  
 b ECUS au temps artériel T 21 sec, rehaussement de signal en motte (têtes de flèche).  
 c Temps portal T 55 sec, remplissage centripète de la lésion (flèche).  
 d Temps tardif T 2 min 45 sec, remplissage complet de la lésion qui est discrètement en hypersignal au parenchyme hépatique encore rehaussé.

### 4.3. Principales indications

L'ECUS est réalisée lorsque l'échographie ne peut pas affirmer le diagnostic (6, 33). Le recours à une imagerie en coupes avec injection de produit de contraste n'est souhaitable que lorsque l'ECUS ne peut pas se prononcer.

### Différenciation entre tumeurs hépatiques bénignes et malignes

Dans les lésions focales hépatiques, une prise de contraste au temps artériel avec un hyposignal au temps tardif est une caractéristique des tumeurs malignes. Elle ne permet pas toujours de différencier CHC et métastases hypervasculaires. Le contexte joue un rôle très important avec la notion de foie de cirrhose ou de tumeur primitive connue ou non.

Les lésions bénignes ne sont pas habituellement en hyposignal sur les temps tardifs. Toutefois, il faut tenir compte de toutes les phases du rehaussement pour faire le diagnostic différentiel (45).

J Radiol 2009;90

L'ECUS apporte une amélioration franche des performances en termes de caractérisation. La distinction malin-bénin est assurée dans pratiquement 100 % des cas pour la plupart des études.

### Détection des métastases hépatiques dans un contexte oncologique

Les métastases hépatiques les plus fréquentes sont celles des cancers colorectaux. L'échographie est utilisée très largement dans le suivi post-thérapeutique pour surveiller la réponse tumorale et pour détecter l'apparition de nouvelles lésions métastatiques hépatiques. La plupart des métastases sont faiblement vascularisées au temps artériel au scanner et en IRM (46). Quelques métastases, en particulier celles des tumeurs endocrines, des cancers rénaux et des mélanomes, sont hypervasculaires au temps artériel.

#### 1. Séméiologie en ECUS

L'aspect en ECUS diffère selon qu'il s'agit de métastases hypovasculaires ou hypervasculaires. Les premières se traduisent typiquement



par un rehaussement périphérique modéré en couronne à la phase artérielle, suivi d'un aspect hypoéchogène aux phases portale et tardive (fig. 4). Les métastases hypervasculaires se rehaussent de façon précoce et complète, mais avec un lavage très rapide de la lésion, parfois avant la fin de la phase artérielle, avec un aspect hypoéchogène en phase portale et tardive.

L'ECUS a mis en évidence une hypervascularisation de 88 % des métastases au temps artériel, avec un rehaussement plus ou moins intense en couronne ou global (46). Elles sont en hypo-signal dès la fin du temps artériel ou à la phase veineuse précoce (27, 28, 46). La caractéristique principale des métastases est en définitif d'apparaître en hyposignal au temps tardif à 2 min 30 sec, alors que le foie a encore un signal élevé (10, 11, 15, 17, 26, 30, 46-49).

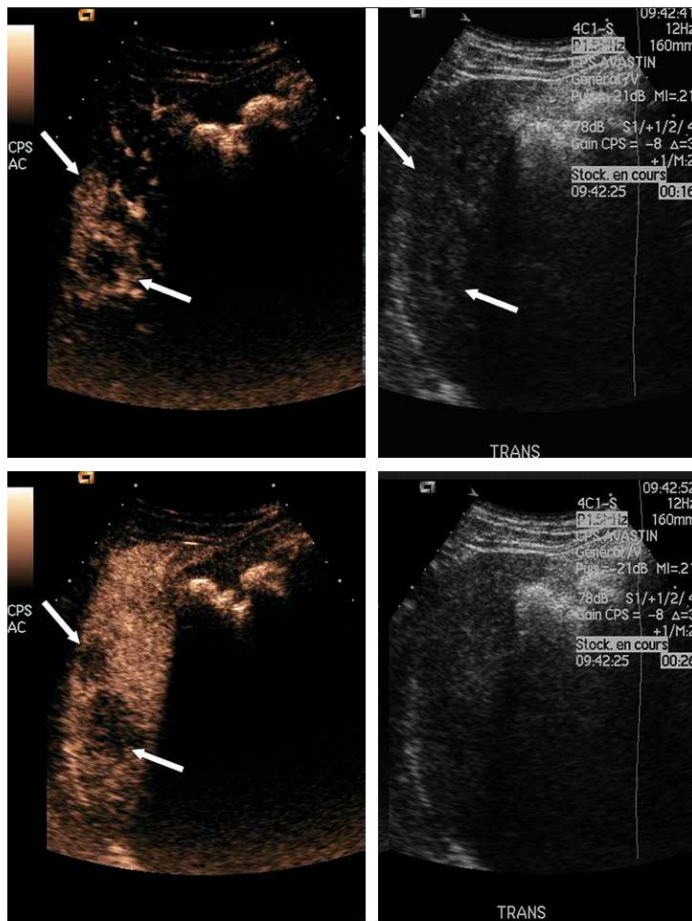
### 2. Performance diagnostique

L'ECUS détecte plus de lésions que l'échographie conventionnelle, avec une sensibilité après injection de 69 à 91 % versus 50 à 60 % pour l'échographie, une spécificité de 90 à 100 % versus 50 à 55 % selon les auteurs (27, 47, 48). Pour Piscaglia (48), l'ECUS est plus performante pour la détection du nombre exact de métastases que l'échographie et équivalente à la TDM (87 lésions détec-

tées avec l'échographie, 122 avec l'ECUS, et 113 en scanner). Albrecht (27) a montré que la détection des métastases est comparable en scanner et en ECUS, si le parenchyme peut être exploré complètement. En outre, d'après Burns (12), la concordance inter-observateur à la phase portale tardive peut être meilleure en ECUS. En conclusion, la performance diagnostique globale du scanner et de l'ECUS est comparable (23). Des études récentes ont même montré que l'administration de produits de contraste ultrasonores améliorerait la sensibilité et la spécificité de l'échographie peropératoire (49, 50).

### 3. Principales indications

Chez un patient atteint d'un cancer, l'ECUS est recommandée non seulement pour faire le diagnostic d'une lésion indéterminée en échographie conventionnelle mais aussi pour compléter l'échographie conventionnelle de façon systématique, sauf en cas de lésion métastatique disséminée (36). Certains auteurs préconisent la réalisation d'ECUS en per opératoire avant hépatectomie partielle (49, 50). Pour Leen (49), cette pratique peut modifier l'acte opératoire : sur 57 cas, l'indication d'hépatectomie n'a pas été retenue dans 11 cas en raison du nombre plus important de métastases détectées par échographie de contraste per opératoire,



a|b  
c|d

**Fig. 4 :** Métastases hépatiques d'un cancer colorectal chez un patient de 63 ans. ECUS avec visualisation en mode dual. ECUS au temps artériel T 16 sec rehaussement de signal des nodules (flèches). Echographie duplex simultanée, nodules très discrètement hyperéchogènes à la limite de la visibilité (flèches). À T 26 sec nodules en hyposignal (flèches). Echographie duplex simultanée.

dans 2 cas parce que le nombre de métastases diagnostiquées était moins important, dans 3 cas parce que les lésions étaient bénignes et dans un cas en raison de la proximité d'un gros vaisseau. Pour certains, elle est indispensable avant toute chirurgie hépatique, car elle présente une sensibilité accrue par rapport à la TDM et l'IRM (49, 50).

L'ECUS joue également un rôle important pour caractériser les lésions hépatiques atypiques hypodenses en TDM découvertes sur des bilans d'extension thoraco-abdominopelvien. En effet, l'échographie conventionnelle peut déjà apporter des informations additionnelles, et en cas d'insuffisance, l'injection d'un produit de contraste permet le plus souvent de caractériser complètement la lésion repérée au scanner monophasique. L'objectif est d'éviter un autre examen TDM triphasé avec injection de contraste ou une IRM hépatique (37, 51).

### Carcinome hépatocellulaire CHC

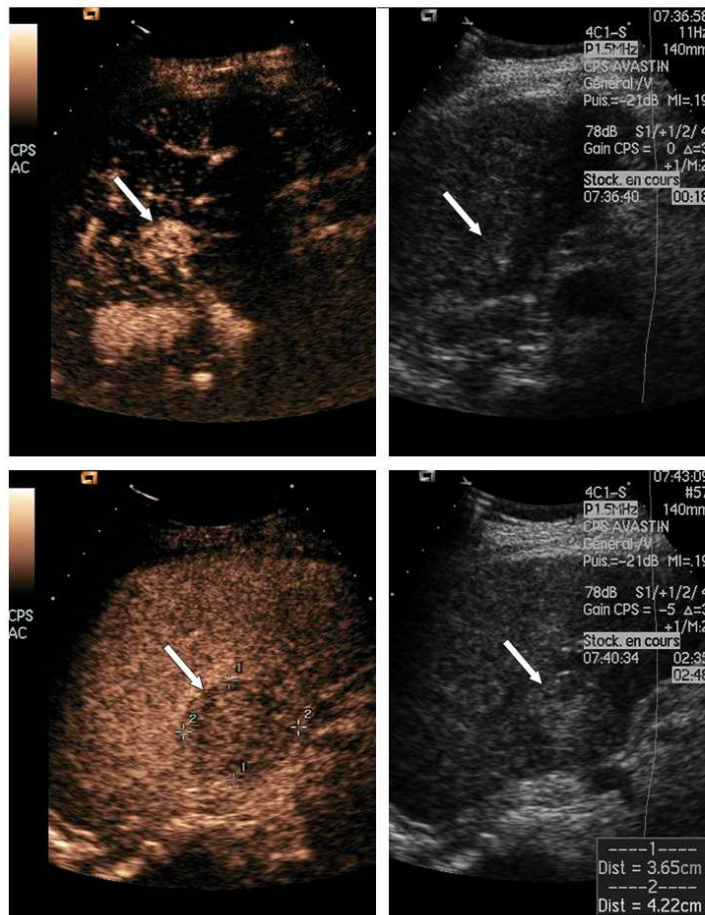
Le CHC est en 5<sup>e</sup> position sur la liste des tumeurs hépatiques les plus fréquentes. Il est la 3<sup>e</sup> cause de mortalité sur le plan mondial. Il atteint le plus souvent des patients ayant une cirrhose quelle que soit l'étiologie de celle-ci (52, 53). Le challenge est celui du

dépistage des nodules de CHC le plus tôt possible pour pouvoir effectuer un traitement curateur ou palliatif le plus adapté (alcoolisation, ablation percutanée par radiofréquence, chirurgie partielle) qui peut aller jusqu'à une transplantation hépatique (53, 54). L'échographie hépatique et le dosage de l'alpha-fœtoprotéine sont les examens de base pour la surveillance des patients atteints de cirrhose, mais ils ont montré leurs limites (53, 55).

Alors que la détection d'une lésion focale hépatique sur cirrhose doit toujours faire suspecter une lésion maligne, les remaniements anatomopathologiques inhérents à la cirrhose (nodules de régénération et dysplasiques) peuvent simuler un CHC. Un des éléments clés du diagnostic et de la physiopathogénie du CHC repose sur l'évaluation de la vascularisation du nodule.

### 1. Séméiologie en ECUS

La cinétique de rehaussement du CHC en ECUS est similaire à celle observée en TDM ou en IRM. Un CHC typique est caractérisé par un rehaussement marqué à la phase artérielle présent dans 91 à 96 % des lésions (56-58), suivi d'un lavage rapide du produit de contraste avec un aspect hypo ou isoéchogène sur les phases veineuses (fig. 5). Les macronodules de régénération et les nodules en dysplasie faible à modérée ne se rehaussent généralement pas à la phase précoce, et leur cinétique de rehaussement est compa-



**Fig. 5 :** Carcinome hépatocellulaire sur cirrhose virale C chez un patient de 54 ans.  
 a ECUS avec visualisation en mode dual. ECUS au temps artériel T 18 sec, rehaussement de signal intense et homogène du nodule (flèche).  
 b Échographie dual simultanée, nodule iso-échogène (flèche).  
 c Temps tardif T 2 min 48 sec, nodule en hyposignal (flèche).  
 d Échographie dual simultanée.

rable à celle du parenchyme hépatique (9, 14, 23). Ils s'effacent donc progressivement pour réapparaître parfois faiblement au temps tardif lorsque leur caractère hypoéchogène est très marqué (8, 9, 14, 59). La prise de contraste artérielle des CHC est intense, homogène dans 80 % des cas (4-6, 9, 13, 14, 16, 20, 28, 29, 44, 56-65). Elle peut aussi n'être que périphérique en cas de CHC plus volumineux. Le lavage du nodule peut-être très lent dans les tumeurs bien différenciées, ce qui explique que la durée d'examen doit dépasser 4 minutes d'examen après l'injection (59, 60).

Il existe cependant de nombreuses variations selon le degré de différenciation, avec des CHC dont le rehaussement en phase artérielle est pratiquement identique au parenchyme adjacent mais qui deviennent soit hypoéchogènes soit parfaitement isoéchogènes en phase tardive (57-62).

## 2. Performance diagnostique

L'atténuation du faisceau ultrasonore est le problème majeur observé dans la détection des lésions focales sur cirrhose en ECUS. Les performances de l'ECUS apparaissent toutefois très supérieures à celles de l'échographie pour la détection des petits CHC (8, 9, 16, 30, 56, 59, 65).

Pour Xu (65), la sensibilité, spécificité, VPP, VPN, et précision diagnostique, calculées respectivement avant et après injection, sont de : 29/80 %, 93/94 %, 82/91 %, 60/91 %, 63/86 %. Cependant, la sensibilité de détection des CHC en ECUS est variable en fonction de la taille de la lésion et des auteurs (tableau II) (14, 16). Il est important de souligner que la sensibilité de l'ECUS est dans certains cas supérieure à celle de la TDM pour les petites tumeurs de moins de 2 cm (3, 9, 56, 58-60, 63).

L'ECUS apparaît en outre comme une technique de choix pour identifier le caractère hypervasculaire d'un nodule de moins de 3 cm de diamètre, en comparaison avec le scanner dynamique. Dans une étude récente, l'aspect typique de rehaussement intense à la phase artérielle était de 97 % en écho de contraste pour les lésions de plus de 3 cm de diamètre, de 92 % pour les lésions de 2 à 3 cm, de 87 % pour les lésions de 1 à 2 cm et de 67 % pour les lésions infracentimétriques (56). Bolondi (66), dans une autre étude, a retrouvé sur 72 nodules, une hypervascularisation nodulaire concomitante en ECUS et TDM dans 61 % des cas, (44 % pour les nodules de 1 à 2 cm, 84 % pour les 2 à 3 cm). La biopsie a montré seulement 5 CHC pour 14 nodules lorsque les 2 techniques montraient une hypovascularisation, et 11 CHC pour 14 nodules lorsqu'une seule des deux techniques montrait une hypervascularisation 11 fois en ECUS, 3 fois en TDM. Tous les nodules de plus de 2 cm étaient des CHC. Bolondi (66) pose le problème de la caractérisation des nodules hypovasculaires de 1 à 2 cm pour lesquels la biopsie répond nodules dysplasiques, alors qu'une des deux méthodes est positive. La lecture des prélèvements de petite taille étant difficile, il propose de ne pas surveiller ces patients mais de les traiter par radiofréquence immédiatement, en accord avec les cliniciens, afin de ne pas retarder la prise en charge.

Dai (14) a comparé l'ECUS et la TDM dans le diagnostic différentiel entre nodules de régénération et CHC, tous confirmés histologiquement. Il observe une précision diagnostique comparable pour l'ECUS et le scanner (respectivement 89,3 % et 88,4 %).

Le problème reste celui des CHC hypovasculaires quelle que soit la méthode d'examen (20 %). Les nodules hypovasculaires sur foie de cirrhose correspondent dans 64 % des cas à des lésions qui ne sont pas des CHC (58, 66). La seule solution reste la biopsie à

visée diagnostique, surtout si le nodule mesure plus de 2 cm (53, 54).

## 3. Principales indications

L'ECUS n'est toujours pas recommandée en routine clinique pour le dépistage du CHC (23). En effet, la détection des CHC sur la base de leur rehaussement artériel, qui est de courte durée, s'avère souvent difficile lorsqu'il s'agit d'explorer la totalité du parenchyme hépatique, même si l'on peut s'aider dans un certain nombre de cas de leur aspect hypoéchogène à la phase tardive (23). La cirrhose généralement limite la profondeur d'exploration optimale compte tenu des modifications anatomiques et de l'augmentation de l'atténuation (hépatomégalie, surcharge en graisse ou en fer, nodules de régénération).

L'ECUS peut néanmoins être proposée pour la détection du CHC dans certaines circonstances, notamment en cas d'élévation du dosage de l'alfa-fœtoprotéine sans nodule visualisé en échographie ou au scanner.

Elle peut également être intéressante pour la caractérisation des nodules de plus d'1 cm détectés en échographie dans la surveillance de patients porteurs d'une cirrhose ou d'une hépatite chronique (23, 26, 54). L'efficacité diagnostique de l'ECUS est suffisante pour que cet examen soit proposé comme l'une des trois modalités pour détecter le caractère hypervasculaire de la tumeur, selon les critères de Barcelone (53, 54).

Enfin, elle peut être indiquée au cours du bilan d'extension, notamment pour rechercher une extension portale, la prise de contraste du thrombus au temps artériel étant typique d'une origine tumorale. L'ECUS peut aussi permettre une surveillance rapprochée (8, 54, 65), en particulier pour les petits nodules qui ne peuvent pas être ponctionnés et qui prennent le contraste au temps artériel sans hyposignal tardif.

L'ECUS semble avoir un intérêt également en per-opératoire pour le diagnostic de CHC. Pour Torzilli (67), elle a modifié l'attitude thérapeutique chez 79 % des patients opérés pour CHC sur cirrhose. Les nodules additionnels découverts en per-opératoire (n = 59) étaient classés selon leur vascularisation et la nécessité ou non d'en pratiquer l'exérèse. Parmi les 32 nodules vascularisés et donc réséqués, 20 seulement étaient des CHC. Parmi les 27 nodules laissés en place, aucun n'a évolué.

---

## Cholangiocarcinome

Le cholangiocarcinome intra-hépatique est une tumeur rare ; elle représente 5 à 20 % des cholangiocarcinomes. Son incidence est en augmentation au Royaume Uni, en Australie et aux USA avec 3 500 nouveaux cas par an, alors que l'incidence des formes hilaires ou extra-hépatique est stable. L'âge de survenue est entre 60 et 70 ans sauf pour les cholangites sclérosantes où il est abaissé.

### 1. Aspect sémiologique en ECUS

La seule série (23 cas) est rapportée par D'Onofrio (68). Quelques cas sont décrits par ailleurs au sein de population de patients porteurs de lésions focales hépatiques (3, 5, 13, 23, 30). Certains éléments peuvent orienter vers le diagnostic. Les lésions sont peu vascularisées au temps artériel, elles peuvent être en iso, ou discret hyposignal. Aux temps porte et tardif, le caractère hypoéchogène est particulièrement marqué.

## 2. Performance diagnostique

Il n'est pas possible de préciser actuellement les performances diagnostiques de l'ECUS dans le cholangiocarcinome en raison du très faible nombre de cas étudiés dans les différentes séries.

## 3. Principales indications

L'ECUS est recommandée devant une suspicion de cholangiocarcinome, si les autres techniques ne sont pas concluantes (23, 26).

## Suivi thérapeutique

L'ECUS a été utilisée récemment pour le suivi thérapeutique des tumeurs hépatiques malignes dans plusieurs séries étudiant l'efficacité de la radiofréquence RF et celle de traitements antiangiogéniques.

### 1. Aspect sémiologique

L'ECUS joue un rôle essentiel pour le guidage et le suivi des CHC et métastases traités par radiofréquence.

L'ECUS peut modifier le protocole de traitement de CHC avant radiofréquence. Elle peut mettre en évidence des lésions supplémentaires en ECUS par rapport à l'échographie conventionnelle, en précisant mieux la taille et le siège par rapport aux vaisseaux (59).

De nombreuses études ont évalué l'apport de l'ECUS après radiofréquence hépatique en utilisant des mesures relatives de prise de contraste (*tableau IV*) (63, 69-74).

Après traitement, l'ECUS est capable de déterminer l'efficacité immédiate et à distance du geste. La persistance d'une prise de contraste traduit la présence d'un résidu tumoral et permet de repositionner l'aiguille de RF afin de compléter le traitement. Au cours de la surveillance, la réapparition d'une prise de contraste traduit une récurrence locale.

L'évaluation de la réponse thérapeutique chez les patients traités par des médicaments anti-angiogéniques est plus complexe. Les critères RECIST et WHO ont montré leurs limites dans le suivi de certaines tumeurs comme les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) et lors de l'utilisation des nouveaux traitements anti-angiogéniques (75). La surveillance des traitements anti-

angiogéniques repose sur la mise en évidence qualitative et quantitative de la prise de contraste en phase artérielle. La disparition précoce de la vascularisation tumorale témoigne de l'efficacité du traitement. En revanche, la persistance ou la réapparition de zones focales de prise de contraste peut traduire très précocement un échec thérapeutique. Les logiciels de quantification facilitent la comparaison entre les différents examens réalisés au cours du temps (76-78) (*tableau IV*).

### 2. Performance diagnostique

Au cours de la surveillance des patients traités par radiofréquence, les performances diagnostiques de l'ECUS sont comparables à celles de l'IRM et du scanner (63, 69). La sensibilité, spécificité et l'efficacité diagnostique à 1 mois étaient respectivement de 91 à 95,3 %, 97 à 100 %, 96,6 à 100 %.

Toutefois, Kim (69) rapporte 5 cas (5 %) de récurrence tumorale détectées sur le scanner de surveillance à 7, 10 et 13 mois dans une série de 94 CHC traités par RF sans tumeur résiduelle au contrôle initial en ECUS et scanner.

Deux études ont porté sur l'évaluation de l'ECUS chez des patients sous traitement anti-angiogénique pour des métastases hépatiques de GIST (*tableau IV*) (77, 78). Le pourcentage de prise de contraste tumorale à J1 était un facteur prédictif de la réponse tumorale avec une valeur de 71 % chez les répondeurs contre 42 % chez les non répondeurs ( $p < 10^{-4}$ ) (77). Une corrélation élevée entre la réduction de la prise de contraste tumorale et la réponse tumorale a été observée à J7 et J14 après traitement (77). De Giorgi *et al.* (78) ont montré que la diminution de la vascularisation des lésions métastatiques hépatiques survenait avant la diminution en taille.

### 3. Principales indications

L'ECUS permet de repérer les lésions au cours d'un geste de RF lorsqu'elles ne sont pas visibles en échographie sans injection. La taille et le contour des lésions sont en effet mieux définis (59, 70). L'échographie avec injection de contraste peut facilement être répétée dans le temps étant donné son innocuité permettant de suivre les patients à de courts intervalles et de détecter rapidement une récurrence tumorale après RF.

La visualisation des vaisseaux intratumoraux permet de juger rapidement de l'efficacité d'un traitement anti-angiogénique associé

**Tableau IV**  
Monitoring par ECUS des traitements en pathologie hépatique.

Auteur	Type de tumeur	Nombre (n)	Traitement	Suivi	Corrélation	Résultats
Choi (72)	CHC	81	RF	1 jour à 19 mois	CT	DA 100 % à 1 mois
Wen (73)	CHC	91	RF	5 à 7 jours	CT	Se 95.3 %, Spe 100 %, DA 98.1 %
Kim (69)	CHC	94	RF	1 à 12 mois	CT	DA 99 % à 1 mois
Vilana (71)	CHC	41	Ethanol/RF	1 jour à 1 mois	CT	Se 91 %, Spe 97 %, DA 95 % à 1 mois
Wang (74)	CHC	35	RF	2 à 12 mois	CT	DA 80 %
Lu (63)	CHC	103	RF	1 mois	CT, IRM	Spe 98.2 %, DA 96.6 %
Lassau (77)	GIST	24	Imatinib	2 mois à 1 an	CT	↘ vascularisation tumorale à J1 prédictive de réponse
De Giorgi (78)	GIST	10	Imatinib	3 à 33 mois	CT	↘ vascularisation tumorale précède ↘ taille tumeur. DA 100 %

Se : Sensibilité, Spe : Spécificité, DA : précision diagnostique, CT Tomodensitométrie, IRM : Imagerie par résonance magnétique, GIST : tumeur stromale gastro intestinale

ou non à une chimiothérapie complémentaire. Les métastases hépatiques de GIST sont actuellement suivies de cette façon. Les critères ECUS tendent à remplacer les critères RECIST pour la surveillance des patients traités par anti-angiogéniques ou RF (75). Il reste à déterminer par des études multicentriques en cours, si des paramètres de quantification sont utiles et quels sont les plus représentatifs.

## Conclusion

L'ECUS est une technique d'imagerie très performante et de plus en plus utilisée en pathologie hépatique. La sémiologie des principales tumeurs hépatiques bénignes et malignes est maintenant bien connue grâce à plusieurs études portant sur un nombre important de patients. La performance diagnostique de l'ECUS a été également bien étudiée en comparaison avec le scanner et l'IRM. L'ECUS a d'ailleurs montré, pour la plupart des lésions, une sensibilité et une spécificité diagnostiques très proches de celles observées pour les autres techniques d'imagerie en coupes.

Enfin l'ECUS a démontré son potentiel d'imagerie fonctionnelle dans la surveillance des patients après radiofréquence hépatique ou sous traitement antiangiogénique.

Dans un futur proche, des améliorations techniques, en particulier dans le domaine de la quantification devraient favoriser encore plus le développement et l'utilisation de l'ECUS en pathologie hépatique.

### Points à retenir

- L'échographie avec injection de produit de contraste (ECUS) trouve tout son intérêt dans la caractérisation de lésion hépatique de découverte fortuite en échographie ou la caractérisation de lésion atypique en IRM ou au scanner, grâce à des critères diagnostiques bien définis.
- L'ECUS permet de différencier tumeur bénigne de tumeur maligne dans plus de 97 % des cas. Le temps tardif supérieur à 2 minutes est primordial dans cette différenciation.
- La prise de contraste en rayon de roue est caractéristique de l'hyperplasie nodulaire focale et permet le diagnostic avec une sensibilité de 82,5 % à 95 % et une spécificité de 74 % à 97,8 %.
- L'ECUS est une aide au management, à la réalisation de gestes thérapeutiques, et à l'évaluation de l'efficacité des procédures.

## Références

1. Bolondi L, Correas JM, Lencioni R, Weskott HP, Piscaglia F. New perspectives for the use of contrast-enhanced liver ultrasound in clinical practice. *Dig Liver Dis* 2007;39:187-95.
2. Tranquart F, Bleuzen A, Tchuembou J. Echographie de contraste dans l'exploration des lésions focales hépatiques : valeur diagnostique et recommandations. *J Radiol* 2004;85:680-9.
3. Wilson SR, Burns PN. An algorithm for the diagnosis of focal liver masses using microbubble contrast-enhanced pulse-inversion sonography. *AJR* 2006;186:1401-12.
4. Leen E, Ceccotti P, Kalogeropoulou C et al. Prospective multicenter trial evaluating a novel method of characterizing focal liver lesions using contrast-enhanced sonography. *AJR* 2006;186:1551-9.
5. Quaiia E, Calliada F, Bertolotto, et al. Characterization of focal liver lesions with contrast-specific US modes and a sulfur hexafluoride-

- filled microbubble contrast agent: diagnostic performance and confidence. *Radiology* 2004;232:420-30.
6. Bartolotta TV, Taibbi A, Galia M et al. Characterization of hypoechoic focal hepatic lesions in patients with fatty liver: diagnostic performance and confidence of contrast-enhanced ultrasound. *Eur Radiol* 2007;17:650-61.
7. Dai Y, Chen MH, Yin SS et al. Focal liver lesions: can SonoVue-enhanced ultrasound be used to differentiate malignant from benign lesions? *Invest Radiol* 2007;42:596-603.
8. Kim SH, Lee JM, Lee JY 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* 2005;184:1077-84.
9. Quaiia E, D'Onofrio M, Cabassa P, et al. Diagnostic value of hepatocellular nodule vascularity after microbubble injection for characterizing malignancy in patients with cirrhosis. *AJR* 2007;189:1474-83.
10. Von Herbay A, Vogt C, Willers R, Häussinger D. Real-time imaging with the sonographic contrast agent Sonovue: Differentiation between benign and malignant hepatic lesions. *J Ultrasound Med* 2004;23:1557-68.
11. Wilson SR, Jang HJ, Kim TK, Burns PN. Diagnosis of focal liver masses on ultrasonography: Comparison of unenhanced and contrast-enhanced scans. *J Ultrasound Med* 2007;26:775-87.
12. Burns PN, Wilson SR. Focal liver masses: enhancement patterns on contrast-enhanced images-concordance of US scans with CT scans and MR images. *Radiology* 2007; 242:162-74.
13. Catala V, Nicolau C, Vilana R et al. Characterization of focal liver lesions: comparative study of contrast-enhanced ultrasound versus spiral computed tomography. *Eur Radiol* 2007;17:1066-73.
14. Dai Y, Chen MH, Fan E et al. Diagnosis of small hepatic nodules detected by surveillance ultrasound in patients with cirrhosis: Comparison between contrast-enhanced ultrasound and contrast-enhanced helical computed tomography. *Hepatol Res* 2008; 38:281-90.
15. Dietrich CF, Kratzer W, Strobel D et al. Assessment of metastatic liver disease in patients with primary extrahepatic tumors by contrast-enhanced sonography versus CT and MRI. *World J Gastroenterol* 2006;12:1699-705.
16. Forner A, Vilana R, Ayuso C et al. Diagnosis of hepatic nodules 20 mm or smaller in cirrhosis: Prospective validation of the non-invasive diagnostic criteria for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008;47:97-104
17. Quaiia E, D'Onofrio M, Palumbo A 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;16:1599-609.
18. Ricci P, Laghi A, Cantisani V et al. Contrast-enhanced sonography with SonoVue: enhancement patterns of benign focal liver lesions and correlation with dynamic gadobenate dimeglumine-enhanced MRI. *AJR* 2005;184:821-7.
19. Tranquart F, Le Gouge A, Correas JM et al. Role of contrast-enhanced ultrasound in the blinded assessment of focal liver lesions in comparison with MDCT and CEMRI: Results from a multicentre clinical trial. *Eur J Cancer* 2008;6:9-15.
20. Wen YL, Kudo M, Zheng RQ et al. Characterization of Hepatic Tumors: Value of Contrast-Enhanced Coded Phase-Inversion Harmonic Angio. *AJR* 2004;182:1019-26.
21. Wilson SR, Kim TK, Jang HJ, Burns PN. Enhancement patterns of focal liver masses: discordance between contrast-enhanced sonography and contrast-enhanced CT and MRI. *AJR* 2007;189: 7-12.
22. Jung EM, Clevert DA, Schreyer AG et al. Evaluation of quantitative contrast harmonic imaging to assess malignancy of liver tumors: A prospective controlled two-center study. *World J Gastroenterol* 2007;47:6356-64.

23. Claudon M, Cosgrove D, Albrecht T et al. Guidelines and good clinical practice recommendations for contrast enhanced ultrasound (CEUS)-update 2008. *Ultraschall Med* 2008;29:28-44.
24. Bleuzen A, Huang C, Olar M, Tchuengbou J, Tranquart F. Diagnostic accuracy of contrast-enhanced ultrasound in focal lesions of the liver using cadence contrast pulse sequencing. *Ultraschall Med* 2006;27:40-8.
25. Albrecht T, Blomley M, Bolondi L et al. Guidelines for the use of contrast agents in ultrasound. Consensus Conference on the use of Ultrasound Contrast Agents, Rotterdam, 2004. *Ultraschall Med* 2004;25:249-56.
26. Tranquart F, Claudon M, Correas JM. Recommandations pour l'utilisation des agents de contraste ultrasonores. *J Radiol* 2005;86:1047-54.
27. Albrecht T, Blomley MJ, Burns PN et al. Improved detection of hepatic metastases with pulse-inversion US during the liver-specific phase of SHU 508A: multicenter study. *Radiology* 2003;227:361-70.
28. Numata K, Isozaki T, Morimoto M et al. Prospective study of differential diagnosis of hepatic tumors by pattern-based classification of contrast-enhanced sonography. *World J Gastroenterol* 2006;12: 6290-98.
29. Xu HX, Liu GJ, Lu MD et al. Characterization of focal liver lesions using contrast-enhanced sonography with a low mechanical index mode and a sulfur hexafluoride-filled microbubble contrast agent. *J Clin Ultrasound* 2006;34:261-72.
30. Celli N, Gaiani S, Piscaglia F et al. Characterization of liver lesions by real-time contrast-enhanced ultrasonography. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007;19:3-14.
31. Dietrich CF, Schuessler G, Trojan J, Felbaum C, Ignee A. Differentiation of focal nodular hyperplasia and hepatocellular adenoma by contrast-enhanced ultrasound. *Br J Radiol* 2005;78:704-7.
32. Kim TK, Jang JH. Focal nodular hyperplasia and hepatic adenoma: differentiation with low-mechanical-index contrast-enhanced sonography. *AJR* 2008;190:58-66.
33. Huang-Wei C, Bleuzen A, Bourlier P et al. Differential diagnosis of focal nodular hyperplasia with quantitative parametric analysis in contrast-enhanced sonography. *Invest Radiol* 2006;41:363-8.
34. Yen YH, Wang JH, Lu SN et al. Contrast-enhanced ultrasonographic spoke-wheel sign in hepatic focal nodular hyperplasia. *Eur Radiol* 2006;60:439-44.
35. Lin LW, Yang JJ, Lin XY et al. Effect of fatty liver background on contrast-enhanced ultrasonographic appearance of focal nodular hyperplasia. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007;6:610-5.
36. Cokkinos DD, Blomley MJ, Harvey CJ, Lim A, Cunningham C, Cosgrove DO. Can contrast-enhanced ultrasonography characterize focal liver lesions and differentiate between benign and malignant, thus providing a one-stop imaging service for patients? *Journal of Ultrasound* 2007;10:186-93.
37. Lanka B, Jang HJ, Kim TK, Burns PN, Wilson SR. Impact of contrast-enhanced ultrasonography in a tertiary clinical practice. *J Ultrasound Med* 2007;26:1703-14.
38. Romanini L, Passamonti M, Aiani L et al. Economic assessment of contrast-enhanced ultrasonography for evaluation of focal liver lesions: a multicentre Italian experience. *Eur Radiol* 2007;17:S99-106.
39. Bouliac-Sage P, Rebouissou S, Thomas C et al. Hepatocellular adenoma subtype classification using molecular markers and immunohistochemistry. *Hepatology* 2007;46:740-8.
40. Laumonier H, Bioulac-Sage P, Laurent C et al. Hepatocellular adenomas: Magnetic resonance imaging features as a function of molecular pathological classification. *Hepatology* 2008;16:808-18.
41. Gallix B, Aufort S. Incidentalomes. *J Radiol* 2007;88:1048-60.
42. Quaa E, Bartolotta TV, Midiri M, et al. Analysis of different contrast enhancement patterns after microbubble-based contrast agent injection in liver hemangiomas with atypical appearance on baseline scan. *Abdom Imaging* 2006;31:59-64.
43. Dietrich CF, Mertens JC, Braden B, et al. Contrast-enhanced ultrasound of histologically proven liver hemangiomas. *Hepatology* 2007;45:139-45.
44. Bartolotta TV, Taibbi A, Galia M et al. Centrifugal (inside-out) enhancement of liver hemangiomas: a possible atypical appearance on contrast-enhanced US. *Eur J Radiol* 2007;64:447-55.
45. Nicolau C, Vilana R, Catalá V et al. Importance of Evaluating All Vascular Phases on Contrast-Enhanced Sonography in the Differentiation of Benign from Malignant Focal Liver Lesions. *AJR* 2006;186:158-67.
46. Murphy-Lavallee J, Jang HJ, Kim TK, Burns PN, Wilson SR. Are metastases really hypovascular in the arterial phase? The perspective based on contrast-enhanced ultrasonography. *J Ultrasound Med* 2007;26:1545-56.
47. Konopke R, Kersting S, Berget H et al. Contrast-enhanced ultrasonography to detect liver metastases: a prospective trial to compare transcutaneous unenhanced and contrast-enhanced ultrasonography in patients undergoing laparotomy. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22:201-7.
48. Piscaglia F, Corradi F, Mancini M et al. Real time contrast enhanced ultrasonography in detection of liver metastases from gastrointestinal cancer. *BMC cancer* 2007;7:771.
49. Leen E, Ceccotti P, Moug SJ et al. Potential value of contrast-enhanced intraoperative ultrasonography during partial hepatectomy for metastases: an essential investigation before resection? *Ann Surg* 2006;243:236-40.
50. Torzilli G, Botea F, Procopio F et al. Use of contrast-enhanced intraoperative ultrasonography during liver surgery for colo rectal cancer liver metastases - Its impact on operative outcome. Analysis of a prospective cohort study. *Eur J Cancer* 2008;6:16-23.
51. Menu Y, Bessoud B, Roche L et al. Lésions hépatiques en cancérologie. *J Radiol* 2007;88:1091-103.
52. Bruix J, Sherman M, Llover JM et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona 2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver *J Hepatol* 2001;35:421-30.
53. Bruix J, Sherman M. AASLD Practice Guidelines, Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005;42:1208-36.
54. Lencioni R, Della Pina C, Cioni D, Crocetti L. Guidelines for the use of contrast-enhanced ultrasound in hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 2008;6:1-8.
55. Luciani A, Alice O, Zegai B et al. Nodules sur foie de cirrhose: quelle imagerie? Pourquoi? *J Radiol* 2007;88:1073-90.
56. Gaiani S, Celli N, Piscaglia F et al. Usefulness of contrast-enhanced perfusional sonography in the assessment of hepatocellular carcinoma hypervascular at spiral computed tomography. *J Hepatol* 2004; 41:421-6
57. Nicolau C, Catala V, Vilana R et al. Evaluation of hepatocellular carcinoma using SonoVue, a second generation ultrasound contrast agent: correlation with cellular differentiation. *Eur Radiol* 2004; 14:1092-99
58. Wen YL, Zhou P, Kudo M. Detection of intratumoral vascularity in small hepatocellular carcinoma by coded phase inversion harmonics. *Intervirolgy* 2004; 47:169-178
59. Chen MH, Yang W, Yan K. The role of contrast-enhanced ultrasound in planning treatment protocols for hepatocellular carcinoma before radiofrequency ablation. *Clin Radiol* 2007; 62:752-60
60. Fan ZH, Chen MH, Dai Y et al. Evaluation of primary malignancies of the liver using contrast-enhanced sonography: Correlation with pathology. *AJR* 2006; 186:1512-19
61. Jang HJ, Kim TK, Burns PN, Wilson SR. Enhancement patterns of hepatocellular carcinoma at contrast-enhanced US : comparison with histologic differentiation. *Radiology* 2007; 244:898-906
62. Liu GJ, Xu HX, Lu MD et al. Correlation between enhancement pattern of hepatocellular carcinoma on real-time contrast-enhanced

- ced ultrasound and tumour cellular differentiation on histopathology. *Br J Radiol* 2007; 80:321-30
63. Lu MD, Yu XL, Li AH et al. Comparison of contrast enhanced ultrasound and contrast enhanced CT or MRI in monitoring percutaneous thermal ablation procedure in patients with hepatocellular carcinoma: a multi-center study in China. *Ultrasound Med Biol* 2007; 33:1736-49
  64. Ogawa S, Kumada T, Toyoda H et al. Evaluation of pathological features of hepatocellular carcinoma by contrast-enhanced ultrasonography: comparison with pathology on resected specimen. *Eur Radiol* 2006; 59:74-81
  65. Xu HX, Xie XY, Lu MD et al. Contrast-enhanced sonography in the diagnosis of small hepatocellular carcinoma < or = 2 cm. *J Clin Ultrasound* 2008; 36:257-66
  66. Bolondi L, Gaiani S, Celli N et al. Characterization of small nodules in cirrhosis by assessment of vascularity: the problem of hypovascular hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005; 42:27-34
  67. Torzilli G, Palmisano A, Del Fabbro D et al. Contrast-enhanced intraoperative ultrasonography during surgery for hepatocellular carcinoma in liver cirrhosis: is it useful or useless? A prospective cohort study of experience. *Ann Surg Oncol* 2007; 14:1347-55
  68. D'Onofrio M, Vecchiato F, Cantisani V et al. Intrahepatic peripheral cholangiocarcinoma (IPCC): comparison between perfusion ultrasound and CT imaging. *Radiol Med* 2008; 113:76-86
  69. Kim CK, Choi D, Lim HK et al. Therapeutic response assessment of percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: utility of contrast-enhanced agent detection imaging. *Eur J Radiol* 2005; 56:66-7
  70. Dill-Mackay MJ, Asch M, Burns P, Wilson S. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: predicting success using contrast-enhanced sonography. *AJR* 2006; 186:S287-95
  71. Vilana R, Bianchi L, Varela M et al. Is microbubble-enhanced ultrasonography sufficient for assessment of response to percutaneous treatment in patients with early hepatocellular carcinoma? *Eur Radiol* 2006; 16:2454-62
  72. Choi D, Lim HK, Lee WJ et al. Early assessment of the therapeutic response to radio frequency ablation for hepatocellular carcinoma: utility of gray scale harmonic ultrasonography with a microbubble contrast agent. *J Ultrasound Med* 2003; 22:1163-72
  73. Wen YL, Kudo M, Zheng RQ et al. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: therapeutic response using contrast-enhanced coded phase-inversion harmonic sonography. *AJR* 2003; 181:57-63
  74. Wang JH, Lu SN, Tung HD et al. Flash-echo contrast sonography in the evaluation of response of small hepatocellular carcinoma to percutaneous ablation. *J Clin Ultrasound* 2006; 34:161-8
  75. Benjamin RS, Choi H, Macapinlac HA et al. We should desist using RECIST, at least in gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2007; 25 : 1760-64
  76. Piscaglia F, Gaiani S, Tambari S et al. Liver metastases from rectal carcinoma: disease progression during chemotherapy despite loss of arterial-phase hypervascularity on real-time contrast-enhanced harmonic sonography at low acoustic energy. *J Clin Ultrasound* 2003; 31:387-91
  77. Lassau N, Lamuraglia M, Chami L et al. Gastrointestinal Stromal Tumors Treated with Imatinib: Monitoring Response with Contrast-Enhanced Sonography. *AJR* 2006; 187:1267-1273
  78. De Giorgi U, Aliberti C, Benea G, Conti M, Marangolo M. Effect of angiosonography to monitor response during imatinib treatment in patients with metastatic gastrointestinal tumors. *Clin Cancer Res* 2005; 11:6171-76.



## Advances in radiological imaging of gastrointestinal tumors

C. Hoeffel<sup>a,\*</sup>, S. Mulé<sup>b,1</sup>, B. Romaniuk<sup>c</sup>, V. Ladam-Marcus<sup>a,2</sup>, O. Bouché<sup>d,3</sup>, C. Marcus<sup>a,2</sup>

<sup>a</sup> Department of Radiology, CHU Robert Debré, 51092 Reims Cedex, France

<sup>b</sup> Laboratoire d'imagerie fonctionnelle (LIF), U. 678 INSERM/UMR-S upmc, CHU Pitié-Salpêtrière,  
91 boulevard de l'hôpital, F-75634 Paris Cedex 13, France

<sup>c</sup> CRESTIC, LERI IUT Reims-Châlons-Charleville, France

<sup>d</sup> Department of Hepatogastroenterology, Hôpital Robert-Debré, CHU Robert Debré, 51092 Reims Cedex, France

Accepted 26 June 2008

### Contents

1. Introduction .....	154
2. Morphological and functional radiological imaging .....	154
2.1. Cancer detection .....	154
2.1.1. Detection of colorectal carcinoma .....	154
2.1.2. Small-bowel tumor detection .....	156
2.2. Diagnosis and staging .....	157
2.2.1. Contrast-enhanced ultrasound .....	157
2.2.2. High-resolution magnetic resonance imaging .....	159
2.2.3. Multidetector row computed tomography .....	159
3. Molecular and cellular imaging .....	161
3.1. Diffusion imaging .....	161
3.2. Spectroscopy .....	162
3.3. Cellular magnetic resonance imaging of the liver using contrast agents .....	162
3.3.1. Hepatocyte-selective agents .....	162
3.3.2. Small particles of iron iodide .....	162
3.4. Molecular imaging using microbubble contrast agents .....	163
3.5. Metastatic lymph node imaging .....	163
3.6. Multimodality molecular imaging .....	164
4. Conclusion .....	164
Reviewers .....	164
Conflict of interest .....	164
References .....	164
Biographies .....	166

### Abstract

This article summarizes the recent advances in radiological imaging in the hepatogastrointestinal field in terms of detection, characterization and staging of tumors. Introduction of multidetector row computed tomography technology has helped computed tomography to excel in its already established indications, and has expanded its capabilities by adding new clinical applications, such as computed tomography angiography, liver perfusion, computed tomography enterography or enteroclysis, and virtual colonoscopy. Contrast-enhanced

\* Corresponding author. Tel.: +33 3 26 78 42 16; fax: +33 3 26 78 84 77.

E-mail addresses: choeffel-fornes@chu-reims.fr (C. Hoeffel), Sebastien.Mule@imed.jussieu.fr (S. Mulé), barbara.romaniuk@leri.univ-reims.fr (B. Romaniuk), vladamarcus@chu-reims.fr (V. Ladam-Marcus), obouche@chu-reims.fr (O. Bouché), cmarcus@chu-reims.fr (C. Marcus).

<sup>1</sup> Tel.: +33 1 53 82 84 37.

<sup>2</sup> Tel.: +33 3 26 78 42 16; fax: +33 3 26 78 84 77.

<sup>3</sup> Tel.: +33 3 26 78 31 13; fax: +33 3 26 78 88 36.



### 3. Molecular and cellular imaging

While molecular imaging of cellular targets is still at the stage of preclinical applications, several methods, mainly positron emission tomography and Magnetic resonance imaging are playing an increasingly important role in cancer diagnosis and treatment in the clinic [48]. We will not discuss positron emission tomography technique, as it will be dealt with in another paper. MR imaging methods that combine different parameters into a single diagnostic index are being developed to characterize the complexity of cancerous tissue. Techniques such as T1, T2, and contrast-enhanced magnetic resonance imaging, proton magnetic resonance spectroscopic imaging, and diffusion magnetic resonance imaging, when used in combination, can provide a comprehensive data set with potentially more power to diagnose cancer than any single measure alone. For example, recently, the combined use of diffusion-weighted-magnetic resonance imaging and 1H magnetic resonance spectroscopy has been reported in order to increase accuracy in prostate cancer detection [49]. In addition, the use of novel contrast and specific therapeutic agents has led to the ability to interrogate the molecular environment of the tumor using MRI.

#### 3.1. Diffusion imaging

It is well known that diffusion is caused by random translational molecular motion, also known as Brownian motion. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging is the only imaging method that can evaluate the diffusion process in vivo. The root mean square displacement of water molecules that occurs during a diffusion measurement is estimated to be approximately 8  $\mu\text{m}$  [50]. By comparison, the mean size of cells in the human body measures about 10  $\mu\text{m}$ . Hence, the information provided by diffusion-weighted imaging reflects changes that are occurring at a cellular spatial scale. These changes in water diffusion result in changes in the magnetic resonance signal intensity in diffusion-weighted imaging. For example, in cerebral ischemia, diffusion-weighted MRI can be used to detect the lesion within the first hours of ischemia, when more conventional magnetic resonance contrasts still appear relatively unchanged. Although the precise mechanisms for these signal intensity changes are still being investigated, there is evidence that such factors such as the movement of water from the extracellular space to the intracellular space and vice versa, increased tortuosity of the diffusion pathways, restriction of the cellular membrane permeability, cellular density, and disruption of cellular membrane depolarization contribute to these signals [51]. The major mechanism responsible for these early changes in water diffusion in tumors is thought to be the cell loss and an increase in the extracellular space, reflecting a general increase in cell death. Diffusion-weighted imaging can be used to derive a quantitative biophysical parameter, called the apparent diffusion coefficient of water. The apparent diffusion coefficient provides an average value of the distance

a water molecule has moved within a biological tissue and is related to the state of tissue. However, measurements of the diffusion coefficient cannot currently give detailed information on the type of cell death. It is possible that the use of higher *b*-values, combined with a more detailed data analysis, could make these diffusion experiments more sensitive to intracellular changes, and therefore potentially more specific for the tissue changes that take place during apoptosis. Alternatively, measurements on intracellular metabolite diffusion might be used to detect the cellular changes that accompany apoptosis [52,53]. The sensitivity of the apparent diffusion coefficient sequence can be varied by changing the gradient amplitude, the duration of the applied gradient, and the time interval during the paired gradients. On clinical MR scanners, the diffusion sensitivity is easily varied by changing the parameter known as the “*b*-value”, which is proportional to these three factors. Water molecules with a large degree of motion or a great diffusion distance (e.g., within the intravascular space) will show signal attenuation with small “*b*-values” (e.g.,  $b = 50\text{--}100 \text{ s/mm}^2$ ). By contrast, large “*b*-values” are usually required to perceive slow-moving water molecules or small diffusion distances because these show more gradual signal attenuation with increasing “*b*-values”.

Application of diffusion-weighted magnetic resonance imaging within the abdomen is hindered by the presence of bulk physiologic motion, in which orders of magnitude are greater in amplitude than that of diffusion [54]. However, thanks to faster imaging techniques, diffusion-weighted magnetic resonance imaging has been increasingly applied and may in the future play a pre-treatment role in tumor detection, characterization [55], in distinguishing tumors from non-tumors and in predicting treatment response. Preliminary abdominal clinical applications so far include detection of abdominal tumors, mainly colorectal carcinoma [56] and pancreatic adenocarcinoma [57], prediction of the response of colorectal hepatic metastasis to treatment [58] and evaluation of hepatic tumors [59,60] (Fig. 9).

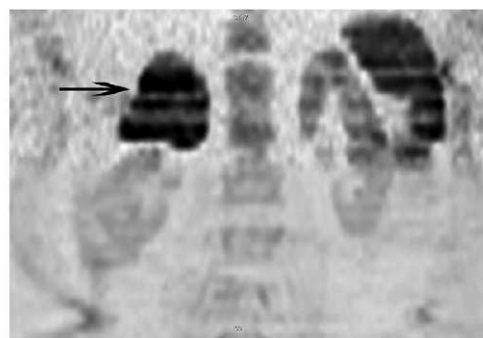


Fig. 9. Coronal diffusion-weighted 3 T magnetic resonance image showing a right large cortical adrenal carcinoma (arrow) displaying low signal intensity relatively to other organs except for the spleen.

### 3.2. Spectroscopy

Proton magnetic resonance spectroscopy is based on altered or specific metabolic profiles including those of choline, citrate, creatine, etc. Abdominal or pelvic clinical applications of this technique are very limited so far except in prostate cancer for which it is feasible and seems to be useful in guiding radiation treatment planning [48].

### 3.3. Cellular magnetic resonance imaging of the liver using contrast agents

Magnetic resonance imaging is considered a state-of-the-art technique for liver imaging. Extracellular gadolinium chelates have been used for liver imaging. With the use of extracellular agents, focal liver lesions and diffuse parenchymal pathologies can be evaluated based on contrast agent dynamics within the vascular tree of the liver. Moreover, cellular contrast agents have been developed in the past 10–15 years for liver MRI, which are divided into two groups according to the hepatic cells that show uptake.

#### 3.3.1. Hepatocyte-selective agents

They either are only hepatocyte selective, such as Mn-DPDP, or are gadolinium chelates (Gd-BOPTA and Gd-EOB) that are both distributed in the extracellular space and hepatocyte selective. Kupffer cell-specific contrast agents are iron-containing compounds. The hepatocyte-specific Gd chelates and Mn-DPDP are T1 agents that shorten T1 time and result in increased signal on T1-weighted images. Kupffer cell-specific agents shorten T2 and T1 times, with a predominant effect of decreasing the T2 signal, but increasing the T1 signal in some settings [61].

**3.3.1.1. Mn-DPDP.** Mn-DPDP (Mangafodipir trisodium, Nycomed Amersham, Oslo, Norway) is an anionic manganese chelate salified with four molecules of meglumine. The Mn<sup>++</sup> ion is a powerful T1 relaxation agent. Mn-DPDP dissociates rapidly following administration, yielding free Mn<sup>++</sup> ion. Free Mn<sup>++</sup> is taken up by the hepatocytes and eliminated by the hepatobiliary pathway. Mn-DPDP shortens the T1 time and causes increased signal in the liver on T1-weighted images. It is administered as a slow infusion over 1–2 min at a dose of 5–10 mmol/kg. Maximum liver enhancement is observed within 10–15 min of the infusion. This agent was recently removed from the U.S. market, possibly because of insufficient demand [62] but it is still used elsewhere. On postcontrast images, lesions without hepatocyte content remain unenhanced whereas hepatocyte-containing masses enhance. Thus, it will be indicated to characterize lesions as hepatocellular or not.

**3.3.1.2. Agents with combined perfusion and hepatocyte-selective properties.** Gd-BOTA (Gadobenate Dimeglumine) Gadobenate dimeglumine (Gd-BOPTA; Multihance; Bracco, Milan, Italy) combines the properties of a conventional

non-specific gadolinium agent with those of a hepatocyte-selective agent. It is mainly eliminated by the kidneys. The biliary excretion is only 3–5%. This agent results in prolonged enhancement of the liver parenchyma combined with the plasma kinetics of an extracellular agent. The hepatobiliary contrast enhancement is most prominent 60–120 min after intravenous injection. Its greater T1 relaxivity compared to other conventional extracellular contrast agents allows better visualization of hypervascular lesions than conventional extracellular agents and equivalent lesion detection when used at half-dose. It may be used to distinguish tumors that contain bile ducts, such as well-differentiated hepatocellular carcinoma and focal nodular hyperplasia, from non-hepatocellular lesions such as poorly differentiated hepatocellular carcinoma, adenoma, metastasis and hemangioma [63].

