

Aus der
Klinik für Kleintiere
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Vergleich der Ultraschallkontrastmittel
Levovist[®] und SonoVue[®] verabreicht als Bolus und
Infusionsapplikation bei Hunden**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Peter Himmelsbach
aus Mannheim

Leipzig, 2006

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. med. vet. Karsten Fehlhaber
Betreuer: Prof. Dr. med. vet. Gerhard Oechtering

Gutachter: Prof. Dr. med. vet. Gerhard Oechtering,
Klinik für Kleintiere,
Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

Prof. Dr. James Ferguson,
Chirurgische Tierklinik,
Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

Prof. Dr. med. vet. Martin Kramer,
Klinik für Kleintiere,
Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Tag der Verteidigung: 02. Mai 2006

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	3
2.1 Allgemeine Grundlagen der Sonographie	3
2.2 Dopplersonographie	4
2.2.1 Dopplerprinzip	4
2.2.2 Dopplerverfahren	5
2.2.2.1 Spektraldoppler	5
2.2.2.1.1 PW-Doppler	6
2.2.2.2 Audiodoppler	9
2.3 Ultraschallkontrastmittel	9
2.3.1 Grundlagen	9
2.3.1.1 Einsatz und Entwicklung	9
2.3.1.2 Mikrobläschenkontrastmittel	10
2.3.1.2.1 Einteilung nach Generationen	11
2.3.1.2.2 Einteilung nach Art der Hülle	12
2.3.1.2.3 Einteilung nach Wirkort	12
2.3.2 Mikrobläschenkontrastmittel	13
2.3.2.1 Physikalische Grundlagen und Wirkungsweise	13
2.3.2.2 Mikrobläschendynamik	14
2.3.2.3 Mikrobläschenkinetik	16
2.3.2.4 Bildliche Nutzung nicht-linearer Streuungsphänomene	18
2.3.2.4.1 Harmonische Bildgebung	18
2.3.2.4.2 Stimulierte Akustische Emission (SAE)	19
2.3.2.5 Kontrastmittelanwendung in verschiedenen Ultraschallmodi	19
2.3.3 Spezielle Ultraschallkontrastmittel	20
2.3.3.1 Levovist [®]	20
2.3.3.1.1 Chemisch-Physikalische Eigenschaften	21
2.3.3.1.2 Pharmakodynamische Eigenschaften	21
2.3.3.1.3 Pharmakokinetische Eigenschaften	22
2.3.3.1.4 Wirkprinzip von Levovist [®]	22
2.3.3.1.5 Indikationen	23
2.3.3.1.6 Sicherheitsuntersuchungen und unerwünschte Wirkungen	23
2.3.3.1.7 Kontraindikationen	25
2.3.3.2 SonoVue [®]	25
2.3.3.2.1 Chemisch-Physikalische Eigenschaften	26
2.3.3.2.2 Pharmakodynamische Eigenschaften	27

2.3.3.2.3 Pharmakokinetische Eigenschaften	27
2.3.3.2.4 Wirkprinzip von SonoVue®	28
2.3.3.2.5 Indikationen	28
2.3.3.2.6 Sicherheitsuntersuchungen und unerwünschte Wirkungen	29
2.3.3.2.7 Kontraindikationen	30
2.3.4 Biologische Effekte der Ultraschallkontrastmittel	30
2.3.5 Artefakte durch Kontrastmittel	31
2.3.6 Anwendung von Ultraschallkontrastmitteln beim Menschen	33
2.3.6.1 Diagnostik	33
2.3.6.2 Therapie	35
2.3.6.3 Applikation als Bolus und Infusion	36
2.3.7 Anwendung von Ultraschallkontrastmitteln bei Tieren	38
2.3.7.1 Experimentelle Untersuchungen	38
2.3.7.2 Veterinärmedizinische Veröffentlichungen	39
2.3.8 Quantifizierung der Signalverstärkung	41
2.3.8.1 Datenspeicherung	41
2.3.8.2 Datenanalyse	42
2.3.8.3 Mathematische Aspekte	43
3 TIERE, MATERIAL UND METHODEN	44
3.1 Patientengut	44
3.2 Untersuchungsgruppen	46
3.3 Technik	47
3.3.1 Ultraschallgerät und Schallkopf	47
3.3.2 Dokumentation	47
3.3.3 Auswertung	47
3.4 Ablauf der Untersuchungen	49
3.4.1 Untersuchungen am wachen Hund	49
3.4.1.1 Klinische Untersuchung	49
3.4.1.2 Native abdominelle Sonographie	49
3.4.2 Anästhesie	49
3.4.3 Kontrastverstärkte Sonographie	50
3.4.3.1 Levovist® Bolusapplikation - Gruppe LB	51
3.4.3.2 Levovist® Infusionsapplikation - Gruppe LI	51
3.4.3.3 SonoVue® Bolusapplikation - Gruppe SB	51
3.4.3.4 SonoVue® Infusionsapplikation - Gruppe SI	52
3.5 Statistische Methodik	52
3.5.1 Einzelne Untersuchungsgruppen	52
3.5.2 Zusammengefasste Gruppen	53

4 ERGEBNISSE	55
4.1 Veränderungen der Doppler-Spektralkurve	55
4.2 Signalverstärkung und Kontrastdauer	56
4.2.1 Levovist [®] Bolusapplikation - Gruppe LB	57
4.2.2 Levovist [®] Infusionsapplikation - Gruppe LI	58
4.2.3 SonoVue [®] Bolusapplikation - Gruppe SB	60
4.2.4 SonoVue [®] Infusionsapplikation - Gruppe SI	61
4.3 Deskriptive Statistik der einzelnen Untersuchungsgruppen	63
4.4 Deskriptive Statistik der zusammengefassten Gruppen	67
4.5 Vergleich der einzelnen Untersuchungsgruppen	68
4.6 Vergleich der zusammengefassten Gruppen	69
4.7 Korrelationsanalyse Ergebnisse – Körpermasse	70
4.8 Erfahrungswerte besonderer Einzeluntersuchungen	71
5 DISKUSSION	74
5.1 Diskussion der Methoden	74
5.1.1 Untersuchte Tiere	74
5.1.2 Dosierung der Signalverstärker	75
5.1.2.1 Bolusapplikation	75
5.1.2.2 Infusionsapplikation	77
5.1.3 Anästhesie	78
5.1.4 Applikation der Signalverstärker	79
5.1.5 Kontrastverstärkte Sonographie	81
5.1.6 Datenspeicherung und Datenauswertung	83
5.2 Diskussion der Ergebnisse	84
5.2.1 Signalverstärkung und Kontrastdauer	84
5.2.1.1 Levovist [®] Bolus- und Infusionsapplikation	84
5.2.1.2 SonoVue [®] Bolus- und Infusionsapplikation	86
5.2.2 Kinetik der Zeit-Intensitätskurven	86
5.2.3 Varianz innerhalb der Untersuchungsgruppen	87
5.2.4 Vergleich der einzelnen Untersuchungsgruppen	91
5.2.5 Vergleich der zusammengefassten Gruppen	93
5.2.6 Schlussfolgerungen	94
6 ZUSAMMENFASSUNG	96
7 SUMMARY	98
8 LITERATURVERZEICHNIS	100

LISTE DER ABKÜRZUNGEN

B-Mode	<i>Brightness Mode</i>
CW-Mode	<i>Continous Wave Mode</i>
dB	Dezibel
hPRF	Hoch-Puls-Repititions-Frequenz
Hz	Hertz
kHz	Kilohertz
MHz	Megahertz
MRT	Magnetresonanz-Tomographie
MW	Mittelwert
PRF	Puls-Repititions-Frequenz
PW-Mode	<i>Pulsed Wave Mode</i>
SD	<i>standard deviation</i>
SF ₆	Schwefelhexafluorid

1 EINLEITUNG

Kontrastmittel werden heute in der klinischen Routine sowohl in der röntgenologischen Diagnostik als auch der Magnetresonanztomographie eingesetzt. Sie verbessern nicht nur die Darstellung und Abgrenzung von Gefäßen und Gewebestrukturen, sondern ermöglichen auch bei speziellen Fragestellungen eine Beurteilung von Organfunktionen. Die Sonographie stand den anderen bildgebenden Verfahren in Bezug auf die Verfügbarkeit von Kontrastmitteln zur Verbesserung der Sensitivität und Spezifität der Untersuchungen lange Zeit nach. Einfache Formen von Ultraschallkontrastmitteln, wie peroral aufzunehmende Flüssigkeiten, werden zwar bereits seit der Anwendung der Echtzeitsonographie eingesetzt, klinische Erfahrungen mit pharmazeutischen Produkten bestehen aber erst seit den achtziger Jahren. Die ersten Beobachtungen einer Ultraschallsignalverstärkung im Herzen nach einer Indocyanin-Grün-Applikation im Rahmen einer Herzkatheter-Untersuchung von Dr. Claude Joyner Ende der sechziger Jahre (GRAMIAK u. SHAH 1968) initiierten eine intensive Forschung und Entwicklung auf diesem Gebiet. Das erste auf mikrofeinen Gasbläschen basierende Ultraschallkontrastmittel kam in den achtziger Jahren auf den Markt. Es war noch nicht in der Lage, die Lungenkapillaren zu passieren und wurde erst einige Jahre später von lungenstabilen Kontrastmitteln ergänzt. Dadurch wurde eine Kontrastuntersuchung auch von Gefäßen jenseits der rechten Herzhöhlen nach periphervenöser Injektion möglich. Aufgrund der Wirkungsweise und der Tatsache, dass im Bereich parenchymatöser Gefäße ein Kontrastverlust zu umliegendem Gewebe entstehen kann, werden Ultraschallkontrastmittel treffender als Signalverstärker bezeichnet.

Die Ultraschallkontrastmittel können abhängig von der Indikation als Bolus oder in Form einer Infusion über einen längeren Zeitraum intravenös verabreicht werden. Während für kinetische Studien von Tumor- oder Organperfusion die Bolusgabe besonders geeignet ist, hat die Infusionsapplikation bei der Notwendigkeit, langstreckige oder mehrere Gefäßabschnitte abzubilden, Vorteile (ALBRECHT et al. 2000b).

Es existieren experimentelle Studien über den Einsatz von Ultraschallkontrastmitteln an Versuchstieren in Vorbereitung auf die klinische Anwendung beim Menschen. Veterinärmedizinische Untersuchungen über den Einsatz dieser Substanzen im Rahmen der klinischen Diagnostik beim Hund liegen jedoch nur in sehr geringer Anzahl vor (VALENTINI et al. 1999; WRIGLEY u. BAHR 1999; BAHR et al. 2000).

In der vorliegenden Arbeit soll die Anwendung der Ultraschallsignalverstärker Levovist^{®1} und SonoVue^{®2} in Form einer Bolus- und Infusionsapplikation beim Hund untersucht werden. Die Beurteilung der Kontrastmitteleffekte erfolgte anhand der Auswertung des Doppleraudiosignals aus der Aorta abdominalis bei Hunden ohne Hinweise auf eine systemische Erkrankung, wobei folgende Fragestellungen im Mittelpunkt standen:

1. Welche Maximalverstärkung wird mit der gewählten Dosierung erzielt?
2. Wie lange kann ein Verstärkungseffekt beobachtet werden?
3. Wie unterscheiden sich die eingesetzten Ultraschallkontrastmittel?
4. Wie unterscheiden sich die unterschiedlichen Applikationsformen?

Die Ergebnisse sollen Richtwerte für die unter klinischen Bedingungen zu erwartende Ausprägung und Dauer einer Signalverstärkung liefern. Somit sind sie als mögliche Hilfestellung für die Auswahl des Kontrastmittels und seiner Applikationsform in Hinblick auf einen indikationsbezogenen diagnostischen Einsatz in der Veterinärmedizin zu sehen.

In Anlehnung an die Humanmedizin ist in Zukunft nach Kontrastmittelapplikation auch beim Tier eine Darstellung von in der herkömmlichen Sonographie nicht erkennbaren fokalen Parenchymerden denkbar. Durch Beschreibung charakteristischer Anflutungsmuster der Mikrobläschen in umschriebenen Organläsionen ist eventuell eine Spezifitätserhöhung der sonographiegestützten Tumordiagnostik möglich. So ist beispielsweise eine verbesserte Diagnostik von Lebermetastasen durch eine kontrastmittelspezifische Ultraschallbildgebung vorstellbar. Zudem ist eine Verbesserung der dopplersonographischen Beurteilung von Blutfluss aus Gefäßen mit nativ unzureichender Signalintensität zu erwarten.

¹ Schering AG, Berlin

² Bracco international, Amsterdam, Niederlande

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Allgemeine Grundlagen der Sonographie

Die Darstellung von biologischen oder medizinischen Strukturen mithilfe von hochfrequenten Schallwellen wird als Sonographie oder Ultraschalldiagnostik bezeichnet (lateinisch „sonus“ = Ton, griechisch „graphein“ = schreiben) (BERGMANN 1939). Als Ultraschall wird Schall oberhalb des menschlichen Hörbereichs mit Frequenzen über 20 kHz bezeichnet (KLEWS 2002), wobei die diagnostisch üblichen Frequenzen zwischen 1 und 15 MHz liegen. Die Ausbreitung des Ultraschalls ist an Materie gebunden. Die Schallwelle entspricht einer Druckwelle, die eine Kompression und Dekompression des Trägermediums bedingt. Die Schallgeschwindigkeit hängt von der Kompressibilität sowie der Dichte und Temperatur des Mediums ab. Im Gewebe werden durchschnittlich Schallgeschwindigkeiten von 1540 m/sek, im Knochen 3360 m/sek und in der Luft 331 m/sek erreicht (LUDWIG 1950). Liegen zwei Stoffe mit unterschiedlichem Schallwellenwiderstand aneinander, spricht man von akustischen Grenzflächen, an denen Schallwellen reflektiert oder gebrochen werden. Ein Teil der Schallwellen setzt seinen Weg im neuen Medium fort. Das Verhältnis zwischen reflektierter, gebrochener und transmittierter Schallenergie ist einerseits abhängig von der Größe des akustischen Impedanzunterschiedes benachbarten Gewebes. Zum anderen spielt der Winkel zwischen Schallausbreitung und Grenzfläche eine entscheidende Rolle. Während diese Phänomene überwiegend bei der Darstellung von relativ großen Objekten relevant sind, stehen bei kleinen Strukturen Streuungs- und Beugungsphänomene im Vordergrund. Da nur die den Schallkopf erreichenden reflektierten Schallwellen zur Abbildung kommen, sind die genannten physikalischen Vorgänge von großer Bedeutung. Beim Durchdringen der Schallwellen von Materie wird ein Teil der Schallenergie durch Reibung in Wärme umgewandelt und steht dem Bildaufbau nicht mehr zur Verfügung.

Für die Erzeugung und den Empfang der Ultraschallwellen wird die von den Brüdern Curie 1880 erstmals beschriebene piezoelektrische Eigenschaft verschiedener Kristalle genutzt (CURIE u. CURIE 1880). Das Anlegen hochfrequenter elektrischer Wechselspannungen regt derartige Kristalle zu Schwingungen an, die in Form von Ultraschallwellen abgegeben werden. Umgekehrt erzeugen die reflektierten Schallwellen in demselben Kristall eine messbare Wechselspannung. Somit kann der Kristall im Schallkopf gleichzeitig als Sender und Empfänger fungieren. Die Piezokristallelemente sind innerhalb des Schallkopfes nach einer bestimmten geometrischen Form ausgerichtet, die das Schallfeld charakterisiert. Bei einem Sektorschallkopf gestaltet sich das erzielte Bildformat dreieckig oder schmal-trapezförmig, bei einem Linearschallkopf rechteckig und bei Konvexschallköpfen breit-trapezförmig. Der Bereich in dem die Schallwellen gebündelt werden bezeichnet man als Fokuszone, die sich durch eine hohe Auflösung auszeichnet und in welcher sich die auszuwertenden Bildinformationen befinden sollen. In der klinischen Diagnostik kommt als Bildverfahren überwiegend der zweidimensionale B-Modus (= brightness) in Echtzeit zum Einsatz.

Hierbei werden in einer Ebene liegende, reflektierende Grenzflächen auf einem Monitor als Punkte unterschiedlicher Helligkeit dargestellt. Die unterschiedliche Schallreflexionsqualität der Gewebe wird durch verschiedene Helligkeiten beziehungsweise Graustufen wiedergegeben (DELORME u. DEBUS 1998a; POULSEN NAUTRUP 1998b; KLEWS 2002).

2.2 Dopplersonographie

2.2.1 Dopplerprinzip

Das im Jahre 1843 von dem Physiker und Mathematiker Christian Johann Doppler (1803-1853) bei der Beobachtung von sich bewegenden Sternen erkannte und in der Arbeit „Über das farbige Licht der Doppelsterne und einiger anderer Gestirne des Himmels“ erstmals beschriebene Prinzip ermöglicht eine vaskuläre Funktionsdiagnostik (DOPPLER 1843). Er stellte fest, dass sich die Frequenz einer Welle ändert, wenn sich der Beobachter relativ zur Wellenquelle bewegt. In der medizinischen Diagnostik ist somit eine Bestimmung der relativen Flussrichtung und Flussgeschwindigkeit der Blutkörperchen möglich. Darüber hinaus werden Informationen über die relative Häufigkeit der mit einer bestimmten Geschwindigkeit fließenden Partikel geliefert (HUCK u. HUCK 2001).

Der medizinisch genutzte Dopplereffekt basiert auf einer Frequenzverschiebung (= Dopplerverschiebung = Dopplershift) reflektierter Schallwellen an bewegten Objekten. Im wesentlichen dienen als Reflektoren des Blutes die Erythrozyten. Der Dopplershift ergibt sich aus der Differenz der reflektierten und der ausgesandten Schallfrequenz, wobei eine Bewegung in Richtung der Schallquelle eine Frequenzerhöhung, in entgegengesetzter Richtung eine Frequenzerniedrigung bedingt (NEUERBURG-HEUSLER u. HENNERICI 1995; DELORME u. DEBUS 1998a; POULSEN NAUTRUP 1998a; HUCK u. HUCK 2001). Die Dopplerverschiebung liegt meist im hörbaren Bereich und ist ein direktes Maß für die Flussgeschwindigkeit. Die absolute Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeiten ist nur möglich, wenn neben der Dopplerfrequenz die Sendefrequenz und Ausbreitungsgeschwindigkeit der Ultraschallwellen im Gewebe und der Beschallungswinkel bekannt sind (NEUERBURG-HEUSLER u. HENNERICI 1995; HAERTEN 1998; HUCK u. HUCK 2001).

Die Einflussgrößen des Dopplershifts stehen in folgendem mathematischen Zusammenhang:

$$\Delta f = 2f \times V \times \cos \alpha \div C$$

Δf :	Dopplerverschiebung [Hz]
f :	Sendefrequenz des Ultraschalls [MHz]
V :	Strömungsgeschwindigkeit der korpuskulären Elemente [cm/s]
α :	Winkel zwischen Schallwellen und Gefäßachse
C :	durchschnittliche Schallgeschwindigkeit im Gewebe ≈ 1540 [m/sek]

Der Faktor Zwei berücksichtigt, dass beim Echoverfahren der Dopplereffekt zweimal beobachtet wird. Einmal beim Empfang des vom Schallkopf ausgehenden Sendesignals durch die bewegten Blutkörperchen, zum zweiten beim Empfang der von diesen ausgehenden Echos durch den Schallkopf (HAERTEN 1998). Daraus ergibt sich nur bei genauer Fließrichtung des Blutes in Richtung der Schallwellen ($\cos 0^\circ = 1$) eine exakte Messung der Fließgeschwindigkeit. Ein Winkel bis 60 Grad (HAERTEN 1998; POULSEN NAUTRUP 1998a) beziehungsweise 70 Grad (DELORME u. DEBUS 1998b) kann bei einer integrierten Winkelkorrektur rechnerisch ausgeglichen werden, allerdings ist dabei eine exakte Winkelangabe entscheidend. Bei größerem Winkel ist der Messfehler nicht mehr kompensierbar.

Je steiler der Anschallwinkel zur Gefäßachse gehalten wird, desto mehr bewegte Bestandteile werden erfasst, desto größer ist die Amplitude des Dopplersignals und desto stärker ist die Echoreflexion bei geringer Streuung. Da jedoch ein Winkel von 90° zu keiner Dopplerverschiebung führt, wird in der Praxis ein Beschallungswinkel von circa 30° als optimales Verhältnis zwischen Signalintensität [dB] und Dopplereffekt [kHz] angesehen (NEUERBURG-HEUSLER u. HENNERICI 1995).

2.2.2 Dopplerverfahren

Die dopplersonographische Untersuchung ermöglicht die Bestimmung der Strömungsrichtung, der momentanen Geschwindigkeitsverteilung korpuskulärer Blutbestandteile und deren zeitliche Änderung.

Man unterscheidet neben den beiden Spektraldopplerverfahren dem kontinuierlichen (CW) sowie gepulsten Dopplermodus (PW), das konventionelle Farbdopplerverfahren und den Amplitudenkodierten Doppler (Powerdoppler). Die Kombination eines dieser Verfahren mit der zweidimensionalen Sonographie wird als Duplexsonographie bezeichnet. Kommen gleichzeitig das zweidimensionale B-Bild sowie das farbkodierte und spektrale Dopplerechogramm zur Darstellung, spricht man vom Triplexmodus (NEUERBURG-HEUSLER u. HENNERICI 1995).

2.2.2.1 Spektraldoppler

Bei der Doppleruntersuchung von Gefäßen zeigen die von den Erythrozyten reflektierten Ultraschallwellen aufgrund ihrer unterschiedlichen Flussgeschwindigkeit innerhalb eines Messvolumens verschiedene Frequenzen. Diese Frequenzen werden mithilfe eines Frequenzanalysators auf ihren Wert und ihre Häufigkeit untersucht und eine statistische Information über das Strömungsverhalten im untersuchten Gefäßquerschnitt gewonnen. Die Frequenzauswertung findet fast ausschließlich mithilfe des mathematischen Verfahrens der Fast-Fourier-Transformation statt. Die Häufigkeit

mit der eine bestimmte Frequenz auftritt wird als Amplitude bezeichnet. Der Spektraldoppler stellt in den meisten Systemen das gesamte Spektrum der in einer Messprobe vorkommenden Frequenzen dar. Das Spektrum wird sowohl akustisch ausgegeben als auch graphisch dargestellt. Bei ähnlichen Geschwindigkeiten der Blutkörperchen ist das Frequenzspektrum schmal, während bei deutlichen Unterschieden in der Geschwindigkeit ein breites Spektrum entsteht (HUCK u. HUCK 2001).

Die Darstellung der Spektralanalyse wird in Form eines Frequenz-Zeit-Spektrums realisiert. Die unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten der Blutkörperchen sind hierbei direkt an der Ordinate abzulesen. Die relative Strömungsrichtung der Korpuskel wird über einen positiven beziehungsweise negativen Ausschlag in der spektralen Dopplerkurve angezeigt. In der Regel wird ein Fluss in Richtung der Ultraschallquelle auf der positiven Achse abgebildet, während er bei entgegengesetzter Flussrichtung auf der negativen Achse zur Darstellung kommt. Das Volumen im Detektionsbereich des Schallfeldes wird im Spektrum gewöhnlich anhand unterschiedlicher Graustufen dargestellt. Je heller diese Graustufen im Spektrum abgebildet werden, desto größer ist das Volumen der Partikel entsprechender Flussgeschwindigkeiten (DELORME u. DEBUS 1998b; HUCK u. HUCK 2001).

Im niederfrequenten Bereich können Reflexionen von der sich bewegenden Gefäßwand mit einer bis zu dreißig mal höheren Intensität als die des Blutflusses abgebildet werden. Diese störenden Artefakte können durch Hochpassfilter minimiert werden, wobei dann auch langsame Strömungsphänomene innerhalb eines Gefäßes nicht erkennbar sind (NEUERBURG-HEUSLER u. HENNERICI 1995).

2.2.2.1.1 PW-Doppler (Pulsed wave, gepulster Doppler)

Bei der gepulsten Dopplersonographie handelt es sich um ein einkanaliges, abwechselnd sendendes und empfangendes Ultraschallsystem. Nachdem der Piezokristall ein Signal gesendet hat, befindet er sich zu einem genau definierten Zeitpunkt auf Empfangsmodus, um das reflektierte Echo zu detektieren. Da die Schallausbreitungsgeschwindigkeit im Gewebe bekannt ist, kann über die Laufzeit der Ultraschallwelle vom Sendekristall zum Ort der Streuung oder Reflexion im Schallstrahl und wieder zurück, jedem Signal ein bestimmter Ort im Gewebe zugeordnet werden (HUCK u. HUCK 2001). Die Region in der ein Fluss gemessen werden soll wird als Messvolumen (Informationsvolumen, Dopplergate, sample volume) bezeichnet und ist auf der Ultraschallachse verschiebbar. Die Größe des Messvolumens ist in einem gewissen Rahmen wählbar, welcher von den Eigenschaften der Schallwellen und der Pulsdauer beziehungsweise Untersuchungstiefe abhängt. Um eine große axiale Auflösung und ein kleines Frequenzspektrum bei gleichzeitig exakter topographischer Zuordnung zu erhalten, sollte man die Größe des Messvolumens möglichst klein wählen und zentral in dem zu untersuchenden Gebiet plazieren. Allerdings steigt bei einem größeren Messvolumen

die Sensitivität und es werden auch geringere Flüsse dargestellt. Um eine eindeutige Tiefenzuordnung zu gewährleisten, kann ein erneuter Sendeimpuls erst nach Empfang des vorherigen Echos abgeschickt werden (NEUERBURG-HEUSLER u. HENNERICI 1995). Die Pulsrepetitionsfrequenz (PRF) wird definiert als die maximale Anzahl der gesendeten Signale pro Sekunde. Sie ist proportional zur mittleren Schallgeschwindigkeit sowie umgekehrt proportional zur zweifachen Eindringtiefe (NEUERBURG-HEUSLER u. HENNERICI 1995; POULSEN NAUTRUP 1998b; HUCK u. HUCK 2001).

$$PRF_{\max} = \frac{C}{2 \times E}$$

PRF_{max}: maximale Puls-Repetitions-Frequenz

C: durchschnittliche Schallgeschwindigkeit im Gewebe ≈ 1540 [m/sek]

E: Eindringtiefe [m]

(NEUERBURG-HEUSLER u. HENNERICI 1995)

Die PRF limitiert den maximal messbaren Dopplershift, da die PRF mindestens doppelt so groß sein muss wie die Frequenz der zu messenden Dopplerverschiebung. Der eindeutig bestimmbare, maximale Dopplershift wird als Nyquistfrequenz bezeichnet. Für verschiedene Ultraschallsendefrequenzen ergeben sich unterschiedliche obere Pulsrepetitionsfrequenzen und folglich unterschiedliche Grenzwerte der registrierbaren Strömungsgeschwindigkeiten. Mit niedrigfrequenten Schallköpfen können im gepulsten Verfahren höhere Strömungsgeschwindigkeiten bei gleicher Eindringtiefe abgeleitet werden. Es ist zu beachten, dass gemittelte Dopplerfrequenzen deutlich niedriger sein müssen als PRF/2 um eine ausreichend genaue Analyse zu gewährleisten.

Eine Registrierung von Dopplerverschiebungen oberhalb der Nyquistgrenze ergibt keine zuverlässige Geschwindigkeitsbestimmung, da es zu Fehleinschätzungen der Frequenzen und Fließgeschwindigkeiten kommt. Dieses Phänomen wird als Aliasing bezeichnet und entspricht dem Stroboskopeffekt im Film (KLEWS 2002). Es tritt sowohl beim PW-Doppler als auch bei farbkodierten Doppleruntersuchungen auf. Die bildlichen Erscheinungsformen des Aliasing sind neben dem Dopplermodus abhängig von dem Größenverhältnis zwischen registriertem Dopplershift und PRF. Ist der Dopplershift größer als die halbe PRF und kleiner als die maximale PRF erfolgt die Darstellung des Blutstromes trotz beibehaltener Blutflussrichtung fälschlicherweise entgegengesetzt. Obwohl das Blut auf den Schallkopf zuströmt, wird es im PW-Modus unterhalb der Nulllinie beziehungsweise im Farbdoppler in blauer Farbe dargestellt. Überschreitet der Dopplershift die PRF um ein Vielfaches, so entsteht im gepulsten Dopplermodus ein breites Frequenzspektrum beiderseits der Nulllinie und im farbkodierten Dopplerverfahren ein buntes mosaikartiges Bild (POULSEN NAUTRUP 1998b; HUCK u. HUCK 2001).

Um dennoch in diesem Bereich reale Geschwindigkeitsmessungen durchführen zu können, sollte man über die Veränderung der Schallposition versuchen, die Eindringtiefe zu verringern, um so die PRF zu erhöhen. Die maximal einstellbare PRF nimmt mit zunehmender Messtiefe ab, da vor dem Aussenden eines neuen Sendeimpulses der reflektierte, vorherige Impuls zurückgelaufen sein muss. Durch Verringerung der Doppler-Schallfrequenz können ebenfalls höhere Strömungsgeschwindigkeiten gemessen werden, was allerdings die Qualität der Dopplerabbildung verringert. Eine weitere Möglichkeit bietet die Verschiebung der Nulllinie (= baseline-shift). Unter Verzicht der gegensinnigen Richtungsanzeige erreicht man eine Erhöhung der Geschwindigkeitsdokumentation auf die zweifache Nyquistgrenze. Eine Erhöhung der PRF beziehungsweise Aktivierung des so genannten „High-PRF-Modus“ (= hPRF) erlaubt ebenfalls eine Detektion höherer Geschwindigkeiten. Im hPRF-Modus wird nicht auf die Rückkehr eines ausgesandten Impulses gewartet, sondern in definiertem Abstand bereits vorher ein weiteres Signal abgeschickt und empfangen. Dieses zusätzliche Echo liefert entsprechend Informationen, die nicht aus dem vorher mit dem Messfenster definierten Bereich stammen. Es entsteht dadurch eine gewisse Ungenauigkeit bei der Definition des Messbereiches und der Zuordnung des entstehenden Flussmusters. Mit zunehmender Anzahl an vorzeitig ausgesandten Signalen resultiert dieses Verfahren in einem Übergang des PW-Dopplers in die Detektionsweise des CW-Dopplers. Ist die PRF allerdings zu hoch eingestellt werden unabhängig von der Signalintensität langsame Flüsse nicht mehr registriert (NEUERBURG-HEUSLER u. HENNERICI 1995; POULSEN NAUTRUP 1998b; DELORME u. DEBUS 1998b; HUCK u. HUCK 2001; KLEWS 2002).

