

Linfoma intraocular em cães - achados da ultrassonografia contrastada e elastografia ARFI

Intraocular Lymphoma in Dogs - Findings of Contrast Enhanced Ultrasound and ARFI Elastography

Gabriela Morais Madruga¹, Igor Cezar Kniphoff da Cruz¹, Rafael Kretzer Carneiro¹,
Marcus Antônio Rossi Feliciano², Marjory Cristina Maronez¹, Ricardo Ramirez Uscategui³,
Thais Guimarães Morato Abreu¹ & Eduardo Perlmann⁴

ABSTRACT

Background: Ocular lymphoma can affect the iris, conjunctiva, choroid, and retina and is mostly associated with multicentric disease. Elastography is an ultrasound technique that provides noninvasive, pain-free assessment of tissue stiffness. It has the ability to assess subtle changes throughout the organ as well as focal lesions. Microbubble contrast ultrasound enables the detection of incipient vascular flows, which are difficult to detect using traditional ultrasound methods. This study aimed to describe acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography and microbubble contrast ultrasound findings in the eyes of two dogs diagnosed with intraocular T-cell lymphoma.

Cases: *Case 1.* Physical examination revealed an exophytic mass in the left eye. Schirmer test revealed a secretion of 22 mm/min. Negative threat reflex, glare, direct pupillary light reflex, and consensual response were also noted. Biomicroscopy revealed hyperplasia of the third eyelid, overlapping with the affected eye. When the membrane was removed, moderate conjunctival hyperemia, mucoid secretion, and buphthalmia were observed. In addition, significant corneal edema was present, making it impossible to visualize the anterior chamber and perform fundus examination. The intraocular pressure, as measured with a rebound tonometer, was 39 mmHg. B-mode ultrasonography identified amorphous, hyperechoic, and heterogeneous structures throughout the anterior chamber, iris, and ciliary body. The elastogram showed that the mass had greenish tones and intermediate stiffness, and the mean SWV of the ciliary body and iris was 2 m/s. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) revealed vascularization of the neof ormation region, with wash-in, peak, and wash-out values of 9.89 s, 24.56 s, and 107.87 s, respectively. *Case 2.* On physical examination, a change in the shape of the right pupil was observed. Schirmer test revealed a secretion of 20 mm/min, with negative threat, glare, and pupillary reflexes to direct and consensual light. Biomicroscopy revealed neof ormation from 7 am to 11 am in the sclera, retina, and choroid complex, concomitant with dyscoria and conjunctival hyperemia. The intraocular pressure, as measured by rebound tonometry, was 33 mmHg. Fundoscopy revealed a mass in the temporal region and focal retinal detachment. No changes were observed in the contralateral eye. B-mode ultrasound revealed an increase in volume in the temporal region of the iris, ciliary body, and choroid with diffuse heterogeneity and partial retinal detachment. Elastographic examination revealed shades of green and yellow compatible with increased tissue stiffness. On quantitative examination, the mean SWVs of the ciliary body and iris were 3.14 m/s. On CEUS, the neof ormation region presented wash-in, peak, and wash-out values of 8.67 s, 22.33 s, and 80.20 s.

Discussion: B-mode ultrasonography established the tumor extent and evaluated echogenicity, verifying the involved ocular structures. The examination played an important role in the diagnosis as well as clinical management. ARFI elastography can detect small tissue changes, helping to define nodules and masses more reliably, in addition to allowing the verification of tissue stiffness. In both dogs, it was possible to verify that the masses presented greater rigidity than the adjacent tissues both qualitatively and quantitatively. In previous studies, it was found that cutaneous and breast lymphomas in humans were more rigid than adjacent tissues on elastography. This increase in rigidity and heterogeneity observed on elastograms can be explained by the extramedullary interactions of the matrix in T-cell lymphomas. Tumor growth is dependent on the blood supply, which was evaluated using CEUS in these cases. Furthermore, the ciliary body contrast filling times were longer than those described in normal dogs.

Keywords: eye, surgery, diagnostic imaging, pain, veterinary ophthalmology, neoplasia.

Descritores: olho, cirurgia, diagnóstico por imagem, dor, oftalmologia veterinária, neoplasia.

DOI: 10.22456/1679-9216.121902

Received: 7 January 2022

Accepted: 23 April 2022

Published: 13 May 2022

¹Department of Veterinary Surgery, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, Brazil. ²Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, SP. ³Grupo de Investigación INCA-CES, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad CES, Medellín, Colombia. ⁴Private Veterinary Practitioner, São Paulo, SP. CORRESPONDENCE: M.A.R. Feliciano [marcusfeliciano@yahoo.com.br]. FZEA - USP. Rua Duque de Caxias n. 225. CEP 13635-000 Pirassununga, SP, Brazil.