#### 3.3.2. Small particles of iron ioxide

Small particles of iron ioxide (SPIO) particles have been introduced as contrast agents for magnetic resonance imaging because of their strong T2 and T2\* relaxivities, which induce a marked decrease in signal intensity, i.e., negative enhancement of various target organs on T2- and T2\*-weighted images [64]. The relaxation effects of iron oxide nanoparticles are influenced by their local concentration as well as the applied field strength and the environment in which these agents interact with surrounding protons. Nanoparticle contrast agents not only are distributed in the intravascular extracellular space, but also undergo subsequent intracellular uptake by macrophages. This intracellular uptake of iron oxide has recently been recognized as an important characteristic of phagocyte-associated pathological processes.

In addition, these particles, especially ultrasmall particles of iron ioxide, also have a high T1 relaxivity, which results in an additional increase in signal intensity (positive enhancement) on T1-weighted images. Applications of iron oxide contrast agents as blood pool agents have been investigated to overcome the limits of time window and spatial resolution imaging related to the use of contrast agents with a short intravascular half-life and the rapid extracellular distribution of extracellular gadolinium chelates. They include ferumoxides and ferucarbotran. Most liver tumors – whether benign or malignant – are deficient in Kupffer cells and do not exhibit small particles of iron ioxide particle uptake. Thus, after an infusion of small particles of iron ioxide particles, liver tumors appear relatively hyperintense because the background liver darkens preferentially. The primary exception to this rule occurs in focal nodular hyperplasia, in which small particles of iron ioxide particles may accumulate, with a resultant isointense or even hypointense appearance of lesions with the normal liver parenchyma. The recommended dose is 0.05 ml/kg [61]. Imaging is typically performed 1–4 h after infusion. Elimination occurs through intrinsic iron metabolism. The liver appears darkest on T2\*- and T2-weighted images in the first 24 h after the infusion of ferumoxides. Small particles of iron ioxide particles are

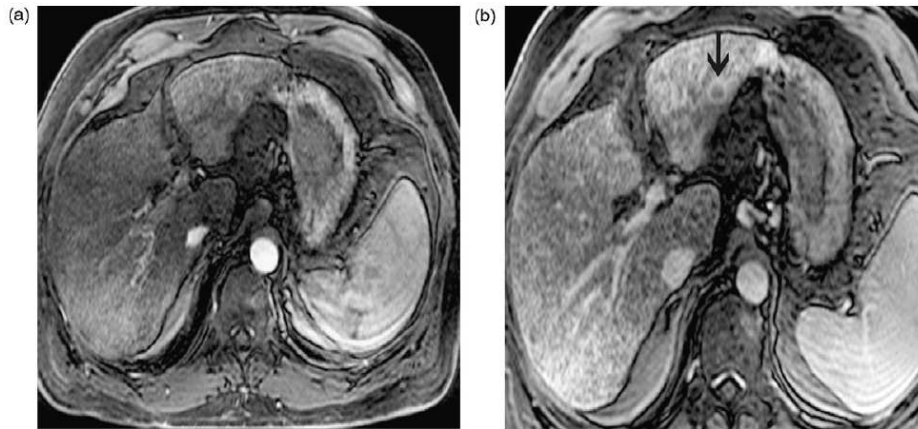


Fig. 10. Courtesy of Dr. Cercueil, Dijon. Improved detection of hepatocellular carcinoma after intravenous administration of small particles of iron oxide. Axial gradient-echo gadolinium-enhanced fat-suppressed T1-weighted magnetic resonance imaging sequence both before (a) and after (b) administration of small particles of iron oxide shows that the small hepatocellular carcinoma (arrow) is seen only after administration of SPIO.

indicated to varying degrees for the detection of hepatocellular carcinoma and metastases and the characterization of focal nodular hyperplasia. Small particles of iron oxide particles have shown utility for the detection of metastases and recently Kim et al. [65] reported that they were similar to Mn-DPDP in hepatic lesion detection and characterization in colorectal carcinoma patients. Onishi et al. [66] report that the addition of small particles of iron oxide-enhanced MRI to contrast-enhanced multidetector row computed tomography (combined analysis of both modalities' images) can improve sensitivity in the detection of hepatic metastases. Ward et al. [67] also report more accurate accuracy in the depiction of liver metastases in candidates for hepatic resection with small particles of iron oxide-enhanced magnetic resonance imaging versus computed tomography but no differences with gadolinium-enhanced MR imaging.

As far as detection of hepatocellular carcinoma is concerned, the use of small particles of iron oxide particles may help improve detection in cirrhotic patients with parenchymal changes such as fibrosis and regenerating nodules and altered perfusion [62]. The detection of hepatocellular carcinoma may be improved with the use of both small particles of iron oxide particles and gadolinium (Fig. 10).

### 3.4. Molecular imaging using microbubble contrast agents

Applications of microbubble contrast agents in molecular imaging are still in their infancy [68] but will probably demonstrate significant developments in the future and hopefully the new emerging field is the generation of targeted microbubbles to specific neoangiogenesis or tumoral antigens. Microbubbles may be targeted to specific antigens by the selection of lipid-shelled microbubbles containing specific phospholipids that facilitate their attachment to pre-

cise cells. Monoclonal antibodies may be attached to the microbubble shell surface to target disease-specific antigens such as endothelial cell adhesion molecules, tumoral angiogenic markers such as  $\alpha(v)$ -integrins and vascular endothelial growth factor receptor 2 [26,69–71].

### 3.5. Metastatic lymph node imaging

Accurate evaluation of regional lymph node involvement remains a challenge in oncological imaging but the development of magnetic resonance lymphography and positron emission tomography imaging techniques has helped to pinpoint small volume disease and enabled more accurate determination of nodal metastases. Ultrasmall superparamagnetic iron oxide is a lymphotropic contrast medium that comprises dextran-coated nanoparticles (Sinerem and combidex), which is usually administered by intravenous infusion over 20–30 min. The injected ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles pass into the interstitial space and are carried by lymphatics into lymph nodes. Within the lymph nodes, the nanoparticles are phagocytosed by macrophages. MR imaging is performed at 24–36 h after contrast administration to detect the presence of iron oxide in the lymph nodes. This is achieved by using a special magnetic resonance sequence (T2\*-weighted gradient echo), which is sensitive to the susceptibility effects of the iron oxide within the magnetic field. Normal lymph nodes containing macrophages will show darkening or signal loss at imaging. By contrast, pathological lymph nodes, which contain few macrophages in tumor-bearing areas, will not show significant darkening or signal loss. In this way, malignant nodes can be distinguished from non-malignant nodes by the pattern of contrast enhancement, independent of nodal size or morphology agents [72]. Harisinghani et al. reported a sensitivity of 100% with a specificity of 95.7% for characterization of lymph nodes

in patients with prostate cancer [73]. A preliminary study [74] on mesorectal lymph nodes at MR imaging with ultra-small superparamagnetic iron oxide versus histopathologic findings concluded that mesorectal lymph nodes can be characterized by using ultrasmall superparamagnetic iron oxide and T2\*-weighted MR imaging.

### 3.6. Multimodality molecular imaging

The use of multimodality imaging methods is in the early stages of becoming the standard. Clinical experience indicates a single direction: addition of computed tomography to positron emission tomography improves specificity, but also sensitivity, and the addition of positron emission tomography to computed tomography adds sensitivity and specificity in tumor imaging [75]. Combined PET/CT imaging is increasingly used, as far as the gastrointestinal oncologic field is concerned, particularly in colorectal and pancreatic cancer. The addition of PET/CT to positron emission tomography improved from 78% to 89% in staging and restaging colorectal carcinoma [76]. In pancreatic carcinoma, positron emission tomography is more sensitive than helical computed tomography for detection of primary pancreatic carcinoma but does not have spatial resolution sufficient to help determine resectability [77]. In a recent report [78], integrated PET/CT depicted additional distant metastases not appreciated with conventional imaging, and management was changed in 16% of patients with pancreatic cancer that was deemed resectable after routine staging. Recent advances in technology have spurred the development of combined positron emission tomography/magnetic resonance scanner [79,80]. These advances may provide an excellent means of combining the target-specific contrast agents currently available clinically for positron emission tomography studies with the anatomical and functional capabilities of magnetic resonance methods.

## 4. Conclusion

The radiological diagnosis and management of abdominal tumors has undergone significant changes in the past 10 years. Detection, characterization, staging and even potentially prediction of treatment response by means of multidetector row computed tomography, contrast-enhanced ultrasound or Magnetic resonance imaging are nowadays of paramount importance in the work-up of patients with hepatogastrointestinal tumors in order to determine the most appropriate therapy and the risk of tumor recurrence and overall prognosis. Moreover, substantial progress in molecular and cellular radiological imaging has been achieved in the past few years. Superparamagnetic iron oxide particles represent the first of an expanding line of magnetic resonance contrast agents that target-specific cellular processes. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging is a powerful tool that provides unique information related to tumor cellularity and the

integrity of the cellular membrane and that appears to have the ability to predict treatment response to chemo or radiotherapy treatment. Novel avenues for magnetic resonance imaging have arisen that allow an even better integration with other means of assessment.

## Reviewers

Philippe Soyer, Service de Radiologie viscérale, Hôpital Lariboisière, 2 rue Ambroise Paré, 75010 Paris, France.

Dow-Mu Koh, Institute of cancer research and department of radiology, Royal Marsden Hospital, London, England.

Regina Beets-Tan, Associate professor, Gastrointestinal and oncological radiologist, Department of radiology, University Hospital Maastricht, P.O. Box 5800, 6202 AZ Maastricht, The Netherlands.

Yves Menu, Service de Radiologie Adulte, Hôpital Bicêtre, 78 rue du Général Leclerc, 94275 Le Kremlin-Bicêtre Cedex, France.

## Conflict of interest

We, authors, disclose any actual or potential conflict of interest including financial, personal or other relationships with other people or organizations within 3 years of beginning the work submitted that could inappropriately bias our work.

We also state that we have no conflict of interest whatsoever.

## References

- [1] Pickhardt PJ, Choi JR, Hwang I, et al. Computed tomographic virtual colonoscopy to screen for colorectal neoplasia in asymptomatic adults. *N Engl J Med* 2003;349:2191–200.
- [2] Glick S. Will 3 D virtual dissection display prove to be the display format for reviewing CT colonography examinations? *Radiology* 2007;244:629–30.
- [3] Rex DK, Lieberman D. ACG colorectal cancer prevention action plan: update on CT-colonography. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1410–3.
- [4] Pickardt PJ, Taylor AJ, Kim DH, Reichelderfer M, Gopal DV, Pfau PR. Screening for colorectal neoplasia with CT colonography: initial experience from the first year of coverage by third-party payers. *Radiology* 2006;241:417–25.
- [5] Kim DH, Pickhardt PJ, Taylor AJ, et al. CT colonography versus colonoscopy for the detection of advanced neoplasia. *N Engl J Med* 2007;357:1403–12.
- [6] Johnson CD, MacCarty RL, Welch TJ, et al. Comparison of the relative sensitivity of CT colonography and double-contrast barium enema for screen detection of colorectal polyps. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2:314–21.
- [7] Copel L, Sosna J, Kruskal JB, Raptopoulos V, Farrell RJ, Morrin MM. CT colonography in 546 patients with incomplete colonoscopy. *Radiology* 2007;244:471–8.
- [8] Kim SH, Lee JM, Eun HW, et al. Two- versus three-dimensional colon evaluation with recently developed virtual dissection software for CT colonography. *Radiology* 2007;244:852–64.

- [9] Mang T, Peloschek P, Plank C, et al. Effect of computer-aided detection as a second reader in multidetector-row CT colonography. *Eur Radiol* 2007;17:2598–607.
- [10] Hartmann D, Bassler B, Schilling D, et al. Colorectal polyps: detection with dark-lumen MR colonography versus conventional colonoscopy. *Radiology* 2006;238:143–9.
- [11] Kinner S, Lauenstein TC. MR colonography. *Radiol Clin North Am* 2007;45:377–87.
- [12] Ajaj W, Ruehm SG, Gerken G, Goyen M. Strengths and weaknesses of dark-lumen MR colonography: clinical relevance of polyps smaller than 5 mm in diameter at the moment of their detection. *J Magn Reson Imaging* 2006;24:1088–94.
- [13] Florie J, Jensch S, Nievelstein RA, et al. MR colonography with limited bowel preparation compared with optical colonoscopy in patients at increased risk for colorectal cancer. *Radiology* 2007;243:122–31.
- [14] Kuehle CA, Langhorst J, Ladd SC, et al. Magnetic resonance colonography without bowel cleansing: a prospective cross-sectional study in a screening population. *Gut* 2007;56:1079–85.
- [15] Ajaj W, Lauenstein TC, Pelster G, et al. MR colonography in patients with incomplete conventional colonoscopy. *Radiology* 2005;234:452–9.
- [16] Bodily KD, Fletcher JG, Solem CA, et al. Crohn disease: mural attenuation and thickness at contrast-enhanced CT enterography-correlation with endoscopic and histologic findings of inflammation. *Radiology* 2006;238:505–16.
- [17] Megibow AJ, Babb JS, Hecht EM, et al. Evaluation of bowel distension and bowel wall appearance by using neutral oral contrast agent for multidetector row CT. *Radiology* 2006;238:87–95.
- [18] Arlsan H, Etlik O, Kayan M, Harman M, Tuncer Y, Temizoz O. Peroral CT enterography with lactulose solution: preliminary observations. *AJR* 2005;185:1173–9.
- [19] Glockner JF, Hu HH, Stanley DW, et al. Parallel MR imaging: a user's guide. *Radiographics* 2005;25:1279–97.
- [20] Pilleul F, Penigaud M, Milot L, Saurin JC, Chayvialle JA, Valette PJ. Possible small-bowel neoplasms: contrast-enhanced and water-enhanced multidetector CT enteroclysis. *Radiology* 2006;241:796–801.
- [21] Boudiaf M, Jaff A, Soyer P, Bouhnik Y, Hamzi L, Rymer R. Small-bowel diseases: prospective evaluation of multi-detector row helical CT enteroclysis in 107 consecutive patients. *Radiology* 2004;233:338–44.
- [22] Romano S, De Lutio E, Rollandi GA, et al. Multidetector computed tomography enteroclysis (MDCT-E) with neutral enteral and IV contrast enhancement in tumor detection. *Eur Radiol* 2005;15:1178–83.
- [23] Hara AK, Leighton JA, Sharma VK, Fleischer DE. Small bowel: preliminary comparison of capsule endoscopy with barium study and CT. *Radiology* 2004;230:260–5.
- [24] Caspari R, von Falkenhausen M, Krautmacher C, Schild H, Heller J, Sauerbruch T. Comparison of capsule endoscopy and magnetic resonance imaging for the detection of polyps of the small intestine in patients with familial adenomatous polyposis or with Peutz-Jeghers' syndrome. *Endoscopy* 2004;36:1054–9.
- [25] Correas JM, Bridal L, Lesavre A, Méjean A, Claudon M, Helenon O. Ultrasound contrast agents: properties, principles of action, tolerance, and artifacts. *Eur Radiol* 2001;11:1316–28.
- [26] Quaia E. Microbubble ultrasound contrast agents: an update. *Eur Radiol* 2007;17:195–208.
- [27] Catala V, Nicolau C, Vilana R, et al. Characterization of focal liver lesions: comparative study of contrast-enhanced ultrasound versus spiral computed tomography. *Eur Radiol* 2007;17:1066–73.
- [28] Dai Y, Chen MH, Yin SS, et al. Focal liver lesions: can SonoVue-enhanced ultrasound be used to differentiate malignant from benign lesions? *Invest Radiol* 2007;42:596–603.
- [29] Burns P, Wilson S. Focal liver masses: enhancement patterns on contrast-enhanced images-concordance of US scans with CT scans and MR images. *Radiology* 2007;242:162–74.
- [30] Quaia E, D'Onofrio M, Palumbo A, Rossi S, Bruni S, Cova M. 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;16:1599–609.
- [31] Konopke R, Bunk A, Kersting S. The role of contrast-enhanced ultrasound for focal liver lesion detection: an overview. *Ultrasound Med Biol* 2007;33:1515–26.
- [32] Francazani AL, Burdick L, Borzio M, et al. Contrast-enhanced Doppler ultrasonography in the diagnosis of hepatocellular carcinoma and premalignant lesions in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2001;34:1109–12.
- [33] Nicolau C, Vilana R, Bru C. The use of contrast-enhanced ultrasound in the management of the cirrhotic patient and for detection of HCC. *Eur Radiol* 2004;14:63–71.
- [34] Itoh, Hirooka Y, Itoh A, et al. Usefulness of contrast-enhanced trans-abdominal ultrasonography in the diagnosis of intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas. *Am J Gastroenterol* 2005;100:144–52.
- [35] Kitano M, Kudo M, Maekawa K, et al. Dynamic imaging of pancreatic diseases by contrast enhanced coded phase inversion harmonic ultrasonography. *Gut* 2004;53:854–9.
- [36] D'Onofrio M, Mansueto G, Vasori S, Falconi M, Procacci C. Contrast-enhanced ultrasonographic detection of small pancreatic insulinoma. *J Ultrasound Med* 2003;22:413–7.
- [37] Finlay I. Preoperative staging for rectal cancer. *BMJ* 2006;333:766–7.
- [38] MERCURY Study group. Diagnostic accuracy of preoperative magnetic resonance imaging in predicting curative resection of rectal cancer: prospective observational study. *BMJ* 2006;14:7572–7579.
- [39] Beets-Tan RG, Beets GL. Rectal cancer: review with emphasis on MR imaging. *Radiology* 2004;232:335–46.
- [40] Lohan DG, Alhajeri AN, Cronin CG, Roche CJ, Murphy JM. MR enterography of small-bowel lymphoma: potential for suggestion of histologic subtype and the presence of underlying celiac disease. *AJR* 2008;190:287–93.
- [41] Chen CY, Hsu JS, Wu DC, et al. Gastric cancer: preoperative local staging with 3D multidetector row CT-correlation with surgical and histopathological results. *Radiology* 2007;242:472–82.
- [42] Kim KW, Kim AY, Park SH, et al. Small (or=2 cm) hepatic lesions in colorectal cancer patients: detection and characterization on mangafodipir trisodium-enhanced MRI. *AJR* 2004;182:1233–40.
- [43] Soyer P, Pocard M, Boudiaf M, et al. Detection of hypovascular hepatic metastases at triple-phase helical CT: sensitivity of phases and comparison with surgical and histopathological findings. *Radiology* 2004;231:413–20.
- [44] Sahani D, Mehta A, Blake M, Prasad S, Harris G, Saini S. Preoperative hepatic vascular evaluation with CT and MR angiography: implications for surgery. *Radiographics* 2004;24:1367–80.
- [45] Larsen LP, Rosenkilde M, Christensen H, et al. Can contrast-enhanced ultrasonography replace multidetector-computed tomography in the detection of liver metastases from colorectal cancer? *Eur J Radiol* 2007.
- [46] Bellomi M, Petralia G, Sonzogni A, Zampino MG, Rocca A. CT perfusion for the monitoring of neoadjuvant chemotherapy and radiation therapy in rectal carcinoma: initial experience. *Radiology* 2007;244:486–93.
- [47] Sahani DV, Holalkere NS, Mueller PR, Zhu AX. Advanced hepatocellular carcinoma: CT perfusion of liver and tumor tissue—initial experience. *Radiology* 2007;243:736–43.
- [48] Margolis DJ, Hoffman JM, Herfkens RJ, Jeffrey RB, Quon A, Gambhir SS. Molecular imaging techniques in body imaging. *Radiology* 2007;245:333–56.
- [49] Reinsberg SA, Payne GS, Riches SF, et al. Combined use of diffusion-weighted MRI and 1HMR spectroscopy to increase accuracy in prostate cancer detection. *AJR* 2007;188:91–8.
- [50] Neil JJ. Measurement of water motion (apparent diffusion) in biological systems. *Concepts Magn Reson* 1997;9:385–401.
- [51] Lyng H, Haraldseth O, Rofstad EK. Measurement of cell density and necrotic fraction in human melanoma xenografts by diffusion weighted magnetic resonance imaging. *Magn Reson Med* 2000;43:828–36.

- [52] Valonen PK, Lehtimäki KK, Vaisanen TH, et al. Water diffusion in a rat glioma during ganciclovir-thymidine kinase gene therapy-induced programmed cell death in vivo: correlation with cell density. *J Magn Reson Imaging* 2004;19:389.
- [53] Minard KR, Holtom GR, Kathmann LE, Majors PD, Thrall BD, Wind RA. Simultaneous 1 H PFG-NMR and confocal microscopy of monolayer cell cultures: effects of apoptosis and necrosis on water diffusion and compartmentalization. *Magn Reson Med* 2004;52:495–505.
- [54] Ichikawa T, Ertuk SM, Motosugi U, et al. High-*b*-value diffusion-weighted MRI in colorectal cancer. *AJR* 2006;187:181–4.
- [55] Taouli B, Vilgrain V, Dumont E, Daire JL, Fan B, Menu Y. Evaluation of liver diffusion isotropy and characterization of focal hepatic lesions with two single-shot echo-planar MR imaging sequences: prospective study in 66 patients. *Radiology* 2003;226:71–8.
- [56] Honosuma T, Tozaki M, Ichiba N, et al. Clinical usefulness of diffusion-weighted imaging using low and high *b*-values to detect rectal cancer. *Magn Reson Med Sci* 2006;5:173–7.
- [57] Ichikawa T, Ertuk SM, Motogushi U, et al. High-*B*-value diffusion-weighted MRI for detecting pancreatic adenocarcinoma: preliminary results. *AJR* 2007;188:409–14.
- [58] Koh DM, Scurr E, Collins D, et al. Predicting response of colorectal hepatic metastasis: value of pretreatment apparent diffusion coefficients. *Am J Roentgenol* 2007;188:1001–8.
- [59] Moteki T, Horikoshi H. Evaluation of hepatic lesions and hepatic parenchyma using diffusion-weighted echo-planar MR with three values of gradient *b*-factor. *J Magn Reson Imaging* 2006;24:637–45.
- [60] Naganawa S, Kawai H, Fukatsu H, Sakurai Y, Aoki I, Miura S. Diffusion-weighted imaging of the liver: technical challenges and prospects for the future. *Magn Reson Med Sci* 2005;31:175–86.
- [61] Balci NC, Semelka RC. Contrast agents for MR imaging of the liver. *Radiol Clin North Am* 2005;43:887–98.
- [62] Gandhi SN, Brown MA, Wong JG, Aguirre DA, Sirlin CB. MR contrast agents for liver imaging: what, when, how? *Radiographics* 2006;26:1621–36.
- [63] Schneider G, Maas R, Schultze Kool L, et al. Low-dose gadobenate dimeglumine versus standard dose gadopentetate dimeglumine for contrast-enhanced magnetic resonance imaging of the liver: an intra-individual crossover comparison. *Invest Radiol* 2003;38:85–94.
- [64] Soyer P. Will ferumoxides-enhanced MR imaging replace CT during arterial portography for the detection of hepatic metastases? Prologue to a promising future. *Radiology* 1996;201:610–1.
- [65] Kim YK, Kwak HS, Kim CS, Chung GH, Han YM, Lee JM. Hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: comparison of SPIO-enhanced MR imaging and 16-detector row CT. *Radiology* 2006;238:531–41.
- [66] Onishi H, Murakami T, Kim T, et al. Hepatic metastases: detection with multi-detector row CT, SPIO-enhanced MR imaging, and both techniques combined. *Radiology* 2006;239:131–8.
- [67] Ward J, Robinson PJ, Guthrie JA, et al. Liver metastases in candidates for hepatic resection: comparison of helical CT and gadolinium- and SPIO-enhanced MR imaging. *Radiology* 2005;237:170–80.
- [68] Leong-poi H, Christiansen J, Heppner P, et al. Assessment of endogenous and therapeutic arteriogenesis by contrast ultrasound molecular imaging of integrin expression. *Circulation* 2005;111:3248–54.
- [69] Weller GE, Wong MK, Modzelewski RA, et al. Ultrasonic imaging of tumor angiogenesis using contrast microbubbles targeted via the tumor-binding peptide arginine–arginine–leucine. *Cancer Res* 2005;65:533–9.
- [70] Klibanov AL. Microbubble contrast agents: targeted ultrasound imaging and ultrasound-assisted drug-delivery applications. *Invest Radiol* 2006;41:354–62.
- [71] Behm CZ, Lindner JR. Cellular and molecular imaging with targeted contrast ultrasound. *Ultrasound Q* 2006;22:67–72.
- [72] Harisinghani MG, Dixon WT, Saksena MA, Brachtel E, Blezek DJ, Dhawale PJ. MR lymphangiography, imaging strategies to optimize the imaging of lymph nodes with ferumoxtran-10. *Radiographics* 2004;24:867–78.
- [73] Harisinghani MG, Barentsz J, Hahn PF, et al. Non-invasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer. *N Engl J Med* 2003;348:2491–9.
- [74] Koh DM, Brown G, Temple L, et al. Rectal cancer: mesorectal lymph nodes at MR imaging with USPIO versus histopathologic findings—initial observations. *Radiology* 2004;231:91–9.
- [75] Von Schulthess GK, Steinert HC, Hany TF. Integrated PET/CT: current applications and future directions. *Radiology* 2006;238:405–22.
- [76] Cohade C, Osman M, Leal J, Wahl RL. Direct comparison of (18) F-FDG PET and PET/CT in patients with CRC carcinoma. *J Nucl Med* 2003;44:1797–803.
- [77] Mertz HR, Sechopoulos P, Delbeke D, Leach SD. EUS, PET, and CT scanning for evaluation of pancreatic carcinoma. *Gastrointest Endosc* 2000;52:367–71.
- [78] Heinrich S, Goerres GW, Schafer M, Sagemester M, Bauerfeind P, Pestalozzi BC. Positron emission tomography/computed tomography influences on the management of respectable pancreatic cancer and its cost-effectiveness. *Ann Surg* 2005;242:235–43.
- [79] Seemann MD. Whole-body PET/MRI: the future in oncological imaging. *Technol Cancer Res Treat* 2005;4:577–82.
- [80] Seemann MD, Gaa J. Images in cardiovascular medicine. Cardiac metastasis: visualization with positron emission tomography, magnetic resonance imaging, positron emission tomography/computed tomography and positron emission tomography/magnetic resonance imaging. *Circulation* 2005;22:112.

### Biographies

*Christine Hoeffel*, 41-year-old took her medical degree in Paris in 1992. She is assistant professor at the university hospital of Reims. She is currently undertaking a Ph.D. on blood flow quantification using contrast-enhanced ultrasound. She has published or co-published over 50 papers, mainly focused on abdominal imaging.

*Sébastien Mulé*, 25-year-old, graduated in signal and image processing from the National school of electrical engineering and its applications (ENSEA), Cergy-Pontoise, France in 2004. He took his Ph.D. degree in biomedical imaging in Paris, France, and worked on the evaluation of tumor microcirculation using contrast-enhanced ultrasound.

*Barbara Romaniuk*, 31-year-old, studied applied mathematics and computer science at the University of Caen (France), she obtained her Ph.D. degree in biomedical imaging in 2002 and worked on statistical models applied to anatomical variability in cephalometry (orthodontics). She is currently assistant professor in computer science at the University of Reims.

*Viviane Ladam-Marcus*, 55-year-old, is involved in hepatic and gastrointestinal imaging, particularly hepatic magnetic resonance imaging and contrast-enhanced ultrasound in the pre or postoperative evaluation of tumors.

*Olivier Bouché*, 47-year-old, is professor in Gastroenterology at the University Hospital of Reims. He is a member of

Outre les indications cliniques détaillées dans ces articles, l'échographie de contraste peut également trouver sa place dans les maladies hépatiques diffuses. L'intérêt de l'échographie de contraste pour les maladies diffuses du foie a débuté en 1999. En effet, Albrecht et al. ont alors montré que le temps de transit (temps de passage du produit de contraste dans les veines hépatiques) était raccourci en cas de cirrhose par rapport aux patients non cirrhotiques (Albrecht 1999, a et b). Ces travaux ont été confirmés ensuite par diverses équipes (Sugimoto, 2002 ; Zheng, 2005). Les fistules intra-hépatiques observées en cas de cirrhose expliqueraient ce raccourcissement. Ce signe a également été rapporté en cas de métastases hépatiques (Haendl, 2008). Deux études ont montré que cette mesure permettrait de séparer les hépatites de sévérité moyenne d'une part, des cirrhoses d'autre part, en fonction du score de Child (Lim, 2005 ; Blomley, 2003). Staub et al. ont rapporté récemment une série de 99 patients ayant eu une biopsie hépatique des performances diagnostiques intéressantes pour l'échographie de contraste qui permettrait de différencier fibrose modérée et sévère, avec un seuil de 13 secondes pour le temps de transit des microbulles entre les veines portes et les veines hépatiques (Staub, 2009). Il s'agit d'une méthode relativement simple à mettre en place, et disponible sur tous les échographes.

## **3.2 Pathologie rénale**

### **3.2.1 Pathologie rénale vasculaire**

L'exploration de la macrovascularisation rénale a été, comme dans le foie, l'une des premières applications cliniques de l'échographie de contraste. Il a en effet été montré initialement que l'échographie de contraste améliorerait la détection des artères rénales principales et accessoires (Claudon, 2000). L'échographie de contraste prend une place croissante dans l'exploration de la pathologie rénale, en raison des limites de l'échographie

doppler conventionnelle : difficulté de visualiser les petites lésions tumorales dont la rétrodiffusion n'est pas différente de celle du parenchyme sain, de l'étude de la microvascularisation parenchymateuse. Elle se heurte à l'absence d'indication dans l'AMM (autorisation de mise sur le marché), en dehors de l'étude des gros vaisseaux, qui représente sans doute l'application la moins intéressante. L'échographie de contraste a un intérêt en cas d'occlusion de l'artère rénale pour laquelle l'examen Doppler est limité par la difficulté d'enregistrement du vaisseau dans son segment ostial ou post-ostial. En effet, si aucun signal ne peut être obtenu autour de l'ostium de l'artère rénale, l'injection d'agent de contraste ultrasonore, en facilitant la détection des artères renforce la confiance dans le diagnostic d'occlusion. L'échographie de contraste occupe en revanche une place réduite dans l'exploration de la sténose de l'artère rénale car l'amélioration de la sensibilité des systèmes ultrasonores a considérablement réduit le taux d'échec des dopplers des artères rénales dans ce cadre. L'évaluation fonctionnelle du retentissement de la sténose de l'artère rénale pourrait constituer une indication future avec la progression des logiciels de quantification du signal.

En cas de suspicion de thrombose de la veine rénale, l'échographie de contraste améliore le repérage des veines rénales dans les cas difficiles et permet de faire la différence entre thrombus tumoral et cruorique, le thrombus tumoral se rehaussant fortement après injection. (Correas, 2006). La cinétique des microbulles dans le lit vasculaire rénal diffère de celle du parenchyme hépatique. Les microbulles ne sont pas phagocytées par les cellules rénales, et transitent simplement dans le système vasculaire. Il n'existe pas de phase de rehaussement tardif par accumulation rénale. Les microbulles demeurent strictement dans le compartiment vasculaire et ne passent ni dans l'urine ni dans le l'interstitium. L'échographie de contraste est un examen reproductible pour détecter les infarctus rénaux, avec une performance diagnostique proche de celle du scanner (Bertoletto, 2008 ; Quaia, 2006). Elle augmente en effet l'intensité du signal doppler des petits vaisseaux de la corticale rénale et améliore la



détection des flux très ralentis et des territoires infarcis. Cette amélioration porte en particulier sur les territoires profonds où l'atténuation du signal ultrasonore est plus importante (Correas, 2007). Elle est également très intéressante pour le diagnostic de nécrose corticale en post-opératoire d'une greffe rénale. L'échographie de contraste permet en cas de faux anévrisme de rechercher un saignement périrénal associé et détecte facilement l'extravasation des microbulles, même pour de très faibles saignements.

### 3.2.2 Tumeurs du rein

L'échographie de contraste présente un intérêt limité pour la détection des petites tumeurs du rein car la cinétique de rehaussement est pratiquement identique à celle du parenchyme sain qui l'entoure. La caractérisation des tumeurs rénales est aussi prise en défaut car, contrairement aux tumeurs du foie, il n'existe pas d'aspect évocateur de tumeur maligne. Le rehaussement des hamartomes, des oncocytomes et des carcinomes apparaît similaire. En revanche, l'échographie de contraste aide à différencier les pseudotumeurs rénales (lobulations fœtales, hypertrophie des colonnes de Bertin) des vraies masses rénales puisque les pseudotumeurs ont un rehaussement équivalent à celui du cortex rénal (Correas, 2006). L'échographie de contraste offre une meilleure résolution spatiale que le mode doppler couleur ou puissance, s'affranchissant notamment des artéfacts de « blooming ». Elle apparaît comme une méthode de choix pour la caractérisation des masses kystiques indéterminées car elle détecte les composantes tissulaires du kyste, la vascularisation des cloisons et de la paroi avec une sensibilité plus grande que celle du scanner (Quaia, 2008 ; Ascenti, 2007).

L'identification d'une tumeur rénale au sein du cortex qui l'entoure dépend de deux paramètres, le débit et le volume sanguin local. Typiquement, la tumeur se rehausse de façon moins intense et surtout moins homogène que le cortex normal, avec un retard parfois minime s'il s'agit d'une lésion très vascularisée. La phase artérielle permet le plus souvent la

meilleure détection de la lésion, alors que son rehaussement est volontiers un peu plus tardif. Les tumeurs bénignes ne présentent pas de caractéristiques de rehaussement particulières permettant de les distinguer des tumeurs malignes (Fan, 2008). La visualisation des lésions tumorales solides et de leur contingent nécrotique est améliorée par l'injection des microbulles (Quaia, 2003 ; Tamai, 2005), et la mise en évidence d'une pseudo-capsule (rehaussement périphérique) est facilitée (Ascenti, 2004).

### 3.2.3 Autres applications

L'échographie de contraste, en améliorant le contraste entre les zones de néphrite et le cortex périphérique, permettrait un diagnostic de néphrite avec des performances diagnostiques comparables à celles du scanner (Mitterberger, 2008). Elle améliore également la détection des abcès.

Le diagnostic de reflux vésico-urétéral peut être effectué en échographie après injection de produit de contraste dans la vessie (Giordano, 2007 ; Valentini, 2004) avec une bonne concordance entre les résultats de la cystographie ascendante et mictionnelle et ceux de l'échographie de contraste. La gradation du reflux, en outre, est possible, en échographie de contraste. L'injection du produit de contraste va se traduire par l'apparition, au sein de la vessie anéchogène, d'un flux de bulles hyperéchogènes se diluant dans le sérum salé, puis sédimentant progressivement au fond de la vessie ; le reflux, lui, se traduit par l'apparition des microbulles sous la forme d'échos assez intenses, mobiles, au niveau des uretères rétrovésicaux et lombaires et des cavités pyélo-calicielles.

### **3.3. Echographie de contraste et néoangiogénèse. Evaluation de la réponse tumorale**

Une étroite corrélation a été observée entre croissance tumorale et angiogénèse. Celle-ci semble nécessaire aux apports nutritifs et aux apports d'oxygène indispensables dans la

croissance tumorale (Hanahan, 1997). Le processus de néoangiogénèse résulte d'un déséquilibre entre facteurs proangiogéniques et facteurs antiangiogéniques ; c'est une cascade d'évènements cellulaires et moléculaires qui associent plusieurs médiateurs à action pro ou antiangiogénique produits par les cellules tumorales, le sang et le stroma du tissu hôte. L'angiogénèse débute par une perte de l'inhibition de contact des cellules endothéliales qui vont migrer puis proliférer puis se réorganiser architecturalement pour former des néovaisseaux (rôle des facteurs de croissance et de facteurs chimio-tactiques). Le «basic Fibroblast Growth Factor» (bFGF) et le «Vascular Endothelial Growth Factor» (VEGF) sont les deux premiers facteurs à avoir été découverts (Kerbel, 2000). Ces facteurs de croissance activent les cellules endothéliales en se liant à des récepteurs de membrane. Les vaisseaux cibles augmentent alors de diamètre pour former des vaisseaux mères qui sont hyperperméables et largement fenêtrés, et dont l'existence est éphémère (Pettersson, 2000), mais qui peuvent évoluer vers la création d'artères musculaires ou de veines et vers un bourgeonnement actif. Les nouvelles thérapeutiques antiangiogéniques visent à freiner, voire interrompre l'apport sanguin tumoral, et induisent une nécrose des lésions avant qu'il y ait une modification de la taille tumorale initiale.

L'imagerie fonctionnelle, qui consiste à évaluer les modifications de la microcirculation et en particulier de la néoangiogénèse, est en plein essor. En effet, il est admis que les critères RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors) (Therasse, 2000) qui se basent sur l'évolution des dimensions tumorales sont imparfaits. Il apparaît plutôt nécessaire de mesurer directement la néovascularisation tumorale. Les méthodes d'imagerie en coupes disponibles pour l'étude de la microcirculation et de la néoangiogénèse chez l'animal et chez l'homme sont l'IRM, le scanner et l'échographie de contraste qui offrent une imagerie à la fois anatomique et fonctionnelle. L'IRM permet de mesurer la perfusion soit en utilisant des agents de contraste intravasculaires, soit, de manière moins habituelle par le marquage des

spins (spin labeling). L'IRM est limitée cependant par la complexité de la relation entre la variation d'intensité du signal et la concentration de l'agent de contraste. En effet, les phénomènes de relaxivité longitudinale et transversale, les effets de susceptibilité magnétique, les effets d'entrée de coupe et de phase jouent sur cette relation, qui n'est linéaire que pour des plages limitées de concentration. Pour des valeurs de concentration plus élevée, on observe une saturation et même une décroissance du signal (De Bazelaire, 2006). C'est pourquoi de faibles doses d'agent de contraste sont souvent utilisées. Ceci permet d'éviter une saturation du signal au pic aortique, mais entraîne un faible rehaussement dans la tumeur, limitant l'analyse des courbes de perfusion en raison d'un mauvais rapport signal sur bruit.

La tomodensitométrie (TDM) après injection de produit de contraste permet la mesure de la perfusion tissulaire, de la fraction volumique sanguine, du volume interstitiel, de la perméabilité capillaire, du temps de transit moyen dans un grand nombre d'organes et de tumeurs chez l'homme. L'évaluation quantitative de la microcirculation tumorale est plus accessible qu'en IRM compte-tenu d'une relation linéaire existante entre l'augmentation de densité produite par un agent de contraste iodé et la concentration de cet agent (Cuenod, 2006). L'échographie de contraste a, comme avantage potentiel, que les agents de contraste ultrasonore sont strictement intravasculaires. Aucun paramètre de perméabilité capillaire n'est donc à prendre en compte. Associée à la capacité des ultrasons à détruire les microbulles, cette particularité a permis, comme nous l'avons déjà souligné, le développement de modèles cinétiques pour l'évaluation de paramètres de la microcirculation. Son coût n'est pas important et elle est bien tolérée. La complexité de la relation entre le rehaussement de l'intensité du signal ultrasonore et la concentration de l'agent de contraste ultrasonore est une limite à la quantification. Si l'on considère l'intensité linéaire du signal, cette relation n'est linéaire que pour de faibles valeurs de pression acoustique (de Jong et Hoff, 1993). La quantification de la microcirculation en pratique clinique se heurte encore à des facteurs

limitants majeurs dont l'atténuation du signal par les microbulles, la destruction potentielle des microbulles et le mouvement. La place de l'échographie de contraste par rapport aux autres modalités d'imagerie ainsi que les résultats des études évaluant imagerie fonctionnelle en coupes et réponse tumorale aux traitements sont détaillés dans notre article (cf ci-dessous). Plusieurs études se sont en effet intéressées à la quantification en échographie de contraste de la réponse thérapeutique après administration de drogues antiangiogéniques (Lucidarme, 2006 ; Stieger, 2006, Mc Carville, 2006 ; Kono, 2007 ; Broillet, 2005) et ont souligné la dépendance des paramètres de perfusion à la cinétique de distribution de l'agent de contraste dans le compartiment sanguin, elle-même dépendante du débit sanguin, et des néovaisseaux présents et fonctionnels. Mais il s'agit toujours d'une quantification de la variation relative de la perfusion tissulaire d'une région anatomique à l'autre ou au cours du temps ou d'un traitement. Une étude publiée récemment (Nishida, 2009) rapporte une bonne corrélation entre une évaluation qualitative (scores selon le degré de rehaussement) du rehaussement en échographie de contraste et des marqueurs de l'angiogénèse dans les cancers du pancréas. Le caractère strictement intravasculaire des agents de contraste ultrasonores ainsi que la perméabilité accrue des néo-vaisseaux qui laissent diffuser les produits de contraste dans le compartiment interstitiel pourraient expliquer des difficultés de quantification ou de détection des néovaisseaux au sein de ces lésions. Une corrélation étroite a cependant été rapportée entre les mesures effectuées en échographie de contraste et en IRM pour la détermination du volume tumoral dans un modèle de tumeur chez la souris quelle que soit la valeur du débit (Yankelov, 2006) ainsi qu'une corrélation avec les études IRM et TEP dans un second modèle (Niermann, 2007)



# Imaging techniques to evaluate the response to treatment in oncology: Current standards and perspectives

C.D. Marcus <sup>a,\*</sup>, V. Ladam-Marcus <sup>a</sup>, C. Cucu <sup>a</sup>, O. Bouché <sup>b</sup>, L. Lucas <sup>c</sup>, C. Hoeffel <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Radiology, Robert-Debre Hospital, University of Reims, France

<sup>b</sup> Department of Gastroenterology, Robert-Debre Hospital, University of Reims, France

<sup>c</sup> CRESTIC, LERI IUT Reims-Châlons-Charleville, France

Accepted 17 July 2008

## Contents

1. Introduction.....	00
2. Response monitoring .....	00
2.1. Anatomical response monitoring .....	00
2.1.1. WHO and RECIST criteria .....	00
2.1.2. Volumetric measurement .....	00
2.2. Functional response monitoring .....	00
2.2.1. Tumour angiogenesis .....	00
2.2.2. Contrast agent kinetics .....	00
2.2.3. Hemodynamic parameters measured with DCE-imaging data .....	00
2.3. Dynamic contrast-enhanced imaging techniques to monitor therapy .....	00
2.3.1. DCE-magnetic resonance imaging and DCE-computed tomography .....	00
2.3.2. DCE-ultrasonography .....	00
2.3.3. Clinical studies .....	00
2.4. Diffusion MR imaging (DW-MRI) to monitor therapy .....	00
2.4.1. Basic principles .....	00
2.4.2. Clinical studies .....	00
2.4.3. Repeatability and reproducibility .....	00
2.4.4. Limits and perspectives .....	00
2.5. MR spectroscopy to monitor therapy .....	00
2.5.1. Basic principles .....	00
2.5.2. Clinical studies .....	00
2.5.3. Repeatability and reproducibility .....	00
2.5.4. Limits and perspectives .....	00
3. Perspectives .....	00
3.1. DCE-MRI .....	00
3.2. Micro-computed tomography (MicroCT) .....	00
3.3. DCE-US .....	00
3.4. DW-MRI and MRS .....	00
4. Conclusions.....	00
Reviewers .....	00
References .....	00
Biographies .....	00

\* Corresponding author at: Department of Radiology, Robert Debre Hospital, Avenue General Koenig, 51100 Reims, France. Tel.: +33 3 26 78 42 16; fax: +33 3 26 78 84 77.

E-mail address: cmarcus@chu-reims.fr (C.D. Marcus).

**Abstract**

Response evaluation in solid tumours currently uses radiological imaging techniques to measure changes under treatment. Imaging requires a well-defined anatomical lesion to be viewed and relies on the measurement of a reduction in tumour size during treatment as the basis for presumed clinical benefit. However, with the development of anti-angiogenesis agents, anatomical imaging has become inappropriate as certain tumours would not reduce in size. Functional studies are therefore necessary and dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging (DCE-MRI), DCE-computed tomography (CT) and DCE-ultrasonography (US) are currently being evaluated for monitoring treatments. Diffusion-weighted MR imaging (DW-MRI) and magnetic resonance spectroscopy (MRS) are also capable of detecting changes in cell density and metabolite content within tumours. In this article, we review anatomical and functional criteria currently used for monitoring therapy. We review the published data on DCE-MRI, DCE-CT, DCE-US, DW-MRI and MRS. This literature review covers the following area: basic principles of the technique, clinical studies, reproducibility and repeatability, limits and perspectives in monitoring therapy.

Anatomical criteria such as response evaluation criteria in solid tumours (RECIST) will require adaptation to employ not only new tools but also different complementary techniques such as functional imaging in order to monitor therapeutic effects of conventional and new anti-cancer agents.

© 2008 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** Volumetry; Angiogenesis; Functional imaging; Dynamic contrast-enhanced; Magnetic resonance imaging; Computed tomography; Ultrasonography; Diffusion-weighted imaging; Magnetic resonance spectroscopy

**1. Introduction**

Response evaluation in the assessment of anti-cancer therapies is undergoing intense investigation and change as new anti-cancer agents become available [1–3]. Current imaging modalities such as computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) are commonly used in phases II and III clinical trials [4–6]. They provide reliable and reproducible anatomical data in order to demonstrate changes in tumour size. Evolving technology enables faster acquisition times for scans, greater anatomical detail and accurate volumetric data to be acquired [3]. In parallel with this advance, a new array of more targeted and specific therapies are being developed [7–12]. New anti-cancer agents with novel modes of action such as anti-angiogenesis agents act by preventing the development of a suitable blood supply to sustain tumour growth [8,9]. Such agents do not actively destroy tumour cells and do not exhibit a cytotoxic effect in contrast with traditional anti-cancer agents. Anti-angiogenic agents can be regarded as cytostatic agents as they prevent tumour growth [10,11]. The combination of cytotoxics, hormonal agents or radiotherapy with new molecular-targeted therapies represents one of the main strategies to improve survival in solid cancers [13–18]. A clinical perspective is the use of these agents as monotherapy or combination therapy. Recently, percutaneous ablation therapy using radiofrequency RF has emerged as another therapeutic option for local destruction of tumours [19,20]. Therefore, traditional response evaluation criteria may not be appropriate to assess drug efficacy or activity in achieving patient benefit [21–23]. Other surrogates of tumour growth and metabolism have to be used. Imaging technology now exists that is capable of detecting tumour response within hours. Imaging techniques such as dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging (DCE-MRI), dynamic contrast enhanced computed tomography (DCE-CT), dynamic contrast enhanced ultrasonography (DCE-US), fluoro-deoxy-glucose tomography emission positron (FDG-TEP), can be employed to image early functional response

to treatment [24–26]. Dynamic studies allow contrast agents to be visualized in any given structure over time, so blood flow (BF), blood volume (BV) and permeability (P) can be assessed thereby demonstrating function and reflecting angiogenesis [2–7]. New MR applications such as diffusion-weighted MRI and MR spectroscopy (MRS) may be used to look at changes in tissue architecture and metabolism within tumours. Tumour serum markers and other factors also require consideration rather than relying on a single modality alone [27].

The aim of this article is to review and evaluate the current accepted response criteria. We start by reviewing the anatomical response monitoring. We also discuss on some new response evaluation techniques and criteria including functional and metabolic imaging to enable accurate assessment of current and new anti-cancer agents which are playing an ever increasing role. Only those imaging techniques that are currently available for clinical studies and could immediately be implemented in the follow-up of oncology patients will be evaluated here. Other functional imaging techniques such as FDG-TEP are discussed elsewhere in this issue. Finally, we discuss new imaging techniques and contrast agents that have been investigated to image tumours at a molecular level.

**2. Response monitoring***2.1. Anatomical response monitoring*

Accurate assessment of therapeutic tumour response is critical for evaluation of chemotherapy results in patients enrolled on phases II and III clinical trials. Tumour response is also a guide for the clinician and patient or study subject in decisions about continuation of current therapy. Anatomical objective response in clinical trial for solid tumours has been established by using World Health Organisation (WHO) criteria published in 1998. The WHO criteria used bidimensional (2D) measurements of the tumours. More recently

Please cite this article in press as: Marcus CD, et al. Imaging techniques to evaluate the response to treatment in oncology: Current standards and perspectives. *Crit. Rev. Oncol./Hematol.* (2008), doi:10.1016/j.critrevonc.2008.07.012

in February 2000, the response evaluation criteria in solid tumours (RECIST) has been published as a new international standard for treatment monitoring. The RECIST criteria used unidimensional (1D) measurements of the sum of the longest marker lesion diameters. Volumetric measurement of the tumours has been recently proposed as RECIST criteria have shown some limitations.

### 2.1.1. WHO and RECIST criteria

**2.1.1.1. Basic principles.** According to WHO methodology, developed in the early 1980s [28,29], each tumour is measured in two dimensions: its maximum diameter in the transverse plane and its largest perpendicular diameter on the same image. These diameters are multiplied to yield a cross-product. Pretreatment and post-treatment cross-products are compared to categorize treatment response into one of four categories. These consist of complete response (CR), indicating tumour disappearance; partial response (PR), indicating greater than 50% reduction in cross-product; disease progression (DP), indicating greater than 25% increase in cross-product or stable disease (SD), representing less than 50% reduction to less than 25% increase in cross-product. For patients with multiple lesions, the cross-product of several indicator lesions is added to categorize the patient's response. For the entire trial, overall response rate is based on the proportion of subjects classified as having a complete or partial response.

RECIST criteria were developed for use when objective response is the primary endpoint in phase II trials. The RECIST technique was simple and clearly defined. The new criteria included important changes such as 1D tumour measurement, selection of target lesions with a minimum size, details concerning imaging modalities and a new threshold for assignment of objective progression [30]. The goal of these guidelines was to simplify the criteria for improved ease of use and reproducibility by using a 1D measurement approach. RECIST defined measurable lesions as those with a minimum size depending on the method of investigation. A minimum size of 1 cm is required for CT and MRI which are the best available and reproducible methods to measure target lesions selected for response assessment. Measurements are limited to an arbitrary five lesions per organ and up to 10 lesions per patient in patients with tumours in multiple organs [30]. The criteria for treatment response categorization were also modified, with PR being defined as greater than 30% reduction in tumour diameter, SD being less than 30% reduction to less than 20% increase in diameter, and DP being greater than 20% increase in tumour diameter [30]. The criterion for CR was total tumour disappearance.

**2.1.1.2. Clinical studies.** Response data from several trials were reanalyzed with both WHO and RECIST criteria to assess the extent of agreement between the two techniques. James et al. [31], analyzing 569 patients in eight phase II and phase III studies of various cancers, reported an excellent coefficient of agreement ( $\kappa = 0.95$ ) between the response

and non-response. Therasse et al. [30], analyzing data from over 4000 patients on 14 trials, concluded that complete plus partial response rate comparisons by both the WHO and unidimensional RECIST criteria were similar in 97–99% of patients, and that PD rate comparisons by both the WHO and RECIST criteria were similar in 92% of patients. More recent prospective and retrospective studies have confirmed the absence of major differences in response rate between the two methods [32–38]. However, some studies have shown discordance between the two methods and a slightly longer time to progression or lower progression rate for RECIST [39,40].

Conversely, the RECIST guidelines have been found not optimal for assessment of response in mesothelioma, prostate cancer and in paediatric clinical practice [41–43]. Therefore in mesothelioma, adapted criteria were proposed to assess objective response and progression. The longest perpendicular diameter to chest wall or mediastinum is measured at two sites at three different levels on CT scan. Response reported with the modified criteria was associated with longer survival [41]. Recent studies have also demonstrated that RECIST criteria were insensitive when monitoring gastro-intestinal stromal tumours GIST treated with Imatinib, an oral tyrosine kinase inhibitor. Benjamin et al. [44] have proposed a new set of criteria based on changes in tumour size and in changes in tumour density measured on CT images. A 10% decrease in 1D measurement and a 15% decrease in tumour density on CT were found to correlate well with good response by PET and to be more predictive of time to tumour progression [44]. For lymphoma, the International Workshop Criteria (IWC), based on bidimensional product assessment, are generally used to monitor treatment effects. Assouline et al. have also adapted RECIST for use in lymphoma and have found these new criteria simpler to apply than the IWC yielding near identical response rates [45].

**2.1.1.3. Repeatability and reproducibility.** Ten papers have evaluated the reproducibility [37,46–54] of RECIST measurements. Knowledge of the degree of reproducibility of a measurement is mandatory for reliable detection of changes over time. A number of reports have estimated the repeatability of measurements of tumour size [37,46–51]. Published values for the within-subject coefficient of variation (wCV) range from 14 to 34% [39,50]. Intraobserver and interobserver variability depended on lesions shape and site location. Interobserver agreement in size determination of small pulmonary tumours has been reported to be good (1–4%) when spiral CT is used to assess well-defined tumours [46,47]. However, three studies have shown considerable interobserver variability (5–28%), especially for ill-defined and irregular lesions or for hepatic, pelvic and nasopharyngeal masses which are difficult to delineate [37,47,48]. The irregularity of lesions may decrease the concordance rate of partial response PR and SD categories between the RECIST and WHO methods [39]. These issues are important as the apparent lower rate of disease progression with RECIST

Please cite this article in press as: Marcus CD, et al. Imaging techniques to evaluate the response to treatment in oncology: Current standards and perspectives. Crit. Rev. Oncol./Hematol. (2008), doi:10.1016/j.critrevonc.2008.07.012



may mean that more patients remain on therapy. Technical development has been proposed in order to reduce variability. Semi-automated measurements were found to decrease the interobserver variability when compared with hand-held caliper measurements and electronic caliper measurements [51]. Intraobserver variability between measurements has been reported to be lesser than interobserver variability [47]. Therefore, in order to improve the assessment of tumour response, Erasmus has proposed that the same reader performs all serial measurements for any one patient enrolled onto a clinical cancer trial [48].