Verlaufen die Strömungsrichtung des Blutes und die Schallwellen nicht parallel, so kann ohne eine rechnerische Korrektur die Fließgeschwindigkeit nicht exakt abgelesen werden. Um diesen Messfehler auszugleichen, kann bei Anwendung des PW-Dopplers eine Winkelkorrektur bis zu einem Anschallwinkel von 60° durchgeführt werden. Weicht der Winkel um mehr als 60° (HAERTEN 1998; POULSEN NAUTRUP 1998a; HUCK u. HUCK 2001) beziehungsweise 70° (DELORME u. DEBUS 1998b) von der parallelen Ausrichtung ab, entstehen nicht mehr vertretbare Messfehler. In diesen Fällen ist eine genaue Bestimmung der Fließgeschwindigkeiten nicht mehr möglich. Eine Beurteilung der Kurvenform ist dennoch durchführbar.

Die Vorteile des PW-Dopplers liegen in der Möglichkeit, einen umschriebenen Messbereich zu definieren und über eine in bestimmten Grenzen mögliche Winkelkorrektur nicht auf eine exakte Ausrichtung der Schallwellen parallel zur Flussrichtung angewiesen zu sein. Da die PRF neben der Ausbreitungsgeschwindigkeit des Ultraschalls im Gewebe von der Distanz zwischen Schallkopf und Messpunkt abhängig ist, können nach dem Nyquisttheorem Messprobleme insbesondere bei tiefliegenden Gefäßen mit hohen Strömungsgeschwindigkeiten auftreten (NEUERBURG-HEUSLER u. HENNERICI 1995). Dadurch sind Geschwindigkeiten über circa 2 m/sek nicht mehr erfassbar (POULSEN NAUTRUP 1998b).

2.2.2.2 *Audi Doppler*

Da die meisten Frequenzen des registrierten Dopplershifts im hörbaren Bereich zwischen 16 Hz und 20 kHz liegen, können die Frequenzverschiebungen nicht nur optisch dargestellt werden, sondern sind auch hörbar. Ausnahmen stellen extreme Messbedingungen wie sehr hohe Strömungsgeschwindigkeiten und Beschallungswinkel von Null Grad dar (HUCK u. HUCK 2001). Schnelle Blutströme mit großem Dopplershift verursachen hohe, langsame Fließgeschwindigkeiten mit niedrigem Dopplershift bedingen tiefe Töne oder Geräusche (POULSEN NAUTRUP 1998a). Bei sehr ähnlichen Strömungsgeschwindigkeiten (=schmales Frequenzspektrum) der Blutkörperchen wird der Dopplershift als pfeifendes Geräusch dargestellt. Zeigen die Korpuskel deutlich voneinander abweichende Geschwindigkeiten (= breites Frequenzspektrum) ist ein Rauschen zu hören. Artefakte durch pulsbedingte Auslenkungen der Gefäßwand können sich als störendes Klopfen bemerkbar machen (DELORME u. DEBUS 1998b), während Aliasing als ein peitschendes Geräusch hörbar ist (HUCK u. HUCK 2001).

2.3 Ultraschallkontrastmittel

2.3.1 Grundlagen

2.3.1.1 *Einsatz und Entwicklung*

Die Verabreichung von Kontrastmitteln gehört bei anderen bildgebenden Verfahren zur alltäglichen Routine und ermöglicht beziehungsweise verbessert die Darstellung anatomischer Strukturen und funktioneller Parameter. Die erste Verstärkung eines Ultraschallsignals wurde von Dr. Claude Joyner Ende der sechziger Jahre festgestellt. Er bemerkte eine Erhöhung der Blutreflexion im Herzen bei einer gleichzeitig durchgeführten Indocyanin-Grün Applikation im Rahmen einer Herzkatheter Untersuchung (GRAMIAK u. SHAH 1968). Die erste Vermutung, es handle sich um einen spezifischen Effekt dieses speziellen Farbstoffes wurde durch eine gleichartige Verstärkung bei Applikation von anderen Substanzen wie Salzlösungen oder Röntgenkontrastmitteln widerlegt. Ultraschallkontrastmittel werden in ihrer einfachsten Form bereits seit der Anwendung von Echtzeit-Sonographie eingesetzt. Diesen Kontrastmitteln ohne Bläschen gehören Wasser, Kochsalzlösungen oder auch kommerzielle Produkte wie SonoRx^{®3} an und verbessern im wesentlichen nach peroraler Aufnahme die Einsicht in bestimmte Abdominalhöhlenorgane (WARREN et al. 1978; CAMPANI et al. 1998; COSGROVE 1999c). Die Gruppe der Makrobläschenkontrastmittel beinhalten freie Gase sowie gasbläschenhaltige Substanzen mit einem Durchmesser über 10 µm. Sie werden in Hohlorgane eingebracht, peroral verabreicht oder injiziert (MATSUDA u. YABUUCHI; EL MOUAAOUY et al. 1991; CHEN et al. 2002). Aufgrund der nur geringen Verstärkung und dem Auftreten von Nebenwirkungen sind diese Gase allerdings den heute überwiegend eingesetz-

³ Bracco International, Amsterdam, Niederlande

ten Produkten aus der Gruppe der Mikrobläschenkontrastmittel unterlegen (COSGROVE 1999c). Diese enthalten als streuende Partikel mikrofeine Gasbläschen und werden in technisch sehr aufwendigen Verfahren produziert. Der Begriff des Ultraschallkontrastmittels entspricht ihrer Wirkungsweise nur eingeschränkt. Kommt es nach intravenöser Applikation eines Mikrobläschenkontrastmittels im B-Modus zu einer Erhöhung der Echogenität intrahepatischer Gefäße, führt dies zu ihrer schlechteren Abgrenzung gegenüber dem Leberparenchym. Der Blut-Leber Kontrast ist folglich reduziert (COSGROVE u. BLOMLEY 1999). Der Begriff des Signalverstärkers beschreibt die Wirkungsweise von Ultraschallkontrastmitteln daher akkurater. Die Verstärkung des Schallechos basiert bei den Mikrobläschenkontrastmitteln auf dem Einbringen zusätzlich streuender Partikel in den Blutkreislauf. Durch das interaktive komplexe Verhältnis mit Ultraschallwellen und den Impedanzunterschied zum Blut erhöhen die Mikrobläschen die Rückstreuamplitude aus dem Gefäß um circa 20 Dezibel (COSGROVE 1999a). Hierbei entspricht eine Verstärkung des Signals im B-Modus von drei Dezibel einer Verdopplung der akustischen Leistung (COSGROVE 1999a). Die spezifische Erhöhung der Signalintensität führt zu einer Verbesserung des Signal (=Kontrast) zu Rausch Abstandes und ermöglicht das Empfangen von Bildinformationen aus Körperregionen, die in nativen Untersuchungen nicht detektierbar wären. Um Kapillaren passieren zu können, müssen die Mikrobläschen einen entsprechend kleinen Diameter aufweisen ($< 10 \mu\text{m}$). Je kleiner jedoch ihr Durchmesser, desto höher ist ihre Oberflächenspannung, und ohne eine weitere Stabilisierung zerplatzen die Mikrobläschen innerhalb weniger Zehntel Sekunden (COSGROVE u. BLOMLEY 1999). Bei der Produktion der Mikropartikel ist entsprechend nicht nur der kleine Durchmesser entscheidend, sondern auch zur Gewährleistung einer Persistenz im Organismus von einigen Minuten, eine Stabilisierung der Partikel notwendig. Die Mikrobläschen der Signalverstärker geraten unter dem Einfluss von Ultraschallwellen diagnostisch verwandter Frequenzen in Oszillation. Dadurch verstärken sich ihre reflexiven Eigenschaften erheblich und sie erscheinen akustisch größer als es ihrem wahren Durchmesser entspricht (COSGROVE u. BLOMLEY 1999).

2.3.1.2 Mikrobläschenkontrastmittel

Diese Ultraschallsignalverstärker wurden in erster Linie entwickelt, Myokardperfusionen durch periphervenöse Injektionen entsprechender Substanzen sichtbar zu machen (MAURER 2000). Um sinnvoll eingesetzt werden zu können, müssen die Mikrobläschen der Signalverstärker über einen ausreichend langen Zeitraum stark echogene Eigenschaften aufweisen. Für einen Effekt jenseits der rechten Herzhöhlen ist zudem ihre Fähigkeit zur Lungenkapillarpassage notwendig. Bei den Mikrobläschen deren Durchmesser, definitionsgemäß unter $10 \mu\text{m}$ liegt, unterscheidet man freie und eingekapselte sowie lungenkapillargängige und solche, denen eine Lungenpassage nicht möglich ist. Der Signalverstärker Echovist^{®4} ist nicht lungenstabil und wird daher auch als Rechtsherzkontrast-

⁴ Schering AG, Berlin

mittel bezeichnet. Neben der Untersuchung der rechten Herzhälfte und der Diagnostik intra- und extrakardialer Rechts-Links-Shunts wird er auch bei der Hysterosalpingographie verwandt, wodurch die meist jungen Patientinnen, die in der Regel ohnehin schon Fertilitätsprobleme haben, im Rahmen der Diagnostik keiner ionisierenden Strahlung ausgesetzt werden müssen. Echovist[®] findet auch bei retrograden Studien von Harnblase und Harnröhre, oder zur Darstellung eines vesikoureteralen Refluxes Anwendung (HOTZINGER 1994; CAMPANI et al. 1998; COSGROVE 1999c). Auch wird die Darstellung des Verlaufs von Fistelkanälen ermöglicht. Die Mikrobläschen lungenstabiler Kontrastmittel wie Levovist[®] oder SonoVue[®] verteilen sich nach intravenöser Applikation in allen durchbluteten Bereichen des Organismus, was ihre diagnostische Anwendung gegenüber den Rechtsherzkontrastmitteln erheblich erweitert.

Neben der Einteilung nach Applikationsart in extravaskulär und intravaskulär zu verabreichenden Substanzen, ist eine Gruppierung nach Generationen, Art der Hülle und Wirkort möglich.

2.3.1.2.1 Einteilung nach Generationen

Ultraschallkontrastmittel können drei unterschiedlichen Generationen zugeordnet werden. In der Gruppe der ersten Generation befinden sich Substanzen mit instabilen Bläschen, wie sie bei aufgeschüttelter Kochsalzlösung oder bei Echovist[®] vorliegen. Sie sind nur für eine sehr kurze Zeitdauer und ausschließlich in dem Kompartiment, in welches sie verbracht wurden, nutzbar. Der zweiten Generation gehören Signalverstärker mit stabilisierten Bläschen an, welche in der Lage sind die Lungenkapillaren zu passieren (z.B. Levovist[®]). Ultraschallkontrastmittel der dritten Generation zeichnen sich durch eine noch höhere Echogenität aus und können im B-Modus auch in kleineren Gefäßen dargestellt werden (z.B. Optison^{®5}). Die Übergänge zwischen den verschiedenen Gruppen sind jedoch fließend (COSGROVE 1999a).

Andere Autoren orientieren sich an einer abweichenden Gruppeneinteilung, bei der Kontrastmittel die als Gasphase Luft beinhalten der ersten Generation zugeordnet werden (z.B. Levovist[®]) (COTTER et al. 1997) und eine relativ geringe Druckstabilität aufweisen (MARESCA et al. 1998). Der zweiten Generation gehören Substanzen mit schwerlöslichen, inerten, nichttoxischen Gasen an und zeichnen sich durch eine erhöhte Druckstabilität und vorteilhafte Schwingungseigenschaften vor allem bei niedrigen Schallenergien aus (COTTER et al. 1997).

⁵ Mallinckrodt Medical GmbH, Hennef/Sieg

2.3.1.2.2 Einteilung nach Art der Hülle

Die Herstellung von freien Mikrobläschen in Flüssigkeiten kann beispielsweise über Beschallung mit hoher Intensität bewerkstelligt werden. Man versteht darunter Gasbläschen ohne präformierte Hüllen oder Membranen. Auf diese Weise produzierte Bläschen sind in Größe und Anzahl nicht ausreichend reproduzierbar, erzielen keine zufriedenstellende Verstärkung, weisen eine nur geringe in vivo Stabilität auf und sind nicht oder nur sehr eingeschränkt lungenskapillargängig. Alternativ können freie Gasblasen auf der Oberfläche von suspendierten Mikropartikeln wie Galaktose, Polyethylenglycol oder Phospholipiden durch Aufschütteln der Flüssigkeit erzeugt werden. Die Reproduzierbarkeit dieser Gasblasen kann technologisch kontrolliert werden, und sie sind stabil genug, um einige Lungenpassagen zu überstehen. Eine weitere Möglichkeit der Bläschenherstellung ergibt sich über die Änderung des Aggregatzustandes. Gase deren Siedepunkt unter der inneren Körpertemperatur liegen (z.B. Dodecafluoropentane) treten bei circa 37° C in den gasförmigen Zustand über, wodurch Blasen mit wenigen Mikrometern Durchmesser entstehen (CALLIADA et al. 1998; COSGROVE 1999a).

Die eingekapselten Mikrobläschen werden von einer biologischen Membran (z.B. Phospholipiden bei SonoVue[®]) oder synthetischen biologisch abbaubaren Hüllen (z.B. Cyanoacrylat bei Sonovist^{®6}) umgeben (CALLIADA et al. 1998). Die Mikrobläschen der meisten neueren Ultraschallkontrastmittel beinhalten Gase (keine Luft), die sie stabiler als bei Kontrastmitteln früherer Generation machen und somit einen größeren, länger anhaltenden Verstärkungseffekt erzielen. Die verbesserten Eigenschaften erklären sich im wesentlichen über eine verminderte Wasserlöslichkeit der Gase oder sind durch den Einsatz von Polymeren als Hülle bedingt. Ihre Stabilität wird fast ausschließlich über ihren Metabolismus und die Zerstörung durch Ultraschallwellen bestimmt. Einen Sonderfall stellen die Aerosomen dar, welche aus gasgefüllten, zweischichtigen Liposomen bestehen. Ihre sehr hohe Stabilität vermittelt einen langanhaltenden Verstärkungseffekt, bereitet aber durch Verzerrung und Schattengebung Probleme bei der Ultraschalluntersuchung (MARESCA et al. 1998).

2.3.1.2.3 Einteilung nach Wirkort

Eine weitere Möglichkeit Signalverstärker einzuteilen basiert auf ihrem Wirkort im Organismus. Die „site targeted“ Substanzen gehen hochspezifische Verbindungen mit monoklonalen Antikörpern, Viren, Lecithin und Hormonen ein und können somit spezifisch zu vorbestimmten normalen oder abnormalen Strukturen geleitet werden, wo sie ihren signalverstärkenden Effekt entfalten (MARESCA et al. 1998). Die „free flowing“ Substanzen passieren die Lungenkapillaren und fließen mit der gleichen Geschwindigkeit wie Erythrozyten, während die „deposit“ Substanzen auf-

⁶ Schering AG, Berlin

grund ihres größeren Umfangs in der myokardialen Mikrozirkulation gefangen werden (SCHNEIDER 2000).

2.3.2 Mikrobläschenkontrastmittel

2.3.2.1 *Physikalische Grundlagen und Wirkungsweise*

Die physikalische Wechselwirkung zwischen Mikrobläschen und Ultraschallwellen ist sehr viel komplexer als die Situation bei Röntgen- und wahrscheinlich auch bei MRT-Kontrastmitteln (COSGROVE u. BLOMLEY 1999). Die Streuintensität der Mikrobläschen wird vor allem durch ihren Durchmesser, den Charakteristiken der auftreffenden Ultraschallwellen und den Eigenschaften der Grenzfläche zwischen dem Partikel und dem ihn umgebenden Medium bestimmt (SIEGERT 2002). Je größer das Bläschen ist, desto größer wird seine Rückstreuung. Um eine Kapillarpassage noch zu ermöglichen, sind der Größe jedoch nach oben hin Grenzen gesetzt (SCHLIEF u. BAUER 1996). Mit steigendem Impedanzunterschied zwischen den Mikrobläschen und dem Blut erhöht sich die Intensität der Signalreflexion proportional. Die Konzentration des Signalverstärkers beeinflusst die Rückstreuung und die Abschwächung der Schallwellen. Diese Abhängigkeit ist nicht linear, da bei niedrigen Konzentrationen die Rückstreuung ansteigt und bei hohen Konzentrationen die Abschwächung der Schallwellen dominiert. Die zunehmende Reflexion der Schallwellen führt zu Schallschattenartefakten, die einen Verlust von Signalintensitäten und Bildinformationen bedingen. Dies resultiert in einem Konzentrationslimit, über welchem eine Substanz nicht mehr eingesetzt werden kann (FORSBERG u. SHI 2001). Die empfangene gestreute Schallenergie ist nach der Rayleigh Gleichung eine Funktion der auftreffenden Schallenergie und des streuenden Querschnitts eines Mikrobläschen:

$$I_s = \frac{\sigma \times I_0}{4\pi z^2}$$

- I_s : empfangene gestreute Schallenergie
- σ : streuender Querschnitt des Mikrobläschens (s.u.)
- I_0 : auftreffende Schallenergie
- z : Abstand zwischen Mikrobläschen und Schallkopf

(FORSBERG u. SHI 2001)

Obwohl die ausgesandten Schallwellen an der Blut-Bläschen Grenzfläche in hohem Maße gestreut werden, reicht diese Gegebenheit nicht für eine deutliche Signalverstärkung auf Parenchymebene aus. Die Mikrobläschen sind sehr klein und werden im Kreislauf stark verdünnt. Die dennoch erzielte intensive Signalverstärkung ist auf die Resonanzfähigkeiten der Mikrobläschen unter dem

Einfluss von Ultraschallwellen zurückzuführen. Ein Mikroblassen der gleichen Größe ohne diese Fähigkeit wäre tausendfach weniger echogen (CALLIADA et al. 1998).

2.3.2.2 Mikroblassendynamik

Im Gegensatz zu den ionischen Kontrastmitteln der Röntgenologie und des MRT diffundieren die Mikroblassen der Ultraschallkontrastmittel nicht durch Endothelien und führen somit zu keiner interstitiellen Verstärkung. Sie werden aber teilweise vom Retikuloendothelialen System aufgenommen (SCHLIEF u. BAUER 1996; CALLIADA et al. 1998). Das Verhalten von Mikroblassen weicht im Vergleich zu soliden Partikeln unter der Einwirkung von Ultraschallwellen deutlich ab. Sie sind nicht nur einfach passive Reflektoren, sondern werden aufgrund ihres komprimierbaren Gasgehaltes durch die Ultraschallwellen aktiviert und beginnen zu oszillieren. Während der Kompressionsphase des Ultraschalls kontrahieren sich die Mikroblassen und in der Expansionsphase werden sie gedehnt. Diese Oszillation ist bei niedrigem Energiegehalt der Ultraschallwellen linear. Die Amplitude der Oszillation ist am größten, wenn es eine Übereinstimmung zwischen der Wellenlänge des Ultraschalls und der natürlichen Periodizität der Blassen gibt. Tritt dieses Phänomen auf, kommt es zur synchronen Resonanz von Ultraschallwellen und Mikroblassen, die sich bei einer Größe von 1-7 μm unter dem Einfluss von Ultraschallwellen mit Frequenzen zwischen 2 und 15 MHz um ein vielfaches ihres Durchmessers komprimieren und expandieren. In diesem Resonanz Modus wird von den Mikroblassen sehr viel mehr Energie ausgesandt als von rigiden Strukturen gleicher Größe. Berechnet man die Äquivalenzfläche der Mikroblassen als Maß für die Streueffizienz, den so genannten streuenden Querschnitt σ (PHILLIPS et al. 1997), so ist diese etwa um den Faktor 10^{10} größer als die eines passiven Mikroblassens gleicher Größe und Impedanz (siehe Abb.1).

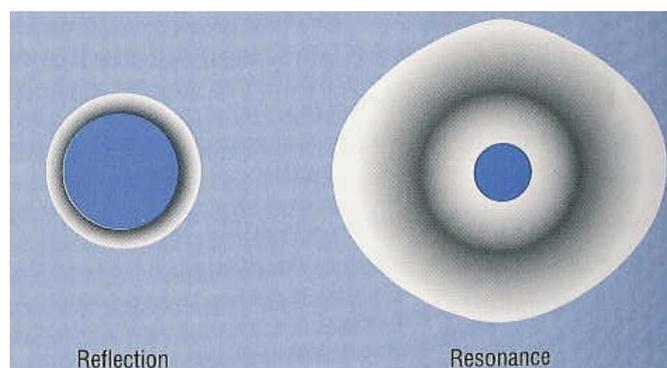


Abb.1: Mikroblassen Resonanz. Links: einfache Reflexion eines rigiden Mikropartikels; rechts: Resonanz eines Mikroblassens (COSGROVE 1999a)

Der streuende Querschnitt des Mikrobläschen ist abhängig von den Unterschieden zwischen der Kompressibilität und der Dichte des Partikels und dem umgebenden Medium (DE JONG et al. 1991; FORSBERG u. SHI 2001).

Die Resonanzfrequenz eines Mikrobläschen hängt neben dem beinhaltenden Gas und der Beschaffenheit der Hülle in erster Linie von seiner Größe ab. Die Resonanzfrequenz steigt mit abnehmendem Durchmesser. Die ausgesandte Energie eines linear oszillierenden Bläschen weist die gleiche Frequenz wie die der eintreffenden Ultraschallwelle auf. Übersteigt jedoch der Energiegehalt der Ultraschallwellen eine bestimmte Grenze, so zeigen die Mikrobläschen ein nichtlineares Verhalten. Wie in *Abbildung 2* dargestellt vibrieren sie in vielen verschiedenen asymmetrischen Formen.

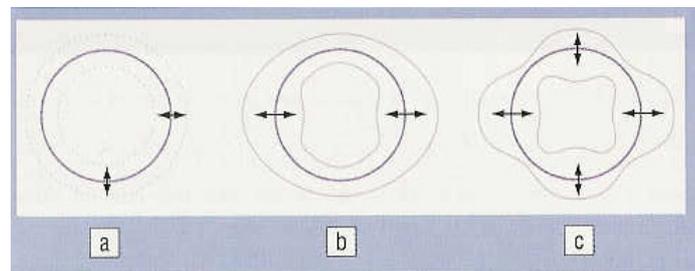


Abb.2: Die Oszillation eines Mikrobläschens unter dem Einfluss steigender akustischer Energie. Von a über b nach c nimmt die Energieeinwirkung zu und die Bewegungen werden komplexer (COSGROVE 1999a).

Grund für diese Asymmetrie ist die Tatsache, dass für die Kompression der Bläschen mehr Energie notwendig ist als für ihre Ausdehnung. In diesem Zustand erzeugte Resonanzfrequenzen können im Vergleich zu den vom Ultraschallkopf ausgesandten Frequenzen nach oben oder unten abweichen. Wie bei einem Musikinstrument mischen sich harmonische Über- und Untertöne in das erwiderte Signal. Dieser Prozess wird als „harmonische Resonanz“ bezeichnet (ALBRECHT et al. 2001) und stellt die Basis der harmonischen Bildgebung dar (*siehe Kapitel 2.3.2.4.1*). Die Laufzeiten dieser transformierten Frequenzen zum Ultraschallkopf entsprechen denen der Echos nicht oszillierender Partikel, wodurch eine genaue Tiefenzuordnung des Ursprungs der harmonischen Resonanz im generierten Ultraschallbild möglich ist. Bei weiterer Erhöhung der Oszillationsamplitude kommt es zu einer zunehmenden Zerstörung der Bläschen. Diese bedingt ein intensives und kurzlebige nichtlineares Signal welches als „stimulierte akustische Emission“ (*siehe Kapitel 2.3.2.4.2*) bezeichnet wird. Aufgrund seiner hohen Intensität und ausgeprägten Nichtlinearität ist es für die Bildgebung besonders geeignet (ALBRECHT et al. 2001).

2.3.2.3 Mikrobläschenkinetik

Mikrobläschen sind physikalische Strukturen, die gasförmige Moleküle enthalten und sich nach intravenöser Applikation in einem flüssigen Medium befinden, welches ebenfalls gelöste Gase enthält. Die Beschaffenheit der Gase innerhalb eines solchen Partikels determiniert unter anderem seine Überlebenszeit (SEIDEL et al. 1998). Wählt man ein Gas mit hohem Molekulargewicht, so verzögert man die Diffusionszeit durch die Membran und verlängert die Persistenz des Mikrobläschens nach der Injektion. Die Diffusionsrate durch die Membran ist abhängig von dem Konzentrationsgradienten und der Löslichkeit des Gases im Blut (WIBLE, Jr. et al. 1998; SEIDEL et al. 1998). Ist das Gas in der umgebenden Flüssigkeit löslich, kommt es zu einer Diffusion der Gase in Richtung des niedrigeren Partialdruckes durch die Membran. Ist der Partialdruck innerhalb der Bläschen höher, kommt es zu einem Schrumpfen, ist er niedriger als in der Umgebung, zu einer Ausdehnung des Partikels bis zu einem Konzentrationsausgleich oder der Zerstörung des Mikrobläschens. Im Blut sind bei diesem Vorgang Stickstoff, Sauerstoff, Kohlenstoffdioxid und die Gase innerhalb der Mikrobläschen von Bedeutung (COSGROVE 1999a). Wenn lufthaltige Mikrobläschen in venöses Blut verbracht werden, ist der Sauerstoffpartialdruck innerhalb der Bläschen geringgradig höher, wodurch Sauerstoff nach außen diffundiert. Das Wachstum eines Mikrobläschens unter Ultraschalleinwirkung nennt man rektifizierte Diffusion. Weil der mechanische Druck des Gases innerhalb eines komprimierten Bläschens größer ist als der Partialdruck des Gases, welches in der umgebenden Flüssigkeit gelöst vorliegt, tendiert das Gas dazu, aus dem Mikrobläschen heraus zu diffundieren. Wenn das Bläschen sich jedoch in der Verdünnungsphase der Ultraschallwellen ausdehnt, sinkt der Druck innerhalb des Bläschens unter den Partialdruck in der Flüssigkeit, was zu einer Gasdiffusion in das Mikrobläschen hinein führt. Da die zum Gasaustausch zur Verfügung stehende Oberfläche in der Expansionsphase größer als in der Kompressionsphase ist, kommt mehr Gas in das Innere des Mikrobläschens als es verlässt.

Weiterhin entscheidend für die Überlebensdauer der Mikrobläschen ist die Höhe des Umgebungsdruckes. Steigt dieser an, kommt es zu einer vermehrten Zerstörung der Mikrobläschen. GOTTLIEB et al. (1995) demonstrierten diesen Effekt bei dem Kontrastmittel Albunex^{®7}, welches durch den höheren Druck in der linken Herzkammer mehr an Echogenität verlor als im rechten Ventrikel. Auch der Blutdruck im arteriellen System mit seinen systolischen und diastolischen Schwankungen und die Blutviskosität nehmen Einfluss auf die Pharmakokinetik der Mikrobläschen (COSGROVE 1999a). Für den Oberflächendruck der Mikrobläschen gilt nach der Laplace Gleichung:

⁷ Molecular Biosystems, San Diego, USA

$$P_g = \frac{2 \times g}{R}$$

P_g :	Oberflächendruck der Mikrobläschen
g :	Oberflächenspannung
R :	Radius des Mikrobläschen

Daraus folgt ein hoher Oberflächendruck bei kleinen Bläschen, die aber mit abnehmendem Durchmesser einen höheren internen Druck im Vergleich zu ihrer Umgebung aufweisen, was zu einer Diffusion von Gas nach außen führt. Beginnt ein Mikrobläschen durch Diffusionsprozesse zu schrumpfen, wird dieser Vorgang durch den steigenden inneren Druck gefördert.

Die Energie der Ultraschallwellen kann die Mikrobläschen beschädigen und somit ihre Überlebenszeit verkürzen. Bei einem niedrigen Energieniveau entsteht aber wahrscheinlich nur ein geringer Schaden und die Halbwertszeit der Bläschen wird vornehmlich von der Diffusionsrate des Gases aus dem Partikel heraus und von mechanischen Einflüssen bestimmt, welche bei der Zirkulation im Organismus auf die Mikrobläschen einwirken. Hierbei spielt die Anheftung der Partikel an den Kapillarwänden, ihre Phagozytose durch Makrophagen und die mechanische Einwirkung im Herzen eine Rolle. Wird jedoch die Schallenergie gesteigert, verstärkt sich die Oszillation und nimmt schließlich asymmetrische Formen an. Letztendlich werden die Partikel inaktiviert, möglicherweise zerplatzen sie oder es kommt zu Membranveränderungen, die sie rigide machen und ihre Resonanzfähigkeiten reduzieren. Das gesteuerte Zerstören der Mikrobläschen kann sowohl diagnostisch als auch therapeutisch genutzt werden, um in Mikrobläschen eingeschlossene Wirkstoffe freizusetzen (COSGROVE 1999a).

Um das sofortige Platzen der Mikrobläschen aufgrund der hohen Oberflächenspannung zu verhindern, werden sie mit einem Überzug oder einer Hülle versehen. Unbehüllte oder nicht stabilisierte Mikrobläschen sind nicht lungenstabil, da ihre hohe Oberflächenspannung sie schnell zusammenschrumpfen lässt (PHILLIPS et al. 1997; COSGROVE 1999a). Es gibt zwei Strategien der Gestaltung einer Mikrobläschenhülle. Zum einen werden polymere Hüllen verwendet, die sich durch eine gute Druckstabilität gegenüber Blutdruckveränderungen und Ultraschall Druckwellen auszeichnen. Zum anderen kommen Mikrobläschen mit einer sehr elastischen und weichen Hülle zur Herstellung. Diese zwei unterschiedlichen Hüllformen zeigen in Abhängigkeit des mechanischen Index (MI) der Ultraschallwellen ein unterschiedliches und gegensinniges Verhalten. Die Substanzen mit weicher Hülle (z.B. SonoVue[®]) zeigen schon bei niedrigem MI eine hohe Echogenität, werden aber bei höheren Ultraschallenergien schneller zerstört. Polymere Mikrobläschen sind bei MI Werten unter 0,5 nicht echogen, entfalten allerdings bei einem MI über 1 eine deutliche Echogenität. Der Einsatz dieser Substanzen hat den Nachteil, dass durch den Bedarf höherer Ultraschallenergien auch eine Verstärkung des Gewebesignals auftritt und somit eine schlechtere Abgrenzung der Mikrobläschen resultiert (SCHNEIDER 2000).