INTRODUÇÃO

O Linfoma é neoplasia intraocular frequente nos cães que pode acometer a úvea, esclera, conjuntiva e a retina [15]. A terapêutica adequada fundamenta-se no diagnóstico precoce de forma que a ultrassonografia é frequentemente utilizada como método de imagem auxiliar para a avaliação intraocular em humanos [17].

A elastografia é técnica ultrassonográfica que permite avaliar a rigidez tecidual de forma indolor e não-invasiva [23]. Na medicina, há estudos em córnea, lente e bulbo ocular, enquanto na veterinária foram avaliados o corpo ciliar, a lente e o nervo óptico [2,5,6,24]. Além da avaliação de estruturas e órgãos hígidos, a elastografia é utilizada para identificação e diferenciação de neoplasmas mamários e prostáticos em humanos [22] e tumores cutâneos, subcutâneos e de mama em cães [4,8].

Ultrassonografia com contraste por microbolhas (CEUS) auxilia na avaliação da vascularização e perfusão tecidual, permitindo inferir sobre a viabilidade vascular [26] detectando lesões primárias ou metastáticas difíceis de serem percebidas pela ultrassonografia modo-B [3,19]. Na medicina, a CEUS é empregada na avaliação de melanoma uveal, melanoma coroidal e descolamento de retina [21,25,27]. Em melanoma uveal, a CEUS identificou diminuição da vascularização do tecido tumoral após radioterapia [25], demonstrando sua contribuição o diagnóstico e acompanhamento da terapêutica.

O objetivo deste trabalho é descrever características morfológicas, de rigidez e de perfusão tecidual da íris e corpo ciliar observadas em 2 caninos acometidos por linfoma intraocular de células T, avaliados por meio de ARFI e CEUS.

CASOS

Dois cães foram atendidos com queixa de fotofobia, blefarospasmo e hiperemia conjuntival unilateral por aproximadamente um mês, a despeito de tratamentos prévios a base de colírios. Após exame físico oftálmico e confirmação das alterações relatadas, suspeitou-se de lesão tumoral unilateral nos 2 casos, sendo solicitada avaliação ultrassonográfica ocular para complementação diagnóstica. Este estudo foi realizado em 3 etapas: ultrassonografia modo-B (Acuson S2000)¹, elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse)¹ e ultrassonografia com contraste por microbolhas (CEUS)¹.

Os pacientes foram posicionados em decúbito esternal e optou-se pela técnica corneal com auxílio de gel sob instilação prévia de colírio anestésico a base de cloridrato de proximetacaína 0,5% (Anestalcon)². Por ultrassonografia modo-B¹, foram identificadas as neoformações, as quais foram avaliadas conforme as características de ecogenicidade, ecotextura, formato e mensurações.

Por elastografia ARFI¹, as estruturas foram avaliadas de forma qualitativa e quantitativa. Na primeira etapa, foram obtidos elastogramas em cores para avaliação da rigidez estrutural (vermelho: alta rigidez; amarelo e verde: rigidez intermediária; azul: baixa rigidez). Para estudo quantitativo, mensurou-se a velocidade de cisalhamento de onda (SWV) em 4 diferentes pontos das neoformações, sendo calculada a média desses resultados.

Para realização da CEUS, utilizou-se software específico de contraste³, com imagem harmônica secundária e técnica de pulso invertido. Previamente ao exame, os cães foram submetidos à cateterização da veia cefálica. Após a delimitação da área a ser avaliada, a probe manteve-se estável e os parâmetros ajustáveis, tais como profundidade, ganho, índice mecânico e zonas focais, foram otimizados e mantidos. Imediatamente, o agente de contraste por microbolhas (SonoVue)⁴ foi administrado pela via intravenosa na dose de 0,01 mL/kg e, contiguamente, administrou-se 5 mL de cloreto de sódio 0,9%. Os vídeos e imagens foram avaliados de acordo com a presença ou ausência de microbolhas em corpo ciliar e íris nos tempos de entrada (wash-in), pico de realce e saída (wash-out).

Caso 1. Um cão sem raça definida de 8 anos foi atendido com histórico de surgimento de uma massa de crescimento exofítico em olho esquerdo. Ao exame oftálmico, realizou-se o teste lacrimal de Schirmer, com resultado de 22 mm/min. O reflexo de ameaça, de ofuscamento e reflexo pupilar direto à luz foi direto negativo em olho esquerdo e o consensual resultou negativo em ambos os olhos. Pela biomicroscopia, constatou-se hiperplasia da terceira pálpebra sobrepondo todo olho esquerdo do paciente. Ao afastar a membrana com auxílio de uma pinça anatômica com dente, observou-se hiperemia conjuntival moderada, secreção mucóide e buftalmia.

