

L'ECOGRAFIA E IL COLOR DOPPLER IN NEFROLOGIA. TECNOLOGIE E APPLICAZIONI ECOGRAFICHE

Mario Meola¹, Ilaria Petrucci², Chandra Bortolotto³, Luisa Carone³

¹Scuola Superiore S. Anna, Pisa

²U.O. Nefrologia Universitaria, Dipartimento di Medicina Interna, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Pisa

³Istituto di Radiologia, Policlinico San Matteo - Università degli Studi di Pavia, Pavia

Ultrasound and color doppler in nephrology. Technology and applications

Advances in digital technology in the last decades have led to a fast development of ultrasound technology. Ultrasound information originating from stationary structures or red blood cells moving into the vessels can be visualized with different imaging modalities. Conventional B-mode sonography provides anatomical details based on acoustic impedance differences. Gray-scale sonography represents the structural echoes as brightness points. Based on the Doppler effect, vascular scattering can be represented as spectral wave velocity depending on time (velocity/time curve), or as dual-scale color mapping depending on the changes in average blood velocity. The flow-in is depicted in red and the flow-out in blue. The analysis of the vascular scattering enhanced by infusion of contrast agents is the basis of contrast-enhanced harmonic imaging. The perfusional pattern of tissues allows the differential diagnosis of expansive lesions. Tissue strain analysis provides a new dimension of diagnostic information. It is used in elastographic imaging to describe relative physical tissue stiffness properties. Tissue stiffness information is complementary to and independent of the acoustic impedance information provided by B-mode imaging as well as the vascular flow information provided by Doppler imaging. Adjacent tissue elements may appear identical using conventional B-mode or Doppler imaging. When stress (axial force) is applied to tissues, they show different degrees of deformation. Comparing the baseline and stress image information, each tissue element may be labeled by its relative stiffness. A lighter shade indicates relatively soft tissue (elastic), while a darker shade indicates relatively stiff tissue (non-elastic).

Conflict of interest: None

Financial support: None

KEY WORDS:

Doppler applications, Color Doppler, Pulse-wave Doppler, Contrast enhanced ultrasound, Conventional sonography, Elastosonography

PAROLE CHIAVE:

Applicazioni Doppler, Color Doppler, Doppler spettrale, Ecocontrastografia, Ecografia B-Mode, Elastosonografia

Indirizzo degli Autori:

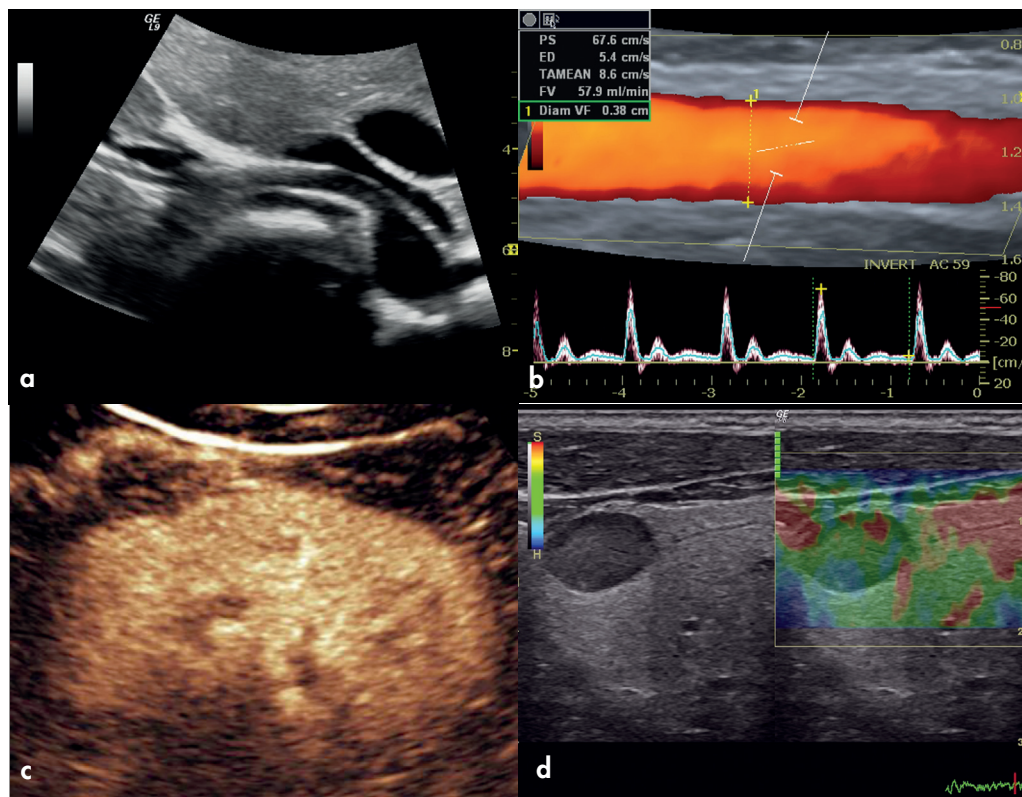
Prof. Mario Meola
Scuola Superiore S. Anna
U.O. Nefrologia Universitaria
Dipartimento di Medicina Interna
Azienda Ospedaliero-Universitaria
Pisana
Via Paradisa 2
56126 Pisa
e-mail: mmeola@int.med.unipi.it

INTRODUZIONE

Negli ultimi decenni, l'inarrestabile crescita della tecnologia digitale ha favorito un rapido sviluppo dell'ecografia. La disponibilità di apparecchiature digitali con alta capacità di calcolo ha permesso un'analisi sempre più raffinata dell'informazione diagnostica del segnale eco e la rappresentazione di questi contenuti con varie modalità di *imaging* (Fig. 1 a, b, c, d). L'ecografia convenzionale fornisce dettagli anatomici legati alla differenza di impedenza acustica fra i vari tessuti. L'analisi dello *scattering* vascolare elabo-

rato in base all'effetto Doppler consente di analizzare le variazioni della velocità di scorrimento del sangue in funzione del tempo. Il Doppler spettrale rappresenta quantitativamente le variazioni di velocità con una curva spettrale in funzione del tempo. Il color Doppler riproduce invece su una scala cromatica basata su due colori fondamentali le variazioni medie della velocità di scorrimento: il flusso in avvicinamento viene codificato in rosso e il flusso in allontanamento in blu. L'analisi dello *scattering* vascolare rinforzato dall'infusione di microbolle o MdC ecografico è alla base

Fig. 1 a, b, c, d. - Contenuti informativi del segnale eco e modalità di rappresentazione dell'immagine. (a) L'ecografia convenzionale in scala di grigi rappresenta i dettagli anatomici analizzando l'impedenza acustica dei vari tessuti. (b) Il Doppler rappresenta l'informazione contenuta nello scattering vascolare, ossia le variazioni di velocità in funzione del tempo. (c) La contrastografia con ecografi analizza il rinforzo del segnale derivante dalle microbolle circolanti e rappresenta la perfusione dinamica ed, infine, (d) l'elastosonografia rappresenta le proprietà elastiche meccaniche dei tessuti.



dell'*imaging* contrastografico in seconda armonica (*Contrast Enhanced Ultrasound, CEUS*). L'analisi dello *strain* tissutale, infine, analizza una nuova dimensione del segnale e viene usata in elastografia per descrivere le proprietà fisiche relative alla rigidità dei tessuti. La *stiffness* tissutale è un'informazione complementare ma del tutto indipendente dall'analisi dell'impedenza acustica alla base dell'ecografia *B-Mode* e dalle informazioni sul flusso vascolare fornite dal Doppler. Elementi adiacenti di uno stesso tessuto possono apparire identici con l'ecografia convenzionale o il Doppler. Quando, invece, vengono testati con una forza assiale o *stress* subiscono una deformazione o *strain* che può essere diversa in punti diversi del tessuto o della regione di interesse in funzione del modulo elastico. Confrontando le informazioni di base con quelle ottenute dopo l'applicazione di uno *stress* meccanico (elastocompressione manuale, stimolo US ad alta potenza), diventa possibile analizzare nel tessuto o nella *region of interest* (ROI) la rigidità relativa. In funzione delle diverse scale di rappresentazione dell'elasticità delle singole apparecchiature, alcune tonalità di colore per convenzione rappresenteranno i tessuti più elastici o morbidi, altre i tessuti più rigidi e anelastici.

MODALITÀ DI RAPPRESENTAZIONE DEL SEGNALE

Rappresentazione degli echi strutturali (ecografia convenzionale in scala di grigi)

In ecografia convenzionale gli echi strutturali vengono rappresentati sullo schermo catodico o LCD come punti di brillantezza lungo una serie di linee di vista longitudinali (circa 120) che corrispondono alle linee di scansione del campo sonoro (Figg. 2a, b). Nell'immagine ogni *pixel* riproduce con una luminosità proporzionale l'intensità del segnale eco. La rappresentazione degli echi strutturali in modalità di brillantezza, ossia in scala di grigi, è conosciuta come ecografia *B-Mode* o *Brightness-Mode* (1-10). L'immagine *B-Mode* è un tomogramma, ossia una stratigrafia bidimensionale, simile alle sezioni TC o RM, che propone la profondità e la larghezza della sezione ma non il suo spessore sul piano elevazionale.