**2.1.1.4. Limits and perspectives.** Studies have been performed to evaluate the sources of error in tumour measurement. Schwartz and colleagues have shown that the average variance (mean variability in response) was decreased by 90% when six lesions were measured bidimensionally and four lesions unidimensionally [49]. Three studies have also demonstrated discordant response rates between primary investigators and secondary review panels with lower response rates after review by the evaluation committee [52–54]. Reasons for disagreements included errors in tumour measurements in 45% of the cases, errors in selection of measurable targets in 45% of the cases, intercurrent diseases and radiological technical problems in 10% of the cases [53]. Therefore, various imaging stipulations have to be introduced in RECIST criteria in order to add some uniformity to the process and to enable a comparison between different studies. In a consensus paper in 2004, the International Cancer Imaging Society advocated modifications to RECIST to compensate for such shortcomings. They opted for incorporation of multislice CT scanning options and automated measurement approaches [55]. For trials where the response rate was the primary endpoint it was also strongly recommended that all responses be reviewed by an expert independent of the study at the study's completion [52,54].

However, despite some limitations [41–43,56], RECIST remains the most commonly used method for assessment of tumour response [40]. In the future, RECIST will require adaptation to employ not only new tools and techniques but also different approach in order to monitor therapeutic effects of new anti-cancer agents [57,58]. Work is ongoing to produce a revised version of the RECIST criteria which will aid to measure tumour response and progression in various types of cancer therapeutics [56].

## 2.1.2. Volumetric measurement

**2.1.2.1. Basic principles.** As previously mentioned for ill-defined and irregular lesions, considerable interobserver variation has been found in tumour measurement [47]. Therefore, it has been suggested that volumetric measurement could overcome this difficulty. Recent advances in CT technology, specifically volumetric data acquisition and image processing, permit volumetric tumour burden quantification [59]. Volumetric measurement is usually based on segmentation of nodules from thin-section CT data sets with the

segmented volume representing the nodule volume [60]. The segmentation method used will depend on the location of the lesion. In the lung for example, the segmentation methods can include mathematic morphology techniques that allow the identification of vascular boundaries by modeling their shape [61]. The volume of the tumour can be calculated by summing the measured cross-sectional areas and multiplying by the section increment [62–66]. Semi-automated or automated volume measurements using commercially software have recently become widely available on CT scan workstations [67]. Subsequently, the growth rate can easily be derived from comparing volume measurements at follow-up examinations with baseline values (Fig. 1). Authors of some preliminary studies support the use of 3D measurement techniques for assessing tumour size [68,69].

**2.1.2.2. Clinical studies.** A number of studies have evaluated agreement in treatment response classifications between 1D, 2D and 3D measurements, with conflicting results [70,71]. Some authors did not find significant added benefit of volumetric tumour measurement for evaluating therapeutic response when compared to 1D and 2D measurements [36,71–73]. However, none of these studies has used automated segmentation of the tumour. In contrast, two other groups have found added value when using 3D measurements [65,70]. There are some limitations in their results as in Marten et al.'s study [70], manual correction of the automated lung nodule volume was necessary in 1.75% of the cases. In the second study, by Dempsey and colleagues [65] manual measurements of malignant gliomas were performed by a single observer. In this case, their positive result is probably due to the irregular shape of the tumour studied with a more favourable assessment when using 3D measures.

The accuracy of volume measurements may be limited by another factor. Chojniak and Younes's study [74] has demonstrated that intra-individual variation in volume doubling times of pulmonary metastases was elevated in some patients. Divergent intra-individual tumour responses were found in 35% of metastases after chemotherapy compared to the overall tumour response per patient [74,75]. Therefore, whatever the measurement technique used, selecting any or some nodules may also significantly influence therapeutic response assessment.

**2.1.2.3. Repeatability and reproducibility.** Ten papers have evaluated reproducibility of volumetric measurements [65,67,72–79].

Phantom experiments yielded excellent results with reproducibility errors ranging from 1 to 5% for volume measurement of small synthetic nodules [72,76]. However, the coefficient of variation exceeded 10% for the smaller and irregularly shaped phantoms. This issue is particularly important as tumours are likely to become smaller under treatment. Reproducibility of in vivo volume measurements in lung nodules is reported to be excellent although the absolute value of

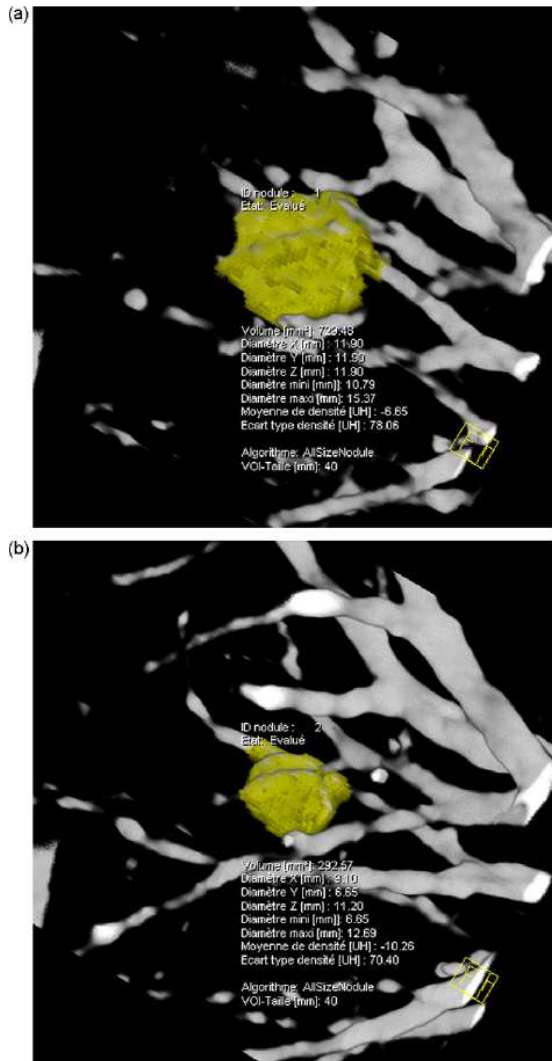


Fig. 1. Lung metastasis from melanoma in a patient treated by chemotherapy. Volume-rendered images with volume and diameter measurements of the nodule (yellow) (a) before treatment and (b) at 2 months after treatment completion. Decrease in nodule volume. Siemens Lungcare software (Siemens Medical Solutions, Forchheim, Germany).

the measurement error is considerably higher than in phantom studies ranging from 7.47 to 24% [67,77,78]. Differences between in vitro and in vivo studies are probably due to errors in segmenting nodules which are adjacent to vessels or pleural surface. Other factors such as nodule morphology and nodule size may also alter the precision of volume measurement. While the precision was extremely high for spherical solid nodules, the precision decreased for non-spherical nodules and nodules with irregular shapes as these nodules are difficult to segment [67,78]. Such factors of error have to be

taken in account in clinical trials as they may compromise reproducibility of response evaluation. Two groups have also investigated fully automated volume measurement of pulmonary nodules as it is supposed to decrease interobserver variation [67,70]. In the study by Wormanns et al. [67], the mean interobserver variability was 0.5% (95% CI: -0.3 to 1.4%). Interobserver relative measurement error RME for automated measurement was 0.22–0.29% and compared well with the 3.53–3.76% RME for manual 1D measurement [70]. However, manual correction of the automated lung nodule volume was necessary in 1.75% of the cases limiting the usefulness of the method. Another important issue remains to be addressed when using volumetric measurements. It remains unknown if the recommended diameter thresholds (20% tumour growth; 30% size diminution) and their converted volume equivalents (65 and 73%, respectively) can be effectively reduced without sacrifice of reproducibility in order to permit an earlier diagnosis of tumour progression or partial response.

**2.1.2.4. Limits and perspectives.** The value of volumetric tumour measurements remains controversial. An important theoretical advantage of volumetric measurement is that it permits measurement of overall tumour burden in an organ. Therefore, the arbitrary guideline of measuring five measurable lesions per organ will not remain mandatory. However, Marten et al. recommend to include a minimum of three lesions when using 3D measurements [79]. The tumour volume measurement technique may have also certain disadvantages. Tracing individual tumour margins is time consuming. Different formulas for volume estimation need to be applied when considering non-spherical tumours. Furthermore, the accuracy of volumetric measurement is highly dependent on the location and density of the tumour. It is also uncertain whether the number of target lesions may be safely reduced to decrease the amount of time required for volumetric assessment. To this day, semi-automated measurements can be performed realistically only in lung. However, with advances in image processing, the outlining of lesions may become more automated [70,79]. In order to better assess the influence of tumour volume on overall survival and local control, data would have to be collected prospectively and evaluated in controlled trials.

## 2.2. Functional response monitoring

### 2.2.1. Tumour angiogenesis

The process of tumour angiogenesis and neovascularization appears to play a central role in the growth and spread of tumours. The traditional “gold-standard” measure of angiogenesis is the histological estimate of microvascular density (MVD). The MVD quantifies the average number of microvessels within a selected microscopic field [80]. However, this method is inherently invasive and biopsy specimens suffer from sampling bias as tumours are heterogeneous. Angiogenesis is often maximal in the tumour periphery, and

thus MVD measures will vary according to the location from which the biopsy is taken, and may under- or overestimate the degree of angiogenesis [24]. Furthermore, MVD cannot determine whether flow is present or whether the vessel is hyperpermeable. Most tumours show higher vessel density, resulting in an increased BV. As tumour vessels also differ in their microvascular characteristics, they often exhibit increased P and subsequently increased extravascular leakage of blood into interstitial spaces. Functional imaging may quantify these changes of vascularity and permeability and has been used to differentiate between different tumour types [81]. It may also allow detect early changes occurring as a consequence of the therapy [5,81-83]. Anti-angiogenic agents are thought to induce an early direct anti-permeability effect and a simultaneous decrease in local tissue levels of vasodilators. Angiogenesis of tumours is now extensively studied with DCE-MRI or DCE-CT techniques [1-5,82-88]. There are fewer papers published on DCE-US, a recently developed functional imaging technique [25].

### 2.2.2. Contrast agent kinetics

Dynamic functional imaging using contrast media is based on the quantitative analysis of the biodistribution of the intravenously injected tracers in tissues. Contrast agents routinely used in clinical practice are low-molecular agents who have interstitial diffusion and do not penetrate cells or blood cells [4]. CT contrast agents are based on iodine, whereas MR contrast agents are mainly based on Gadolinium chelates. Differences in contrast agent kinetics between normal tissue and tumour are exploited by both techniques to provide lesion and tissue-specific information. Few DCE-MRI studies have used macromolecular contrast media (MMCM) or blood pool agents which are designed for prolonged intravascular retention. Studies using MMCM have been performed only in animal models, although MS-325, an agent that reversibly binds albumin in vivo, dextrans, and iron-oxide compounds are being tested in human clinical trials [24].

The relation between contrast concentration and enhancement is straightforward with CT [85]. There is a direct linear relation between enhancement change and iodine concentration.

Thus, absolute quantification of perfusion is possible using DCE-CT and this has been hailed as the major advantage over DCE-MRI [86].

Conversely, the relation between MR signal intensity change and contrast agent concentration is non-linear and therefore not so easily defined [87]. The MR signal intensity change is dependent not only on contrast medium dose but also on the imaging sequence used (T2\* versus T1 weighted), the machine setup, native relaxation rate of tissues, and intrinsic tumour heterogeneity [88]. Quantitative measurements are obtainable, although the underlying mathematics is more complex making a number of assumptions, and it has been repeatedly noted that quantification using pharmacoki-

netic modeling should be performed only if a direct relation between signal intensity and contrast agent concentration can be demonstrated throughout the measured range [88].

### 2.2.3. Hemodynamic parameters measured with DCE-imaging data

DCE-MRI and DCE-CT are used to determine quantitative parameters that are based on pharmacokinetic models. To monitor tumour response to treatment, whatever the functional imaging technique used, there is a need for standardized acquisition and analysis of data to make the findings comparable from site to site and from study to study [89]. To date, there is still a lack of consensus on the exact kinetic model to be used in analyzing DCE-MRI studies. However, the differences among the various methods are often small, and the Cancer Imaging Program of the National Cancer Institute is attempting to reach an international standard for kinetic modeling of DCE-MRI studies.

Most methods of analyzing DCE-MRI T1-weighted data have used a compartmental analysis to look at three of the principle perfusion parameters such as transfer constant  $K_{trans}$  ( $\text{min}^{-1}$ ), the extracellular extravascular space EES fractional volume  $V_e$  ( $0 < V_e < 1$ ) and the rate constant  $K_{ep}$  ( $\text{min}^{-1}$ ) [50,90]. Semi-quantitative measures, such as the slope of enhancement or maximum change in image intensity and the initial area under the concentration curve (AUC) are also frequently used in clinical trials [89-93].

There is no general agreement either on which CT perfusion method, between deconvolution analysis and compartmental analysis, is the best to obtain quantitative measurements. To date, measurement standardization has not been implemented and commercial softwares use one of these two main approaches [86,89].

Dynamic contrast enhanced ultrasonography (DCE-US) can detect signal originating from very low concentration of micron-sized gas filled microbubble contrast agents. Microbubbles are true intravascular contrast agents and are therefore useful for measuring blood volume and flow. Perfusion parameters such as peak intensity, time to peak intensity, area under the curve, slope coefficient of wash-in may also be assessed. As microbubbles do not pass through endothelial membranes, DCE-US cannot be used to assess capillary permeability [3].

DCE-imaging studies will also have to deal with the issue of tumour heterogeneity. Contradictory effects are often reported in studies looking at anti-angiogenic agents [94-96]. Some papers have demonstrated both a reduction in MVD and an increase in blood perfusion in tumours. This suggests that therapy effects may lead to an increase in blood perfusion in the residual tumour vessels and those areas of high blood flow may also correspond to sites of shunting of blood flow. Although endothelial cells and immature vessels contribute heavily to the microvascular density in regions of a tumour that are particularly angiogenic, they will not be detectable on hemodynamic imaging if they lack substantial blood flow.

### 2.3. Dynamic contrast-enhanced imaging techniques to monitor therapy

Indirect imaging of angiogenesis is more commonly performed than direct techniques. In this review, we will focus on the functional imaging techniques such as MRI, CT and US that are currently used to monitor changes within tumours during treatment.

#### 2.3.1. DCE-magnetic resonance imaging and DCE-computed tomography

**2.3.1.1. Basic principles.** DCE-MRI offers a great potential for imaging angiogenesis. This technique may improve characterization of tumours and delineation of residual or recurrent tumour. It may also be used to predict the efficacy of treatment in cancer studies [1–3]. Many MR techniques are available to image angiogenic process. They can be divided in two groups: those using extrinsic contrast agents such as DCE-MRI or MRI with targeted agents and those using intrinsic contrast such as arterial spin labeling (ASL) and blood oxygenation level-dependent (BOLD) imaging. ASL and BOLD imaging techniques can be employed to assess indirect measure of tumour angiogenesis, such as blood flow and blood volume. ASL directly measures blood perfusion quantitatively but is limited in its applicability. BOLD depends on both tissue oxygenation and blood flow. However, its use remains experimental for this application [21].

Currently, CT is the most frequently used imaging tool for clinical assessment of the structural features of cancer. The perfusion technique can be incorporated into routine conventional CT providing physiological parameters and *in vivo* markers of angiogenesis [85] (Fig. 2).

**2.3.1.2. Clinical studies.** To date, it appears that, despite problems with instrument variability, dynamic contrast MRI has been used to monitor most clinical studies studying novel [96–103] and conventional therapies [104–106]. We invite the reader to refer to the excellent paper by Laking et al. in a previous issue of this journal [50]. The table summarizing DCE-MRI results has not been done as there is no recent study published on the subject. Five DCE-MRI studies monitored anti-angiogenic agents in various tumours. Jayson et al.'s study has shown a decrease in  $K_{trans}$  at 48 h with no evidence of a dose response effect [98]. Conversely, two studies by Liu et al. [99] and Morgan et al. were suggestive of a dose–response relationship [100]. Both studies have shown a decrease in  $K_{trans}$  or  $K_j$  (bidirectional transfer constant) as early as 48 h after the start of treatment. Two other studies have shown no perfusion changes in response to the treatment given [97,101]. In Eder et al.'s study [97], patient motion due to breathing has probably altered perfusion measurement in lung and liver lesions. In Jayson et al.'s study [101], the trial was stopped early because seven of the eight patients showed evidence of fluid retention. Four DCE-MRI studies have monitored VDA agents [102–104,108]. Changes in vascular parameters can be rapid when mea-

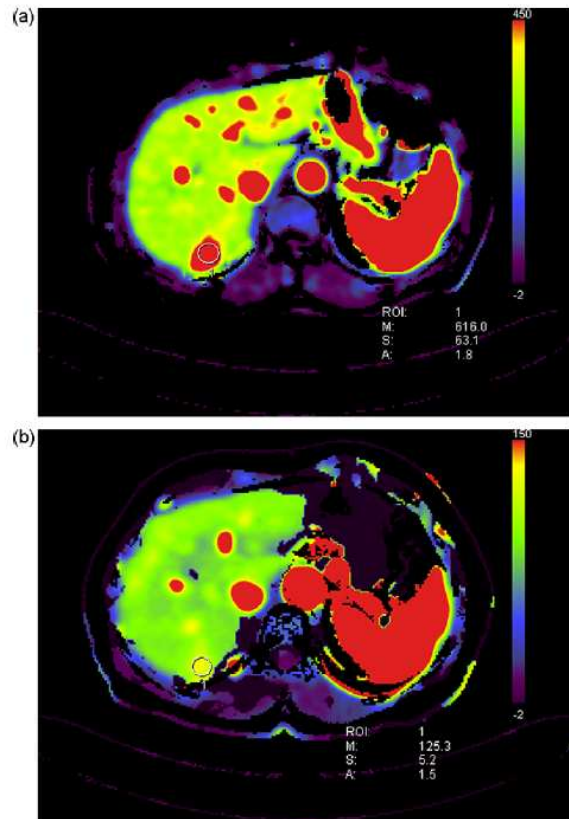


Fig. 2. Parametric map of tissue blood volume in a patient with liver metastases from small bowel carcinoid tumour undergoing anti-angiogenic treatment. (a) Map before treatment: the lesion (ROI) is highly perfused (red pixels). (b) Map after 24 h of anti-angiogenic treatment: the lesion (ROI) shows decreased blood volume (yellow and green pixels). Siemens body CT perfusion software (Siemens Medical Solutions, Forchheim, Germany).

suring tumour perfusion in trials of VDAs. Therefore, time interval for studies in this group ranged from 4 to 24 h. All MRI studies displayed concordant results as they detected decreases in  $K_{trans}$ , in AUC or in gradient peak and enhancement within 4–6 h after the first dose of vascular disrupting agents [102–104,108]. DCE-MRI has also been evaluated in the clinical setting of neoadjuvant chemotherapy, mostly in breast tumours [105–107,109,110], but also in bladder carcinomas and in bone sarcomas [111,112].

Five DCE-MRI studies on breast tumours have demonstrated associations between the effects of conventional chemotherapeutic treatment on the vasculature and subsequent therapeutic response [105–107,109,110]. In these studies, imaging was performed with relatively long time intervals of weeks rather than a few days after initiation of treatment. Simple semi-quantitative measurements of the average changes in the rate of contrast medium uptake or the average pattern of enhancement were comparable with those of quantitative pharmacokinetic parameters

[107]. Other treatments that can be monitored by DCE-MRI include androgen deprivation in prostate cancer and vascular embolization of uterine fibroids [113,114].

Radiotherapy in rectal and cervix cancers has also been evaluated by using DCE-MRI [115,116]. Early changes in tumour vascularity were shown following radiotherapy [117]. This may reflect the beneficial effect of RT-related tumour reperfusion. Hoskin et al.'s report [118] in head and neck cancer showed that tumours with diminished tumour perfusion at the end of RT are those most sensitive to treatment. A tendency of increased intratumour heterogeneity in perfusion was also found at early phase of therapy [119].

Despite the advances in perfusion CT, few studies have used perfusion CT to monitor tumours in humans after therapy [120,121]. In one study investigators used perfusion CT to characterize hepatic neoplasms and to assess in 4 patients the response of the tumours to transcatheter arterial chemoembolization [122]. They found that arterial perfusion of the liver tumors was obviously decreased after successful transcatheter arterial chemoembolization. Bellomi et al. [123] in a prospective perfusion CT studied changes in rectal cancer perfusion following radiochemotherapy. They have shown a significant decrease in BF, BV, and permeability surface area product PS after combined chemotherapy and radiation therapy. Baseline BF and BV in the seven patients who failed to respond to treatment were significantly lower than in the 17 responders. No correlation was found between perfusion parameters and microvessel density MVD, neither in baseline values nor in post-therapy changes. This lack of correlation was thought to be related to some limitations of MVD count [123]. Measurements of tissue perfusion in tumours such as rectal carcinoma and lung cancer have also been shown to correlate with markers of angiogenesis, such as VEGF expression [124,125].

**2.3.1.3. Repeatability and reproducibility.** The assessment of tumour response to treatment requires a measure of reproducibility based on reference tissues to define a level above which a significant change due to therapy can be inferred. Therefore, among studies, a threshold value >31–50% of decrease in  $K_{trans}$  is used to detect a real change under treatment and to be sure that changes are not related with measurement errors [96,126–128].

There are few reports on the repeatability and reproducibility of DCE-CT and DCE-MRI. A minority of those studies were obtained from test–retest data acquired during a response monitoring protocol [50].

Nine papers have evaluated repeatability and reproducibility of DCE-CT studies [86,129–136]. Variability of interscan repeatability DCE-CT studies in rabbits (interscan interval of at least 30 min) was shown to range from 32.5% in normal brain [129] to 13.2% in brain tumours [130]. A similar variability of 13% was reported by Gillard et al. (reanalyzed by Griffiths) in a study on brain gliomas with an interscan interval of 24 h [131]. Intraobserver repeatability was good

in a study on colorectal cancer, whereas the wCV for perfusion measurements ranged from 14 to 35% for tumour and from 24 to 27% in normal muscle [132]. An excellent interobserver reproducibility was found in two studies using the slope method to assess perfusion. The first by Griffiths [86] for splenic perfusion ( $r=0.94$ ) and by Blomley et al. [133] for peak aortic CT number ( $r^2=0.99$ ) and liver slope values ( $r^2=0.83$ ). The intraclass correlation coefficients for the interobserver measurements of three perfusion parameters ranged from 0.80 to 0.89 in another study by Goh et al. [134]. A good intertechnique reproducibility has also been reported with DCE-CT techniques. A preliminary study by Griffiths and Miles [86] on the reproducibility of perfusion values obtained from the slope and deconvolution methods showed good correlation in lung lesions ( $r=0.86$ ) and in the spleen ( $r=0.90$ ). However, there are some limitations to the use of the correlation coefficient for agreement between techniques while it is not the best statistical method recommended for this purpose.

Interestingly, Goh and colleagues in a recent paper have compared deconvolution technique and Patlak analysis showing a wCV of 37.4% for P and 46.5% for BV in patients with colorectal cancer [135]. Measurements obtained with Patlak analysis exhibited a trend for higher values than those obtained with deconvolution technique. Ng et al. [136] compared measurement reproducibility between a tumour volume coverage of 10 mm with a volume coverage of 40 mm in patients with non-small-cell lung carcinoma (NSCLC). The wCV ranged from 11.9 to 18.7% for P and from 32.6 to 41.7% for BV, using 40 mm slices and 10 mm slices, respectively [136]. They concluded that increasing coverage from 10 to 40 mm led in an improvement in measurement. However, the permeability  $K$  used in this study seems to be essentially flow-independent and approximately equal to the PS of the contrast agent in the tumour [137]. Therefore,  $K$  appears to be unsuitable for qualitative assessment of perfusion in Ng's study.

Table 1 summarizes repeatability results from clinical and preclinical DCE-MRI in normal tissue and in various tumours. The wCV for  $K_{trans}$  ranged from 6 to 29% and from 6.2 to 26.4% for  $V_e$  [126,138–141,143]. Time intervals for test–retest reliability between measurements ranged from 2 days for tumours to 3 months for normal tissues. The excellent wCV of 6% for  $K_{trans}$  reported by Ferrier et al. in rat brain tumours [138] is likely due to an improvement in pulse sequences leading to a better assessment of the vascular input function VIF and to the two-compartment model they used allowing them to a better fitting of measured data. Ferrier's study compared favourably with the study by Jackson et al. in gliomas [143] in which a wCV of 7.7% was obtained after significant pixel data exclusion (mean = 39).

Previous studies often reported pixel “failures” with a resultant pixel exclusion ranging from 13 to 74% [139,143]. This is an important issue as Galbraith et al. have demonstrated that “failed” pixel data had to be removed to reduce interscan variability.

Table 1  
Repeatability for DCE-MRI, DW-MRI and 1H-MRS

Author	Tumour type	n	Interscan interval	Parameters	Statistic	Findings
<b>DCE-MRI</b>						
Galbraith [139]	Normal muscle	16	1 week	$K_{trans}$ $V_e$	wCV	24–29% 8.5–9%
Padhani [140]	Normal mus-	19	2–3 months	$K_{trans}$ $V_e$	wCV	Unreliable 19.7–26.4%
	Normal fat	18	2–3 months	$K_{trans}$ $V_e$	wCV	Unreliable 26.4%
Jackson [141]	Liver tumours	5	48–56 h	$K_{trans}$	$V_r$	0.134
Wetzel [142]	Brain tumours	50	6 weeks	CBV	wCV	32–41%
Jackson [143]	Glioma	9	48 h	$K_{trans}$ $V_e$	wCV	7.7% 6.2%
van Laarhoven [144]	Liver	11	24 h to 4 days	$K_{ep}$	wCV	0.028 s
Roberts [126]	Various	25	Mean of 1.5–3.5 days	$K_{trans}$ $V_e$ IAUC	wCV	11–16% 13–15% 17%
Eveloch [127]	Various	19	2–6 days	IAUC	wCV	18%
	Normal muscle	19	2–6 days	IAUC	wCV	14%
Ferrier [138]	Rat brain tumour	5	14–24 h	$K_{trans}$	wCV	6.07%
<b>DW-MRI</b>						
Cercignani [174]	Normal brain	4	7 days	ADC	wCV	1.72%
Pfefferbaum [175]	Normal brain	10	3 days	ADC	wCV	5.56%
<b>1H MRS</b>						
Schirmer [209]	Normal brain	1	10 days	NAA	wCV	3.8%
Träber [210]	Normal brain	1	5 in 1 year	NAA	wCV	1.8%

$K_{trans}$ , volume transfer constant;  $V_e$ , total extravascular extracellular space; CBV, cerebral blood volume;  $K_{ep}$ , exchange constant; IAUC, initial area under the curve; ADC, apparent diffusion coefficient; NAA, *N*-acetyl aspartate; wCV, within coefficient of variation;  $V_r$ , variance ratios; DW-MRI, diffusion weighted imaging; 1H MRS, proton magnetic resonance spectroscopy.

Reproducibility between techniques has been studied by Galbraith et al. [139] in various tumours. They found wCV values for  $K_{trans}$  to range from 24 to 29% when comparing pixel analysis and the whole region of interest (ROI) analysis. They have also established that changes of –45 to 83% in perfusion measurements were needed to overcome the wCV of 24 to 29% observed in their study [139]. Wetzel et al., studying brain tumours, reported a 30% interobserver coefficient of variability [142].

**2.3.1.4. Limits and perspectives.** Overall, the published findings are consistent with regard to the efficacy of DCE-MRI for monitoring response to therapy whatever the tumour and the treatment studied. The method appears sensitive enough to be used in future studies in order to investigate duration of effect, optimal timing of treatment and consequences of regional heterogeneity in tumour response. There are, however, challenges to DCE-MRI. Every study we have reviewed, has at least one of the following limitations. Imaging protocols may vary greatly from institution to institution and need to be standardized. There also remain issues with the precision of quantification, proper modeling, validation of technique, and tumour heterogeneity.

CT perfusion, as other imaging techniques, has some limitations: limited sample volume, patient motion due to breathing and dose as CT uses ionizing radiation. Nevertheless, using multirow CT, DCE-CT can easily be incorporated into a standard protocol. The validation of DCE-CT param-

eters as markers of angiogenesis is currently under way at several institutions.

### 2.3.2. DCE-ultrasonography

**2.3.2.1. Basic principles.** Ultrasound imaging is an inexpensive and widely available technique. Therefore, frequent serial examinations may be performed at short intervals. However, it offers low spatial resolution when compared to CT and MRI. The recent introduction of US contrast agents microbubbles and the development of contrast-specific US techniques have improved the ability of US in detecting and characterizing solid lesions [145]. Several names and acronyms are currently used in the literature to describe almost the same technique: contrast enhanced ultrasound (CEUS), dynamic contrast enhanced Doppler US (DCE-DUS), Doppler ultrasound with perfusion contrast (DUPC) and contrast enhanced agent detection imaging (ADI).

DCE-US has the potential to play an important role in the imaging of angiogenesis and to monitor response to treatment. The acoustic properties of the hepatic parenchyma change following chemotherapy making comparisons with previous examinations difficult and inaccurate. This issue is no longer important with DCE-US, as the enhancement of the neovessels improves delineation and conspicuity of lesions poorly visualized by unenhanced US. For example, after 6 weeks of chemotherapy, liver metastases that had been clearly visible on conventional ultrasonography before chemotherapy were no longer detectable on conventional US but were

still evident on contrast enhanced sonography [146]. However, contrast-enhanced US studies present some inherent limitations. Multiple boluses of US contrast material are often necessary to visualize all vascular phases in several locations in the liver. DCE-US is limited to image abdominal or superficial organs. It cannot provide the breadth of view routinely achieved with CT and MR imaging, which in the majority of cases will still yield acceptable images of the entire body, even in large or uncooperative patients.

Contrast-specific software have been recently developed in order to analyze harmonic signals originating from the insonation of second-generation contrast agents such as Sono Vue® (Bracco, Italy), by using low mechanical index (MI). Slow flows in tumour-microvessels can be detected with CEUS continuous imaging. Treatment response can also be early predicted based on changes in the vascularization before volume modification [147]. At present, DCE-US has mainly been used for the detection of neovascularization in superficial and deep malignant tumours. Therefore, DCE-US can serve to evaluate the efficiency of new treatments such as anti-angiogenic molecules.

### 2.3.3. Clinical studies

Four reports evaluated DCE-US (Table 2) for monitoring response to treatment [148–151].

DCE-US can serve to select responders to treatment. Several studies have shown that early disappearance of vascularity was associated with early complete response. The persistence or reappearance of vascularity seemed to be an indicator of early failure of the treatment.

Lassau et al. have performed DCE-US examinations during isolated limb perfusion (ILP) with high-dose chemotherapy and TNF-alpha (biochemotherapy) in patients with locally advanced extremity soft tissue sarcoma [148]. According to MRI and the histological analysis, DCE-US was predictive of a good response in 100% of the cases at day +15.

Lassau and De Giorgi [149,150] have studied GIST treated with imatinib. Initial contrast uptake at day 1 was predictive of the future response. A strong correlation was found between the decline in tumour contrast uptake at days 7 and 14 and tumour response [149,150]. The authors observed a reduction in tumour vascularization before a reduction in tumour size [150]. The tumour perfusion appeared reduced in the central part of the liver metastases. Progressive disease was documented in four patients following imatinib treatment. CT documented tumour response according to standardized criteria in six patients, stable disease in four, and progressive disease according to DCE-US. The reduction of tumour perfusion at DCE-US correlated with the pseudocystic appearance at CT [150].

The combination of a decrease in contrast uptake exceeding 10% and stability or a decrease in tumour volume allowed Lamuraglia et al. [151] to discriminate seven good responders and 20 poor responders at 3 weeks in a population of 30 patients with renal cell carcinoma. The authors

found a statistically significant difference in progression-free survival and overall survival between good and poor responders [151].

A novel clinical application of DCE-US has emerged recently to assess the efficacy of local ablative treatment in hepatic tumours. Percutaneous ablation using radiofrequency RF is a therapeutic option for patients with limited hepatic malignant disease when surgery is not feasible. The technique is becoming a valid alternative to partial hepatectomy for small hepatic cellular carcinomas HCC lesions [19,20]. The administration of the US contrast agent can provide additional relevant information throughout the procedure improving delineation of lesions poorly visualized by unenhanced US, facilitating targeting and the positioning of the needles or electrodes.

Nine studies [152–160] evaluated radiofrequency treatment by using DCE-US with relative measurements of contrast uptake (Table 2). After ablation with percutaneous ethanol injection or radiofrequency devices, DCE-US is able to assess immediate and delayed efficacy of treatment, allowing immediate repositioning of the needle in case of incomplete treatment. DCE-US use is also increasing for monitoring delayed efficacy [152–158]. A diagnostic accuracy comparable to that of spiral CT has been recently demonstrated in the evaluation of the procedure at 1 month [155,158]. However, in a study of 94 ablated HCCs without residual tumours on both techniques after the initial RF ablation, five (5%) had CT findings of local tumour progression at a subsequent follow-up CT [155].

DCE-US has also been used for the confirmation of evaluation of radiofrequency in breast cancer recurrences [159]. DCE-US was accurate in 8 of the 10 cases. After RF ablation, contrast uptake was depicted by DCE-US in one patient which was accurate, as the histologic analysis revealed residual viable tumour cells and no uptake in nine cases. Two of the nine cases were false negative US findings because the histologic analysis confirmed the presence of 50 and 5% of viable tumour cells, respectively [159]. Therefore, the minimum amount of tumour cells that can be detected by using DCE-US remains to be determined. DCE-US demonstrated a diagnostic accuracy of 100% for assessment of therapeutic response of high intensity focused ultrasound therapy for uterine fibroid. MRI and histologic examinations confirmed findings of necrotic and viable tumour tissue, respectively [160].

*2.3.3.1. Repeatability and reproducibility.* In our literature review, we have found no report either on the repeatability or reproducibility for DCE-US studies during treatment. The recent development of software using the tracking of lesions and movement compensation would permit a more precise and objective quantification of treatment efficiency to be performed when using DCE-US [161].

*2.3.3.2. Limits and perspectives.* Attempts to measure tissue perfusion by using DCE-US are numerous and yielded inter-

Table 2  
Monitoring therapy with DCE-US

Author	Tumour type	<i>n</i>	Treatment	Follow-up	Correlation	Findings
Lassau [148]	Limb sarcoma	49	CT and TNF- $\alpha$ bioCT	Day 1 to day 60	MRI and HA	$\searrow$ in tumour CU > 50%. DA ranged from 82% at day 1 to 96% at day 30
Lassau [149]	GIST	24	Imatinib	2 months to 1 year	CT	$\searrow$ in tumour CU at day 1 predictive of response
De Giorgi [150]	Liver metastases of GIST	10	Imatinib	3 to 33 months	CT	$\searrow$ in tumour CU precluded $\searrow$ in tumour size. DA of 100%
Lamuraglia [151]	Metastatic renal cancer	30	Sorafenib	3–6 weeks	PFS and OS	Combination of $\searrow$ in tumour CU > 10% and stability or a $\searrow$ in tumour volume in responders
Choi [152]	HCC	45	RF	1 day	CT	DA of 100%
Choi [153]	HCC	81	RF	1 day to 19 months	CT	DA of 100% at 1 month
Wen [154]	HCC	91	RF	5–7 days	CT	Se 95.3%, Spe 100%, DA 98.1%
Kim [155]	HCC	94	RF	1–12 months	CT	DA of 99% at 1 month
Vilana [156]	HCC	41	Ethanol/RF	1 day 1 month	CT	Se 91%, Spe 97%, DA 95% at 1 month
Wang [157]	HCC	35	RF	2–12 months	CT	DA of 80%
Lu [158]	HCC	103	RF	1 month	CT-MRI	Spe 98.2%, DA 96.6%
Lamuraglia [159]	Breast	10	RF	1 day	HA	DA of 80%
Zhou [160]	Uterine fibroids	64	High intensity focused US	1 week to 12 months	MRI and HA	DA of 100%

GIST, gastro-intestinal stromal tumour; HCC, hepatocellular carcinoma; CT, chemotherapy; BioCT, biochemotherapy; RF, radiofrequency; CU, contrast uptake; CT, computed tomography; MRI, magnetic resonance imaging; HA, histologic analysis;  $\searrow$ , decrease; DA, diagnostic accuracy; Se, sensitivity; Spe, specificity.

esting results. The recently developed contrast agent Sono Vue<sup>®</sup> and software, in combination, allow continuous real-time scanning and enable the derivation of time–intensity curves from which a lot of data can be extracted. For example, algorithms that can follow the movement of the region of interest and compensate at least for in-plane movement have been developed. However, at present only relative perfusion can be assessed and still many factors affect the contrast replenishment rate, thus impairing its reproducibility. Placement of the focus zone, with increased bubble destruction in the near field of the transducer influences replenishment curves. These curves are also likely to be influenced by incomplete bubble destruction where acoustic shadowing plays an important role. Another problem is related to heterogeneity of acoustic power in the ultrasound field, being less along the sides and far field. Consequently the backscatter from microbubbles is inhomogeneous even with linear-array transducers.

Much work – technical development not only in attenuation compensation but also clinical validation – has to be achieved before true assessment of tissue perfusion migrates to the clinical setting.

#### 2.4. Diffusion MR imaging (DW-MRI) to monitor therapy

##### 2.4.1. Basic principles

Diffusion-weighted (DW) imaging is part of regular MRI techniques. DW-MRI provides information on water diffusion (Fig. 3). The use of phase-defocusing and phase-refocusing gradients allows evaluation of the rate of microscopic water diffusion within tissues [162]. The apparent diffusion coefficient (ADC) can be calculated by acquiring images with a different gradient duration and

amplitude (*b*-values). There appears to be a correlation between the ADC values, tumour cellularity and tumour grade [163]. Because water within tumour cells is in a restricted environment relative to extracellular water, loss of cell membrane integrity and cellular density during therapy will be detected by functional diffusion map fDM as an increase in diffusion.

Animal research has demonstrated the value of this technique for monitoring the effects of cytotoxic drug and vascular targeting agent in rats [164,165]. So far, DW-MRI has mainly been used in humans to study brain tumours and response to treatment [166]. DW-MRI of the abdomen is still a technical challenge. Problems arise from the stronger motion influences in the abdomen that are caused by breathing and pulsations and by the reduced signal-to-noise ratio (SNR) for tissues with short T<sub>2</sub>, such as muscle and liver [167].

##### 2.4.2. Clinical studies

The response of ADC to cytotoxic therapy in the clinical setting was found to be more complex in human than in animal studies due to heterogeneity observed within human tumours [168]. We have found five reports evaluating DW-MRI in human research (Table 3). Dzik-Jurasz et al. [169] demonstrated that ADC values in rectal adenocarcinomas before treatment (*n* = 14) were inversely correlated to the percentage of tumour size decrease after chemoradiotherapy. Non-responding patients had significantly higher ADC values, indicating less cellular tumours before treatment, as compared to responding patients. These results suggested that DW-MRI could help predict patient response to treatment. Kamel et al. [170] in a study on eight patients found that diffusion-weighted imaging can quantify tumour necrosis after chemoembolization of hepatocellular carcinoma to



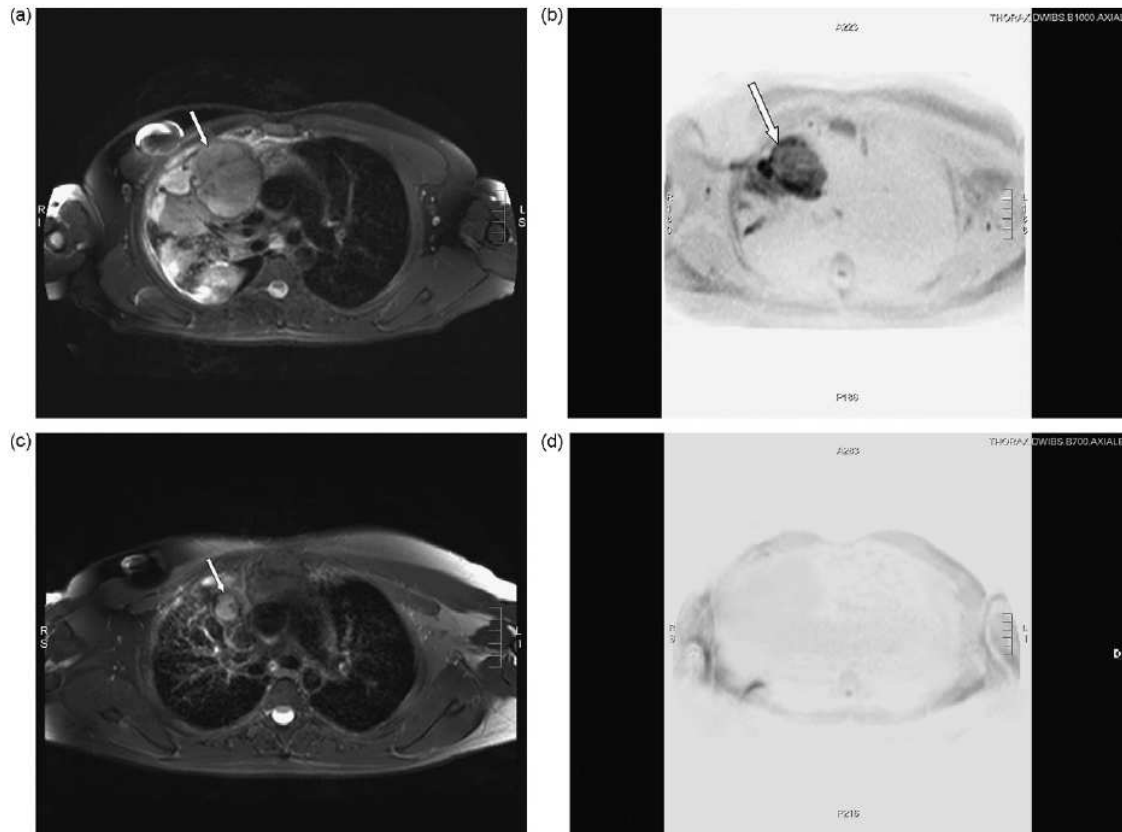


Fig. 3. MRI and DW-MR images (Intera Achieva 3T, Philips Medical System, Best, the Netherlands), in a patient with mediastinal mass from Hodgkin's disease undergoing chemoradiotherapy treatment. (a) Axial T2-weighted MR image before treatment. Mediastinal mass (arrow). (b) Axial diffusion weighted image before treatment shows increased diffusion within the mass (arrow). (c) Axial T2-weighted MR image following chemoradiotherapy shows the residual mediastinal mass. (d) Axial diffusion weighted image following chemoradiotherapy shows no diffusion abnormality in the mediastinum. The patient remains well 2 years after the end of treatment.

a greater degree than can gadolinium-enhanced MRI. fDM technique has been developed as a statistical approach for segmenting tumours based on a defined threshold of ADC change following therapy [171]. Results from patients with primary malignant brain tumours revealed that the volume of fDM response had a strong correlation with the overall clinical response based on the World Health Organization

response criteria [171]. A more recent study [172], wherein patients with grade III/IV gliomas were analyzed using fDM, revealed that fDM could be used to stratify patients as responsive or non-responsive to therapy in as early as 3 weeks into a 6-week to a 7-week fractionated therapy schedule. In this study, patients identified by fDM as non-responsive had significantly poorer survival and time-to progression

Table 3  
Monitoring therapy with MR diffusion

Author	Tumour type	n	Treatment	Follow-up	Findings
Dzik-Jurasz [169]	Rectal cancer	14	CT- RT	After CT After RT	↗ in ADC in responders
Kamel [170]	HCC	9	CE	27-42 days	↗ in ADC correlated with necrosis
Moffat [171]	Primary brain tumours	20	CT or RT	3 weeks	% of tumour volume with ↗ in ADC predictive of response
Hamstra [172]	Glioma	34	RT	3-10 weeks	% of tumour volume with ↗ in ADC predictive of OS and TTP
Yankeelov [173]	Breast	11	CT	3-6 weeks after last cycle	↗ in ADC

HCC Hepatocellular carcinoma. RT Radiotherapy. CT Chemotherapy. CE Chemoembolization. OS Overall survival. TTP Time to progression.  
↗ increase, ↘ decrease.

than patients identified as responsive [172]. Interestingly, Yankeelov and colleagues [173] using both quantitative DCE-MRI and ADC mapping to monitor treatment response in human breast cancer have demonstrated a reduction in voxels with volume transfer constant  $K_{trans}$  values in the range  $0.2\text{--}0.5\text{ min}^{-1}$  and a decrease in voxels with ADC values in the range  $0.99 \times 10^{-3}$  to  $1.35 \times 10^{-3}\text{ mm}^2/\text{s}$ . They concluded that  $K_{trans}$  and ADC were sensitive to longitudinal changes in breast tumour status.

#### 2.4.3. Repeatability and reproducibility

We have found no repeatability and reproducibility studies in the literature looking at diffusion changes during treatment.

Few experiments assessing repeatability and reproducibility of DW-MRI have been reported in the literature. Two studies (Table 1) have reported wCV for ADC values to range from 1.72 to 5.56%, indicating the reliability of diffusion imaging in the normal brain [174,175]. Intercenter reproducibility in brain studies showed CV ranging from 4.5 to 7.5% across scanners [174,175]. Repeatability of ADC measurements outside the brain is currently limited to studies in the abdomen [176] and rat kidney [177]. In a study on normal prostate, repeatability in ADC measurements ranged from 15 to 29% [176]. Therefore, the level in ADC changes above which a significant change due to therapy can be inferred remains to be determined.

#### 2.4.4. Limits and perspectives

DW-MRI studies for assessing treatment response have shown indications of therapeutic outcome because cellular changes typically preceded observable macroscopic changes in gross tumour size. ADC values can be measured before and during treatment to demonstrate the presence or absence of therapy-related changes in tumour tissue architecture [169,171]. However, none of these studies has evaluated reproducibility of DW-MRI measurements in tumours. Variations in ROI placement and partial volume with adjacent normal tissue must be taken in account in future studies.

### 2.5. MR spectroscopy to monitor therapy

#### 2.5.1. Basic principles

Magnetic resonance spectroscopy (MRS) is a non-invasive technique which can be used to study metabolic processes in man. Initially developed for neurological non-tumoural applications, the technique is now being evaluated for a number of tumours including astrocytoma, prostate, colon, breast [178–180]. MRS may be performed on all clinical scanners equipped with the appropriate software packages and coils. Different nuclei can be assessed ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) but proton ( $^1\text{H}$ ) is the most widely used to evaluate the response of tumour to treatment [3]. This technique detects signal from molecules containing the targeted atom. Nuclei resonate at slightly different frequencies depending on the surrounding molecular environment, allowing evaluation of the molecular component of tissues. As MRS provides

no spatial information, morphologic imaging must be used for anatomical localization of the ROI. The peaks visualized on spectra correspond to different metabolites. The height of the peaks is proportional to the metabolite concentration in the sampled tissue. Proton ( $^1\text{H}$ ) spectroscopy allows quantification of several metabolites, including creatine and phosphocreatine (Cr) choline (Cho), lactate (Lac) and myo-inositol (mI). Signal from lipid molecules ( $-\text{CH}_2$ ) can also be detected. Creatine and phosphocreatine are components of the energy metabolism. Choline containing molecules are involved with cell membrane synthesis and metabolism. Therefore, tumours frequently have high levels of choline [179,180]. Several chemical resonances contribute to the choline peak, including phosphocholine, glycerophosphocholine, and free choline. These contributions can be separated in ex vivo MR studies, but in vivo, the resonances are broader and appear as a single peak, referred to as total choline containing compounds (tCho) [180,181].

Increased levels in lactate (Lac), reflect also tumour metabolism. Neoplasms tend to consume glucose using only anaerobic pathways, thus producing increased lactate levels in certain tumours. High levels in myo-inositol (mI) at 3.5 ppm may be found in glial hypertrophy and proliferation, implying a process reactive to a neoplasm. Absolute metabolite quantitation is difficult to achieve and peak ratios are routinely used to obtain data that can be used to compare for a single patient or between patients [3]. However, only compounds present in millimolar concentrations are detectable utilising in vivo MRS with the clinical MR systems currently available.

#### 2.5.2. Clinical studies

Sixteen MRS studies (Table 4) have evaluated various treatments in brain [182–187], prostate [188,189,191, 193,195] and breast tumours [203–207]. However, most of the papers referred to diagnosis of local recurrence of the tumour rather than treatment response.

**2.5.2.1. Brain.** Generally, a decrease in signal intensity of choline resonances was demonstrated in responding brain tumours treated with conformal radiotherapy [182–184], chemotherapy [187] or radiosurgery [185,186]. These changes can arise immediately or, more usually, within 6 months of completion of the therapeutic regimen.

**2.5.2.2. Prostate.** Combined MR imaging and 3D-MRS of the prostate have been used to look at post-therapeutic follow-up [188]. Normal prostate tissue contains high levels of citrate (higher in the peripheral zone than in the central and transitional zones). In carcinomas, the citrate peak is markedly reduced [189], sometimes undetectable, due to citrate oxidation by tumour metabolism. The choline peak is elevated due to increased cell membrane phospholipid turnover in proliferating tissues. As a result, tumours have an increased choline/citrate ratio [189,190]. Because the creatine peak is close to the choline peak, both are difficult

Table 4  
Monitoring therapy with Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS) in brain, prostate and breast cancer

Author	Tumour type	Treatment	Follow-up	Findings
Yoshino [182]	Brain	RT	5–19 months	↘ Cho over time
Nelson [183]	Brain	RT	2–12 months	↘ Cho in responders
Zeng [184]	Brain	RT	6 weeks 4 months	↗ Cho when progression/recurrence
Graves [185]	Brain	CT Radiosurgery	2–14 months	↗ Cho when recurrence
Kimura [186]	Brain	Radiosurgery	1–3 months	↗ Cho when recurrence
Murphy [187]	Brain	CT	Baseline 3–12 months	early ↘ Cho, disappearance Lac
Coakley [191]	Prostate	RT	14–48 months	↘ Cho at 12 months
Pucar [193]	Prostate	RT	1–6 months	↗ Cho no Ci when recurrence
Mueller-Lisse [189]	Prostate	HT	1 to >16 weeks	↗ [Cho +Cr]/Ci when recurrence
Kurhanewicz [188]	Prostate	Cryosurgery	3–6 months	loss of Cho, Cr, Ci = atrophy
Parivar [195]	Prostate	Cryosurgery	10–79 weeks	↘ Cho +Cr/Ci ratios = necrosis
Jagannathan [203]	Breast	CT	At 3 of 6 cycles	Cho + Cr/Ci > 0.86 = recurrence
Meisamy [204]	Breast	CT	At 24 h of cycle 1 to end of 4 cycles	↘ tCho in responders
Kumar [205]	Breast	CT	1 week after cycles 2 and 6	↘ water/fat ratios in responders
Manton [206]	Breast	CT	At 2 and 6 cycles	↘ water/fat ratios in responders
Haddadin [207]	Breast	CT	At 24 h of cycle 1	↘ tCho in responders

RT, radiotherapy; CT, chemotherapy; HT, hormonotherapy; CE, chemoembolization; Cho, choline; tCho total choline; Lac, lactate; Ci, citrate; Cr, creatine; ↗, increase; ↘, decrease.

to separate. Therefore, the (choline + creatine)/citrate ratio is used in routine clinical practice to demonstrate changes in metabolites [191–195]. We have found five well-documented studies on the potential value of MRS in the evaluation of response to treatment, two after radiotherapy [191,193], one after hormonotherapy [189] and two after cryosurgery [188,195]. Following radiotherapy, MRS had a sensitivity ranging from 77 to 89% and a specificity of 78 to 82% for diagnosis of biopsy proven local recurrence [191,193]. However, in the two studies, different proton metabolic ratios and criteria were used to define the threshold for detection of tumour. After cryosurgery, MRS showed higher sensitivity than MRI for detection of local recurrence [195]. In patients with prostate cancer undergoing hormonal therapy, MRS has demonstrated that loss of citrate correlated with gland atrophy [194].

2.5.2.3. *Breast.* Neoadjuvant chemotherapy followed by surgery and radiotherapy is used to treat patients with large ( $\geq 3$  cm) and locally advanced (T3, T4, or N2) breast cancers [196,197].

Reliable assessment of response to chemotherapy by MRI is delayed until about 6 weeks after induction of the regimen [198]. Malignant breast lesions contain raised amounts of compounds containing tCho [199–201], which are detectable and quantifiable by proton MRS whereas in healthy tissue and benign lesions, choline concentrations are generally low or undetectable [202]. A great deal of interest has arisen with respect to use of proton MRS techniques to monitor neoadjuvant chemotherapy of locally advanced breast cancer [203–207]. Both fat/water ratios [205,206] and choline levels [203,204] have been used to monitor treatment-induced changes. There is a general agreement between studies on a decrease in tCho and in water/fat ratios during therapy. Changes in the amount of tcholine were found to corre-

late with the clinical and histopathological response of the patient [205]. Meisamy and coworkers [204] showed that early 24 h changes in concentration of tCho after the first dose of chemotherapy correlated significantly with changes in tumour size. Manton and colleagues [206] have shown early changes in water/fat ratios and water T2 (after cycle two) demonstrated substantial efficacy whereas pharmacokinetic parameters and ADC did not detect early response. However, the authors did not performed MR examination following treatment completion. Therefore it remains unknown whereas potential changes in ADC could have been delayed or were really absent.