Sehr stabil behüllte Mikrobläschen werden als fremdartige Mikropartikel vom Retikulo-Endothelialen-System des Blutes sowie der Leber und Milz aufgenommen und eliminiert (COSGROVE 1999a). Der Metabolismus des Gases ist abhängig von seiner Struktur. Inerte Gase wie Stickstoff oder Kohlenstoffdioxid als ein Endprodukt des Metabolismus werden nicht verstoffwechselt. Sauerstoff wird an Hämoglobin gebunden und letztendlich zu Kohlenstoffdioxid reduziert. Diese Gase werden überwiegend abgeatmet, während eine renale Filtration wahrscheinlich eine untergeordnete Rolle spielt (COSGROVE 1999a).

2.3.2.4 Bildliche Nutzung nicht-linearer Streuungsphänomene

Die von bewegungslosen Gewebereflektoren zurückgesandten Ultraschallwellen weisen überwiegend die gleiche Frequenz wie die ausgesandten Wellen auf. Das Frequenzecho von bewegten Objekten wird um einige hundert oder tausend Kilohertz verschoben. Mikrobläschen hingegen reagieren bei der Einwirkung von Ultraschallwellen eines gewissen Energiegehaltes mit nichtlinearen Resonanzphänomenen, wobei sie ihre Größe und Form in komplexer Weise ändern.

2.3.2.4.1 Harmonische Bildgebung (Second Harmonic Imaging)

Bei dem nichtlinearen Verhalten von Mikrobläschen kommt es zu einem harmonischen Phänomen bei dem die Mikrobläschen nicht nur die Sendefrequenz reflektieren, sondern auch in Analogie zu akustischen Streichinstrumenten Obertöne, so genannte „harmonics“ mit der doppelten oder mehrfachen Frequenz des Sendesignals emittieren (SCHROPE et al. 1992). Die zweite der harmonischen Frequenzen, deren Intensität mit der Zeit abnehmen, ist für diagnostische Zwecke gut geeignet und wird als „Second Harmonic Frequency“ beziehungsweise deren bildliche Nutzung als „second harmonic imaging“ bezeichnet (MARESCA et al. 1998; CALLIADA et al. 1998). Der Vorteil dieser Frequenz gegenüber der Grundfrequenz ist, dass hauptsächlich die Bläschen mit harmonischer Frequenz schwingen, während das umgebende Gewebe dies nur in sehr geringem Maße aufweist. Die Beschaffenheit der Mikrobläschen und die vom Scanner ausgesandten Schallwellen bestimmen die emittierten Frequenzen des Mikropartikels. Bei Levovist[®] entsteht mit einem Scanner der 3,5 MHz sendet und mit 7 MHz empfängt das Bild überwiegend aus Informationen, welche vom Signalverstärker und nur in geringem Maß aus dem umgebenden Gewebe stammen (MARESCA et al. 1998; CALLIADA et al. 1998). Dieser Untersuchungsmodus ergibt ein beträchtlich verbessertes Signal-zu-Gewebe-Verhältnis (BRACCO INTERNATIONAL B.V. 2001) und erreicht neben der Erhöhung der Bildwiederholungsrate eine höhere räumliche Auflösung (COSGROVE 1999a).

2.3.2.4.2 Stimulierte Akustische Emission (SAE)

Bestimmte Mikrobläschen reagieren unter dem Einfluss von Ultraschallwellen mit einer speziellen Art von nicht linearem Verhalten. Hierfür ist ein gewisses Energieminimum des Schallstrahls, das zum Beispiel bei Doppleruntersuchungen erreicht wird, notwendig. Bei Farbdoppler Anwendungen äußert sich dieses Verhalten als Auftreten mosaikartiger Farbpixel unterschiedlicher Intensität. Obwohl die Mikrobläschen hierfür nicht fließen müssen, erzeugen sie doch einen Dopplershift. Das kann sehr wahrscheinlich auf ihre Resonanzbewegungen zurückgeführt werden (MARESCA et al. 1998; COSGROVE 1999a). Die entstehenden energiereichen Signale sind auch im Spektraldoppler erkennbar (MARESCA et al. 1998). Dieses Phänomen kann pro Mikrobläschen nur einmal provoziert werden. Es ist noch nicht endgültig geklärt, in welcher Weise sich das Mikrobläschen verändert (COSGROVE 1999a). Man kann allerdings von einer Zerstörung der Bläschen ausgehen und es gibt bei einigen Mikrobläschentypen mikroskopische Beweise für Membranrisse und einen Verlust des eingeschlossenen Gases. Bei anderen Mikrobläschenarten werden physikalische Veränderungen der Membraneigenschaften vermutet. In vivo zeigt sich für Levovist® eine signifikante Zerstörung ab einem mechanischen Index von circa 0,5 (ALBRECHT et al. 2001). Dieses Phänomen ist zur Darstellung der Verteilung des Monozytären Phagozytose Systems in der Leber durch das Sichtbarmachen phagozytierter Mikrobläschen nutzbar. Hierbei schließt man aus „Defekten“ im Farbmuster auf Läsionen, die keine Kupfer Sternzellen enthalten wie beispielsweise Metastasen (HAUFF et al. 1997).

2.3.2.5 Kontrastmittelanwendung in verschiedenen Ultraschallmodi

Die Signalverstärkung von Blut durch Ultraschallkontrastmittel um circa 20 Dezibel (COSGROVE 1999a) ist im B-Modus in den Herzkammern und größeren Gefäßen erkennbar. Der Effekt kann in kleineren Gefäßen in diesem Modus nicht dargestellt werden. Allerdings ist der Doppler durch seine höhere Sensitivität in der Lage, die Verstärkung zu detektieren. Mikrobläschen verstärken das Signal des Spektraldopplers durch eine Erhöhung der Anzahl sich bewegender Reflektoren im Messvolumen. Folglich wird die Intensität des Doppler Signals und nicht die Doppler Frequenzverschiebung erhöht. Alle Dopplersysteme haben eine gewisse Grenze bezüglich der noch detektierbaren Signalintensität von Reflektoren einer bestimmten Geschwindigkeit. Wenn diese Signalintensität durch die Zugabe von Mikrobläschen erhöht wird, kann das Volumen mit dieser bestimmten Geschwindigkeit fließender Partikel vom Dopplersystem erkannt und verarbeitet werden. Somit werden Flusskomponenten in die Auswertung einbezogen, die vorher unter der Sensitivitätsgrenze lagen und repräsentieren ein reelleres Bild des Flussprofils. Dieser Umstand erklärt zumindest teilweise die Detektion höherer Maximal- und niedrigerer Minimalgeschwindigkeiten nach der Verabreichung eines Signalverstärkers. Im konventionellen Farbdoppler werden nach der Applikation der Mikrobläschen im untersuchten Gebiet mehr Echos detektiert und somit die Anzahl der Farbdoppler Frequenzsignale erhöht. Bei Amplitudenkodierten Doppler Untersuchungen erhöht sich

die Sensitivität, welches seinen direkten Ausdruck in der Erhöhung der Farbtintensität findet. Aufgrund seiner relativen Winkelunabhängigkeit ist er besonders gut geeignet zur kontrastverstärkten dreidimensionalen Farbdoppler Sonographie.

2.3.3 Spezielle Ultraschallkontrastmittel

2.3.3.1 *Levovist*[®]

Dieses Ultraschallkontrastmittel wird von der Schering AG, Berlin produziert und ist in Europa seit 1996 erhältlich. Das Levovist Granulat besteht zu 99,9 % aus Galaktose ($C_6H_{12}O_6$) und zu 0,1 % aus Palmitinsäure ($C_{16}H_{32}O_2$). Im Handel werden Injektionsflaschen mit 2,5 g und 4 g Granulat angeboten. Vor der Anwendung muss es mit Wasser für Injektionszwecke suspendiert werden. Bei diesem Prozess entstehen kleine lungenkapillargängige Mikrobläschen, die durch einen feinen Palmitinsäurefilm stabilisiert werden. Es kommen je nach Menge des zugefügten Lösungsmittels Konzentrationen von ungefähr 200 mg, 300 mg und 400 mg Granulat pro Milliliter gebrauchsfertige Suspension zum Einsatz. Der Hersteller empfiehlt spezielle Mengen und Konzentrationen des Kontrastmittels in Abhängigkeit von der Indikation. Die gebrauchsfertige Suspension ist unmittelbar vor der Anwendung nach Vorschrift herzustellen. Der Packung liegt eine Kunststoffampulle mit Wasser für Injektionszwecke bei, welches mit der beigelegten Spritze nach Verdünnungsvorschrift aufgezogen wird. Nach der Überführung des Wassers in die Granulat-Flasche findet ein Druckausgleich über den Belüftungskanal mit Sterilfilter statt und durch sofortiges kräftiges Schütteln mit der Hand über zehn Sekunden wird die Suspension zubereitet. Diese muss zwei Minuten stehen gelassen werden und kann danach in die Spritze entnommen werden wobei ein starker Unterdruck vermieden werden sollte, um die Anzahl der Mikrobläschenkonzentration und die Bildung größerer Luftblasen durch Entgasungsvorgänge zu verhindern. Die gebrauchsfertige milchig weiße Substanz ist innerhalb von acht Minuten zu verabreichen (SCHERING DEUTSCHLAND GMBH 1997). Nach BAUER und SCHLIEF (1999) behält die Suspension ihre Echogenität für 10 bis 15 Minuten. Sollte während des Stehens der Suspension ein leichtes Absetzen der Mikropartikel erfolgt sein, wird vom Hersteller empfohlen, unmittelbar vor der Injektion durch vorsichtiges Umschwenken wieder eine homogene Suspension herzustellen (SCHERING DEUTSCHLAND GMBH 1997).

Nach intravenöser Injektion von Levovist[®] steigt das Dopplersignal um 16-30 dB je nach Konzentration und Injektionsvolumen, individuellen Patientenparametern wie der hämodynamischen Situation und dem jeweiligen Gefäß (SCHERING DEUTSCHLAND GMBH 1997). CALLIADA et al. (1998) beschreiben eine Verstärkung des Ultraschallsignals um circa 20 Dezibel, SCHWARZ et al. (1994) bis zu 25 Dezibel, die über drei bis fünf Minuten anhält.

2.3.3.1.1 *Chemisch-Physikalische Eigenschaften*

Die D-Galactose Kristalle des Granulates beinhalten zahlreiche irreguläre Spalten auf ihrer Oberfläche, die letztendlich den Durchmesser der entstehenden Mikrobläschen bestimmen (*siehe Abb.3*). Die Spalten sind mit Luft gefüllt und bilden Gastaschen innerhalb des Partikels. Bei der Suspension und dem Aufschütteln vor der Injektion löst sich das Granulat in seine Bestandteile auf und aus den Gastaschen der Galaktosemikropartikel bilden sich stabilisierte Mikrobläschen (COSGROVE 1999a). Die Galaktosepartikel lösen sich nach der Injektion auf, während die Mikrobläschen im Blut verbleiben. Die Mikrobläschen haben einen mittleren Durchmesser von drei Mikrometern und liegen zu 95 Prozent unter 10 μm und zu 50 Prozent unter 3 μm vor (SCHERING DEUTSCHLAND GMBH 1997; SCHLIEF 1997). Die Wirkung der Palmitinsäure basiert wahrscheinlich auf zwei Mechanismen. Zum einen behindert die von ihr gebildete Moleküllschicht die Diffusion durch die Oberfläche der Mikrobläschen. Zum anderen reduzieren die oberflächenaktiven Eigenschaften der Palmitinsäure die Oberflächenspannung und somit den Innendruck des Bläschens. Beide Mechanismen tragen zu einer Reduktion der Gasdiffusion aus dem Mikrobläschen und folglich einer längeren Überlebensdauer bei. Unstabilisierte Mikrobläschen können die Lungenkapillaren nicht passieren, da ihre hohe Oberflächenspannung sie zu schnell schrumpfen lassen würde (COSGROVE 1999a). Die Viskosität der Suspension hängt von ihrer Konzentration und Temperatur ab.

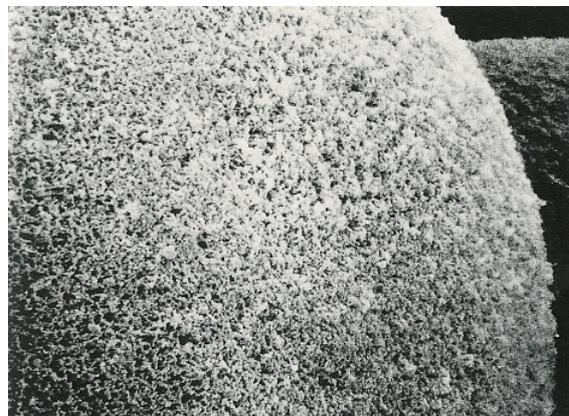


Abb.3: Mikroskopische Vergrößerung eines Galaktosemikropartikels mit Gastaschen; (100fache Vergrößerung) (SCHLIEF 1997).

2.3.3.1.2 *Pharmakodynamische Eigenschaften*

Levovist[®] interagiert zwar mit Ultraschallwellen, hat aber keine pharmakologische Wirkung im eigentlichen Sinne, das heißt es verlässt den Körper ohne eine organspezifische Wirkung. Nach Injektion in eine periphere Vene führt Levovist[®] zu einer vorübergehenden Verstärkung des Ultraschallechos aus den Herzkammern und den Gefäßen. Dieser Effekt wird zum einen durch den hohen Impedanzunterschied zwischen den Gasblasen und dem Blut, zum anderen durch die Reso-

nanzeigenschaften dieser Partikel hervorgerufen. Das Ausmaß der Verstärkung wird neben der Konzentration der Mikrobläschen durch die Eigenschaften der auftreffenden Ultraschallwellen und der spezifischen Antwort der Mikrobläschen bestimmt. Palmitinsäure stabilisiert die Bläschen für einige Minuten und ermöglicht, wie auch die geringe Bläschengröße, ihre Passage durch die Lungenkapillaren.

2.3.3.1.3 Pharmakokinetische Eigenschaften

Die zu der Ermittlung der pharmakokinetischen Eigenschaften vom Hersteller durchgeführten Untersuchungen erfolgten nach intravenöser Applikation von 35 ml und 70 ml Levovist[®] in einer Konzentration von 400 mg/ml. Nach Injektion des Kontrastmittels lösen sich die D-Galaktose-Mikropartikel schnell im Blut auf. Die D-Galaktose gelangt zunächst in den Extrazellularraum und wird dem insulinunabhängigen Glukosemetabolismus zugeführt. Die Galaktose wird dann überwiegend als D-Galaktose-1-Phosphat in der Leber gespeichert oder nach Isomerisierung zu Glukose-1-Phosphat im Stoffwechsel zu CO₂ abgebaut. Eine Galaktoseausscheidung mit dem Harn tritt bei Überschreitung der Plasmadosis von 50 mg / 100 ml auf. Bei lebergeschädigten Patienten erhöht sich die Halbwertszeit der Inhaltsstoffe, die normalerweise für Galaktose zwischen 10-11 min und für Palmitinsäure im Bereich 1-4 min liegen (SCHERING DEUTSCHLAND GMBH 1997).

Der kontrastverstärkende Effekt nach Levovist[®] Gabe tritt abhängig vom beobachteten Gefäßbeziehungsweise Gewebeareal, der hämodynamischen Situation, der Injektionsgeschwindigkeit und der Konzentration etwa 5 bis 20 Sekunden nach intravenöser Applikation und Lungenpassage auf. Wird Levovist sehr langsam über 4 beziehungsweise 15 Minuten infundiert (300-400 mg/ml) tritt der Effekt nach 30 Sekunden beziehungsweise 2,5 Minuten auf (SIRLIN et al. 1999).

2.3.3.1.4 Wirkprinzip von Levovist[®]

Die Mikrobläschen interagieren mit Ultraschallwellen klinisch angewandter Frequenzen und reflektieren beziehungsweise streuen alle Ultraschallsignale sehr stark. Nach der Injektion steigt somit die Echogenität des Blutes stark an und der Signal-Rausch-Abstand im Ultraschallbild wird deutlich verbessert. Dieser Effekt ist besonders bei unter der abbildbaren Schwelle liegenden Intensitäten des Dopplersignals von diagnostischem Nutzen. Da eine Erhöhung der Dopplerverstärkung aber auch das Geräterauschen verstärkt, trägt diese Einstellungsänderung nicht zu einer Verbesserung der Bildauswertbarkeit bei. Durch die selektive Verstärkung der Doppler Signale aus den Blutgefäßen mit Levovist[®] kann diesem Problem entgegnet werden.

2.3.3.1.5 Indikationen

Levovist® ist nach dem Europäischen öffentlichen Beurteilungsberichts des „European Agency for the Evaluation of Medicinal Products“ für folgende Indikationen beim Menschen zugelassen:

Ein- und zweidimensionale dopplersonographische Blutflussdarstellung bei Patienten mit unzureichenden Dopplersignalintensitäten und

- Erkrankungen im Bereich des linken Herzens, wie z.B. Aortenvitien, Veränderungen des linksventrikulären Ausflustraktes, Mitralkvitien,
- Erkrankungen peripherer Arterien und Venen, wie z.B. Stenosen hirnersorgender Arterien, Stenosen oder Veränderungen der Gefäße des Abdomens und kleinen Beckens sowie der Extremitäten,
- Tumorerkrankungen zur Feststellung des Vaskularisierungsmaßes.

Dopplersignale unzureichender Qualität sind bei ungünstigen Flussverhältnissen und ungünstigen Untersuchungsbedingungen zu erwarten. Als ungünstige Flussverhältnisse sind insbesondere langsamer und geringer Blutfluss anzusehen. Von erschwerten Untersuchungsbedingungen kann bei tief liegenden Gefäßen, Überlagerungen, Adipositas und Verkalkung gesprochen werden.

Neben den angeführten zugelassenen Indikationen bei der Blutflussdarstellung hat sich klinisch auch der Nachweis fokaler Läsionen der Leber und Milz über die Nutzung der stimulierten akustischen Emission extravasal gelegener Mikrobubbles etabliert (*siehe Kapitel 2.3.2.4.2 und 2.3.6.1*).

2.3.3.1.6 Sicherheitsuntersuchungen und unerwünschte Wirkungen

Systemische Toleranzstudien ergaben, selbst bei wiederholter Verabreichung der diagnostischen Dosen in kurzen Zeitabständen, keinen Hinweis auf Gefahr einer akuten oder subchronischen Intoxikation. Reproduktionstoxikologische Studien zeigten weder eine embryotoxische Wirkung von Levovist®, noch konnte eine Fertilitätsbeeinträchtigung ausgemacht werden. Weiterhin ist nicht mit neoplasieinduzierenden, mutagenen oder sensibilisierenden Effekten von Levovist® beim Menschen zu rechnen, da seine Inhaltsstoffe physiologisch im Organismus vorkommen und derartige Wirkungen nicht bekannt sind.

Diese an mehreren Spezies durchgeführten, toxikologischen Testverfahren beinhalteten Untersuchungen der lokalen Verträglichkeit, Teratogenität und Gentoxizität. Zusätzlich wurden auch spezielle Testverfahren entwickelt, welche die Tolerierbarkeit einer Mikropartikelsuspension mit deutlich höheren als den klinisch üblichen Dosen ermittelten (FRITZSCH et al. 1999). Der hämodynamische Einfluss von Levovist® wurde an Beagle Hunden untersucht, die fünf aufeinanderfolgende intravenöse Levovist® Injektionen von 0,15 ml/kg Körpermasse bei einer Konzentration von

400 mg/ml in fünfminütigen Intervallen erhalten haben. In der Kontrollgruppe wurde das gleiche Volumen einer einfachen Galaktose Lösung gleicher Konzentration injiziert. Unmittelbar nach der Verabreichung konnten in beiden Gruppen milde hämodynamische Veränderungen beobachtet werden, die sich aber vor der nächsten Applikation zurückbildeten. Ein weiterer Versuchsaufbau untersucht die Sicherheit von Levovist[®] bei Hunden mit pulmonalem Hochdruck bei schwerer Beeinträchtigung des kardiovaskulären Systems. Den Hunden wurde wiederholt Agar Lösung in die Lungengefäße appliziert bis sie einen pulmonalen Hochdruck von mindestens 40 mmHg entwickelten. Nach einer Adaptationsphase von 60 Minuten erhielten sie fünf aufeinanderfolgende intravenöse Levovist[®] Injektionen von 0,15 ml/kg Körpermasse bei einer Konzentration von 400 mg/ml in fünfminütigen Intervallen. Als Kontrolle diente eine 40 prozentige Galaktose Lösung. Die Reaktion war ausgeprägter als bei gesunden Hunden, aber insgesamt kam es nur zu geringgradigen hämodynamischen Veränderungen. Die Applikation der Kontrolllösung ohne Galaktosepartikel oder Mikroläschen verursachte identische Effekte.

Die direkte intravitale Mikroskopie der Mikrozirkulation wird als geeignetes Mittel zur Untersuchung der Embolisation von Mikroläschen angesehen. In diesem Zusammenhang mikroskopierte man Gehirnteile von Hasen und Katzen sowie das Mesenterium von Ratten und die Backentaschen von Hamstern. Den Tieren verabreichte man Levovist[®] in der Konzentration 400 mg/ml direkt in den linken Ventrikel, wodurch Mikroläschenfluss in den Arteriolen, Venulen und Kapillaren darstellbar wurde. Es konnten weder Embolien noch eine Veränderung des Gefäßdurchmessers beobachtet werden. Im Gegensatz dazu obturierten die größeren Bläschen eines beschallten Plasmaexpanders, die als Positivkontrolle fungierten, größere Gefäße für einige Minuten. Zur Untersuchung der Effekte wiederholter Applikationen größerer Volumina über mehrere Tage konzipierte man subchronische Versuchsreihen, in denen Beagle 1 ml oder 3 ml/kg Körpermasse Levovist[®] in der Konzentration 400 mg/ml intravenös über 14-17 aufeinanderfolgende Tage erhielten. Kontrollgruppen bekamen isotonische Kochsalz Lösung in gleicher Dosierung injiziert. Klinische, biochemische und hämatologische Beobachtungen, Urin- und Organgewichtsanalysen, Sektionsbefunde, Knochenmarksanalysen und histologische Untersuchungen flossen in die Auswertung ein (FRITZSCH et al. 1999). Bei keiner Dosierung gab es histologische Hinweise auf Emboli oder andere pathologische Befunde oder Effekte, die im Zusammenhang mit der verabreichten Substanz stehen könnten. Zur Beurteilung eines möglichen Risikos für Patienten mit kardialen Rechts-Links-Shunts wurde Beaglen in einem weiteren Versuchsaufbau 1 oder 3 ml/kg Körpermasse über einen Katheter direkt in den linken Ventrikel einmal wöchentlich über vier aufeinanderfolgende Wochen verabreicht und zur Kontrolle einer Gruppe isotonische Kochsalzlösung appliziert. Die Auswertung beinhaltete neben der Messung des arteriellen Pulmonaldruckes die gleichen Indizes wie in der oben beschriebenen intravenösen Studie und ergab in keiner Gruppe durch Levovist[®] hervorgerufene Abweichungen.

Es kann gelegentlich während oder kurz nach der Injektion im Bereich des Injektionsortes zu vorübergehenden Schmerzen sowie zu Wärme- und Kältegefühl kommen. In einzelnen Fällen ist über veränderte Geschmacksempfindungen, Dyspnoe, Blutdruckveränderungen, Nausea, Erbrechen, Kopfschmerzen, Benommenheit oder Hautreaktionen berichtet worden. Vorübergehend können wegen der Hyperosmolalität der Levovist® Suspension unspezifische Irritationen des Gefäßendothels auftreten. Schmerz und Gewebeerirritationen können die Folge versehentlicher paravenöser Verabreichung sein (SCHERING DEUTSCHLAND GMBH 1997; GEBEL et al. 1998).

2.3.3.1.7 Kontraindikationen

Als bekannte Gegenanzeige wird vom Hersteller die Galaktoseintoleranz genannt. Bei schwerer Herzinsuffizienz, schweren Lungenerkrankungen und innerhalb von 14 Tagen nach einem Herzinfarkt sollte Levovist® nicht appliziert werden. Für die Anwendung in der Schwangerschaft und der Stillzeit liegen keine Erfahrungen vor und für Kinder und Jugendliche noch keine ausreichenden klinischen Ergebnisse, so dass die Applikation für diese Patienten nur nach strenger Indikationsstellung beziehungsweise noch nicht empfohlen werden kann (SCHERING DEUTSCHLAND GMBH 1997).

2.3.3.2 SonoVue®

Dieser Signalverstärker der Firma Bracco International B.V. ist seit März 2001 in der Europäischen Union im Verkehr und wird vom Hersteller als ein Ultraschallkontrastmittel der zweiten Generation bezeichnet. MARESCA et al. (1998) ordnen es als Ultraschallkontrastmittel der dritten Generation ein. Es enthält stabilisierte Schwefelhexafluoridgasbläschen die von Phospholipidmonolayer-Hüllen umgeben werden (*siehe Abb.4*). Diese stabilisierten Mikrobläschen sind lungenkapillargängig und zeichnen sich durch eine hohe Druckstabilität aus. Durch ihre vorteilhaften Schwingungseigenschaften vor allem bei niedrigen Schallenergien eignen sie sich für die Bildgebung mit den neuen kontrastmittelspezifischen Ultraschallmethoden (SCHNEIDER 1999a; SCHNEIDER 1999b; SCHNEIDER 2000; SCHNEIDER 2002). Das inerte Schwefelhexafluoridgas wird auch zur Untersuchung der Atemfunktion (SCHERER et al. 1988) und zur pneumatischen Retinopexie eingesetzt (BRACCO INTERNATIONAL B.V. 2001).

Die SonoVue® Durchstechflasche enthält als Gasphase hundertprozentiges Schwefelhexafluorid sowie 25 mg eines sterilen pyrogenfreien Lyophilisates bestehend aus Phospholipiden (Distearoylphosphatidylcholin, Natriumdipalmytoylphosphatidylglycerol), Palmitinsäure und Macrogol 4000. Der Packung liegt ferner eine Glasspritze bei, die mit fünf Milliliter 0,9 prozentiger Kochsalzlösung vorgefüllt ist, ein Spritzenkolben aus Kunststoff und ein Minispitze System mit integriertem

Druckausgleichsventil. Nach Zugabe der Kochsalzlösung in die Durchstechflasche und anschließendem Schütteln über circa 20 Sekunden bis zur vollständigen Auflösung des Pulvers bilden sich die Mikrobläschen. Die Dispersion ist im Originalbehältnis nach Herstellerangaben für eine Dauer von sechs Stunden stabil. Vor der Entnahme von SonoVue[®], die erst kurz vor der geplanten Injektion erfolgen soll, ist die Dispersion nochmals leicht zu schwenken.

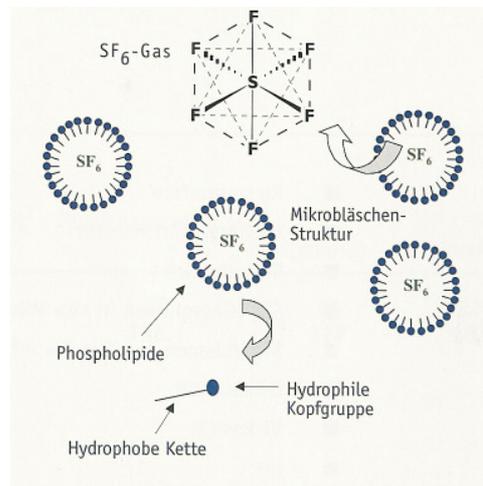


Abb.4: SonoVue[®] Struktur
(BRACCO INTERNATIONAL
B.V. 2001)

Nach intravenöser Applikation kann eine Signalverstärkung in den Herzkammern, den großen sowie auch in kleineren Gefäßen in den Ultraschallmodi B-Modus, Doppler, Harmonic Imaging und Pulsinversion beobachtet werden (SCHNEIDER et al. 1996; CORREAS et al. 2000). Während für die reine Signalverstärkung Bolusgaben in den meisten Fällen gute Ergebnisse bringen, kommt bei der Beurteilung der Organperfusion auch eine Infusion zum Einsatz (CORREAS et al. 2000; BRACCO INTERNATIONAL B.V. 2001). Die Verstärkungsdauer bei Bolusapplikation hält je nach untersuchter Region und Dosis circa 4 bis 11 Minuten an (LLULL 1999).

2.3.3.2.1 Chemisch-Physikalische Eigenschaften

SonoVue[®] enthält als aktiven Wirkstoff hundertprozentiges, inertes, schwer wasserlösliches Schwefelhexafluoridgas. Die Zugabe der 5 ml isotonischer Kochsalzlösung zu den in der Durchstechflasche als Lyophilisat enthaltenen Phospholipiden und die anschließende Rekonstitution durch Aufschütteln führt zur Bildung von schwefelhexafluoridhaltigen Mikrobläschen. Die Dispersion enthält bis zu 500 Millionen Mikrobläschen pro Milliliter. Das in die Mikrobläschen eingeschlossene Gasvolumen (SF_6) beträgt $8 \mu\text{l}$ pro Milliliter. Der mittlere Durchmesser beträgt $2,5 \mu\text{m}$, wobei 90 % einen mittleren Durchmesser unter $8 \mu\text{m}$ und 99 % unter $15 \mu\text{m}$ aufweisen. Die Osmolarität der

Dispersion beläuft sich auf 294 mosm/kg Lösung, der pH-Wert liegt zwischen 6,0 und 6,5. Die ungeöffnete Durchstechampulle kann bei Raumtemperatur zwei Jahre gelagert werden (SCHNEIDER et al. 1995).

2.3.3.2.2 Pharmakodynamische Eigenschaften

Die Grenzfläche zwischen den Schwefelhexafluoridbläschen und dem wässrigen Medium wirkt als Reflektor der Ultraschallwelle und führt so zu einer Verstärkung der Blutechogenität mit resultierender Erhöhung des Blut-Gewebe-Kontrastes. Der Reflexionsgrad hängt von Größe und Konzentration der Mikrobbläschen und der Frequenz der Ultraschallwellen ab. SonoVue[®] interagiert zwar mit Ultraschallwellen, hat aber keine pharmakologische Wirkung im eigentlichen Sinne, das heißt, es verlässt den Körper ohne eine organspezifische Wirkung zu erzielen. Einflüsse auf kardio-pulmonale Parameter wie Herzfrequenz, Hämodynamik oder arterielle Sauerstoffsättigung wurden nach Herstellerangaben nicht nachgewiesen (MOREL et al. 2000; BRACCO INTERNATIONAL B.V. 2001).