Nell'ultimo decennio l'innovazione più importante dell'ecografia *B-Mode* è stata l'*imaging* tissutale in seconda armonica o *Tissue Harmonic Imaging (THI)*. Quando viene incrementata la potenza acustica di emissione del fascio US (*power output*), la propagazione nei tessuti biologici non è più omogenea. Negli strati più superficiali del campo sonoro le onde di rare-

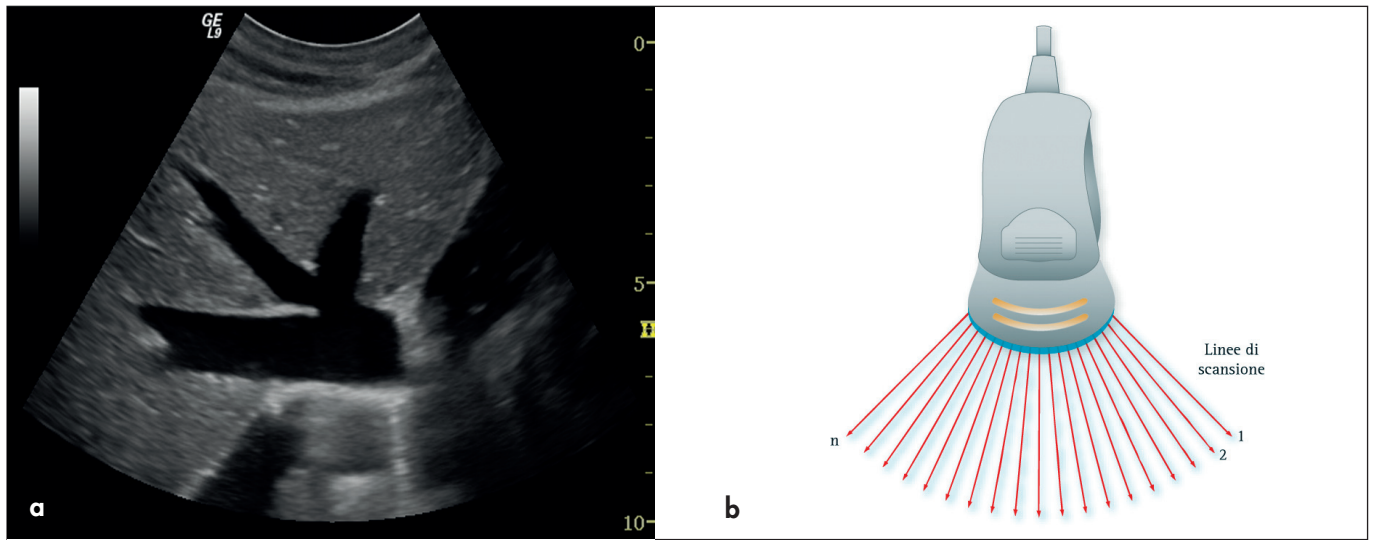


Fig. 2 a, b. - Ecografia B-Mode e linee di vista del campo sonoro di una sonda convessa. Gli echi strutturali vengono rappresentati come punti di brillantezza lungo una serie di linee di vista che corrispondono alle linee di scansione del campo sonoro.

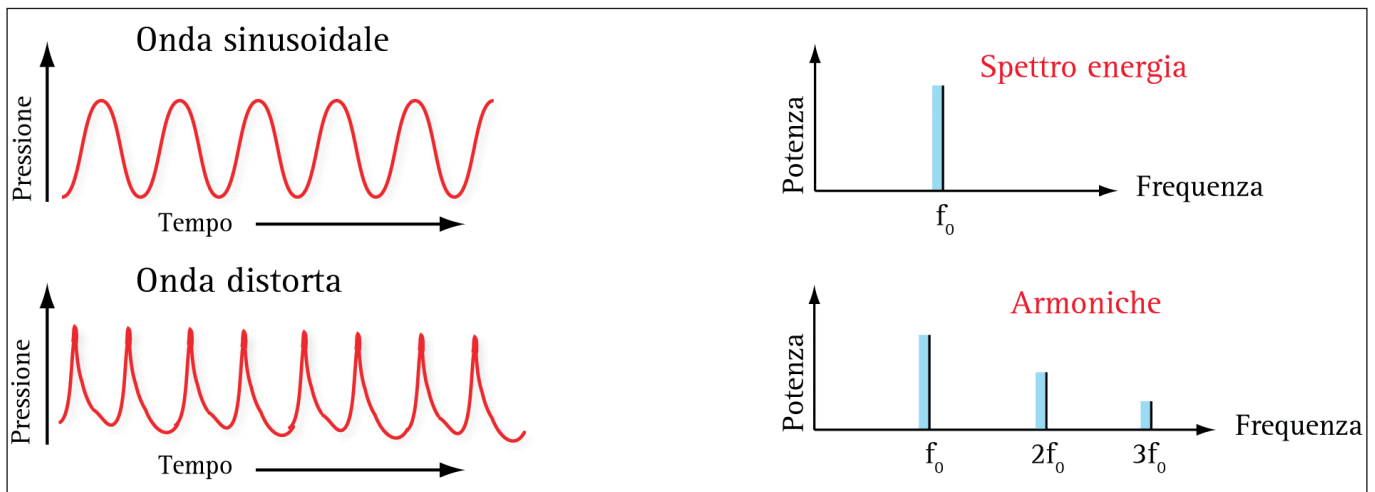


Fig. 3 - Propagazione lineare e non lineare degli US. La propagazione non lineare nei campi medio-profondi genera un segnale eco in cui l'energia spettrale non resta più confinata nella frequenza fondamentale (f_0) ma si distribuisce anche nelle frequenze armoniche o multiple (f_1, f_2 etc....).

fazione e compressione conservano la loro simmetria oscillatoria (*propagazione lineare*) ma nei campi medio/profondi subiscono una distorsione per cui la fase di compressione diventa più rapida rispetto alla fase di decompressione. La *propagazione non lineare* ha delle conseguenze fisiche dirette: l'energia acustica che viene riflessa non resta più confinata nello spettro della frequenza fondamentale (f_0) ma si distribuisce, seppure in misura minore, anche nelle frequenze armoniche o multiple della fondamentale (f_1, f_2 , ecc.) (Fig. 3). Utilizzando filtri elettronici o algoritmi dedicati come la *pulse* o *phase inversion* diventa possibile isolare e rappresentare gli echi strutturali in seconda armonica

generando un'immagine in scala di grigi, meno ricca di informazioni, ma sicuramente più definita. L'immagine in seconda armonica ha una migliore risoluzione spaziale e di contrasto perché è meno gravata dalle artefatti tipiche dell'ecografia convenzionale come la riverberazione, gli artefatti da lobi parassiti e lo *speckle*. La *pulse* o *phase inversion* rinforza il segnale in seconda armonica di per sé molto debole con un artificio tecnico: nei tessuti viene lanciato un fascio US costituito da due segnali, identici per frequenza e intensità ma in controfase fra loro, uno positivo e il secondo negativo. Gli echi che ritornano alla sonda in frequenza fondamentale sono in controfase fra loro

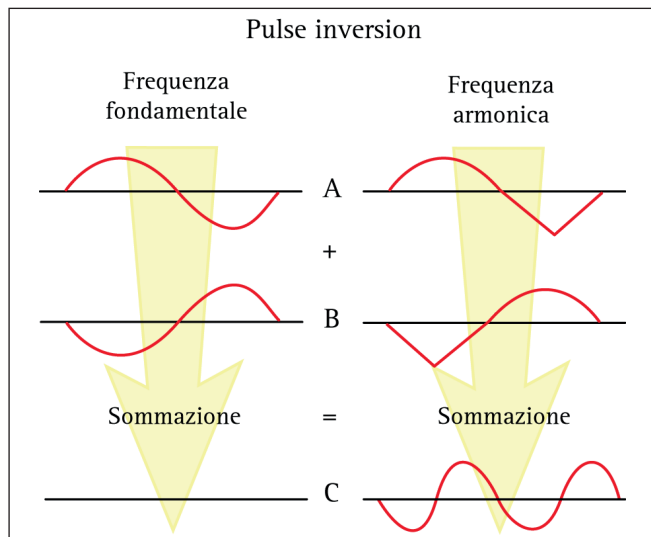


Fig. 4 - Pulse o phase inversion. Sono algoritmi di rappresentazione del segnale in seconda armonica. Due impulsi identici in controfase lanciati nei tessuti si annullano fra loro, mentre il segnale in armonica dei due impulsi risulta in fase e si somma per interferenza costruttiva.

per cui si annullano per sommazione algebrica. Gli echi in seconda armonica sono invece in fase fra loro per cui si sommano per interferenza costruttiva permettendo così la rappresentazione del segnale armonico (Fig. 4). L'*imaging* composito o *compound imaging* è un algoritmo di processazione del segnale che può essere usato in ecografia convenzionale, in THI e in CEUS per migliorare la risoluzione spaziale dell'immagine. Il *compound* è disponibile solo nelle macchine digitali di ultima generazione. Da un punto di vista tecnico, il *compound* è un *imaging* di sommazione che richiede una grande disponibilità di calcolo, quindi di *computer* superveloci in grado di sommare in un fotogramma informazioni contenute in più fotogrammi. L'*imaging* composito può essere basato sulla sommazione di informazioni spaziali o di frequenza. Nel *compound spaziale* o *Sono-Computed Tomography (Sono-CT)*, *Cross-beam* e così via, l'immagine presentata nel *monitor* è il risultato della composizione di più fotogrammi complanari ottenuti con lo *steering* elettronico del fascio US (sino a 9 o più fotogrammi), registrati con angoli di insonazione leggermente diversi l'uno dall'altro (Fig. 5). Nell'*imaging* composito *in frequenza* la sommazione interessa fotogrammi registrati con diverse frequenze (più elevate nei campi medio-superficiali e più basse nei campi intermedi e profondi). Lo scopo dell'*imaging* composito è quello di migliorare la risoluzione spaziale.