MRS has been performed with higher field strengths in order to improve spectral resolution and detectability of tCho [207,208]. The addition of  $^1\text{H}$  MRS to MRI resulted in higher sensitivity, specificity, accuracy and inter-observer agreement [208]. However, the authors have not evaluated the potential added value of using a high field strength.

All of these studies have reported that the ability to measure tCho decreased during the course of therapy, often resulting in no measurable tCho at the end of treatment. This is a major limitation of MRS measurements in responding tumours. As the lesion shrinks, it is more difficult to quantify metabolites because there is less tumour in which to make measurements. This is an inherent problem with the relatively low sensitivity of MRS compared with MRI, which does limit the utility of MRS to look at treatment response. Higher fields and more sensitive coils that enable metabolite measurements in smaller voxels will reduce this problem but will not solve it [207,208].

### 2.5.3. Repeatability and reproducibility

In our literature review, we have found a little number of studies investigating the reproducibility of MRS mea-

surements. Among them, two studies [209,210] have used absolute quantitation of metabolites in normal brain (Table 1). The wCVs for absolute concentrations of the main metabolites Cho, Cr and NAA, ranged from 3.3 to 4.0% in vitro and from 3.8 to 6.4% in vivo [209]. In a more recent study, a reproducibility of 1.8% (wCV) was demonstrated for absolute NAA concentration in one single patient. The wCV for the concentrations of creatine (Cr), choline (Cho), and myoinositol (mI) and for the ratios NAA/Cr, NAA/Cho, and mI/NAA ranged from 11 to 16%. Intercenter CV was 3.9% for NAA and were below 10% for all other metabolites and metabolic ratios [210].

We have found no repeatability and reproducibility studies in the literature looking at MRS changes during treatment.

#### 2.5.4. Limits and perspectives

The published findings are relatively consistent with regard to the efficacy of MRS for monitoring response to therapy whatever the type of tumour studied. However, there are methodological differences between the studies, most notably field strength [203–205,208], but also MR system manufacturers, coils, and sequences used. More importantly, perhaps, is the variation in protocol and timing of MR examinations. Whereas Meisamy et al. [204] confined post-treatment measurements to 1 day after the first treatment and Manton et al. [206], after 2 and 6 cycles. The reduction in the tCho/water ratio was observed to be more rapid than volume changes after commencement of chemotherapy [205]. It is possible that the utility of MRS is limited to the acute period of response (hours to a few days after therapy administration), during which anatomical changes are small and do not affect the sensitivity of the MRS measurement. Further work is required to determine the most effective post-therapy window. Performing MRS quantification over a course of treatment is particularly challenging because there are other physiological changes that can complicate the metabolite measurement. As lesion sizes change, variations in voxel placement and partial volume with other normal tissue are inevitable and must be taken in account. Successful therapy can also induce necrosis and increase intra-tumoural lipids. Several studies showing decreases in the water/fat ratio during successful therapy may be sensitive to both of these effects [207]. For methods using water as an internal reference, it is necessary to account for the changing water T2 relaxation rate constant, which also decreases in successful therapy [207].

### 3. Perspectives

Direct imaging angiogenesis may provide new insights into the angiogenic process.

Molecular imaging implies the quantitative measurement of functional and molecular changes in tumours. Such molecular changes can be assessed by using new imaging modalities, radioligands and contrast agents. In the next para-

graphs, we will give some examples of new techniques and contrast agents that might be used in the near future to image molecular changes in tumours following therapy and can help in evaluating treatment efficacy much earlier [211]. At the moment, these experiments are only performed in small animals.

#### 3.1. DCE-MRI

Small molecules, peptides, proteins, and antibodies have been labeled with superparamagnetic nanoparticles for magnetic resonance imaging of small animal tumour models.

Using a rabbit tumour model, investigators have used integrin-targeted nanoparticles to depict tumoural angiogenesis using T1-weighted MRI [212]. Reportedly, the paramagnetic nanoparticles penetrate into immature vessels and extravasate locally but do not diffuse into the interstitial space. Deposition of paramagnetic particles was seen predominantly in the tumour periphery [212]. Other studies using different size nanoparticles and other types of tumour implantation, have reported on diffuse infiltration throughout the entire tumour [213]. The apparent discrepancy between studies is likely due to tumour heterogeneity. Yet another method for direct imaging of angiogenesis using MRI involves the intravenous infusion and tracking of subsequent migration of labeled endothelial precursor cells into tumours [213]. Understanding the rate of incorporation of these cells into tumour vasculature could provide a measurement of tumour angiogenesis. In one study, investigators labeled bone marrow-derived endothelial precursor cells with superparamagnetic particles and followed their migration into the tumour periphery using MRI [212]. They found that, approximately 9 days after infusion, hypointense regions on gradient-echo images were consistent with cell migration into the tumour vasculature [214].

#### 3.2. Micro-computed tomography (MicroCT)

MicroCT is a recently developed imaging tool that can provide very-high-resolution images of organs and facilitates 3D observation of their microarchitecture [215]. The system has a resolution of less than 50  $\mu\text{m}$  and is typically used in small animals and medical samples. In VX2 tumours, an experimental solid cancer model in rabbits, this technique has demonstrated the network of tumour vessels. Changes in vasculature and angiogenesis were associated with rapid tumour growth. Although not directly applicable in a clinical setting, this technique could be of value for the preclinical assessment of anti-angiogenic therapies.

#### 3.3. DCE-US

Microbubble application in molecular imaging might be the field of DCE-US that will demonstrate the most significant developments in the near future. Microbubbles may be targeted to specific antigens by the selection of microbub-

bles containing specific phospholipids or by oligopeptides recognized by the active binding site of platelet receptors. Monoclonal antibodies may also be attached to the microbubble shell surface to target disease-specific antigens including endothelial cell adhesion molecules, inflammatory markers, tumoural angiogenic markers and vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor [216]. Therefore, ultrasound detection of microbubbles may provide a method for non-invasively assessing the spatial distribution and severity of inflammation, ischemia-reperfusion injury and angiogenesis including tumours. Preclinical and clinical applications of targeted DCE-US have been mostly investigated in cardiac research. Microbubbles conjugated to monoclonal antibodies have also permitted to image and quantify vascular effects of two different anti-tumour therapies in pancreatic tumours in mice [217]. Targeted microbubbles showed significant enhancement of tumour vasculature when compared with untargeted or control IgG-targeted microbubbles. Video intensity from targeted microbubbles correlated with the level of expression of the target (CD105, VEGFR2, or the VEGF-VEGFR complex) and with MVD in tumours under anti-angiogenic or cytotoxic therapy. However, as previously mentioned, development of perfusion modules as part of quantification programs are needed to objectively quantify the perfusion of a tumour and calculate perfusion parameters.

#### 3.4. DW-MRI and MRS

The advantages of performing  $^1\text{H}$  MRS at higher field strengths, such as 3 or 4T, include better SNR and increased spectral, spatial and temporal resolution, allowing the acquisition of high quality, easily quantifiable spectra in acceptable imaging times. In addition to improved measurement precision of *N*-acetylaspartate, choline, creatine and myo-inositol, high-field systems allow the high-resolution measurement of other metabolites extending the range of metabolic information. However, these advantages may be hampered by some limitations: decreased T2 signal, chemical shift dispersion errors, J-modulation abnormalities, increased magnetic susceptibility and eddy current artifacts. In our literature review, two studies have demonstrated that these limitations could be overcome [206,207], suggesting that the appropriate optimization of high-field  $^1\text{H}$  MRS would expand the application in the fields of clinical research and diagnostic routine.

Diffusion-weighted imaging (DWI) at high field strength also benefits from the higher signal-to-noise ratio and may offer useful information for tumour characteristics. Brain and the female pelvis are two of the anatomic area that may benefit particularly from the advantages of high-field systems.

#### 4. Conclusions

An ideal monitoring method would be able to detect an immediate response to any therapeutic regimen. This early

assessment would allow for optimization of individualised treatment for patients with the final objective of obtaining a complete pathological tumour response.

High level of accuracy might permit clinical application where early, accurate prediction of non-response would allow an early change to second-line treatment, thus sparing patients unnecessary toxicity, psychological morbidity and delay of initiation of effective treatment.

It is more than likely that international criteria like RECIST will soon be adapted and improved. These simple criteria, based on multicentric studies, will continue to apply to most of the tumours as they can easily be used on any clinical machine.

Recently, there has been a growing research interest for DCE-imaging to look at the efficacy of anti-angiogenic treatment. Imaging of angiogenesis such as functional techniques will be used to obtain complementary information in specific tumours. Although interesting, the different DCE-imaging techniques have not gone through all steps of validation and standardization that are required to monitor trials. The major challenge is the standardization of the technique worldwide for the purpose of early clinical studies that are likely to be multicenter.

Diffusion MR sequences have been implemented on most of the clinical systems and is routinely used in research studies to look at tumour under treatment. In contrast, MRS is still a research tool as it requires specific hardware and software to be implemented on clinical system.

Tissue-specific molecular-imaging targets could potentially allow for an early, sensitive, and specific diagnosis of disease or monitoring of treatment response. In the future, a major goal will be to translate molecular functional imaging for routine use in clinical trials.

#### Reviewers

Laure Fournier, MD, Hopital Europeen Georges Pompidou, Department of Radiology, 20 rue Leblanc, F-75015 Paris, France.

Simon D. Taylor-Robinson, MD FRCP, Professor of Translational Medicine, Imperial College London, Division of Medicine, Du Cane Road, London W2 1NY, United Kingdom.

#### References

- [1] Gwyther SJ. Current standards for response evaluation by imaging techniques. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2006;33:S11–5.
- [2] Provenzale JM. Imaging of angiogenesis: clinical techniques and novel imaging methods. *AJR* 2007;188:11–23.
- [3] Fournier LS, Cuénod CA, Clément O, Siauve N, Frija G. Imagerie de la réponse aux traitements en cancérologie. *J Radiol* 2007;88:829–43, full text in English on [www.masson.fr/revues/jr](http://www.masson.fr/revues/jr).
- [4] Goh V, Padhani AR. Imaging tumor angiogenesis: functional assessment using MDCT or MRI? *Abdom Imaging* 2006;31:194–9.

- [5] Gwyther SJ, Schwartz LH. How to assess anti-tumour efficacy by imaging techniques. *Eur J Cancer* 2008;44:39-45.
- [6] Collins JM. Functional imaging in phase I studies: decorations or decision making? *J Clin Oncol* 2003;21:2807-9.
- [7] Blay J-Y, Le Cesne A, Alberti L, Ray-Coquart I. Targeted cancer therapies. *Bull Cancer* 2005;92:E13-8.
- [8] Dinh P, Sotiriou C, Piccart MJ. The evolution of treatment strategies: aiming at the target. *Breast* 2007;16:10-6.
- [9] Sledge Jr GW. The evolution of targeted biologic therapies. *Breast* 2007;16:S1-3.
- [10] Patterson DM, Rustin GJS. Vascular damaging agents. *J Clin Oncol* 2007;19:443-56.
- [11] Teicher BA. Angiogenesis and cancer metastases: therapeutic approaches. *Crit Rev Oncol Hematol* 1995;20:9-39.
- [12] Gaya AM, Rustin GJS. Vascular disrupting agents: a new class of drug in cancer therapy. *J Clin Oncol* 2005;17:277-90.
- [13] Duda DG, Jain RK, Willett CG. Antiangiogenics: the potential role of integrating this novel treatment modality with chemoradiation for solid cancers. *J Clin Oncol* 2007;25:4033-42.
- [14] Awada A, Mano M, Hendlitz A, Piccart M. New anticancer agents and therapeutic strategies in development for solid cancers: a clinical perspective. *Expert Rev Anticancer Ther* 2004;4:53-60.
- [15] Gasparini G, Longo R, Fanelli M, Teicher BA. Combination of antiangiogenic therapy with other anticancer therapies: results, challenges, and open questions. *J Clin Oncol* 2005;23:1295-311.
- [16] O'Reilly MS. Antiangiogenesis and vascular endothelial growth factor/vascular endothelial growth factor receptor targeting as part of a combined-modality approach to the treatment of cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007;69:S64-6.
- [17] Wachsberger P, Burd R, Dicker AP. Tumor response to ionizing radiation combined with antiangiogenesis or vascular targeting agents: exploring mechanisms of interaction. *Clin Cancer Res* 2003;9:1957-71.
- [18] Tubiana M. The combination of radiotherapy and chemotherapy: a review. *Int J Radiat Biol Phys* 1989;55:497-511.
- [19] Lencioni R, Crocetti L, Cioni D, Della Pina C, Bartolozzi C. Percutaneous radiofrequency ablation of hepatic colorectal metastases. Technique, indications, results, and new promises. *Invest Radiol* 2004;39:689-97.
- [20] Lencioni R, Cioni D, Crocetti L, et al. Early-stage hepatocellular carcinoma in cirrhosis: long-term results of percutaneous image-guided radiofrequency ablation. *Radiology* 2005;234:961-7.
- [21] Padhani AR. Functional MRI for anticancer therapy assessment. *Eur J Cancer* 2002;38:2116-27.
- [22] Tozer JM. Measuring tumour vascular response to antivascular and antiangiogenic drugs. *Br J Radiol* 2003;76:S23-35.
- [23] Dobrucki LW, Sinusas AJ. Imaging angiogenesis. *Curr Opin Biotechnol* 2007;18:90-6.
- [24] Barrett T, Brechbiel M, Bernardo M, Choyke PL. MRI of tumor angiogenesis. *J Magn Reson Imaging* 2007;26:235-49.
- [25] Broumas AR, Pollard RE, Bloch SH, Wisner ER, Griffey S, Ferrara KW. Contrast-enhanced computed tomography and ultrasound for the evaluation of tumor blood flow. *Invest Radiol* 2005;40:134-47.
- [26] Passe TJ, Bluemke DA, Siegelman SS. Tumor angiogenesis: tutorial on implications for imaging. *Radiology* 1997;203:593-600.
- [27] Berglund A, Molin D, Larsson A, Einarsson R, Glimelius B. Tumour markers as early predictors of response to chemotherapy in advanced colorectal carcinoma. *Ann Oncol* 2002;13:1430-7.
- [28] World Health Organization. WHO handbook for reporting results of cancer treatment. WHO Offset Publication No. 48. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1979.
- [29] Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. *Cancer* 1981;47:207-14.
- [30] Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:205-16.
- [31] James K, Eisenhauer E, Christian M, et al. Measuring response in solid tumors: unidimensional versus bidimensional measurement. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:523-8.
- [32] Therasse P, Le Cesne A, Van Glabbeke M, Verweij J, Judson I, for the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. RECIST vs. WHO: prospective comparison of response criteria in an EORTC phase II clinical trial investigating ET-743 in advanced soft tissue sarcoma. *Eur J Cancer* 2005;41:1426-30.
- [33] Watanabe H, Yamamoto S, Kunitoh H, et al. Tumour response to chemotherapy: the validity and reproducibility of RECIST guidelines in NSCLC patients. *Cancer Sci* 2003;94:1015-20.
- [34] Trillet-Lenoir V, Freyer G, Kaemmerlen P, et al. Assessment of tumour response to chemotherapy for metastatic colorectal cancer: accuracy of the RECIST criteria. *Br J Radiol* 2002;75:903-8.
- [35] Prasad SR, Saini S, Summer JE, Hahn PF, Sahani D, Boland GW. Radiological measurement of breast cancer metastases to lung and liver: comparison between WHO (bidimensional) and RECIST (unidimensional). *J Comput Assist Tomogr* 2003;27:380-4.
- [36] Shah G, Kesari S, Xu R, et al. Comparison of 1D, 2D, 3D and volumetric parameters in measuring tumour response in high-grade gliomas in adults. *Neuro Oncol* 2006;8:38-46.
- [37] Chang CC, Chen MK, Wu HK, Liu MT. Nasopharyngeal carcinoma volume measurements determined with computed tomography: study of intraobserver and interobserver variability. *J Otolaryngol* 2002;31:361-5.
- [38] Park JO, Lee SI, Song SY, et al. Measuring response in solid tumours: comparison of RECIST and WHO. *Jpn J Clin Oncol* 2003;33:533-7.
- [39] Mazumdar M, Smith A, Schwartz LH. A statistical simulation study finds discordance between WHO criteria and RECIST guideline. *J Clin Epidemiol* 2004;57:358-65.
- [40] Therasse P, Eisenhauer EA, Verweij J. RECIST revisited: a review of validation studies on tumour assessment. *Eur J Cancer* 2006;42:1031-9.
- [41] van Klaveren RJ, Aerts JGJV, de Bruin H, Giacconec G, Manegold C, van Meerbeeck JP. Inadequacy of the RECIST criteria for response evaluation in patients with malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer* 2004;43:63-9.
- [42] Barnacle AM, McHugh K. Limitations with the response evaluation criteria in solid tumors (RECIST) guidance in disseminated pediatric malignancy. *Pediatr Blood Cancer* 2006;46:127-34.
- [43] McHugh K, Kao S. Response evaluation criteria in solid tumours (RECIST): problems and need for modifications in paediatric oncology? *Br J Radiol* 2003;76:433-6.
- [44] Benjamin RS, Choi H, Macapinlac HA, et al. We should desist using RECIST, at least in GIST. *J Clin Oncol* 2007;25:1760-4.
- [45] Assouline S, Meyer RM, Infante-Rivard C, et al. Development of adapted RECIST criteria to assess response in lymphoma and their comparison to the International Workshop Criteria. *Leuk Lymphoma* 2007;48:513-20.
- [46] Wormanns D, Diederich S, Lentschig MG, et al. Spiral CT of pulmonary nodules: interobserver variation in assessment of lesion size. *Eur Radiol* 2000;10:710-3.
- [47] Hopper KD, Kasales CJ, Van Slyke MA, Schwartz TA, Ten-Have TR, Jozefiak JA. Analysis of interobserver and intraobserver variability in CT tumor measurements. *AJR Am J Roentgenol* 1996;167:851-4.
- [48] Erasmus JJ, Gladish GW, Broemeling L, et al. Interobserver and intraobserver variability in measurement of non-small-cell carcinoma lung lesions: implications for assessment of tumor response. *J Clin Oncol* 2003;21:2574-82.
- [49] Schwartz LH, Mazumdar M, Brown M, Smith A, Panicek DM. Variability in response assessment in solid tumours: effect of number of lesions chosen for measurement. *Clin Cancer Res* 2003;9:4318-23.

- [50] Laking GR, West C, Buckley DL, Matthews J, Price PM. Imaging vascular physiology to monitor cancer treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006;58:95–113.
- [51] Schwartz LH, Ginsberg MS, DeCorato D, et al. Evaluation of tumor measurements in oncology: use of film-based and electronic techniques. *J Clin Oncol* 2000;18:2179–84.
- [52] Gwyther S, Bolis G, Gore M, et al. Experience with independent radiological review during a topotecan trial in ovarian cancer. *Ann Oncol* 1997;8:463–8.
- [53] Thiesse P, Ollivier L, Di Stefano-Louineau D, et al. Response rate accuracy in oncology trials: reasons for interobserver variability—Groupe Francais d’Immunotherapie of the Federation Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer. *J Clin Oncol* 1997;15:3507–14.
- [54] Gwyther SJ, Aapro MS, Hatty SR, Postmus PE, Smith IE. Results of an independent oncology review board of pivotal clinical trials of gemcitabine in non-small cell lung cancer. *Anticancer Drugs* 1999;10:693–8.
- [55] Husband JE, Schwartz LH, Spencer J, et al. Evaluation of the response to treatment of solid tumours—a consensus statement of the International Cancer Imaging Society. *Br J Cancer* 2004;90:2256–60.
- [56] King AD, Zee B, Yuen EH, et al. Nasopharyngeal cancers: which method should be used to measure these irregularly shaped tumors on cross-sectional imaging? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007;69:148–54.
- [57] Therasse P, Eisenhauer EA, Buyse M. Update in methodology and conduct of cancer clinical trials. *Eur J Cancer* 2006;42:1322–30.
- [58] Therasse P. Measuring the clinical response. What does it mean? *Eur J Cancer* 2002;38:1817–23.
- [59] Touloupoulos P, Costello P. Helical (spiral) CT of the thorax. *Radiol Clin North Am* 1995;33:843–61.
- [60] Kostis WJ, Reeves AP, Yankelevitz DF, Henschke CI. Three-dimensional segmentation of solitary pulmonary nodules from helical CT scans. In: Lemke HU, Vannier MW, Inamura K, Farman AG, editors. *Proceedings of computer assisted radiology and surgery (CARS 99)*. The Netherlands: Elsevier Science; 1999. p. 203–7.
- [61] Mukherji S, Toledano AY, Beldan C, et al. Interobserver reliability of computed tomograph-derived primary tumor volume measurement in patients with supraglottic carcinoma. *Cancer* 2005;103:2616–22.
- [62] Jennings SG, Winer-Muram HT, Tarver RD, Farber MO. Lung-tumor growth: assessment with CT-comparison of diameter and cross-sectional area with volume measurements. *Radiology* 2004;231:866–71.
- [63] Prasad S, Jhaveri KS, Saini S, Hahn PF, Halpern EF, Sumner JE. CT measurement for therapeutic response assessment: comparison of unidimensional, bidimensional, and volumetric techniques—initial observations. *Radiology* 2002;225:416–9.
- [64] Gong QY, Eldridge PR, Brodbelt AR, et al. Quantification of tumour response to radiotherapy. *Br J Radiol* 2004;77:405–13.
- [65] Dempsey MF, Condon BR, Hadley DM. Measurement of tumor “size” in recurrent malignant glioma: 1D, 2D or 3D? *AJNR Am J Neuroradiol* 2005;26:770–6.
- [66] Kostis WJ, Reeves AP, Yankelevitz DF, Henschke CI. Three-dimensional segmentation and growth-rate estimation of small pulmonary nodules in helical CT images. *IEEE Trans Med Imaging* 2003;22:1259–74.
- [67] Wormanns D, Kohl G, Klotz E, et al. Volumetric measurement of pulmonary nodules at multi-row detector CT: in vivo reproducibility. *Eur Radiol* 2004;14:86–92.
- [68] Van Hoe L, Van Cutsem E, Vergote I, et al. Size quantification of liver metastases in patients undergoing cancer treatment: reproducibility of one-, two-, and three-dimensional measurements determined with spiral CT. *Radiology* 1997;202:671–5.
- [69] Hopper KD, Kasales CJ, Eggli KD, et al. The impact of 2D versus 3D quantification of tumor bulk determination on current methods of assessing response to treatment. *J Comput Assist Tomogr* 1996;20:930–7.
- [70] Marten K, Auer F, Schmidt S, Kohl G, Rummeny EJ, Engelke C. Inadequacy of manual measurements compared to automated CT volumetry in assessment of treatment response of pulmonary metastases using RECIST criteria. *Eur Radiol* 2006;16:781–90.
- [71] Tran LN, Brown MS, Goldin JG, et al. Comparison of treatment response classifications between unidimensional, bidimensional, and volumetric measurements of metastatic lung lesions on chest computed tomography. *Acad Radiol* 2004;11:1355–60.
- [72] Sohaib SA, Turner B, Hanson JA, Farquharson M, Oliver RTD, Reznick RH. CT assessment of tumour response to treatment: comparison of linear, cross-sectional and volumetric measures of tumour size. *Br J Radiol* 2000;73:1178–84.
- [73] Dachman AH, MacEaney PM, Adedipe A, Carlin M, Phillip L. Tumor size on computed tomography scans: is one measurement enough? *Cancer* 2001;91:555–60.
- [74] Chojniak R, Younes RN. Pulmonary metastases tumor doubling time: assessment by computed tomography. *Am J Clin Oncol* 2003;26:374–7.
- [75] Chojniak R, Yu LS, Younes RN. Response to chemotherapy in patients with lung metastases: how many nodules should be measured? *Cancer Imaging* 2006;6:107–12.
- [76] Yankelevitz DF, Gupta R, Zhao B, Henschke CI. Small pulmonary nodules: volumetrically determined growth rates based on CT evaluation. *Radiology* 2000;217:251–6.
- [77] Kostis WJ, Yankelevitz DF, Reeves AP, Fluture SC, Henschke CI. Small pulmonary nodules: reproducibility of three-dimensional volumetric measurement and estimation of time to followup CT. *Radiology* 2004;231:446–52.
- [78] Gietema HA, Schaefer-Prokop CM, Mali Willem PTM, Groenewegen G, Prokop M. Pulmonary nodules: interscan variability of semiautomated volume measurements with multisection CT: influence of inspiration level, nodule size, and segmentation performance. *Radiology* 2007;245:888–94.
- [79] Marten K, Auer F, Schmidt S, Rummeny EJ, Engelke C. Automated CT volumetry of pulmonary metastases: the effect of a reduced growth threshold and target lesion number on the reliability of therapy response assessment using RECIST criteria. *Eur Radiol* 2007;17:2561–71.
- [80] Lu JP, Wang J, Wang T, Wang Y, Wu W-Q, Gao L. Microvessel density of malignant and benign hepatic lesions and MRI evaluation. *World J Gastroenterol* 2004;10:1730–4.
- [81] Swensen SJ, Viggiano RW, Midthun DE, et al. Lung nodule enhancement at CT: multicenter study. *Radiology* 2000;214:73–80.
- [82] Knopp MV, von Tegg-Kobligk H, Choyke P. Functional magnetic resonance imaging in oncology for diagnosis and therapy monitoring. *Mol Cancer Ther* 2003;2:419–26.
- [83] Drevs J, Müller-Driver R, Wittig C, et al. PTK787/ZK 222584, a specific vascular endothelial growth factor-receptor tyrosine kinase inhibitor, affects the anatomy of the tumor vascular bed and the functional vascular properties as detected by dynamic enhanced magnetic resonance imaging. *Cancer Res* 2002;62:4015–22.
- [84] Gwyther SJ. New imaging techniques in cancer management. *Ann Oncol* 2005;16:ii63–70.
- [85] Miles KA. Functional computed tomography in oncology. *Eur J Cancer* 2002;38:2079–84.
- [86] Miles KA, Griffiths MR. Perfusion CT: a worthwhile enhancement. *Br J Radiol* 2003;220–31.
- [87] Kiessling F, Jugold M, Woenne EC, Bris G. Non-invasive assessment of vessel morphology and function in tumors by magnetic resonance imaging. *Eur Radiol* 2007;17:2136–48.
- [88] Padhani AR. MRI for assessing antivasculature cancer treatments. *Br J Radiol* 2003;76:S60–80.
- [89] Miles KA. Perfusion CT for the assessment of tumour vascularity: which protocol? *Br J Radiol* 2003;76:S36–42.

- [90] Tofts PS, Brix G, Buckley DL, et al. Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T1-weighted MRI of a diffusible tracer: standardized quantities and symbols. *J Magn Reson Imaging* 1999;10:223–32.
- [91] Alonzi R, Padhani AR, Taylor NJ, Stirling JJ, Saunders MI, Hoskin PJ. Dynamic contrast enhanced MRI in prostate cancer. *Clin Oncol* 2007;3:335–50.
- [92] Alonzi R, Padhani AR, Taylor NJ, Stirling JJ, Saunders MI, Hoskin PJ. Physiological changes within the prostate caused by androgen withdrawal. *Clin Oncol* 2007;19:S6.
- [93] Brix G, Bahner ML, Hoffmann U, Horvath A, Schreiber W. Regional blood flow, capillary permeability, and compartmental volumes: measurement with dynamic CT—initial experience. *Radiology* 1999;210:269–76.
- [94] Kan Z, Phongkitarun S, Kobayashi S, et al. Functional CT for quantifying tumor perfusion in antiangiogenic therapy in a rat model. *Radiology* 2005;237:151–8.
- [95] Jain RK. Normalizing tumor vasculature with antiangiogenic therapy: a new paradigm for combination therapy. *Nat Med* 2001;7:987–9.
- [96] Tong RT, Boucher Y, Kozin SV, Winkler F, Hicklin DJ, Jain RK. Vascular normalization by vascular endothelial growth factor receptor 2 blockade induces a pressure gradient across the vasculature and improves drug penetrations in tumors. *Cancer Res* 2004;64:3731–6.
- [97] Eder JP, Supko JG, Clark JW, et al. Phase I clinical trial of recombinant human endostatin administered as a short intravenous infusion repeated daily. *J Clin Oncol* 2002;20:3772–84.
- [98] Jayson GC, Zweit J, Jackson A, et al. Molecular imaging and biological evaluation of HuMV833 anti-VEGF antibody: implications for trial design of antiangiogenic antibodies. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1484–93.
- [99] Liu G, Rugo HS, Wilding G, et al. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging as a pharmacodynamic measure of response after acute dosing of AG-013736, an oral angiogenesis inhibitor, in patients with advanced solid tumors: results from phase I study. *J Clin Oncol* 2005;23:5464–73.
- [100] Morgan B, Thomas A, Drevs J, et al. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging as a biomarker for the pharmacological response of PTK787/ZK 222584, an inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases, in patients with advanced colorectal cancer and liver metastases: results from two phase I studies. *J Clin Oncol* 2003;21:3955–64.
- [101] Jayson GC, Parker GJM, Mullamitha S, et al. Blockade of platelet-derived growth factor receptor-beta by CDP860, a humanized, PEGylated di-Fab', leads to fluid accumulation and is associated with increased tumor vascularized volume. *J Clin Oncol* 2005;23:973–81.
- [102] Galbraith SM, Rustin GJ, Lodge MA, et al. Effects of 5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid on human tumor microcirculation assessed by dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *J Clin Oncol* 2002;20:3826–40.
- [103] Stevenson JP, Rosen M, Sun W, et al. Phase I trial of the antivascular agent combretastatin A4 phosphate on a 5-day schedule to patients with cancer: magnetic resonance imaging evidence for altered tumor blood flow. *J Clin Oncol* 2003;21:4428–38.
- [104] Galbraith SM, Maxwell RJ, Lodge MA, et al. Combretastatin A4 phosphate has tumor antivascular activity in rat and man as demonstrated by dynamic magnetic resonance imaging. *J Clin Oncol* 2003;21:2831–42.
- [105] Delille J-P, Slanetz P, Yeh E, Halpern E, Kopans D, Garrido L. Invasive ductal breast carcinoma response to neoadjuvant chemotherapy: noninvasive monitoring with functional MR imaging—pilot study. *Radiology* 2003;228:63–9.
- [106] Tsuboi N, Ogawa Y, Inomata T, et al. Changes in the findings of dynamic MRI by preoperative CAF chemotherapy for patients with breast cancer of stage II and III: pathologic correlation. *Oncol Rep* 1999;6:727–32.
- [107] Hayes C, Padhani AR, Leach MO. Assessing changes in tumour vascular function using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *NMR Biomed* 2002;15:154–63.
- [108] Dowlati A, Robertson K, Cooney M, et al. A phase I pharmacokinetic and translational study of the novel vascular targeting agent combretastatin a-4 phosphate on a single-dose intravenous schedule in patients with advanced cancer. *Cancer Res* 2002;15:3408–16.
- [109] Martincich L, Montemurro F, De Rosa G, et al. Monitoring response to primary chemotherapy in breast cancer using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Breast Cancer Res Treat* 2004;83:67–76.
- [110] Pickles MD, Lowry M, Manton DJ, Gibbs P, Turnbull LW. Role of dynamic contrast enhanced MRI in monitoring early response of locally advanced breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2005;91:1–10.
- [111] Barentsz JO, Berger-Hartog O, Witjes JA, et al. Evaluation of chemotherapy in advanced urinary bladder cancer with fast dynamic contrast-enhanced MR imaging. *Radiology* 1998;207:791–7.
- [112] van der Woude HJ, Bloem JL, Verstraete KL, Taminiau AH, Noot MA, Hogendoorn PC. Osteosarcoma and Ewing's sarcoma after neoadjuvant chemotherapy: value of dynamic MR imaging in detecting viable tumor before surgery. *Am J Roentgenol* 1995;165:593–8.
- [113] Padhani AR, MacVicar AD, Gapinski CJ, et al. Effects of androgen deprivation on prostatic morphology and vascular permeability evaluated with MR imaging. *Radiology* 2001;218:365–74.
- [114] Li W, Brophy DP, Chen Q, Edelman RR, Prasad PV. Semiquantitative assessment of uterine perfusion using first pass dynamic contrast-enhanced MR imaging for patients treated with uterine fibroid embolization. *J Magn Reson Imaging* 2000;12:1004–8.
- [115] de Vries A, Griebel J, Kremser C, et al. Monitoring of tumor microcirculation during fractionated radiation therapy in patients with rectal carcinoma: preliminary results and implications for therapy. *Radiology* 2000;217:385–91.
- [116] Mayr NA, Yuh WT, Arnholt JC, et al. Pixel analysis of MR perfusion imaging in predicting radiation therapy outcome in cervical cancer. *J Magn Reson Imaging* 2000;12:1027–33.
- [117] Harvey CJ, Blomley MJ, Dawson P, et al. Functional CT imaging of the acute hyperemic response to radiation therapy of the prostate gland: early experience. *J Comput Assist Tomogr* 2001;25:43–9.
- [118] Hoskin PJ, Saunders MJ, Goodchild K, Powell ME, Taylor NJ, Baddeley H. Dynamic contrast enhanced magnetic resonance scanning as a predictor of response to accelerated radiotherapy for advanced head and neck cancer. *Br J Radiol* 1999;72:1093–8.
- [119] Lyng H, Vorren AO, Sundfor K, et al. Intra- and intertumor heterogeneity in blood perfusion of human cervical cancer before treatment and after radiotherapy. *Int J Cancer* 2001;96:182–90.
- [120] Dugdale PE, Miles KA, Bunce I, Kelley BB, Leggett DAC. CT measurement of perfusion and permeability within lymphoma masses and its ability to assess grade, activity, and chemotherapeutic response. *J Comput Assist Tomogr* 1999;23:540–7.
- [121] Sahani DV, Kalva SP, Hamberg LM, et al. Assessing tumor perfusion and treatment response in rectal cancer with multisection CT: initial observations. *Radiology* 2005;234:785–92.
- [122] Tsushima Y, Funabasama S, Aoki J, Shigeru S, Endo K. Quantitative perfusion map of malignant liver tumors, created from dynamic computed tomography data. *Acad Radiol* 2004;11:215–23.
- [123] Bellomi M, Petralia G, Sonzogni A, Zampino MG, Rocca A. CT perfusion for the monitoring of neoadjuvant chemotherapy and radiation therapy in rectal carcinoma: initial experience. *Radiology* 2007;244:486–93.
- [124] Willett CG, Boucher Y, Di Tomaso E, et al. Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer. *Nat Med* 2004;10:145–7.
- [125] Tateishi U, Kusumoto M, Nishihara H, et al. Contrast-enhanced dynamic computed tomography for the evaluation of tumor angiogenesis in patients with lung carcinoma. *Cancer* 2002;95:835–42.



- [126] Roberts C, Issa B, Stone A, Jackson A, Waterton JC, Parker GJM. Comparative study into the robustness of compartmental modeling and model-free analysis in DCE-MRI. *JMRI* 2006;23:554–63.
- [127] Eveloch JL, LoRusso PM, He Z, et al. Magnetic resonance imaging measurements of the response of murine and human tumors to the vascular-targeting agent ZD6126. *Clin Cancer Res* 2004;10:3650–7.
- [128] Walker-Samuel S, Parker CC, Leach MO, Collins DJ. Reproducibility of reference tissue quantification of dynamic contrast-enhanced data: comparison with a fixed vascular input function. *Phys Med Biol* 2007;52:75–89.
- [129] Cenic A, Nabavi DG, Craen RA, et al. Dynamic CT measurement of cerebral blood flow: a validation study. *AJNR* 1999;20:63–73.
- [130] Cenic A, Nabavi DG, Craen RA, et al. A CT method to measure hemodynamics in brain tumors: validation and application of cerebral blood flow maps. *AJNR* 2000;21:462–70.
- [131] Gillard JH, Antoun NM, Burnet NG, Pickard JD. Reproducibility of quantitative CT perfusion imaging. *Br J Radiol* 2001;74:552–5.
- [132] Goh V, Halligan S, Hugill JA, Bartram CI. Quantitative assessment of tissue perfusion using MDCT: comparison of colorectal cancer and skeletal muscle measurement reproducibility. *AJR Am J Roentgenol* 2006;187:164–9.
- [133] Blomley MJ, Coulden R, Dawson P, et al. Liver perfusion studied with ultrafast CT. *J Comput Assist Tomogr* 1995;19:424–33.
- [134] Goh V, Halligan S, Hugill JA, Bassett P, Bartram CI. Quantitative assessment of colorectal cancer perfusion using MDCT: inter- and intraobserver agreement. *AJR Am J Roentgenol* 2005;185:225–31.
- [135] Goh V, Halligan S, Bartram CI. Quantitative tumor perfusion assessment with multidetector CT: are measurements from two commercial packages interchangeable? *Radiology* 2007;242:777–82.
- [136] Ng S, Goth V, Fichte H, et al. Lung cancer perfusion at multi-detector row CT: reproducibility of whole tumor quantitative measurements. *Radiology* 2006;239:547–53.
- [137] van den Hoff J. Assessment of lung cancer perfusion by using Patlak analysis: what do we do measure? *Radiology* 2007;243:907–8.
- [138] Ferrier MC, Sarin H, Fung SH, et al. Validation of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging-derived vascular permeability measurements using quantitative autoradiography in the RG2 rat brain tumor model. *Neoplasia* 2007;9:546–55.
- [139] Galbraith SM, Lodge MA, Taylor NJ, et al. Reproducibility of dynamic contrast enhanced MRI in human muscle and tumors: comparison of quantitative and semi-quantitative analysis. *NMR Biomed* 2002;15:132–42.
- [140] Padhani AR, Hayes C, Landau S, Leach MO. Reproducibility of quantitative dynamic MRI of normal human tissues. *NMR Biomed* 2002;15:143–53.
- [141] Jackson A, Haroon H, Zhu XP, Li KL, Thacker A, Jayson G. Breath-hold perfusion and permeability mapping of hepatic malignancies using magnetic resonance imaging and a first-pass leakage profile model. *NMR Biomed* 2002;15:164–73.
- [142] Wetzel SG, Cha S, Johnson G, et al. Relative cerebral blood volume measurements in intracranial mass lesions: interobserver and intraobserver reproducibility study. *Radiology* 2002;224:797–803.
- [143] Jackson A, Jayson GC, Li KL, et al. Reproducibility of quantitative dynamic contrast enhanced MRI in newly presenting glioma. *Br J Radiol* 2003;76:153–62.
- [144] van Laarhoven HWM, Rijpkema M, Punt CJA, et al. Method for quantitation of dynamic MRI contrast agent uptake in colorectal liver metastases. *JMRI* 2003;18:315–20.
- [145] Brannigan M, Burns PN, Wilson SR. Blood flow patterns in focal liver lesions at microbubble-enhanced US. *RadioGraphics* 2004;24:921–35.
- [146] Piscaglia F, Gaiani S, Tamperi S, et al. Liver metastases from rectal carcinoma: disease progression during chemotherapy despite loss of arterial-phase hypervascularity on realtime contrast-enhanced harmonic sonography at low acoustic energy. *J Clin Ultrasound* 2003;31:387–91.
- [147] Lassau N. Roche Imaging and angiogenesis: DCE-US (dynamic contrast enhanced-ultrasonography). *Am Bull Cancer* 2007;94:S247–53.
- [148] Lassau N, Lamuraglia M, Vanel D, et al. Doppler US with perfusion software and contrast medium injection in the early evaluation of isolated limb perfusion of limb sarcomas: prospective study of 49 cases. *Ann Oncol* 2005;16:1054–60.
- [149] Lassau N, Lamuraglia M, Chami L, et al. Gastro-intestinal stromal tumours treated with imatinib: monitoring response with contrast enhanced ultrasound. *Am J Roentgenol* 2006;187:1267–73.
- [150] De Giorgi U, Aliberti C, Benea G, Conti M, Marangolo M. Effect of angiosonography to monitor response during Imatinib treatment in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 2005;11:6171–6.
- [151] Lamuraglia M, Escudier B, Chami L, et al. To predict progression-free survival and overall survival in metastatic renal cancer treated with sorafenib: pilot study using dynamic contrast enhanced Doppler ultrasound. *Eur J Cancer* 2006;42:2472–9.
- [152] Choi D, Lim HK, Kim SH, et al. Hepatocellular carcinoma treated with percutaneous radio-frequency ablation: usefulness of power Doppler US with a microbubble contrast agent in evaluating therapeutic response-preliminary results. *Radiology* 2000;217:558–63.
- [153] Choi D, Lim HK, Lee WJ, et al. Early assessment of the therapeutic response to radio frequency ablation for hepatocellular carcinoma: utility of gray scale harmonic ultrasonography with a microbubble contrast agent. *J Ultrasound Med* 2003;22:1163–72.
- [154] Wen YL, Kudo M, Zheng RQ, et al. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: therapeutic response using contrast-enhanced coded phase-inversion harmonic sonography. *AJR Am J Roentgenol* 2003;181:57–63.
- [155] Kim CK, Choi D, Lim HK, et al. Therapeutic response assessment of percutaneous radio frequency ablation for hepatocellular carcinoma: utility of contrast-enhanced agent detection imaging. *Eur J Radiol* 2005;56:66–73.
- [156] Vilana R, Bianchi L, Varela M, et al. Is microbubble-enhanced ultrasonography sufficient for assessment of response to percutaneous treatment in patients with early hepatocellular carcinoma? *Eur Radiol* 2006;16:2454–62.
- [157] Wang JH, Lu SN, Tung HD, et al. Flash-echo contrast sonography in the evaluation of response of small hepatocellular carcinoma to percutaneous ablation. *J Clin Ultrasound* 2006;34:161–8.
- [158] Lu MD, Yu XL, Li AH, et al. Comparison of contrast enhanced ultrasound and contrast enhanced CT or MRI in monitoring percutaneous thermal ablation procedure in patients with hepatocellular carcinoma: a multicenter study in China. *Ultrasound Med Biol* 2007;33:1736–49.
- [159] Lamuraglia M, Lassau N, Garbay J-R, et al. Doppler US with perfusion software and contrast medium injection in the early evaluation of radiofrequency in breast cancer recurrences: a prospective phase II study. *Eur J Radiol* 2005;56:376–81.
- [160] Zhou XD, Ren XL, Zhang J, et al. Therapeutic response assessment of high intensity ultrasound therapy for uterine fibroid: utility of contrast-enhanced ultrasonography. *Eur J Radiol* 2007;62:289–94.
- [161] Cosgrove S. Angiogenesis imaging: ultrasound. *Br J Radiol* 2003;76:S43–9.
- [162] Le Bihan D. Molecular diffusion, tissue microdynamics and microstructure. *NMR Biomed* 1995;8:375–86.
- [163] Moffat BA, Chenevert TL, Meyer CR, et al. The functional diffusion map: an imaging biomarker for the early prediction of cancer treatment outcome. *Neoplasia* 2006;8:259–67.
- [164] Galons J-P, Altbach MI, Paine-Murrieta G, Taylor CW, Gillies RJ. Early increases in breast tumor xenograft water mobility in response to paclitaxel therapy detected by non-invasive diffusion magnetic resonance imaging. *Neoplasia* 1999;2:113–7.
- [165] Thoeny HC, De Keyzer F, Chen F, et al. Diffusion-weighted MR imaging in monitoring the effect of a vascular targeting agent on rhabdomyosarcoma in rats. *Radiology* 2005;234:756–64.

- [166] Ross BD, Moffat BA, Lawrence TS, et al. Evaluation of cancer therapy using diffusion magnetic resonance imaging. *Mol Cancer Ther* 2003;2:581–7.
- [167] Murtz P, Flacke S, Traber F, van den Brink JS, Gieseke J, Schild HH. Abdomen: diffusion-weighted MR imaging with pulse-triggered single-shot sequences. *Radiology* 2002;224:258–64.
- [168] Chenevert TL, Stegman LD, Robertson PL, Greenberg HS, Rehemtulla A, Ross BD. Diffusion magnetic resonance imaging: an early surrogate marker of therapeutic efficacy in brain tumors. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:2029–36.
- [169] Dzik-Jurasz AS, Domenig C, George M, et al. Diffusion MRI for prediction of response of rectal cancer to chemoradiation. *Lancet* 2002;360:307–8.
- [170] Kamel IR, Bluemke DA, Ramsey D, et al. Role of diffusion-weighted imaging in estimating tumor necrosis after chemoembolization of hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2003;181:708–10.
- [171] Moffat BA, Chenevert TL, Lawrence TS, et al. Functional Diffusion Map (fDM): a noninvasive MRI biomarker for early stratification of clinical brain tumor response. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:5524–9.
- [172] Hamstra DA, Chenevert TL, Moffat BA, et al. Evaluation of the functional diffusion map as an early biomarker of time-to-progression and overall survival in high grade glioma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:16759–64.
- [173] Yankeelov TE, Lepage M, Chakravarthy A. Integration of quantitative DCE-MRI and ADC mapping to monitor treatment response in human breast cancer: initial results. *Magn Reson Imaging* 2007;25:1–13.
- [174] Cercignani M, Bammer R, Sormain MP, Fazekas F, Filippi M. Inter-sequence and inter-imaging unit variability of diffusion tensor MR imaging histogram-derived metrics of the brain in healthy volunteers. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003;24:638–43.
- [175] Pfefferbaum A, Adalsteinsson E, Sullivan EV. Replicability of diffusion tensor imaging measurements of fractional anisotropy and trace in brain. *J Magn Reson Imaging* 2003;18:427–33.
- [176] Gibbs P, Pickles MD, Turnbull LW. Repeatability of echo-planar-based diffusion measurements of the human prostate at 3T. *Magn Reson Imaging* 2007;25:1423–9.
- [177] Yang DW, Ye Q, Williams DS, Hitchens DK, Ho C. Normal and transplanted rat kidneys: diffusion MR imaging at 7 T. *Radiology* 2004;231:702–9.
- [178] Shah N, Sattar A, Benanti M, Hollander S, Cheuck L. Magnetic resonance spectroscopy as an imaging tool for cancer: a review of the literature. *J Am Osteopath Assoc* 2006;106:23–7.
- [179] Kwock L, Smith JK, Castillo M, et al. Clinical role of proton magnetic resonance spectroscopy in oncology: brain, breast, and prostate cancer. *Lancet Oncol* 2006;7:859–68.
- [180] Gribbestad IS, Sitter B, Lundgren S, Krane J, Axelson D. Metabolite composition in breast tumors examined by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Anticancer Res* 1999;19:1737–46.
- [181] Sitter B, Sonnewald U, Spraul M, Fjosne HE, Gribbestad IS. High-resolution magic angle spinning MRS of breast cancer tissue. *NMR Biomed* 2002;15:327–37.
- [182] Yoshino E, Ohmori Y, Imahori Y, et al. Irradiation effects on the metabolism of metastatic brain tumors: analysis by positron emission tomography and <sup>1</sup>H-magnetic resonance spectroscopy. *Stereotact Funct Neurosurg* 1996;66:240–59.
- [183] Nelson SJ, Vigneron DB, Dillon WP. Serial evaluation of patients with brain tumors using volume MRI and 3D <sup>1</sup>H MRSI. *NMR Biomed* 1999;12:123–38.
- [184] Zeng QS, Li CF, Zhang K, Liu H, Kang XS, Zhen JH. Multivoxel 3D proton MR spectroscopy in the distinction of recurrent glioma from radiation injury. *J Neurooncol* 2007;84:63–9.
- [185] Graves EE, Nelson SJ, Vigneron DB, et al. Serial proton MR spectroscopic imaging of recurrent malignant gliomas after gamma knife radiosurgery. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001;22:613–24.
- [186] Kimura T, Sako K, Tanaka K, et al. Evaluation of the response of metastatic brain tumors to stereotactic radiosurgery by proton magnetic resonance spectroscopy, 201TlCl single-photon emission computerized tomography, and gadolinium enhanced magnetic resonance imaging. *J Neurosurg* 2004;100:835–41.
- [187] Murphy PS, Viviers L, Abson C, et al. Monitoring temozolomide treatment of low-grade glioma with proton magnetic resonance spectroscopy. *Br J Cancer* 2004;90:781–6.
- [188] Kurhanewicz J, Swanson MG, Nelson SJ, Vigneron DB. Combined magnetic resonance imaging and spectroscopic imaging approach to molecular imaging of prostate cancer. *J Magn Reson Imaging* 2002;16:451–63.
- [189] Mueller-Lisse UG, Scherr MK. Proton MR spectroscopy of the prostate. *European J Radiol* 2007;63:351–60.
- [190] Portalez D, Malavaud B, Herigault G, et al. Détection du cancer de la prostate par IRM endorectale dynamique et spectroscopie-proton. *J Radiol* 2004;85:1999–2004, full text in english on [www.e2med.com/jr](http://www.e2med.com/jr).
- [191] Coakley FV, Hricak H, Wefer AE, et al. Brachytherapy for prostate cancer: endorectal MR imaging of local treatment related changes. *Radiology* 2001;219:817–21.
- [192] Kurhanewicz J, Vigneron DB, Hricak H, et al. Three-dimensional H-1 MR spectroscopic imaging of the in situ human prostate with high (0.24–0.7 cm<sup>3</sup>) spatial resolution. *Radiology* 1996;198:795–805.
- [193] Pucar D, Shukla-Dave A, Hricak H, et al. Prostate cancer: correlation of MR imaging and MR spectroscopy with pathologic findings after radiation therapy: initial experience. *Radiology* 2005;236:545–53.
- [194] Mueller-Lisse UG, Swanson MG, Vigneron DB, et al. Time-dependent effects of hormone-deprivation therapy on prostate metabolism as detected by combined magnetic resonance imaging and 3D magnetic resonance spectroscopic imaging. *Magn Reson Med* 2001;46:49–57.
- [195] Parivar F, Hricak H, Shinohara K, et al. Detection of locally recurrent prostate cancer after cryosurgery: evaluation by transrectal ultrasound, magnetic resonance imaging, and three-dimensional proton magnetic resonance spectroscopy. *Urology* 1996;48:594–9.
- [196] Fisher B, Bryant J, Wolmark N, et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:2672–85.
- [197] Scholl SM, Pierga JY, Asselain B, et al. Breast tumour response to primary chemotherapy predicts local and distant control as well as survival. *Eur J Cancer* 1995;31A:1969–75.
- [198] Rieber A, Brambs HJ, Gabelmann A, et al. Breast MRI for monitoring response of primary breast cancer to neo-adjuvant chemotherapy. *Eur Radiol* 2002;12:1711–9.
- [199] Bolan PJ, Meisamy S, Baker EH, et al. In vivo quantification of choline compounds in the breast with H-1 MR spectroscopy. *Magn Reson Med* 2003;50:1134–43.
- [200] Jacobs MA, Barker PB, Bottomley PA, Bhujwala Z, Bluemke DA. Proton magnetic resonance spectroscopic imaging of human breast cancer: a preliminary study. *J Magn Reson Imaging* 2004;19:68–75.
- [201] Jacobs MA, Barker PB, Argani P, Ouwkerker R, Bhujwala ZM, Bluemke DA. Combined dynamic contrast enhanced breast MR and proton spectroscopic imaging: a feasibility study. *J Magn Reson Imaging* 2005;21:23–8.
- [202] Mountford CE, Somorjai RL, Malycha P, et al. Diagnosis and prognosis of breast cancer by magnetic resonance spectroscopy of fine-needle aspirates analysed using a statistical classification strategy. *Br J Surg* 2001;88:1234–40.
- [203] Jagannathan NR, Kumar M, Seenu V, et al. Evaluation of total choline from in-vivo volume localized proton MR spectroscopy and its response to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer. *Br J Cancer* 2001;84:1016–22.
- [204] Meisamy S, Bolan PJ, Baker EH, et al. Neoadjuvant chemotherapy of locally advanced breast cancer: predicting response with in vivo H-1 MR spectroscopy—a pilot study at 4T. *Radiology* 2004;233:424–31.

- [205] Kumar M, Jagannathan NR, Seenu V, Dwivedi SN, Julka PK, Rath GK. Monitoring the therapeutic response of locally advanced breast cancer patients: sequential in vivo proton MR spectroscopy study. *JMRI* 2006;24:325–32.
- [206] Manton DJ, Chaturvedi A, Hubbard A, et al. Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: early response prediction with quantitative MR imaging and spectroscopy. *Br J Cancer* 2006;94:427–35.
- [207] Haddadin IS, McIntosh A, Meisamy S, et al. Metabolite quantification and high-field MRS in breast cancer. *NMR Biomed* 2007. Published online in Wiley InterScience.
- [208] Meisamy S, Bolan PJ, Baker EH, et al. Adding in vivo quantitative 1H MR spectroscopy to improve diagnostic accuracy of breast MR imaging: preliminary results of observer performance study at 4.0 T. *Radiology* 2005;236:465–75.
- [209] Schirmer T, Auer DP. On the reliability of quantitative clinical magnetic resonance spectroscopy of the human brain. *NMR Biomed* 2000;13:28–36.
- [210] Träber F, Block W, Freymann N, et al. A multicenter reproducibility study of single-voxel 1H-MRS of the medial temporal lobe. *Eur Radiol* 2006;16:1096–103.
- [211] Cai W, Rao J, Gambhir SS, Chen X. How molecular imaging is speeding up antiangiogenic drug development. *Mol Cancer Ther* 2006;5:2624–33.
- [212] Winter PM, Caruthers SD, Kassner A, et al. Molecular imaging of angiogenesis in nascent Vx-2 rabbit tumors using a novel avh3-targeted nanoparticle and 1.5 tesla magnetic resonance imaging. *Cancer Res* 2003;63:5838–43.
- [213] Sipkins DA, Cheresch DA, Kazemi MR, Nevin LM, Bednarski MD, Li KC. Detection of tumor angiogenesis in vivo by alphaVbeta3-targeted magnetic resonance imaging. *Nat Med* 1998;4:623–6.
- [214] Anderson SA, Glod J, Arbab AS, et al. Noninvasive MR imaging of magnetically labeled stem cells to directly identify neovasculature in a glioma model. *Blood* 2005;105:420–5.
- [215] Maehara N. Experimental microcomputed tomography study of the 3D microangiarchitecture of tumors. *Eur Radiol* 2003;13:1559–65.
- [216] Leong-Poi H, Christiansen JP, Klibanov AL, et al. Non-invasive assessment of angiogenesis by ultrasound and microbubbles targeted to alpha (v) integrins. *Circulation* 2003;107:455–60.
- [217] Korpanty G, Carbon JG, Grayburn PA, Fleming JB, Brekken RA. Monitoring response to anticancer therapy by targeting microbubbles to tumor vasculature. *Clin Cancer Res* 2007;13:323–30.