2.3.3.2.3 Pharmakokinetische Eigenschaften

Die SonoVue[®] Mikrobbläschen passieren nach intravenöser Injektion das Lungenkapillarbett und werden durch die linken Herzhöhlen über das arterielle Gefäßsystem auf die Organsysteme verteilt. Da die Mikrobbläschen aufgrund ihrer Größe das Gefäßsystem nicht verlassen, handelt es sich um einen so genannten „intravaskulären Tracer“ beziehungsweise ein „Blood-Pool-Kontrastmittel“. Bei klinisch üblichen Dosierungen entsteht eine Verdünnung im Blut um den Faktor 2000 mit einer resultierenden Konzentration von 0,005 µl pro Milliliter Blut. In Tierversuchen mit Kaninchen konnte eine rasche pulmonale Elimination von SF₆ nach intravenöser SonoVue[®] Applikation von 0,3 ml/kg beziehungsweise 1,0 ml/kg Körpermasse nachgewiesen werden. Im Urin sind ebenfalls nur sehr geringe Mengen < 0,1 ng/g Urin von SF₆ feststellbar (BRACCO INTERNATIONAL B.V. 2001). Eine Akkumulation kann aufgrund der schnellen pulmonalen Elimination nicht beobachtet werden. Nach intravenöser SonoVue[®] Einzelinjektion der üblichen klinischen Dosis von 0,03 ml/kg Körpermasse beziehungsweise der zehnfachen Menge an gesunde menschliche Probanden und Patienten mit diffuser interstitieller Lungenfibrose zeigten sich keine wesentlichen Unterschiede bei der pulmonalen Elimination des SF₆ (MOREL et al. 2000; BRACCO INTERNATIONAL B.V. 2001; BOKOR et al. 2001). Auch bei eingeschränkter Transportkapazität des Ausscheidungsorgans Lunge ist eine vollständige Elimination des SF₆-Gases gewährleistet (BOKOR et al. 2001).

Die Phospholipide der Bläschenhülle unterliegen dem natürlichen Metabolismus und werden nach Austausch mit Membranlipiden, Phospholipidvesikeln und Lipoproteinen im Blut oder von Phagozyten abgebaut. Im Vergleich zur Gesamtmenge endogener Lipide ist die Menge der bei einer diagnostischen Dosis verabreichten Phospholipide mit 76 µg/ml SonoVue[®] sehr gering. Palmitinsäure liegt in einer Konzentration von 8 µg/ml SonoVue[®] vor. Die geringe Molekülgröße von Polyethylenglykol 4000, welches als Hilfsstoff und Stabilisator dient, erlaubt eine effiziente renale Ausscheidung der im Rahmen einer diagnostischen Dosierung verabreichten Menge von 0,15 mg/kg. Pharmakokinetische Studien an Ratten haben eine Ausscheidung im Urin von 61 % (nach 7 Tagen) und von 20 % über den Faeces erwiesen (BRACCO INTERNATIONAL B.V. 2001).

2.3.3.2.4 Wirkprinzip von SonoVue[®]

Das Prinzip der Signalverstärkung entspricht dem anderer Mikrobläschenkontrastmittel. Die Schwefelhexafluorid Bläschen weisen ein im Vergleich zu Blut und Weichteilgewebe deutlich höheres Schallreflexions- und Streuungsvermögen auf. Nach Injektion steigt die Blutechogenität und der Signal-Rausch-Abstand wird deutlich verbessert. Die weiche Phospholipidhülle (so genannte „soft shell“) verhilft zu günstigen Reflexions- und Oszillationseigenschaften auch bei Verwendung niedriger Schallenergien. Die geringe Löslichkeit des Gases bewirkt eine hohe Druckstabilität. Der Umgebungsdruck, bei dem 50 % der Mikrobläschen zerstört werden (= critical Pressure = PC) liegt bei 127 mmHg; im Vergleich: der von Luft bei 43 mmHg (SCHNEIDER et al. 1995; BRACCO INTERNATIONAL B.V. 2001). Die Mikrobläschen interagieren mit Ultraschallwellen einer Frequenz von einem bis zehn Megahertz mit einer maximalen Resonanz und folglich bester Darstellbarkeit zwischen 4-4,5 MHz (SCHNEIDER et al. 1995).

2.3.3.2.5 Indikationen

SonoVue[®] ist nach dem Europäischen öffentlichen Beurteilungsberichts des „European Agency for the Evaluation of Medicinal Products“ für folgende Indikationen beim Menschen zugelassen:

- Echokardiographie: Zur Verbesserung der Sichtbarkeit der Herzkammern sowie der Endokardabgrenzung bei kardiovaskulären Erkrankungen
- Makrogefäßsystem: Zur Verbesserung der dopplersonographischen Diagnostik der zerebralen Arterien, der extrakraniellen Karotis, der peripheren Arterien und der Pfortader.
- Mikrogefäßsystem: Zur verbesserten Darstellung der Vaskularisierung fokaler Läsionen und damit spezifischere Charakterisierung von Läsionen der Leber und der Brust im Rahmen der Dopplersonographie.

Neben den angeführten zugelassenen Indikationen bei der hat sich klinisch auch der Nachweis fokaler Läsionen der Leber über Nutzung der stimulierten akustischen Emission extravasal gelegener Mikrobläschen etabliert (*siehe Kapitel 2.3.2.4.2 und 2.3.6.1*).

2.3.3.2.6 Sicherheitsuntersuchungen und Unerwünschte Wirkungen

Im Rahmen der präklinischen Studien ergaben sich keine Hinweise auf Gentoxizität und Reproduktionstoxizität. Die Ergebnisse von insgesamt 27 abgeschlossenen klinischen Studien mit 1971 Personen, von denen 1809 SonoVue® allein oder zusammen mit einem Kontroll-Präparat erhielten, zeigten im allgemeinen nicht schwerwiegende, vorübergehende Nebenwirkungen mit einer spontanen Wiederherstellung ohne bleibende Schäden (BRACCO INTERNATIONAL B.V. 2001). Die häufigste unerwünschte Wirkung war Kopfschmerz und eine veränderte Empfindung an der Injektionsstelle (circa 2 %), weiterhin Übelkeit, Flush, Parästhesien und Geschmackstörungen (1-2 %). In einem Fall wurde eine sensomotorische Parese im Arm beobachtet, ohne jedoch einen eindeutigen kausalen Zusammenhang mit der Verabreichung von SonoVue® finden zu können (BRACCO INTERNATIONAL B.V. 2001).

Das Auftreten eventueller Nebenwirkungen ist nach toxikologischen Studien nicht auf die inhaltliche Zusammensetzung des Präparates zurückzuführen sondern beruht auf dem partikulären Charakter der gebrauchsfertigen Mikrobläschen. Derartige Partikel sind in der Lage das Retikuloendotheliale System zu stimulieren mit der konsekutiven Freisetzung vasoaktiver Mediatoren, bei denen ortständige Makrophagen eine wichtige Rolle spielen können. Hierbei ist vor allem an eine systemische Hypotonie sowie eine pulmonale Hypertonie zu denken. In liposomalen Präparationen wurde bei Hunden ab Dosierungen von 150 µg/kg Körpermasse eine Hypotension registriert. Diese Tierart gilt hinsichtlich der Reaktion auf Liposomen als empfindlichste Spezies. Da bei diagnostischem Einsatz von SonoVue® nur etwa 2,3 µg Phospholipide pro Kilogramm Körpermasse appliziert werden, sind systemische Auswirkungen der Phospholipide nicht zu erwarten (BRACCO INTERNATIONAL B.V. 2001).

In toxikologischen Studien erhielten Ratten und Affen Einmaldosen von 20 ml/kg Körpermasse ohne Auftreten von klinischen Befunden. Auch in den Studien mit Wiederholungsgaben an Ratten mit bis zu 5 ml/kg intravenös verabreichten SonoVue® über vier Wochen konnten keine durch die Behandlung verursachten Veränderungen klinischer Befunde wie Körpermasse, Nahrungsaufnahme, Laborwerte, Urinalysen oder Organengewichte festgestellt werden. Bei dem einen Todesfall aus der Kontrollgruppe und den zwei Todesfällen aus der Verumgruppe wird als Ursache ein von SonoVue® unabhängiger Volumeneffekt gesehen. Die histologische Untersuchung war bis auf eine dosisabhängige entzündliche Veränderung der Caecumschleimhaut unauffällig. In einer Wiederholungsstudie an Ratten und auch an Affen konnte dieser Befund aber nicht reproduziert werden.

2.3.3.2.7 Kontraindikationen

Als Gegenanzeige wird die Applikation von SonoVue[®] an Patienten mit bekannter Überempfindlichkeit gegen Schwefelhexafluorid oder einen der anderen Bestandteile von SonoVue[®] beschrieben. Das Präparat sollte nicht bei nachgewiesenem Rechts-Links Shunt, schwerem pulmonalen Hochdruck, unkontrolliertem systemischen Hochdruck und bei Patienten mit akutem Atemnotsyndrom sowie bei Personen unter 18 Jahren angewendet werden. Es liegen keine klinischen Erfahrungen zur Anwendung während der Schwangerschaft oder bei stillenden Müttern vor, sodass bei der Verschreibung Vorsicht empfohlen wird. Im Tierversuch an Ratten und Kaninchen traten jedoch keine schädlichen Wirkungen im Hinblick auf Schwangerschaft, embryonale/fetale Entwicklung, Geburt oder postnatale Entwicklung auf.

2.3.4 Biologische Effekte der Ultraschallkontrastmittel

Bei Klärung der Frage nach potentieller Gefährdung des Patienten bei einer Applikation von Ultraschallkontrastmitteln sind die Eigenschaften des Mikrobläschens als Ganzes, Bestandteile seiner Membran, die Wirkung des beinhaltenden Gases und des ihres flüssigen Transportmittels, sowie ihr Potenzial, Embolien zu bewirken, von Bedeutung.

Als Membranbestandteile werden Stoffe gewählt, die im Organismus physiologisch als Metaboliten vorkommen (z.B. Phospholipide) oder biologisch abbaubar sind (z.B. Cyanoacrylate) und die von einer eventuellen Kontamination mit Viren oder Prionen befreit werden. Diese Stoffe wären prinzipiell in der Lage allergische Reaktionen hervorzurufen, die aber trotz intensiver Untersuchungen bei Albutex[®] nicht nachgewiesen werden konnten (CHRISTIANSEN et al. 1994). Ein toxischer Einfluss der Mikrobläschengase ist unwahrscheinlich, da es sich entweder um Luft oder inerte Gase handelt (z.B. Schwefelhexafluorid), von denen zahlreiche bereits in viel größeren Mengen für andere Zwecke in der Humanmedizin zum Einsatz kamen. Bei den stabilisierenden Komponenten handelt es sich um oberflächenaktive Stoffe, die keine oder nur untergeordnete Effekte auslösen (COSGROVE 1999b). Die meisten Stoffe liegen zur Stabilisierung in der Ampulle in Form einer viskosen Flüssigkeit vor, die hypertensive Effekte an der Injektionsstelle hervorrufen und mit transienten lokalen Missempfindungen verbunden sein können. Bei solitären Mikrobläschen unter sieben Mikrometer Größe besteht keine Gefahr der Emboliebildung und größere oder aggregierte Bläschen sollten vom pulmonalen Kapillarbett abgefangen werden (COSGROVE 1999b). Daher ist das Resultieren eines Infarktes aus einer Gasembolisierung viel unwahrscheinlicher als bei Plättchen oder Atheromembolien vergleichbarer Größe zumal sich die Mikrobläschen innerhalb weniger Minuten auflösen. In der Literatur ist jedoch ein Fall beschrieben, bei dem ein Patient mit einem Vorhofseptumdefekt nach einer Injektion von Indocyanin-Grün zum Zwecke einer kardiologischen Studie einen Schlaganfall erlitten hat (ALLEN 1988).

Zellschädigung

Frei oszillierende Mikrobläschen werden als energieabsorbierende Partikel innerhalb der Schallwellen von dem Schallemitter weg bewegt. Sie werden hierbei auf Geschwindigkeiten bis zehn m/sek beschleunigt (STARRITT et al. 1991; COSGROVE 1999a). Diese sich schnell bewegenden Partikel sind für die meisten bei in vitro Bioeffekt Experimenten beobachteten Lysen von Zellen verantwortlich (COSGROVE 1999a). Das beschriebene Verhalten tritt bei Vorliegen eines Spektrums an Bläschengrößen nur bei einer sehr kleinen Gruppe auf. Werden Mikrobläschen von vielen Zellen umgeben, heften sie sich an diese Zellen und können nicht ausreichend beschleunigt werden, um andere Zellen zu beschädigen. Sie sind jedoch in der Lage die Zellen, an denen sie anheften zu schädigen, indem sich bei hohen akustischen Druckamplituden die freie Wand der Mikrobläschen einstülpt und mit einer ausreichend hohen Kraft auf die Zellwand einwirkt (ROONEY 1972). Die Oszillation der Bläschen bewirkt eine Strömung der dem Partikel direkt anliegenden Flüssigkeit, die so genannte akustische Mikroströmung (ROONEY 1970). Es entsteht ein Geschwindigkeitsgradient mit daraus resultierenden Scherkräften, die in der Lage sind Zellmembranen zu beschädigen. Dieser Mechanismus ist wahrscheinlich für die meisten schädigenden Einflüsse bei niedrigeren Ultraschallintensitäten verantwortlich. Bei hohen Ultraschallintensitäten kann es zu einer Implosion der Mikrobläschen kommen, die eine lokale Stoßwelle erzeugt mit der Potenz, biologisches Gewebe in der Bläschenumgebung zerstören zu können. Der Prozess wird als transiente Kavitation bezeichnet und kann in vivo bei der Anwendung von Lithotripsie Schallwellen oder bei fokussierten Ultraschallwellen sehr hoher Energie auftreten (DELIUS et al. 1988), nicht aber bei Sendeleistungen diagnostischer Schallwellen (DUCK et al. 1985). Bei der Implosion der Mikrobläschen erhitzt sich das beinhaltende Gas so stark, dass eventuell eine Bildung freier Radikale auftritt, die persistieren und eine schädigende Wirkung auf Zellmembranen ausüben können. Dieser Mechanismus scheint aber eine untergeordnete Rolle zu spielen (COSGROVE 1999a).

2.3.5 Artefakte durch Kontrastmittel

Als Ultraschallartefakte bezeichnet man abgebildete Strukturen die physikalisch oder gerätetechnisch bedingt sind und keine anatomischen Gegebenheiten widerspiegeln. Sie entstehen im Allgemeinen durch die Diskrepanz zwischen den im Ultraschallgerät idealisiert angenommenen und den real herrschenden physikalischen Bedingungen. Die so genannten Ultraschallkontrastmittel Artefakte sind nicht alle auf diese Fehler zurückzuführen. Da die Mikrobläschen im Gegensatz zu anatomischem Gewebe die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Ultraschallwellen nicht beeinflussen, entstehen keine geometrischen Verzerrungen aufgrund von Veränderungen der Schallgeschwindigkeit (COSGROVE 1999a). Trotz dieser Abweichungen zu den konventionellen Ultraschallartefakten spricht man auch bei den folgenden, mit dem Einsatz von Signalverstärkern verbundenen Phänomenen, von Artefakten (FORSBERG et al. 1994; COSGROVE 1999b).

- Schimmer

Sowohl in größeren Gefäßen als auch im Gewebereich wird manchmal ein Schimmern beobachtet, welches durch Bewegung der Mikrobläschen verursacht wird. Dieses ist am deutlichsten ausgeprägt, wenn es zu einer Zerstörung der Bläschen kommt (COSGROVE 1999b). Dieses Artefakt ermöglicht dem Untersucher die Anwesenheit des Signalverstärkers in dem entsprechenden Bereich zu erkennen.

- Spektrales Farbrauschen

Das auch als „Bubble noise“ bezeichnete Artefakt entsteht durch Zerstörung der Mikrobläschen. Die Druckveränderungen der Ultraschallwellen werden von den Mikropartikeln aufgenommen, wodurch sich ihr Durchmesser in Abhängigkeit von der Ultraschallfrequenz verändert. Das sich aus der lokalen Schalldruckamplitude ergebende Ausmaß der Größenänderung kann zu einem Platzen der Mikrobläschen führen. Ein solches Ereignis geht mit der Emission eines akustischen Signals einher und ist in allen Arbeitsmodi zu erkennen. Im Spektraldoppler äußern sich diese Artefakte als schmale, scharf berandete, nadelähnliche Signale, den so genannten Spikes. Sie haben eine große Amplitude und sind im Audiodoppler als ein krachendes Geräusch hörbar. Im Farbdoppler ist eine mosaikartige Alternation von roten und blauen Bildpunkten charakteristisch. Der amplitudenkodierte Doppler bildet diese Emission in Form eines kurzen Aufleuchtens ab. Kapillaren können durch dieses Verfahren als eine Art Farbteppich sichtbar werden. Dieses Phänomen ermöglicht die Detektion statischer Mikrobläschen und wird in der Diagnostik als Stimulierte Akustische Emission genutzt (FORSBERG et al. 1994; FORSBERG 1997) (siehe Kapitel 2.3.2.4.2).

- Spektralverbreiterung

Nach intravenöser Applikation eines Signalverstärkers erhöht sich die detektierte Geschwindigkeit über das gesamte Spektrum und es kommt zu einer Erniedrigung der gemessenen Minimalgeschwindigkeit. Dieser Effekt kann in arteriellen und venösen Gefäßen auftreten (PETRICK et al. 1997). Durch die signalverstärkenden Mikrobläschen wird die Sensitivität der Doppleruntersuchung gesteigert. Signale von mit bestimmter Geschwindigkeit fließenden Partikeln die vor der Applikation unter der für den Doppler zugänglichen Intensitätsschwelle lagen, werden jetzt detektiert (SPONHEIM u. MYHRUM 1996; ABILDGAARD et al. 1996). Die mittels PW-Doppler gemessenen Dopplershiftfrequenzen werden im Tierversuch um 20 % bis 45 %, im Pumpphantom um 17 % angehoben (FORSBERG et al. 1994). Mit Zurücknahme der Schallkopfsendeleistung kann die Spektralverbreiterung reduziert werden. Die Spektralverbreiterung verursacht Probleme bei Untersuchungen, die einen Absolutwert als Kriterium eines physiologischen oder pathologischen Geschehens beinhalten. So müssen die physiologischen Grenzwerte der Messung nativer Flussgeschwindigkeiten bei Untersuchungen unter Berücksichtigung der Spektralverbreiterung neu definiert werden.

- Blooming

Dieser überwiegend bei Farbdoppler Untersuchungen auftretende Effekt ist durch das Erscheinen von Farbpixeln jenseits der Gefäßgrenzen charakterisiert. Ein ursächlicher Aspekt ist das Überschreiten der Signalstärke, die von dem Doppler noch adäquat verarbeitet werden kann. Zum anderen kann ein mehrfaches Reflektieren der Ultraschallwellen zwischen den Mikrobläschen eine Kette von Echos entlang der Schallwellenausbreitung verursachen. Letzteres entspricht dem Mechanismus des Kometenschweif Artefaktes der B-Bild Sonographie. Die relativ schlechte räumliche Auflösung des Farbdopplers bewirkt aufgrund der großen Farbpixel eine übertriebene Ausdehnung in der bildlichen Darstellung des Effektes. Blooming wirkt sich weniger bei qualitativen als bei quantitativen Untersuchungsverfahren aus (COSGROVE 1999b). Der Spektraldoppler scheint für dieses Artefakt weniger empfänglich zu sein. Bei ausgeprägten Verstärkungen kann aber mitunter das gesamte Spektrum überstrahlt sein und eine Signalauswertung bis zum Nachlassen der Verstärkung unmöglich machen (COSGROVE 1999b). Eine Reduzierung dieses Artefakts ist über ein Absenken der Gesamtverstärkung oder über eine kontinuierliche Infusion des Signalverstärkers anstelle der Bolusapplikation möglich (FORSBERG 1997).

- Distale Schallauslöschung

Insbesondere bei der Bolusapplikation kann in größeren Gefäßen durch die hohe Dichte der Mikrobläschen eine ausgeprägte Streuung beziehungsweise Reflexion der Ultraschallwellen entstehen. Die weitere Ausbreitung der Ultraschallwelle ist so schwach, dass hinter der Struktur keine Echos mehr erkennbar sind. Infolgedessen kommen von darunter liegendem Gewebe keine auswertbaren Informationen zum Schallkopf zurück. Dieses Phänomen nennt man analog zum Licht auch Schallschatten. Die verlorenen Bildinformationen stellen sich in Form eines echolosen bis echoarmen Bereiches distal der reflektierenden Grenzfläche dar.

2.3.6 Anwendung von Ultraschallkontrastmitteln beim Menschen

2.3.6.1 Diagnostik

Der Einsatz von Ultraschallkontrastmitteln ist klinisch indiziert, wenn sich die Diagnose ändern oder gesichert werden kann. Nach einer europaweit durchgeführten Untersuchung an 513 Patienten erhöht der Einsatz von Signalverstärkern die diagnostische Zuverlässigkeit von 27,4 % auf 77,2 % (CAMPANI et al. 1998). Hierbei ist eine Verbesserung der Aussagekraft morphologischer und dynamischer Ultraschalluntersuchungen beschrieben. Bestimmte Gegebenheiten begrenzen die Möglichkeiten der konventionellen Sonographie und bedingen unter anderem den Einsatz von Kontrastmitteln. Hierzu zählen für Ultraschallwellen schwer durchdringbare anatomische Strukturen, die Anwesenheit von Substanzen, die Ultraschallwellen stark reflektieren oder absorbieren wie

eine zirrhotische oder verfettete Leber, geringer und oder langsamer Fluss und Untersuchungsgebiete mit einem hohen Aufkommen von Bewegungsartefakten.

Ultraschallkontrastmittel führen über die Verstärkung des Dopplersignals zu einer grundsätzlich verbesserten Detektion des Blutflusses beziehungsweise der Gewebepерfusion (UCHIMOTO et al. 2000). Die Darstellung kleiner und oder tief gelegener Gefäße mit geringem oder langsamem Blutfluss erlangt durch den Einsatz von Kontrastmitteln eine höhere Sensitivität (GOLDBERG et al. 1993). Der Signal-Rausch-Abstand wird vergrößert und somit die Überlagerung der Dopplersignale von Organ- und Patientenbewegung und eine Verfälschung des Signals durch die Bewegung angrenzender größerer Arterien reduziert. Die Signalintensität sollte dann auch die Stärke des Systemrauschens übertreffen. In der Aufarbeitung differentialdiagnostischer Fragestellungen steht dem Untersucher mit der signalverstärkten Sonographie ein wichtiges Hilfsmittel zur Verfügung. So gelingt im Rahmen der Nierensonographie die Unterscheidung zwischen komplizierten Zysten und soliden Raumforderungen beziehungsweise Abszessen (PULS et al. 2000). Signalverstärker werden zur Durchführung eines Vitalitätsnachweises nicht nur bei ischämischen Organerkrankungen eingesetzt, sondern auch bei der über einen Katheter erfolgenden arteriellen Chemoembolisation oder perkutanen Ethanolbehandlung nicht resezierbarer Neoplasien. Der Erfolg der Therapie kann anhand der sistierenden Blutversorgung der Läsion bestimmt werden, wobei der Einsatz von Kontrastmitteln hilft, die Anzahl der falsch negativen Untersuchungsergebnisse zu reduzieren (HASHIMOTO et al. 1997; TOYODA et al. 1997; BARTOLOZZI et al. 1998; WESKOTT 1999; CATALANO et al. 1999; SHIRATO et al. 2002; ESTEBAN u. GIL 2002; NUMATA et al. 2003). Bei der Lebersonographie wird die Abgrenzung bestimmter benignen von malignen Prozessen möglich (VON HERBAY et al. 2004). Erst dem Einsatz dieser Substanzen ist bei raumfordernden Prozessen die sonographische Darstellung der oftmals kleinkalibrigen Gefäße zu verdanken. Infolgedessen wird die Darstellbarkeit des typischen Vaskularisationsmusters des hepatozellulären Karzinoms beim Menschen möglich. Hierzu zählen der unterschiedliche Verlauf und Kaliber der Gefäße, arteriovenöse Shunts, unterschiedliche arterielle Flussmuster mit verschiedener Geschwindigkeit und reduzierter diastolischer Phase sowie ein hoher Pulsatilitätsindex. Blutlakunen, Gefäßeinbrüche und irreguläre zentrale sowie periphere Zirkulation können erkannt werden und zu einer Diagnosestellung führen (DING et al. 2001; YAMAMOTO et al. 2002; CHOI et al. 2002; DILLMACKY et al. 2002; HARVEY et al. 2002; VILANA et al. 2003; NICOLAU et al. 2004). Da Lebermetastasen überwiegend eine nur geringgradige Durchblutung aufweisen sind insbesondere sie als eine Indikation für den Kontrastmitteleinsatz zu sehen. Auch hier spielt das Verteilungsmuster der Gefäßversorgung in der Läsion und der Tumorperipherie sowie die Art und Geschwindigkeit des Blutflusses eine entscheidende Rolle in der Diagnostik. Aufgrund der Tatsache, dass ein Teil der Hämangiome im Gegensatz zu malignen Läsionen Kontrastmittel erst nach der arteriellen Frühphase oder der portalvenösen Phase aufnehmen, ist ihre Abgrenzung unter der Verwendung von Signalverstärkern möglich. Das Kontrastmittel flutet von der Peripherie her an und füllt die Läsion entsprechend spät, was als Irisblendenphänomen bezeichnet wird (WESKOTT 1999;

TANAKA et al. 2001; ALBRECHT u. BLOMLEY 2001; BLOMLEY et al. 2001b; YANG et al. 2002; VON HERBAY et al. 2002; QUAAIA et al. 2002). Die Diagnosestellung einer Leberzirrhose wird über die Analyse der Boluskinetik durch dieses Organ unterstützt. Es kommt nach peripheren venöser Applikation zu einem signifikant früheren Anfluten der Mikrobläschen in den Lebervenen (ALBRECHT et al. 1999b). Eine weitere Indikation für Ultraschallkontrastmittel ist die Diagnostik renaler arterieller Stenosen und das Monitoring von Transplantationspatienten (MISSOURIS et al. 1996; DOWLING et al. 1999; LENCIONI et al. 1999; FERRARESSO et al. 1999; HOUSE et al. 2000; CLAUDON et al. 2000; LACOURCIERE et al. 2002; LEFEVRE et al. 2002). Bei der transkraniellen echokontrastverstärkten Doppleranwendung tragen Signalverstärker zur Überwindung der physikalischen Probleme der Bildgebung im Schädelbereich bei. Sie erlauben so die Beschreibung der cerebrovaskulären Anatomie, altersabhängiger Flussraten, Pulsatilität und Widerstandindizes. Überdies ermöglichen beziehungsweise verbessern sie die Diagnostik von Tumoren, arteriovenöser Malformationen, Thrombosen, Stenosen und Subduralblutungen. Die Sensitivität und diagnostische Zuverlässigkeit werden deutlich gesteigert (RIES et al. 1991; ROSENKRANZ et al. 1993; BAUER et al. 1996; MURPHY et al. 1997; RIES 1997; BAZZOCCHI et al. 1998; BAUMGARTNER 1999; TOTARO et al. 1999; SCHWEIKERT et al. 2002). Echokardiographisch verhelfen Mikrobläschenkontrastmittel zu einer genaueren Beurteilung der Endokardkonturen, anatomischer Abnormalitäten, der Myokardperfusion und des Koronariensflusses und können sowohl im Rahmen der Ruhe- als auch der Stressechokardiographie genutzt werden (NYGREN u. JOGESTRAND 1998; BORGES et al. 2002; TIEMANN 2002; SENIOR 2002; TANI et al. 2002; BAHLMANN et al. 2002; RATANAKORN et al. 2002; PORTER u. XIE 2002; TAKEUCHI et al. 2003; MURO et al. 2003). Bei der Untersuchung peripherer Gefäßerkrankungen, insbesondere in der Karotidensonographie, ermöglichen Kontrastmittel eine genauere Diagnostik (SITZER et al. 1997; HOFSTEE et al. 2000; FERRER et al. 2000) und ihr Einsatz im Bereich der Beckenhöhle liefert mit der Sonohystero-graphie eine Ergänzung der Infertilitätsdiagnostik (ABRAMOWICZ 1997; HOLZ et al. 1997; GUAZZARONI et al. 2001).

2.3.6.2 Therapie

Die Anwendung von Mikrobläschenkontrastmitteln im Sinne einer Therapie befindet sich noch im Anfangsstadium und die bisherigen Erkenntnisse beziehen sich vornehmlich auf experimentelle Untersuchungen. Ein Ansatzpunkt besteht in der Thrombolyse durch Verabreichung thrombuspezifischer bindender Kontrastmittel, deren Mikrobläschen mit einem thrombolytischen Agens bestückt sind und am Zielort per Ultraschall zerstört werden. Die Auflösung des Thrombus kann auch nach der Anheftung der Mikrobläschen über eine Zerstörung derselben bewerkstelligt werden (UNGER et al. 1998; UNGER et al. 2001; SCHUMANN et al. 2002). Mit der Integration spezifischer Liganden in die Hülle der mit pharmakologisch wirksamen Substanzen beladenen Mikrobläschen können diese zielgerichtet an bestimmte Zellmembranrezeptoren geleitet werden. Die Zirku-

lation dieser Strukturen kann sonographisch verfolgt und nach Erreichen des Zielgebietes durch höher energetische Schallwellen ein Zerplatzen der Mikrobläschen mit Freisetzung der Arzneimittel provoziert werden (BLOMLEY et al. 2001a; PRICE u. KAUL 2002).