L'*ecografia 3D* è la rappresentazione più avanzata e complessa del segnale strutturale. Negli ultimi anni l'*imaging 3D* si è diffuso e sviluppato rapidamente per la disponibilità di nuove sonde a matrice asimmetrica

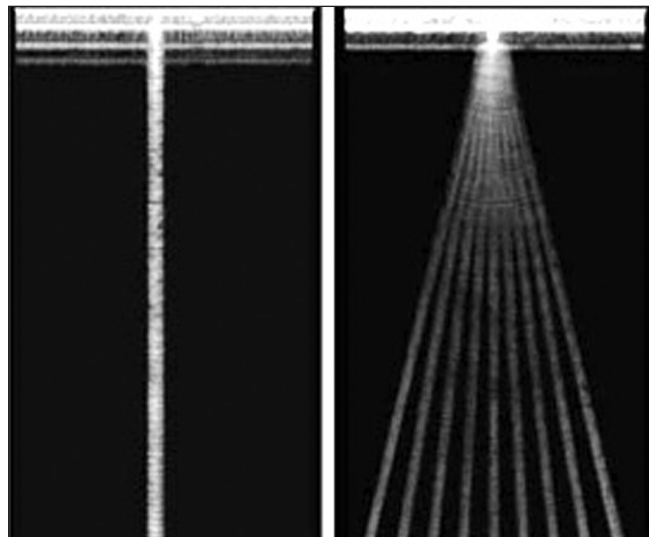


Fig. 5 - Scansione lineare e scansione in compound spaziale (sono-CT o cross-beam). Il fotogramma deriva dalla composizione di più fotogrammi complanari (sino a 9 o più) registrati con angoli di insonazione leggermente diversi l'uno dall'altro.

(trasduttori 1.5D) e di elaboratori di immagine ad alta velocità, capaci di immagazzinare una quantità enorme di dati e di ricostruirli rapidamente sul piano trasversale, sagittale e coronale. L'acquisizione del "volume" può essere ottenuta facendo scorrere manualmente la sonda lungo un piano di scansione con o senza l'ausilio di sensori magnetici di posizione o con sonde volumetriche dedicate che ottengono il medesimo risultato facendo scorrere meccanicamente un *array* lineare o *convex* in modo da ottenere una sequenza di sezioni che compongono il *voxel*. Una volta acquisite le immagini, l'algoritmo 3D ne consente la rappresentazione con tomogrammi lungo il piano assiale, sagittale e coronale o con la ricostruzione tridimensionale in *volume* o *surface rendering* (Fig. 6). L'*ecografia 3D* ha trovato le principali applicazioni in ostetricia.

TEST DI VERIFICA

1) Il segnale eco può essere variamente analizzato e rappresentato. Quali sono le modalità di immagine attualmente disponibili nelle apparecchiature più attuali?

- Ecografia convenzionale o modalità di brillantezza
- Ecografia convenzionale e analisi Doppler
- Ecografia *B-Mode*, analisi Doppler, contrastografia
- Ecografia convenzionale, analisi Doppler, contrastografia, elastosonografia

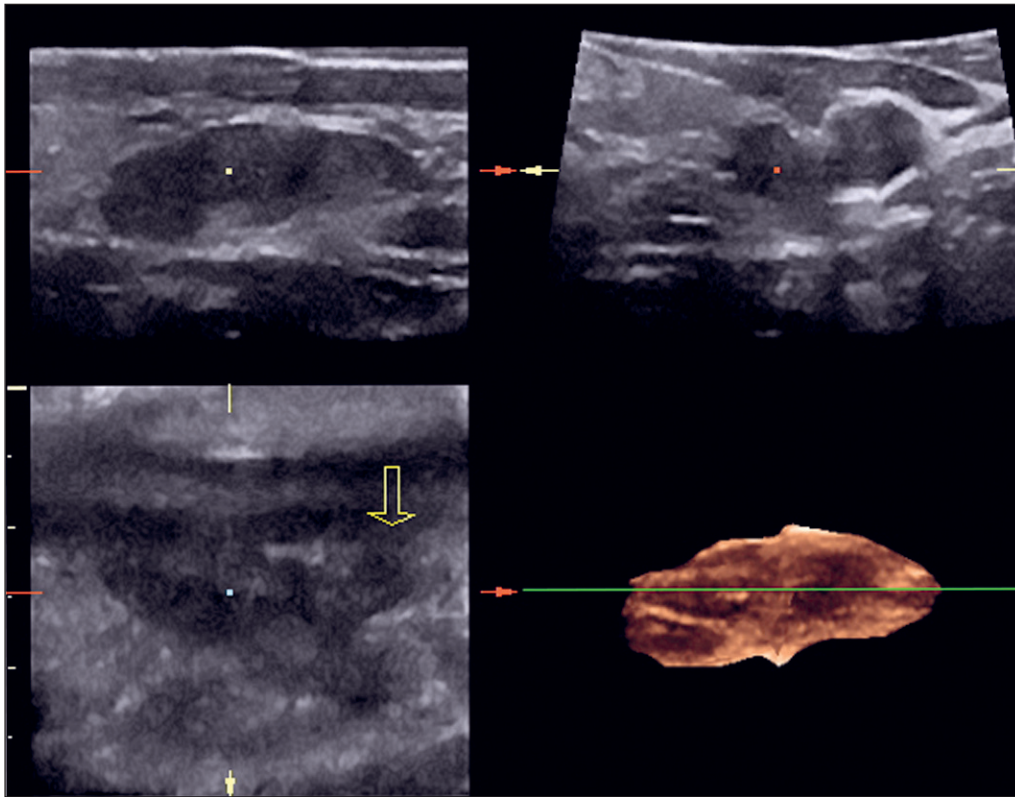


Fig. 6 - Imaging 3-D. Il "volume" viene acquisito con sonde dedicate, a matrice asimmetrica. Il volume unitario o voxel viene acquisito in rapida sequenza con lo scorrimento meccanico di un array lineare o convex. L'immagine sul monitor ripresenta piani di scansione nelle tre dimensioni dello spazio (trasversale, sagittale e coronale). Nell'immagine un adenoma paratiroideo viene rappresentato nei tre piani dello spazio ed in basso a sinistra in surface rendering.

e. Ecografia *B-Mode*, ecografia in seconda armonica, *B-Flow*, ecografia panoramica.

2) Qual è il principale vantaggio dell'imaging in seconda armonica rispetto all'ecografia convenzionale?

- a. Migliorare la penetrazione degli US e la risoluzione spaziale dell'immagine e ridurre gli artefatti da riverberazione e lobi parassiti
- b. Migliorare la risoluzione temporale ossia il *frame-rate*
- c. Visualizzare il collasso delle microbolle dei mezzi di contrasto ecografici
- d. Migliorare la risoluzione di contrasto dei piani superficiali e profondi
- e. Richiedere l'uso di un MI più basso in trasmissione.

3) Come viene amplificato il segnale in seconda armonica per essere rappresentato?

- a. Amplificando elettronicamente la seconda armonica
- b. Inviando due impulsi in controfase e analizzando il segnale in seconda armonica di entrambi che risulta in fase
- c. Aumentando la potenza di trasmissione
- d. Eliminando i segnali derivanti dai tessuti superficiali

e. Analizzando con un filtro i segnali che originano dai campi medio-profondi.

4) Il segnale in seconda armonica può essere utilizzato per:

- a. Creare un'immagine composita spaziale
- b. Analizzare la struttura dei tessuti medio-profondi senza artefattualità
- c. Analizzare il segnale di rinforzo dopo infusione di contrasto
- d. Creare un *imaging* composito in base alla frequenza di trasmissione
- e. Tutti gli algoritmi di *imaging* precedenti.

Rappresentazione dello scattering vascolare per effetto Doppler (eco-Doppler)

In realtà, il segnale eco che ritorna al trasduttore non deriva solo da strutture tissutali stazionarie ma anche dai *rouleaux* di globuli rossi (GR) in movimento laminare nei vasi arteriosi e venosi. La possibilità di rappresentare lo *scattering* vascolare è legata alla disponibilità di tecnologie in grado di analizzare e quantificare l'effetto Doppler che si realizza quando gli US colpiscono il sangue in movimento. Ricordiamo brevemente che l'effetto Doppler, descritto nella metà del secolo scorso dal fisico austriaco Christian

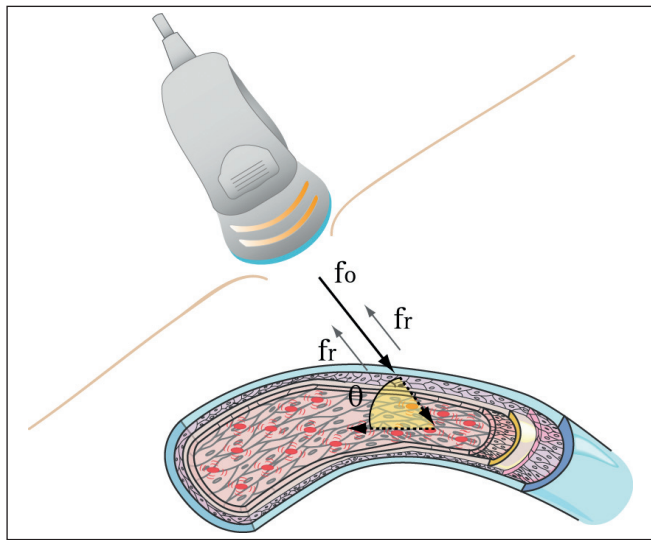


Fig. 7 - Effetto Doppler. L'equazione Doppler stabilisce che: $\Delta F = (2F_0 \times V \times \cos \theta) / c$, ove F_0 è la frequenza incidente, V è la velocità di scorrimento del sangue, $\cos \theta$, è il coseno dell'angolo fra fascio incidente e asse di scorrimento del sangue e c , è la velocità di propagazione degli US nei tessuti biologici.