Ainda, foi observado edema corneano importante, impossibilitando a visibilização da câmara anterior e o exame de fundoscopia. A pressão intrao-

cular realizada com tonômetro de rebote foi de 39 mmHg. O olho contralateral não apresentava nenhuma alteração digna de nota e o teste de tingimento com fluoresceína foi negativo em ambos os olhos. Ao exame físico geral, o paciente apresentava apenas sinais de caquexia não sendo observadas outras alterações. Ademais, obteve-se perfil hematológico e bioquímico (hemograma, alanina aminotransferase (ALT), albumina, creatinina e uréia), com resultados dentro dos parâmetros considerados normais para a espécie.

Por meio de ultrassonografia modo-B¹, identificou-se a presença de uma estrutura amorfa, hiperecogênica e heterogênea em toda a extensão da câmara anterior, íris e corpo ciliar do OE (Figura 1B). Ao elastograma, verificou-se que a massa apresentava tonalidades esverdeadas, compatíveis com rigidez intermediária, de forma que essa rigidez se mostrou maior que a dos tecidos adjacentes (Figura 1C). A média da SWV do corpo ciliar e da íris foi de 2 m/s. Pela CEUS, notou-se que a região da neoformação se apresentava bastante vascularizada, com wash-in, peak e wash-out de 9.89s, 24.56s e 107.87s, respectivamente (Figura 1D).

O estadiamento incluiu exames de imagem, no entanto, tanto na radiografia torácica quanto na ultrassonografia abdominal não foram identificados sinais de metástase. Sendo assim, o paciente foi submetido à enucleação do OE e o bulbo ocular foi depositado em formol 10%, sendo posteriormente encaminhado para avaliação histopatológica, com diagnóstico definitivo de linfoma (Figura 1E). No exame de imunohistoquímica, a neoplasia foi classificada como linfoma de células T com marcador CD3+ (Figura 1F). Contudo, antes que pudesse ser instituído o protocolo quimioterápico, o paciente foi a óbito (após 15 dias do procedimento cirúrgico).

Caso 2. Uma cadela da raça American Pit Bull, de 7 anos, foi atendida com queixa de alteração no formato da pupila do olho direito. Ao exame oftálmico, o teste lacrimal de Schirmer foi de 20 mm para o olho direito (OD) e os reflexos de ameaça, ofuscamento e reflexo pupilar à luz direto e consensual obtidos foram negativos no mesmo olho. Pela biomicroscopia constatou-se neoformação das 7 às 11 h em complexo esclera, retina e coróide do OD, concomitante à discoria e hiperemia conjuntival (Figura 2A).

A pressão intraocular obtida através de tonometria de rebote foi de 33 mmHg. À fundoscopia do olho direito pode-se observar uma massa em região

temporal e descolamento focal da retina. O teste de tingimento com fluoresceína foi negativo em ambos os olhos. Nenhuma alteração fora observada no olho contralateral. Ao exame físico geral o paciente apresentava parâmetros fisiológicos dentro da normalidade para a espécie. Realizou-se hemograma completo, no qual pode-se observar uma diminuição do hematócrito (HT20%). Os exames bioquímicos realizados (alanina aminotransferase (ALT), albumina, creatinina, uréia, proteína total e globulina) não apresentaram alterações.

A ultrassonografia ocular modo-B¹ revelou um aumento de volume em região temporal de íris, corpo ciliar e coróide, com heterogeneidade difusa e descolamento parcial da retina (Figura 2B). Ao exame elastográfico, notou-se tonalidades de verde e amarelo, compatíveis com aumento da rigidez tecidual comparado aos tecidos adjacentes. No exame quantitativo, a média da SWV do corpo ciliar e íris foi 3.14 m/s (Figura 2C). Pela CEUS, a região da neoformação apresentou-se bastante vascularizada, com wash-in, peak e wash-out de 8.67s, 22.33s e 80.20s, respectivamente (Figura 2D).

Ao serem realizadas radiografias simples de tórax não foram identificadas evidências de nódulos metastáticos em campos pulmonares, todavia, por meio de ultrassonografia abdominal, notou-se presença de massa em região mesogástrica. A estrutura foi descrita como amorfa e heterogênea, localizada mediocranialmente aos rins e em contato com artéria aorta e veia cava caudal, apresentando áreas anecogênicas e hiperecogênicas, não passível de mensuração, sugerindo-se neoformação em adrenal direita ou neoformação mediastinal. O paciente foi submetido à biópsia guiada por ultrassom do nódulo intra-abdominal, pelo qual obteve-se o diagnóstico de linfoma. O paciente foi à óbito após 7 dias do diagnóstico e, nesta ocasião, realizou-se a enucleação com intuito diagnóstico post mortem. No exame histopatológico constatou-se que também se tratava de linfoma em OD (Figura 2E) e, posteriormente, realizou-se exame imunohistoquímico, sendo o resultado compatível com linfoma de células T [marcador de CD3+] (Figura 2F).