2.3.6.3 Applikation als Bolus und Infusion

Traditionell werden Ultraschallkontrastmittel über einige Sekunden als Bolus appliziert und bewirken eine biphasische Verstärkungskurve mit einer stetigen Veränderung der Signalintensität über die Zeit. Initial zeigt die Signalintensität einen schnellen Anstieg, gefolgt von einem kurzen Peak der Maximalverstärkung und einem sich anschließenden langsamen Abfall über wenige Minuten zurück zum Ausgangswert (ALBRECHT et al. 1998; CORREAS et al. 2000; ALBRECHT et al. 2000b). Dem Untersucher steht nur über einen relativ kurzen Zeitraum eine diagnostisch auswertbare Signalverstärkung zur Verfügung, so dass eventuell Wiederholungsinjektionen vorgenommen werden müssen. Zusätzlich fördert die durch Bolusapplikation bedingte Anflutung großer Mengen Mikrobläschen die Entstehung störender Sättigungsartefakte wie Blooming und Schallschattenbildung. Eine Infusionsapplikation über einen längeren Zeitraum verhindert das Entstehen derartiger Probleme und bewirkt eine Optimierung und Verlängerung der Verstärkung, wie es ALBRECHT et al. (1998) für Levovist® im Spektral- und Farbdoppler beschreiben. Die kontinuierliche Applikation ergibt eine Gleichgewichtsphase der Mikrobläschenkonzentration im Blut mit einer konstanten und gleichmäßigen Verstärkung des Signals die sich in der Zeit-Signalintensitätskurve als Plateauphase abbildet (siehe Abb.5).

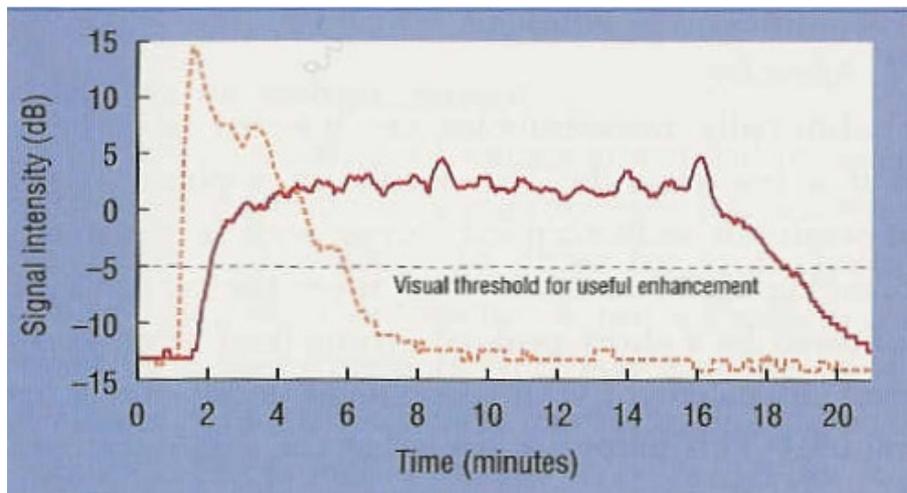


Abb.5: Zeit-Signalintensitätskurven im Vergleich von Levovist® Bolus- und Infusionsapplikation. Spektraldopplersignal einer Femoralarterie nach intravenöser Levovist® Bolusapplikation von 4g bei einer Rate von 1 ml/sek und Infusionsapplikation von 8 g bei einer Rate von 0,85 ml/min (COSGROVE 1999b).

Bei Levovist[®] ist die Dauer des Plateaus eng verbunden mit der Infusionsdauer. In Abhängigkeit der Infusionsrate stellt sich das Gleichgewicht nach einer bis zwei Minuten ein und hält bis zum Ende der Infusion an. Die durchschnittliche Verstärkung des Dopplersignals von Levovist[®] ließ sich bei gesunden Probanden von drei Minuten bei der Bolusgabe durch eine verlängerte Infusion auf 14 Minuten steigern (ALBRECHT et al. 1998). Die Effektivität der Dosis erhöht sich gegenüber der Bolusapplikation um mehr als das Dreifache. Aus Stabilitätsgründen kann die Zeitdauer von 15 Minuten allerdings nicht überschritten werden (ALBRECHT et al. 1998). Diese Aussage steht den Herstellerangaben mit einer maximalen Stabilitätsdauer der Levovistmikrobläschen von acht Minuten gegenüber (SCHERING DEUTSCHLAND GMBH 1997). Mit der gleichmäßigeren und längeren Verstärkung vereinfacht sich auch der Gebrauch der Substanzen. Der Untersucher kann die Geräteeinstellungen am Anfang der Untersuchung vornehmen und muss diese während der Verstärkungsphase nicht in dem Maße ändern wie es bei einer Bolusapplikation mit größerer Schwankung der Signalintensität vorzunehmen wäre (ALBRECHT 1999).

ALBRECHT et al. (2000b) beschreiben bei der farbkodierten Duplexsonographie von Nierenarterien eine Steigerung der deutlichen Signalverstärkung von durchschnittlich 6:21 Minuten bei Bolusapplikation (1 ml/sek) auf 8:57 Minuten (3 ml/min) beziehungsweise 15:12 Minuten (1 ml/min) bei Infusionsapplikation. Die durchschnittliche Dosis beträgt 7 g für den Bolus, 7,8 g für die Applikation von 3 Millilitern pro Minute und 4,2 g für die langsame Infusion.

KRATZER et al. (2000) erzielen bei der amplitudenkodierten Dopplersonographie von Raumforderungen durch eine Infusion eine Verlängerung der Verstärkungsdauer gegenüber der Bolusgabe von 6:01 Minuten auf 9:43 Minuten extratumoral und von 4:54 Minuten auf 7:43 Minuten intratumoral. Sie setzen in ihrer Studie eine Dosis von 8 ml Levovist[®] (400 mg/ml) in einer Rate von 1,67 ml/min ein.

Die beschriebenen indikationsabhängigen Vorteile einer Infusionsapplikation sind analog zu Levovist[®] Anwendungen auch auf den Einsatz von SonoVue[®] übertragbar. Mit einer Stabilität nach Restitution über sechs Stunden kann SonoVue[®] über einen längeren Zeitraum als Levovist[®] infundiert werden. Es wird die Aufrechterhaltung einer diagnostisch nutzbaren Verstärkung über einen im Vergleich zur Bolusapplikation längeren Zeitraum beschrieben (SCHNEIDER 2000; CORREAS et al. 2000).

Die Wahl der Applikationsform wird im wesentlichen von der Indikation bestimmt. Für kontrastmittelverstärkte Untersuchungen mehrerer oder langstreckiger Gefäße ist oft eine Untersuchungszeit, die über der Kontrastdauer nach Bolusapplikation liegt notwendig. Hier sollte die Infusion der Bolusgabe vorgezogen werden. Im speziellen sind geeignete Indikationen für die kontinuierliche Applikation nativ unzureichende Doppleruntersuchungen der Nierenarterien, des portalvenösen Systems, der intrakraniellen Gefäße und der peripheren Arterien zu sehen (HOSTEN et al. 1998;

ALBRECHT et al. 2000b). Einige Autoren beschreiben auch bei der Kontrastmittelverstärkten Untersuchung von Tumorgefäßen Vorteile der kontinuierlichen Gabe gegenüber dem Bolus (UGGOWITZER et al. 1998; KRATZER et al. 2000). Für kinetische Studien von Tumor- oder Organperfusion mittels Ultraschallkontrastmittel wird die Bolusinjektion als besonders geeignet eingestuft (KEDAR et al. 1996; BLOMLEY et al. 1998b; ALBRECHT et al. 1999a).

2.3.7 Anwendung von Ultraschallkontrastmitteln bei Tieren

2.3.7.1 Experimentelle Untersuchungen

Die Publikationen über den Einsatz von Signalverstärkern bei Tieren beziehen sich fast ausschließlich auf experimentelle Studien, die in Vorbereitung auf die klinische Anwendung beim Menschen durchgeführt werden. Neben Untersuchungen bei Nagern und Lagomorphen existieren auch zahlreiche Ausführungen vornehmlich aus dem angloamerikanischen Sprachraum über den experimentellen Einsatz von Ultraschallkontrastmitteln bei der Spezies Hund. Der überwiegende Teil entsprechender Veröffentlichungen beschreibt Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der experimentellen Kardiologie mit dem Schwerpunkt der koronaren beziehungsweise myokardialen Perfusion (KAUL et al. 1989; KELLER et al. 1989; ARONSON et al. 1990; KAUL 1991; VILLANUEVA et al. 1993; DESIR et al. 1994; BAYFIELD et al. 1997; LINDNER et al. 1997; LINKA et al. 1998; PORTER et al. 1998; WEI et al. 1998; SCHNEIDER 2000; MILLS et al. 2000; MASUGATA et al. 2001; PORTER u. XIE 2002). Die Kernaussage der Studien ist die Erkenntnis, mit der Anwendung von Ultraschallkontrastmitteln die qualitative und quantitative Untersuchung der Myokardperfusion signifikant verbessern und simultan mit der sonographischen Funktionsdiagnostik durchführen zu können. Daneben galten zahlreiche experimentelle Untersuchungen an Hunden der Evaluierung spezieller Kontrastmittelspezifischer Ultraschallmodi (SMITH et al. 1989; ISMAIL et al. 1995; PORTER et al. 1997; PELBERG et al. 1999; OTA et al. 2001) insbesondere der Harmonischen Bildgebung (MULVAGH et al. 1996; PORTER et al. 1999; HIROOKA et al. 2000; MASUGATA et al. 2001; LEONG-POI et al. 2001; KUERSTEN et al. 2001) beziehungsweise der Stimulierten Akustischen Emission (ALBRECHT et al. 2000a; SHI et al. 2001) und Sicherheitsuntersuchungen bei der Anwendung von Ultraschallkontrastmitteln (MEZA et al. 1996; SCHWARZ et al. 1996a). Signalverstärkerapplikationen resultierten experimentell bei Hunden auch in einer guten Verstärkung im Bereich der Gefäßversorgung von Neoplasien (FORSBERG et al. 1995) und der Nieren (SEHGAL et al. 1995), wo sie eine Echtzeituntersuchung der kortikorenen Verteilung des Blutflusses ermöglichen (FUJITA et al. 1994).

GOLDBERG et al. (1993) untersuchen an je fünf sedierten Murmeltieren und Hasen sowie an sieben durchschnittlich 25 kg schweren Hunden die Effektivität von Levovist[®]. Sie analysieren die Signalverstärkung in Blutgefäßen und die Rezirkulationszeit unter einer Levovistininfusion der Konzentration 300 mg/ml und einer Rate von 0,2 ml/min/kg Körpermasse. In der Aorta der Ver-

suchshunde kann eine Signalverstärkung von etwa 14 dB während der Applikation und kurze Zeit darüber hinaus beobachtet werden. In einer Studie von UJIONO et al. (2001) kann eine Verbesserung des intramyokardialen koronaren Blutflusses unter intravenöser Applikation von Levovist[®] bei zehn anästhesierten Hunden nachgewiesen werden. Ebenfalls gelingt nach der Applikation von Levovist[®] eine bessere Abgrenzung zwischen komplexen Gefäßwandstrukturen und dem Lumen, wie HAUSMANN et. al (1994) bei intrakoronarer Sonographie an 12 Hunden zeigen.

KAPS et al. (2001b) erforschen die Pharmakokinetik einer SonoVue[®] Infusionsapplikation am Modell Hund im Rahmen der transkraniellen Dopplersonographie. Die fünf sedierten Versuchshunde erhalten eine SonoVue[®] Infusion in unterschiedlichen Raten, wobei eine Verabreichung von 70 ml pro Stunde eine stabile mittlere Erhöhung der Dopplerintensität um bis zu 26 dB erzielt. Eine Rate von 35 ml/Stunde ergibt eine zwischen acht und 19 dB schwankende instabile Verstärkungskurve des intrakraniell detektierten Dopplersignals. Die Möglichkeit renalen Blutfluss mithilfe kontrastmittelverstärkter Ultraschalluntersuchungen zu quantifizieren, beschreiben WEI et al. (2001) anhand einer Studie bei neun Hunden, die eine kontinuierliche SonoVue[®] Infusion erhielten. SCHNEIDER (2000) berichtet über gute Resultate der myokardialen Schallauslöschung mit SonoVue[®] bei Hunden.

Die Infusionsapplikation von SonoVue[®] wird von CORREAS et al. (2000) in einer Untersuchung an sechs Hunden der Bolusapplikation gegenüber gestellt. Die Versuchshunde haben eine durchschnittliche Körpermasse von 24,6 kg und zwei der Tiere erhalten Bolusapplikationen in einer Dosierung von 0,05/0,1/0,15/0,3/0,5/0,7/1,0/2,0 ml, die restlichen vier wiederholte Dosierungen von 0,1/0,3/0,5/0,7/1,0/2,0 ml pro Tier. Die sechs Minuten andauernde Infusion wird zwei Hunden in Raten von 3/5/7/10/20 ml/h und den restlichen vier mit 5/10/20/30/40 ml/h verabreicht. Bei der Bolusapplikation erhöht sich die Dauer der Verstärkung mit steigender Dosis und überschreitet bei Applikationen von mehr als 0,7 ml 300 Sekunden. Die maximale Verstärkung steigt von 20 dB bei einer Injektion von 0,05 ml auf 34 dB bei 2 ml SonoVue[®]. Die maximale Verstärkung der Infusion beträgt 22 dB und erreicht ein stabiles Plateau bei Raten über 30 ml/h. Nach Bolusinjektionen zeigt sich eine schnelle Anflutungsphase mit einer zweiphasigen Abflutungsdynamik, wobei die erste Phase bedingt durch das erste Abfluten aus der Arterie von kurzer Dauer ist. Die zweite Phase hält länger an und ist auf eine Rezirkulation der Mikrobubbles zurückzuführen.

2.3.7.2 Veterinärmedizinische Veröffentlichungen

Es gibt bisher nur sehr wenige Veröffentlichungen über Ultraschallkontrastmittel in der veterinärmedizinischen Literatur. Beschrieben ist der Nachweis von Rechts-Links-Shunts im Zuge eines Ventrikelseptumdefekts mit pulmonalem Hochdruck und eines atrialen Septumdefekts. Unter der intravenösen Applikation von aufgeschüttelter Kochsalzlösung oder Indocyanin-Grün gibt der

sonographische Nachweis der entstandenen, nicht lungenstabilen Mikrobläschen im Bereich des linken Herzens einen Hinweis auf einen intrakardialen Rechts-Links-Shunt. (BONAGURA u. PIPERS 1983; OLIVIER 1988). Mit der sonographischen Detektion, durch Aufschütteln von isotonischer Kochsalzlösung erzeugter, lungenlabiler Mikrobläschen im abdominalen Anteil der Aorta descendens, können GOODWIN und HOLLAND (1995) bei zwei Hunden einen extrakardialen Rechts-Links-Shunt in Zusammenhang mit einem persistierenden Ductus arteriosus Botalli diagnostizieren.

SCHMID und LANG (1995) beschreiben den Entwicklungsstand und die Funktionsweise sonographisch nutzbarer Kontrastmittel. Sie berichten von humanmedizinischen Anwendungsbereichen und tierexperimentellen Studien. Der mögliche Einsatz dieser Substanzen in der veterinärmedizinischen Diagnostik wird zum Ausdruck gebracht, wobei sie auf die Notwendigkeit entsprechende Studien durchzuführen, hinweisen.

Der Evaluierung der Verstärkungsintensität und -dauer von Imagent[®], bestehend aus stabilisierten Perfluorcarbon Mikrobläschen, gilt eine Studie von BAHR et al. (2000) an sechs Mischlingshunden. Das Kontrastmittel wird in drei verschiedenen Dosierungen appliziert und in definierten Zeitabständen B-Modus Bilder von Leber, Milz und linker Niere digital gespeichert. Über die Differenz der mittleren Graustufenhelligkeit vor und nach Applikation von Imagent[®] errechnet sich das Ausmaß und die Dauer der Verstärkung. Es kann im Vergleich zu der Kontrollgruppe mit Injektion physiologischer Kochsalzlösung eine signifikante Verstärkung beobachtet werden. Der initiale Intensitätsverlust der Helligkeitswerte bei höheren Dosierungen führen die Autoren auf ein Schallschattenphänomen zurück und empfehlen zur Vermeidung dieses Effektes unter anderem eine Infusionsapplikation.

In einer weiteren Studie untersuchen WRIGLEY und BAHR (1999) neun Hunde mit dem klinischen Verdacht eines Portosystemischen Shunts mittels kontrastmittelgestützter Sonographie. Es werden in definierten Zeitabschnitten vor und nach der Imagent[®] Applikation B-Bilder der Leber gespeichert. Die maximale Kontrastverstärkung ergibt sich aus der mittleren Pixel Intensität mehrerer Bildregionen die mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen wird. Eine deutliche Schallabschwächung mit Verlust von Bildinformation tieferer Strukturen tritt bei den gesunden Tieren 30 bis 100 Sekunden nach Applikation auf. Bei sieben der zehn Patienten ist eine solche Schallabschwächung nicht zu beobachten. Diese Patienten haben einen chirurgisch nachgewiesenen portosystemischen Shunt mit einer szintigraphisch ermittelten Shuntfraktion von über 40 %.

VALENTINI et al. (1999) publizieren die Ergebnisse ihrer Untersuchungen an zehn Hunden, bei denen sie nach Levovist[®] Injektion physiologische und pathologische abdominale Strukturen sonographisch darstellen. Sie beobachten im Farb- und Spektraldoppler eine Signalverstärkung aus der Aorta, Arteria renalis, Vena lienalis und neoplastischen Gefäßen.

Den Einsatz von Levovist[®] und SonoVue[®] im „Coded Harmonic Angio“ Modus an 20 sedierten Hunden beschreiben KIEFER et al. (2001a,b) und können eine verbesserte Detektion insbesondere kleiner Gefäße beobachten. Zudem ist eine Darstellung nativ nicht erkennbarer fokaler Läsionen gelungen.

2.3.8 Quantifizierung der Signalverstärkung

Ein entscheidender Grund für die Notwendigkeit, die erzielbare Verstärkung von Ultraschallkontrastmitteln zu quantifizieren, liegt in der Erzielung einer objektiven Vergleichbarkeit verschiedener Substanzen oder Applikationsformen (BLOMLEY et al. 1999b). Auch in der unmittelbaren Diagnostik wird die Quantifizierung bei der Messung physiologischer Indizes der Mikrozirkulation genutzt. Von Bedeutung sind besonders die Bestimmung der Transitzeiten und der Organperfusion. Beispielsweise kann eine vorzeitige Detektion der Mikrobläschen in der Vena hepatica nach peripher intravenöser Applikation einen Hinweis auf ein zirrhotisches Geschehen geben (ALBRECHT et al. 1999a).

Eine Quantifizierung der Signalverstärkung ist prinzipiell in allen Ultraschallmodi möglich. In der Echokardiographie sind häufig nur die Verstärkungseffekte im B-Modus von Interesse und somit die Quantifizierung auf Basis der Grausskala die Methode der Wahl. In Regionen bei denen Bewegungsartefakte weniger problematisch sind, stellen Dopplertechniken aufgrund ihrer höheren Sensitivität ein angemesseneres Verfahren dar. Sollen nur kleine Messvolumina oder einzelne Gefäße untersucht werden, ist der Spektraldoppler vorzuziehen, während für größere Regionen der Farbdoppler Vorteile hat. Der amplitudenkodierte Doppler ist wegen der direkten Abhängigkeit des abgebildeten Signals von der Mikrobläschenanzahl besonders geeignet (BLOMLEY et al. 1999b). Bei den nicht linearen Schalltechniken ist die Beziehung zwischen der Mikrobläschenanzahl und der Signalstärke nicht so direkt wie bei konventionellen Modi. Sie erscheinen daher für quantitative Analysen weniger geeignet zu sein.

2.3.8.1 Datenspeicherung

Ultraschall ist vornehmlich wegen der exponentiellen Abschwächung der Ultraschallwellen mit zunehmender Eindringtiefe in das Gewebe ein nicht lineares Verfahren. Von diesem Sachverhalt werden nicht in erster Linie zeitbezogene Indizes wie die Verstärkungsdauer beeinflusst. Allerdings gestaltet sich der Vergleich von Messbereichen verschiedener Tiefe bei Indizes, die unmittelbar in Abhängigkeit von dem Signal ansteigen, schwierig. Eine vereinfachte Strategie diesem Problem zu begegnen ist die Anwendung eines Korrekturfaktors (beispielsweise 1 dB/MHz/cm Tiefe) (HUGHES u. DUCK 1997; BLOMLEY et al. 1999b). Als auswertbares Ausgangssignal können

das Audiosignal des Spektraldopplers und digital oder analog gespeicherte Bilder beziehungsweise Bildsequenzen genutzt werden. Zu einem geeigneten Verfahren die Untersuchungen zu speichern und später zu analysieren zählt die Aufnahme mit einem S-VHS Rekorder (BLOMLEY et al. 1999b). Die Messung der Lautstärkeveränderung des Audiosignals im Spektraldoppler liefert ein akkurates Verfahren, die relative Mikrobläschenkonzentration zu bestimmen, was anhand eines Phantommodells mit Levovist[®] demonstriert worden ist (SCHWARZ et al. 1993). Diese Technik zeigte auch eine akkurate Beziehung zwischen dem jeweiligen Signal und unterschiedlichen Dosierungen von Levovist[®] bei Hunden (HARTLEY et al. 1993) und von SonoVue[®] beim Menschen (BLOMLEY et al. 1997). Das Audiosignal kann direkt ausgewertet oder auf Kassetten gespeichert werden. Die Tonspur eines S-VHS Videobandes liefert zufriedenstellende Ergebnisse (BLOMLEY et al. 1999b). Die Spektraldoppler Intensitometrie einer einzelnen Arterie wird von ALBRECHT et al. (1998) als eine exzellente Technik, Infusionsregime zu vergleichen, beschrieben. Videobänder sind die praktikabelsten Medien, Untersuchungen für eine spätere Quantifizierung zu speichern und nach BLOMLEY et al. (1999b) sind mit S-VHS Bändern gute Auswertungsergebnisse zu erzielen.

2.3.8.2 Datenanalyse

Die Auswertung der Audiodaten lässt sich über eine Digitalisierung der Messwerte in eine Audiodatei und der anschließenden Intensitätsberechnung über zu definierende Zeitintervalle bewerkstelligen (SCHWARZ et al. 1993). Die Intensität der Audiodatei kann grundliniensubtrahiert und gegen die Zeit aufgetragen werden, wodurch ein Zeit-Konzentrations-Profil des gemessenen Spektralbereiches entsteht.

Videobilder müssen über ein komplexes Verfahren ausgewertet werden. Wenn bei einer Bildwiederholungsrate von 24 Hz ein Bild pro Sekunde ausgewertet wird, kommen bei den heute üblichen Computersystemen gewöhnlich nur circa 5 % der Bilder zur Analyse. Daher besteht in der Erfassung und Auswertung nur einer Bildregion die Möglichkeit eine bessere temporale Auflösung zu erzielen. Um das Problem der systolisch-diastolischen Schwankungen bei der Auswertung einer Videosequenz zu minimieren, kann manuell das systolische Bild selektiert werden (BLOMLEY et al. 1999b) oder man greift auf automatische Methoden zurück. In der Analyse von B-Bildern muss wegen der Nicht-Linearität des Ultraschalls eine Graustufenkorrektur entsprechend des Dynamikbereiches durchgeführt werden und auch bei einer quantitativen Auswertung von Farbbildern sind Korrekturen erforderlich (BLOMLEY et al. 1999b).

2.3.8.3 Mathematische Aspekte

Es können diverse Indizes aus den Zeit-Verstärkungskurven errechnet werden. Die Höhe der Peaks als maximale Verstärkung ist einfach ablesbar (DE JONG et al. 1993). Die Berechnung der Fläche unter der Kurve dient der Messung der effektiven Anzahl von Mikrobläschen, die mit der Menge des verabreichten Kontrastmittels korreliert (BLOMLEY et al. 1999b). Diese graphischen Indizes reflektieren ein Dosis-Antwort Verhältnis des Kontrastmittels innerhalb des Gewebes oder Gefäßes. Auch physiologischere Kenngrößen, welche die natürlichen Eigenschaften des untersuchten Gewebes widerspiegeln, sind errechenbar. Man kann rein zeitliche Indizes, Bestimmung fraktionierter Gefäßvolumina und Gewebedurchblutungs- oder Perfusionsmessungen, die gegenseitig voneinander abhängen, unterscheiden (BLOMLEY et al. 1999b).

3 TIERE, MATERIAL UND METHODEN

3.1 Patientengut

Die Untersuchungen wurden an 48 Hunden aus dem Patientengut der Klinik für Kleintiere der Universität Leipzig durchgeführt. Die Rassezugehörigkeit, das Geschlecht, Alter und die Körpermasse der Tiere sind der *Tabelle 1* zu entnehmen.

Tab.1: Signalement der untersuchten Hunde; m:männlich; w:weiblich; wk: weiblich kastriert; mk: männlich kastriert. Gruppeneinteilung: siehe 5.2 Untersuchungsgruppen.

Gruppe	Rasse	Geschlecht	Alter [Monate]	Körpermasse [kg]
LB	Mischling	w	45	30
LB	Mischling	w	30	16
LB	Bearded Collie	m	21	22
LB	Rottweiler	w	21	35
LB	Deutscher Schäferhund	w	74	34
LB	Mischling	m	11	23
LB	Golden Retriever	w	21	22
LB	Tibet Terrier	m	67	10
LB	Boxer	m	74	33
LB	Dalmatiner	w	7	17
LB	Mischling	m	14	26
LB	Mischling	m	77	29
LI	Pekinese	mk	100	10
LI	Beagle	mk	46	17
LI	Entlebucher Sennenhund	w	58	34
LI	Mischling	w	21	18
LI	Border Collie	wk	25	22
LI	Pitbull Terrier	m	21	21
LI	Shih Tzu	m	93	10
LI	Dobermann	w	46	30
LI	Golden Retriever	m	50	23
LI	Labrador	m	6	23
LI	Labrador	w	7	23
LI	Beagle	w	154	15

SB	Deutscher Schäferhund	m	83	37
SB	Westhighland White Terrier	m	172	10
SB	Mischling	w	55	42
SB	Akita Inu	m	28	38
SB	Dalmatiner	m	107	33
SB	Staffordshire Terrier	m	98	20
SB	Mischling	m	7	20
SB	PON	m	61	20
SB	Deutscher Schäferhund	m	31	38
SB	Labrador	w	8	24
SB	Labrador	M	8	26
SB	Beagle	M	154	15
SI	Westhighland White Terrier	mk	128	10
SI	Cocker Spaniel	wk	143	16
SI	Rottweiler	W	83	33
SI	Mischling	W	40	31
SI	Deutscher Schäferhund	W	97	34
SI	Mischling	W	118	18
SI	Kleiner Münsterländer	M	157	21
SI	Mischling	M	105	10
SI	Deutscher Schäferhund	W	89	30
SI	Westhighland White Terrier	M	11	11
SI	Labrador	M	6	23
SI	Beagle	W	109	16

Bei den untersuchten Tieren handelte es sich um 24 männliche (50 %), 19 weibliche (39,6 %), 3 männlich kastrierte (6,2 %) und 2 weiblich kastrierte Tiere (4,2 %). Das durchschnittliche Alter der Hunde betrug 62,2 Monate (6-172 Monate) und die durchschnittliche Körpermasse 23,3 kg (10-42 kg), wobei eine mathematische Rundung auf den vollen Monat beziehungsweise das volle Kilogramm erfolgte. Hunde unter 10 kg und über 42 kg Körpermasse wurden zur Erzielung einer gewissen Gruppenhomogenität ausgeschlossen. Für die Auswahl der Tiere wurden weiterhin als Einschlusskriterien eine anamnestiche Befragung der Tierbesitzer, klinische Untersuchung sowie eine abdominelle Ultraschalluntersuchung der Hunde ohne Hinweise auf ein pathologisches Geschehen gefordert. Als Ausschlusskriterien zählten hier insbesondere Anzeichen einer kardiovaskulären Erkrankung wie pathologische Auskultationsbefunde oder abweichende Pulsfrequenz und -qualität.

3.2 Untersuchungsgruppen

Die 48 Hunde wurden vor der Untersuchung nach dem Zufallsprinzip in vier Gruppen zu je 12 Tieren eingeteilt.

Gruppe LB (Levovist[®] - Bolusapplikation)

Tiere dieser Gruppe erhielten den Signalverstärker Levovist[®] appliziert als Bolus. Es handelt sich um jeweils sechs weibliche und männliche Tiere mit einem durchschnittlichen Alter von 30,4 Monaten (6,8-77,1 Monate) und einer durchschnittlichen Körpermasse von 24,7 kg (10-35 kg).

Gruppe LI (Levovist[®] - Infusionsapplikation)

Dieser Gruppe zugehörige Hunde erhielten den Signalverstärker Levovist[®] als kontinuierliche Applikation mittels Perfusor[®]. Die Gruppe beinhaltet fünf weibliche, vier männliche, zwei weiblich kastrierte und ein männlich kastriertes Tier mit einem durchschnittlichen Alter von 52,2 Monaten (6,4-154,3 Monate) und einer durchschnittlichen Körpermasse von 20,5 kg (10-34 kg).

Gruppe SB (SonoVue[®] - Bolusapplikation)

Tiere der Gruppe SB erhielten den Signalverstärker SonoVue[®] appliziert als Bolus. Sie setzt sich aus zwei weiblichen und zehn männlichen Tieren mit einem durchschnittlichen Alter von 67,7 Monaten (7,1-171,8 Monate) und einer durchschnittlichen Körpermasse von 26,9 kg (10-42 kg) zusammen.

Gruppe SI (SonoVue[®] - Infusionsapplikation)

Tiere der Gruppe SI erhielten den Signalverstärker SonoVue[®] als kontinuierliche Applikation mittels Perfusor[®]. In der Gruppe befinden sich sechs weibliche, vier männliche, ein weiblich kastriertes und ein männlich kastriertes Tier mit einem durchschnittlichen Alter von 90,5 Monaten (6,4-156,8 Monate) und einer durchschnittlichen Körpermasse von 21,1 kg (10-34 kg).

3.3 Technik

3.3.1 Ultraschallgerät und Schallkopf

Die Untersuchungen aller Hunde erfolgten mit einem GE Logiq 700 Expert Version Breakthru 2000⁸. Das Gerät ist mit einem hochauflösenden 14 Zoll Monitor ausgestattet und verfügt neben dem B-Modus, Spektral-, Farb- und amplitudenkodierten Doppler auch über kontrastspezifische Betriebsmodi.