Doppler, può essere applicato alle onde sonore o elettromagnetiche. In base all'enunciato Doppler, gli US generati da una sorgente fissa (trasduttore) e riflessi dai GR in movimento nei vasi (*scattering vasale*) subiscono una variazione della frequenza originaria (ΔF o *Doppler shift*) che è direttamente proporzionale alla frequenza incidente, alla velocità di scorrimento del sangue e all'angolo di incidenza fra US e asse di scorrimento del sangue (angolo di incidenza o angolo Doppler) e inversamente proporzionale alla velocità di propagazione degli US nei tessuti biologici (1540 m/s) (Fig. 7). In altri termini, l'equazione Doppler stabilisce che:

$$\Delta F = (2F_0 \times V \times \cos \theta) / c$$

dove F_0 è la frequenza incidente, V è la velocità di scorrimento del sangue, $\cos \theta$ è il coseno dell'angolo di incidenza e c è la velocità di propagazione degli US nei tessuti biologici. L'apparecchiatura Doppler conosce la frequenza di trasmissione e la velocità di propagazione degli US e calcola il *Doppler shift*, per cui è sufficiente fornirle il valore dell'angolo di incidenza perché essa possa calcolare la velocità di scorrimento del sangue. In realtà, nell'equazione Doppler, l'angolo di insonazione interviene con il suo coseno che è = 1 se l'angolo di incidenza è 0°, mentre è = 0 se l'angolo di incidenza è di 90°. Questo significa che l'effetto Doppler raggiunge la massima intensità quando l'angolo di incidenza è prossimo a 0° o a 180°, ossia quando il flusso sanguigno è in avvicinamento o in allontanamento rispetto alla sonda. Negli

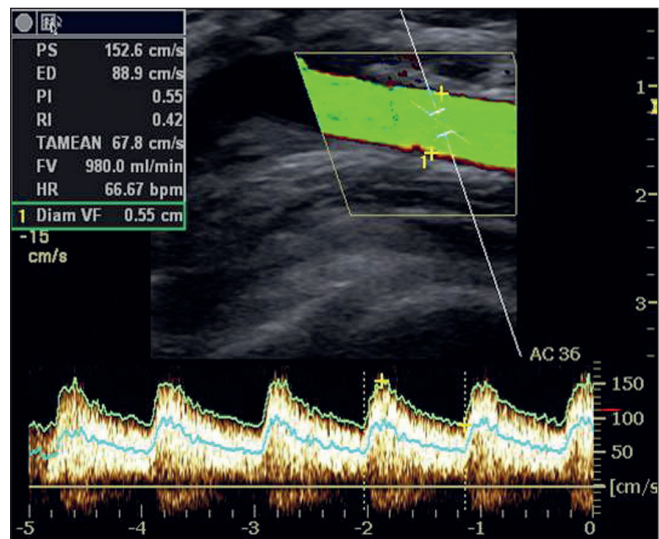


Fig. 8 - Doppler spettrale e color Doppler. CD, analisi spettrale e misurazione della portata dell'arteria brachiale in paziente portatore di FAV distale L-T. Il volume campione è disposto nella parte centrale del vaso. L'analisi spettrale riporta la V_{max} e la V_m . L'angolo di campionamento è 36° e lo steering nel campionamento color Doppler è di 30°.

ultimi 30 anni la tecnologia ecografica ha sviluppato tutta una serie di algoritmi di rappresentazione del segnale Doppler e ha implementato queste applicazioni nelle attuali apparecchiature. L'immagine *B-Mode* si è così trasformata in un'immagine morfo-funzionale che rappresenta le strutture anatomiche stazionarie, ma che analizza anche le variazioni temporali del flusso ematico nei vari distretti corporei (1, 10).

Eco-Doppler spettrale. È una modalità di rappresentazione del segnale Doppler. Esso associa all'immagine *B-Mode* la possibilità di campionare le velocità di scorrimento dei GR lungo una linea di scansione e di rappresentarle su scala cartesiana come una curva di frequenza in funzione del tempo o, più comunemente, di velocità in funzione del tempo (velocitogramma, spettro delle velocità) (Fig. 8). Poiché il *Doppler shift*, ossia le frequenze Doppler rappresentate nell'analisi spettrale, cade nell'ambito delle frequenze percepibili dall'orecchio umano ($\approx 20-18.000$ Hz), il Doppler pulsato associa all'analisi spettrale anche la possibilità di stereo-amplificazione delle frequenze Doppler che possono essere così udite con un suono caratteristico. La linea di scansione Doppler, nonché la sede di campionamento o il volume campione possono essere liberamente disposti nel piano di scansione. La possibilità di campionamento spaziale differenzia il Doppler pulsato dal Doppler continuo, che esegue un campionamento alla cieca di tutte le strutture vascolari disposte lungo il campo di scansione. Questa è la differenza essenziale, anche se i due sistemi funzionano in modo completamente diverso, poiché nel Doppler pulsato l'emissione degli US è discontinua, mentre nel

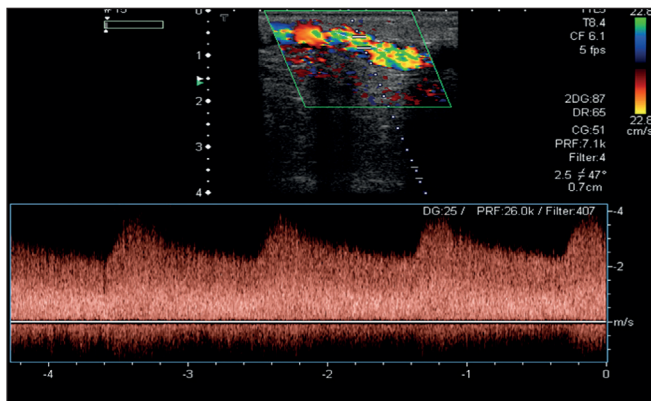


Fig. 9 - Analisi spettrale e color Doppler. Stenosi serrata dell'arteria radiale tributaria di FAV distale L.T. Velocità di picco sistolico >400 cm/s, velocità diastolica >250 cm/s. Angolo di insonazione 47°. Aliasing color Doppler e bruit colore nel punto di stenosi.

Doppler continuo è continua. Nel Doppler spettrale, il volume campione può essere spostato in superficie o in profondità e può essere più o meno ampliato. Con queste funzioni si variano la profondità e l'ampiezza della "porta di ascolto". L'analisi spettrale è in grado di documentare le variazioni e la distribuzione temporale delle velocità e di misurare le velocità massima, minima e media del flusso ematico, per cui è fondamentale per la valutazione quantitativa delle stenosi vascolari critiche (1-10).

Eco-Color Doppler. Il segnale Doppler che origina dai GR in movimento può essere analizzato anche in una ROI più estesa (*box* colore) disposta all'interno della finezza anatomica. In questo caso, l'analisi spettrale della velocità nei singoli punti di campionamento diventa impossibile. Utilizzando il principio di autocorrelazione, i punti di campionamento lungo le linee di scansione contenute nel *box* colore vengono rappresentati in scala di grigi se il segnale eco deriva da una struttura stazionaria o in scala cromatica se origina dai GR in movimento. In altri termini, all'immagine *B-Mode* in scala di grigi si sovrappone una cartografia dinamica a colori che rappresenta la velocità media di scorrimento dei GR nei vasi contenuti nel *box* colore (Fig. 9). I *pixel* colore sono molto grossolani a causa della scarsa risoluzione spaziale del color Doppler. La scala cromatica del color Doppler è basata per convenzione su due colori fondamentali, il rosso e il blu. Se il movimento dei GR è in avvicinamento il *pixel* colore sarà rosso, se il movimento del sangue è in allontanamento il *pixel* sarà blu. La desaturazione del colore fondamentale con il bianco viene utilizzata per indicare un aumento progressivo della velocità (viraggio del rosso verso il giallo e del blu verso l'azzurro chiaro). Il color Doppler non fornisce informazioni quantitative ma solo qualitative. Consente di stabilire la presenza o

l'assenza di flusso, di disegnare il tragitto del vaso nell'area di interesse e di disporre con estrema precisione il volume campione per registrare le variazioni spettrali della velocità (1-10). Se la scala cromatica Doppler viene utilizzata per rappresentare non il valore medio delle variazioni velocitometriche, e pertanto la fase o la direzione del flusso, ma solo la potenza complessiva dello spettro Doppler rispetto al rumore di fondo, si perderà la possibilità di rappresentare la fase o la direzione del flusso, ma si acquisterà la possibilità di rappresentare i flussi più lenti e di rappresentarli in modo indipendente rispetto all'angolo di incidenza. La rappresentazione monocromatica dell'effetto Doppler nel *box* colore è una modalità di rappresentazione del segnale che prende il nome di *Power Doppler*.

Elaborazione del segnale, regolazione del Modulo Doppler, artefatti colore. La profondità di penetrazione e la velocità di flusso rilevabili con il Doppler dipendono dalla scelta del trasduttore e della frequenza di trasmissione (1). La regolazione della potenza di trasmissione e del guadagno colore è invece fondamentale per evitare artefatti come la sbavatura del colore dalle pareti dei vasi (alta potenza di trasmissione), l'assenza di segnale colore (guadagno colore basso o PRF molto alta) o la sovrasaturazione del segnale (guadagno molto alto). Molti artefatti colore possono pregiudicare o falsare la diagnosi. Alcuni possono essere evitati, altri come l'*aliasing* sono comunque utili per la diagnosi. Il rumore di fondo, in forma di *spot* o *flash* colore, è senz'altro molto fastidioso e inutile. In genere il rumore è legato a un'erronea regolazione dell'amplificazione o alla trasmissione dei movimenti rapidi legati alla respirazione, al battito cardiaco e alla peristalsi intestinale. Talora, il rumore viene provocato dallo stesso operatore con l'aumento del guadagno per analizzare o evidenziare i flussi molto lenti. Anche l'uso erroneo del filtro-parete, che ha lo scopo di eliminare le basse frequenze generate dai movimenti della parete vasale, può generare artefatti come, per esempio, la perdita del segnale a bassa frequenza che origina dai vasi venosi.