DISCUSSÃO

Em ambos os casos descritos, foi possível estabelecer as características ultrassonográficas das neoplasias oculares por meio das 3 técnicas utilizadas (modo-B, elastografia ARFI e CEUS), complementan-

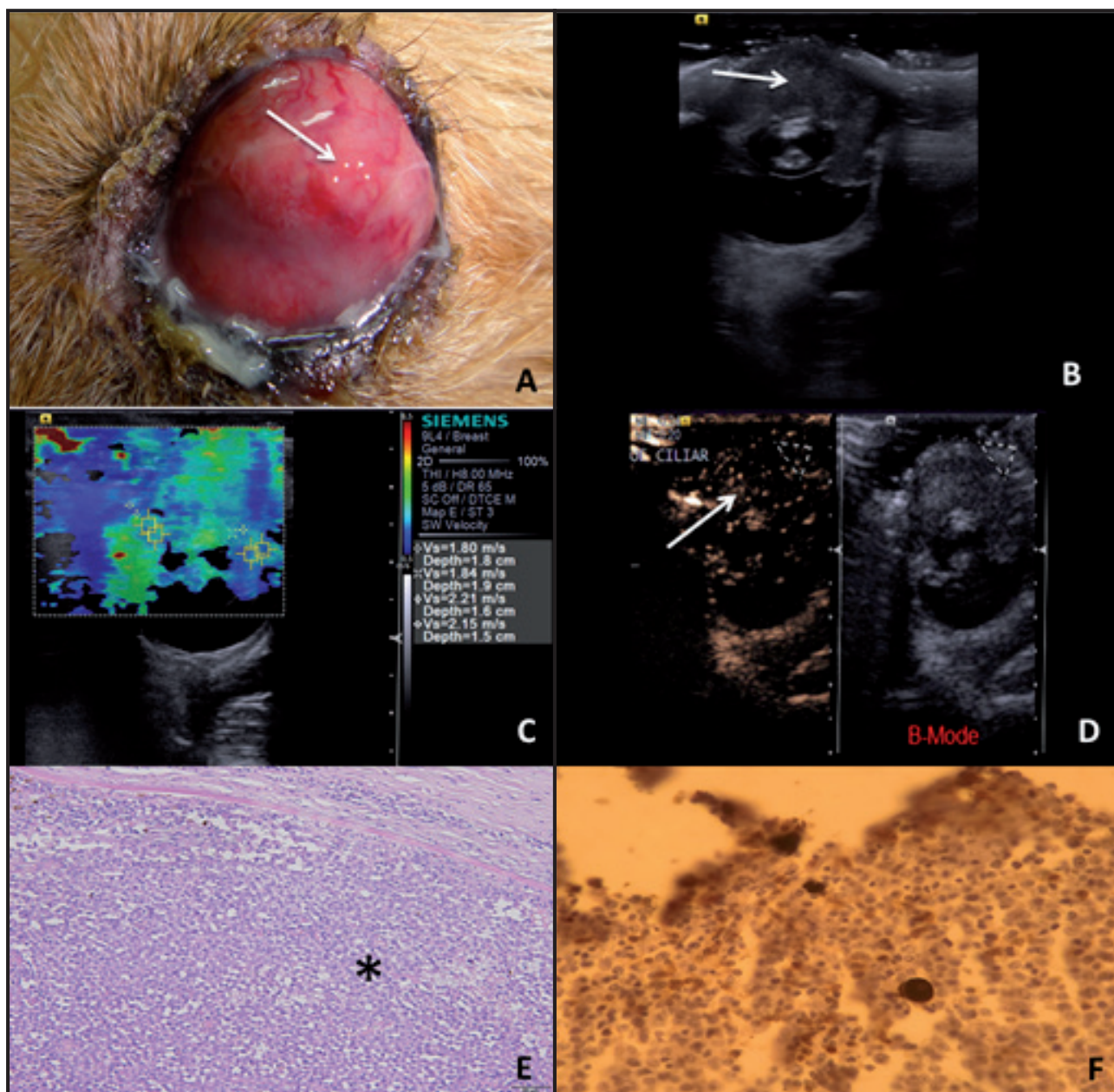


Figura 1. Imagens do olho esquerdo de um canino com linfoma ocular de células T (Caso 1). A- Fotografia do olho do paciente apresentando hipertrofia da 3ª pálpebra, pressionando o bulbo ocular. Nota a presença de folículos em região central (seta) e secreção mucopurulenta. B- Imagem da ultrassonografia ao modo-B do bulbo ocular, na qual nota-se neoformação hiperecogênica e heterogênea em toda a extensão da câmara anterior (seta), além da presença de catarata madura. C- Imagem obtida por elastografia ARFI do bulbo ocular, que demonstrou leve aumento da rigidez em corpo ciliar e íris (tonalidades esverdeadas e média de SEV de 2 m/s). D- Imagem da CEUS do bulbo ocular demonstrando o preenchimento do contraste de modo difuso e heterogêneo em corpo ciliar, íris e em toda câmara anterior (seta). E- Imagem de microscopia do tecido conjuntival da terceira pálpebra demonstrando a presença de células neoplásicas acometendo a câmara anterior (asterisco). F- Imagem de imunohistoquímica demonstrando a fraca positividade para o marcador CD3 [IHC; 400x].