Als Schallköpfe standen ein Matrix Konvexschallkopf M7C⁸ und Matrix Linearschallkopf M12 L⁸ zur Verfügung. Die konvexe Sonde hat eine Auflagefläche von 60 x 18 mm und ist im B-Bild in der Frequenz umschaltbar von 3 bis 8 MHz. Der Linearschallkopf hat eine Auflagefläche von 49 x 19 mm, ist im B-Bild in der Frequenz umschaltbar von 6 bis 13 MHz und verwendet im Spektraldoppler eine Sendefrequenz von 6,2 MHz. Die maximale Sendeleistung im kombinierten B-Modus und PW-Modus beträgt für diesen Schallkopf 351 mW/cm². Bei der Matrix Technologie⁸ sind alle Kristalle, welche in mehreren parallelen Linien angeordnet sind, mit einem eigenen digitalen aktivierbaren Kanal ausgestattet. Dadurch wird die Schallwelle auch senkrecht zu der lateralen Ebene fokussiert und bedingt somit ein artefaktärmeres Bild im Nah und Fernfeld, sowie bessere Eindringtiefen bei höheren Frequenzen. Zusätzlich ist das Gerät mit einem Konvexschallkopf 348C⁸ ausgestattet, mit dem eine kontrastmittelspezifische digital enkodierte Ultraschalldiagnostik möglich ist.

3.3.2 Dokumentation

Alle signalverstärkten sonographischen Untersuchungen sind mittels eines S-VHS Videorekorders auf S-VHS Kassetten dokumentiert worden. Hierbei wurde sowohl das Bildmaterial als auch das Signal des abgeleiteten Audiodopplers erfasst. Die Einstellungen des Videorekorders, insbesondere der Aufnahmekanal, Aufnahmepegel und seine Kabelverbindung zum Ultraschallgerät wurden während der gesamten Studie konstant gehalten. Die Aufzeichnung startete circa zwei Minuten vor Applikation des jeweiligen Signalverstärkers und endete nachdem das Signal subjektiv auf das Ausgangsniveau zurückgefallen war, frühestens aber zehn Minuten nach Verabreichung des Kontrastmittels.

3.3.3 Auswertung

Die bei der Untersuchung verabreichten Signalverstärker bewirken im PW-Doppler Modus im wesentlichen eine Aufhellung und Verbreiterung des Spektrums sowie eine Verstärkung des parallel

⁸ GE Ultrasound Europe, Solingen, Deutschland

abgeleiteten Audiodopplersignals. Diese Effekte entstehen durch die Zunahme der detektierten streuenden Partikel im Blutstrom infolge der über die Kontrastmittelapplikation injizierten Mikrobläschen und sind unter anderem abhängig von ihrer Konzentration im Messvolumen. Die Auswertung der auf S-VHS aufgezeichneten Untersuchungen erfolgte mittels einer computergestützten und für diesen Zweck konzipierten Analyseeinheit der Firma Schering⁹. Die hierfür entwickelte Software¹⁰ ermöglicht die Ermittlung der Lautstärkeveränderung des digitalisierten Audiosignals in Dezibel über die Zeit. Das ebenfalls aufgenommene Bildmaterial wird hierbei nicht berücksichtigt.

Beim Einlesen des Signals werden pro Zeiteinheit eine große Anzahl von Messwerten erfasst, wodurch sich auch die Dauer eines einzelnen Herzzyklus bestimmen lässt. Um die hierbei entstandene umfangreiche Datenmenge für die Darstellung eines Zeit-Verstärkungsgraphen zu reduzieren, wird für die Ausgabe der Analyse nur ein Wert pro Herzzyklus angegeben. Folglich werden die Verstärkungswerte nicht zu regelmäßig definierten Zeitabständen, sondern in unterschiedlichen, der jeweiligen Herzzyklusdauer entsprechenden Zeitintervallen angegeben. Anhand der durchgeführten Ableitung und Aufzeichnung des Signals über einen Zeitraum von circa zwei Minuten vor der Applikation eines Signalverstärkers bestimmt die Software den Pegel der Grundlinie und erkennt das Überschreiten dieses Pegels um mehr als drei Dezibel als Eintritt einer Signalverstärkung.

Mithilfe der Auswertungssoftware sind von jeder einzelnen Messreihe bestimmte Parameter und Indizes ermittelt worden. Diese ermöglichen zum einen eine Objektivierung der Untersuchungsergebnisse und zum anderen den Vergleich verschiedener Messreihen. Bei den ermittelten Parametern und Indizes handelt es sich um die

- maximal erzielte Signalverstärkung in Dezibel.
- Kontrastdauer oberhalb der Grundlinie und oberhalb einer Verstärkung von jeweils 6, 12, 18 und 24 Dezibel.
- Fläche unter der Kurve oberhalb einer Verstärkung von jeweils 6, 12, 18 und 24 Dezibel. Die Berechnung dieses Index dient der Messung der effektiven Anzahl von Mikrobläschen, die mit der Menge des verabreichten Kontrastmittels korreliert.

⁹ Schering AG, Berlin, Präklinische Kontrastmittel Forschung

¹⁰ Dr. F.D. Scholle, Schering AG, Berlin

3.4 Ablauf der Untersuchungen

3.4.1 Untersuchungen am wachen Hund

3.4.1.1 *Klinische Untersuchung*

Die Anamnese und klinische Untersuchung ergab bei keinem Hund einen pathologischen Befund. Alle Tiere zeigten ein ungestörtes Allgemeinbefinden und eine physiologische, rektal gemessene innere Körpertemperatur (Referenzbereich 38,3-38,8 °C), Herz- und Pulsfrequenz (Referenzbereich 60-160 Schläge pro Minute) sowie Atemfrequenz (Referenzbereich 20-40 pro Minute). Die Herztöne waren gut von einander abgesetzt und es lagen keine Herzgeräusche vor. Der Pulsschlag war kräftig, regel- und gleichmäßig. Bei der respiratorischen Auskultation waren keine pathologischen Atemgeräusche hörbar. Die Hunde zeigten blassrosafarbene, feuchte Schleimhäute, eine kapilläre Rückfüllzeit kleiner als einundhalb Sekunden, physiologische palpable Lymphknoten und einen unveränderten Hautturgor.

3.4.1.2 *Native abdominelle Sonographie*

Alle Tiere sind auf einer mit Polystyrolkugeln gefüllten Vakuummatte in Rückenlage verbracht und das gesamte Abdomen von der Beckenregion bis kranial über den Rippenbogen und bis über die Hälfte der lateralen Ausdehnung der Bauchwand geschoren worden. Nach Auftragen einer ausreichenden Menge Ultraschallgels¹¹ erfolgte eine standardisierte Untersuchung der gesamten Abdominalhöhle mit dem M7C-Konvex- und M12L-Linearschallkopf. Hierbei ist insbesondere auch auf das Vorhandensein von Spontankontrast in den großen Gefäßen des Bauchraumes und das Spektralmuster der Aorta abdominalis im gepulsten Doppler geachtet worden. Bei allen Hunden ergab die Sonographie keinen besonderen Befund.

3.4.2 Anästhesie

Nach Schur und Desinfektion der betreffenden Stelle erhielten alle Tiere unter Verwendung eines G20 Venenkatheters (Durchmesser 1,1 mm, Länge 33 mm) einen periphervenösen Zugang über die Vena cephalica antebrachii der rechten Vordergliedmaße. Die Einleitung der Allgemeinanästhesie erfolgte mit einer intravenösen Injektion von 0,5 mg/kg Diazepam¹² und direkt anschließender intravenöser Verabreichung von 0,5 mg/kg l-Polamivet¹³. Zur Aufrechterhaltung der Narkose ist

¹¹ Sonogel[®], Sonogel Vetriebs GmbH, Bad Camberg

¹² Faustan[®], Temmler Pharma, Marburg

¹³ Intervet GmbH, Unterschleissheim

eine Inhalationsanästhesie mit einer Isoflurankonzentration¹⁴ von 1,5-2,5 Volumenprozent und Luft als Trägergas durchgeführt worden. Über eine kontrollierte Beatmung erhielten die Tiere bei einer Atemfrequenz von 10-14 Hüben pro Minute ein Atemhubvolumen von circa 15 ml/kg Körpermasse. Zur maschinellen Narkoseüberwachung stand ein Dinamap MPS Select¹⁵ zur Verfügung, womit eine Hauptstromkapnographie¹⁶, Pulsoximetrie¹⁷ und Pulsplethysmografie¹⁷ durchgeführt werden konnte. Die Hunde erhielten bis zum Abschluss der signalverstärkten Ultraschalluntersuchung keine weiteren Injektionen oder Infusionen.

3.4.3 Kontrastverstärkte Sonographie

Nachdem die Tiere erneut in Rückenlage verbracht worden sind, folgte die Einstellung des Ultraschallgerätes. Als Ultraschallsonde kam der M12L-Linearschallkopf bei einer B-Bild Frequenz von 8 MHz zum Einsatz. Nach Darstellung der Aorta abdominalis im Längsschnitt kranial der Abzweigungen der Aa. iliacae externae ist der Fokuspunkt knapp dorsal der Aorta positioniert und der PW-Doppler mit einer Durchlaufgeschwindigkeit von vier Sekunden zugeschaltet worden. Die akustische Sendeleistung wurde auf 25 % reguliert und das Messvolumen so in der Aorta positioniert, dass das Lumen mit circa einem Millimeter Abstand zur Gefäßwand erfasst wurde. Nach Durchführung einer Winkelsteuerung um 30 Grad nach rechts und einer Winkelkorrektur ist die Doppler-Empfangsverstärkung so eingestellt worden, dass sich möglichst wenig Hintergrundrauschen und ein gerade noch erkennbares Gefäßsignal im Spektrum darstellte. Die Einstellung der Geschwindigkeitsskala erfolgte mit dem Ziel, das unverstärkte Gefäßsignal mit der höchsten Geschwindigkeit auf circa 2/3 Höhe der maximal angezeigten positiven Geschwindigkeitsskala abzubilden.

Die Doppler-Empfangsverstärkung lag bei den Untersuchungen zwischen 26 und 58, der Dopplerwinkel zwischen 40 und 60 Grad, der Hochpassfilter zwischen 58 und 162 Hertz, die Größe des Messvolumens zwischen 3 und 9 Millimeter und die PRF zwischen 5 und 18 Kilohertz. Der mechanische Index (MI) war bei allen Untersuchungen 0,3 und der thermische Index für Weichteile (TIS) < 0,4.

Als nächster Schritt begann die Aufzeichnung der Untersuchung auf S-VHS Band und der jeweilige Signalverstärker wurde entsprechend den Produktvorschriften von einer zweiten Person vorbereitet. Etwa zwei Minuten nach Beginn der Videoaufzeichnung erfolgte die gruppenspezifische Applikation des jeweiligen Kontrastmittels in der entsprechenden Applikationsform (s.u.). Die Messung

¹⁴ Isofluran[®], Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim

¹⁵ Johnson & Johnson, New Brunswick, USA

¹⁶ Capnostat[®], Novamatrix Medical Systems Inc, Wallingford, USA

¹⁷ Nellcor, Pleasanton, USA

endete, wenn das Signal subjektiv auf das Ausgangsniveau zurückgefallen war, frühestens aber zehn Minuten nach Beginn der Verabreichung des Signalverstärkers. Alle Ultraschalluntersuchungen sind von derselben, in der sonographischen Diagnostik erfahrenen Person durchgeführt und der Schallkopf per Hand fixiert worden. Die Herstellung des gebrauchsfertigen Signalverstärkers sowie seine Applikation sind stets von der gleichen zweiten Person vorgenommen worden.

3.4.3.1 *Levovist[®] Bolusapplikation - Gruppe LB -*

Dieser Gruppe zugehörige Hunde erhielten Levovist[®] in einer Dosierung von 0,2 ml/kg Körpermasse. Nach Spülung des Venenkatheters mit zwei Milliliter isotonischer Kochsalzlösung ist die Suspension per Hand in einer Geschwindigkeit von circa einem Milliliter pro Sekunde intravenös appliziert und direkt im Anschluss der Venenkatheter erneut mit zwei Milliliter isotonischer Kochsalzlösung gespült worden.

3.4.3.2 *Levovist[®] Infusionsapplikation - Gruppe LI -*

Hunde dieser Gruppe erhielten Levovist[®] in einer Dosierung von 0,2 ml/kg Körpermasse über einen Zeitraum von zwei Minuten kontinuierlich verabreicht. Hieraus ergibt sich eine Infusionsrate von 0,1 ml/min/kg Körpermasse. Der Signalverstärker ist in eine 20 Milliliter original Perfusor^{®18} Spritze aufgezogen worden. Vor und nach der Applikation erfolgte eine Spülung des Venenkatheters mit zwei Milliliter isotonischer Kochsalzlösung. Die Infusion ist mithilfe eines Perfusors[®] über eine 30 cm lange Leitung für Spritzenpumpen¹⁹ mit einem Lumendurchmesser von 1,5 Millimeter erfolgt.

3.4.3.3 *SonoVue[®] Bolusapplikation - Gruppe SB -*

Die Tiere in Gruppe SB erhielten SonoVue[®] in einer Dosierung von 0,1 ml/kg Körpermasse. Nach Spülung des Venenzuganges mit zwei Milliliter isotonischer Kochsalzlösung ist der Signalverstärker per Hand in einer Geschwindigkeit von circa einem Milliliter pro Sekunde intravenös verabreicht und direkt im Anschluss der Venenkatheter erneut mit zwei Milliliter isotonischer Kochsalzlösung gespült worden.

¹⁸ B.Braun Melsungen AG, Melsungen

¹⁹ Bioline PVC, Biocon Medizintechnik GmbH, Mönchberg

3.4.3.4 SonoVue® Infusionsapplikation - Gruppe SI -

Dieser Gruppe zugehörige Tiere erhielten SonoVue® in einer Dosierung von 0,1 ml/kg Körpermasse über einen Zeitraum von zwei Minuten kontinuierlich verabreicht. Hieraus ergibt sich eine Infusionsrate von 0,05 ml/min/kg Körpermasse. Der Signalverstärker ist in eine 20 Milliliter original Perfusor® Spritze aufgezogen worden. Vor und nach der Applikation erfolgte eine Spülung des Venenkatheters mit zwei Milliliter isotonischer Kochsalzlösung. Die Infusion ist mithilfe eines Perfusors® über eine 30 cm lange Leitung für Spritzenpumpen mit einem Lumendurchmesser von 1,5 Millimeter erfolgt.

3.5 Statistische Methodik

Für jedes der 48 Tiere ist über die Zeitdauer der Messung ein Wert pro Herzzyklus, der die Lautstärke des Audiodopplersignals in Dezibel zu dem jeweiligen Zeitpunkt angibt, bestimmt worden. Zum anderen sind, wie in *Tabelle 2* aufgeführt, für den überwiegenden Teil der Hunde acht verschiedene Parameter ermittelt worden.

Tab.2: Anzahl der Messergebnisse für die untersuchten Parameter in den einzelnen Gruppen. N = Anzahl der Messungen die den jeweiligen Parameterdefinitionen genügen.

	N Gruppe LB	N Gruppe LI	N Gruppe SB	N Gruppe SI
Verstärkungsdauer über Nulllinie [sek]	12	12	12	12
Verstärkungsdauer über 6 dB [sek]	12	12	12	12
Verstärkungsdauer über 12 dB [sek]	12	12	12	12
Verstärkungsdauer über 18 dB [sek]	10	1	10	7
maximale Signalverstärkung [dB]	12	12	12	12
Fläche unter der Kurve über 6 dB [dB*sek]	12	12	12	12
Fläche unter der Kurve über 12 dB [dB*sek]	12	12	12	12
Fläche unter der Kurve über 18 dB [dB*sek]	10	1	10	7

3.5.1 Einzelne Untersuchungsgruppen

Für jeden Parameter wurde innerhalb der einzelnen Gruppen (LB, LI, SB, SI) der Mittelwert und die Standardabweichung errechnet. Es sind bezüglich der Parameter Gruppenvergleiche folgender Konstellation vorgenommen worden:

Gruppe LB (Levovist Bolusapplikation) ↔ Gruppe LI (Levovist Infusionsapplikation)

Gruppe LB (Levovist Bolusapplikation) ↔ Gruppe SB (Sonovue Bolusapplikation)

Gruppe SB (Sonovue Bolusapplikation) ↔ Gruppe SI (Sonovue Infusionsapplikation)

Gruppe LI (Levovist Infusionsapplikation) ↔ Gruppe SI (Sonovue Infusionsapplikation)

Da bei den meisten Testverfahren vorausgesetzt wird, dass die Daten normalverteilt sind, wurde diese Voraussetzung als erste mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test geprüft. Es ergab sich, dass alle Variablen als normalverteilt gelten können, bis auf die Parameter der Verstärkungsdauer über 18 dB und der Fläche unter der Kurve über 18 dB. Für diese beiden Variablen wurden daher statt parametrischer Tests nichtparametrische Verfahren eingesetzt (PRECHT M. u. KRAFT R. 1993; WEIß C. 2002).

Für den Vergleich der Parameter innerhalb der oben genannten Gruppenkombinationen wurden t-Tests für unabhängige Stichproben durchgeführt. Für die Analyse der nicht-normalverteilten Variablen wurden Mann-Whitney-Tests für die einzelnen Gruppenuntersuchungen durchgeführt. Wegen der multiplen Vergleiche der Gruppen (vier Vergleiche von vier Gruppen) wurde das Signifikanzniveau von den üblichen 5 % für diese Analyse nach der Bonferroni-Korrektur auf $0,05 \div 4 = 0,0125$ gesenkt und somit also stark konservativ gerechnet (PRECHT M. u. KRAFT R. 1993; WEIß C. 2002).

Weiterhin ist eine Korrelationsanalyse (Pearsonsche Korrelationen und Spearmansche Rang-Korrelationen) zwischen der Körpermasse und den acht Parametern innerhalb der einzelnen Gruppen durchgeführt worden. Bei den Korrelationskoeffizienten wird die Hypothese getestet, dass die Koeffizienten gleich Null sind. Allerdings gelten erst Korrelationskoeffizienten ab 0,7 als bedeutend für einen Zusammenhang (KÖHLER W. et al. 2002; WEIß C. 2002).

3.5.2 Zusammengefasste Gruppen

Zusätzlich erfolgte zur weiteren statistischen Analyse eine Zusammenfassung folgender Gruppen:

Levovist Bolusapplikation + Levovist Infusionsapplikation → Gruppe L (Levovist)

Sonovue Bolusapplikation + Sonovue Infusionsapplikation → Gruppe S (Sonovue)

Levovist Bolusapplikation + Sonovue Bolusapplikation → Gruppe B (Bolusapplikation)

Levovist Infusionsapplikation + Sonovue Infusionsapplikation → Gruppe I (Infusionsapplikation)

Für jeden Parameter wurde innerhalb der zusammengefassten Gruppen (L, S, B, I) der Mittelwert (MW) und die Standardabweichung (SD) errechnet. Auch hier sind bezüglich der Parameter Gruppenvergleiche folgender Konstellation vorgenommen worden:

Gruppe L (Levovist) ↔ Gruppe S (Sonovue)

Gruppe B (Bolusapplikation) ↔ Gruppe I (Infusionsapplikation)

Für den Vergleich der acht Parameter innerhalb dieser beiden Gruppenkombinationen wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse durchgeführt. Für die Analyse der nicht normalverteilten Variablen wurden Mann-Whitney-Tests für die einzelnen Gruppenuntersuchungen durchgeführt (PRECHT M. u. KRAFT R. 1993; WEIß C. 2002).

4 ERGEBNISSE

4.1 Veränderungen der Doppler-Spektralkurve

In den folgenden Abbildungen (Abb. 6 und 7) werden exemplarisch eine Aufnahme vor der Applikation und ein Bild während der kontinuierlichen Verabreichung von Levovist[®] gezeigt. In der oberen Hälfte des Duplex-Bildes ist im B-Modus ein Längsschnitt der Aorta abdominalis dargestellt. In der unteren Bildhälfte befindet sich die Spektralkurve des PW-Dopplers, welche aus dem im B-Bild erkennbaren Messvolumen innerhalb der Aorta abdominalis abgeleitet wird. Das native Signal im oberen Bild setzt sich mäßig gut von dem im Hintergrund des Spektrums als grauer Schleier dargestellten Rauschens ab. In der unteren Abbildung ist das signalverstärkte Spektrum als deutlich hellere Kurve mit etwas höheren Ausschlägen bei gleich gebliebenem Hintergrundrauschen zu erkennen. Der Signalverstärker verhilft zu einem deutlich besseren Signal-Rausch-Abstand und führt über die Zunahme der streuenden Partikel im Messvolumen zu einer Intensitätserhöhung der dargestellten Spektralsignale. Die höheren Ausschläge der Kurve entstehen durch eine Sensitivitätssteigerung der Doppleruntersuchung. Die Signale der mit bestimmter Geschwindigkeit fließenden Partikel, die vor der Applikation unter der für den Doppler zugänglichen Intensitätsschwelle lagen, können durch die Erhöhung der streuenden Partikel jetzt detektiert und folglich abgebildet werden.



Abb. 6: Duplex-Bild (B-Modus und PW-Doppler) vor der Levovist[®] Infusionsapplikation. Im PW-Modus ist ein mäßig guter Signal-Rausch Abstand zu erkennen.



Abb. 7: Duplex-Bild (B-Modus und PW-Doppler) während der Levovist® Infusionsapplikation. Im PW-Modus ist eine Verbreiterung des Spektrums bei verbessertem Signal-Rausch Abstand zu erkennen.

In nahezu allen Untersuchungen ließen sich die Mikrobläschen im B-Bild anhand einer Abbildung hellerer Graustufen im Gefäßlumen ausmachen.

4.2 Signalverstärkung und Kontrastdauer

Die gemessenen Werte für die Maximalverstärkung und die Kontrastdauer oberhalb der angegebenen Verstärkungsniveaus sowie die jeweilige berechnete Fläche unter der Kurve werden für die einzelnen Gruppen tabellarisch dokumentiert. Zur graphischen Darstellung des zeitlichen Verlaufs der erzielten Signalverstärkung dient ein Messwert der Audiosignal-Lautstärke [dB] pro Herzzyklus. Die Messwerte werden folglich nicht zu regelmäßig definierten Zeitabständen, sondern in unterschiedlichen, der jeweiligen Herzzyklusdauer entsprechenden Zeitintervallen ermittelt. Die oszillierende Form der Kurven kann mit den unterschiedlichen Verstärkungswerten in Systole und Diastole erklärt werden. Der mitunter zu beobachtende kurzzeitige stärkere Abfall der Kurve liegt in einem vorübergehenden Verschieben des Doppler Messvolumens aus der optimalen Ebene begründet. Im folgenden wird stellvertretend für alle Untersuchungen aus jeder Gruppe (LB, LI, SB, SI) jeweils ein repräsentativer Zeit-Verstärkungsglyph abgebildet und erläutert.

4.2.1 Levovist[®] Bolusapplikation - Gruppe LB -

In der Gruppe der Levovist[®] Bolusapplikation kommt es wenige Sekunden nach der Verabreichung des Kontrastmittels zu der Detektion der Mikrobläschen im untersuchten Teil der Aorta abdominalis, der mit einem steilen Anstieg der Verstärkungskurve verbunden ist. Die hohe Verstärkung bleibt für einen relativ kurzen Zeitraum erhalten, bevor es nach einem steileren zu einem mäßig steilen Abfall der Signalstärke auf Ausgangsniveau kommt. Das in *Abbildung 8* gezeigte Beispiel führt circa 120 Sekunden nach Beginn der Messung zu einer maximalen Signalverstärkung von 22,8 Dezibel und bleibt etwa 40 Sekunden über einem Verstärkungsniveau von 20 Dezibel. Das Ausgangsniveau wird über einen steten Abfall der Verstärkung in einem Zeitraum von etwa 100 Sekunden erreicht.

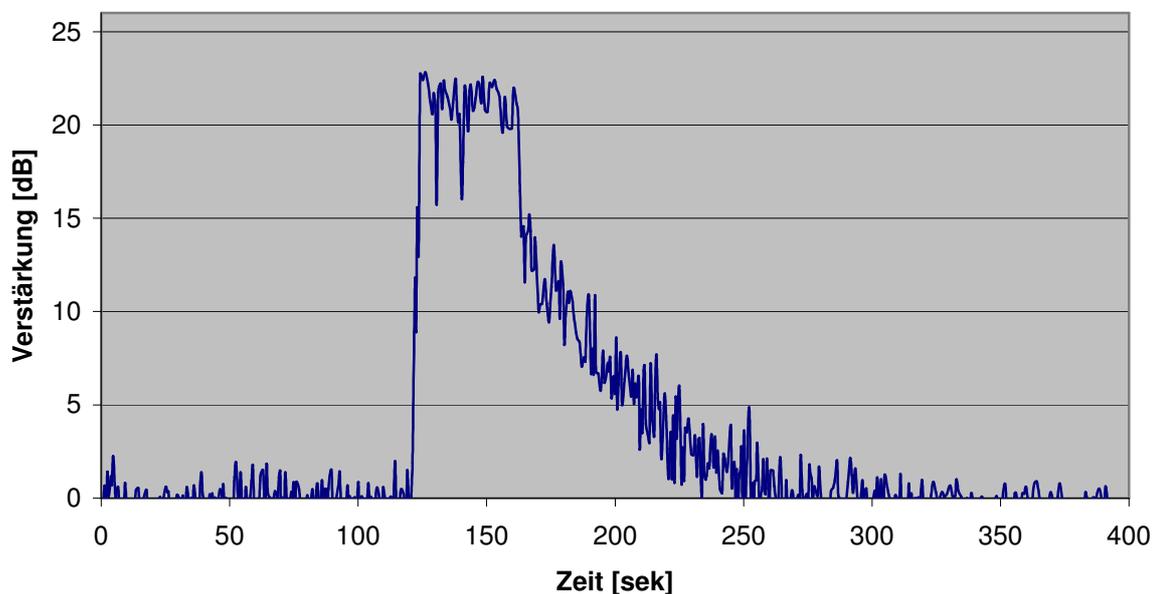


Abb. 8: Zeit-Signalintensitätskurve Levovist[®] Bolusapplikation. Signalement: Mischling, weiblich, 44,6 Monate alt, 30 kg Körpermasse.

Die *Tabelle 3* führt die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen nach Bolusapplikation von Levovist[®] auf.

Tab.3: Ergebnisse der untersuchten Parameter nach Levovist[®] Bolusapplikation.

Gruppe	maximale Signalverstärkung	Fläche unter der Kurve oberhalb einer Verstärkung von				Kontrastdauer oberhalb einer Verstärkung von				
		>6dB	>12dB	>18dB	>24dB	>Nulllinie	>6dB	>12dB	>18dB	>24dB
	[dB]	[dB*s]	[dB*s]	[dB*s]	[dB*s]	[s]	[s]	[s]	[s]	[s]
LB	22,8	1280	962	813	0	287,4	86	49	39	0
LB	21,6	989	276	117	0	304,2	104	18	6	0
LB	19,3	2493	1847	417	0	303,8	192	116	23	0
LB	19,7	2995	2272	743	0	283,7	219	140	40	0
LB	19,0	1227	163	17	0	293,7	143	11	1	0
LB	17,8	3664	3223	0	0	294,9	251	206	0	0
LB	18,6	2423	2029	138	0	233,4	168	125	8	0
LB	18,8	2103	1371	83	0	263,4	168	87	5	0
LB	21,2	2704	2164	1316	0	269	184	124	68	0
LB	19,5	3027	2407	208	0	284,7	220	154	12	0
LB	22,2	990	385	60	0	210,7	96	27	3	0
LB	17,6	1955	1273	0	0	286,1	166	91	0	0

4.2.2 Levovist[®] Infusionsapplikation - Gruppe LI -

Bei der kontinuierlichen Verabreichung von Levovist[®] erfolgt ein relativ langsamer Anstieg der Kurve auf maximale Verstärkungswerte, die gewöhnlich unter denen der Bolusapplikation liegen und allmählich die Ausgangswerte erreichen. Bei dem in *Abbildung 9* dargestellten Beispiel setzt die Verstärkung etwa 103 Sekunden nach Messungsbeginn ein und erreicht bei 220 Sekunden den maximalen Verstärkungswert von 17,4 Dezibel. Es bildet sich ein Plateau um den Bereich von 15 Dezibel, welches etwa 200 Sekunden besteht. Das anschließende Absinken des Lautstärkesignals auf den Ausgangspegel erstreckt sich über einen Zeitraum von ungefähr 80 Sekunden.

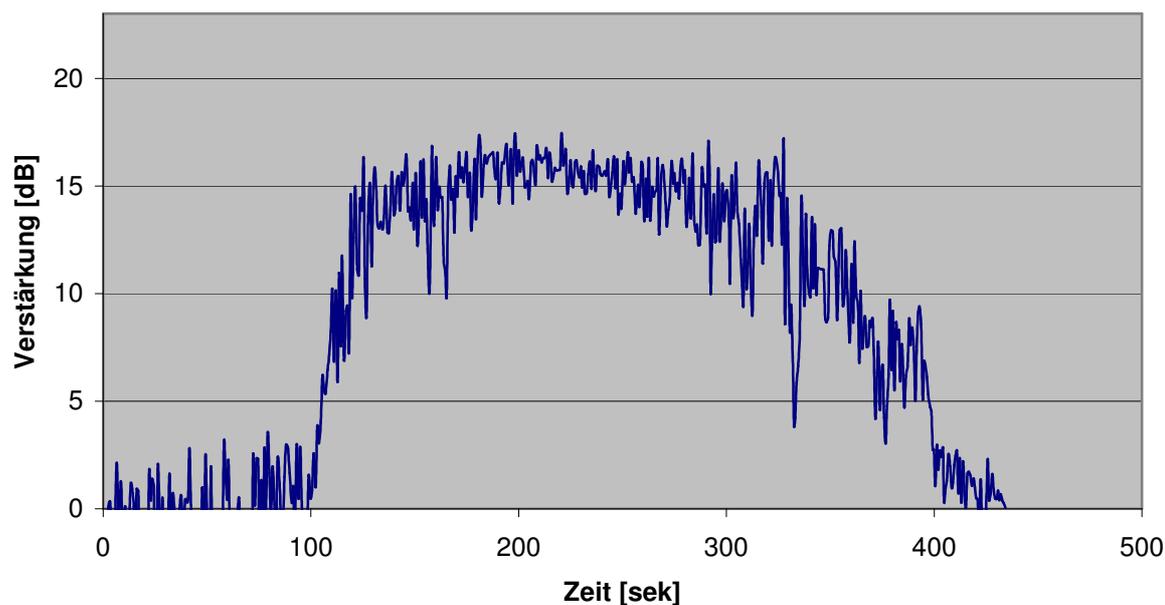


Abb.9: Zeit-Signalintensitätskurve Levovist® Infusionsapplikation. Signalement: Border Collie, weiblich kastriert, 24,7 Monate alt, 22 kg Körpermasse.