## Biographies

*Claude Marcus* is professor in Radiology at the University Hospital of Reims since 1999. He received his M.D. in 1986 and joined the Hammersmith Hospital, London, UK, in 1994 to perform research works on MR Spectroscopy in the Robert Steiner Magnetic Resonance Unit. He is a member of SFR (Societe Française de Radiologie) and RSNA (Radiological Society of North America). His researches are mainly

focused on Digestive Oncology and Cardio-Vascular radiology. He has published or co-published over 40 papers, mainly on abdominal and vascular imaging. He is actively involved in the teaching and research of oncology fellows and students.

*Viviane Ladam-Marcus* took her medical degree in Paris in 1979. She is Senior Practitioner at the University Hospital of Reims since 1989. Her researches are mainly focused on Contrast Ultrasound in Oncology. She has published or co-published over 20 papers, mainly on Ultrasound in patients with cancer.

*Camelia Cucu*, received her M.D. with honors at University Transilvania, Romania, in 1998. She started radiological residency at Brasov University Hospital (2000) and completed her radiological residency training at University Hospital of Reims, France (2003–2005). She is a board certified radiologist since 2005. She is Senior Practitioner in the Department of Radiology at the University Hospital of Reims, France, and at Auban Moet Hospital, Epernay, France. She is a member of the RSR (Romanian Society of Radiology) and SFR (French Society of Radiology). Her areas of particular interest are Oncology imaging and interventional radiology. She has published 11 articles in radiological journals mainly focused on abdominal imaging.

*Olivier Bouché* is professor in Gastroenterology at the University Hospital of Reims. He is a member of ASCO and FFCD (Fédération Francophone de Cancérologie Digestive). His researches are mainly focused on Digestive Oncology. He has published or co-published over 60 papers, mainly on new combinations of anti-neoplastic agents in adjuvant and palliative treatment in patients with digestive cancer.

*Laurent Lucas* received his Ph.D. degree in 1995 from the University of Reims, France. He is currently a full professor in the Department of Computer Science at the University Institute of Technology (Reims University). His research interests include scientific visualization, geometric modeling, 3DTV and cooperation between image processing and computer graphics.

*Christine Hoeffel*, took her medical degree in Paris in 1992. She is assistant professor at the university hospital of Reims. She is currently undertaking a Ph.D. on blood flow quantification using contrast-enhanced ultrasound. She has published or co-published over 50 papers, mainly focused on abdominal imaging.

## Bibliographie

Albrecht, T., Blomley, MJ., Cosgrove, DO et al.(1999 a). Transit-time studies with levovist in patients with and without hepatic cirrhosis: a promising new diagnostic tool. *Eur Radiol*, 9: 377-81.

Albrecht, T., Blomley, MJ., Cosgrove, DO et al.(1999 b).Non invasive diagnosis of hepatic cirrhosis by transit-time analysis of an ultrasound contrast agent. *Lancet*, 353: 1579-1983.

Ascenti, G., Mazziotti, S., Zimbaro, G., Settineri, N., Magno, C., Melloni, D., Caruso, R., and Scribano, E. (2007). Complex renal cystic masses: characterization with contrast-enhanced ultrasound. *Radiology* 243: 158-165.

Ascenti, M., Gaeta, M., Magno C., Mazziotti S., Blandino, A., Melloni, D., and Zimbaro, G.(2004). Contrast-enhanced second-harmonic sonography in the detection of pseudocapsule in renal cell carcinoma. *AJR*, 182: 1525-1530.

Bertolotto; M., Martegani; A., Aiani; L., Zapetti; R., Cernic; S., and Cova; MA (2008). Value of contrast-enhanced ultrasonography for detecting renal infarcts proven by contrast-enhanced CT. A feasibility study. *Eur Radiol*, 18: 376-83.

Blomley, MJ., Lim, AK., Harvey, CJ et al.(2003). Liver microbubble transit time compared with histology and Child-Pugh score in diffuse liver disease: a cross sectional study. *Gut*, 52: 1188-93.

Braunschweig, R., Oliff, S., and Oliff, J. (1996). Echo-enhanced liver and portal system ultrasound imaging with Levovist (SHU508 A). *Angiology*, 47: S23-S27.

Broillet, A., Hantson, J., Ruegg, C., Messenger, T., and Schneider, M. Assessment of microvascular perfusion changes in a rat breast tumor model using sonovue to monitor the effects of different anti-angiogenic therapies. (2005). *Acad Radiol*, 12: S 28-33.

Claudon, M., Plouin, PF., Baxter, G., et al (2000). Renal arteries in patients at risk of renal arterial stenosis: multicenter evaluation of the echo-enhancer SHU 508 A at color and spectral doppler US. Levovist renal artery stenosis study group. *Radiology*, 214: 739-46.

Correas, JM., Claudon, M., Tranquart, F., and Helenon, O. (2006).The kidney: imaging with microbubble contrast agents. *Ultrasound Q*, 22: 53-66.

Correas, JM., and H el enon, O. Imagerie des affections r enales. (2007) In: *Echographie de contraste : m ethodologie et applications cliniques*. Ed: Springer Verlag, France, Paris .

Cuenod, CA., Fournier, L., Balvay, D., and Guinebreti ere, JM. (2006). Tumor angiogenesis: pathophysiology and implications for contrast-enhanced MRI and CT assessment. *Abdom Imaging*, 31: 188-193.

De Bazelaire, C., Rofsky, N., Duhamel, G., Zhang, J., Michaelson, M., George, D, and Alsop, D. (2006). Combined T2\* and T1 measurements for improved perfusion and permeability studies in high field using dynamic contrast enhancement. *Eur Radiol*, 16: 2083-91.

De Jong, N. and Hoff, L. (1993). Ultrasound scattering properties of albumin microspheres. *Ultrasonics*, 31: 175-81.

Fan, L.; Lianfang, D., Jinfang, X., Yijin, S., and Ying, W. (2008) Diagnostic efficacy of contrast-enhanced ultrasonography on solid renal parenchymal lesions with maximum diameters of 5 cm. *J Ultrasound Med*, 27: 875-85.

Francica, G., and Lapicciarella, G. (2008). Focal liver lesion: one more example of discordance between contrast-enhanced sonography and CT pattern of enhancement. *AJR*, 190: author reply W223.

Giordano, M., Marzolla, R., Puteo, F., Scianaro, L., Caringella, DA., and Depalo, T. (2007) Voiding urosonography as first step in the diagnosis of vesicoureteral reflux in children: a clinical experience. *Pediatr Radiol*, 37: 674-7.

Haendl, T., Strobel, D., Steinebrunner, N., Frieser, M., Hahn, EG., and Bernatik, T.(2008). Hepatic transit time in benign liver lesions. *Ultraschall med*, 29: 184-9.

Hanahan, D. (1997). Signaling vascular morphogenesis and maintenance. *Science*, 277: 48-50.

Herold, C., Reck, T., Ott, R., et al. (2001). Contrast-enhanced ultrasound improves hepatic vessel visualization after orthotopic liver transplantation. *Abdom Imaging*, 26: 597-600.

Kerbel, RS. (2000). Tumor angiogenesis : past, present and the near future. *Carcinogenesis*, 21: 505-515.

Kono, Y., Lucidarme, O., Choi, SH., et al. Contrast-enhanced ultrasound as a predictor efficacy within 2 weeks after transarterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma. (2007). *J Vasc Interv Radiol*, 18: 57-65.

Leen, E., Moug, SJ., and Horgan, P. (2004). Potential impact and utilization of ultrasound contrast media. *Eur Radiol*; 14: 16-24.

Lim, AK., Taylor-Robinson, SD., Patel, N. et al. (2005). Hepatic veins transit times using a microbubble agent can predict severity non-invasively in patients with hepatitis C. *Gut*, 54: 128-33.

Lucidarme, O., Nguyen, T., Kono, Y., Corbeil, J., Choi, S. H., Varner, J., and Mattrey, R. F. (2004). Angiogenesis model for ultrasound contrast research: exploratory study. *Acad Radiol*, 11: 4-12.

Lucidarme, O., Kono, Y., Corbeil, J., Choi, S. H., Golmard, J. L., Varner, J., and Mattrey, R. F. (2006). Angiogenesis : noninvasive quantitative assessment with contrast-enhanced functional us in murine model. *Radiology*, 239: 730-9. 84

Mc Carville, MB., Streck, CJ., Dickson, PV., Li, CS., Nathwani, AC., and Davidoff, AM. (2006). Angiogenesis inhibitors in a murine neuroblastoma model: quantitative assessment of intratumoral blood flow with contrast-enhanced grey-scale US *Radiology*, 240: 73-81.

Mitterberger, M., Pinggera, GM., Colleselli, D., Bartsch, G., Strasser, H., Steppan, I., Pallwein, L., Friedrich, A., Gradi, J., and Frauscher, F. (2008). Acute pyelonephritis: comparison of diagnosis with computed tomography and contrast-enhanced ultrasonography. *BJU Int*, 101: 341-344

Niermann, KJ., Fleischer, AC., Huamani, J., Yankeelov, TE., Kim, DW., Wilson, WD., and Hallahan, DE. (2007). Measuring tumor perfusion in control and treated murine tumors: correlation of microbubble contrast-enhanced sonography to dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging and fluorodesoxyglucose positron emission tomography. *J Ultrasound Med*; 26: 749-56.

Nishida, M., Koito, K., Hirokawa, N., Hori, M., Satoh, T., and Hareyama, M. (2009). Does contrast-enhanced ultrasound reveal tumor angiogenesis in pancreatic ductal carcinoma? A prospective study. *Ultrasound Med Biol*, 35: 175-85.

Pettersson, A., Nagy, JA., Brown, LF., et al. (2000). Heterogeneity of the angiogenic response induced in different normal adult tissues by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Lab Invest*; 80: 99-115.

Postert, T., Hoppe, P., Federlein, J., Helbeck, S., Ermert, H., Przuntek, H., Buttner, T., and Wilkening, W. (2000). Contrast specific imaging nodes fort he ultrasonic assessment of parenchymal cerebral echo contrast enhancement. *J Cereb Blood Flow Metab*, 20: 1709-16.

Quaia, E., Siracusano S., and Bertolotto, M. (2003). Characterization of renal tumours with pulse inversion harmonic imaging by intermittent high mechanical index technique. Preliminary results. *Eur Radiol*, 13: 1402-1412.

Quaia, E., Siracusano, S., Palumbo, A., Ciciliato, S., Rossi, S., Bruni, S., Bussani, R., and Cova, M (2006). Detection of focal renal perfusion defects in rabbits after sulphur hexafluoride-filled microbubble injection at low transmit power ultrasound insonation. *Eur Radiol*, 16: 166-172.

Quaia, E., Bertolotto, M., Cioffi, V., Rossi, A., Baratella, E., Pizzolato, R., and Cov, MA. (2008) Comparison of contrast-enhanced sonography with unenhanced sonography and contrast-enhanced CT in the diagnosis of malignancy in complex cystic renal masses. *AJR*, 191: 1239-1249.

Slabaugh, TK., Machaidze, Z., Hennigar R., and Ogan, K. (2005). *J Endourol*, 19: 579-583.

Stieger, S.M., Bloch, S.H., Foreman, O., Wisner, E.R., Ferrara, K.W, and Dayton, P.A. (2006). Ultrasound assessment of angiogenesis in a matrigel model in rats. *Ultrasound Med Biol*, 32: 673-681.

Sugimoto, H., Kaneko, T., Hirota, M., Tezel, E., and Nakao, A. (2002). Earlier hepatic vein transit-time measured by contrast ultrasonography reflects intrahepatic hemodynamic changes accompanying cirrhosis. *J Hepatol*, 37: 578-83.

Tamai, H., Takiguchi, Y., and Oka, M. (2005). Contrast-enhanced ultrasonography in the diagnosis of solid renal tumors. *J Ultrasound Med*, 24: 1635-1640.

Staub, F., Tournoux-Facon, C., Roumy, J., et al. (2009). Liver fibrosis staging with contrast-enhanced ultrasonography : prospective multicenter study compared with METAVIR scoring. *Eur Radiol*, march, epub ahead of print.

Thibault, H., Lafitte, S., Timperley, J., Tariosse, L., Becher, H., Roudaut, R., and Dos Santos, P. (2005). Quantitative analysis of myocardial perfusion in rats by contrast echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*, 18: 1321-1328.

Therasse, P., Arbuck, SG., Eisenhauer, EA., et al. (2000). New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for research and treatment of cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst*, 92: 205-16.

Valentini, AL., De Gaetano, AM., Minordi, LM., Nanni, G., Citterio, F., Viggiano, AM., Tancioni, V.; and Destito, C. (2004) Contrast-enhanced voiding US for grading of reflux in adult patients prior to antireflux ureteral implantation. *Radiology*, 233: 35-9.

Willmann, JK., Lutz, AM., Paulmurugan, R., Patel, MR., Chu, P., Rosenberg, J., and Gambhir, SS.(2008). Dual-targeted contrast agent for US assessment of tumor angiogenesis in vivo. *Radiology*; 248: 936-44.

Wei, K., Jayaweera, A.R., Firoozan, S., Linka, A., Skyba, D.M., and Kaul, S. (1998). Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation*; 97: 473-83.

Wilkening, W., Postert, T., Federlein, J., Kono, Y., Mattrey, R., and Ermert, H. (2000). Ultrasonic assessment of perfusion conditions in the brain and in the liver. In *Ultrasonics symposium, 2000 IEEE*, volume 2, pages 1545-1548.

Yankeelov, TE., Niermann, KJ., Huamani, J., Kim, DW., Quarles, CC., Fleischer, AC., Hallahan, DE., Price, RR., and Gore, JC. (2006). Correlation between estimates of tumor perfusion from microbubble contrast-enhanced sonography and dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *J Ultrasound Med* ; 25: 487-97.

Zheng, RQ., Zhang, B., Kudo, M., and Sakaguchi, Y. (2005). Hemodynamic and morphologic changes of peripheral hepatic vasculature in cirrhotic liver disease: a preliminary study using contrast-enhanced coded phase inversion harmonic ultrasonography. *World J Gastroenterol*, 11: 6348-53.

**PARTIE**  
**EXPERIMENTALE**



## CHAPITRE IV

# Amélioration de l'évaluation de la perfusion rénale par une prise en compte de l'entrée artérielle

### Introduction

Plusieurs modèles de perfusion spécifiques à l'imagerie ultrasonore de contraste permettent d'obtenir une estimation des paramètres de perfusion intravasculaire, à savoir la perfusion tissulaire et la fraction volumique sanguine. Par exemple, le modèle monoexponentiel croissant proposé par Wei et al. Permet d'obtenir une estimation de la perfusion tissulaire qui est le produit  $\alpha \times \beta$  des deux paramètres du modèle. Cependant, si ce paramètre est effectivement lié à la perfusion tissulaire, il dépend également d'autres facteurs, et notamment

de la concentration initiale de l'agent de contraste. Ainsi, la comparaison des différentes mesures n'est possible qu'en éliminant la dépendance du paramètre mesuré vis-à-vis de ces facteurs. Ce point est particulièrement dans le cas d'études longitudinales. Dans ce chapitre, une méthode permettant de réduire la variabilité des mesures dues à la concentration de l'agent de contraste est proposée. Cette méthode fait l'hypothèse d'une entrée artérielle accessible. Nous décrivons et discutons notre étude dans l'article ci-après et dans le chapitre discussion générale.

Editorial Manager(tm) for Investigative Radiology  
Manuscript Draft

Manuscript Number: IR-D-08-00440

Title: A New Method to Improve Renal Blood Flow Quantification Using Contrast-enhanced  
Ultrasound

Article Type: Original Investigations - Resubmission

Keywords: Ultrasound; kidney; contrast-enhanced ultrasound

A NEW METHOD TO IMPROVE RENAL BLOOD FLOW QUANTIFICATION USING  
CONTRAST-ENHANCED ULTRASOUND

Christine Hoeffel<sup>1</sup>, MD; Sébastien Mulé<sup>2,3</sup>, PhD; Laurent Huwart<sup>4</sup>, MD, PhD; Frédérique Frouin<sup>2,3</sup>; PhD; Jean-Philippe Jais<sup>5</sup>, MD, PhD; Lori Bridal<sup>6</sup>, PhD; Olivier Hélénon<sup>7</sup>, MD; Jean-Michel Correas<sup>6,7</sup>, MD, PhD.

<sup>1</sup>, Service de Radiologie, CHU Reims, France

<sup>2</sup>, Inserm, UMR-S 678, Paris F-75013, France

<sup>3</sup>, Université Pierre et Marie Curie, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Paris F-75013, France

<sup>4</sup>, Groupe hospitalier Paris Saint-Joseph, 185 rue Raymond Losserand, 75014 Paris, France

<sup>5</sup>, Service de Biostatistique, Hôpital Necker, 149 rue de Sèvres, Paris 75007- Université Paris Descartes, France

<sup>6</sup>, UPMC Univ Paris 06; CNRS, UMR 7623, Laboratoire d'Imagerie Paramétrique F-75005, Paris, France

<sup>7</sup>, Service de Radiologie, Hôpital Necker, 149 rue de Sèvres, Paris 75007- Université Paris Descartes, France

Name and address for correspondence:

Dr Christine Hoeffel

Service de Radiologie, Hôpital Robert Debré, 51100 Reims

France

Tel: (33) 3 26 78 42 16.

Fax: (33) 3 26 78 84 77.

[choeffel-fornes@chu-reims.fr](mailto:choeffel-fornes@chu-reims.fr)

## SUMMARY

**Purpose:** The aim of the study was to evaluate a new method for quantification of renal blood flow using Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in an ex vivo pig kidney model.

**Material and Methods:** After approval by the animal ethics committee, 4 pig kidneys were explanted and perfused with Celsior® liquid (Imtix Sangstat, Lyon, France) at different flow rates (30, 50, 70 and 90 ml/min) in an ex-vivo phantom. A 50 % diluted solution of SonoVue® (Bracco, Milano, Italy) was infused in the artery at 0.5 ml/min. CEUS was performed with an Aplio system (Toshiba, Nasu, Japan) using a broadband linear transducer and pulse subtraction imaging. A total of 152 destruction-reperfusion sequences were acquired and cine-loops were digitally stored for further quantification. Three different ROIs were placed upon anterior, posterior cortex and segmental artery. Signal intensity measurements were performed in linear units and perfusion parameters were automatically extracted using dedicated software. Curve fitting was performed using a monoexponential model in which a time delay parameter was introduced. This fit allowed the assessment of the local blood flow into the region of interest (called “Contrast-Enhanced Blood Flow” (CEBF)). The artery mean signal intensity was averaged from the ten frames prior to the destruction phase. Normalized CEBF (nCEBF) was calculated as the ratio between CEBF and mean arterial signal intensity. CEBF and nCEBF were compared to the true blood flow indicated by the pump flow rate.

**Results:** CEBF was correlated to the true blood flow only for the posterior cortical ROI ( $p < 0.001$ ). The normalization using arterial signals improved CEBF correlation to true blood flow: nCEBF became correlated to the true blood flow for all ROIs and correlation was improved for the cortical posterior ROI ( $p < 0.0001$ ). However, a significant kidney-dependent

effect was observed for the anterior cortical ROIs ( $p=0.033$ ) but not for the posterior cortical ROI ( $p=0.6$ ).

Conclusion: The normalization using arterial signals improved the estimation of blood flow calculated with CEUS.

## INTRODUCTION

Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) is a widely available, relatively inexpensive contrast-enhanced imaging modality indicated for cardiac indications such as endocardial border delineation and left ventricular opacification, as well as for radiological indications such as focal liver lesions detection and characterization. Microbubble contrast agents remain strictly intravascular and are blood pool markers. CEUS thus has a great potential for tissue perfusion measurements, including renal perfusion quantification.

Preliminary studies were conducted during microbubble constant infusion based on destruction-reperfusion kinetics (1, 2, 3). Since the initial publication of this approach, new specific US imaging modalities have been developed for the detection of microbubble acoustic signature at lower incident acoustic power (4).

However, the clinical application of such measurements has been rather limited considering the potential implication in patient management, owing to technical difficulties in image acquisition and lack of validation due to variability. In the renal vascular bed, the spatial distribution of macro and microvasculature flow is heterogeneous and measurement-site selection can result in additional measurement variability due to microbubble concentration and stability, local acoustic energy heterogeneity and attenuation. Moreover, the mathematical model of perfusion used to evaluate renal perfusion is still suffering from many limitations (1). Our in vitro study was designed in order to improve blood flow measurements and

demonstrate the impact of internal standardization to compensate for microbubble limited stability and variable concentration. We hypothesized that the signal intensity obtained from a segmental artery at the measurement site could improve the relationship between CEUS estimated blood flow (CEBF) and true arterial blood flow.

## MATERIAL AND METHODS

### Experimental setup

The protocol was approved by the institutional animal care committee. The procedure was conducted on two adult pigs (31 and 33 kgs, respectively). The pigs were anesthetized and the four kidneys surgically explanted by an urologist trained in the explantation procedure used for transplanted kidneys (5). After euthanasia, both kidneys were surgically explanted and the renal artery was carefully cannulated using a 8F catheter. This catheter was fixed with two sutures to prevent leakage. The kidney was perfused using cold Celsior<sup>®</sup> fluid (Imtix, Sangstat, Lyon, France) at 4°C according to the guidelines for organ protection (6). Then, each kidney was placed on ice and stored in a specific box.

### Perfusion circuit (Fig. 1)

The perfusion fluid reservoir (total volume of 2 liters) was heated to 37°C and homogenized using a magnetic stirrer. Using a calibrated peristaltic pump (EW-07518-10 Masterflex; Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, USA), the fluid was pumped from the reservoir through a drip chamber to eliminate macrobubbles and to the in-flow port of the perfusion tank. Before connecting the kidney to the circuit, the fluid was circulating within the reservoir and polyethylene perfusion tank with the pump for 20 minutes to ensure uniform warming of the fluid and system and to remove any large bubbles. The perfusion pressure was continuously monitored (730089 Isotec, Harvard apparatus, South Natick, MA, USA) at the in-flow port.

The USCA was injected using a lateral valve connected at a point just prior to the in-flow port.

The kidney was aligned on and fixed to a silicone cast placed in the perfusion tank. The renal artery was connected through the 8 F catheter to the in-flow port of the tank. To minimize any pressure increase on the venous side, fluid was allowed to flow freely from the renal vein into the perfusion tank then through the out-flow port of the perfusion chamber (Harvard Apparatus, South Natick, MA, USA) into a collection reservoir. Using a calibrated peristaltic pump (Masterflex, Model 7518-10; Cole-Parmer Inst. Co, Vernon Hills, IL, USA), the flow rate in the renal artery was progressively increased with simultaneous control of the in-flow pressure from 5 to 10 ml/min over a period of 10 minutes and then progressively increased to 30 ml/min over a period of 20 minutes, then to 50ml/min, 70 ml/min and 90 ml/min. A renal biopsy was performed using a 18G needle (Tru-Cut, Bard, Tempe, AZ, USA.) before the administration of the USCA and at the end of the procedure. Following perfusion measurements, the specimen was placed in formaldehyde for further histological analysis.

#### USCA preparation and administration

Three vials of Sonovue® (Bracco, Milano, Italy) were reconstituted with 30 ml of saline (50% dilution). The USCA was injected into the circuit using a syringe pump (Medrad 300 pulsar ultrasound injection system, Indianola, IA, USA). The output of the syringe was at the upper extremity to reduce the effect of floating microbubbles. The USCA administration protocol included a 1 ml bolus, followed with a continuous infusion at 0.5 ml/min. The imaging protocol was started after 4 minutes to allow stabilization of the microbubble concentration.

#### Imaging procedure

The kidney was imaged in a longitudinal plane using a SSA-770A ultrasound diagnostic system (Aplio™, Toshiba Medical Systems, Nasu, Japan) with a broadband linear transducer (PLT604 AT, frequency range 4 to 10 MHz, Toshiba Medical Systems, Nasu, Japan). The transducer was held with a mechanical device in a way that its face was against the lower pole of the kidney.

The kidney was imaged first with B-mode and Color Doppler US for detection of bubble artefacts. Contrast-enhanced US was then performed at low mechanical index ( $MI < 0.12$ ) using real-time pulse subtraction imaging. The destruction-reperfusion sequence was initiated with a series of 20 frames at maximum acoustic power (100%). The microbubble replenishment was observed for at least 10 seconds, stored in digital format and converted to an AVI file. MI for the reperfusion phase was fixed at 0.10 and remained constant during each experiment (2% of the maximum acoustic power of the ultrasound system). Gain setting was set to maintain the image background dark and remained constant all over each experiment. The focal zone was located 3 cm from the transducer surface. All parameters were kept constant between acquisitions. A total of 152 destruction-reperfusion acquisitions were obtained to extract perfusion parameters.

#### Signal intensity quantification

Regions-of-interest (ROIs) were selected in the anterior and posterior cortex, and in a segmental artery (Fig. 2). The location of each ROI was fixed for each kidney and corrected only in case of displacement of the kidney or the probe during data acquisition. Interlobar and arcuate arteries were excluded from cortical ROIs. Time intensity curves (TIC) were extracted from the ROIs and linearized by converting gray levels (GL) using the displayed grayscale colorbar and reverting the log-compression law:  $TIC_{lin} = V_{max} * 10^{((GL/255-1)*DR/10)}$  where  $V_{max}$  is the maximum echo amplitude of that can be recorded by the imaging system. DR corresponds to the dynamic range of the image and was set to 40 dB. Linear TICs were then



fitted using a mono-exponential model derived from the one proposed by Wei and colleagues (1):  $y(t) = BI + A(1 - \exp(-\beta(t-t_0)))$ , where BI is the baseline intensity and  $t_0$  a time delay parameter defining the time for the beginning of contrast replenishment (Fig. 3). A corresponds to the amplitude of enhancement at the plateau and  $A*\beta$  to the slope of the refilling curve at the origin. The value of A is theoretically proportional to the fractional blood volume. The parameter  $\beta$  is the refill time constant and is proportional to flow and inversely proportional to the fractional vascular volume. The product  $A*\beta$  is proportional to the total volumetric flow into the local region, thereafter referred to as “Contrast Enhanced Blood Flow” (CEBF). Quality of fit was tested using the Fraction of Modeled Information (FMI), which is less dependent on random noise than conventional criteria such as the quadratic error or the correlation coefficient (7). The mean signal intensity of the arterial ROI was averaged from the ten frames prior to the destruction phase and calculated in linear units. Normalized CEBF (nCEBF) was calculated as the ratio between CEBF and mean arterial signal intensity.

#### Statistical analysis

For each destruction-reperfusion sequence, CEBF and nCEBF values were obtained. For a given ROI of a kidney, mean CEBF, nCEBF and associated standard deviation values were calculated for each true blood flow of the perfusion phantom. Linear regression analysis was performed between true blood flow and CEBF and nCEBF for each ROI. Analyses of covariance (ANCOVA) were performed to study the relationship between ultrasound flow indices (CEBF and nCEBF) and true blood flow. ROI and kidney- dependent effects were also evaluated. All computations were performed with SAS software, version 9.1 (SAS Institute, Cary, NC, USA). The level of significance was set to 0.05.

#### RESULTS

In one kidney, at highest true blood flows of 70 and 90 ml/min, strong attenuation artifacts occurred due to accumulation of microbubbles in the superficial cortex (Fig. 4). High flow rate data from this kidney were thus excluded from the evaluation of ROI and kidney-dependent effects. One hundred and forty cine-loops were kept for final analysis.

#### Quantitative assessment of replenishment kinetics

##### *Quality of curve fit*

Cortical time-intensity curves exhibited an initial exponential increase before reaching a plateau (Fig. 5). The quality of fit, assessed by the FMI values, was  $0.97 \pm 0.02$  for the posterior cortical ROI and  $0.92 \pm 0.04$  for the anterior cortical ROI.

##### *Blood flow assessment*

Before normalization:

When considering all the ROIs, correlation between CEBF and true blood flow was not significant ( $p=0.28$ ). CEBF correlated with the true blood flow only for the posterior cortical ROI ( $p<0.001$ ).

The results were reproducible between the four kidneys for the posterior cortical ROI, whereas a significant kidney-dependent effect was found for the anterior cortical ROI ( $p=0.0013$ ) (Fig. 6), i. e. estimated CEBF values in both these ROIs varied significantly from one kidney to another.

After normalization:

A significant correlation was found between nCEBF and true blood flow when considering all the ROIs ( $p=0.03$ ), contrarily to the results obtained with CEBF.

Correlation was significant for each ROI ( $p<0.0074$  for the anterior cortex,  $p<0.0001$  for the posterior cortex) and improved compared to the correlation observed between CEBF and true blood flow.

A significant kidney-dependent effect was still observed for anterior cortical ROI ( $p=0.033$ ) but not for the posterior cortical ROI ( $p> 0.5$ ).

## DISCUSSION

Contrast-enhanced US is an imaging technique that allows estimation of local blood flow in various organs and tissues, including the myocardium (1), brain (8), skeletal muscle (9), liver (10, 11) and kidney (2, 12). However, these measurements are still limited to research protocols and clearly have not yet reached the level of routine clinical practice. Schlösser and al. (2) showed the feasibility of pulse inversion imaging for real-time perfusion imaging at low contrast concentration values in explanted kidneys. A good agreement was found between the mathematical model proposed by Wei and colleagues (1) and replenishment curves. However, neither Wei et al. (1) nor any of the previous studies provided an independent validation of CEUS-estimated blood flow. In our study, explanted kidneys were perfused at variable calibrated flow rates as an experimental model for the assessment of renal perfusion. Tissue perfusion assessment using Wei's model relies upon a steady state of microbubble concentration within the vascular system (1). The microbubble signal during the steady state infusion is related to the local fractional blood volume as well as to the microbubble concentration. In clinical practice, this equilibrium is very difficult to reach and to maintain as the infusion rate should vary from subject to subject and over time. The microbubble concentration is not likely to remain perfectly constant over the time needed for destruction-perfusion measurements. This variation has a direct impact on the estimation of the plateau level and thus on the estimated blood flow CEBF. Our hypothesis was that this limitation could be overcome by normalization of CEBF with respect to the arterial input function. We developed a dedicated software to process the AVI cineloops and calculate the mean signal intensity in linear units. After fixing the ROI on a segmental artery and positioning the ROI

upon the cortex, there was no additional interaction from the operator that could lead to additional measurement variability across the entire experiment if no movement was detected. For each cortical ROI, perfusion parameters based on the normalized time-intensity curve were automatically calculated with and without normalization. Correlation between nCEBF and true perfusion blood flow was then performed. The normalized blood flow nCEBF takes into account the variability in microbubble concentration between acquisitions. Despite the application of 20 frames transmitted at the highest acoustic power, it was not possible to completely destroy the microbubbles in the artery and bring the baseline signals to almost zero (fig. 4). Therefore, we normalized CEBF using the mean signal intensity of the segmental artery before the destruction phase instead of using the product  $A \times \beta$  in the artery. The ROI was including the artery and the software automatically selected pixels using adaptive thresholding, allowing the exclusion of the surrounding tissues in order to limit the operator dependency on ROI selection. After normalization of CEBF, correlation between estimated blood flow and true blood flow significantly improved for all ROIs.

The mathematical model derived from Wei's model and used a time-delayed exponential model. In some cases indeed, time-intensity curves exhibited a S-shaped rise (13, 14) rather than the exponential rise to max curve proposed by Wei et al (1). This sigmoid wash-in phase has been attributed to several factors that can delay microbubble detection at individual locations in the imaging plane. To improve the fit obtained with Wei's model, we took into account the progressively delayed microbubble arrival by introducing a time-delay parameter. However, a better model for renal perfusion estimation using contrast-enhanced US remains to be developed to take into account the complex pattern of the kidney vasculature. Krix (3) developed a multivessel model, requiring two bolus injections in order to determine peak enhancement. This interesting approach is different from our approach as the destruction

phase is performed during the contrast intensity decay and the peak enhancement is used to normalize the plateau phase.

The quality of fit in our model was estimated by calculating the Fraction of Modeled Information (FMI). Curve fit accuracy was excellent for posterior cortical ROIs. Regarding the anterior cortical ROI, although the quality of the fit was slightly below that of the latter, FMI was above 0.9. Several factors can contribute to the inferior quality of fit for the anterior cortical ROI. The first one is related to the physical pressure of the transducer compressing the superficial cortex and thus reducing the local perfusion. The second one may be due to the heterogeneous distribution of the acoustic energy within the image plane, which depends upon the focal position and the microbubble density distribution in the organ. In our study, the focal zone was systematically located in the deep field at the level of the posterior renal cortex. The position of the focal zone has been shown to affect the contrast replenishment rate estimation obtained using a phased-array transducer for harmonic power Doppler imaging (15), due to increased bubble destruction in the near field of the transducer.

A kidney-dependent effect, already highlighted without CEBF normalization, was still significant after normalization. A good reproducibility between kidneys was observed only for the cortical posterior ROI. Position and size of the ROI might have been a potential source of variability, although we tried to keep the ROIs as similar as possible between each kidney. An additional limitation was resulting from attenuation phenomenon due to microbubble accumulation particularly at high flow rate. The overall amount of USCA might seem too high. As a matter of fact, the injection protocol was taking into account the limited sensitivity of high frequency linear transducers, due to the gap between their central frequency and the resonant frequency of SonoVue® microbubbles (around 2.1 MHz) (16). This limited sensitivity results in the use of higher microbubble concentration and higher acoustic power. We somehow limited the microbubble concentration by an initial dilution of SonoVue®,

which was reconstituted with 10 mL of saline instead of 5 mL. The contrast agent was infused at 0.5 mL/min after an initial 1 mL bolus to quickly reach a stable microbubble concentration. Furthermore, the overall amount of microbubbles was diluted in the 2 liters of perfusion fluid. Incomplete bubble destruction in the microvasculature occurred at highest flow rates in one case despite the transmission of 20 destructive frames at the highest available acoustic power. This phenomenon can also result from another limitation of the protocol, i.e. the use of an ascending flow rate scheme instead of a randomized flow rate approach. The highest flow rates were always performed at the end of the experiment, when the changes in the microbubble population in the circuit and the infusion pump were maximal, particularly the increasing size of the bubbles. This accumulation of strongly attenuating microbubbles in the microcirculation generated variable acoustic shadowing. However, we deliberately limited the exposure of the kidney to the highest acoustic power in order to avoid vascular and tissue damages including microvascular rupture and cell death. It was necessary to find a trade-off between complete destruction and possible tissue and vascular damage as each kidney was submitted to many high intensity pulses (about 800 per kidney) (17). Pathology performed at the end of each experiment confirmed the lack of ultrasonic induced disorders. New approaches should be developed to compensate for the attenuation phenomenon in order to improve tissue perfusion accuracy and reliability. They must take into account the dynamics of this phenomenon, as it will vary with microbubble density across the imaging plane. Mulé et al. (18) recently proposed a method to estimate microbubble attenuation in small animals. We have described a simple method improving non invasive CEUS renal blood flow measurements, using the mean signal intensity in a feeding artery in order to normalize CEBF estimation. Evaluation of perfusion disorders in renal transplants, particularly in case of graft dysfunction, appears as one of the most promising clinical applications of CEUS measurement of renal blood flow. However, while these ex vivo results suggest that this

technique has great potentials, additional developments particularly in attenuation compensation and perfusion models must be done to improve this technique and make it reach the routine clinical practice.

#### REFERENCES

1. Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, et al. Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation*. 1998; 97:473-83.
2. Schlosser T, Pohl C, Veltmann C, et al. Feasibility of the flash-replenishment concept in renal tissue: which parameters affect the assessment of the contrast replenishment? *Ultrasound Med Biol*. 2001; 27: 937-44.
3. Krix M, Plathow C, Kiessling F, et al. Quantification of perfusion of liver tissue and metastases using a multivessel model for replenishment kinetics of ultrasound agents. *Ultrasound Med Biol*. 2004; 30: 1355-63.
4. Tiemann K, Lohmeier S, Kuntz S, et al. Real-Time contrast echo assessment of myocardial perfusion at low emission power: first experimental and clinical results using power pulse inversion imaging. *Echocardiography*. 1999; 16: 799-809.
5. Badia P, Hauet T, Mothes D, et al. Functional activity of isolated perfused kidney transplants after flush and 48-hour cold storage. *Transplant Proc*. 1996; 28: 308-9.
6. Faenza A, Catena F, Nardo B, et al. Kidney preservation with university of Wisconsin and celsior solution: a prospective multicenter randomized study. *Transplantation*. 2001; 72: 1274-77.

7. Balvay D, Frouin F, Calmon G, et al. New criteria for assessing fit quality in dynamic contrast-enhanced T1-weighted MRI for perfusion and permeability imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2005; 54: 868-77.
8. Seidel G, Meyer K, Metzler V, et al. Human cerebral perfusion analysis with ultrasound contrast agent constant infusion: a pilot study on healthy volunteers. *Ultrasound Med Biol*. 2002; 28: 183-9.
9. Dawson D, Rinkevich D, Belcik T, et al. Measurement of myocardial blood flow velocity reserve with myocardial contrast echocardiography in patients with suspected coronary artery disease: comparison with quantitative gated technetium 99m sestamibi single photon emission computed tomography. *J Am Soc Echocardiogr*. 2003; 16: 1171-7.
10. Metoki R, Moriyasu N, Sugimoto K, et al. Quantification of hepatic parenchymal blood flow by contrast ultrasonography with flash-replenishment imaging. *Ultrasound Med Biol*. 2006; 32: 1459-66.
11. Li J, Dong B, Yu X, et al. Grey-scale contrast enhancement in rabbit liver with Sonovue at different doses. *Ultrasound Med Biol*. 2005; 31: 185-90.
12. Wei K, Le E, Bin JP, et al. Quantification of renal blood flow with contrast-enhanced ultrasound. *J Am Coll Cardiol*. 2001; 37: 1135-40.
13. Lucidarme O, Franchi-Abella S, Correas JM, et al. Flow quantification with contrast enhanced US: "entrance in the section" phenomenon- Phantom and rabbit study. *Radiology*. 2003; 228: 473-9.
14. Arditi M, Frinking PJ, Zhou X, et al. A new formalism for the quantification of tissue perfusion by the destruction-replenishment method by contrast ultrasound imaging. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*. 2006; 53: 1118-29.



15. Köster J, Schlosser T, Pohl C, et al. Blood flow assessment by ultrasound induced destruction of echocontrast agents using harmonic power Doppler imaging: which parameters determine contrast replenishment curves? *Echocardiography*. 2001; 18:1-8.
16. Meer van der SM, Versluis M, Lohse D, et al. The resonance frequency of Sonovue (tm) as observed by high-speed optical imaging. In: *IEEE Ultrasonics Symposium*; 2004: 23-27.
17. Miller DL, Dou C, Wiggins RC. Frequency dependence of kidney injury induced by contrast-aided diagnostic ultrasound in rats. *Ultrasound Med Biol* 2008; 34: 1678-87.
18. Mulé S, De Cesare A, Lucidarme O, et al. Regularized estimation of contrast agent attenuation to improve the imaging of microbubbles in small animal studies. *Ultrasound Med Biol*. 2008; 34: 938-48.

#### FIGURE LEGENDS

Fig. 1: Perfusion phantom.

Fig. 2 a, b, c: Destruction-reperfusion kinetics and placement of the three ROIs (anterior cortical, posterior cortical and arterial). The three frames are obtained before destruction (Fig. 2a), immediately after microbubble destruction (Fig. 2b) and at the end of reperfusion phase (Fig. 2c).

Fig. 3: Example of a destruction-reperfusion kinetic in the posterior cortex (solid line) and its associated monoexponential fit (dotted line).

Fig. 4 a, b and c: Destruction-reperfusion kinetics at high flow rate (90 ml/min) in a kidney. In this case, the deeper renal parenchyma appears less enhanced compared to the superficial cortex before microbubble destruction (Fig. 4a). This effect is due to attenuation of the US beam because of high microbubble concentration. After application of the ultrasound flash

(Fig. 4b), the renal parenchyma remains enhanced due to the persistence of microbubbles (Fig. 4c).

Fig. 5: Time-intensity curves (TICs) expressed in linear units (top) and in dB (bottom) for each ROI. The arterial TIC expressed in linear units has not been displayed (top) in order to better visualize TICs for the cortical ROIs in linear units.

Fig. 6: Correlation between true blood flow and CEBF before (a, c, e) and after normalization (b, d, f) for each ROI. The kidney for which attenuation was significant at high flow rates was excluded from this analysis, as only values for low flow rates (30 and 50 ml/min) were available.

Figure 1  
[Click here to download high resolution image](#)

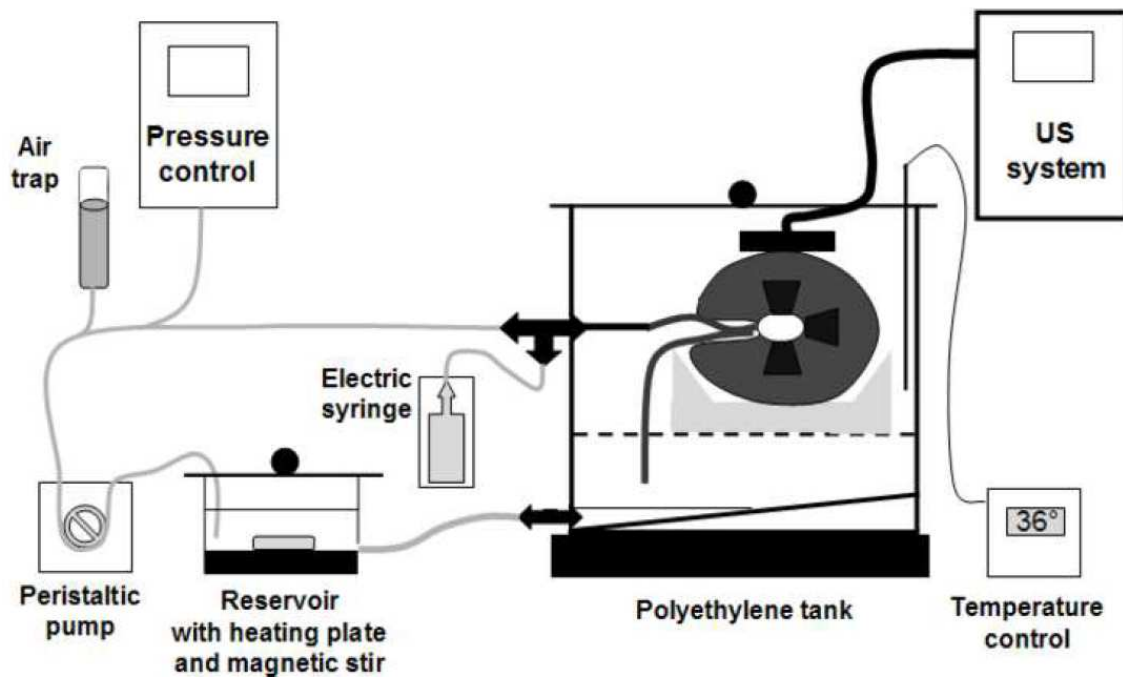


Figure 2  
[Click here to download high resolution image](#)

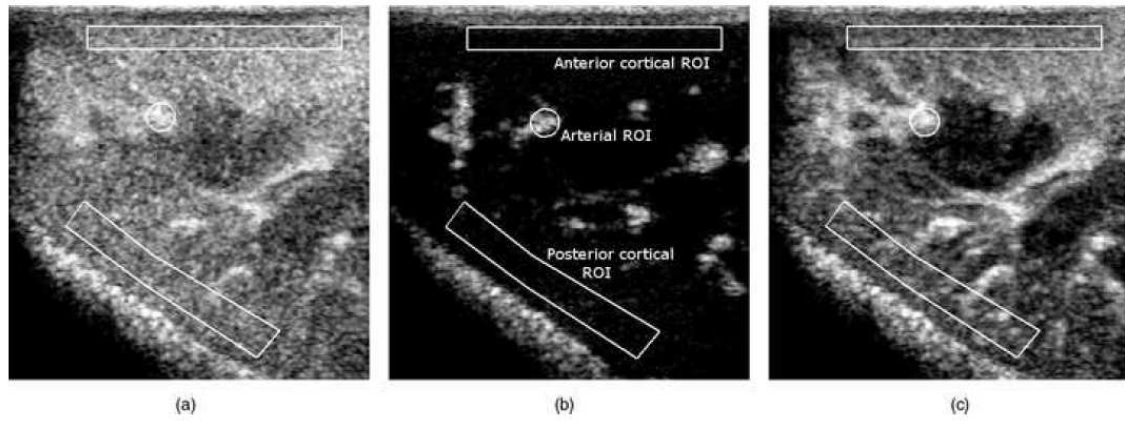


Figure 3  
[Click here to download high resolution image](#)

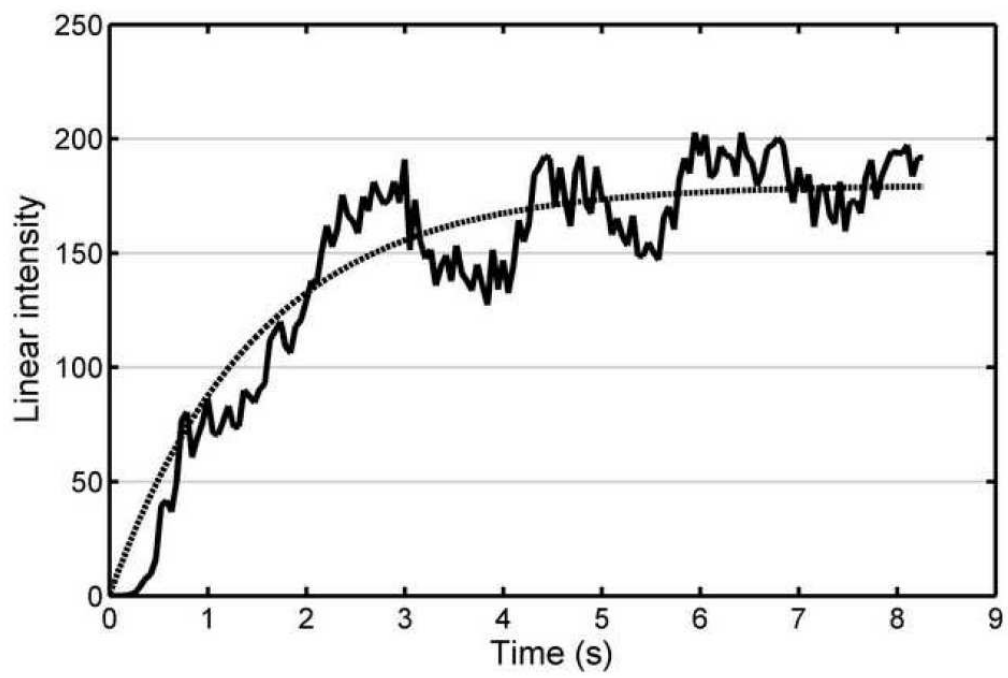


Figure 4  
[Click here to download high resolution image](#)

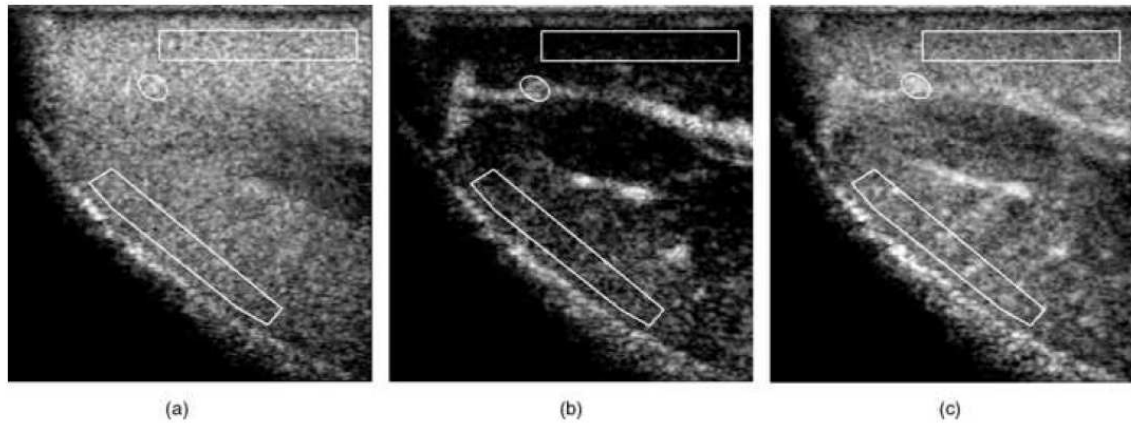


Figure 5  
[Click here to download high resolution image](#)

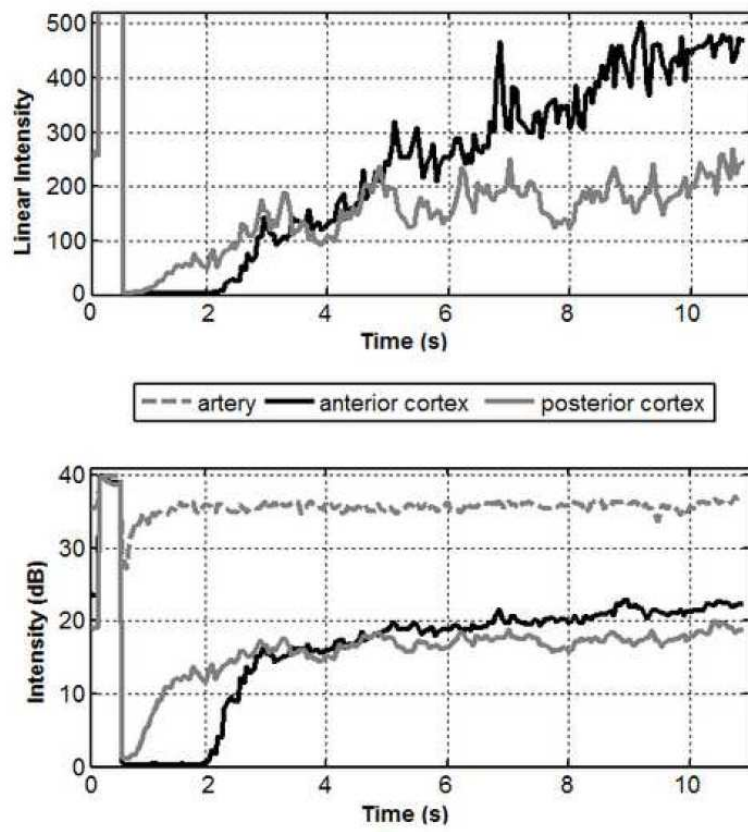
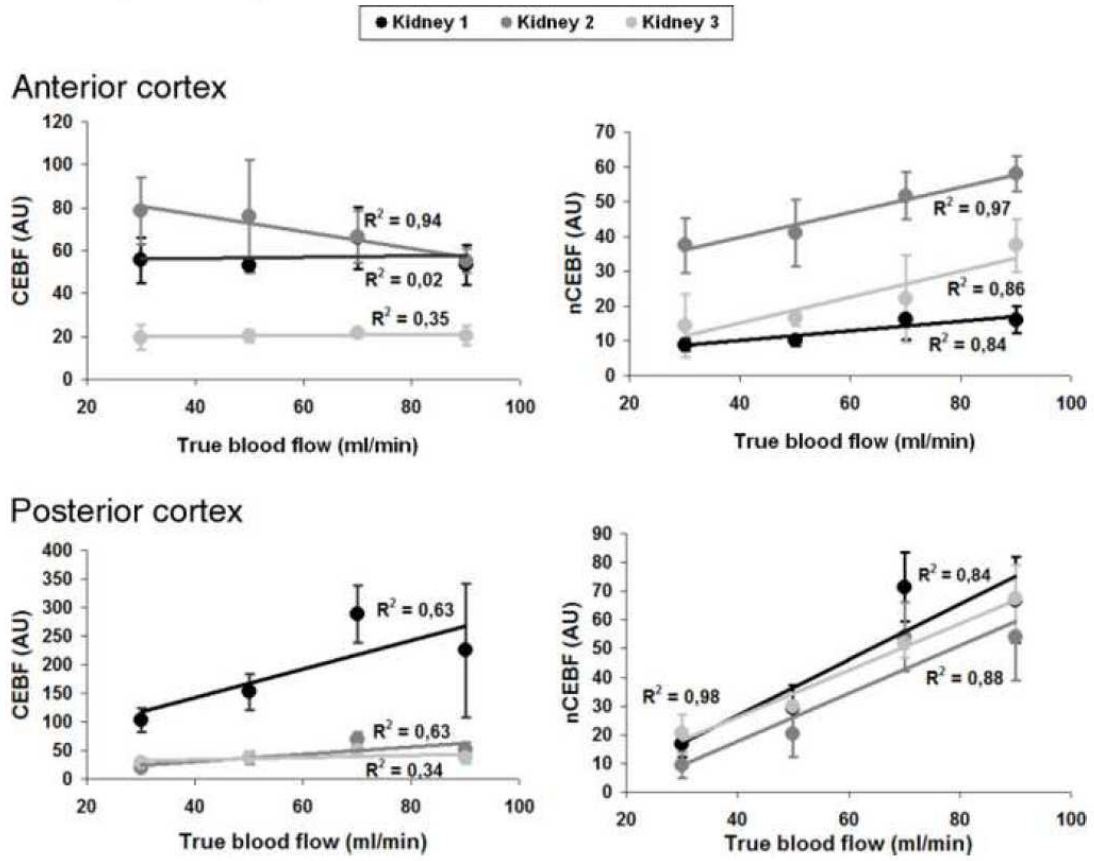


Figure 6  
[Click here to download high resolution image](#)



# **PARTIE CLINIQUE**

## CHAPITRE V

# Détection des métastases hépatiques de tumeur carcinoïde en échographie de contraste: évaluation prospective de l'échographie de contraste.