L'erronea regolazione della massima velocità o frequenza Doppler registrabile in un determinato vaso genera *aliasing* ed è uno degli artefatti più ricorrenti del Doppler. La massima frequenza o velocità rilevabile dal modulo Doppler è strettamente legata alla frequenza di ripetizione degli impulsi del trasduttore, ossia alla *pulse repetition frequency* o **PRF**. Questa a sua volta è strettamente legata alla frequenza di trasmissione Doppler e alla profondità di penetrazione. L'*aliasing* è in pratica un artefatto da sottocampionamento e si realizza quando la PRF, ossia la frequenza di campionamento, non è pari ad almeno la metà del *Doppler shift* (limite di Nyquist). Pertanto, per registra-

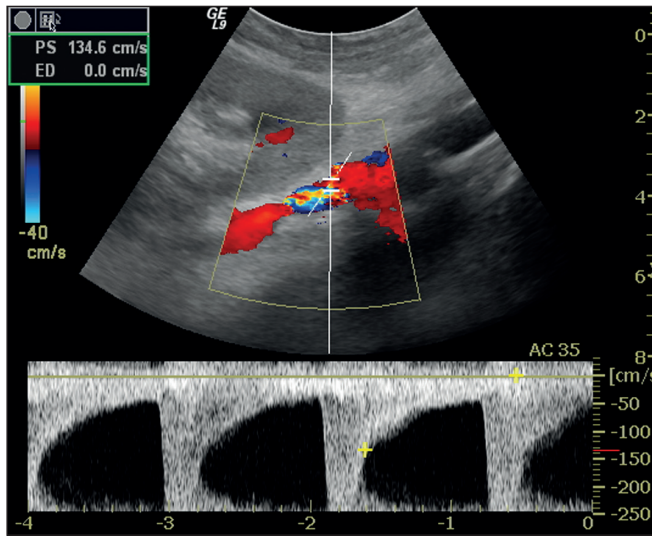


Fig. 10 - Aliasing della curva spettrale. Il ribaltamento della porzione apicale della curva V/t è causato dal sottocampionamento delle velocità vigenti in arteria renale destra stenotica.

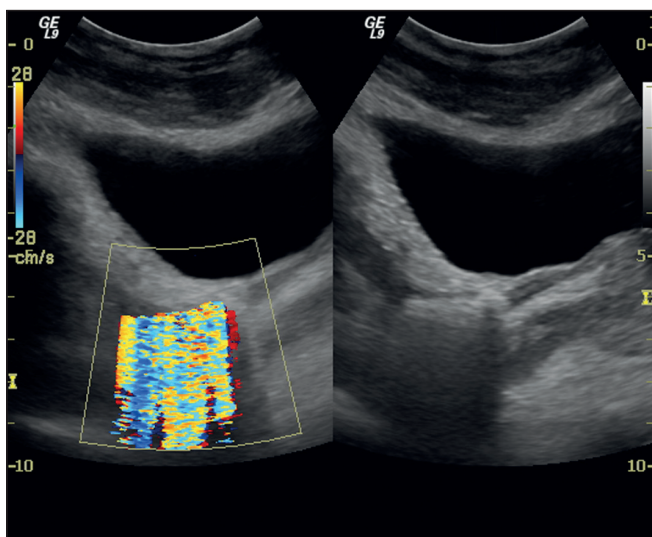


Fig. 12 - Twinkling artifact. Litiasi ureterale premurale in B Mode e color Doppler. La risonanza dei calcoli genera un artefatto scintillio che è sovrapponibile all'effetto comet-tail del B-Mode.

re senza ambiguità un ΔF di 4000 Hz si deve regolare la PRF ad almeno 2000 Hz. Diversamente compare *aliasing* e nel velocitogramma la curva spettrale viene ribaltata sul versante opposto della scala (Fig. 10), mentre nel campionamento colore la progressione della scala cromatica si inverte in modo indesiderato (Fig. 11). L'*aliasing* si corregge aumentando la PRF, spostando il livello della linea zero o riducendo la profondità di campo compatibilmente con la sede del vaso da esplorare. Un'erronea impostazione dell'angolo di insonazione è alla base dell'artefatto più temibile del Doppler spettrale, ossia la sovrastima del

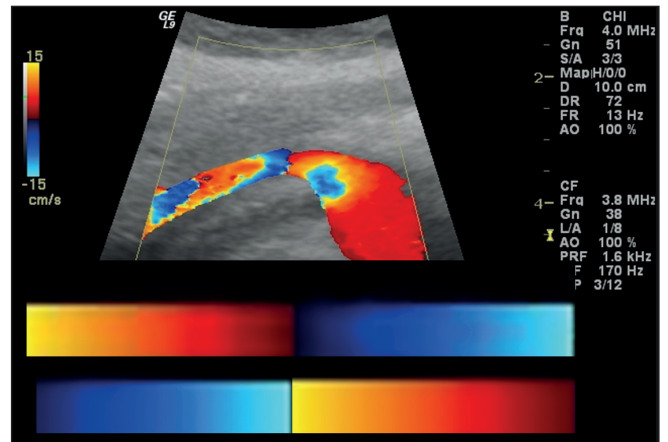


Fig. 11. - Aliasing color Doppler in arteria renale destra. Nella parte bassa dell'immagine viene raffigurata la progressione normale della scala cromatica e quella artefattuale con inversione della progressione dei colori.

calcolo della velocità di scorrimento del sangue. In linea di massima, quanto più l'angolo di insonazione si avvicina a 0° tanto più si riduce l'errore di calcolo della velocità, mentre più l'angolo si avvicina a 90° tanto più aumenta l'errore. In questa progressione disastrosa l'errore resta contenuto al 20-30% sino a 60° , mentre aumenta in modo esponenziale sino al 70-80% per piccole variazioni di angolo sopra i 60° . Pertanto, è regola comune accettare il calcolo della velocità sino a un valore limite di 60° . Subito a valle dei punti critici di accelerazione (stenosi), le vorticosità conseguenti alla separazione delle linee di flusso generano un artefatto di sovraturazione molto caratteristico (effetto mosaico) che tende a trasmettersi anche ai tessuti circostanti con caratteristiche non dissimili dal soffio vascolare (*color-bruit*). Un altro fenomeno artefattuale molto caratteristico è il *twinkling artifact* (Fig. 12) che corrisponde all'artefatto *comet-tail* dell'ecografia convenzionale e si genera comunemente nei punti di incontro fra riflettori con impedenza acustica molto diversa come tessuto-calcolo, tessuto-calcificazione e tessuto-aria ed è legato a fenomeni di risonanza (1-11).

TEST DI VERIFICA

5) Quali parametri analizza l'effetto Doppler?

- La variazione della velocità di flusso in base alla direzione di scorrimento del sangue
- La velocità assoluta di scorrimento del sangue
- Il ΔF che gli US subiscono incontrando i GR in movimento. Il ΔF varia in base alla V e alla direzione del flusso e della V di propagazione degli US

- d. La variazione di flusso o portata di un organo
 e. Il ΔF che la F di trasmissione subisce incontrando la colonna ematica in movimento. Il ΔF o frequenza Doppler varia in base alla V e alla direzione del flusso e al coseno dell'angolo Doppler in funzione della V degli US.

6) Quali parametri analizza il Doppler spettrale?

- a. V_{max} , V_{min} e V_m dei *rouvelaux* di GR che attraversano la porta campione
 b. La velocità media dei GR
 c. La velocità di picco sistolico
 d. La velocità di piccolo diastolico
 e. La mediana della velocità di picco.

7) Che cos'è la PRF?

- a. La frequenza di ripetizione degli impulsi color Doppler
 b. La frequenza di ripetizione degli impulsi del Doppler spettrale
 c. La frequenza di ripetizione degli impulsi del trasduttore
 d. Il numero di impulsi necessari per ottenere una penetrazione di 10 cm
 e. La frequenza di ripetizione degli impulsi di una sonda 5 MHz.

8) Il Doppler shift che si registra nei vasi sanguigni ha una frequenza:

- a. <100 Hz
 b. 100-2000 Hz
 c. 2000-18000 Hz
 d. 18000-25000 Hz
 e. >25000 Hz.

9) Il punto in cui si manifesta aliasing è conosciuto come:

- a. Limite di Nyquist
 b. Punto di Poiseuille
 c. Equazione di Bernoulli
 d. Effetto Venturi
 e. Numero di Reynolds.

Rappresentazione del segnale di perfusione dopo iniezione di eco-amplificatori

L'ecografia può rappresentare lo *scattering* vascolare in due diversi modi: 1) analizzando le variazioni di frequenza derivanti dal movimento dei GR (effetto Doppler) e 2) misurando l'*enhancement* conseguente all'infusione di mezzi di contrasto (MdC) o eco-amplificatori (12). La tecnologia Doppler è semplice e poco costosa ma si limita a caratterizzare il flusso dei grandi vasi dove le velocità di scorrimento sono più elevate, mentre non è in grado di caratterizzare il microcircolo poiché i movimenti grossolani dei tessuti sono comunemente più rapidi della velocità con