Die *Tabelle 4* führt die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen nach Infusionsapplikation von Levovist® auf.

Tab.4: Ergebnisse der untersuchten Parameter nach Levovist® Infusionsapplikation.

Gruppe	maximale Signalverstärkung	Fläche unter der Kurve oberhalb einer Verstärkung von				Kontrastdauer oberhalb einer Verstärkung von				
		>6dB	>12dB	>18dB	>24dB	>Nulllinie	>6dB	>12dB	>18dB	>24dB
	[dB]	[dB*s]	[dB*s]	[dB*s]	[dB*s]	[s]	[s]	[s]	[s]	[s]
LI	15,4	2812	1138	0	0	303,3	276	88	0	0
LI	14,6	4428	3627	0	0	463,3	357	272	0	0
LI	17,3	1953	1087	0	0	274,9	173	76	0	0
LI	16,1	4048	3139	0	0	393,3	321	227	0	0
LI	17,4	3755	3024	0	0	367,7	285	204	0	0
LI	15,3	3129	2680	0	0	348,6	250	200	0	0
LI	16,1	2781	2134	0	0	343,5	226	153	0	0
LI	17,4	2443	1316	0	0	347,6	220	94	0	0
LI	14,2	1793	889	0	0	274,1	159	70	0	0
LI	17,6	1646	508	0	0	259,3	160	39	0	0
LI	19,2	2604	1303	63	0	329,3	234	95	4	0
LI	14,7	2255	991	0	0	321,9	218	80	0	0

4.2.3 SonoVue® Bolusapplikation - Gruppe SB -

Die Bolusapplikation von SonoVue® verhält sich prinzipiell analog zu der entsprechenden Levovist® Gruppe. Das Beispiel in *Abbildung 10* zeigt einen steilen Anstieg des Verstärkungsgraphen circa 45 Sekunden nach Beginn der Messung und ein Erreichen der Maximalverstärkung von 25,1 Dezibel nach etwa 50 Sekunden. Der vorübergehende Abfall der Kurve kurz nach dem initialen Anstieg ist mit einem nur bei diesem Hund beobachteten Schallschattenartefakt zu erklären. Die Verstärkung bleibt für knapp 100 Sekunden über einem Niveau von 20 Dezibel, bevor die Kurve über einen zuerst etwas steileren, dann mäßig steilen Abfall über circa 100 Sekunden den Ausgangspegel erreicht.

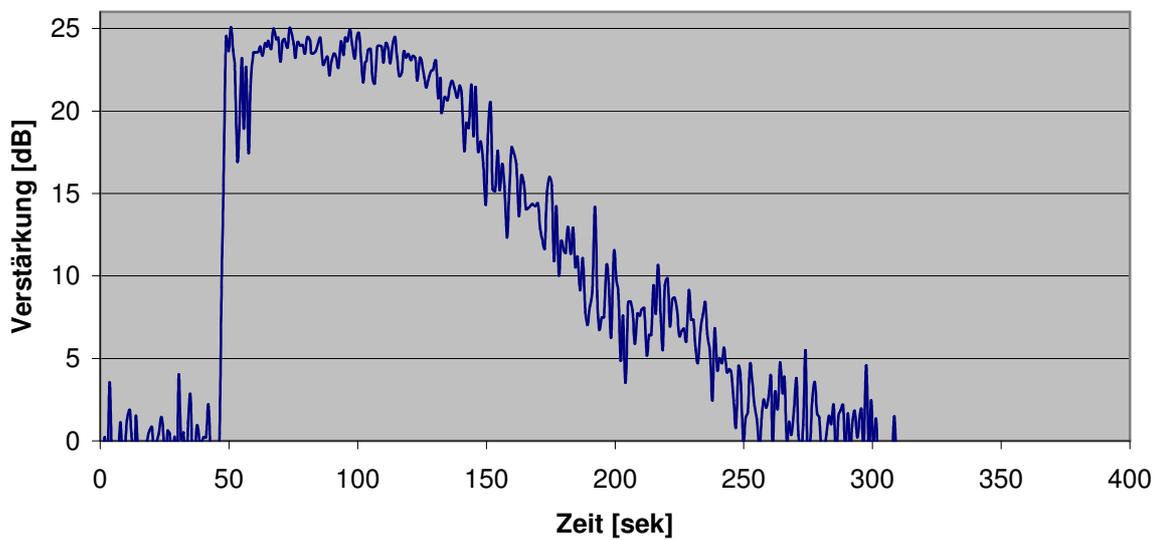


Abb.10: Zeit-Signalintensitätskurve SonoVue® Bolusapplikation. Signalement: Labrador, männlich, 8,4 Monate alt, 26 kg Körpermasse.

Die *Tabelle 5* führt die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen nach Bolusapplikation von SonoVue[®] auf.

Tab.5: Ergebnisse der untersuchten Parameter nach SonoVue[®] Bolusapplikation.

Gruppe	maximale Signalverstärkung	Fläche unter der Kurve oberhalb einer Verstärkung von				Kontrastdauer oberhalb einer Verstärkung von				
		>6dB	>12dB	>18dB	>24dB	>Nulllinie	>6dB	>12dB	>18dB	>24dB
	[dB]	[dB*s]	[dB*s]	[dB*s]	[dB*s]	[s]	[s]	[s]	[s]	[s]
SB	20,3	3695	3265	207	0	286,8	253	203	11	0
SB	18,7	1434	1185	134	0	189,3	102	73	8	0
SB	20,1	1524	1240	200	0	165,4	108	78	11	0
SB	19,6	3611	2967	1010	0	313,1	248	174	55	0
SB	17,6	2851	2131	0	0	302,3	225	142	0	0
SB	20,5	4675	4329	427	0	337,6	301	260	24	0
SB	20	2069	1295	142	0	322,7	171	81	8	0
SB	18,9	1975	1229	76	0	309,1	165	79	4	0
SB	18,6	4987	4197	61	0	370,1	363	280	3	0
SB	17,6	5575	5159	0	0	390	393	346	0	0
SB	25,1	3214	2764	2258	573	267,5	185	132	99	24
SB	19,2	2320	1990	85	0	250,7	164	122	5	0

4.2.4 SonoVue[®] Infusionsapplikation - Gruppe SI -

Der Verlauf der Zeit-Verstärkungsgraphen bei kontinuierlicher Applikation von SonoVue[®] verhält sich mit Ausnahme des tendenziell steileren Anstiegs der Kurve weitgehend analog zu den Untersuchungsreihen bei Levovist[®] Infusionsapplikationen. In *Abbildung 11* ist ein relativ steiler Anstieg der Verstärkungskurve circa 110 Sekunden nach Beginn der Messung mit einer maximalen Verstärkung von 16,2 Dezibel und einem Plateau um 15 Dezibel, welches etwa 200 Sekunden besteht, zu verzeichnen. Die Rückkehr auf den Ausgangspegel vollzieht sich in einem langsamen Abfall der Kurve über einen Zeitraum von ungefähr 150 Sekunden.

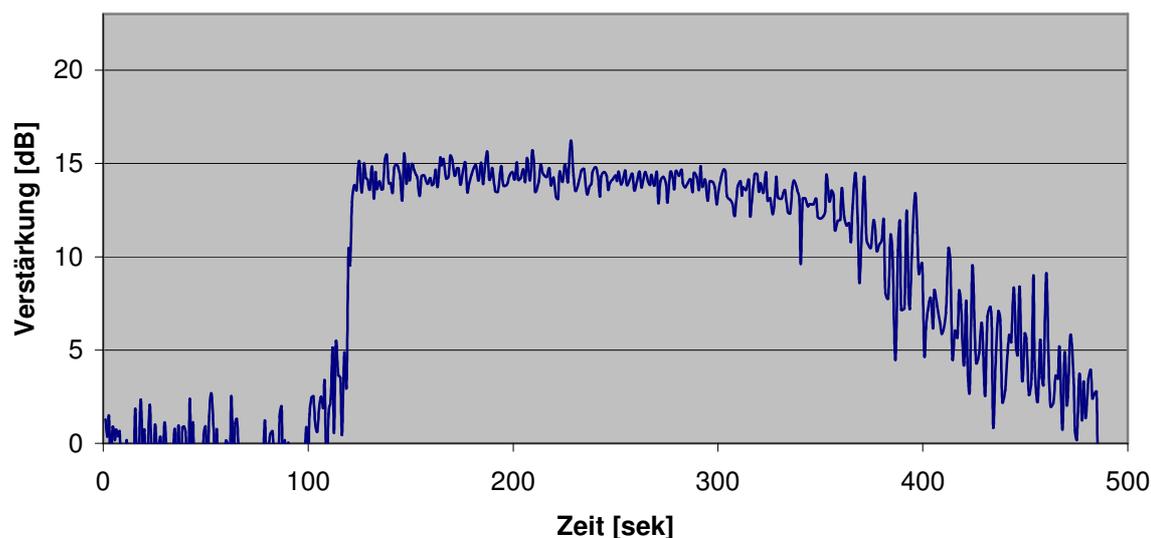


Abb.11: Zeit-Signalintensitätskurve SonoVue® Infusionsapplikation. Signalement: Mischling, weiblich, 118,3 Monate alt, 18 kg Körpermasse.

Die *Tabelle 6* führt die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen nach Infusionsapplikation von SonoVue® auf.

Tab.6: Ergebnisse der untersuchten Parameter nach Sonovue® Infusionsapplikation.

Gruppe	maximale Signalverstärkung	Fläche unter der Kurve oberhalb einer Verstärkung von				Kontrastdauer oberhalb einer Verstärkung von				
		>6dB	>12dB	>18dB	>24dB	>Nulllinie	>6dB	>12dB	>18dB	>24dB
	[dB]	[dB*s]	[dB*s]	[dB*s]	[dB*s]	[s]	[s]	[s]	[s]	[s]
SI	16,9	3148	2292	0	0	301,2	254	168	0	0
SI	16,5	1838	1326	0	0	243	157	98	0	0
SI	16,7	3231	2568	0	0	372,5	260	193	0	0
SI	19,4	3638	3226	1192	0	309,2	237	190	65	0
SI	21	3851	3097	2060	0	327,2	267	175	107	0
SI	16,2	3982	3402	0	0	370	309	244	0	0
SI	16,6	4350	3663	0	0	397,5	335	262	0	0
SI	20,8	5194	4680	3627	0	361,3	316	256	190	0
SI	18,6	5230	4517	15	0	381,4	376	293	1	0
SI	21,4	3685	3293	1886	0	301,8	232	187	101	0
SI	19,4	2745	2325	634	0	275,5	187	138	35	0
SI	18,9	2776	2492	15	0	270,3	193	159	1	0

4.3 Deskriptive Statistik der einzelnen Untersuchungsgruppen

In der folgenden Tabelle (Tab.7) sind für die einzelnen Gruppen die Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) der untersuchten Parameter Verstärkungsdauer über der Nulllinie, über 6, 12 und 18 Dezibel, die maximale erzielte Verstärkung sowie die Fläche unter der Kurve für eine Verstärkung über 6, 12 und 18 Dezibel aufgeführt. Die Zahlen in den Klammern (N) beschreiben die Anzahl der für den entsprechenden Parameter zur Verfügung stehenden Hunde.

Tab.7: Deskriptive Statistik der einzelnen Untersuchungsgruppen. AUC = Fläche unter der Kurve; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; N = Anzahl der Messergebnisse

	Levovist® Bolus (Gruppe LB)	Levovist® Infusion (Gruppe LI)	SonoVue® Bolus (Gruppe SB)	SonoVue® Infusion (Gruppe SI)
Parameter	MW±SD (N)	MW±SD (N)	MW±SD (N)	MW±SD (N)
Kontrastdauer > Nulllinie [sek]	276,25 ± 28,43 (12)	335,57 ± 56,89 (12)	292,05 ± 66,39 (12)	325,91 ± 50,05 (12)
Kontrastdauer > 6 dB [sek]	166,42 ± 51,90 (12)	239,92 ± 61,97 (12)	223,17 ± 92,92 (12)	260,25 ± 64,98 (12)
Kontrastdauer > 12 dB [sek]	95,67 ± 60,16 (12)	133,17 ± 75,04 (12)	164,17 ± 90,69 (12)	196,92 ± 56,69 (12)
Kontrastdauer > 18 dB [sek]	20,50 ± 21,99 (10)	-- (1)	22,80 ± 30,95 (10)	71,43 ± 67,69 (7)
Maximale Signal- verstärkung [dB]	19,84 ± 1,71 (12)	16,28 ± 1,52 (12)	19,68 ± 1,96 (12)	18,53 ± 1,92 (12)
AUC > 6 dB [dB*sek]	2154,17 ± 885,07 (12)	2803,92 ± 892,11 (12)	3160,83 ± 1382,00 (12)	3639,00 ± 991,54 (12)
AUC > 12 dB [dB*sek]	1531,00 ± 958,39 (12)	1819,67 ± 1048,46 (12)	2645,92 ± 1371,57 (12)	3073,42 ± 953,96 (12)
AUC > 18 dB [dB*sek]	391,20 ± 431,43 (10)	-- (1)	460,00 ± 693,04 (10)	1347,00 ± 1296,03 (7)

Die Ergebnisse der bestimmten Parameter werden im folgenden Absatz in Form von „Boxplots“ für die einzelnen Untersuchungsgruppen graphisch dargestellt. Für jede Gruppe (LB, LI, SB, SI) ist eine grau schraffierte Box abgebildet, die unten vom ersten und oben vom dritten Quartil begrenzt wird und 50 % der Stichproben enthält. Die schwarze Linie innerhalb dieser Box beschreibt den Median. Die als „Whiskers“ bezeichneten, von der Box ausgehenden Striche kennzeichnen durch ihre Endpunkte den größten und den kleinsten Wert, der nicht als Ausreißer oder extremer Wert klassifiziert wird. Werte, deren Abstand vom ersten Quartil nach unten oder vom dritten Quartil nach oben zwischen dem 1,5fachen und dem 3fachen der Boxhöhe liegen, werden als Ausreißer

definiert und mit kleinen Kreisen gekennzeichnet. Der Abstand extremer Werte beträgt mehr als das dreifache der Boxhöhe und sie werden als Sternchen abgebildet.

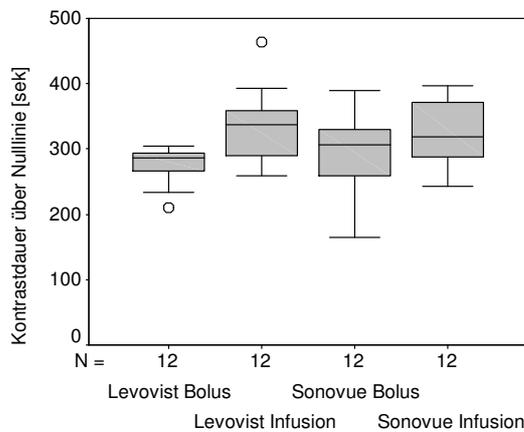


Abb.12: Kontrastdauer über Nulllinie.

Dargestellt sind die Lageparameter der Dauer der Signalverstärkung über der Nulllinie in Sekunden [sek] differenziert nach Kontrastmittel (Levovist, Sonovue) und Applikationsart (Bolus, Infusion). „o“ kennzeichnet einen Ausreißer.

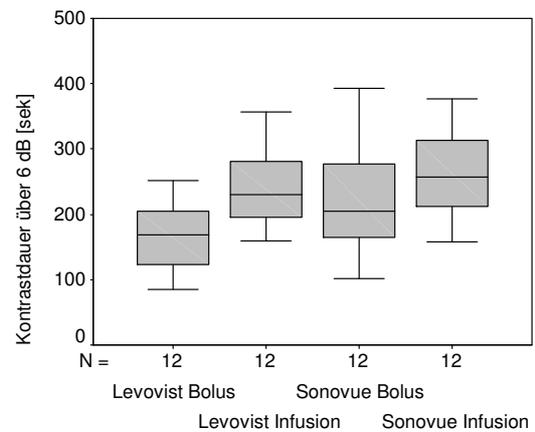


Abb.13: Kontrastdauer über 6 Dezibel.

Dargestellt sind die Lageparameter der Dauer der Signalverstärkung über 6 Dezibel in Sekunden [sek] differenziert nach Kontrastmittel (Levovist, Sonovue) und Applikationsart (Bolus, Infusion).

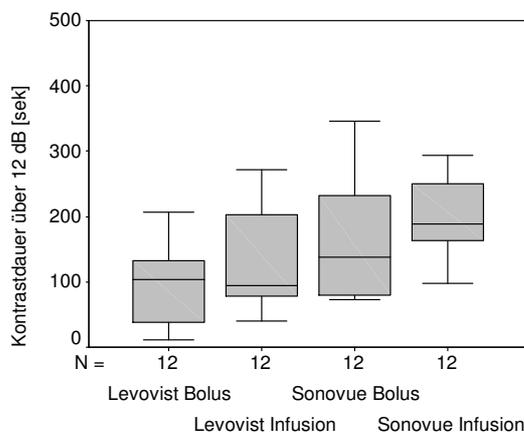


Abb.14: Kontrastdauer über 12 Dezibel.

Dargestellt sind die Lageparameter der Dauer der Signalverstärkung über 12 Dezibel in Sekunden [sek] differenziert nach Kontrastmittel (Levovist, Sonovue) und Applikationsart (Bolus, Infusion).

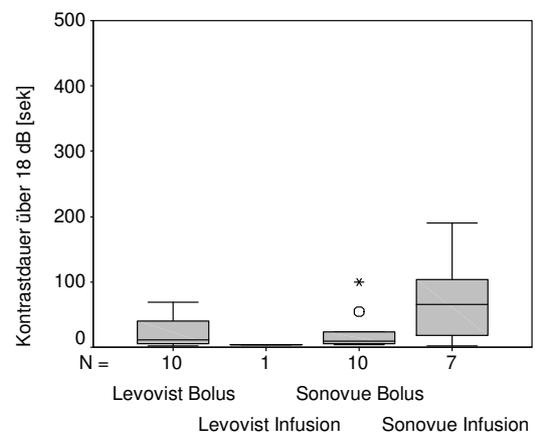


Abb.15: Kontrastdauer über 18 Dezibel.

Dargestellt sind die Lageparameter der Dauer der Signalverstärkung über 18 Dezibel in Sekunden [sek] differenziert nach Kontrastmittel (Levovist, Sonovue) und Applikationsart (Bolus, Infusion). „o“ kennzeichnet einen Ausreißer, „*“ einen Extremwert.

Die Verstärkungsdauer über der Nulllinie (Abb.12) liegt bei kontinuierlicher Applikationsform bezüglich des Medians über den bei Bolusapplikationen der Signalverstärker erreichten Werten. Die Levovist® Infusionsapplikation ergibt gemessen am Median die längste Verstärkungsdauer über der Grundlinie, während die gleiche Applikationsart von SonoVue® einen nur geringfügig kleineren

Wert aufweist. Bei der Verstärkungsdauer über 6 Dezibel (*Abb.13*) ist in den Gruppen der kontinuierlichen Verabreichung ein höherer Median gegenüber den Bolusapplikationen zu verzeichnen. Bei kontinuierlicher SonoVue® Applikation ist er am größten, bei Levovist® Bolusapplikation weist der Mittelwert das niedrigste Niveau auf. Betrachtet man die Verstärkungsdauer über 12 Dezibel (*Abb.14*), erreichen die SonoVue® Injektionen höhere Mediane als die Levovist® Gruppen. Eine Signalverstärkung über 18 Dezibel (*Abb.15*) ist bei kontinuierlicher Verabreichung von Levovist® nur bei einem Hund, bei SonoVue® Infusionsapplikation bei 7 Hunden und in den Bolusgruppen bei je 10 Tieren zu beobachten. Der höchste Median der Kontrastdauer über 18 Dezibel ist hierbei in der Gruppe der SonoVue® Infusionsapplikation zu verzeichnen.

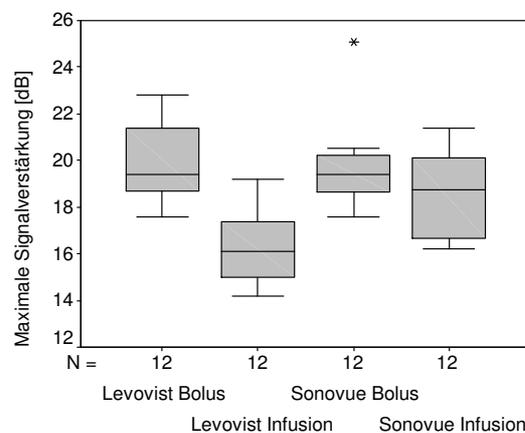


Abb.16: Maximal erzielte Verstärkung.

Dargestellt sind die Lageparameter der maximal erzielten Verstärkung in Dezibel [dB] differenziert nach Kontrastmittel (Levovist, SonoVue) und Applikationsart (Bolus, Infusion). „*“ kennzeichnet einen Extremwert.

Die in *Abbildung 16* dargestellten Boxplots für die maximal erzielte Signalverstärkung zeigen in der Gruppe der Levovist® Bolusapplikation den höchsten, in der SonoVue® Bolusgruppe einen knapp darunter liegenden Medianwert. Die maximale Signalverstärkung liegt bei den Hunden, die Levovist® in kontinuierlicher Verabreichung erhalten, bezüglich des Medians am niedrigsten.

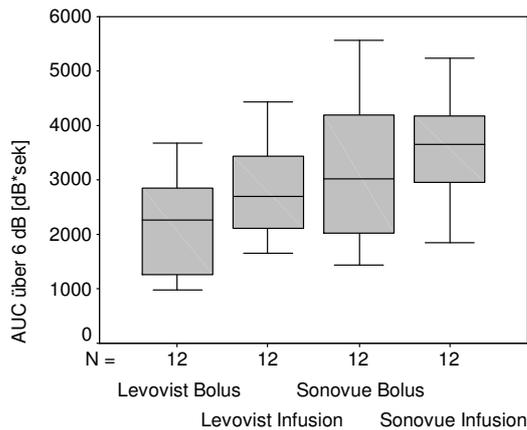


Abb.17: Fläche unter der Kurve bei einer Verstärkung über 6 Dezibel.

Dargestellt sind die Lageparameter der Fläche unter der Kurve (AUC) [db*sek] bei einer Signalverstärkung über 6 Dezibel differenziert nach Kontrastmittel (Levovist, Sonovue) und Applikationsart (Bolus, Infusion). „o“ kennzeichnet einen Ausreißer, „*“ einen Extremwert.

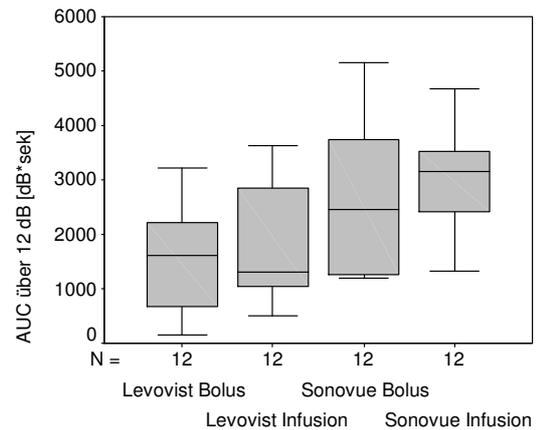


Abb.18: Fläche unter der Kurve bei einer Verstärkung über 12 Dezibel.

Dargestellt sind die Lageparameter der Fläche unter der Kurve (AUC) [db*sek] bei einer Signalverstärkung über 12 Dezibel differenziert nach Kontrastmittel (Levovist, Sonovue) und Applikationsart (Bolus, Infusion). „o“ kennzeichnet einen Ausreißer, „*“ einen Extremwert.

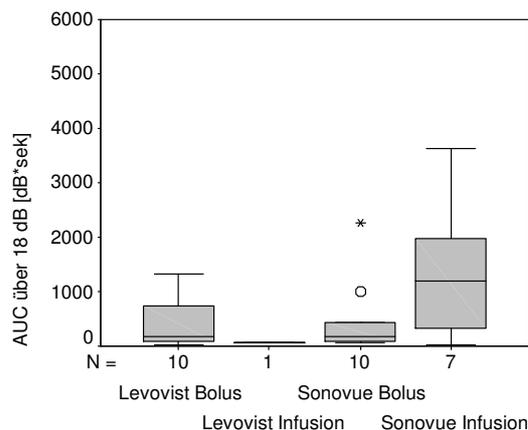


Abb.19: Fläche unter der Kurve bei einer Verstärkung über 18 Dezibel.

Dargestellt sind die Lageparameter der Fläche unter der Kurve (AUC) [db*sek] bei einer Signalverstärkung über 18 Dezibel differenziert nach Kontrastmittel (Levovist, Sonovue) und Applikationsart (Bolus, Infusion). „o“ kennzeichnet einen Ausreißer, „*“ einen Extremwert.

Die in *Abbildung 17* dargestellten Boxplots für die Fläche unter der Kurve über 6 Dezibel nimmt bezüglich des Medians von der Gruppe SonoVue® Infusionsapplikation über SonoVue® Bolus- und Levovist® Infusionsapplikation bis Levovist® Bolusapplikation stetig ab. Bei einem Niveau über 12 Dezibel (*Abb.18*) nimmt der Median von SonoVue® Infusion über seine Bolusapplikation und Levovist® Bolusapplikation zur Infusionsapplikation von Levovist® ab. Für die Auswertung

des Parameters über einem Niveau von 18 Dezibel (*Abb.19*) stehen in den beiden Bolusgruppen jeweils zehn Tiere, in den Infusionsgruppen für SonoVue[®] sieben und für Levovist[®] nur ein Hund zur Verfügung.

4.4 Deskriptive Statistik der zusammengefassten Gruppen

In der folgenden Tabelle (*Tab.8*) sind für die zusammengefassten Gruppen die Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) der untersuchten Parameter Verstärkungsdauer über der Nulllinie, über 6, 12 und 18 Dezibel, die maximale erzielte Verstärkung sowie die Fläche unter der Kurve für eine Verstärkung über 6, 12 und 18 Dezibel aufgeführt. Die Zahlen in den Klammern (N) beschreiben die Anzahl der für den entsprechenden Parameter zur Verfügung stehenden Hunde.

Tab.8: Deskriptive Statistik der zusammengefassten Gruppen. AUC = Fläche unter der Kurve; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; N = Anzahl der Messergebnisse

	Gruppen Ultraschallverstärker		Gruppen Applikationsformen	
	Levovist [®] (Gruppe L)	SonoVue [®] (Gruppe S)	Bolusapplikation (Gruppe B)	Infusionsapplikation (Gruppe I)
Parameter	MW±SD (N)	MW±SD (N)	MW±SD (N)	MW±SD (N)
Kontrastdauer > Nulllinie [sek]	305,91 ± 53,41 (24)	308,98 ± 60,04 (24)	284,15 ± 50,59 (24)	330,74 ± 52,63 (24)
Kontrastdauer > 6 dB [sek]	203,17 ± 67,33 (24)	241,71 ± 80,67 (24)	194,79 ± 79,10 (24)	250,08 ± 62,96 (24)
Kontrastdauer > 12 dB [sek]	114,42 ± 69,21 (24)	180,54 ± 75,83 (24)	129,92 ± 83,00 (24)	165,04 ± 72,73 (24)
Kontrastdauer > 18 dB [sek]	19,00 ± 21,44 (11)	42,82 ± 53,53 (17)	21,65 ± 26,16 (20)	63,00 ± 67,05 (8)
Maximale Signal- verstärkung [dB]	18,06 ± 2,41 (24)	19,11 ± 1,99 (24)	19,76 ± 1,80 (24)	17,40 ± 2,05 (24)
AUC > 6 dB [dB*sek]	2479,04 ± 930,27 (24)	3399,92 ± 1201,37 (24)	2657,50 ± 1245,97 (24)	3221,46 ± 1016,25 (24)
AUC > 12 dB [dB*sek]	1675,33 ± 993,36 (24)	2859,67 ± 1175,85 (24)	2088,46 ± 1289,68 (24)	2446,54 ± 1170,91 (24)
AUC > 18 dB [dB*sek]	361,36 ± 421,08 (11)	825,24 ± 1050,01 (17)	425,60 ± 562,96 (20)	1186,50 ± 1282,89 (8)

4.5 Vergleich der einzelnen Untersuchungsgruppen

In der Tabelle 9 wird das Signifikanzniveau der Vergleiche einzelner Gruppen auf Unterschiede bezüglich der untersuchten Parameter aufgeführt.

Tab.9: Signifikanzniveau für die Unterschiede einzelner Untersuchungsgruppen. *: p-Werte der t-Tests. **: p-Werte der Mann-Whitney Tests

Parameter	Gruppenvergleiche			
	LB / LI	LB / SB	SB / SI	LI / SI
	p-Wert*	p-Wert*	p-Wert*	p-Wert*
Kontrastdauer über Nulllinie [sek]	0,004	0,460	0,172	0,663
Kontrastdauer über 6 dB [sek]	0,005	0,078	0,269	0,441
Kontrastdauer über 12 dB [sek]	0,191	0,040	0,300	0,028
Kontrastdauer über 18 dB [sek]	-	0,971**	0,270**	-
Maximale Signalverstärkung [dB]	< 0,0005	0,835	0,161	0,004
AUC über 6 dB [dB*sek]	0,087	0,045	0,341	0,041
AUC über 12 dB [dB*sek]	0,489	0,031	0,385	0,006
AUC über 18 dB [dB*sek]	-	0,912**	0,364**	-

Der mittels t-Tests für unabhängige Stichproben ermittelte p-Wert ist aufgrund der multiplen Vergleiche der Gruppen gemäß der Bonferroni-Methode erst unter einem Niveau von 0,0125 als statistisch signifikant eingeordnet worden. Folglich kann in der Levovist[®] Infusionsgruppe eine längere Kontrastdauer über der Nulllinie und über 6 Dezibel als in der Levovist[®] Bolusgruppe verzeichnet werden. Die höhere Maximalverstärkung in der Levovist[®] Bolusgruppe gegenüber der kontinuierlichen Applikation von Levovist[®] ist hochsignifikant. Bei den Parametern der maximal erzielten Verstärkung und der Fläche unter der Kurve über einem Niveau von 12 Dezibel liegen bei der kontinuierlichen Applikation von SonoVue[®] signifikant höhere Werte als bei der gleichen Applikationsform von Levovist[®] vor.