L'échographie est très souvent utilisée en première intention dans l'approche diagnostique des lésions secondaires hépatiques en raison de sa facilité de mise en œuvre, de son coût faible et de son innocuité. Toutefois, sa sensibilité et sa spécificité restent insuffisantes, notamment en raison d'un contraste tissulaire insuffisant qui ne permet pas de détecter des lésions d'échogénicité peu différentes de celles du parenchyme normal. Les premières études hépatiques utilisant les agents de contraste de première génération avaient souligné le comportement différent des lésions secondaires par rapport à celui du foie normal et celui des autres lésions hépatiques bénignes ou malignes. La mise à disposition des agents de contraste ultrasonores de seconde génération a introduit une nouvelle dimension, le temps réel, dans la détection de ces lésions par échographie. L'échographie de contraste permet ainsi une amélioration spectaculaire du contraste entre les lésions et le parenchyme normal, ainsi qu'une analyse spécifique des lésions par l'étude de la cinétique de captation du contraste au

sein des lésions. Compte tenu du recrutement particulier du CHU de Reims en tumeurs neuro-endocrines, en collaboration avec le service du Pr Thiéfin et avec les Pr Cadiot et Dr Brix-Benmansour, nous avons mené une étude prospective pour évaluer l'échographie de contraste pour la détection des métastases hépatiques de tumeur carcinoïde. Cette étude a fait l'objet de l'article qui suit

## Detection of Hepatic Metastases from Carcinoid Tumor: Prospective Evaluation of Contrast-Enhanced Ultrasonography

Christine Hoeffel, Louis Job, Viviane Ladam-Marcus, Fabien Vitry, Guillaume Cadiot, Claude Marcus

Received: 12 August 2008 / Accepted: 2 October 2008 / Published online: Springer Science+Business Media, LLC 2008

**Abstract:** The purpose of our study was to prospectively compare unenhanced ultrasonography (US) to contrast-enhanced US (CEUS) in the detection of hepatic metastases from carcinoid tumor.

**Material and methods:** 30 patients with carcinoid tumor prospectively underwent US, CEUS, and magnetic resonance imaging (MRI). Differences in sensitivity at US and CEUS were compared using a combination of the results of MR imaging, fine-needle biopsy, and follow-up imaging. Lesion conspicuity was assessed subjectively for US and CEUS.

**Results:** Seventeen patients had a total of 69 hepatic metastases. The addition of CEUS improved the detection of individual metastases from 47 (Se 68%; 95% CI: 57.0, 79.0) to 68 (Se 99%; 99% CI: 96.7, 100.0). Contrast enhancement improved the subjective conspicuity of



metastases in 85% of patients. CEUS showed one more metastasis than did MRI in one patient, and MRI showed one more than did CEUS in one patient.

Conclusion: CEUS is more sensitive than US in the detection of carcinoid liver metastases.

Keywords Metastasis-Ultrasonography-Contrast-enhanced ultrasonography-MRI

## **Introduction**

Carcinoid tumors are rare forms of gastrointestinal tumors. Although the overall incidence of carcinoid tumors appears to have increased in the past decades, the prognosis for patients with metastatic carcinoid tumors has improved during the last decade [1]. The liver is the commonest site for carcinoid tumor metastases, and their detection has treatment and prognostic implications. Accurate staging is also a prerequisite for monitoring chemotherapy. As most carcinoid tumors are slow-growing and have a low metabolic rate, assessment and follow-up of liver metastatic disease may benefit from a reliable, easily available, low-cost, non invasive imaging modality. Conventional B-mode ultrasonography (US) used to have a relatively poor sensitivity and specificity for imaging liver metastases and is inferior to computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) mainly due to a lack of contrast agents [2]. This has changed with the advent of microbubble contrast agents. The use of contrast agents combined with low-mechanical-index contrast-specific imaging techniques provides real-time imaging of focal liver lesions in the arterial, portal venous, and delayed phases.

Contrast-enhanced sonography (CEUS) has been shown to be a suitable technique for the detection of liver metastases and to be more accurate compared to with conventional B-mode [3–7]. However, liver metastases from carcinoid tumor still represent a challenge to imaging methods because they are often small and hyperechoic, thus mimicking hemangiomas.

Although a few papers have reported neuroendocrine hepatic metastases features using CEUS [8–10], none has so far specifically evaluated CEUS in the detection of hepatic metastases. Magnetic resonance imaging (MRI) currently is the imaging modality which offers the highest diagnostic potential for assessment of liver involvement in patients with carcinoid tumor [11]. The purpose of our study was to prospectively compare unenhanced US to CEUS in the detection of hepatic metastases from carcinoid tumor, using a combination of the results of MR imaging, fine-needle biopsy, and follow-up imaging.

## **Material and Methods**

### **Population of Patients**

The study was approved by the ethics committee of our institution, and written informed consent was available for all patients. From January 2004 to September 2007, 30 consecutive patients (12 men and 18 women, mean age :61,61 years, range 45–75 years) with histologically proven carcinoid tumor were included in a prospective study. The primary carcinoid tumor included were located in the gut (n = 17), pancreas (n = 8), kidney (n = 1), ovary (n = 1), and stomach (n = 2). In one patient, the primary tumor was unknown. Inclusion criteria were referral to the radiology department for MRI and/or US of the liver for suspected or known hepatic metastases. Exclusion criteria were pregnancy, breast-feeding, known allergy to sulfur hexafluoride, severe heart failure, coronary heart disease, pulmonary hypertension or contraindication to MR examination. Reference imaging examinations were performed within 0–8 days (mean 5 days). All patients underwent conventional US, contrast-enhanced US, CEUS, and MRI. The primary comparisons were made between conventional and CEUS findings by using MRI as the standard of reference. The metastatic nature of the liver lesions was determined on the basis of biopsy of at least one of the lesions (n = 13), progression after chemotherapy on imaging or remission after chemotherapy. In most patients

(n = 25), follow-up data including US, CT, MR imaging, intraoperative US (n = 5), and histologic findings (n = 13) - were available 4 months after the end of the study period (mean follow-up time 20 months, range 5–43 months). In the 5 five patients without follow-up data, the MRI interpretation could not be checked for correctness and was thus used as interpreted by the readers. For one patient, the data indicated that the original MR interpretation was incorrect. The reference count of metastases was corrected retrospectively.

## Imaging

### *Imaging Technique*

All patients underwent B-mode and contrast-enhanced ultrasound (Acuson Sequoia, Siemens Medical Solutions, Erlangen, Germany). Scanning was performed by an experienced radiologist, blinded to any other imaging data, using a convex array 2–4 MHz transducer and Cadence contrast pulse sequencing (CPS) for contrast-specific technique. The CEUS was performed after injection of 2.4–4.8 ml of Sonovue® (Bracco, Italy) through the brachial vein as a bolus followed by a flush with 3–10 ml isotonic saline. The following imaging parameters were used: mechanical index 0.1–0.2, dynamic range 60–65 dB, and frame rate 9–20/s. The liver was scanned continuously for up to four minutes and studied during the hepatic arterial phase, portal venous phase, and late phase. The arterial phase was timed 10–40 s after microbubble injection, after which the portal venous phase lasted from 45 s to 2 min. Late phase started after 2 min but no temporal range was assigned to that phase because microbubble contrast agents are purely intravascular and do not have an interstitial or equilibrium phase. Digital cine clips were stored in a personal computer (PC) connected to the US equipment. Reference MR examinations were all performed in our institution according to a given protocol, on a 1.5-T imaging system (Signa; General Electric Medical Systems,

Milwaukee, WI). All MR images were acquired in the axial plane using a phased-array body coil. Slice thickness was 6 mm, with a 1 mm1-mm intersection gap for all pulse sequences. Fat-suppressed gradient echo T1-weighted images were acquired both before and after administration of gadoterate dimeglumine (Dotarem, Guerbet, Aulnay-sous-Bois, France). Dynamic contrast-enhanced MR images were obtained at an arterial, portal, and delayed venous phase. Fat-suppressed fast spin-echo axial T2-weighted images were also acquired.

### *US and MRI Evaluation*

US digital cine clips were reviewed on screen by a first panel of two independent readers from 1 to 4 days after US examination (mean 2 days). MR images were analyzed by a second panel of two independent radiologists and difficulties were resolved by consensus. All readers were blinded to patient clinical history and results of the other imaging examinations. Each identified lesion was measured in the largest diameter in millimeters, and its vascularity evidenced after contrast injection was compared with the adjacent liver parenchyma. Lesions were localized in a liver segment according to the Bismuth and Couinaud classification [12 14] and focal lesions were documented on schematic liver charts. Up to ten individual metastatic lesions per patient were documented; when more than ten were present, a precise count was not attempted.

On baseline sonography, metastases were defined as round, oval, or lobulated solid focal lesions that were clearly discernible and that were neither simple cysts nor typical of hemangioma, focal fatty sparing or change. At CEUS, metastases were defined as sharply margined round, oval, or lobulated hypoechoic defects in enhancing parenchyma in the portal venous or delayed vascular phase. For MRI, established criteria were used to identify metastatic and nonmetastatic lesions. For each patient, the final number of hepatic metastases actually present at the time US and CEUS were performed was determined by a consensus

reading including the results of MR imaging examination, US, CEUS, histopathological examinations after fine-needle biopsy, and follow-up imaging examinations. For each lesion, conspicuity of metastasis at CEUS was ranked subjectively by the radiologist as greater, unchanged, or less than at conventional US.

### *Gold Standard*

The gold standard was the number of metastases revealed by a combination of MRI, preoperative US, fine-needle biopsy, and follow-up, as stated before.

### *Statistics*

The sensitivity of baseline US and CEUS in the assessment of liver metastases were calculated using the results of gold standard as the standard. The sensitivity and specificities of both types of US for metastases were calculated on a patient basis. We also calculated the sensitivity for both types of US in the detection of individual metastases for each patient with metastases, and the sensitivities were compared by using the Wilcoxon signed rank test. A P value of less than 0.05 was considered to indicate a statistically significant difference.

## **Results**

Seventeen patients had hepatic metastases as judged by MRI; 13 patients had no metastases (Table 1). There was no exclusion based on poor sonographic conditions. All patients with metastases at MRI showed metastases both at conventional US and at CEUS. Sensitivity and specificity in the detection of metastatic liver disease on a patient basis were thus of 100% for both US modalities.

Sixty-eight hepatic metastases in seventeen<sup>17</sup> patients were found at MRI. One lesion was seen only with CEUS and not found at MRI; it proved to be a small metastasis (4 mm at the

time of the diagnosis) on follow-up imaging that showed an increase in lesion size. A total of 69 hepatic metastases in seventeen 17 patients thus formed the population. CEUS found 68 out of 69 metastases in seventeen 17 patients. One lesion was missed at both US and CEUS when compared with MRI findings; it was a subdiaphragmatic lesion that was not accessible to sonography. CEUS showed more MRI-confirmed metastases than did conventional US in 11 of the 17 patients.

CEUS detected more metastases (68/69, 99%) than did conventional US (47/69, 68%). Mean maximum diameter of the lesions was 32.1 mm (range 4–174 mm). Lesions missed at US and detected with CEUS had a mean maximum diameter of 14 mm, ranging from 4 to 21 mm (Fig. 1). Average sensitivity in the detection of individual metastases improved significantly from 68% to 99% ( $P < 0.0001$ ). False-positive results were identified in two lesions in two different patients with conventional ultrasound; two were hemangiomas, diagnosed at MRI and confirmed on follow-up imaging. No false-positives results were found with CEUS. The lesion seen at CEUS and missed at MRI proved to be a metastasis at follow-up imaging.

The one patient whose findings were false-negative on both baseline and the phase-inversion scans had a subdiaphragmatic lesion that was not accessible to sonography. Conversely, one lesion was missed by MRI examination and found only at CEUS, probably because of its small size. The US appearance of the metastases was hypoechoic compared with echogenicity of the surrounding liver parenchyma (48%, 23/47), hyperechoic (26%, 12/47), or very heterogeneous with combined echo-poor and echo-rich parts (26%, 12/47). Seventy-eight percent (53/68) of metastases were markedly enhancing in the arterial phase, either homogeneously or peripherally, and 11 of 68 metastases were completely isoechoic to the parenchyma in the arterial phase (Fig. 2). In the portal venous phase, the carcinoid liver metastases appeared hypoenhancing (40%, 27/68) or iso-enhancing (60%, 40/68). Only one lesion was still markedly enhanced at the portal venous phase. Fifty-two percent displayed

peripheral enhancement with central necrosis. In the delayed venous phase, all 68 lesions were hypoechoic relatively to adjacent liver parenchyma (Fig. 3). Subjective conspicuity was increased after contrast material administration in all patients but two.

Table 1

Patient	Number of metastases
1	4
2	2
3	2
4	3
5	5
6	4
7	3
8	7
9	4
10	3
11	6
12	3
13	9
14	5
15	3
16	3
17	3

## **Discussion**

Liver metastases from carcinoid tumors do not behave as metastases from other origin do. Their frequent hypervascularization with a strong arterial and capillary blood supply resembles that of shunt hemangiomas, small hepatocellular carcinomas, adenomas or hypervascular tumors of other origin [9, 15]. Mork et al. [9] in their article comparing CEUS characteristics of liver metastases from neuroendocrine tumors with those of metastases of other origin conclude that sensitivity of CEUS in identifying malignancy based on the lack of portal venous enhancement is higher for metastases of other origin. However, until now, as far as we know, no published study has specifically reported the value of CEUS in detecting hepatic liver metastases from carcinoid tumors.

Contrast-enhanced ultrasound found significantly more metastases compared with US, with a specificity of 99% versus 68%. However, no additional patients were found to have metastatic disease with CEUS only. Metastases detected with CEUS only were indeed relatively small (<21 mm) and often associated with larger lesions. The ability of conventional US to depict a hepatic metastasis is limited by the relatively small difference in backscatter between the lesion and the hepatic parenchyma, which results in poor contrast differentiation between the two tissues. The use of an ultrasound contrast agent increases the echogenicity of the liver in its postvascular specific phase as the microbubbles accumulate in the normal parenchyma, whereas the echogenicity of metastases, on the other hand, remains unaffected, since they do not accumulate the contrast agent in the postvascular phase. As far as metastases from carcinoid liver are concerned, their detection is also based on their strong enhancement at an arterial phase, based on their strong arterial supply. Our findings of a frequent pronounced arterial enhancement with late washout is consistent with what has been previously described [9, 15]. Although we did not specifically try to compare the value of the different vascular phases in the detection of metastases, it seems that the late phase was the most valuable as 11



out 68 metastases were isoechoic compared with liver parenchyma in the arterial phase whereas all metastases were seen as defects in the parenchyma in the late phase. We also show that the conspicuity of the lesions was assessed better on the contrast-enhanced image than on the baseline image although, unfortunately, we did not confirm this finding quantitatively. It is noteworthy that internal content of the lesions and areas of necrosis were also better seen.

The difference between CEUS and MR imaging was not significant. The one patient whose findings were false negative on both the baseline and the phase-inversion scans had a subdiaphragmatic lesion that was not accessible to sonography. Conversely, one lesion was missed by MRI examination and found only at CEUS, probably because of its small size. It is well known that limitations of CEUS include visualization of subdiaphragmatic lesions and small metastases.

Using CEUS, no false-positives were found, whereas baseline US misinterpreted metastases that were in fact hemangiomas in two cases. Differential diagnosis of hemangiomas may be indeed be a problem, particularly in case of fatty liver when using baseline ultrasound. MRI has been shown to be an imaging modality of choice in the evaluation of hepatic metastases from neuroendocrine tumors. However, with MRI, some metastases may, rarely, have an atypical hypovascular or delayed enhancement, or a peripheral enhancement with progressive fill-in mimicking hemangioma [4, 5]. We did not encounter such lesions in our series.

Moreover, using CEUS, although some of the lesions were isoenhancing (40/68) or markedly enhancing (1/68) in the portal venous phase, all lesions were hypoenhancing at the late phase, allowing for a confident diagnosis of metastasis. We thus believe, although it has been reported that hemangiomas may, rarely, exhibit peripheral enhancement with a late hypoechoic appearance [18], that CEUS is an interesting imaging modality in the differentiation between liver metastasis from carcinoid tumor and atypical hemangioma. Our

findings are not completely in accordance with Mork et al.'s [9]. They indeed report up to 11% of NET liver metastases that were isoechoic on the delayed phase. Our study is limited in some respects. Although metastatic disease to the liver was proven in all patients, a detailed lesion-by-lesion histopathologic analysis was not possible because none of the patients in this series underwent hepatic resection as a treatment of its metastases. Another problem was related to recognition of individual lesions on sonography and on the reference imaging because of the different imaging planes used, despite the assignment of lesions to their Couinaud segment. This led to different segmental localizations of identical lesions, particularly in case of multiple lesions. We thus had to allow a degree of flexibility when correlating individual lesions. Cost-effectiveness has not been addressed in this study, but it would be of value in future studies. Evidence of the cost-effectiveness of contrast-enhanced sonography in radiology has not yet been published. By improving the diagnostic accuracy of unenhanced sonography, Sonovue-enhanced sonography may limit the need for further investigations, with potential cost savings dependent on the experience and specialist training of the interpreter [19]. Lastly, our population was quite small and further studies on larger population are needed.

## **Conclusion**

We found that CEUS is more sensitive than US in the detection of hepatic metastases from carcinoid tumors. Our results support the use of CEUS in the follow-up evaluation of patients with this condition. However, further studies are needed to determine the impact of CEUS compared with US on patient care.

## **References**

1. Zuetenhorst JM, Taal BG. Metastatic carcinoid tumors: a clinical review. *Oncologist*. 2005;10:123–131.
2. Pelage JP, Soyer P, Boudiaf M, et al. Carcinoid tumors of the abdomen: CT features. *Abdom Imaging*. 1999;24:240–245.
3. Dietrich CF, Kratzer W, Strobel D, et al. Assessment of metastatic liver disease in patients with primary extrahepatic tumors by contrast-enhanced sonography versus CT and MRI. *J Gastroenterol*. 2006;12:1699–1705.
4. Quaia E, D'onofrio M, Palumbo A, Rossi S, Bruni S, Cova M. 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;16:1599–1609.
5. Albrecht T, Blomley MJ, Burns PN, et al. Improved detection of hepatic metastases with pulse-inversion US during the liver-specific phase of SHU 508A: multicenter study. *Radiology*. 2003;227:361–370.
6. Larsen LP, Rosenkilde M, Christensen H, et al. Can contrast-enhanced ultrasonography replace multidetector computed tomography in the detection of liver metastases from colorectal cancer? *Eur J Radiol*. 2007;62:302–307.
7. Piscaglia F, Corradi F, Mancini M, et al. Real time contrast-enhanced ultrasonography in detection of liver metastases from gastrointestinal cancer. *BMC Cancer*. 2007;3:171.
8. Dorffel Y, Wermke W. Neuroendocrine tumors: characterization with contrast-enhanced ultrasonography. *Ultraschall Med*. 2008; Epub ahead of print
9. Mork H, Ignee A, Schuessler G, Ott M, Dietrich C. Analysis of neuroendocrine tumour metastases in the liver using contrast-enhanced ultrasonography. *Scand J Gastroenterol*. 2007;42:652–662.

10. Rickes S, Ocran K, Gerstenhauer G, Neye H, Wermke W. Evaluation of diagnostic criteria for liver metastases of adenocarcinomas and neuroendocrine tumors at conventional ultrasound, unenhanced power Doppler sonography and echo-enhanced ultrasound. *Dig Dis.* 2004;22:81–86.
11. Scarsbrook AF, Ganeshan A, Statham J, et al. Anatomic and functional imaging of metastatic carcinoid tumors. *Radiographics.* 2007;27:455–476.
12. Bismuth H. Surgical anatomy and anatomical surgery of the liver. *World J Surg.* 1982;6:3–6.
13. Soyer P. Segmental anatomy of the liver: utility of a nomenclature accepted worldwide. *Am J Roentgenol.* 1993;161:572–573.
14. Soyer P, Bluemke DA, Bliss DF, Woodhouse CE, Fishman EK. Surgical segmental anatomy of the liver: demonstration with spiral CT during arterial portography and multiplanar reconstruction. *AJR Am J Roentgenol.* 1994;163:99–103.
15. Ricke J, Lopez Hanninen E, Amthauer H, Lemke A, Felix R. Assessment of the vascularization of neuroendocrine tumors by stimulated acoustic emission of SH U 508A ultrasound contrast agent and color or power Doppler sonography. *Invest Radiol.* 2000;35:253–259.
16. Dromain C, de Baere T, Baudin E, et al. MR imaging of hepatic metastases caused by neuroendocrine tumors: comparing four techniques. *Am J Roentgenol.* 2003;180:121–128.
17. Soyer P, Gueye C, Somveille E, Laissy JP, Scherrer A. MR diagnosis of hepatic metastases from neuroendocrine tumors versus hemangiomas: relative merits of dynamic gadolinium chelate-enhanced gradient-recalled echo and unenhanced spin-echo images. *Am J Roentgenol.* 1995;165:1407–1413.
18. Quaia E, Bartolotta TV, Midri M, Cernic S, Belgrano M, Cova M. Analysis of different contrast enhancement patterns after microbubble-based contrast agent injection in liver hemangiomas with atypical appearance on baseline scans. *Abdom Imaging.* 2006;31:59–64.

19. Leen E, Ceccotti P, Kalogeropoulou Ceccotti P, Angerson WJ, Moug SJ, Horgan PG. Prospective multicenter trial evaluating a novel method of characterizing focal liver lesions using contrast-enhanced sonography. *Am J Roentgenol.* 2006;186:1551–1559.

#### Figure legends

Fig. 1 a and b: Small liver metastasis from carcinoid tumor depicted with contrast-enhanced ultrasound only. Conventional US does not show any abnormality (a) whereas contrast enhanced ultrasound (b) at an arterial phase (12 s) reveals a markedly enhancing 15 mm rounded lesion (arrow)

Fig. 2 a and b: Large liver metastasis from carcinoid tumor at conventional US (a) and at CEUS (b) in the arterial phase (11 s). The lesion is markedly enhancing with a central area of necrosis (arrow) that was not seen on baseline ultrasound and its conspicuity is slightly increased

Fig. 3 a, b, c: Small liver metastasis from carcinoid tumor. Conventional US shows a hypoechoic lesion (a, arrow). This lesion is more conspicuous at CEUS. It is moderately enhancing with a peripheral enhancement in the arterial phase (17 s) (b) and is well seen, as a hypoechoic lesion against the surrounding enhancing liver parenchyma, in the delayed venous phase (4 min) (c, arrow)

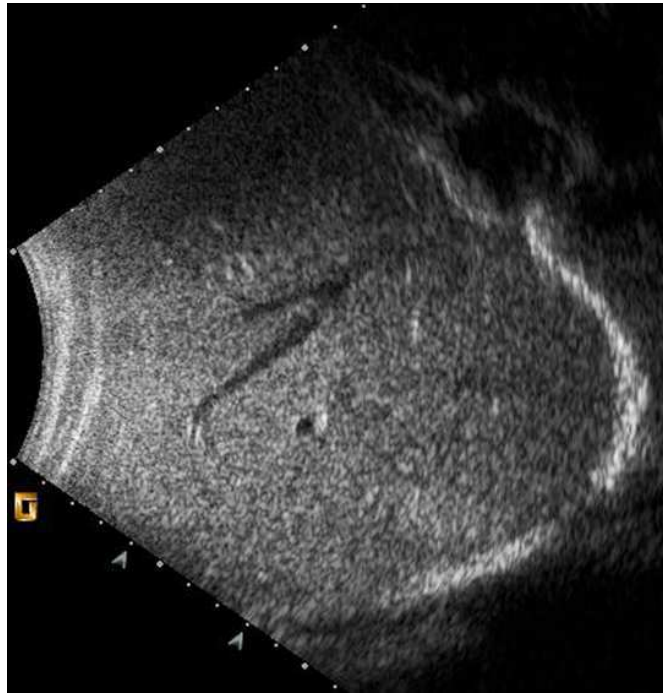


Figure Ia

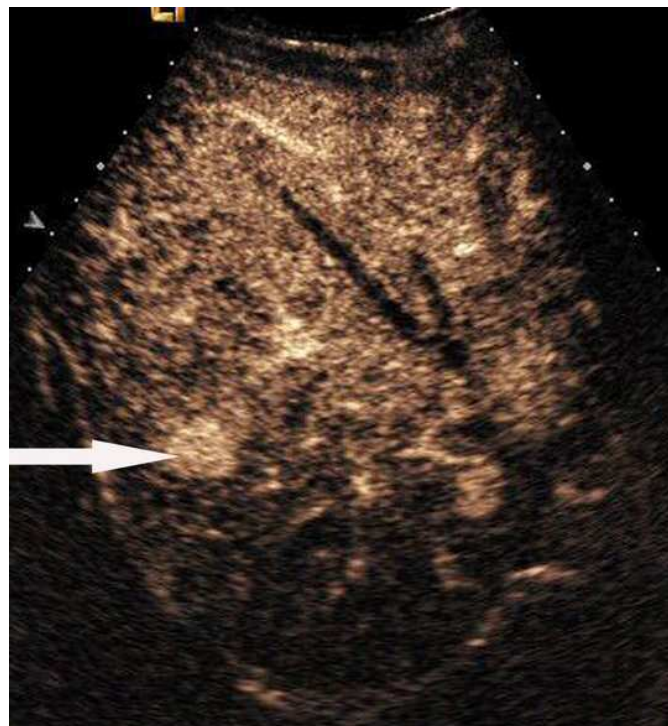


Figure Ib

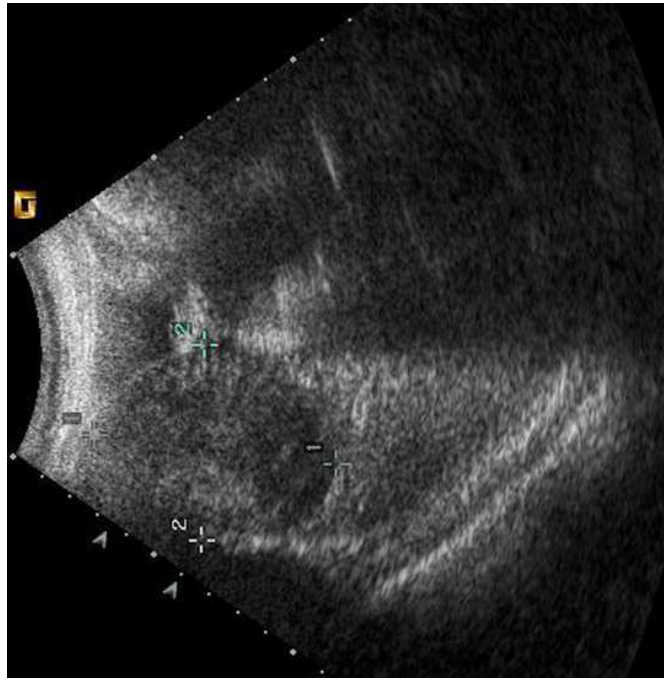


Figure IIa



Figure IIb



Figure IIIa

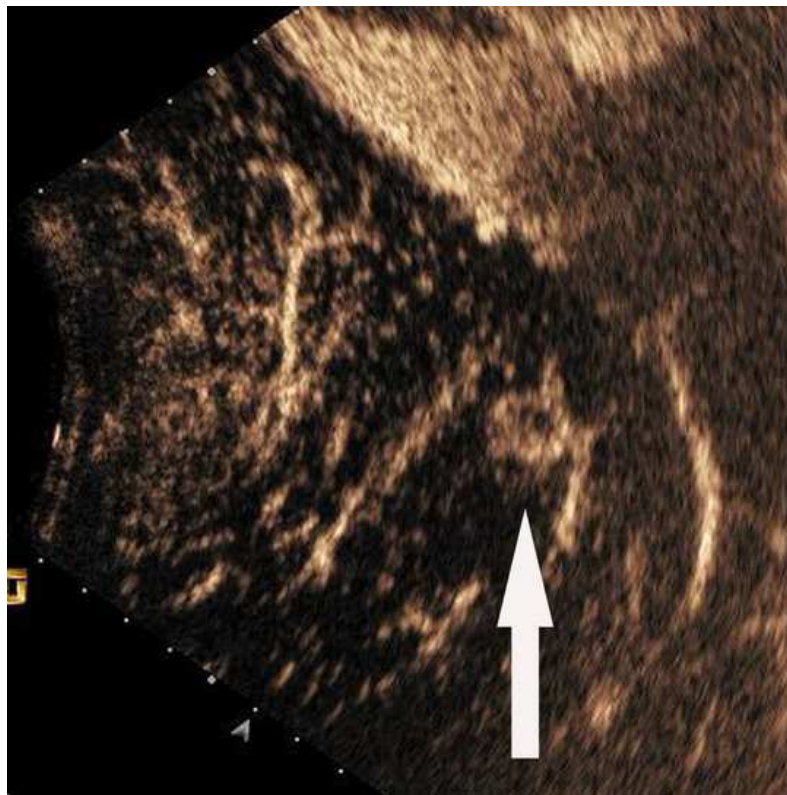


Figure IIIb



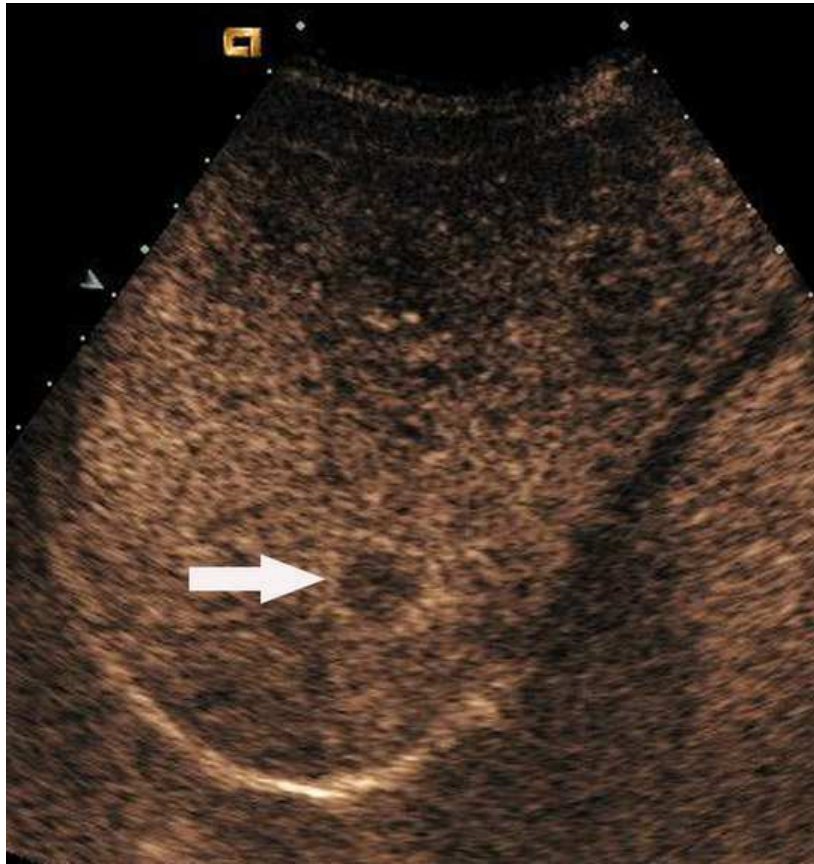


Figure IIIc

## CHAPITRE VI

# Traitement par radiofréquence des tumeurs rénales: performances diagnostiques de l'échographie de contraste pour la détection précoce du reliquat tumoral après traitement.

L'incidence des cancers du rein a augmenté ces dernières années. Le développement des techniques d'imagerie en coupes a permis la découverte des tumeurs rénales à un stade peu évolué, alors qu'elles sont asymptomatiques et encore de petite taille. Ces petites tumeurs sont de meilleur pronostic car découvertes à un stade plus précoce et rarement métastatiques. Le diagnostic anatomopathologique est toutefois important au plan pronostique, en particulier pour certaines formes:

- les carcinomes tubulopapillaires (de type 1) donnent peu de métastases mais sont volontiers multiples et récidivent volontiers en homo ou controlatéral,
- les carcinomes des tubes collecteurs (ou carcinomes de Bellini) sont de mauvais pronostic.

Leur taux de croissance est mal connu et semble très variable. Certains de ces petits carcinomes rénaux peuvent être multiples, en particulier en cas de carcinome tubulopapillaire ou de cancer héréditaire. Ainsi, dans le cadre de la maladie de Von Hippel Lindau, les tumeurs sont volontiers multiples et d'évolution plus rapide. Autrefois justifiées par le

contexte (existence de tumeurs multiples, récidivantes, survenant chez un patient présentant une insuffisance rénale, sur rein unique ou chez un patient âgé), les indications de la chirurgie conservatrice se sont peu à peu élargies. Depuis quelques années, cette chirurgie se développe de principe pour les tumeurs de moins de quatre cm avec de bons résultats en termes de survie à cinq ans et de taux de récurrence.

Chez certains patients toutefois, une chirurgie ouverte ou laparoscopique, complète ou partielle, est trop lourde ou susceptible de compromettre la fonction rénale. Par ailleurs, chez les sujets de plus de 75 ans, les risques respectifs de la chirurgie et de l'évolution de la tumeur sont à mettre en balance. Des modalités encore plus conservatrices comme l'ablation par radiofréquence percutanée. Se sont donc développées.

Les ondes de radiofréquence sont des rayonnements électromagnétiques non ionisants dont la longueur d'onde s'étend de 1 m à 30 km. Les ondes utilisées dans le contexte de l'ablathermie tissulaire sont de moyenne fréquence (400 à 500 kHz). L'absorption de l'énergie véhiculée par le courant de radiofréquence se traduit au niveau des tissus par une élévation thermique qui varie de 50 à 100 degrés. Il en résulte une nécrose de coagulation du tissu chauffé dont la taille est limitée. En effet, la dénaturation tissulaire induite par le chauffage diminue la conduction du courant de radiofréquence principalement en raison de modifications ioniques liées à la déshydratation. Pour accroître la taille des lésions, les constructeurs ont proposé différentes solutions techniques : aiguilles en parapluie se déployant dans la tumeur selon des diamètres différents, chaque branche conduisant le courant de radiofréquence, aiguilles perfusées afin d'hydrater le tissu chauffé et d'améliorer la conduction du courant dans la zone à détruire, aiguilles refroidies pour limiter les phénomènes de carbonisation au contact de celles-ci, aiguilles multiples (cluster) et, plus récemment, un système multipolaire à aiguilles multiples. Le traitement par radiofréquence percutanée des tumeurs rénales est réalisé sous anesthésie générale ou neurosédation et analgésie, sous contrôle TDM ou TDM et

échographique. Selon le système utilisé, le (les) applicateurs est/sont positionné (s) directement au niveau de la tumeur ou par l'intermédiaire d'une aiguille porteuse qui sera placée au contact de la tumeur pour servir de guide. Celle-ci facilite la réalisation d'une biopsie dans le même temps si nécessaire. Le protocole de chauffage dépendra du système utilisé et de la taille de la tumeur. En cas de proximité d'une structure digestive ou de l'uretère, 20 à 40 cc de liquide peuvent être injectés pour éloigner ces structures de la zone chauffée. En cas de proximité d'un calice, il est recommandé de monter une sonde urétérale dans le bassinet pour assurer un refroidissement de la voie excrétrice au cours du chauffage.

L'efficacité du traitement est jugée en TDM ou en IRM selon des délais variables après le traitement (de un jour à trois mois). Trois ou quatre contrôles par imagerie dans la première année sont généralement recommandés puis un tous les ans, de façon à détecter un reliquat tumoral puis une récurrence (le tout étant actuellement regroupé sous le terme de local tumor progression, faisant l'hypothèse que si récurrence il y a c'est en fait une «repousse» de cellules tumorales laissées en place). L'injection de produit de contraste, quelque soit la modalité d'imagerie est indispensable à la détection du reliquat ou de la récurrence tumorale. L'IRM est privilégiée si la fonction rénale du patient est altérée. L'idéal serait bien entendu de pouvoir détecter le reliquat tumoral le plus tôt possible avec un examen d'imagerie non toxique pour la fonction rénale. L'échographie de contraste présente l'avantage énorme de ne pas être néphrotoxique et de pouvoir être réalisée facilement. L'examen par échographie de contraste est cependant gêné dans la première demi-heure suivant le traitement par le dégagement gazeux lié au traitement mais la réalisation de cet examen ultérieurement est possible. Nous avons donc mené une étude prospective, en collaboration avec le Pr Correas du service de radiologie de l'hôpital Necker, destinée à évaluer les performances de l'échographie de contraste dans le suivi précoce des tumeurs rénales traitées par radiofréquence percutanée.



**RADIOFREQUENCY ABLATION OF RENAL TUMORS:  
DIAGNOSTIC ACCURACY OF CONTRAST-ENHANCED  
ULTRASOUND FOR EARLY DETECTION OF POSTPROCEDURAL  
RESIDUAL TUMOR.**

Journal:	<i>Radiology</i>
Manuscript ID:	RAD-09-0756
Manuscript Type:	Original Research
Manuscript Categorization Terms:	Ablation Procedures < 3. PROCEDURES, Adults < 1. SUBJECT MATTER, CT-Spiral < 2. MODALITIES/TECHNIQUES, Comparative Studies < 6. TOPICS, Kidney < 5. STRUCTURES, MR-Imaging < 2. MODALITIES/TECHNIQUES, Treatment Effects < 6. TOPICS, Ultrasound < 2. MODALITIES/TECHNIQUES, Urinary < 4. AREAS/SYSTEMS

RADIOFREQUENCY ABLATION OF RENAL TUMORS: DIAGNOSTIC ACCURACY OF CONTRAST-ENHANCED ULTRASOUND FOR EARLY DETECTION OF POSTPROCEDURAL RESIDUAL TUMOR.

Original Research

Advances in Knowledge:

Contrast-enhanced ultrasound allows detection of residual tumor after radiofrequency ablation (RFA) of renal lesions with high predictive values, both at 6-week follow-up and within one day after treatment completion.

CEUS is a reproducible and highly specific imaging modality for the early detection of residual tumor after renal RFA.

Meticulous comparison of postprocedural examinations findings with those of pre-procedural examinations is required to allow accurate detection of residual tumor.

The accuracy of all imaging procedures for the detection of residual tumor is higher six weeks after RFA than within 24 hours after treatment.

Implications for patient care:

CEUS appears as a reproducible, non nephrotoxic examination with high predictive values and high specificity in tumor detection within 24 hours after radiofrequency ablation session.

Abstract

Purpose: To evaluate diagnostic accuracy of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in early detection of residual tumor after radiofrequency ablation (RFA) of renal tumors.

Subjects and Methods: After institutional review board approval and informed consent were obtained for this prospective study, patients referring for RFA of renal tumors underwent CEUS and computed tomography (CT) or magnetic resonance imaging (MRI) before, within one day and six weeks after treatment. Identification of residual tumor was assessed by three radiologists blinded to other postprocedural imaging findings; results were analyzed by consensus. Reference standard was CT/MRI performed at least one year after RFA. Inter-reader agreement was assessed.

Results: 66 renal tumors in 43 patients (median age 62 years; range 44-71.5) were studied. Inter-reader agreement ( $\kappa$  value) was 0.84 and 0.94 for CEUS and CT/MRI, respectively. Prevalence of residual disease was 19 % (14 out of 74 procedures). Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV), respectively, were as follows: 64 % [CI, 39-84], 97% [CI, 89-99], 82 % [CI, 52-95], and 92 % [CI, 83-97], at 24-h CEUS; 79 % [CI, 52-92], 100 % [CI, 94-100], 100 % [CI, 74-100], and 95 % [CI, 87-100] at 6-week CEUS; 79 % [CI, 52-92], 95 % [CI, 86-98], 79 % [CI, 52-92], and 95 % [CI, 86-98] at 24-h CT/MRI; and 100 % [CI, 72-100], 98 % [CI, 90-100], 91 % [CI, 62-98], and 100 % [CI, 93-100], at 6-week CT/MRI.

Conclusion:

CEUS has high specificity and predictive values for the early diagnosis of residual tumor after renal RFA. CEUS more limited sensitivity should be balanced against its benefits in terms of tolerance.

Text:

#### Introduction:

Percutaneous radiofrequency ablative therapies are increasingly used in the treatment of renal tumors (1, 2, 3). A recent study establishes the potential for radiofrequency ablation (RFA) of small renal cell carcinoma (RCC) as a routine alternative to nephron-sparing surgery from a cost-effectiveness perspective (4). RFA requires short-interval follow-up examinations for assessment of residual unablated tumor or local tumor progression. Most incomplete treatments using RFA are detected within the first three months (2, 5). An inexpensive, easy to perform, non nephrotoxic and non-invasive imaging modality with the ability to early detect residual disease would thus be of great help. Contrast-enhanced computed tomography (CT) is usually used for postprocedural surveillance of these patients. However, the nephrotoxicity of iodinated contrast media is a problem, particularly in patients with a solitary kidney who undergo RFA of a renal tumor (6). Magnetic resonance imaging (MRI) is performed in case of impaired renal function or in patients allergic to iodinated contrast material. However, this technique has some limitations including poor accessibility and movement artefacts in poorly collaborating patients. Moreover, a major concern has been raised on nephrogenic systemic fibrosis which may be associated with the use of gadolinium contrast agents in patients with chronic renal failure (7). Today, there is no clear consensus nor any evidence based criteria for how or when posttreatment surveillance imaging should be performed (1, 2). Contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) has a potential to improve the depiction of renal blood flow (8) and it can show renal lesional vascularity in real time with the high temporal and spatial resolution afforded by grey-scale sonography (9, 10). Moreover, there is no case of CEUS-related renal toxicity reported in humans so far. CEUS is already being used with a high diagnostic accuracy in the assessment of hepatic tumors percutaneous treatment response (10, 11, 12). It has been recently proposed in a retrospective study as an effective alternative to CT and MRI in the follow-up of renal tumors treated with RFA (13).



The purpose of our prospective study was to evaluate the diagnostic accuracy of CEUS in the early detection of residual tumor after RFA of renal tumors, using the long-term contrast-enhanced CT or MRI follow-up examination as the reference.

#### Material and Methods:

##### Study Population

From December 2005 through April 2008, all consecutive patients referring to our institution for percutaneous RFA of a renal tumor were asked to participate in this prospective study. The study was approved by the institutional review board, and patients gave oral and written informed consent.

Indications for RF treatment included comorbid conditions that rendered surgery highly risky, life expectancy longer than one year and shorter than 10 years, von Hippel Lindau disease (VHL), presence of a solitary kidney and chronic renal failure. Study exclusion criteria were contra-indications to the use of microbubble contrast agent, and unwillingness to provide written informed consent.

##### Imaging

Before RFA, all patients underwent contrast-enhanced CT or MRI (MRI in case of a serum creatinine level above 2 mg/dl (152.5 $\mu$ mol/L)) as well as a CEUS examination. Imaging follow-up included contrast-enhanced CT or MRI and CEUS within 24 hours and 6 weeks after treatment. Additional CT or MRI examinations were scheduled at four to six months, one year after RFA and then every year subsequently.

##### Reference standard

Results of the latest contrast-enhanced CT/MRI examination, performed at least 12 months

after RFA, were considered as the reference standard. This delay was chosen because the vast majority of residual disease is detected in the first year after completion of treatment (2, 5). When residual disease was identified at day one, the following 6-week CT/MRI was chosen as the reference standard examination. Indeed, if presence of residual tumor was confirmed at 6-week CT/MRI follow-up, the patient was scheduled to be re-treated.

#### Image analysis

The digital cineloops of ultrasound examinations were reviewed onsite, immediately after the end of the examination, by the radiologist involved in the scanning.

Three radiologists experienced in ultrasound (15, 25, and 25 years), and three radiologists with experience in renal CT/MRI reading (20, 25, and 15 years) reviewed 24-h and 6-week CEUS, CT/MRI, respectively, as well as reference standard examinations. Reviewers had not been involved in the scanning. They were informed of the preprocedural location of the renal tumor, recorded on a chart, and were asked to review preprocedural examinations first. They were blinded to other postprocedural imaging findings. Identification of residual tumor was assessed by each reviewer independently, according to a four-point scale. A score of 0 indicated that residual disease was not present; a score of 1 that it was probably not present, a score of 2 that it was probably present. A score of 3 indicated that residual disease was definitely present. Discrepancies were resolved by consensus of the three readers.

Residual tumor was identified by a nodular or crescent-like enhancing area at the ablation margins or at the site of RFA, with enhancement kinetics and location characteristics reflecting those observed before treatment (Figure 1).

#### Radiofrequency ablation and imaging procedures

All procedures were performed using saline-cooled electrodes and a 200-W generator (Cool-

tip, Valleylab, Boulder, CO). The number of electrodes and the size of the active tip were adapted according to the diameter of the tumor. When the lesion maximum diameter was above 2 cm, multiple electrodes were used.

#### CT imaging

CT examinations were performed with four- (Mx 8000; Philips Medical Systems, Best, the Netherlands) or 64-detector row (Lightspeed VCT, GE Medical Systems, Milwaukee, Wis) helical scanners. Unenhanced, corticomedullary, parenchymal, and excretory phase images were obtained through the kidneys (scanning delays of respectively, 30, 90 and 300 seconds) with a section thickness ranging from 1.5 to 3 mm and reconstruction intervals from 0.5 to 1.5 mm. An intravenous injection of non ionic contrast medium at 350 mg iodine per millilitre (iobitridol, Xenetix; Guerbet, Aulnay-sous-bois, France) was performed (volume: 2 ml per kilogram of body weight; injection rate: 3 ml/sec).

#### MR imaging

MR examinations were performed using a phased-array abdominal coil on a 1.5 Tesla unit (Signa Advantage; GE Medical Systems, Milwaukee, Wis). MR imaging protocol included at least transverse and coronal fat-suppressed T2-weighted turbo spin echo sequences (field of view, 36-44 cm; section thickness, 5 mm; no intersection gap; matrix, 512 x 512), and a transverse fat-saturated T1-weighted spin echo sequence. A three-dimensional fat-saturated T1-weighted breath-hold dynamic contrast-enhanced 3D acquisition (interpolated section thickness, 2.5 mm) was performed in the transverse plane at baseline, and during the arterial, nephrographic and excretory phases after intravenous administration of contrast medium (Gadoterate meglumine, Dotarem; Laboratoire Guerbet, Aulnay-sous-Bois, France, dose: 0.2 mL per kilogram of body weight, injection rate 3 mL/sec, followed with a saline flush of 20

mL).

#### Contrast-enhanced sonography

All examinations were performed on the same unit (Aplio system, Toshiba, Nasu, Japan) with a broadband abdominal curved array transducer. The baseline examination was using Tissue Harmonic Imaging and color-doppler ultrasound with the appropriate settings for the detection of slow flow. After injection, the kidney was imaged using a pulse subtraction sequence at low-mechanical index (MI below 0.1). A bolus of 2.4 ml Sonovue ® (BR1, Bracco, Milan, Italy) was injected using a 20-gauge cannula, followed by a 10 mL saline flush. The kidney was continuously scanned in different planes, from the arrival of the microbubbles until their disappearance. Cineloops of the entire US and CEUS examination were stored digitally.

#### Statistical analysis

##### Diagnostic accuracy

The confidence level scores were dichotomized for the calculation of sensitivity, specificity, positive (PPV) and negative predictive values (NPV), for each examination, at 24 hours and 6 weeks, and with reference to the reference standard examination. The cutoff level for the analysis of residual tumor was set between confidence level scores 0 and 1 (considered to indicate absence of residual tumor) and confidence level scores 2 and 3 (considered to indicate presence of residual tumor). Confidence intervals (Cis) were produced using the Wilson score method without continuity score correction (14).

All statistical analyses were performed using R statistical system (version 2.5.0; R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

### Interobserver agreement

Both 4-level quotation and dichotomized scores were considered. For each imaging method, the two sets of examinations, at 24 hours and 6 weeks, were pooled. With dichotomized scores, a Kappa statistic for multiple observers, which is a measurement of the agreement beyond the level of agreement expected by chance alone, was calculated. A weighted kappa statistic test was used for the 4-level quotation. 95 % CIs were calculated using a bootstrap method.

### Results

Between December 2005 and April 2008, 45 consecutive patients with 68 renal tumors were recruited. Two patients were excluded from the study because they refused to provide the written informed consent. A total of 76 procedures (66 tumors) were analyzed. Two patients dropped out of the study, after 24-h and 6-week follow-up examinations, respectively (Fig. 2, Table 1). Biopsy proof was available in 22 patients (Table 2). Three of the 6 recurrent tumors were treated despite the absence of biopsy proof because of their characteristics and enlargement at serial imaging. Solid renal tumors displaying typical CT features of RCC in patients with VHL disease were treated regardless of the results of a biopsy.

Ten patients had more than one tumor treated, either simultaneously or at different treatment sessions. Seven nodules in seven patients were successfully retreated with RFA, after additional sessions, ranging from one to three (Figure 2).

Three residual tumors in three patients were not scheduled for retreatment, according to the multidisciplinary committee decision.

### Inter-reader agreement in image interpretation

A total of 150 CEUS were analyzed, including 76 24-h and 74 6-week examinations.

When considering a four-level score, a good inter-reader agreement was found with a weighted kappa value of 0.73 [CI 0.64- 0.80]. It improved up to 0.84 [CI 0.71-0.93], when confidence level scores were dichotomized for the calculation.

A total of 151 CT/MRI were analyzed, including 76 24-h and 75 6-week examinations. Weighted kappa value for the four-level score(0.94 [CI 0.92-0.96]) was better with CT/MRI than for CEUS and was not improved when confidence level scores were dichotomized (0.94 [CI 0.88-0.99]).

#### Diagnostic accuracy

Contrast-enhanced CT/MRI follow-up of at least 12 months (median 23 months; range 9-36 months) was available for all lesions but one which progressed locally and had a metastatic evolution. A total of 74 procedures for 64 tumors were evaluated in order to assess CEUS diagnostic accuracy (148 CEUS and 148 CT/MRI).

No postprocedural CEUS were considered technically inadequate. Reference standard examinations detected residual disease in 14 out of 74 procedures (19 %).

Positive predictive values for the detection of residual tumor were higher with CEUS than with CT/MRI, both at one day and at 6 weeks. Negative predictive values obtained with CEUS were approaching those with CT/MRI (Table 3). 24-h CEUS and 24-h CT/MRI detected respectively 9 and 11 residual tumors out of 14 unsuccessful sessions (CEUS sensitivity: 64 % [CI 39-84], CT/MRI sensitivity: 79 % [CI 52-92]) (Fig 3). One false negative of both CT and CEUS was seen only in retrospect at CT during the arterial phase, as a millimetric enhancing nodule at the anterior margin of the treated area, after meticulous comparison with the preprocedural CT examination (Fig. 4). Two other false negative results of both CT/MRI and CEUS at day one were due to hypovascular renal cell carcinomas, best seen during the nephrographic phase six weeks later. One of them was identified on 24-h CT

in retrospect (Fig. 5).

In two patients, both 24-h CT/MRI and 24-h CEUS had false positive results (24-h CEUS off site only had one false positive). In these two cases, a 2 to 3 mm-thick enhancing structure with the same enhancing characteristics as those of renal cortex, inside the treated area, was misinterpreted as residual disease (Fig. 6). This structure disappeared on late follow-up examinations.

The two residual tumors missed with CEUS and detected with CT were 4 mm and 8mm-thick nodules within the treated area, displaying the same enhancement characteristics as renal cortex at CT and better depicted during the nephrographic phase.

6-week CT/MRI detected all residual tumors, whereas 6-week CEUS detected 11 residual tumors out of 14 unsuccessful sessions (sensitivity 79 % [CI 52-92]) (Fig. 7).

Both 24-h and 6-week CT/MRI yielded false positive results in one patient in whom a small RFA-induced fistula in the treated area has been misinterpreted for residual disease at CT (Fig. 8).

## Discussion

The ability to timely and accurately diagnose incomplete RFA treatment, occurring in 7 to 13 % (2, 3, 15), while minimizing nephrotoxicity, is critical. Helical CT is widely accepted as the current state of the art for the surveillance. However, iodinated contrast media nephrotoxicity remains a limitation (16). Patients with renal insufficiency can undergo pre-and post-contrast MR (17, 18). However, the resolution afforded by MRI remains below that of CT and, so far, no systematic study has been evaluating the diagnostic accuracy of MRI in the follow-up of RFA. Moreover, concern has been raised about the rare association between nephrogenic systemic fibrosis and the use of intravenous gadolinium contrast material in patients with chronic renal failure (19).