do o diagnóstico com informações sobre à extensão tumoral, rigidez e vascularização/perfusão tecidual. Até o momento não há estudos demonstrando a aplicabilidade da elastografia ARFI e da CEUS na avaliação de linfomas intraoculares, tanto na medicina quanto na veterinária, e o presente trabalho traz informações importantes que podem auxiliar na decisão e conduta terapêutica em casos com esse tipo de neoplasia.

A ultrassonografia modo-B é rotineiramente utilizada na avaliação oftalmológica, pois permite a identificação e mensuração de todas as estruturas internas do bulbo ocular principalmente quando estes são impossíveis de serem visibilizados à olho nu ou ao exame biomicroscópico devido à perda da transparência de meios como, no edema corneano, no hifema, nas cataratas ou hemorragias vítreas, por exemplo [7,12]. Por meio

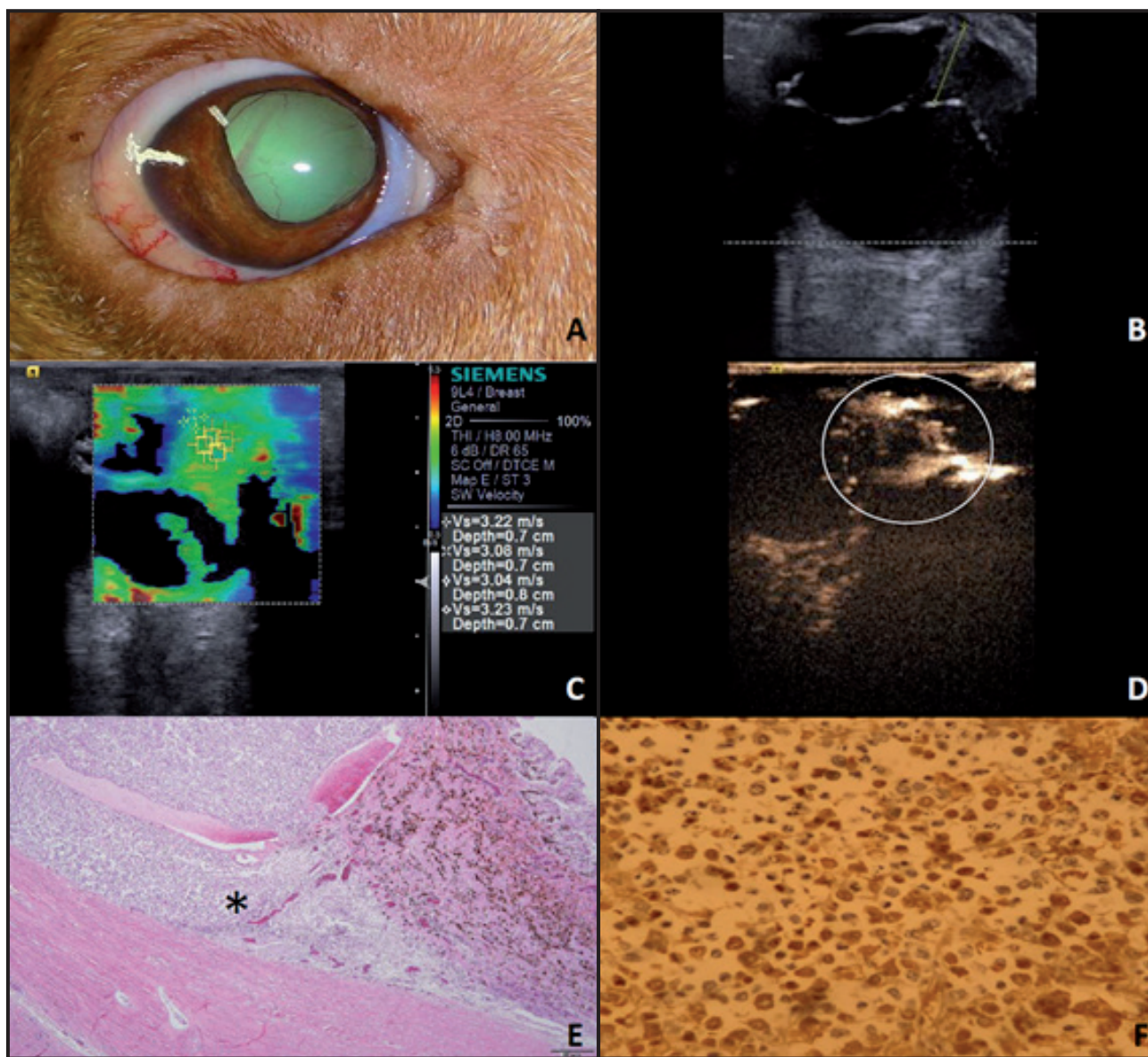


Figura 2. Imagens do olho direito de um canino com linfoma de células T (Caso 2). A- Fotografia do olho do paciente apresentando discoria (seta), rubeosis iridis, hiperemia conjuntival com leve quemose, além de câmara anterior diminuída e com vascularização tênue da retina, característico de descolamento retiniano. B- Imagem da ultrassonografia modo-B do bulbo ocular, na qual nota-se a presença de aumento de volume em região temporal de íris, corpo ciliar e coróide, com heterogeneidade difusa, e descolamento parcial da retina. C- Imagem da elastografia ARFI do bulbo ocular apresentando aumento da rigidez da neoformação (tonalidades verdes e amarelas e SWV média de 3,14 m/s). D- Imagem da ultrassonografia com contraste por microbolha do bulbo ocular. Nota-se o preenchimento heterogêneo e aumentado do contraste em neoformação. E- Imagem de microscopia demonstrando a presença de células neoplásicas invadindo o corpo ciliar (asterisco). F- Imagem de imunohistoquímica evidenciando forte positividade para o marcador CD3 [IHC; 400x].

desta técnica padrão, foi possível estabelecer a extensão tumoral nos casos relatados e avaliar a ecogenicidade, verificando quais estruturas oculares estavam envolvidas no processo e alterações associadas, como preenchimento de toda extensão da câmara anterior pela neoplasia, envolvimento de corpo ciliar e íris e o descolamento de retina. Em ambos os casos o exame foi importante tanto no diagnóstico quanto no auxílio à conduta clínica tendo em vista que, no caso 1, o edema corneano impedia a avaliação das estruturas intraoculares e, no caso 2, permitiu a localização exata da neoformação.