cui il sangue scorre nei vasi capillari. L'*enhancement* dello *scattering* vascolare dopo MdC è intenso (>20 dB), permette di caratterizzare il macro- e il microcircolo e può essere utilizzato sia per migliorare il segnale Doppler sia per rappresentare in un'immagine morfologica e dinamica la perfusione d'organo. Questo permette di "caratterizzare" il tessuto normale e di differenziarlo dal *pattern* vascolare delle masse neofornate. I primi MdC eco-amplificatori sono stati introdotti in commercio verso la fine degli anni '90 (Levovist®-Shering, Berlino Germania) con lo scopo di amplificare il segnale Doppler vascolare e di semplificare la diagnosi di stenosi. Gli studi nati per definire il comportamento fisico del *pooling* ematico di microbolle investite dagli US hanno rapidamente portato alla definizione del fenomeno di *risonanza lineare o sincrona e non lineare o asincrona* e, con la comprensione di questo fenomeno, hanno permesso di gettare le basi dell'*imaging perfusionale in seconda armonica* e dell'*imaging armonico tissutale*. Il rene è un organo riccamente vascolarizzato e riceve a riposo una portata ematica di 600-650 mL/min (pari al 10% della portata cardiaca), per cui può essere ben caratterizzato con la CEUS (13-19). La CEUS trova indicazione anche in pazienti con funzione renale compromessa o con ostruzione delle vie urinarie, anche se non offre alcuna informazione sulle funzioni escretorie del rene. I MdC ecografici registrati e disponibili attualmente in Europa (Optison®, Sonovue®, Luminity®) sono microbolle di aria o di gas pesante, inerte e insolubile. Le microbolle sono stabilizzate in soluzione da un involucro lipidico o proteico biodegradabile. Dopo iniezione ev, le microbolle si diluiscono nel sangue fino a raggiungere una concentrazione (p.p.m.) che corrisponde alla massima capacità di riflessione. Il *pooling* di microbolle circolanti ha un \varnothing variabile da 2 a 10 μm (\varnothing medio <3 μm). Queste dimensioni sono considerate critiche perché favoriscono la risonanza e il superamento del filtro polmonare e periferico. La durata del rinforzo varia in funzione delle caratteristiche delle microbolle e della potenza acustica di insonazione, ma tende a esaurirsi in pochi minuti con l'esalazione del gas a livello polmonare e la degradazione dell'involucro esterno. A differenza dei contrasti iodati e del gadolinio chelato, le microbolle non si diffondono nell'interstizio ma restano confinate nel circolo. Tutti i MdC disponibili sono risultati atossici e privi di effetti collaterali significativi.

Il meccanismo con cui le microbolle rinforzano il segnale vascolare è legato alla risposta all'insonazione. Quando vengono investite da potenze acustiche molto basse ($MI < 0.2$) le microbolle entrano in risonanza lineare e rinforzano per riflessione semplice la frequenza fondamentale. Quando la potenza

acustica degli US aumenta, le microbolle mostrano un comportamento di risonanza non più lineare, per cui la fase di compressione diventa molto più rapida della fase di decompressione. Questo libera energia acustica in seconda armonica che, raccolta da sonde multifrequenza a banda larga e opportunamente filtrata e amplificata, può essere rappresentata con gli algoritmi della *pulse* o *phase inversion* (12-16). Le procedure dell'esame con contrasto devono seguire una sequenza temporale ben definita. L'esame *B-Mode* e *CD* deve precedere l'iniezione di contrasto. Dopo aver identificato l'organo e la ROI viene attivata la funzione contrasto-specifica a basso MI. La sonda deve essere mantenuta ferma sulla ROI includendo nel piano di scansione anche il parenchima normale, e il MdC (Sonovue®) viene somministrato in bolo alla dose di 2-2.4 mL seguito da 5 mL di soluzione fisiologica con un ago di 20G per evitare la distruzione meccanica nelle microbolle. La perfusione parenchimale dovrebbe essere registrata per almeno 180 s, in modo da registrare la sequenza di *inflow* e di *wash-out* del contrasto. Nel rene con funzione normale, dopo infusione in bolo ev, la perfusione della corteccia renale si evidenzia dopo circa 16-19 secondi. Il contrasto perfonde in modo progressivo, con effetto tipo "tutto o nulla", dapprima la corticale e dopo circa 30-40 secondi la regione midollare (13, 16).

Imaging morfologico perfusionale. I MdC di prima generazione a bassa resistenza meccanica (Levovist®) generavano un rinforzo di circa 25-30 dB che derivava dalla distruzione delle microbolle (12-16). Attualmente, i MdC di seconda generazione (Sonovue®, Luminity®) usano algoritmi contrasto-specifici a basso MI, ossia tecniche di acquisizione del segnale che tendono a mascherare i segnali eco che originano dai tessuti e a esaltare il rinforzo che origina dai vasi e che consentono di ottenere in tempo reale immagini che riproducono l'anatomia vascolare del rene a partire dai vasi segmentali sino a livello del microcircolo con una minima rottura delle microbolle. L'*imaging morfologico perfusionale* analizza una dimensione dell'informazione ecografica diversa dal segnale strutturale dei tessuti stazionari che deriva esclusivamente dal macro-microcircolo.

Le indicazioni della CEUS sono numerose e le più importanti vengono indicate nella *consensus conference* europea sull'uso dei MdC (16). Le situazioni cliniche in cui viene consigliato l'uso della CEUS sono: 1) la diagnosi differenziale delle anomalie anatomiche che simulano una pseudomassa, 2) la caratterizzazione delle cisti complesse (tipo 2F, 3 o 4 secondo la classificazione di Bosniak), ossia delle cisti parenchimali che presentano pareti spesse e irregolari, calcificazioni multiple, setti o vegetazioni parietali solide,

3) la diagnosi di trombosi venosa renale e cavale e la diagnosi differenziale fra trombosi discrasica e neoplastica, 4) il bilancio dei tumori renali e delle vie urinarie e la diagnosi differenziale fra vegetazioni parietali della vescica e materiale amorfo, strutturato, presente nel lume vescicale o nelle vie urinarie, 5) la determinazione dell'estensione di lesioni parenchimali ischemiche e la diagnosi differenziale fra pielonefrite focale, infarto renale e necrosi corticale, 6) il bilancio in urgenza del trauma renale acuto e il *follow-up* delle lesioni traumatiche, 7) la diagnosi di trombosi venosa o arteriosa, di infarto e di necrosi tubulare acuta nel trapianto renale, 8) la diagnosi differenziale delle complicanze post-biotiche (ematoma, FAV intraparenchimale, pseudoaneurisma) e delle neoformazioni del trapianto (masse espansive, angiomiolipomi) e 9) lo studio della perfusione renale nei pazienti con danno renale acuto parenchimale o da ostruzione delle vie urinarie e in tutte le condizioni in cui è controindicato l'uso della TC e della Risonanza Magnetica (RM) con contrasto. In ogni caso, al di là della spettacolarità, la fase perfusionale non fornisce informazioni definitive sulle patologie parenchimali del rene nativo e del trapianto e spesso è di scarso aiuto nella diagnosi differenziale fra lesioni benigne e maligne.

Analisi curve tempo-intensità. Le curve tempo/intensità riportano su un grafico l'andamento medio dell'intensità del segnale (o della deviazione *standard*) misurato nelle immagini *B-Mode* e *CD-PD* di una sequenza cine-registrata. In ascissa è indicato il valore del tempo in secondi, mentre in ordinata il valore medio dell'intensità (o della deviazione *standard* delle intensità) in un determinato momento o *frame*, normalizzato fra 0 e 1 (Fig. 13). L'analisi tempo/intensità prevede due procedimenti separati: il primo volto all'acquisizione dei *frames* temporali e il secondo indirizzato all'elaborazione dei dati e alla visualizzazione della curva. Le curve tempo/intensità sono quindi un'elaborazione in *post-processing* dell'immagine acquisita durante la fase di perfusione del rene. Per ottenere una buona curva bisogna che l'acquisizione avvenga per un periodo sufficientemente prolungato, in un'area parenchimale più o meno estesa, cercando di evitare con massima cura, in fase di acquisizione, i movimenti spontanei della sonda o dell'organo da esplorare. In *post-processing* sulla sequenza cine vengono disegnate 1, 2 o più ROI (come in scintigrafia) per calcolare le curve di attività/tempo. Come nella scintigrafia, il punto critico dell'esame è la definizione delle ROI. Teoricamente per ottenere una buona riproducibilità, le ROI disegnate al primo esame dovrebbero essere riprodotte fedelmente negli esami successivi, con la stessa forma e la stessa dimensione. Le curve di intensità descrivono la varia-