Microbubble contrast agents are true intravascular agents and are not nephrotoxic in human clinical use. They are being used in the follow-up of hepatocellular carcinoma treated with RF ablation (10, 11, 12, 20, 21). The first study in the literature dealing with performances of CEUS in the follow-up of renal tumors treated with RFA recently reported high diagnostic accuracy for this imaging modality (13). However, the study was retrospective and suffered from some limitations.

The optimal timing of imaging following RF ablation still remains to be determined. Most residual viable tumors are reported to be evident at 1-3 months after ablation (2, 3, 22). Some radiologists prefer to do the initial scan following RFA within one week (13, 17, 23) while others wait up to one month (3, 15, 24). At our institution, the initial imaging evaluation is performed within 24 hours after RFA in order to detect early complications, and the second 6 weeks later. Early detection of residual tumor allows rapid scheduling for a new RFA session in order to benefit from the tumor size reduction obtained with the previous treatment.

Our results show that all imaging techniques were more accurate at six-week than at one-day imaging evaluation. Any contrast enhancement within the ablation zone is conventionally regarded as residual tumor tissue (13, 25). The common peripheral reactive hyperaemia following renal and liver RFA can be seen at CT/MRI, as well as at CEUS and may be confusing. In addition, larger vascular structures surrounding the ablated area should not be misinterpreted as residual tumor, particularly in case of renal RFA. To avoid misdiagnosis, we defined residual tumor as any nodular or crescent-like enhancement displaying kinetics and morphological characteristics reflecting those observed before treatment. Meticulous comparison with pre-procedural examinations was thus of paramount importance. Two residual diseases were seen in retrospect at 24-h CT and at 24-h CEUS, respectively, illustrating how difficult these studies are to interpret. Moreover, with CEUS, difference of contrast enhancement between hypervascular residual tumor and normal parenchyma usually



occurred early and lasted only for a few seconds.

The two false positive of 24-h CEUS and CT were enhancing areas inside the treated zone with characteristics similar to those of renal cortex. They disappeared on follow-up examinations. We hypothesized that they were detached portions of renal cortex that underwent necrosis over time.

CEUS proved inferior to CT imaging with regard to image quality at the upper renal poles and at the periphery of treated areas, particularly at their superior and internal portions. CEUS was found to better depict vascular structures compared to CT/MRI, such as small RFA-related fistulae. Although imaging was challenging in our series, as our study population included several patients with history of previous RFA (s) and surgical treatments, as well as with numerous tumors, CEUS had high specificity and high predictive values for residual tumor detection. Conversely, sensitivity values were inferior to those provided by CT/MRI and to those previously reported of 96.6 % (13). We somehow believe that 6-week CEUS is useful for accurate assessment of RFA treatment of hypervascular tumors. Indeed, among the three false-negative results at 6-week CEUS, two were observed with tumors that enhanced like normal renal parenchyma at the arterial phase and that were better depicted during nephrographic phase at CT/MRI.

Our study has limitations. First, the limited prevalence of incompletely treated renal cell carcinomas in our series allow us to draw only restricted conclusions regarding the sensitivity of both CEUS and CT/MRI for the detection of residual disease. Second, the lack of enhancing tumor detectable with CT and MRI at a minimum of 12-month follow-up is taken to be equivalent to no residual neoplasm. Additional time is necessary to assess the long-term treatment efficacy as judged by imaging. Third, two different CT scanners units were used, which may have resulted in a mild limitation in the evaluation of CT diagnostic accuracy. Fourth, the very good inter-reader agreement we obtained might be related to the fact that all

CEUS images were acquired by the same operator, with a long experience in CEUS.

**CEUS appears as a reproducible technique with high predictive values and specificity for the early detection of residual tumor after renal RFA. Nevertheless, further development of US technology is necessary to achieve a tumor detection sensitivity similar to that of CT or MR imaging.**

#### References

1. Boss A, Clasen S, Kuczyk M, Schick F, Pereira PL. Image-guided radiofrequency ablation of renal cell carcinoma. *Eur Radiol* 2007; 17 (3): 725-33.
2. Matin SF, Ahrar K, Cadeddu JA, "et al". Residual and recurrent disease following renal energy ablative therapy: a multi-institutional study. *J Urol* 2006; 176 (5): 1973-77.
3. Zagoria RJ, Traver MA, Werle DM, Perini M, Hayasaka S, Clark PE. Oncologic efficacy of CT-guided percutaneous radiofrequency ablation of renal cell carcinomas. *AJR* 2007; 189 (2): 429-36.
4. Pandharipande PV, Gervais DA, Mueller PR, Hur C, Gazelle GS. Radiofrequency ablation versus nephron-sparing surgery for small unilateral renal cell carcinoma: cost-effectiveness analysis. *Radiology* 2008; 248 (1): 169-78.
5. Gervais DA, McGovern FJ, Arellano RS, McDougal WS, Mueller PR. Radiofrequency ablation of renal cell carcinoma: Part I, Indications, results, and role in patient management over a 6-year period and ablation of 100 tumors. *AJR* 2005; 185 (1): 64-71.
6. Syvanthong C, Wile GE, Zagoria RJ. Effect of radiofrequency ablation of renal tumors on renal function in patients with a solitary kidney. *AJR* 2007; 188 (6): 1619-21.
7. Thomsen HS, Morcos SK, Barrett BJ. Contrast-induced nephropathy: the wheel has turned 360 degrees. *Acta Radiol* 2008; 49 (6): 646-57.
8. Bertolotto M, Martegani A, Aiani L, Zappetti R, Cernic S, Cova MA. Value of contrast-

enhanced ultrasonography for detecting renal infarcts proven by contrast enhanced CT. A feasibility study. *Eur Radiol* 2008; 18 (2): 376-83.

9. Ascenti G, Mazziotti S, Zimbaro G, “et al”. Complex cystic renal masses: characterization with contrast-enhanced US. *Radiology* 2007; 243 (1): 158-65.

10. Claudon M, Cosgrove D, Albrecht T, “et al”. Guidelines and good clinical practice recommendations for contrast-enhanced ultrasound (CEUS)-update 2008. *Ultraschall Med* 2008; 29 (1): 28-44.

11. Vilana R, Bianchi L, Varela M, et al. Is microbubble-enhanced ultrasonography sufficient for assessment of response to percutaneous treatment in patients with early hepatocellular carcinoma? *Eur Radiol* 2006; 16 (11): 2454-62.

12. Kim SK, Lim HK, Kim YH, “et al”. Hepatocellular carcinoma treated with radiofrequency ablation: spectrum of imaging findings. *Radiographics* 2003; 23 (1): 107-21.

13. Meloni MF, Bertolotto M, Alberzoni C, “et al”. Follow-up after percutaneous radiofrequency ablation of renal cell carcinoma: contrast-enhanced sonography versus contrast-enhanced CT or MRI. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 191 (4): 1233- 8.

14. Newcombe RG. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Stat Med* 1998; 17 (8): 857-872.

15. Kunkle DA, Uzzo RG. Cryoablation or radiofrequency ablation of the small renal mass: a meta-analysis. *Cancer* 2008; 113 (10): 2671-80.

16. Morcos SK, Thomsen HS, Webb JA. Contrast-media-induced nephrotoxicity: a consensus report. Contrast Media Safety Committee, European Society of Urogenital Radiology (ESUR). *Eur Radiol* 1999; 9 (8): 1602-13.

17. Boss A, Martirosian P, Schraml C, “et al”. Morphological, contrast-enhanced and spin labeling perfusion imaging for monitoring of relapse after RF ablation of renal cell carcinomas. *Eur Radiol* 2006; 16 (6): 1226-36.

18. Merkle EM, Nour SG, Lewin JS. MR imaging follow-up after percutaneous radiofrequency ablation of renal cell carcinoma: findings in 18 patients during first 6 months. *Radiology* 2005; 235 (3): 1065-71.
19. Juluru K, Vogel-Claussen J, Macura KJ, Kamel IR, Steever A, Bluemke DA. MR imaging in patients at risk for developing nephrogenic systemic fibrosis: protocols, practices, and imaging techniques to maximize patient safety. *Radiographics* 2009; 29 (1): 9-22.
20. Wen YL, Kudo M, Zheng RQ, "et al." Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: therapeutic response using contrast-enhanced coded phase-inversion harmonic sonography. *AJR Am J Roetgenol* 2003; 181 (1): 57-63.
21. Dill-Macky MJ, Asch M, Burns P, Wilson S. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: predicting success using contrast-enhanced sonography. *AJR Am J Roetgenol* 2006; 186 (5 Suppl): S 287-295.
22. Kawamoto S, Permpongkosol S, Bluemke DA, Fishman EK, Solomon SB. Sequential changes after radiofrequency ablation and cryoablation of renal neoplasms: role of CT and MR imaging. *Radiographics* 2007; 27 (2): 343-55.
23. Rhim H, Dodd GD 3rd, Chintapalli KN, "et al". Radiofrequency thermal ablation of abdominal tumors: lessons learned from complications. *Radiographics* 2004; 24 (1): 41-52.
24. Mayo-Smith WW, Dupuy DE, Parikh PM, Pezzullo JA, Cronan JJ. Imaging-guided percutaneous radiofrequency ablation of solid renal masses: techniques and outcomes of 38 treatment sessions in 32 consecutive patients. *AJR Am J Roetgenol* 2003, 180 (6): 1503-8.
25. Zagoria RJ. Imaging-guided radiofrequency ablation of renal masses. *Radiographics* 2004; 24 (Suppl 1): S59-71.

<b>Patients</b>	<b>Total, n=43</b>
Male	24 (56 %)
Age (median [range])	62 [44-71.5]
Solitary kidney	16 (37 %)
Von Hippel-Lindau disease	16 (37 %)
Biopsy proof	22 (49 %)
History of RFA on the same kidney	8 (19 %)

Table 1: Patients characteristics

<b>Renal tumors</b>	<b>Total, n=66</b>
Number of tumors per patient median [range]	1.7 (1-6)
Size (maximum diameter expressed in mm), mean (sd) [range]	24.2 mm (8.4) [59-44]
Location/Side	
Right Kidney	36 (55 %)
Left Kidney	30 (45%)
Location/Type	
Exophytic	29
Central	21
Intraparenchymal with no extension to renal sinus	14
Mixed (central and exophytic)	2
<b>Histological diagnoses from biopsy (n=22)</b>	<b>Number of patients</b>
Oncocytoma	2
Clear cell carcinoma	13
Primary	10
Recurrent	3
Papillary cell carcinoma	4
Chromophobe cell carcinoma	2
Sarcomatoid cell carcinoma	1

Table 2: Renal tumors characteristics

<b>Performances</b>	24-h	24-h	24-h	6-w	6-w	6- w
	CEUS o	CEUS c	CT/MRI c	CEUS o	CEUS c	CT/MRI c
Sensitivity	64	64	79	79	79	100
	[39-84]	[39-84]	[52-92]	[52-92]	[52-92]	[72-100]
	(9/14)	(9/14)	(11/14)	(11/14)	(11/14)	(14/14)
Specificity	98	97	95	100	100	98
	[91-100]	[89-99]	[86-98]	[94-100]	[94-100]	[90-100]
	(59/60)	(58/60)	(57/60)	(59/59)	(59/59)	(53/54)
PPV	90	82	79	100	100	91
	[60-98]	[52-95]	[52-92]	[74-100]	[74-100]	[62-98]
	(9/10)	(9/10)	(11/14)	(11/11)	(11/11)	(10/11)
NPV	92	92	95	95	95	100
	[83-97]	[83-97]	[86-98]	[87-98]	[87-100]	[93-100]
	(59/64)	(59/64)	(57/60)	(59/62)	(59/62)	(53/53)

Table 3: Sensitivity, Specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) of contrast-enhanced ultrasound (CEUS), CT or MRI (CT/MRI) performed in the following 24 hours (24-h) or six weeks (6-w) after the RFA treatment, expressed as percentages.

Data in brackets are 95% confidence intervals expressed as percentages, data in parentheses were used to calculate the percentages of the number of procedures. o= on-site; c=consensus.

## Figure Legends

Figure 1: Residual tumor after radiofrequency ablation of renal cell adenocarcinoma. Contrast-enhanced ultrasound (fig.1a) and transverse computed tomography images (fig.1b) demonstrate an enhancing nodule (arrows) at the internal margin of the treated area (arrowheads).

Figure 2: Flow Chart of patients' progress through the study. p=patients

Figure 3: Transverse oblique contrast-enhanced ultrasound (fig.3a) and coronal multiplanar reformat contrast-enhanced multidetector row computed tomography image (fig.3b) images obtained within 24 hours of radiofrequency treatment of a large renal tumor (44 mm) in a 77 year-old patient who refused surgery. Images show peripheral crescent-shaped enhancement (arrows) at the superior margin of the treated area, typical of residual tumor.

Figure 4: Transverse contrast-enhanced multidetector-row computed tomography images before (fig.4a), within one day (fig.4b) and six weeks after (fig.4c) radiofrequency ablation of a 35 mm large renal cell adenocarcinoma in a 71 year-old man. A very small area of enhancement is seen in retrospect at day one at the anterior margin of the treated area (fig.4b, arrow), when meticulously analyzing the preprocedural characteristics of the tumor (fig.4a, arrows). A small enhancing nodule is seen with increased conspicuity six weeks later (fig.4c, arrow). This residual tumor, confirmed at delayed follow-up examinations, was not seen with contrast-enhanced ultrasound, both at day one nor six weeks later.

Figure 5: Transverse contrast-enhanced multidetector-row computed tomography images during corticomedullary (fig.5a) and nephrographic (fig.5b) phases after intravenous administration of contrast medium, obtained within 24 hours of RFA treatment of renal cell carcinoma, show residual tumor, better depicted during nephrographic phase (arrows). Residual tumor was seen only in retrospect. Transverse contrast-enhanced ultrasound image (fig.5c) of the treated area (arrows) does not show any abnormal enhancement and CEUS

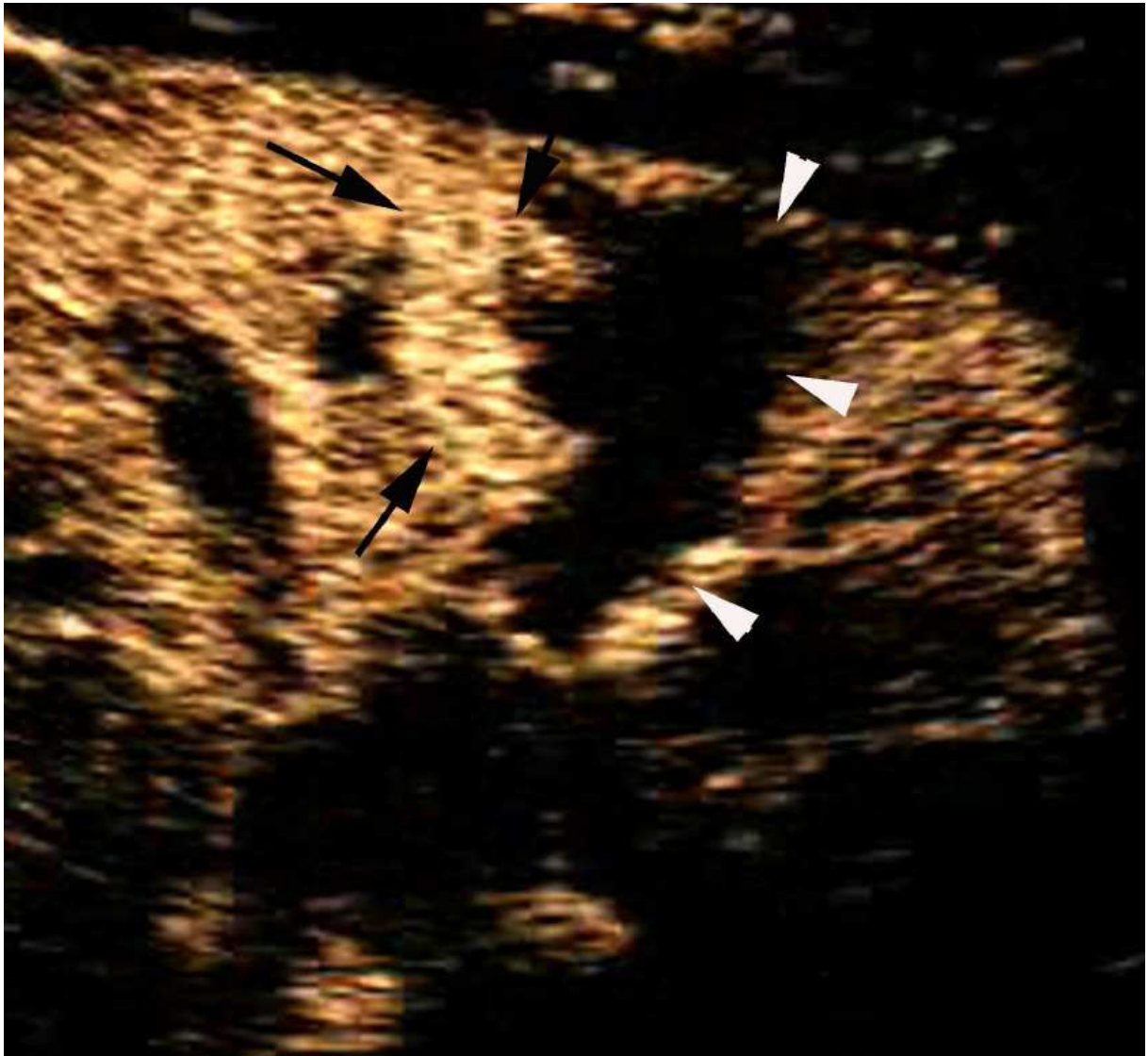


missed the residual tumor.

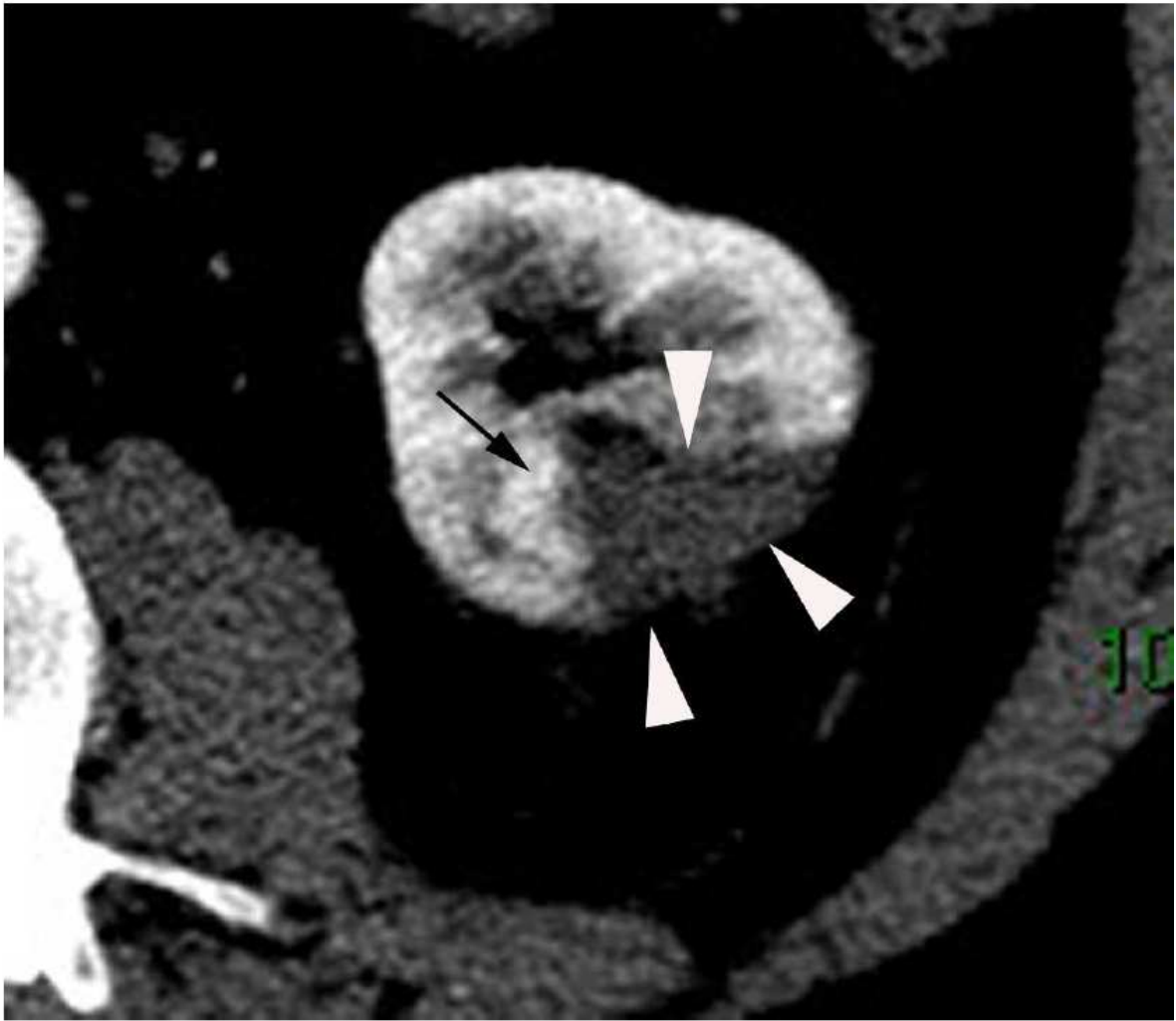
Figure 6: Transverse contrast-enhanced multidetector-row computed tomography images during corticomedullary (fig.6a), and nephrographic (fig.6b) phases after intravenous administration of contrast medium, performed within 24 hours of radiofrequency treatment of renal cell carcinoma. They show peripheral structure displaying the same enhancement characteristics as the renal cortex (arrow). Six-week and reference standard computed tomography examinations (performed 21 months after radiofrequency ablation) showed disappearance of this structure and the absence of local tumor progression.

Figure 7: Residual tumor at 6-week follow-up after RFA of a recurrent renal cell adenocarcinoma in a 68-year-old man with a history of surgery of a contralateral tumor. Longitudinal contrast-enhanced ultrasound image (fig.7a) and gadolinium-enhanced fat-suppressed T1-weighted transverse MR image (fig.7b) show residual tumor (arrows), confirming results of 24-hour CEUS. This residual tumor is seen as an enhancing nodule (arrow) at the deep part of the treated area (arrowheads).

Figure 8: Radiofrequency of a 17 mm large renal cell adenocarcinoma in a 78-year-old woman. Six-week contrast-enhanced computed tomography axial image shows a small nodular enhancement in the treated area during the corticomedullary phase. Contrast-enhanced ultrasound showed a vascular structure corresponding to the abnormality seen at CT. The enhancing area is stable on the three-year follow-up contrast-enhanced examination.

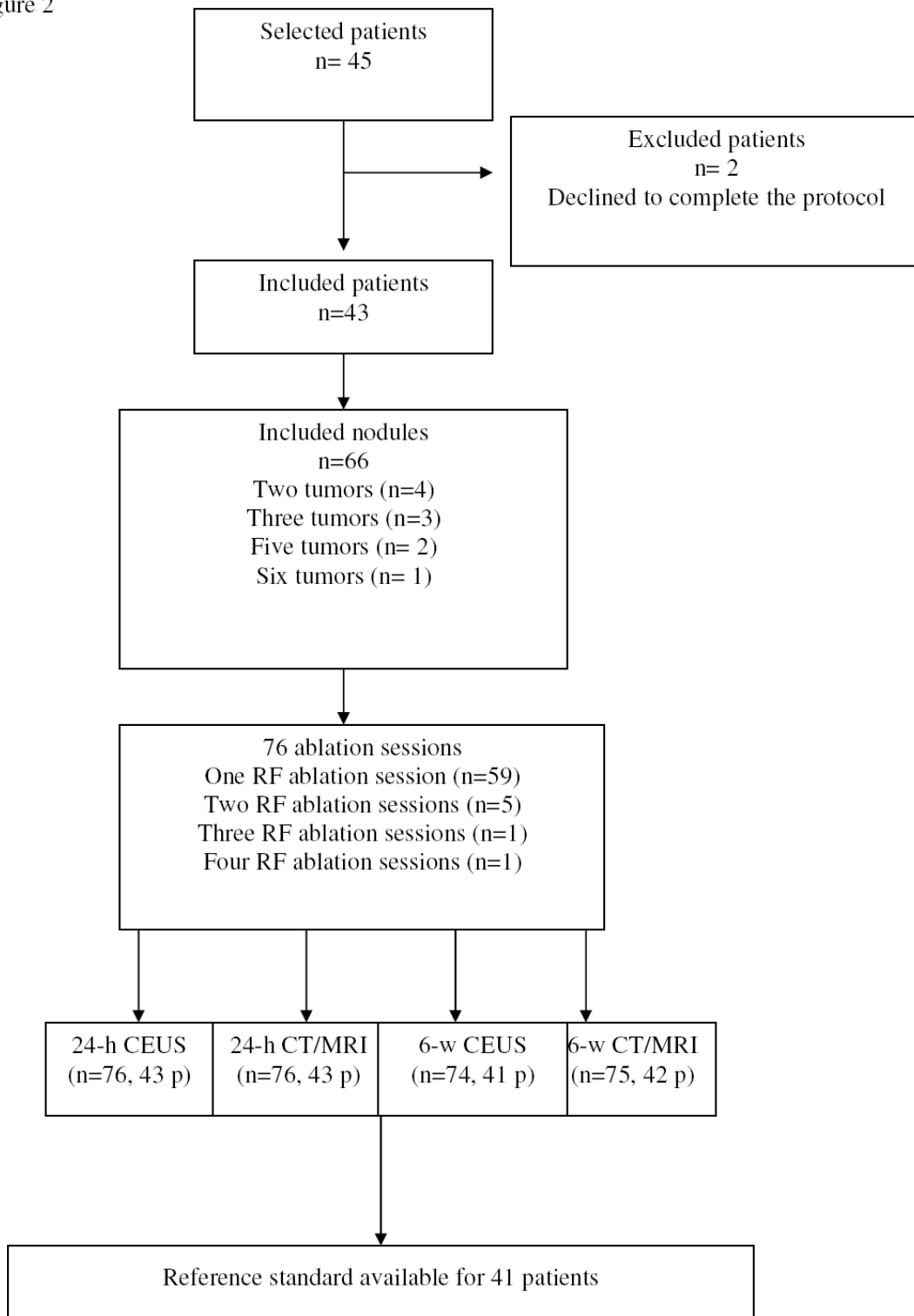


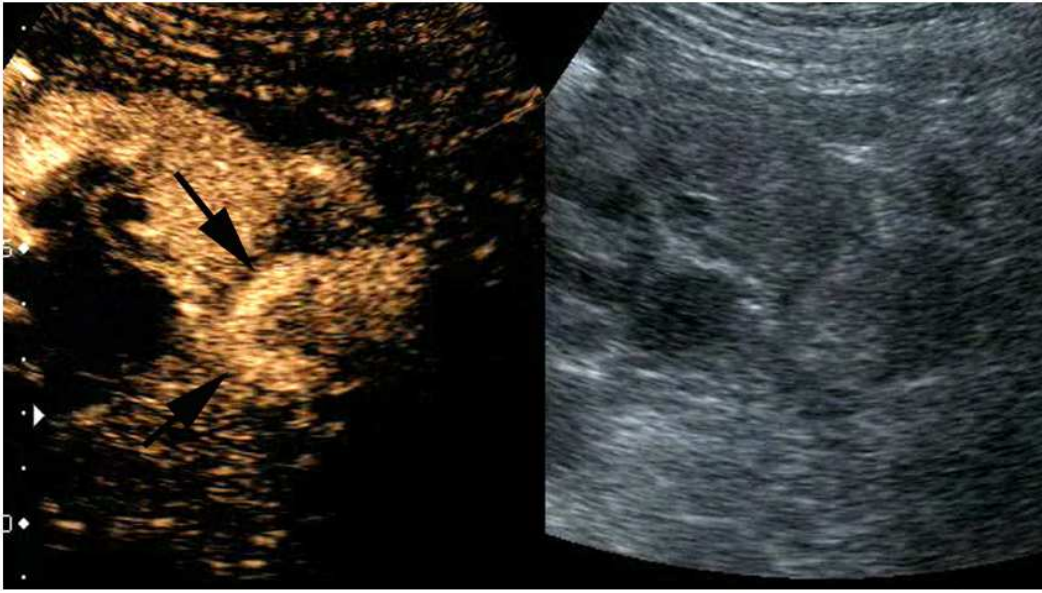
1a



1b  
99x86mm (300 x 300 DPI)

Figure 2

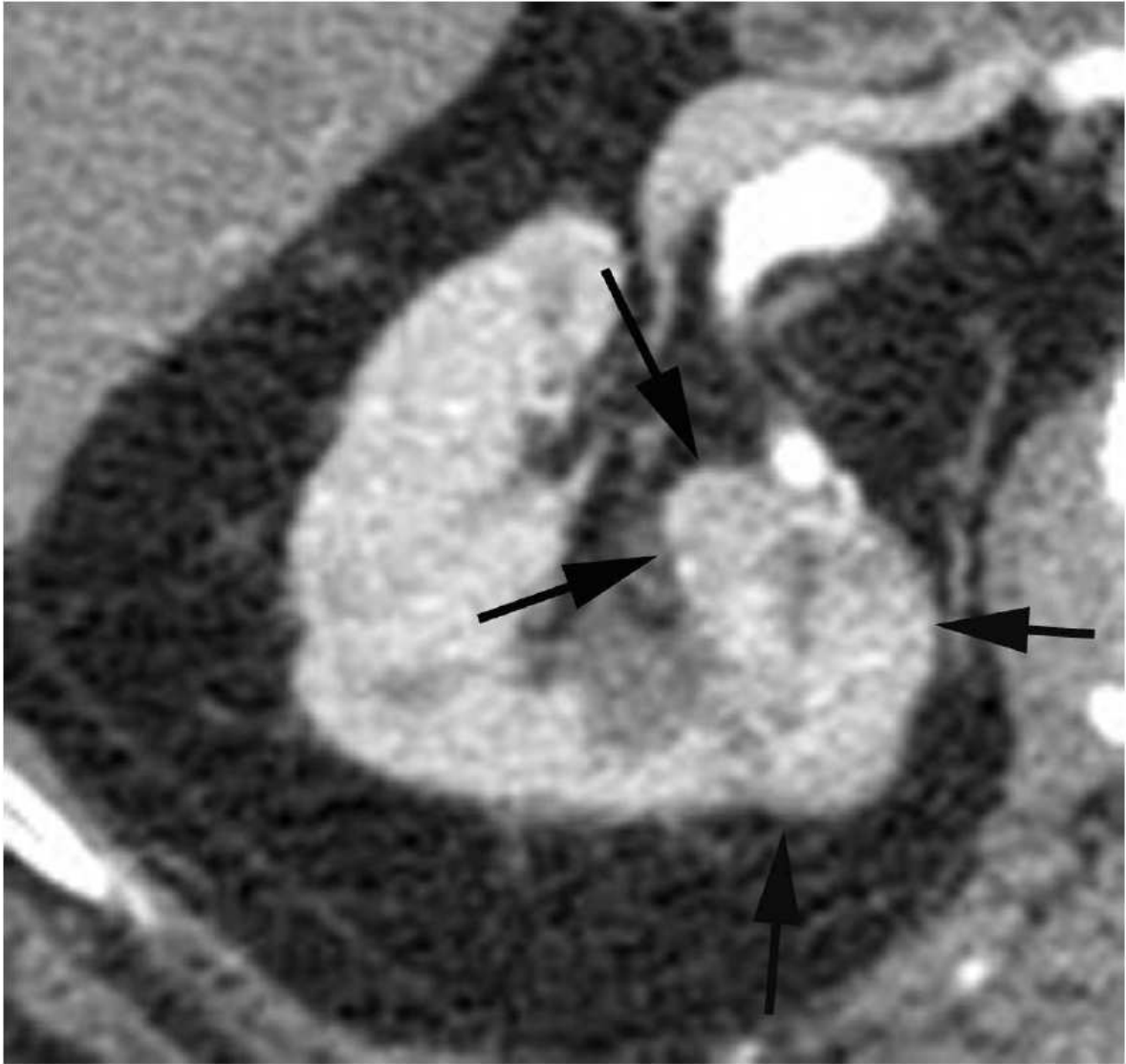




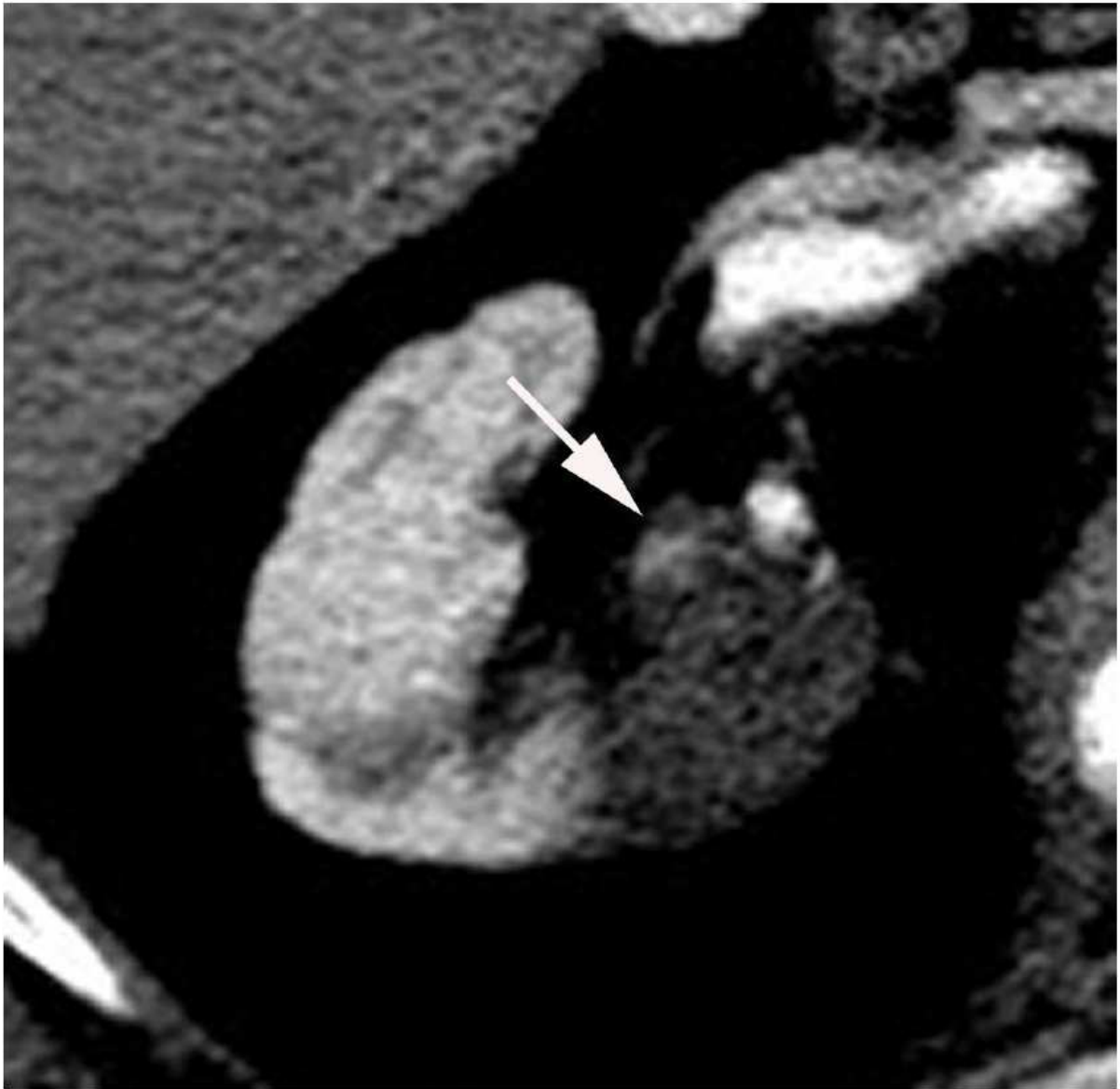
3a



3b  
99x87mm (300 x 300 DPI)

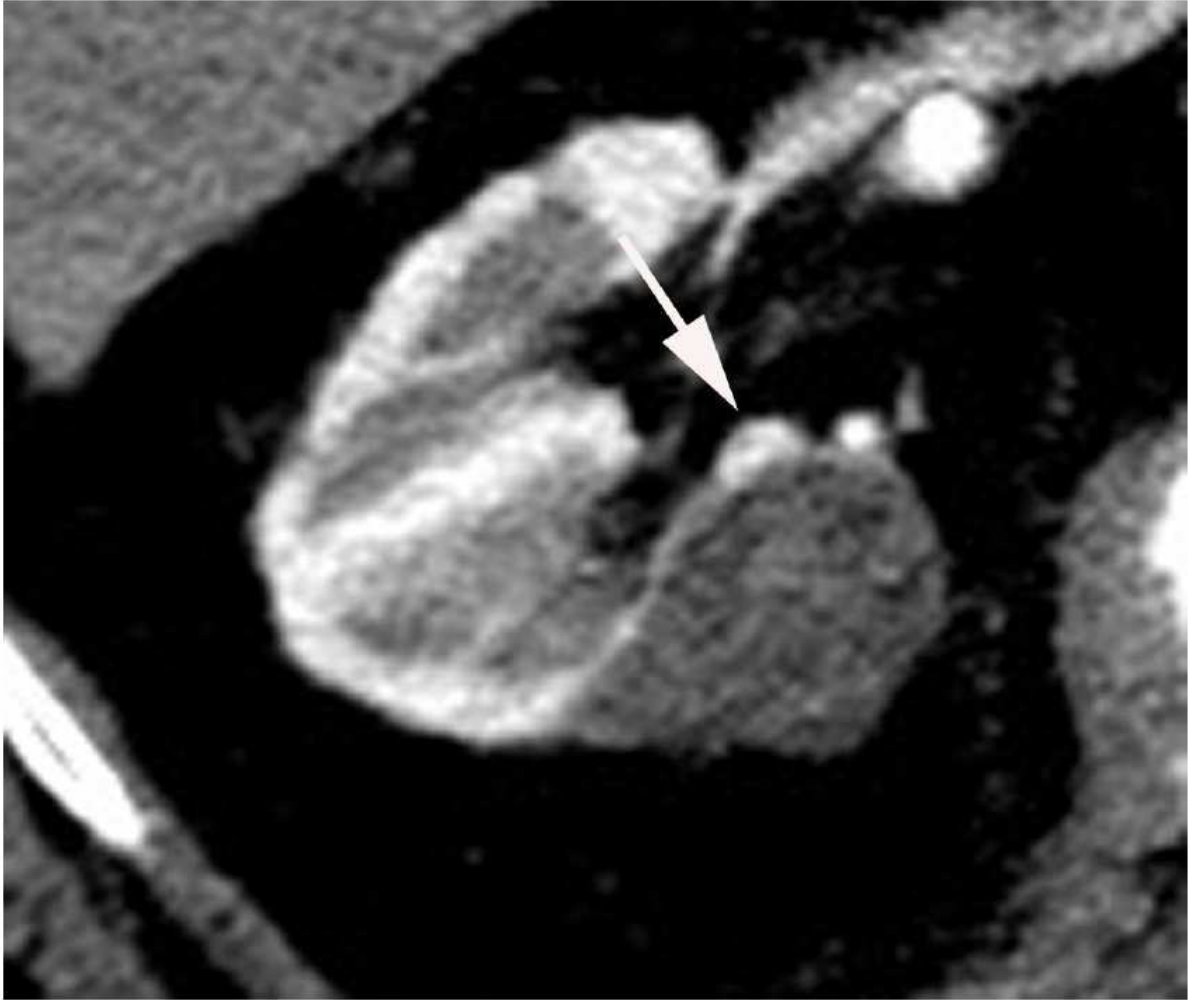


4a  
99x94mm (300 x 300 DPI)



4b  
99x97mm (300 x 300 DPI)

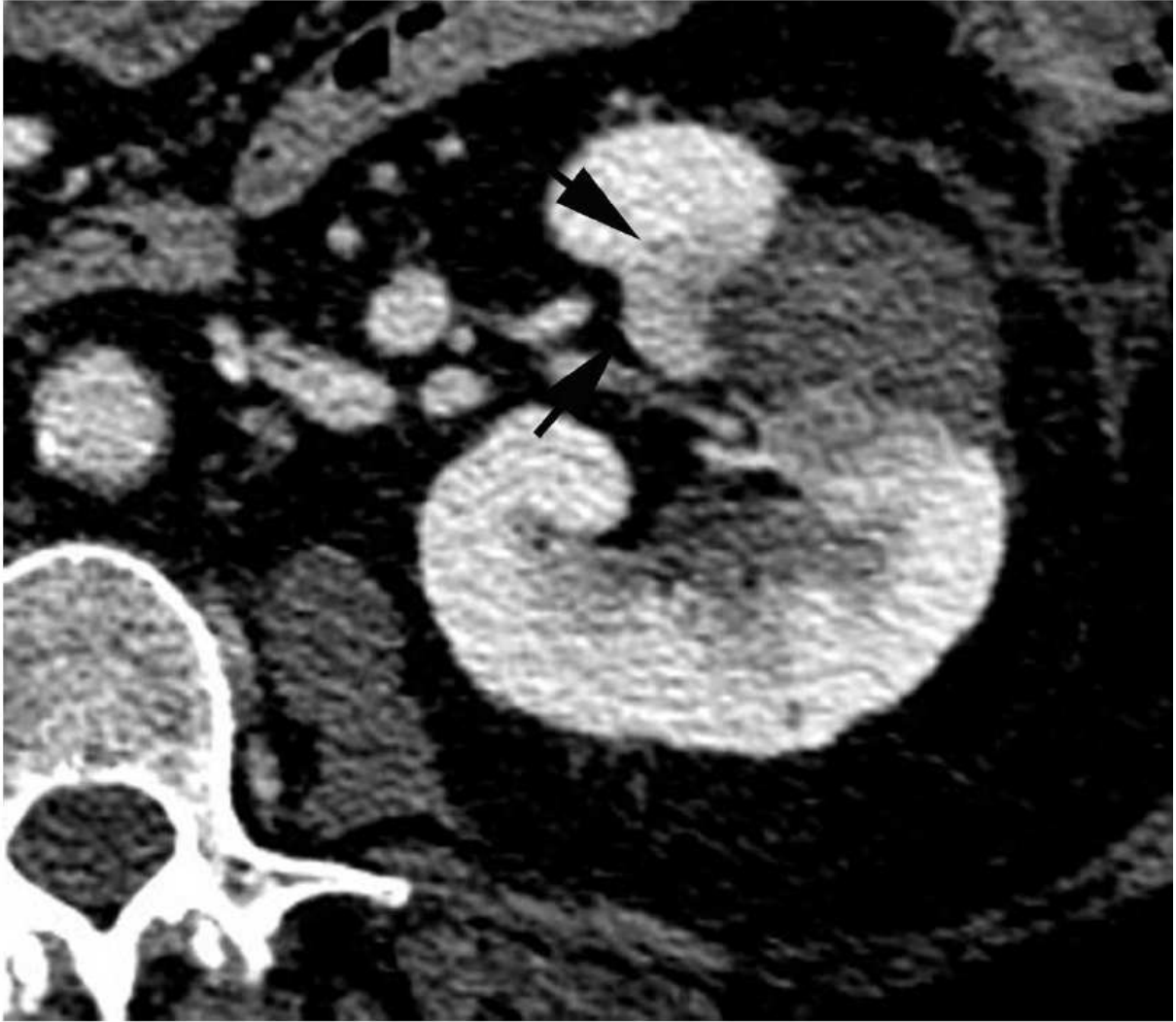




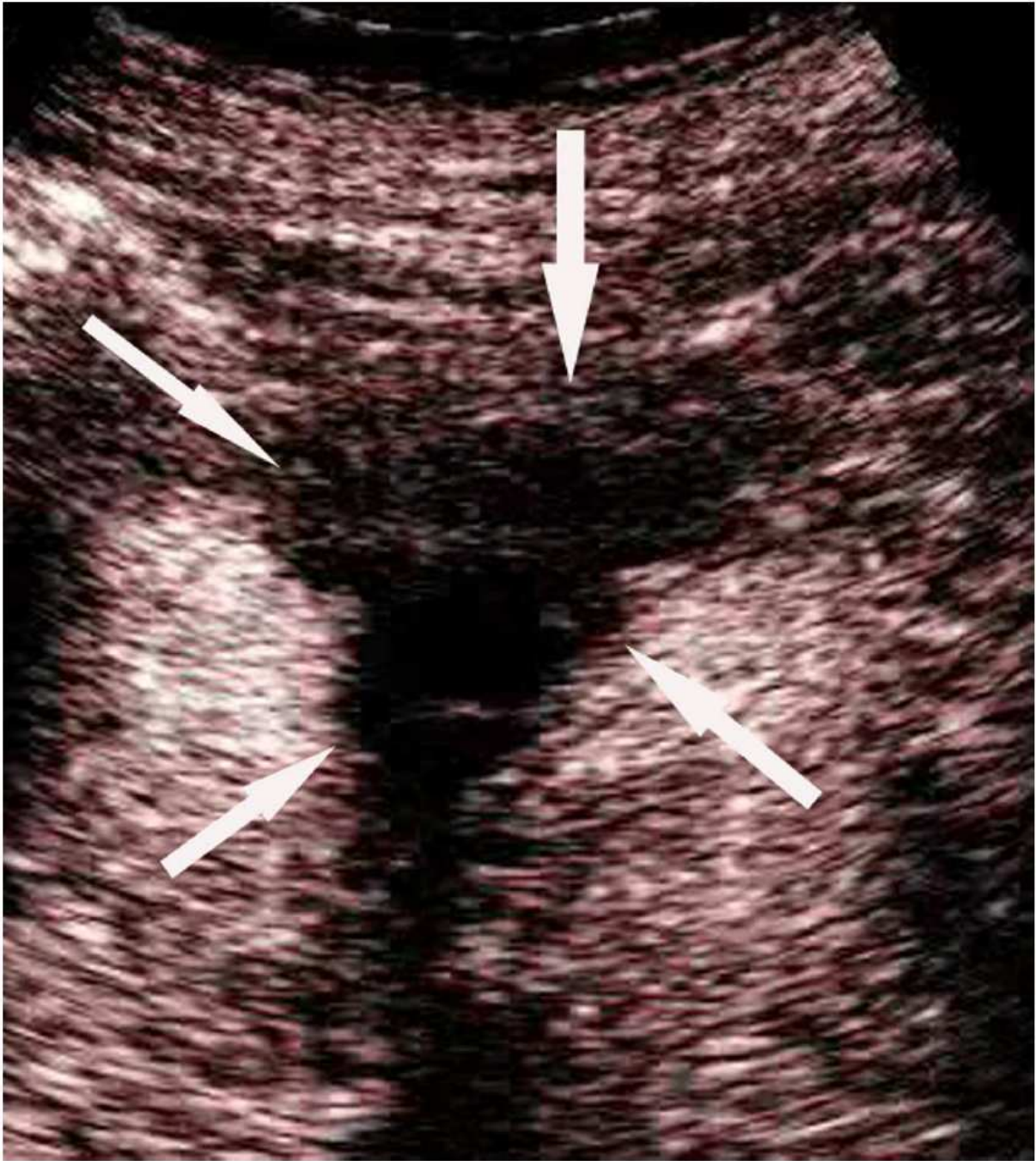
4c  
99x84mm (300 x 300 DPI)



5a  
99x93mm (300 x 300 DPI)



5b  
109x95mm (300 x 300 DPI)



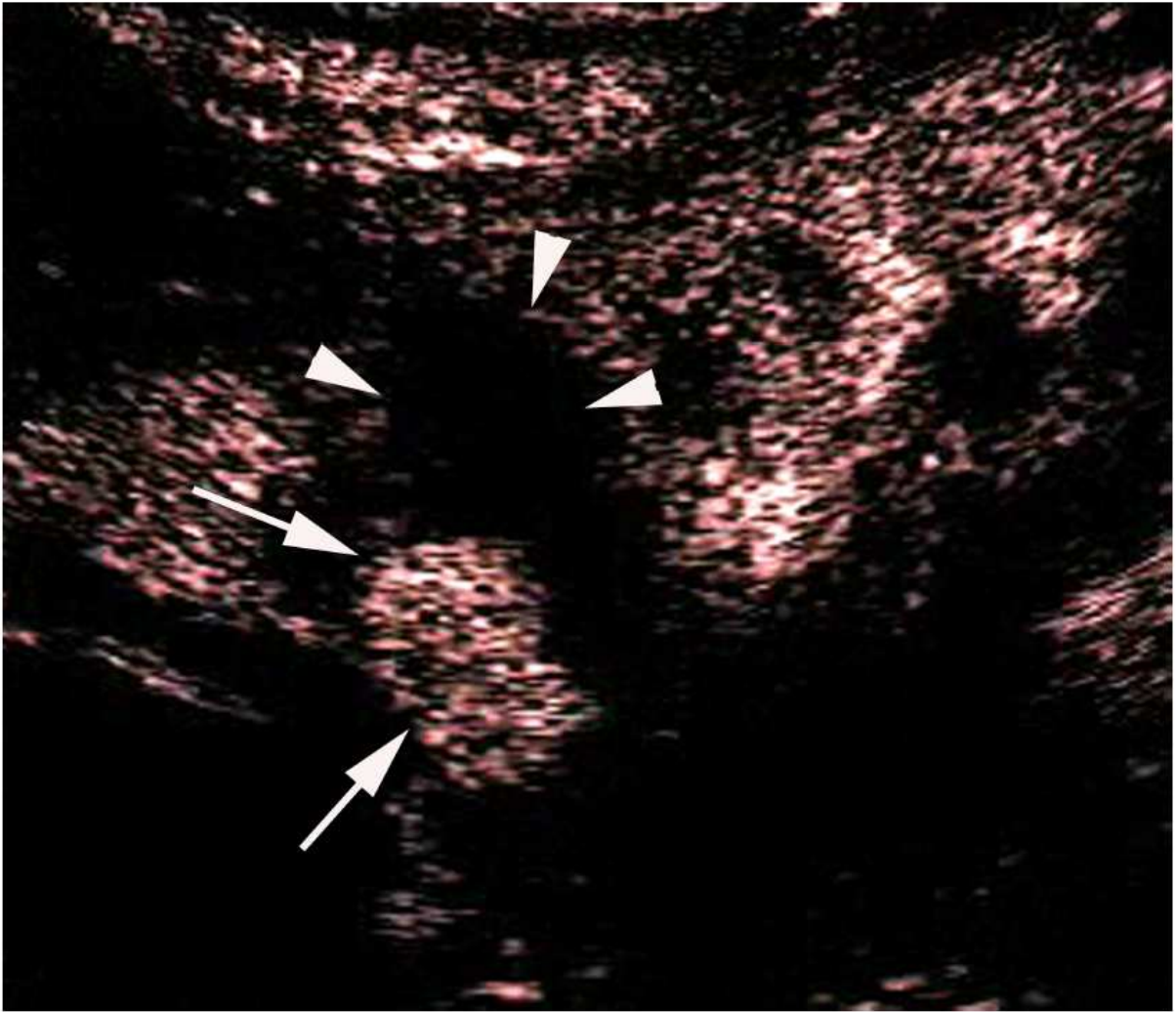
5c  
99x112mm (300 x 300 DPI)



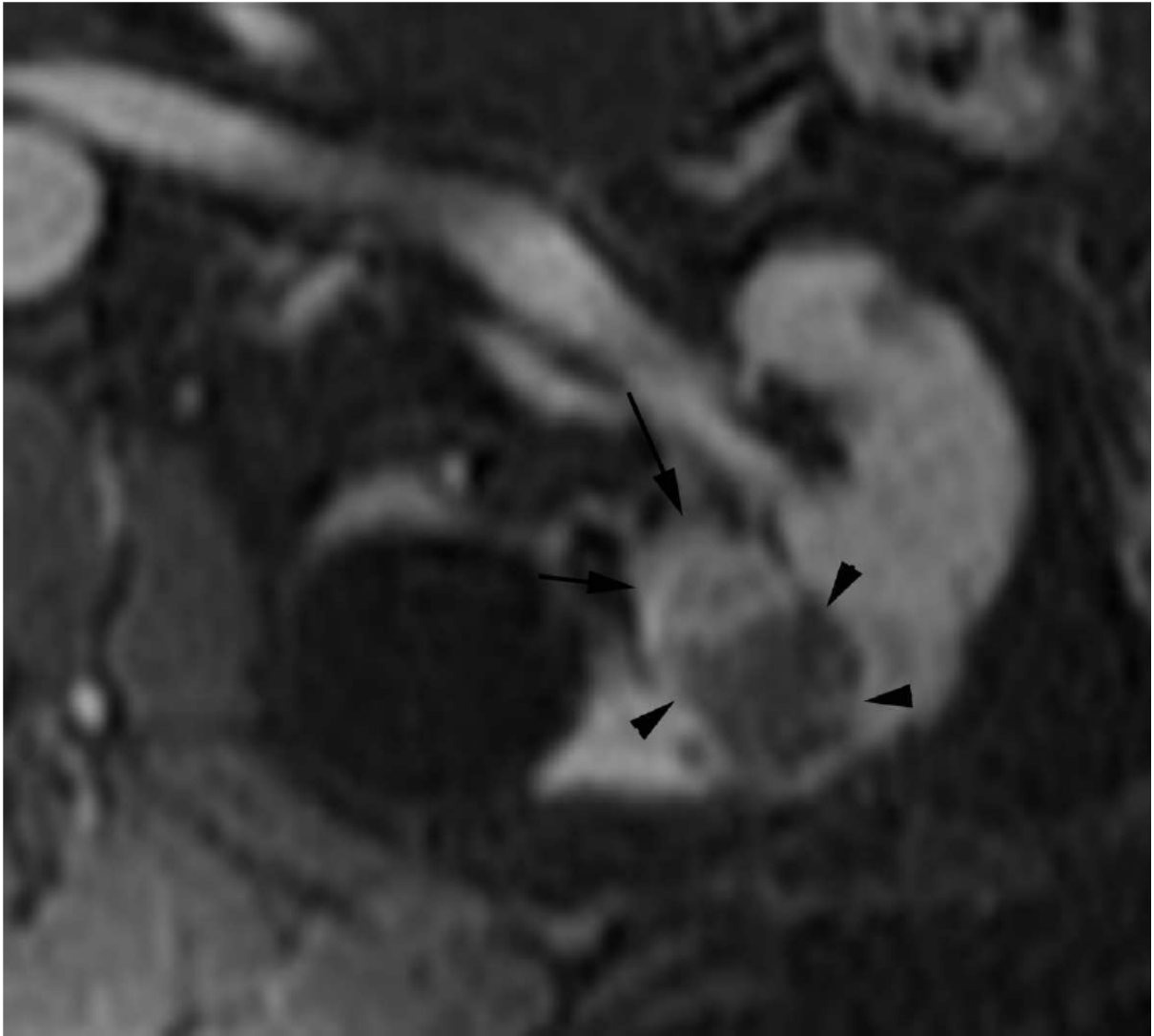
6a  
99x102mm (300 x 300 DPI)



6b  
99x116mm (300 x 300 DPI)



7a



7b  
99x90mm (300 x 300 DPI)





8a  
99x101mm (300 x 300 DPI)

# DISCUSSION

L'échographie de contraste permet l'exploration fonctionnelle des organes et des tumeurs, fournissant une étude qualitative de la microcirculation tissulaire avec des résolutions spatiales et temporelles particulièrement élevées. De plus, le développement de modèles spécifiques à l'imagerie ultrasonore de contraste permet l'estimation quantitative de paramètres fonctionnels de la microcirculation tels que la perfusion tissulaire ou la fraction volumique sanguine. Ces modèles exploitent la double particularité des microbulles composant les agents de contraste ultrasonores de pouvoir être détruites par des ultrasons et de rester strictement intravasculaires. Cependant, la validité de ces paramètres fonctionnels pour des études *in vivo* dépend de la prise en compte de plusieurs facteurs liés à la propagation des ondes ultrasonores dans les tissus en présence de microbulles. Sans une prise en compte adaptée de ces différents facteurs, la pertinence des paramètres de la microcirculation estimés n'est pas assurée.