Estudos prévios afirmam que a elastografia ARFI é capaz de detectar pequenas mudanças teciduais (contornos e modificação no aspecto tecidual), as vezes não visíveis ao modo-B, auxiliando na definição de nódulos e massas de forma mais fidedigna, além de permitir verificar a rigidez tecidual [8,10,14]. Embora não tenham sido descritos estudos que demonstrem as características elastográficas dos tumores oculares em animais de companhia, foi possível verificar que as massas se apresentavam mais rígidas que os tecidos adjacentes, sendo a rigidez verificada tanto pelo método

qualitativo quanto quantitativo. Em comparação aos estudos já realizados com tumores mamários, cutâneos e subcutâneos em cães, o aumento da rigidez tecidual pode estar associado com malignidade tumoral, de forma que essa alteração pode ser justificada pelas características de agressividade, como aumento dos níveis de colágeno/reação estromal, fibrose ou microcalcificações [4,9].

Em trabalhos prévios, foi verificado que o linfoma cutâneo e mamário, em humanos, mostrou-se mais rígido quando comparado aos tecidos adjacentes na elastografia, assim como verificado no presente estudo [11,20]. Esse aumento de rigidez e heterogeneidade observados pelo elastograma nos 2 casos relatados podem ser justificados pelas interações extra medulares da matriz nos linfomas de células T, as quais estão associadas aos níveis de colágeno tipos I (alfa 1 e alfa 2) e III (alfa 1), fibronectina 1 e inibidor de metalopeptidase 1, 2 e 3 [13].

Considerando que o crescimento tumoral é dependente do suprimento sanguíneo, a neovascularização ocorre durante a progressão da neoplasia, período no qual se nota a presença de múltiplos vasos e capilares distribuídos pelo tecido neoplásico [18] e, desta forma, foi verificada intensa neovascularização nos 2 casos relatados com a utilização da CEUS. Ainda, os tempos de preenchimento por contraste do corpo ciliar nos pacientes com linfoma de células T foram maiores que descritos em cães normais (wash in $8,37 \pm 2,21$ s; peak $16,34 \pm 1,58$ s; wash-out $26,34 \pm 1,34$ s) por Abreu et al. [1]. Essa alteração de preenchimento pode ser observada em lesões malignas, uma vez que estas apresentam vasos com flutuação de calibre, de curso irregular e com formação de sinusóides e derivações arteriovenosas [28]. Além disso, estudos realizados em humanos também verificaram aumento do wash out

em melanomas uveais, de forma que os autores justificaram que essa alteração ocorre devido à velocidade de fluxo sanguíneo ser mais lenta na neoplasia quando se trata da saída do contraste da área afetada [16,25].