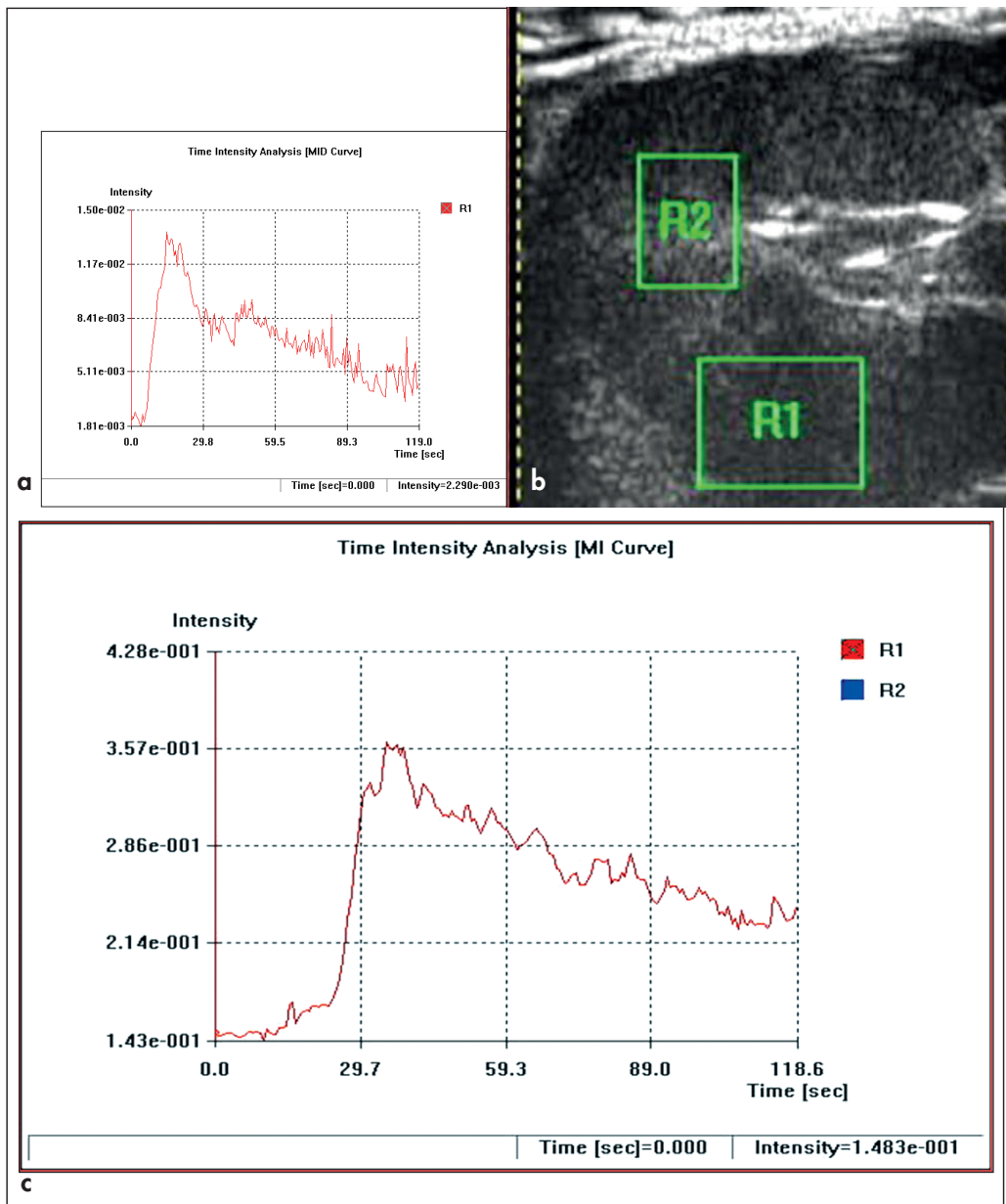


Fig. 13 a, b, c. - CEUS di trapianto renale funzionante. Curve di analisi intensità/tempo dopo infusione di MdC. Le due ROI sono state disposte nella regione polare superiore del trapianto.

zione temporale di concentrazione delle microbolle in corrispondenza del parenchima in esame o di una lesione specifica, sebbene l'attenuazione e altri fattori di minore importanza impediscano la valutazione della concentrazione assoluta.

Analizzando selettivamente la fase di "input/output" del MdC, l'imaging perfusionale può acquisire una valenza quantitativa (ecocontrastografia dinamica o **DCE-US**). Dopo infusione ev in bolo la concentrazione delle microbolle raggiunge rapidamente l'equilibrio e il rene si riempie di MdC. Se in questo momento si interviene lanciando in rapida successione 1-2 impulsi flash ad alta intensità acustica (1.9 MI) le microbolle contenute nel letto vascolare implodono e il rene si

svuota per riempirsi nuovamente (*refilling*) con nuove microbolle (17-20). Alcuni Autori hanno sviluppato un algoritmo per calcolare la perfusione regionale del rene partendo dal presupposto che la pendenza della curva di refilling può essere considerata come la velocità di flusso del sangue, mentre l'intensità massima del segnale PD in *pulse inversion* nella ROI prescelta può essere considerata come la quantità di sangue (MdC) presente nella ROI. La portata di flusso si calcola in base all'equazione: $Q = V_m \times S$ dove Q è la portata, V_m la velocità media temporale e S l'area di sezione. Pertanto, il prodotto della velocità di arrivo delle microbolle per l'intensità massima del segnale registrato nella ROI rappresenterebbe il *flusso frazionale* o regio-

Fig. 14 a, b - Elastosonografia. L'analisi elastosonografica utilizza un impulso acustico di alta potenza (onde color arancione) che testa una ROI e un fascio di US che in successione analizza la deformazione dei tessuti rappresentandola con una mappa a colori.

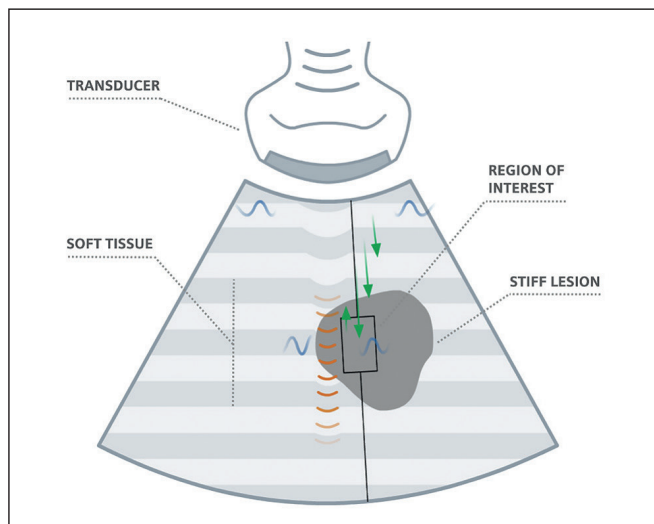
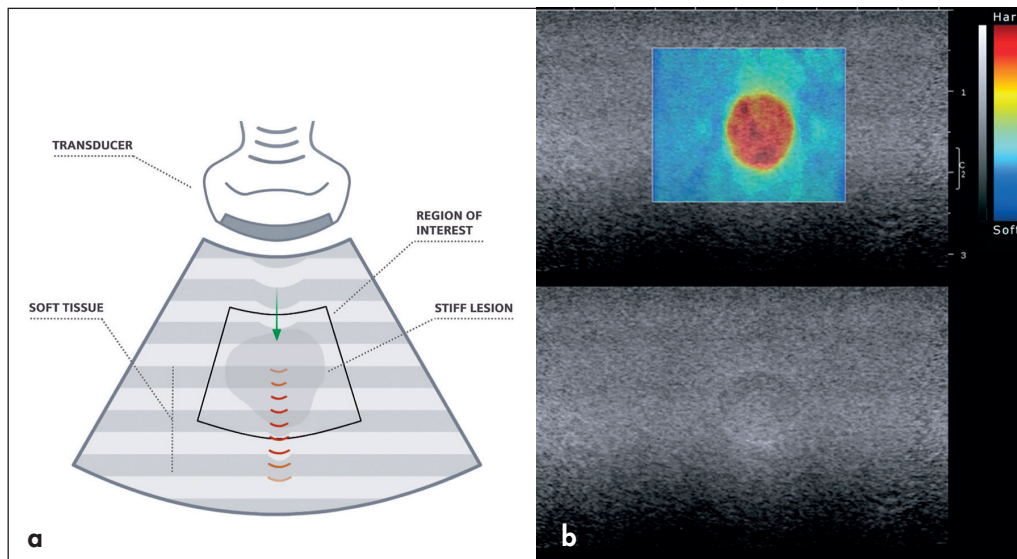


Fig. 15 - Elastosonografia quantitativa. L'impulso ad alta energia (onde arancione) colpisce la ROI generando onde di deformazione trasversali (shear waves). Un fascio di US lanciato in successione interagisce con le onde di shear, e le localizza in un punto e in un momento preciso per cui è possibile calcolare la velocità di propagazione delle onde di deformazione. Questo valore numerico è una misura diretta della stiffness del tessuto presente nella ROI.

nale. Questa ipotesi di misurazione è stata introdotta per la prima volta da Wei et al. usando una funzione esponenziale, successivamente modificata da altri Autori. La funzione del *refilling* è una funzione esponenziale sigmoidea: $Y = s + A (1 - e^{-\beta t})$ dove Y è la video-intensità *Power Doppler* in *pulse-inversion* al momento t, A è il *plateau* della video-intensità che rappresenta il volume di flusso, β rappresenta la velocità media di arrivo delle microbolle (velocità di riempimento) e s un fattore di correzione. Il flusso ematico regionale viene calcolato moltiplicando $A \times \beta$ (17, 20). Le variazioni di intensità di segnale nella ROI in esame corrispondono

no alle variazioni di concentrazione delle microbolle, sebbene l'attenuazione degli US e altri fattori di minore importanza (infusione in bolo) impediscano una valutazione della concentrazione assoluta. Tuttavia, la conoscenza della concentrazione relativa al tempo t è sufficientemente attendibile per fornire una stima quantitativa di parametri quali il *volume vascolare* di un tessuto, la *velocità di flusso* e l'*indice di perfusione* che già adesso, mediante *software* dedicati, potranno essere rappresentati con mappe parametriche distinte in modo non dissimile da quanto si verifica in medicina nucleare. Certamente, la possibilità di ottenere dati morfologici comparabili con TC e RM, senza utilizzare radiazioni ionizzanti né MdC nefrotossici, e la possibilità di ripetere l'esame nel tempo con risultati funzionali comparabili a quelli della medicina nucleare rappresentano una *chance* da non sottovalutare. A oggi, gli studi mirati a valutare le variazioni di perfusione nel rene nativo e nel trapianto con patologie parenchimali o complicanze non sono numerosi, per cui i risultati preliminari non possono essere considerati definitivi. Certo è che il THI e l'analisi seriatà dei parametri semiquantitativi e quantitativi della perfusione in fase di *wash-in* e *wash-out* potrebbero fornire parametri utili per discriminare i quadri patologici e ridurre il ricorso sistematico alla biopsia renale che resta l'unica indagine di riferimento nel *follow-up* clinico delle parenchimiopatie (16). Infine, i parametri derivati dalle curve tempo/intensità possono rappresentare un indicatore molto precoce e sensibile della risposta dei tumori alla terapia antiangiogenesi. Quest'ultima applicazione della DCE-US è stata accettata da varie autorità come tecnica utile per monitorizzare la risposta del tumore alla terapia antiangiogenesi (12).