1 - Une des difficultés à laquelle se heurte l'estimation précise des paramètres de la microcirculation est la variation de la concentration de l'agent de contraste. En effet, la concentration de l'agent de contraste après sa reconstitution peut varier, par exemple, pour le Sonovue, d'un facteur 1 à 5. De plus, la possible destruction de microbulles au cours des acquisitions modifie la concentration de l'agent de contraste. Bien que la variabilité de la concentration de l'agent de contraste soit généralement associée à une injection en bolus, elle est également significative lors d'une infusion continue. Le but du travail expérimental de

cette thèse était d'évaluer la reproductibilité de l'estimation de la perfusion tissulaire rénale en échographie de contraste et de proposer une méthode qui, en exploitant l'intensité du signal au niveau de l'entrée artérielle, permette de s'affranchir de la variabilité de la concentration de l'agent de contraste injecté. Pour cela, des acquisitions de destruction-reperfusion ont été réalisées, les cinétiques de reperfusion obtenues dans trois régions d'intérêt (cortex antérieur, cortex postérieur, et artère segmentaire) étant ensuite ajustées par un modèle monoexponentiel croissant proposé dans la littérature (Wei et al, 1998). Les séquences d'images acquises ont été enregistrées au format AVI puis analysées.

Dans un premier temps, un traitement manuel des données a été effectué. Cela a consisté en une extraction des cinétiques à partir des ROIs grâce au logiciel Imagelab<sup>®</sup>. Une normalisation a ensuite été effectuée dans Excel<sup>®</sup>, puis la modélisation des données à partir du 0 était effectuée dans Deltagraph<sup>®</sup>. Cette méthode s'est avérée extrêmement laborieuse et peu robuste, prenant environ 20 fois plus de temps que le traitement des données effectué ensuite avec le logiciel Echoperf développé par le Dr Mulé. La modélisation de la microcirculation a débuté par le calibrage des données, le but étant d'obtenir des valeurs proportionnelles à la puissance acoustique à partir des valeurs affichées sur l'image échographique, exprimées en niveaux de gris. Nous avons vu que le signal radiofréquence, une fois numérisé, subit une compression logarithmique. La courbe de contraste utilisée pour la construction de l'image et affichée à l'écran à gauche des images a été extraite pour obtenir la correspondance entre dB et niveaux de gris.

Une fois la conversion des niveaux de gris en décibels réalisée, la compression logarithmique a été annulée en faisant subir aux intensités exprimées en décibels l'opération inverse de la transformation logarithmique ( $P = 10^{I/10}$ ),  $P$  étant l'intensité linéaire du signal et  $I$  l'intensité acoustique en décibels. En théorie, l'intensité acoustique est proportionnelle à la puissance

acoustique linéaire, et donc à la concentration de microbulles, si l'index mécanique utilisé est faible.

La compensation des mouvements d'origine respiratoire est également importante et nécessaire à une quantification reproductible. Chaque pixel ou région d'intérêt étudiés devant représenter le même élément de volume au cours du temps, tout mouvement doit être éliminé au préalable. En échographie, aucune technique de synchronisation respiratoire n'est disponible en routine clinique. Les méthodes de « recalage » ne compensent en général le mouvement que dans le plan d'acquisition. Aucune méthode de compensation du mouvement n'a été appliquée dans le logiciel utilisé dans notre étude, mais nous avons changé manuellement ponctuellement la position de la ROI lorsque celle-ci s'était un tant soit peu modifiée. De plus, la sonde ayant été fixée avant les acquisitions, quasiment aucun mouvement n'était présent dans les acquisitions.

Pour chaque région d'intérêt, les valeurs linéaires des pixels ont été moyennées pour chaque image de manière à obtenir la variation d'intensité linéaire moyenne dans la région d'intérêt au cours du temps. Au niveau de l'artère, seuls les pixels dont la valeur était supérieure à 75 % du pixel maximal étaient pris en compte, ce qui a permis d'éliminer les parenchymes avoisinants et d'optimiser la reproductibilité sur cette région d'intérêt. La taille des ROIs se voulait la plus grosse possible, afin d'être reproductible, et les ROIs étaient identiques pour un rein donné.

Les cinétiques linéaires ont été ajustées par le modèle monoexponentiel croissant auquel un délai  $t_0$  a été ajouté. En effet, Lucidarme (2003a) a mis en avant la différence entre les cinétiques de reperfusion, en forme de S, et le modèle monoexponentiel croissant. Il a proposé un modèle multicompartimental prenant en compte la destruction de l'agent de contraste dans les vaisseaux afférents situés dans le plan de l'image. Le délai  $t_0$  que nous avons rajouté correspond au temps de début de montée de l'exponentielle des cinétiques de reperfusion.

L'ajustement ainsi obtenu a permis d'obtenir une estimation du débit. Les valeurs de débit réels et estimées étaient faiblement corrélées. De plus, il existait un effet rein pour toutes les ROIs sauf pour le cortex postérieur.

Le produit  $\alpha \times \beta$  estimé a ensuite été normalisé par l'intensité moyenne du signal obtenu au niveau de l'entrée artérielle. Nous avons utilisé l'intensité de signal artérielle avant la destruction des microbulles car, en dépit de séquences de destruction à forte puissance acoustique, il n'a pas été possible de détruire complètement toutes les microbulles présentes dans l'artère ni donc de ramener tous les signaux à 0. La prise en compte de l'entrée artérielle peut également être assurée en normalisant par l'intensité de signal artérielle au moment du plateau de la reperfusion. Dans un article récent (Quaia, 2009), les auteurs décrivent un nouveau modèle mathématique multicompartimental destiné à la quantification du débit rénal cortical en échographie de contraste et normalisent l'intensité de signal du plateau par celle d'au moins deux artères segmentaires adjacentes (ROI de 5 x5 mm).

Après la normalisation, nous avons obtenu une corrélation élevée et significative entre débit réel et estimé dans toutes les ROIs. L'effet individu mis en évidence avant normalisation a persisté, de façon moindre cependant, sauf pour le cortex postérieur. Cet effet traduit la présence de sources de variabilité entre les acquisitions autres que la variation de l'agent de contraste. Le phénomène d'atténuation du signal ultrasonore nous est apparu comme un facteur majeur limitant la reproductibilité des mesures d'un rein à l'autre. Ce phénomène sur un rein était tellement important (concentration de microbulles trop élevée en raison d'un délai trop long entre le début de l'infusion continue et le début des acquisitions) que les données issues de ce rein pour les hauts débits se sont avérées inexploitable. Pour les autres reins, la concentration utilisée n'engendrait pas d'artéfacts de masquage détectables visuellement. Cependant, la présence du cortex antérieur entre la sonde et les autres régions étudiées entraîne forcément une atténuation du signal dans les régions les plus profondes. Le

signal artériel utilisé pour normaliser les paramètres estimés est notamment sujet à ce phénomène. Ceci peut en partie expliquer que les résultats pour le cortex antérieur soient un peu moins bons que ceux obtenus pour le cortex postérieur.

Ce phénomène d'atténuation aurait pu être minimisé si le protocole n'avait pas été conduit avec des débits progressivement croissants et les débits les plus élevés administrés en dernier, alors même que les modifications de la population de microbulles dans le circuit de perfusion et dans la pompe étaient maximales.

Par ailleurs, la quantité totale de l'agent de contraste que nous avons utilisée est sûrement trop élevée, même si elle a été atténuée par une dilution initiale du Sonovue et par une dilution dans les deux litres du liquide de perfusion.

La focalisation du faisceau ultrasonore peut également expliquer en partie l'effet individu observé. La distance focale a été systématiquement réglée au niveau du cortex postérieur, ce qui peut expliquer en partie que les résultats pour le cortex antérieur soient un peu moins bons que ceux obtenus pour le cortex postérieur.

Enfin, la possible modification de la microcirculation au niveau du cortex antérieur due au contact appuyé de la sonde avec le rein peut également contribuer aux moins bons résultats obtenus dans cette région.

L'objectif de l'étude exposé dans l'introduction a été atteint, à savoir évaluer la reproductibilité de la quantification de la perfusion et proposer une méthode permettant de s'affranchir de la variabilité liée à la concentration de l'agent de contraste. Les limites de l'étude ont été détaillées, en particulier le phénomène d'atténuation, qui pour l'instant n'est pas pris en compte dans aucun logiciel de quantification en échographie de contraste.

Les résultats expérimentaux sur la quantification de la perfusion tissulaire ont donc montré des limites ne permettant pas une application clinique directe. La quantification en pratique clinique n'apparaît envisageable que lorsque l'atténuation induite par les microbulles peut être

négligée (ou éventuellement estimée et compensée). Il faut donc travailler avec de faibles concentrations de produit de contraste et dans les territoires superficiels lorsque l'on veut quantifier la perfusion. Lorsque l'atténuation n'est pas négligeable, le rehaussement de signal n'est plus simplement relié à la concentration des microbulles mais il peut encore être exploité dans le cadre d'études comparatives du rehaussement pour des doses d'agent de contraste et des profondeurs d'exploration équivalentes d'une injection à l'autre. L'autre limite de la quantification de la perfusion en pratique clinique est le mouvement, en général d'origine respiratoire. Le logiciel que nous avons utilisé dans l'étude expérimentale ne comprend pas de compensation du mouvement et nécessite de disposer de séquences acquises avec le moins de mouvements possibles (apnée) et de recalibrer les régions d'intérêt manuellement lors de petits déplacements de la région intéressée.

2. Pour l'application clinique, compte-tenu de ces limites, nous nous sommes donc intéressés à l'aspect qualitatif de l'imagerie fonctionnelle de perfusion en échographie de contraste, ceci en pathologie abdominale. Nous avons vu qu'un des buts cliniques de l'imagerie fonctionnelle est d'améliorer la sensibilité de détection des lésions peu visibles ou non visibles en imagerie morphologique. Nous avons donc réalisé deux études prospectives sur l'apport de l'échographie de contraste fonctionnelle qualitative pour la détection tumorale abdominale, en fonction des possibilités offertes par le recrutement hospitalier. La première étude réalisée au CHU de Reims visait à évaluer si l'échographie de contraste permettait d'améliorer la sensibilité de détection des métastases hépatiques de tumeurs carcinoïdes. L'échographie de contraste a montré une excellente sensibilité de détection de ces métastases, comparables à celles de l'IRM, et significativement meilleure que celle de l'échographie classique. Aucun patient n'a été exclu sur la base d'une échographie techniquement non réalisable/interprétable. Cependant, cette étude comportait un certain nombre de limites : le

nombre de patients était relativement faible et la reproductibilité inter observateur (deux observateurs) n'a pas été étudiée. De plus, le gold standard n'était pas optimal avec très peu de patients opérés. En dépit de ces limites, l'échographie de contraste a montré sa supériorité par rapport à l'échographie conventionnelle, ce qui est intéressant non seulement dans le cadre du dépistage de lésions secondaires en préopératoire mais également pour le suivi chez ces patients dont la moyenne d'âge est moins élevée que celle des patients porteurs de cancers colorectaux et dont les métastases évoluent généralement plus lentement, avec des examens de contrôle très fréquents.

La deuxième étude a porté sur une population de patients de l'hôpital Necker (Paris V) pour lesquels une indication de traitement par radiofréquence de leur tumeur rénale avait été portée. Ces patients ont eu de façon prospective :

Une échographie de contraste et un scanner ou une IRM, selon la fonction rénale, avec injection de produit de contraste, avant traitement

Une échographie de contraste, et de façon concomitante, un scanner ou une IRM injectés, le lendemain et à six semaines de la radiofréquence. Les performances diagnostiques de l'échographie de contraste ont été établies en prenant les résultats du scanner ou de l'IRM effectués le plus tardivement possible, au moins un an après le traitement, comme gold standard. Il a en effet été montré que la progression tumorale locale (terme anglo-saxon employé pour décrire les reliquats et les récives dont on pense qu'elles correspondent en fait à des cellules tumorales laissées initialement en place que l'on ne détecte pas au début) est diagnostiquée dans la très grande majorité des cas la première année qui suit la radiofréquence. Cette étude a porté sur une très grosse série de patients traités par radiofréquence et il s'agit de la première étude prospective sur ce sujet dans la littérature, même si, par ailleurs, au niveau hépatique, l'échographie de contraste est admise comme un moyen efficace de surveillance des lésions hépatiques traitées par radiofréquence. Là encore,



aucune étude ne s'est avérée être ininterprétable en raison de difficultés techniques insurmontables. Cependant, tous les examens ont été réalisés par le Pr Jean-Michel Correas, dont l'expérience de l'échographie de contraste rénale est extrêmement importante, ce qui peut constituer un biais. La concordance inter-observateur pour l'échographie de contraste dans cette étude était très bonne, quoique inférieure à celle du scanner. La sensibilité de tous les examens pour la détection du reliquat tumoral était meilleure à six semaines que le lendemain de la radiofréquence. La sensibilité de l'échographie de contraste était inférieure à celle du TDM/IRM, en revanche sa spécificité était excellente et même supérieure à celle des deux autres examens. Certains centres réalisent des examens de contrôle le lendemain de la radiofréquence, d'autres attendent six semaines. Il est intéressant de noter que la sensibilité de l'échographie de contraste réalisée six semaines après la radiofréquence était comparable à la sensibilité du scanner/IRM réalisé le lendemain de la radiofréquence. Les limites de l'échographie de contraste dans cette étude par rapport au scanner étaient la détection des petites lésions, infra centimétriques, des tumeurs visibles au temps néphrographique et non pas artériel de l'injection, des tumeurs haut situées par rapport aux marges du territoire traité ou profondes. L'exploration adéquate de ces territoires de radiofréquence implique un balayage échographique dans tous les plans de l'espace, minutieux, et la recherche d'une fenêtre acoustique adaptée. L'imagerie fonctionnelle de perfusion quantitative de ces territoires radiofréquencés apparaît donc impossible, compte-tenu des difficultés techniques importantes, de la petite taille des lésions, de leur position souvent profonde et périphérique.

3. Pour l'étude précédente, j'ai sélectionné et classé les boucles des échographies de contraste des examens des tumeurs rénales avant la radiofréquence. Nous avons profité de cette base de données cumulée à celles des échographies de contraste réalisées chez des patients porteurs de

tumeurs rénales avant traitement chirurgical ou avant embolisation pour initier une étude, et encadrer un interne de l'hôpital Necker, en collaboration avec Jean-Michel Correas.

Par ailleurs, la mise à notre disposition d'un logiciel de quantification d'échographie de contraste (Sonotumor<sup>®</sup>, Bracco Research, Genève) intégrant la compensation du mouvement nous a permis de développer la méthodologie de cette étude.

Le développement de l'imagerie médicale a permis une meilleure détection des tumeurs rénales asymptomatiques ces dernières années et la prise en charge de ces lésions a, elle aussi, beaucoup évolué. Le dépistage de ces tumeurs repose sur l'échographie-doppler, qui est peu performant en matière de caractérisation tissulaire. L'imagerie en coupes de référence (TDM et IRM avec étude du rehaussement tumoral) est plus performante mais présente des limites, d'où un taux d'environ 20 %, selon les différentes séries chirurgicales, de tumeurs opérées qui s'avèrent être bénignes. Ces tumeurs bénignes sont les oncocytomes et les angiomyolipomes. La caractérisation bénin/malin pour éviter des chirurgies inutiles et celui de la caractérisation en sous-types tumoraux pour le pronostic et le traitement est un enjeu important de l'imagerie. Nous nous sommes proposés d'étudier l'apport de l'échographie de contraste, en tant qu'imagerie fonctionnelle de perfusion, à la fois qualitativement et quantitativement pour affiner cette caractérisation. Ayant compris l'importance du phénomène d'atténuation grâce à notre étude expérimentale, nous avons décidé de quantifier, outre la perfusion de la tumeur rénale, celle du parenchyme cortical adjacent à la tumeur. Les rapports entre les différents paramètres de perfusion issus de la tumeur et du cortex ont été calculés. Les études effectuées jusqu'à présent sur la caractérisation des tumeurs rénales ne comportent que très peu de lésions bénignes. Il est bien entendu très difficile de disposer d'une population représentative de l'ensemble des tumeurs rénales étudiées. Les résultats de ces différentes études ne sont pas toujours concordants, ce qui illustre la subjectivité de l'étude visuelle, très dépendante de l'expérience de l'opérateur et qui souligne l'intérêt d'une quantification (Roy, 2008 ; Fan,

2008). Une étude de ce type mais portant sur des tumeurs hépatiques et avec une analyse quantitative ne portant que sur l'échelle des niveaux de gris a déjà été réalisée (Quaia, 2006).

Les questions posées auxquelles nous voudrions répondre dans cette étude sont les suivantes :

L'étude de la perfusion tumorale visuelle et/ou quantitative grâce au nouveau logiciel disponible peut-elle constituer une aide efficace au diagnostic ? Quelle peut être sa place par rapport aux méthodes d'imagerie en coupes de référence ?

Le protocole que nous avons établi se décline comme suit :

## Protocole

### 1. Population

Etude rétrospective- accord du comité d'éthique demandé-

Critères d'inclusion: Patients adressés pour bilan avant radiofréquence, chirurgie ou embolisation ayant bénéficié d'une échographie de contraste, entre décembre 2005 et mars 2009. L'échographie de contraste doit comporter une étude en mode THI, une étude en mode doppler couleur, et enfin une lésion tumorale examinée en échographie de contraste avec certaines précautions (sonde maintenue stable en regard de la lésion en gardant dans le plan de l'image une portion de rein normal pour évaluer le rehaussement comparatif du cortex adjacent à la tumeur). Corrélation histologique disponible, par chirurgie ou par biopsie, sauf dans les cas de cancers familiaux, de maladie de Von Hippel Lindau, d'angiomyolipomes typiques en scanner.

Critères d'exclusion : Qualité de la modélisation mathématique obtenue à partir de la région d'intérêt sur le cortex adjacent à la tumeur ou sur la tumeur <75 %. Arrivée du bolus bien enregistrée.

L'étude a été réalisée sur 110 patients (60 femmes et 50 hommes) porteurs de 120 tumeurs

### 2. Méthodes

#### Echographie

Examens d'échographie de contraste réalisés sur une machine commerciale (Aplio XV.XG, Toshiba, Japan) équipée d'un logiciel spécifique d'imagerie en temps réel des agents de contraste de deuxième génération.

Chaque examen comporte trois phases : une phase d'étude de la lésion en échelle de gris mode harmonique tissulaire (THI), une étude en mode doppler couleur, et une échographie de contraste réalisée avec le mode contraste par soustraction d'impulsion à bas index mécanique et à puissance acoustique faible. 2.4 ml de Sonovue<sup>®</sup> sont injectés dans une veine du pli du coude sous forme de bolus pulsé par du sérum physiologique (suspension obtenue après reconstitution de lyophilisat à l'aide de 5 ml de sérum physiologique). Cadence images de 15 à 19 images /seconde pour une étude en temps réel. Mode double image permettant à la fois l'affichage de l'information tissulaire en échelle de gris et de l'information contraste. Des boucles dynamiques de 20 à 60 secondes selon la capacité d'apnée du patient ont été enregistrées sur une période de 180 secondes évaluant la prise et l'élimination du contraste aux temps cortical, médullaire et tardif.

Des boucles de ces trois temps d'étude sont sélectionnées, sauvegardées en données brutes (Raw data), aux formats DICOM et AVI.

## Interprétation et analyse

### Analyse Qualitative

En mode B : La boucle en échelle de gris permet l'analyse des deux plus grands diamètres, de l'échogénicité par rapport au parenchyme adjacent (iso, hypo ou hyperéchogène), de son caractère homogène ou non, de la présence d'un halo périphérique hypoéchogène supérieur à 50 % de la périphérie de la tumeur. La boucle en mode doppler couleur permet une classification selon la présence et la position des vaisseaux : 0= pas de vaisseaux, 1= vaisseaux périlésionnels, 2= vaisseaux intra tumoraux, 3= vaisseaux périphériques et intra

tumoraux. En échographie de contraste, les boucles après injection de Sonovue® permettent l'appréciation visuelle du caractère iso, hypo ou hyperéchogène de la tumeur par rapport au cortex adjacent avant injection puis après injection aux temps cortical (20/30 sec), médullaire (60 sec), tardif (120 sec). Analyse réalisée par deux radiologues expérimentés, de façon indépendante.

#### Analyse Quantitative

A distance de l'examen, le traitement des boucles vidéo sur PC externe utilise le logiciel image Lab (Toshiba, Nasu) pour la quantification de l'intensité du signal en échelle de gris et le logiciel Sono Tumor 2.6.0 ou 27.6 (Bracco Research, Genève) pour la quantification de la perfusion et l'imagerie paramétrique.

En mode B : L'intensité de signal de la tumeur en échelle de gris est calculée ainsi que celle du sinus et du parenchyme adjacent. Le calcul des rapports d'atténuation entre la tumeur et le cortex et entre la tumeur et le sinus sont ensuite calculés

En échographie de contraste : en imagerie paramétrique, après sélection manuelle des segments appropriés de la boucle et éventuelle correction du mouvement, deux régions d'intérêt (ROIs) sont tracées, l'une au niveau de la tumeur et l'autre au niveau du cortex immédiatement adjacent à la tumeur pour s'affranchir des différences d'atténuation du signal en fonction de la profondeur et qui sert de référence. Ces deux ROIs permettent l'obtention de courbes temps/intensité. La cinétique de transit du produit de contraste ultrasonore est modélisée à l'aide de la somme de deux fonctions exponentielles complexes

$(f_1(t) = AUC \times e^{-(\ln(t)-\mu)^2/(2\sigma^2)}/\sigma \sqrt{2\pi} + O)$  avec  $\mu = \ln(mTT) - \sigma^2/2$ . La courbe obtenue à partir de la ROI tumorale permet l'appréciation de paramètres tumoraux semi quantitatifs :

L'aire sous la courbe (AUC) proportionnelle au volume sanguin dans le tissu

Le time to peak (TTP) ou temps écoulé entre le début de la détection du produit et le rehaussement maximum

Le temps de transit moyen (MTT) ou temps nécessaire au contraste pour passer du système artériel vers le système veineux, calculé à la moitié de la hauteur maximale de la courbe

L'index de perfusion (IP) estimant le flux sanguin traversant le tissu étudié calculé en divisant l'AUC par le MTT

La pente de la prise de contraste (WIR) proportionnelle à la vitesse du flux

La pente de décroissance du contraste (WOR)

L'intensité maximale (I max)

Les rapports entre les différentes mesures obtenues sont appelés rAUC, rTP, rIP, rMTT, rWIR, rWOR, rImax. Les données sont ensuite sauvegardées et organisées dans un tableau Excel.

Premiers résultats :

Cette analyse rétrospective porte sur 110 patients, 120 tumeurs rénales dont 15 angiomyolipomes, 9 oncocytomes, 61 carcinomes rénaux à cellules claires, 7 carcinomes rénaux chromophobes, 22 carcinomes rénaux tubulo-papillaires et 6 métastases. Leur plus grand diamètre moyen est de 29 mm.

Les premières analyses de la base de données nous montrent que, en dépit de l'expérience extrêmement importante de l'opérateur qui connaît les écueils à éviter pour obtenir des acquisitions propres à la quantification, 20 % des acquisitions d'échographie de contraste ne sont pas exploitables, en raison de mouvements respiratoires, du délai variable d'arrivée du bolus, alors même que l'étude visuelle qualitative reste interprétable. Les méthodes de recalage existantes et celle utilisée dans ce logiciel font l'hypothèse d'un mouvement s'effectuant uniquement dans le plan d'acquisition. Or, dans des acquisitions in vivo, le mouvement est généralement tridimensionnel, alors que l'acquisition est bidimensionnelle.

Fan, L., Lianfang, D., Jinfang, X., Yijin, S., Ying, W. (2008). Diagnostic efficacy of contrast-enhanced ultrasonography in solid renal parenchymal lesions with maximum diameters of 5 cm. *J Ultrasound med*, 27: 875-85.

Lucidarme, O., Franchi-Abella, S., Correas, J. M., Bridal, S. L., Kurtisovski, E., and Berger, G. (2003). Blood flow quantification with contrast-enhanced US: "entrance in the section" phenomenon-phantom and rabbit study. *Radiology*, 228:473-9.

Quaia, E., Palumbo, A., Rossi, S., Degobbis, F., Cernic, S., Tona, G., and Cova, M. (2006). Comparison of visual and quantitative analysis for characterization of insonated liver tumors after microbubble contrast injection. *AJR Am J Roentgenol*, 186: 1560-70.

Quaia, E., Nocentini, A., Torelli, L. Assessment of a new mathematical model for the computation of numerical parameters related to renal cortical blood flow and fractional blood volume by contrast-enhanced ultrasound. *UMB*, 2009, 35 : 616-27.

Roy, C., Gengler, L., Sauer, B. and Lang, H. Role of contrast-enhanced US in the evaluation of renal tumors. (2008). *J Radiol* ; 89: 1735-44.

Wei, K., Jayaweera, A.R., Firoozan, S., Linka, A.; Skyba, D.M., and Kaul, S. (1998). Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation*, 97: 473-83.

# CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le développement d'une imagerie fonctionnelle ultrasonore est envisageable depuis l'apparition de nouveaux moyens technologiques et pharmaceutiques. L'imagerie fonctionnelle a pour but l'évaluation, qu'elle soit qualitative ou quantitative, de la microcirculation tissulaire, qui permet de caractériser les tissus ischémiques ou pathologiques et d'évaluer différents moyens thérapeutiques. Les produits de contraste utilisés sont à base de microbulles gazeuses mesurant 1 à 10  $\mu\text{m}$  de diamètre. Ils ont une distribution intravasculaire stricte et sont donc des traceurs potentiels de la perfusion sanguine. Ils représentent une classe originale de produits de contraste dont l'effet sur l'image est complexe. Cet effet résulte d'interactions entre l'augmentation de l'énergie rétrodiffusée, l'atténuation du faisceau ultrasonore et la destruction des microbulles soumises à l'onde de pression ultrasonore. Lorsque les microbulles sont soumises à un faisceau ultrasonore, elles génèrent une réponse harmonique consécutive à leur oscillation ou à leur destruction. Cette réponse harmonique peut être enregistrée grâce à des modes d'imagerie dédiés qui permettent une détection



spécifique des microbulles même lorsqu'elles sont situées dans la microcirculation. La possibilité, que seule l'échographie possède, de pouvoir détruire les microbulles à l'aide du faisceau ultrasonore chargé de les observer permet de développer une variété de techniques d'imagerie fonctionnelles basées sur le principe de la destruction-reperfusion. Ce principe consiste à détruire l'ensemble des microbulles situées dans un plan de coupe puis à observer le retour des bulles dans ce même plan. Le modèle classiquement proposé dans la littérature suggère qu'après destruction complète des microbulles, les courbes de la reperfusion, *in vivo*, obéissent à une fonction exponentielle croissante vers un plateau. Dans ce cas, le plateau est proportionnel au nombre de bulles présentes et donc à la fraction de volume sanguin de la région étudiée. La pente de la courbe de rehaussement est proportionnelle à la fraction du volume sanguin remplacée par seconde dans cette région.

Mais nous avons vu que la concentration initiale du produit de contraste ultrasonore n'est pas connue avec précision et que sa distribution en taille n'est pas stable dans le temps ni reproductible d'un examen à l'autre. Pour limiter la variabilité de la concentration de l'agent de contraste, nous avons proposé une méthode permettant de prendre en compte l'entrée artérielle et l'avons validée sur un modèle de rein porcin *ex vivo*. Le choix du modèle *ex vivo* était fondé sur la nécessité d'un contrôle parfait du débit réel de perfusion. Toutes les méthodes de mesure du débit de perfusion (microsphères marquées, mesure par sonde d'échodoppler du débit etc...) présentent en effet un pourcentage d'erreur important (de 20 à 50 %). Nous avons normalisé la perfusion tissulaire estimée par l'intensité moyenne du signal obtenu au niveau de l'entrée artérielle (artère segmentaire intrarénale) avant destruction des microbulles. L'exploitation de cette méthode a amélioré considérablement la pertinence des paramètres fonctionnels estimés et a permis de limiter la non connaissance de la concentration injectée. Notre étude a également souligné l'influence d'autres facteurs sur l'estimation des paramètres de la microcirculation, au premier rang desquels le phénomène d'atténuation, et la

nécessité de corriger cette atténuation. Il aurait cependant fallu faire une étude dose-effet avant l'expérimentation de façon à mieux cerner la dose de produit de contraste à utiliser de façon à minimiser l'atténuation tout en tenant compte de la faible sensibilité de la sonde utilisée au produit de contraste. Il serait également intéressant de faire cette étude avec une randomisation des débits de perfusion.

L'imagerie ultrasonore fonctionnelle quantitative de contraste trouve sa place *in vivo* dans des modèles de pathologie induite chez le petit animal, pour lesquels l'atténuation en profondeur générée par les tissus biologiques et surtout par les microbulles elles mêmes, sont plus faciles à rendre négligeables, ou dans l'étude de la perfusion relative des organes superficiels chez l'homme (tumeurs superficielles, parenchyme cérébral, greffon rénal, myocarde). Même s'il est possible d'effectuer des études quantitatives de la variation relative de la perfusion tissulaire au cours du temps ou d'un traitement, de nombreux progrès restent à faire avant de pouvoir envisager le développement d'une imagerie de contraste ultrasonore quantitative absolue. Un article récent (Ignee, 2009) souligne d'ailleurs l'absence actuelle de méthodologie validée et standardisée pour une analyse fiable et reproductible des courbes de cinétique en échographie de contraste, et conclut à l'importance d'analyser les courbes temps-intensité obtenues à partir de régions d'intérêt situées à une profondeur équivalente, en l'occurrence du foie, notamment pour limiter la variabilité liée à l'atténuation.

L'application clinique de cette thèse a donc concerné l'évaluation qualitative et non quantitative, fournie par cette technique d'imagerie fonctionnelle. Dans mes publications de revue générale (chapitre 3), j'ai analysé la valeur et la place de l'échographie de contraste pour l'étude qualitative de la microcirculation abdominale, soulignant les avantages démontrés dans des études bibliographiques. L'échographie de contraste est en effet un examen non irradiant, dépourvu de toxicité rénale, de relativement faible coût, avec une excellente résolution temporelle et une bonne résolution spatiale, permettant une imagerie en

temps réel de la dynamique de captation et de lavage du produit de contraste par les tissus. J'ai utilisé ces caractéristiques pour les appliquer et mener à bien deux études de recherche clinique visant à évaluer les performances de l'échographie de contraste abdominale pour la détection tumorale. Le but de la première étude, prospective, était d'évaluer l'échographie de contraste pour la détection des métastases hépatiques de tumeur carcinoïde, par rapport à l'échographie en mode B et en prenant comme référence l'association des résultats de l'IRM, de la biopsie à l'aiguille fine et du suivi. La détection des métastases de tumeur carcinoïde repose à la fois sur leur caractère hypervasculaire au temps artériel de l'injection de produit de contraste ultrasonore et sur leur nature hypovasculaire au temps tardif de l'injection, comparativement au parenchyme hépatique sain. La sensibilité de l'échographie de contraste dans notre étude était très élevée, nettement supérieure à celle de l'échographie, équivalente à celle de l'IRM, avec une netteté et une délimitation des lésions bien supérieure en échographie de contraste par rapport à l'échographie conventionnelle. Cette étude a néanmoins mis en évidence une des limites de l'échographie, à savoir la difficulté d'analyse de certains territoires d'accès difficile, en l'occurrence les zones sous diaphragmatiques. Ces valeurs élevées de sensibilité concordent avec ce qui est habituellement rapporté dans la littérature à propos de la détection des métastases de cancer colorectal.

L'expérience acquise grâce à cette première étude nous a permis de mener à bien la deuxième étude de cette thèse, portant sur 66 tumeurs rénales traitées par radiofréquence chez 43 patients, premier travail prospectif dans la littérature évaluant l'apport diagnostique de l'échographie de contraste pour le suivi de ces traitements, par rapport au couple scanner/IRM, et en prenant comme référence le suivi à long terme par scanner et/ou IRM. Nous avons démontré que les deux modalités d'imagerie (échographie de contraste et scanner) étaient plus performantes à six semaines que 24 h après le traitement. L'échographie de contraste réalisée 24 h après le traitement par radiofréquence avait des performances

limitées pour la détection du reliquat tumoral, en partie en raison d'une résolution spatiale inférieure à celle du scanner multibarettes et de la difficulté de visualisation de certains territoires. Les performances de l'échographie de contraste auraient pu être supérieures si un apprentissage des relecteurs à l'échographie de contraste dans cette pathologie précise, sur un certain nombre de dossiers, avait été réalisé au préalable. Par ailleurs, les relecteurs ne disposaient que d'un enregistrement pour chaque phase du rehaussement, dans un seul plan, ce qui était sûrement insuffisant. Le diagnostic « sur site » de l'expert ne s'est cependant pas révélé bien supérieur à celui des relecteurs. Une des limites de l'échographie de contraste par rapport au scanner dans cette étude était également de ne pas fournir d'informations à la phase néphrographique, la détection du reliquat tumoral étant basée essentiellement sur un rehaussement, le plus souvent, fugace, à un temps artériel. Les faux négatifs de l'échographie de contraste, outre les très petites lésions (4 et 8 mm), concernaient volontiers des reliquats périphériques, situés à la partie toute supérieure des territoires de radiofréquence, eux-mêmes aux pôles supérieurs du rein. Les lésions très profondes et internes étaient également difficiles à évaluer. Cette étude a montré une très bonne concordance interobservateur, avec trois reviewers et un avis « on site », de l'échographie de contraste, même si celle du scanner lui était un peu supérieure. Ceci est important dans la mesure où le reproche souvent fait à l'échographie de contraste est d'être une technique opérateur-dépendante.

Enfin, en visualisant les boucles d'échographie de contraste des tumeurs rénales pour la deuxième étude, et en observant les courbes de cinétique extraites à partir de régions d'intérêt placées sur les tumeurs et le cortex, il nous est apparu intéressant d'évaluer si l'analyse quantitative des tumeurs rénales pouvait fournir des arguments diagnostiques supplémentaires par rapport à l'analyse qualitative habituelle en terme de caractérisation tissulaire. Parallèlement, nous avons disposé d'un logiciel de quantification intégrant la compensation du mouvement. Nous avons développé la méthodologie de cette étude et sommes en cours

d'analyse des cinétiques et des données. Cette méthodologie inclut la prise en compte d'une référence interne que constitue une région d'intérêt située sur le cortex rénal sain adjacent à la tumeur rénale de façon notamment à pallier le phénomène d'atténuation. La population étudiée (qui inclut entre autres les tumeurs radiofréquences) est très importante et représentative du spectre des tumeurs rénales, même si le nombre des tumeurs bénignes reste insuffisant pour une puissance optimale des tests statistiques. Les premières analyses de la base de données nous montrent que, en dépit de l'expérience extrêmement importante de l'opérateur qui connaît les écueils à éviter pour obtenir des acquisitions propres à la quantification, 20 % des acquisitions d'échographie de contraste ne sont pas exploitables dans cette optique précise.

### **Perspectives**

A partir des résultats et des limites des études cliniques que nous avons comprises, nous allons étendre les applications cliniques de l'échographie de contraste en nous appuyant sur des collaborations locales dans les domaines de l'hépatogastro-entérologie. En particulier, nous débutons une étude dans le cadre d'un protocole de recherche clinique multicentrique dont le but est d'évaluer l'échographie de contraste et l'entéro-IRM dans le cadre de la maladie de Crohn du grêle avec une sténose iléale symptomatique. Le but est de rechercher des critères prédictifs de l'échec du traitement par anti-TNF. Les premières discussions ont porté sur l'intérêt d'une évaluation quantitative du degré de l'inflammation des lésions observées, que ce soit en IRM de diffusion ou grâce aux logiciels de quantification disponibles en échographie de contraste. La quantification de la vascularisation de la paroi du grêle paraît difficilement reproductible dans la mesure où, en fonction de la localisation de l'atteinte, la paroi à analyser peut se situer très en profondeur.

Nous avons mis en évidence les difficultés d'analyse de certains territoires, de la périphérie du territoire de radiofréquence en échographie de contraste en particulier. La détection des reliquats tumoraux, situés en général en périphérie des territoires traités bénéficierait vraisemblablement des développements actuels de l'échographie de contraste 3D/4D. La faisabilité de l'échographie de contraste tridimensionnelle dans le suivi des lésions hépatiques traitées par radiofréquence vient d'ailleurs d'être rapportée dans la littérature (Leen, 2009). Une évaluation des acquisitions d'échographie de contraste 3D/4 D sur des tumeurs rénales ou hépatiques traitées par radiofréquence au CHU de Necker comme à Reims, en collaboration avec le laboratoire du Pr Lucas, serait donc intéressante. L'analyse des processus de déconvolution utilisés serait également intéressante de façon à mieux comprendre la chaîne de traitement appliquée au signal radiofréquence et à optimiser la quantification.

Une autre perspective de recherche clinique serait de comparer la valeur de l'échographie de contraste pour la détection du reliquat tumoral après radiofréquence à l'IRM, dont les performances pour la détection du reliquat tumoral ne sont pas vraiment connues. En effet, l'IRM est utilisée en alternance au scanner en cas d'insuffisance rénale et ses performances pour la détection du reliquat tumoral, dans les séries publiées, sont assimilées à celles du scanner. Or, d'après notre expérience, sa résolution spatiale paraît inférieure à celle du scanner et son interprétation est souvent gênée par la présence de remaniements hémorragiques en hypersignal T1. Il serait également intéressant de comparer échographie de contraste, dans ce contexte, comme dans celui de la recherche de métastases, à une autre technique d'imagerie fonctionnelle en plein essor qu'est l'IRM de diffusion, et dont on connaît depuis peu les performances supérieures pour la détection des lésions secondaires hépatiques par exemple.

Nous avons remarqué au cours du travail expérimental que les cinétiques de reperfusion obtenues dans le cortex antérieur avaient une allure plus linéaire que celles obtenues dans le

cortex postérieur, avec un ajustement par un modèle sigmoïde de premier ordre qui paraît plus adapté que le modèle exponentiel. Une évaluation sur toutes les acquisitions de l'apport de ce modèle (modèle sigmoïde de premier ordre voire d'ordre complexe) est donc une perspective à envisager, dans la continuité de ce premier travail.

Quelque soit la technique d'imagerie en coupes, des logiciels dédiés à l'étude des séquences d'imagerie fonctionnelle de perfusion apparaissent actuellement pour effectuer ces analyses. Il s'agit soit de logiciels inclus dans les stations de travail des constructeurs, soit de logiciels développés dans les laboratoires de recherche. Les protocoles d'acquisition et d'analyse des données sont encore très hétérogènes, et leur reproductibilité n'est pas encore assurée. Pour envisager une utilisation de l'échographie de contraste en tant qu'outil de quantification d'usage clinique, il est nécessaire de disposer d'une méthode fiable, robuste et standardisée.

A cet égard, certains auteurs (Lassau, 2007, 2008) insistent sur la nécessité, pour une quantification précise de la microcirculation en échographie de contraste, de traiter les données brutes et non pas les données DICOM ou AVI. L'accès aux raw data n'est cependant pas possible sur tous les appareils échographiques et le travail sur ces données implique de grosses capacités informatiques puisque les boucles AVI sont en général cinq fois moins lourdes que les données DICOM et 20 fois moins que les données brutes.

Tous les paramètres, cependant, en théorie, ne seraient pas influencés par la compression, mais seulement l'aire sous la courbe, l'indice de perfusion et l'intensité maximale (Verbee, 2001).

Une étude comparative des paramètres de perfusion obtenus sur des données brutes et sur des données DICOM n'a jamais été réalisée et s'impose, ce d'autant que l'accès aux données brutes n'est pas fourni par tous les constructeurs et que le traitement des données brutes implique de grosses capacités informatiques, en terme de stockage notamment.

Pour réaliser cette étude, une quarantaine d'acquisitions d'échographie de contraste rénales pathologiques (tumeurs rénales superficielles) ont été acquises et sauvegardées à la fois en données brutes et en données DICOM et AVI. Nous travaillons sur l'optimisation du logiciel utilisé dans cette thèse et développé par le Dr Mulé, pour qu'il puisse traiter simultanément à partir d'une région d'intérêt les trois boucles d'échographie de contraste RAW, DICOM et AVI. Ce travail implique nécessairement un recalibrage dans le temps, et la superposition des régions d'intérêt à l'identique. Ces deux étapes sont pour l'instant réalisées manuellement. Les courbes de cinétique seront calculées en unités linéaires et en décibels.

Une fois les paramètres de la perfusion extraits des cinétiques obtenues à partir des régions d'intérêt placées sur le cortex rénal et sur la tumeur, nous comparerons les paramètres de la perfusion obtenus, intrinsèques et relatifs (par rapport à une ROI de référence représentée par le cortex rénal sain adjacent). La cinétique de transit du produit de contraste ultrasonore sera modélisée à l'aide de la somme de deux fonctions exponentielles complexes ( $f_1(t) = AUC \times e^{-\frac{(\ln(t)-\mu)^2}{2\sigma^2}} / \sigma t \sqrt{2\pi} + O$ ) avec  $\mu = \ln(mTT) - \sigma^2/2$ . Les mêmes paramètres (ou rapport de paramètres) que ceux détaillés dans la méthodologie de l'étude sur la caractérisation des tumeurs rénales seront comparés de façon à savoir s'il existe vraiment une différence entre les paramètres de la perfusion calculés à partir des acquisitions enregistrées en données brutes par rapport à ceux obtenus à partir des acquisitions en données DICOM, et sur quels paramètres porte plus particulièrement cette différence éventuelle.

L'imagerie ultrasonore de contraste présente de nombreux avantages que les autres techniques d'imagerie ne possèdent pas. L'utilisation des techniques de mesure fonctionnelles par ultrasonographie de contraste nécessite une bonne connaissance de tous les paramètres physiques et physiologiques qui interagissent entre eux. L'amélioration constante des logiciels offrira une analyse plus simple et plus robuste de la microcirculation et l'homogénéisation des pratiques et des paramètres extractibles permettra dans le futur une meilleure utilisation en



routine. Certains points tels que la compensation de l'atténuation restent en effet à optimiser. Mais les observations qualitatives ou semi-quantitatives chez l'homme ainsi que les études quantitatives effectuées chez le petit animal permettent d'espérer dans un avenir proche un outil d'évaluation non invasif des pathologies et des thérapeutiques.

Ignée, A., Jedreczyk, M., Schuessler, G., and Jabukowski, W. (2009). Quantitative contrast enhanced ultrasound in the liver for time intensity curves-Reliability and potential sources of errors. *Eur J Radiol* epub ahead of print

Lassau, N., Brule, A., Chami, L., Benatsou, B., Péronneau, P., Roche, A. (2008). Evaluation précoce des traitements anti-angiogéniques par échographie dynamique de contraste. *J Radiol*, 89 : 549-55.

Lassau, N., Chami, L., Benatsou, B., Péronneau, P., Roche, A. (2007). Dynamic contrast-enhanced ultrasonography (DCE-US) with quantification of tumor perfusion: a new diagnostic tool to evaluate the early effects of antiangiogenic treatment.

Lavisse, S., Lejeune, P., Rouffiac, V., et al. (2008). Early quantitative evaluation of a tumor vasculature disruptive agent AVE8062 using dynamic contrast-enhanced ultrasonography. *Invest Radiol*, 43: 100-111.

Leen, E., Kumar, S., Khan SA., Low G., Ong, KO., Tait, P., and Averkiou, M. (2009). Contrast-enhanced 3 D ultrasound in the radiofrequency ablation of liver tumors. *World J Gastroenterol*, 15: 289-99.

Verbeek, XA., Willigers, JM. Prinzen, FW., et al. (2001) High-resolution functional imaging with ultrasound contrast agents based on RF processing in an vivo kidney experiment. *Ultrasound Med Biol*, 27: 223-33.

# ANNEXES

## Liste des publications

### Publications dans des revues indexées à comité de lecture

Ladam-Marcus V, Mac G, Job L, Piot-Veron S, Marcus C, Hoeffel C.

Performances de l'échographie de contraste en pathologie hépatique: revue de la littérature  
Journal de Radiologie 2009 ; 90: 93-108.

Hoeffel C, Job L, Ladam-Marcus V, Vitry F, Cadiot G, Marcus C.

Detection of liver metastases from carcinoid using contrast-enhanced ultrasound  
Dig. Dis. Science 2009, 54: 2040-6.

Marcus CD, Ladam-Marcus V, Cucu C, Bouché O, Lucas L, Hoeffel C. Imaging techniques to evaluate the response to treatment in oncology : current standards and perspectives. Crit Rev Oncol Hematol 2008, Aug 28, epub ahead of print

Hoeffel C, Mulé S, Romaniuk B, Ladam-Marcus V, Bouché O, Marcus C. Advances in radiological imaging of gastrointestinal tumors. Crit Rev Oncol Hematol 2009, 69: 153-67

Hoeffel C, Mulé S, Huwart L, Frouin F, Jais JP, Helenon O, Correas JM. A new method to improve renal blood flow quantification using contrast-enhanced ultrasound. Soumis à Ultraschall Med.

Hoeffel C, Pousset M, Helenon O, Elie C, Timsit MO, Tranquart F, Merran S, Khairoune A, Méjean A, Correas JM. Radiofrequency ablation of renal tumors: diagnostic accuracy of contrast-enhanced ultrasound for early detection of postprocedural residual tumor. Accepté dans European Radiology sous réserve de modifications mineures.

### **Abstracts publiés dans des revues à comité de lecture**

Hoeffel C, Mulé S, Huwart L, Kamiyama N, Herment A, Correas JM.

Quantification automatisée de la perfusion rénale ex vivo en échographie de contraste

Journées Françaises de Radiologie, Paris, 2007

Journal de Radiologie, 2007, 88 : 1378.

Mulé S, Hoeffel C, Huwart L, Kamiyama N, Herment A, Correas JM

Quantification of renal perfusion using contrast-enhanced ultrasound

91 th annual meeting of the radiological society of north america, Chicago, 2007

Radiology supp, p 622

Hoeffel C, Hélénon O, Tranquart F, Méjean A, Khairoune A, Correas JM.

Ultrasound and contrast-enhanced ultrasound in the management and follow-up of

percutaneous radiofrequency ablation of renal tumours. European congress of Radiology,

Vienne, March 2009

Hoeffel C., Khairoune A, Mejean A, Helenon O, Correas JM.

Echographie de contraste et tumeurs rénales traitées par radiofréquence. Journées Françaises de Radiologie, Paris, octobre 2008.

Hoeffel C, Pousset M, Helenon O, Elie C, Timsit MO, Tranquart F, Merran S, Khairoune A, Méjean A, Correas JM.

Echographie de contraste et detection précoce du reliquat tumoral après radiofréquence des tumeurs rénales. Journées Françaises de Radiologie, Paris, octobre 2009.

Hoeffel C, Pousset M, Helenon O, Elie C, Timsit MO, Tranquart F, Merran S, Khairoune A, Méjean A, Correas JM.

Radiofrequency ablation of renal tumors: diagnostic accuracy of contrast-enhanced ultrasound for early detection of residual tumor. 93 rd annual meeting of the radiological society of north america, Chicago, 2009

### **Conférences invitées**

Hoeffel C, Correas JM. Echographie de contraste et tumeurs rénales traitées par

radiofréquence. Société d'imagerie ultrasonore, Lyon, oct 2008.

## Résumé en Français

Ce travail a pour but d'étudier le potentiel de l'imagerie fonctionnelle ultrasonore de contraste (Ifus) viscérale abdominale, qualitative et quantitative. Trois grands axes de recherche sont abordés:

- Le premier axe consiste à démontrer à partir d'une étude ex vivo sur un modèle porcin que l'évaluation quantitative de la perfusion rénale par échographie de contraste est significativement améliorée par une prise en compte de l'intensité du signal au niveau d'une entrée artérielle. Néanmoins, d'autres paramètres sont à prendre en compte pour assurer la reproductibilité des mesures de la perfusion tissulaire, principalement le phénomène d'atténuation du faisceau ultrasonore par les microbulles de contraste.
- Le deuxième thème consiste à préciser la valeur de l'Ifus abdominale pour la détection tumorale. La première étude rapporte des performances diagnostiques de l'échographie de contraste comparables à celles de l'imagerie par résonance magnétique pour la détection de métastases hépatiques de tumeurs carcinoïdes. La deuxième étude démontre l'intérêt, notamment en termes de spécificité et de valeurs prédictives, de l'échographie de contraste pour la détection précoce du reliquat tumoral après traitement par radiofréquence percutanée des tumeurs rénales, par rapport aux modalités d'imagerie de référence.
- Le troisième thème concerne l'intérêt de la quantification par échographie de contraste de la perfusion de tumeurs rénales pour le diagnostic de malignité et la caractérisation tissulaire de ces tumeurs.

L'échographie de contraste présente des avantages uniques : faible coût, absence d'irradiation et de toxicité rénale, et excellente résolution temporelle. L'Ifus requiert cependant encore des améliorations et une standardisation pour une bonne reproductibilité et une utilisation clinique. Elle peut néanmoins procurer des informations quantitatives sur la microcirculation qui nécessitent d'être corrélées à celles obtenues avec d'autres méthodes d'imagerie fonctionnelle.

## Titre en Anglais: Qualitative and quantitative assessment of abdominal organs perfusion using contrast-enhanced ultrasound.

### Résumé en anglais:

The aim of this work was to study the potential for contrast-enhanced functional ultrasound imaging (Cefui) to assess the abdominal microcirculation, according to three major axes of research:

- The first axis consisted in proposing and validating a new method improving non invasive contrast-enhanced renal blood flow measurements, using the mean signal intensity in a feeding artery in order to normalize contrast-enhanced renal blood flow estimation. However, while these ex vivo results suggest that this technique has great potentials, other parameters, mainly ultrasound beam attenuation, must be taken into account to obtain reproducible measurements.
- The second axis consisted in evaluating qualitative abdominal Cefui for tumoral detection. For the detection of liver metastases from carcinoid tumor, the first study reports sensitivity values for contrast-enhanced ultrasound similar to those obtained with enhanced computed tomography. The second study demonstrates that Cefui provides high specificity and predictive values for the early detection of residual tumor after radiofrequency ablation of renal tumors even though its sensitivity remains lower than that of contrast-enhanced CT.
- The third axis deals with added diagnostic value in terms of characterization of renal tumors of quantitative assessment of tumor perfusion compared to that of qualitative analysis.

Abdominal Cefui has unique advantages including low cost, availability, absence of renal toxicity and radiation, and excellent temporal resolution. However, it still requires improvements and standardization to be reproducible and be transferred to the clinical setting. It may somehow yield quantitative information with respect to abdominal organs microcirculation. Further studies correlating Cefui results with those of other functional imaging methods are needed.

## Mots clés: Ultrasons, Produits de contraste, Imagerie fonctionnelle, Perfusion, Microbulles