Cabe salientar que algumas limitações foram observadas durante a avaliação dos 2 pacientes. Primeiramente, a quantidade de casos é relativamente baixa para inferir e abranger os resultados a todos os linfomas intraoculares, sendo necessário um estudo com maior número de casos de linfoma intraocular para determinação de valores de referência. Segundo, para a realização do CEUS os pacientes não puderam ser anestesiados para não comprometer o fluxo sanguíneo e o exame ser subestimado. Sendo assim, a movimentação ocular dos 2 animais durante o exame promoveu maior dificuldade na análise. Desta forma, encoraja-se a realização de novos estudos envolvendo lesões benignas e malignas em tecidos oculares de cães a fim de estabelecer a relação entre os achados elastográficos e de CEUS com a malignidade tumoral.

MANUFACTURERS

¹Siemens. Munich, Germany.

²Alcon Laboratórios. São Paulo, SP, Brazil.

³Cadence Design Systems. San Jose, CA, USA.

⁴Bracco Imaging do Brasil Importação e Distribuição de Medicamentos Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

Acknowledgements. The authors would like to thank the National Council for Scientific and Technological Development (process nº (n.305182/2020-0) and Research Support Foundation of the State of São Paulo (2017/14957-6 e 2019/15282-8). The authors also thank Jair Matos and Siemens Healthineers for technical assistance.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of paper

REFERENCES

- 1 Abreu T.G.M., Feliciano M.A.R., Maronezi M.C., Uscategui R.A.R., Madruga G.M., Kobashigawa K.K., Crivelaro R.M., Thiesen R. & Laus J.L. 2018. Contrast-enhanced ocular ultrasonography in brachycephalic dogs. *Acta Scientiae Veterinariae*. 46: 1523. 7p.
- 2 Abreu T.G.M., Feliciano M.A.R., Renzo R., Kobashigawa, K.K., Chacaltana F.D.Y.C., Crivelaro, R.M., Silveira, C.P.B., Cruz N.R.N., Aldrovani M., Maronezi M.C., Silva P.A., Thiesen R. & Laus J.L. 2018. Acoustic radiation force impulse elastography of the eyes of brachycephalic dogs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 70(4): 1045-1052.
- 3 Borghi C., Aiani L., Sopransi M., Belloni G. & Martegani A. 2004. Current state of the use of sonographic contrast agents with low acoustic pressure techniques in the study of focal liver lesions. *La Radiologia Medica*. 107(3): 174-186.
- 4 Cruz I.C.K., Carneiro R.K., De Nardi, A.B., Uscategui R.R., Bortoluzzi E.M. & Feliciano M.A.R. 2022. Malignancy prediction of cutaneous and subcutaneous neoplasms in canines using B-mode ultrasonography, Doppler, and ARFI elastography. *BMC Veterinary Research*. 18(10): 1-13.