Rappresentazione dello *strain* tissutale (elastosonografia)

L'elastosonografia rappresenta l'avanzamento più recente e interessante della tecnologia ecografica dopo il Doppler, il THI e la CEUS. Questa tecnica analizza una nuova dimensione del segnale eco, ossia la deformazione o *strain* conseguente all'elasto-compressione dei tessuti (21-24). L'informazione sullo *strain* tissutale è complementare e totalmente svincolata dall'impedenza acustica alla base dell'imaging convenzionale in scala di grigi. In altri termini, mentre il *B-Mode* crea un'immagine morfologica in base alla resistenza o all'impedenza che le singole interfacce offrono al passaggio degli US, l'elastosonografia fornisce una valutazione qualitativa o quantitativa dell'elasticità/rigidità meccanica dei tessuti.

L'elastosonogramma di una ROI può essere creato con due tecniche diverse: 1) esercitando una dolce e uniforme compressione dei tessuti superficiali con la sonda ecografica e 2) utilizzando un software dedicato che analizza qualitativamente e quantitativamente una ROI testata con un impulso US prolungato e di forte intensità (21, 22). Il primo metodo è applicabile agli organi superficiali (tiroide, testicoli, prostata) ed è gravato da numerosi artefatti da movimento che compromettono l'affidabilità e aumentano la variabilità interpersonale. Il secondo metodo è più riproducibile e affidabile e meno influenzato dai movimenti esterni. Per questo è, in teoria, applicabile anche allo studio degli organi profondi per quanto la tecnica non sia ancora molto raffinata (Fig. 14).

L'elastosonogramma è un'immagine qualitativa della rigidità relativa dei tessuti e può essere proposto in scala di grigi o su scala colorimetrica (Fig. 14). L'elastosonografia può essere utilizzata per misurare direttamente il parametro della rigidità tissutale, ossia la velocità di propagazione dell'onda trasversale di shear che si genera quando la ROI viene investita dallo stimolo US ad alta potenza. Le onde di *shear* non si propagano in senso assiale ma trasversale e si propagano in modo non dissimile dalle onde che si generano in uno stagno dopo il lancio di una pietra. Queste onde trasversali generano uno spostamento (rarefazione-compressione) delle molecole tissutali che si attenua rapidamente e che può essere misurato per autocorrelazione lanciando una serie di impulsi US che osservano il fronte di propagazione dell'onda di deformazione trasversale in punti e momenti diversi correlando queste misurazioni con il tempo intercorso. In genere, più rigido è il tessuto più alta è la velocità di propagazione dell'onda di deformazione, per cui il valore della velocità dell'onda diventa una proprietà intrinseca del tessuto analizzato e la misurazione un parametro riproducibile (velocità in funzione del tempo) (Fig. 15). Le applicazioni diagnostiche e

cliniche dell'elastosonografia sono work in progress e negli anni a venire troveranno applicazioni anche nella valutazione del trapianto e del rene nativo.

TEST DI VERIFICA

10) Quale fra questi è l'angolo più appropriato per ottenere una buona rappresentazione della curva V/t in un vaso arterioso?

- a. $<60^\circ$
- b. 70°
- c. 80°
- d. 90°
- e. $<30^\circ$.

11) Che cos'è l'*aliasing*?

- a. Un artefatto da sottocampionamento che si manifesta quando un fenomeno oscillatorio viene campionato un numero di volte inferiore alla metà della frequenza del fenomeno stesso
- b. Un artefatto specifico del color Doppler che si traduce nella sovrasaturazione e nella progressione inversa della scala cromatica
- c. Un artefatto specifico del Doppler spettrale e si manifesta quando la VPS supera i livelli di scala impostati
- d. Un artefatto del *Power Doppler*
- e. Un artefatto del *B-Mode*.

12) I mezzi di contrasto ecografici, ossia le microbolle di aria o di gas pesante stabilizzate:

- a. Si diffondono nell'interstizio
- b. Restano confinate all'interno del lume vasale
- c. Danno informazioni sul GFR renale
- d. Possono confluire fra loro e causare embolia polmonare
- e. Sono controindicati in caso di GFR <60 mL/min.

13) Cosa distingue i MdC di ultima generazione da quelli di prima generazione?

- a. Il diametro e la densità delle microbolle
- b. La velocità con cui va eseguita l'infusione ev
- c. I MdC di II generazione richiedono l'uso di un basso indice meccanico
- d. Il MdC di II generazione è meno tossico di quello di I generazione
- e. Il MdC di II generazione si diffonde anche nell'interstizio.

14) L'elastosonografia genera un'immagine dei tessuti analizzando:

- a. L'impedenza acustica dei tessuti
- b. Qualitativamente e quantitativamente l'elasticità/rigidità meccanica dei tessuti
- c. Il movimento della colonna ematica
- d. L'intensità degli echi riflessi
- e. La dispersione degli US.

RIASSUNTO

L'avanzamento della tecnologia digitale ha rappresentato uno stimolo inarrestabile per la crescita dell'ecografia. Il segnale eco che origina dalle strutture stazionarie o dalla colonna ematica in movimento può essere analizzato e rappresentato con varie modalità di immagine. L'ecografia convenzionale in scala di grigi rappresenta in real-time gli echi strutturali del piano anatomico di scansione come punti di brillantezza la cui intensità è proporzionale alla forza del segnale eco. Lo scattering di origine vascolare viene analizzato in base all'effetto Doppler e può essere rappresentato o come una curva spettrale delle velocità in funzione del tempo o come una cartografia dinamica a colori che rappresenta la velocità media di scorrimento del sangue e codifica in rosso il flusso in avvicinamento e in blu il flusso in allontanamento. L'analisi del rinforzo dello scattering vascolare che si ottiene dopo l'infusione di MdC ecografico (eco-amplificatori) genera un'immagine morfologica che disegna l'albero vascolare (macro e microcircolo) facilitando la diagnosi differen-

ziale delle lesioni espansive. L'analisi della deformazione tissutale o strain generata con l'elasto-comprensione della sonda o di un fascio US di alta potenza acustica consente di analizzare qualitativamente e quantitativamente le variazioni di elasticità-rigidità dei tessuti.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

CONTRIBUTI ECONOMICI AGLI AUTORI

Gli Autori dichiarano di non aver ricevuto sponsorizzazioni economiche per la preparazione dell'articolo.

La versione multimediale della rassegna è liberamente consultabile sul sito www.econefro.org

BIBLIOGRAFIA

- Meola M. Ecografia clinica e color Doppler in Nefrologia. Vol. 1. Capp.1-3. pp. 3-96. Eureka Editore Lucca 2007.
- Ermett H. Signal processing in functional and morphological ultrasound imaging. In: Bogdan U, Becker G, Schlaetzki F. (Eds): Echoenhancers and Transcranial Duplex sonography. Blackwell Wiss.-Verlag, Berlin 1998.
- Gebel M. Ultrasound in gastroenterology and hepatology. Gebel M. (Ed): Physical and technical principles. Blackwell Wiss.-Verlag, Berlin, 1998.
- Hedrick WR, Hykes L, Starchman DE. Ultrasound Physics and Instrumentation. Cap.1 pp. 18-36. Mosby, St. Louis, 1995.
- Hricak H. Renal ultrasound. Sarti DA (Ed): Diagnostic ultrasound. Text and cases. 2nd ed. Cap. 9. pp. 350-64. Year Book, Chicago 1987.
- Pisani R, Liboni W. Principi fisici degli ultrasuoni. In: Ecodoppler vascolare. Rabbia C, De Lucchi R, Cirillo R (Eds). Edizioni Minerva Medica, Torino, 1999.
- Rizzatto G. Evolution of ultrasound transducers: 1.5 and 2D arrays. Eur Radiol 1999; 9: S304-6.
- Whittingham TA. An overview of digital technology in ultrasonic imaging. Eur Radiol 1999; 9: S307-11.
- Whittingham TA. Broadband transducers. Eur Radiol 1999; 9: S298-303.
- Zagzebski JA. Physics of diagnostic ultrasound. Essentials of Ultrasound Physics. Zagzebski JA, Ed. Cap. 1, pp. 20-8. Mosby, St. Louis, 1996.
- Meire HB. Doppler. Chap. 6: pp. 81-113. In: Abdominal and General Ultrasound. Ed. Meire H, Cosgrove D, Dewbury K, Farrant P. Churchill Livingstone, London 2003.
- Cosgrove D, Lassau N. Imaging of perfusion using ultrasound. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2010; 37 (Suppl. 1): S65-85.
- Lencioni R, Cioni D, Bartolozzi C. Tissue harmonic and contrast-specific imaging: back to gray scale in ultrasound. Eur Radiol 2002; 12: 151-65.
- Correas JM, Bridal L, Lesavre A, Méjean A, Claudon M, Hélenon O. Ultrasound contrast agents: properties, principles of action, tolerance, and artifacts. Eur Radiol 2001; 11: 1216-328.
- Schwenger V, Korosoglou G, Hinkel UP, et al. Real-time contrast-enhanced sonography of renal transplant recipients predicts chronic allograft nephropathy. Am J Transplant 2006; 6: 609-15.
- 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.
- Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, et al. Quantification of myocardial blood flow using ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a contrast venous infusion. Circulation 1998; 97: 473-83.
- 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.
- 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.
- Lucidarme O, Franchi-Abella S, Correas JM, et al. Blood flow quantification with contrast-enhanced US: "entrance in the section" phenomenon--phantom and rabbit study. Radiology 2003; 228: 473-9.
- Nightingale K, Soo MS, Nightingale R, Trahey G. Acoustic radiation force impulse imaging: in vivo demonstration of clinical feasibility. Ultrasound Med Biol 2002; 28: 227-35.
- Melodelima D, Bamber JC, Duck FA, Shipley JA. Transient elastography using impulsive ultrasound radiation force: a preliminary comparison with surface palpation elastography. Ultrasound Med Biol 2007; 33: 959-69.
- Nightingale K, McLeavey S, Trahey G. Shear-wave generation using acoustic radiation force: in vivo and ex vivo results. Ultrasound Med Biol 2003; 29: 1715-23.
- Garra BS. Imaging and estimation of tissue elasticity by ultrasound. Ultrasound Q 2007; 23: 255-68.