- 5 Detorakis E.T., Drakonaki E.E., Ginis H., Karyotakis N. & Pal-Likaris I.G. 2014. Evaluation of iridociliary and lenticular elasticity using shear-wave elastography in rabbit eyes. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 57(1): 9-14.
- 6 Detorakis ET, Drakonaki EE, Tsilimbaris MK, Pallikaris IG. & Giarmenitis S. 2010. Real-time ultrasound elastographic imaging of ocular and periocular tissues: a feasibility study. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 41(1): 135-141.
- 7 Dietrich U. 2013. Diagnostic ultrasonography. In: Gelatt K.N., Gilger B. & Kern T.J. (Eds). *Veterinary Ophthalmology*. 5th edn. Ames: Wiley and Sons, pp.678-679.
- 8 Feliciano M.A.R., Maronezi M.C., Pavan L., Castanheira T.L., Simões A.P.R., Carvalho C.F., Canola J.C. & Vicente W.R.R. 2014. ARFI elastography as complementary diagnostic method of mammary neoplasm in female dogs - preliminary results. *Journal of Small Animal Practice*. 55(10): 504-508.
- 9 Feliciano M.A.R., Uscategui R.A.R., Maronezi M.C., Simões A.P.R., Silva P., Gasser B., Pavan L., Carvalho C.F., Canola J.C. & Vicente W.R.R. 2017. Ultrasonography methods for predicting malignancy in canine mammary tumors. *PLOS One*. 12(5): e0178143.
- 10 Feliciano M.A.R., Maronezi M.C., Simões A.P.R., Uscategui R.R., Maciel G.S., Carvalho C.F., Canola J.C. & Vicente W.R.R. 2015. Acoustic radiation force impulse elastography of prostate and testes healthy dogs: preliminary results. *Journal of Small Animal Practice*. 56(5): 320-324.
- 11 Gkali C.A., Chalazonitis A.N., Feida E., Giannos A., Sotiropoulou M., Dimitrakakis C. & Loutradis D. 2015. Primary Non-Hodgkin Lymphoma of breast. *Ultrasound Quarterly*. 31(4): 279-282.
- 12 Hager D.A., Dziezyc J. & Millchamp N.J. 1987. Two-dimensional real-time ocular ultrasonography in the dog. *Veterinary Radiology and Ultrasound*. 28(2): 60-65.
- 13 Huang Y., Reyniès A., Leval L., Ghazi B., Garcia N.M., Travert M., Bosq J., Briere J., Petit B., Thomas E., Coppo P., Marafioti T., Emile J.F., Larue M.H.D., Schmitt C. & Gaulard P. 2010. Gene expression profiling identifies emerging oncogenic pathways operating in extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *Blood*. 115(6): 1226-1237.
- 14 Khorramshahi O., Schartau J.M. & Kroger R.H.H. 2008. A complex system of ligaments and a muscle keep the crystalline lens in place in the eyes of bony fishes (teleosts). *Vision Research*. 48(13): 1503-1508.
- 15 Lanza M.R., Musciano A.R., Dubielzig R.D. & Durham A.C. 2018. Clinical and pathological classification of canine intraocular lymphoma. *Veterinary Ophthalmology*. 21(2): 167-173.
- 16 Lemke A.J., Hosten N., Richter M., Bechrakis N.E., Foerster P., Puls R., Gutberlet M. & Felix R. 2001. Contrast-enhanced color Doppler sonography of uveal melanomas. *Journal of Clinical Ultrasound*. 29(4): 205-211.
- 17 Maheshwari A. & Finger P.T. 2018. Cancers of the eye. *Cancer and Metastasis Reviews*. 37(4): 677-690.
- 18 Nagy J.A., Chang S.H., Shih S.C., Dvorak A.M. & Dvorak H.F. 2010. Heterogeneity of the tumor vasculature. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 36(3): 321-331.
- 19 Pompili M., Riccardi L., Semeraro S., Orefice R., Elia F., Barbaro B., Covino M., Grieco A., Gasbarrini G. & Rapaccini G.L. 2008. Contrast-enhanced ultrasound assessment of arterial vascularization of small nodules arising in the cirrhotic liver. *Digestive and Liver Disease*. 40(3): 206-2015.
- 20 Schmid-Wendtner M.H., Hinz T., Wenzel J. & Wendtner C.M. 2011. Real time tissue elastography for diagnosis of cutaneous T-cell lymphoma. *Leukemia & Lymphoma*. 52(4): 713-715.
- 21 Sconfienza L.M., Lacelli F., Perrone N., Bertolotto M., Padolecchia R. & Serafini G. 2010. High-resolution, three-dimensional, and contrast-enhanced ultrasonographic findings in diseases of the eye. *Journal of Ultrasound*. 13(4): 143-149.
- 22 Srinivasan S., Krouskop T. & Ophir J. 2004. A quantitative comparison of modulus images obtained using nanoindentation with strain elastograms. *Ultrasound in Medicine and Biology*. 30(7): 899-914.
- 23 Stenzel M. & Mentzel H.J. 2014. Ultrasound elastography and contrast-enhanced ultrasound in infants, children and adolescents. *European Journal of Radiology*. 83(9): 1560-1569.
- 24 Tanter M., Touboul D., Gennisson J.L., Bercoff J. & Fink M. 2009. High-resolution quantitative imaging of cornea elasticity using supersonic shear imaging. *IEEE Trans Medical Imaging*. 28(12): 1881-1893.
- 25 Venturini M., Colantoni C., Modorati G., Di Nicola M., Colucci A., Agostini G., Picozzi P., De Cobelli F., Parmiani G., Mortini P., Bandello F. & Del Maschio A. 2015. Preliminary Results of Contrast-Enhanced Sonography in the Evaluation of the Response of Uveal Melanoma to Gamma-Knife Radiosurgery. *Journal of Clinical Ultrasound*. 43(7): 421-430.

- 26 Wang Y., Fan W., Zhao S., Zhang K., Zhang L., Zhang P. & Ma R. 2016.** Qualitative, quantitative and combination score systems in differential diagnosis of breast lesions by contrast-enhanced ultrasound. *European Journal of Radiology*. 85(1): 48-54.
- 27 Yang W.L., Wei W.B., Li D.J. 2012.** Quantitative parameter character of choroidal melanoma in contrast enhanced ultrasound. *Chinese Medical Journal*. 125(24): 4440-4444.
- 28 Zhao Y., Li P., Fan W., Chen D., Gu Y., Lu D., Zhao F., Hu J., Fu C., Chen X., Zhou L. & Mao Y. 2010.** The rs522616 polymorphism in the matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) gene is associated with sporadic brain arteriovenous malformation in a Chinese population. *Journal of Clinical Neuroscience*. 17(12): 1570-1572.