Für die höheren Werte der SonoVue[®] Bolusgruppe gegenüber der Levovist[®] Bolusgruppe bezüglich der Verstärkungsdauer über 12 Dezibel und der Fläche unter der Kurve über 12 und 18 Dezibel liegen die p-Werte zwar unter 0,05, werden aber wie oben beschrieben aufgrund der multiplen Gruppenvergleiche nicht als statistisch signifikant bewertet. Entsprechendes ist für die längere Kontrastdauer über 12 Dezibel und den größeren Wert bei der Fläche unter der Kurve über 12 Dezibel der kontinuierlichen SonoVue[®] Verabreichung im Vergleich zu der Infusionsapplikation von Levovist[®] gültig.

4.6 Vergleich der zusammengefassten Gruppen

In den Tabellen 10 und 11 wird das Signifikanzniveau der Vergleiche zusammengefasster Gruppen auf Unterschiede bezüglich der untersuchten Parameter, sowie in Tabelle 12 die Wechselwirkung der p-Werte aufgeführt. Diese wurden mittels einer zweifaktoriellen Varianzanalyse für die normalverteilten und des Mann-Whitney-Tests für die nicht-normalverteilten Variablen ermittelt. Liegen die p-Werte unter 0,05 werden sie als signifikant unter 0,01 als hochsignifikant bewertet.

Tab.10: Signifikanzniveau für die Unterschiede der nach Ultraschallkontrastmittel zusammengefassten Gruppen. *: p-Werte der zweifaktoriellen Varianzanalyse. **: p-Werte der Mann-Whitney Tests

Parameter	Gruppen Ultraschallkontrastmittel		p-Wert*
	Levovist®	SonoVue®	
	MW±SD (N)	MW±SD (N)	
Kontrastdauer über Nulllinie [sek]	305,91 ± 53,41 (24)	308,98 ± 60,04 (24)	0,840
Kontrastdauer über 6 dB [sek]	203,17 ± 67,33 (24)	241,71 ± 80,67 (24)	0,062
Kontrastdauer über 12 dB [sek]	114,42 ± 69,21 (24)	180,54 ± 75,83 (24)	0,003
Kontrastdauer über 18 dB [sek]	19,00 ± 21,44 (11)	42,82 ± 53,53 (17)	0,396**
Maximale Signalverstärkung [dB]	18,06 ± 2,41 (24)	19,11 ± 1,99 (24)	0,048
AUC über 6 dB [dB*sek]	2479,04 ± 930,27 (24)	3399,92 ± 1201,37 (24)	0,004
AUC über 12 dB [dB*sek]	1675,33 ± 993,36 (24)	2859,67 ± 1175,85 (24)	0,001
AUC über 18 dB [dB*sek]	361,36 ± 421,08 (11)	825,24 ± 1050,01 (17)	0,384**

Tab.11: Signifikanzniveau für die Unterschiede der nach Applikationsformen zusammengefassten Gruppen. *: p-Werte der zweifaktoriellen Varianzanalyse. **: p-Werte der Mann-Whitney Tests

Parameter	Gruppen Applikationsformen		p-Wert*
	Bolusapplikation	Infusionsapplikation	
	MW±SD (N)	MW±SD (N)	
Kontrastdauer über Nulllinie [sek]	284,15 ± 50,59 (24)	330,74 ± 52,63 (24)	0,004
Kontrastdauer über 6 dB [sek]	194,79 ± 79,10 (24)	250,08 ± 62,96 (24)	0,009
Kontrastdauer über 12 dB [sek]	129,92 ± 83,00 (24)	165,04 ± 72,73 (24)	0,098
Kontrastdauer über 18 dB [sek]	21,65 ± 26,16 (20)	63,00 ± 67,05 (8)	0,373**
Maximale Signalverstärkung [dB]	19,76 ± 1,80 (24)	17,40 ± 2,05 (24)	< 0,0005
AUC über 6 dB [dB*sek]	2657,50 ± 1245,97 (24)	3221,46 ± 1016,25 (24)	0,071
AUC über 12 dB [dB*sek]	2088,46 ± 1289,68 (24)	2446,54 ± 1170,91 (24)	0,264
AUC über 18 dB [dB*sek]	425,60 ± 562,96 (20)	1186,50 ± 1282,89 (8)	0,476**

Tab.12: p-Werte der Wechselwirkung für die Unterschiede der zusammengefassten Gruppen.

	Wechselwirkung
Parameter	p-Wert*
Kontrastdauer über Nulllinie [sek]	0,404
Kontrastdauer über 6 dB [sek]	0,370
Kontrastdauer über 12 dB [sek]	0,909
Kontrastdauer über 18 dB [sek]	-
Maximale Signalverstärkung [dB]	0,024
AUC über 6 dB [dB*sek]	0,780
AUC über 12 dB [dB*sek]	0,827
AUC über 18 dB [dB*sek]	-

Beim Vergleich der Signalverstärker können für die Gruppe SonoVue[®] bei der Kontrastdauer über 12 Dezibel und bei der Fläche unter der Kurve über 6 und 12 Dezibel statistisch hochsignifikant größere Werte als in der Gruppe Levovist[®] ermittelt werden. Die Maximalverstärkung bei Gruppe SonoVue[®] ist statistisch signifikant höher als in Gruppe Levovist[®]. Vergleicht man die Applikationsformen, so zeigt sich für die Gruppe Infusionsapplikation im Vergleich zu der Gruppe Bolusapplikation eine statistisch hochsignifikante längere Verstärkungsdauer über der Nulllinie beziehungsweise über 6 Dezibel und eine hochsignifikant größere Maximalverstärkung in der Gruppe Bolusapplikation gegenüber der Gruppe Infusionsapplikation. Die einzige statistisch signifikante Wechselwirkung der p-Werte liegt für den Parameter der maximal erzielten Verstärkung vor.

4.7 Korrelationsanalyse Ergebnisse - Körpermasse

Die *Tabelle 13* zeigt die Ergebnisse der Korrelationsanalyse der untersuchten Parameter und der Körpermasse innerhalb der einzelnen Gruppen. Es kann in keiner Gruppe eine Korrelation zwischen den gemessenen Parametern und der Körpermasse festgestellt werden. Zwar sind einige Korrelationswerte signifikant, jedoch liegen diese vom Betrag her nicht über 0,7.

Tab.13: Korrelationsanalyse zwischen den Parametern und der Körpermasse in den einzelnen Untersuchungsgruppen. *: Pearsonscher Korrelationswert und p-Wert des t-Tests. **: Spearman-scher Korrelationskoeffizient und p-Wert des Rangtests.

Gruppe	Wert	>Null- linie	>6 dB	>12 dB	>18 dB	Max. Verst.	Auc > 6 dB	Auc > 12 dB	Auc > 18 dB
Levovist Bolus- applikation	Korrelation*	0,023	-0,023	-0,062	0,334**	0,143	-0,015	-0,029	0,298**
	p-Wert*	0,943	0,943	0,848	0,345**	0,657	0,963	0,928	0,403**
	N	12	12	12	10	12	12	12	10
Levovist Infusions- applikation	Korrelation*	-0,284	-0,443	-0,280		0,479	-0,354	-0,249	
	p-Wert*	0,371	0,149	0,378		0,115	0,259	0,435	
	N	12	12	12	1	12	12	12	1
Sonovue Bolus- applikation	Korrelation*	0,068	0,274	0,231	0,266**	0,036	0,262	0,224	0,265**
	p-Wert*	0,833	0,388	0,471	0,457**	0,913	0,411	0,483	0,460**
	N	12	12	12	10	12	12	12	10
Sonovue Infusions- applikation	Korrelation*	0,300	0,184	0,116	-0,180	0,004	0,107	0,070	-0,180**
	p-Wert*	0,344	0,566	0,719	0,699	0,990	0,742	0,829	0,699**
	N	12	12	12	7	12	12	12	7

Da eine körpermassebezogene Dosis und Rate angewandt wurde, besteht ein linearer Zusammenhang zwischen diesen Kenngrößen, so dass sich eine zusätzliche Korrelationsanalyse bezüglich der Dosis und Rate erübrigt.

4.8 Erfahrungswerte besonderer Einzeluntersuchungen

Während der Voruntersuchungen zu dieser Studie konnte festgestellt werden, dass bei Tieren, die im Rahmen einer Inhalationsanästhesie anstelle von Raumluft reinen Sauerstoff erhalten, mit Levovist® keine oder eine nur minimale Verstärkung zu beobachten ist. Dieses Phänomen beschreiben auch KASHIWAGI et al. (2001) in einer tierexperimentellen Untersuchung der Auswirkungen einer reinen Sauerstoffsinalation auf die Myokardkontrastierung nach Levovistapplikation. Dieser Sachverhalt lässt sich durch den erhöhten Sauerstoffpartialdruck im Blut mit einer erhöhten Diffusion von Sauerstoffmolekülen in das lufthaltige Mikrobäschen erklären. Hierdurch können zum einen die akustischen Eigenschaften von Levovist® negativ beeinflusst werden, zum anderen kann es auch zum Platzen der Mikrobäschen kommen.

Bei drei Tieren welche nicht Teil dieser Studie sind, die vor der Untersuchung eine Acepromazin²⁰ Injektion erhielten, konnten vergleichsweise nur sehr geringe Verstärkungen mit Levovist[®] beobachtet werden. Ob es sich hierbei um ein zufälliges Geschehen handelt, müsste über kontrollierte Studien ermittelt werden. Als mögliche Erklärungen könnten die ausgeprägte kreislaufdepressive Wirkung des Sedativums mit einer Vasodilatation peripherer Gefäße oder auch eine substanzspezifische Wechselwirkung mit den Mikrobläschen infrage kommen.

Insbesondere bei Bolusapplikation der Signalverstärker kann durch die hohe Konzentrationsdichte der gashaltigen Mikrobläschen in dem jeweiligen Gefäßabschnitt eine distale Schallauslöschung auftreten die vorübergehend die Beurteilung des Bildmaterials behindert. Bei der in dieser Studie gewählten Dosierung war dieses Phänomen bei nur einem Hund nach einer SonoVue[®] Bolusapplikation zu beobachten. In *Abbildung 20* ist das Auftreten einer distalen Schallauslöschung nach Applikation von 0,3 ml/kg Körpermasse SonoVue[®] dargestellt. Im dem B-Bild auf der linken Seite ist die Aorta mit den umliegenden Strukturen gut zu erkennen. Das rechte Bild zeigt die Verhältnisse nach der Kontrastmittelapplikation. Das Gefäßlumen stellt sich bedingt durch die Mikrobläschen deutlich echogener dar. Die dorsale Gefäßberandung ist nicht mehr abzugrenzen und distal (dorsal) des Gefäßes ist eine deutliche distale Schallauslöschung erkennbar. Das Spektrum des PW-Dopplers ist deutlich verbreitert.

²⁰ Vetranquil[®] 1%, A. Albrecht GmbH & Co. KG, Aulendorf

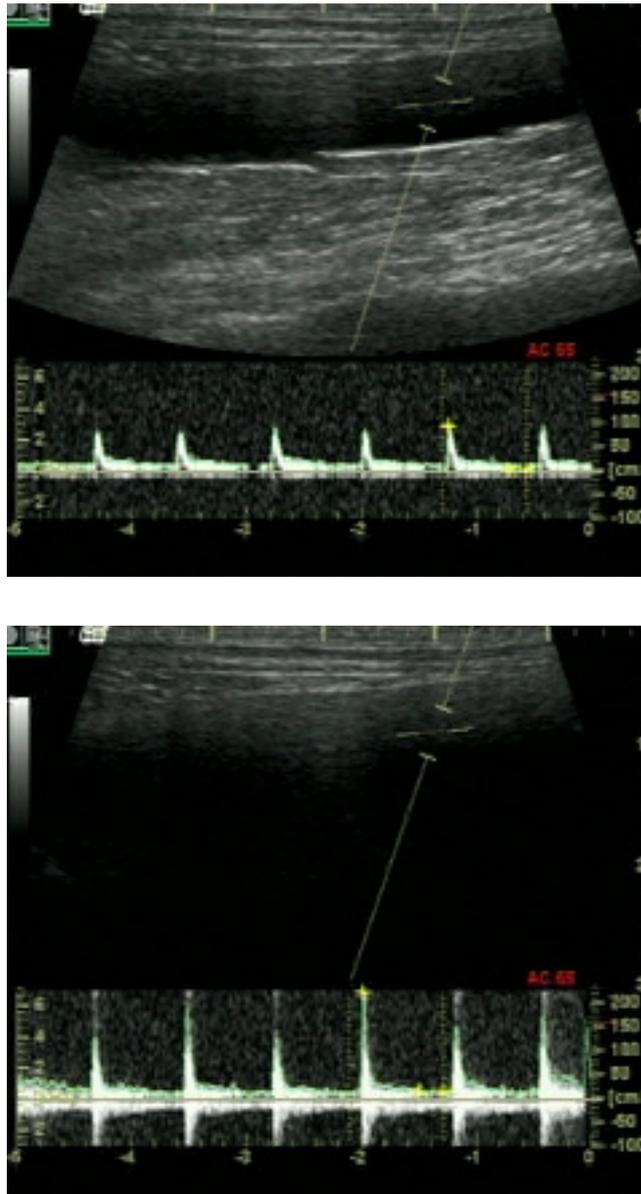


Abb.20: Duplex-Bild (B-Modus und PW-Doppler) vor und nach Kontrastmittelapplikation. Oben: vor SonoVue[®] Applikation; unten: nach SonoVue[®] Applikation mit distaler Schallauslöschung im B-Modus.

5 DISKUSSION

5.1 Diskussion der Methoden

5.1.1 Untersuchte Tiere

Diese Studie erfolgte mit Hunden aus dem Patientengut der Klinik für Kleintiere der Universität Leipzig. Die Zusammensetzung der Gesamtgruppe und der einzelnen Untersuchungsgruppen wurde vor der Untersuchung bestimmt und folgte dem Zufallsprinzip. Hunde mit einer Körpermasse unter 10 Kilogramm und über 42 Kilogramm wurden jedoch ausgeschlossen. Die Vielzahl der untersuchten Rassen verhindert eine Verzerrung der Ergebnisse durch rassespezifische Gegebenheiten und steht für den praxisnahen Charakter dieser Studie. Kritisch diskutiert werden muss hingegen die gegenüber einem Versuchsaufbau mit Hunden derselben Rasse und entsprechend ähnlicher Körpermasse eingeschränkte Vergleichbarkeit der Untersuchungsergebnisse. Dieser Umstand verliert allerdings zum einen durch die innerhalb und zwischen den Gruppen ähnlichen Körpermassenbereiche der Tiere und zum anderen durch die fehlende Korrelation zwischen den untersuchten Parametern und der Körpermasse an Bedeutung (*siehe Tab. 13*).

Die möglichen Einflussfaktoren des Alters und des Geschlechts sind im Rahmen dieser Studie nicht berücksichtigt worden. Eine Abhängigkeit der Ergebnisse von diesen Faktoren wäre vornehmlich über die Steuerung des Metabolismus begründet. Dieser übt aber keinen primären Einfluss auf die Länge und Ausprägung der Signalverstärkung aus. Da die eingesetzten Signalverstärker zwar eine Interaktion mit den Schallwellen, aber keine pharmakologische Wirkung im eigentlichen Sinne zeigen, scheint dieses Vorgehen gerechtfertigt.

Neben der ohne Hinweise auf ein krankhaftes Geschehen verlaufenden Anamneseerhebung und klinischen Untersuchung, galt als weiteres Auswahlkriterium für die Teilnahme an der Studie das Ergebnis einer nach einem standardisierten veterinärmedizinisch etablierten Verfahren durchgeführten abdominalen Ultraschalluntersuchung am wachen Hund. Hierbei ist mittels B-Bild-Sonographie eine morphologische Beurteilung der Bauchhöhlenorgane erfolgt und auf das Auftreten von Spontankontrast in den großen Gefäßen geachtet worden. Dieser kann unter anderem bei Turbulenzen oder Verlangsamung des Blutflusses beobachtet werden (BATTINO 1992) und hätte bei Vorhandensein zum Ausschluss des Patienten geführt. Die Ableitung des PW-Spektrums in der kaudalen Aorta abdominalis verlief wie die B-Bild-Sonographie bei allen Tieren ohne besonderen Befund.

Auf ein labordiagnostisches blutchemisches Screening zur Beurteilung des Gesundheitsstatus der Hunde ist verzichtet worden. Zum einen, da sich anamnestisch und klinisch keine Hinweise ergaben, die eine zielgerichtete Untersuchung erlaubt hätten. Zum anderen ist eine Beeinflussung der untersuchten Parameter durch Laborabweichungen ohne klinisches Korrelat sehr unwahrschein-

lich. Kritisch gesehen werden kann allerdings die nicht durchgeführte Bestimmung des roten Blutbildes, welches die Hämodynamik mitbestimmt. Ob hierbei klinisch nicht erfassbare Abweichungen die Ergebnisse beeinflussen erscheint unwahrscheinlich, kann aber nicht zuletzt aufgrund der diesbezüglich fehlenden Literatur nicht endgültig geklärt werden.

5.1.2 Dosierung der Signalverstärker

Hinsichtlich der Dosierung der Signalverstärker beim Hund und dem Vergleich verschiedener Kontrastmitteltypen sind grundsätzlich folgende Gegebenheiten zu berücksichtigen: für den Hund liegen im Gegensatz zum Menschen weder für Levovist[®] noch für SonoVue[®] allgemein anerkannte Dosierungsempfehlungen vor. Trotz der bekannten mittleren Konzentration der Mikrobläschen pro Mengeneinheit Kontrastmittel können die Dosierungen der beiden Substanzen nicht direkt miteinander verglichen werden, weil ihre akustischen Eigenschaften nicht nur von den Kontrastmittelkonzentrationen sondern auch von ihrem streuenden Querschnitt abhängen. Dieser ist eng mit den physikalischen Eigenschaften der Mikrobläschen wie den Hüll- und Gasbeschaffenheiten verknüpft (DE JONG et al. 1991).

5.1.2.1 Bolusapplikation

Der Hersteller hat für den humanmedizinischen Einsatz von **Levovist[®]** bei Doppleruntersuchungen bezüglich der zu verabreichenden Konzentrationen und Volumina in Abhängigkeit des Untersuchungsgebietes und der individuellen Erkennbarkeit der nativen Dopplersignale Angaben gemacht (SCHERING DEUTSCHLAND GMBH 1997). Für die Gefäß-Dopplersonographie wird bei mäßig gut erkennbaren, aber diagnostisch unzureichenden Dopplersignalen eine Applikation von 10-16 ml in einer Konzentration von 200 mg/ml empfohlen. Bei schwachen Dopplersignalen, wie sie beispielsweise bei kleinen Gefäßen, geringem Blutfluss oder ungünstigen Schalleitungsbedingungen zu beobachten sind, 5-10 ml der Konzentration 300 mg/ml. Bei sehr schwachen oder fehlenden Dopplersignalen 5 - 8 ml in einer Konzentration von 400 mg/ml. Für die Dopplerechokardiographie empfiehlt der Hersteller prinzipiell 10-16 ml der Konzentration 200 mg/ml. Bei Patienten mit sehr schwachen oder nicht erkennbaren Dopplersignalen, sowie zur Abklärung einer Mitralinsuffizienz 5-10 ml in einer Konzentration von 300 mg/ml, während für die Untersuchung der rechten Herzhöhle 4-10 ml der 200 mg/ml Konzentration empfohlen werden. In speziellen Fällen kann eine wiederholte Injektion oder eine Erhöhung der Dosis notwendig sein. Die humanmedizinischen Dosierungsempfehlungen werden also nicht auf die Körpermasse bezogen, sondern sind vornehmlich indikationsabhängig.

Die in dieser Studie verwandte Levovist[®] Dosierung von 0,2 ml/kg Körpermasse in einer Konzentration von 300 mg/ml beruht in erster Linie auf der Empfehlung der präklinischen Kontrastmittelforschungsabteilung der Firma Schering AG, Berlin (Dr. PETER HAUFF, Berlin, 2002), welche zahlreiche Untersuchungen an Beagle Hunden durchgeführt hat. Die Wahl der Dosis begründet sich weiterhin durch Ergebnisse veröffentlichter tierexperimenteller Studien an Hunden in welchen ähnliche Dosierungsbereiche zu einer deutlichen Signalverstärkung führen. So untersuchen ALBRECHT et al. (2000a) im Rahmen einer humanmedizinischen Studie unter anderem die stimulierte akustische Emission mit Levovist[®] in verschiedenen abdominalen Organen bei zwei Beagle Hunden mit 23 und 17 Kilogramm Körpermasse. Beide erhalten ein Gramm Levovist[®] in der Konzentration von 400 mg/ml. Bezogen auf die Körpermasse entspricht diese Menge einer Dosierung der besagten Konzentration von 0,1 ml/kg bei erstgenanntem Hund beziehungsweise 0,13 ml/kg Körpermasse bei dem leichteren Beagle. In einer anderen Untersuchung an sieben Hunden mit einer Körpermasse von annähernd 25 kg verabreichen GOLDBERG et al. (1993) 0,04 ml/kg bis 0,4 ml/kg Levovist[®] in einer Konzentration von 300 mg/ml als Bolus in die V. femoralis. Es kann mittels Dopplersonographie in großen und kleinen Gefäßen bei allen Dosierungen eine Verstärkung beobachtet werden. UCHIMOTO et al. (2000) bestimmen anhand eines Score Systems und einer videodensitometrischen Analyse eine deutliche Signalverstärkung im linken Ventrikel nach intravenöser Bolusapplikation von 0,1 ml/kg Levovist[®] in der Konzentration 300 mg/ml bei sechs Beaglen.

Geht man bei der vom Hersteller empfohlenen Dosierung von 5-10 ml Levovist[®] der Konzentration 300 mg/ml von einer Bezugnahme auf das menschliche Normgewicht von 60-70 kg aus (UNGEMACH 1994), erhält man bei einer linearen Dosisexploration in etwa eine Menge von 0,07-0,17 ml/kg Körpermasse. Diese liegt nahe bei der hier eingesetzten Dosis von 0,2 ml/kg Körpermasse. Die Berücksichtigung der Stoffwechselaktivität bei der Dosisumrechnung kann wegen der nahezu ausschließlich intravasalen Verteilung der Signalverstärker und der nicht vorhandenen pharmakologischen Wirkung im eigentlichen Sinne unterbleiben. Der Hersteller empfiehlt für die Anwendung von SonoVue[®] beim Menschen eine „normale“ Dosis von 2 oder 2,4 ml gebrauchsfertiger Suspension, weist aber darauf hin, dass die letztendlich zu verabreichende Menge von der zu untersuchenden Körperregion bestimmt wird und gegebenenfalls eine mehrfache Verabreichung der Dosis notwendig sein kann.

Auch bei SonoVue[®] beruht die hier gewählte Dosierung von 0,1 ml/kg Körpermasse im wesentlichen auf der Empfehlung des Herstellers (WINFRIED RANDHAN, Leipzig, 2002). Es liegen zum jetzigen Zeitpunkt keine klinischen und nur sehr wenige tierexperimentelle Veröffentlichungen vor, die Dosierungen für den Hund anführen. CORREAS et al. (2000) setzen bei einer Untersuchung von sechs Hunden periphervenöse SonoVue[®] Bolusapplikationen in einem Dosierungsbereich von 0,05-2 ml pro Tier ein und erhalten in der A. femoralis Verstärkungsspitzen von 20-35

Dezibel. Da in Bezug auf die Körpermasse leider keine Angaben für die einzelnen Hunde vorliegen, sondern ausschließlich der Durchschnittswert von 24,6 kg angeführt ist, lässt sich auf dieser Grundlage nur eine annähernde Dosierung von 0,002 ml/kg-0,08 ml/kg Körpermasse errechnen. SCHNEIDER et al. (1995) beschreiben eine dosisabhängige Steigerung der mittleren Pixelintensität bei SonoVue[®] Injektion von weniger als 0,03 ml/kg bei vier Minischweinen. Eine Steigerung der Dosis (0,05-0,2 ml/kg) resultiert nicht in einer weiteren Verstärkung, sondern in einer Verlängerung des Kontrasteffektes. Die Verhältnisse, bezogen auf die erzielbare Maximalverstärkung in den Herzhöhlen, sind allerdings aufgrund der intensiveren Anflutung nicht mit beispielsweise denjenigen der Aorta abdominalis vergleichbar (SCHWARZ et al. 1996b), was die Notwendigkeit der Dosisanpassung an die individuellen Untersuchungsgegebenheiten unterstreicht.

Ein aus rein pragmatischen Gesichtspunkten günstiger Nebeneffekt der gewählten Dosierungen besteht in der Möglichkeit, auch größere Hunde (bis circa 60 kg schwere Hunde bei 4 g Packung Levovist[®] beziehungsweise 50 kg Hunde bei SonoVue[®]) mit einem Packungsinhalt untersuchen zu können. Dieser Umstand hatte allerdings keinen Einfluss auf die Wahl der in dieser Studie eingesetzten Dosierungen.

Wie oben schon angeführt kann weder für den Menschen noch für das Tier eine universell einsetzbare optimale Dosierungsempfehlung ausgegeben werden. Die zu verabreichende Menge und Konzentration ist nicht nur abhängig von der zu untersuchenden Region und der jeweiligen eingesetzten Ultraschallmodi und Geräteeinstellungen, sondern auch von den individuellen, vom Patienten vorgegebenen Schallbedingungen.

5.1.2.2 Infusionsapplikation

Die Tiere der Gruppen kontinuierlicher Kontrastmittelapplikation erhielten in dieser Studie mit 0,2 ml/kg Levovist[®] und 0,1 ml/kg SonoVue[®] die gleichen Gesamtmengen wie die entsprechenden Bolusgruppen. Bei der gewählten Infusionsrate von 0,1 ml/min/kg für Levovist[®] und 0,05 ml/min/kg Körpermasse für SonoVue[®] ergibt sich für alle Untersuchungen der Infusionsgruppen eine Applikationsdauer von zwei Minuten. Dieses Vorgehen soll eine bestmögliche Vergleichbarkeit der Ergebnisse innerhalb einer Gruppe und zwischen den beiden Applikationsformen des jeweiligen Signalverstärkers gewährleisten. Die Dosis bewegt sich in Bezug auf die Infusionsrate etwa in dem Bereich der Angaben entsprechender Veröffentlichungen, wobei in anderen Studien meist eine längere Infusionsdauer gewählt wird.

Es existieren keine expliziten Herstellerangaben über den Einsatz des Kontrastmittels per Infusionsapplikation und entsprechend keine diesbezüglichen Dosierungsempfehlungen für Mensch oder Tier. GOLDBERG et al. (1993) setzen im Rahmen einer experimentellen Studie bei einigen ihrer

sieben untersuchten Hunden eine Infusionsrate von 0,04-0,4 ml/min/kg Körpermasse **Levovist**[®] in der Konzentration 300 mg/ml ein. Sie beschreiben bei den etwa 25 kg schweren Hunden unter Verwendung einer periphervenösen Infusionsrate von 0,2 ml/min/kg in der Aorta ein Verstärkungsplateau von circa 14 Dezibel.

In der bereits oben erwähnten Studie verabreichen CORREAS et al. (2000) sechs Hunden neben Bolusapplikationen auch periphervenöse **SonoVue**[®] Infusionen in einer Rate von 3-40 ml/h über sechs Minuten. Da keine körpermassebezogenen Raten und keine Daten bezüglich der Körpermasse der einzelnen Hunde, sondern ausschließlich der Durchschnittswert von 24,6 kg vorliegen, lässt sich auf dieser Grundlage nur eine annähernde Rate von 0,002-0,027 ml/min/kg appliziert über sechs Minuten errechnen. Sie stellen eine Maximalverstärkung von 22 Dezibel fest, die bei Raten über 30 ml/h ein stabiles Plateau bilden. Bei einer Untersuchung der Signalverstärkung des PW-Dopplers in der A. cerebralis caudalis von fünf Hunden wird von KAPS et al. (2001a) eine Infusionsapplikation in zwei verschiedenen Dosierungen eingesetzt. Errechnet man aus der angegebenen durchschnittlichen Körpermasse und den über einen Zeitraum von sieben Minuten applizierten Infusionsraten, die pro Minute und Kilogramm verabreichte Menge, erhält man einen ungefähren Wert von 0,03 ml und 0,06 ml. Während die höhere Rate ein stabiles Verstärkungsplateau von 24-26 Dezibel erzeugt, kommt es bei der Rate von 0,03 ml/min/kg zu deutlichen Schwankungen im Bereich von 8-9 Dezibel. Die An- und Abflutungscharakteristik hingegen ist unabhängig von der Infusionsrate.

5.1.3 Anästhesie

Die bei allen Tieren mittels Diazepam und l-Methadon Standarddosierungen (SCHMIDT-OECHTERING u. ALEF 1995) eingeleitete Narkose wurde unter maschinell kontrollierter Beatmung mit Isofluran und Raumluft als Trägergas aufrechterhalten (ILKIW u. PASCOE 1995; SCHMIDT-OECHTERING 1995). Hierdurch wird eine sehr gute Steuerbarkeit der Anästhesielänge und -tiefe gewährleistet. Dieses Narkoseschema zeichnet sich durch ein breites Indikationsspektrum aus, das sowohl schmerzhaftes Eingriffe als auch Risikopatienten einschließt (SCHMIDT-OECHTERING u. ALEF 1995). Aufgrund dieser Charakteristik scheint das gewählte Anästhesieregime für eventuelle zukünftige indikationsbezogene Applikationen von Signalverstärkern bei einem Großteil der Patienten auch direkt im Vorfeld chirurgischer Eingriffe geeignet zu sein und begründet nicht zuletzt seinen Einsatz in dieser Studie. Da sich die Zufuhr von reinem Sauerstoff bei Anwendung von **Levovist**[®] aufgrund seiner schädigenden Wirkung auf die signalverstärkenden lufthaltigen Mikrobläschen verbietet, diente als Trägergas Raumluft (KASHIWAGI et al. 2001). Der bei Inhalation von reinem Sauerstoff erhöhte Partialdruck im Blut bedingt sehr wahrscheinlich seine Diffusion in die Luftbläschen. Hieraus resultiert einerseits eine Größenzunahme der Mikrobläschen und damit der Verlust ihrer akustischen Eigenschaften, während zum anderen ein gewis-

ser Anteil direkt zerplatzen wird. Die durchgeführte Pulsoxymetrie zeigte bei allen Hunden ähnliche Werte. Eine Bestimmung des Sauerstoffpartialdruckes und somit Klärung einer möglichen Abhängigkeit der Verstärkungsparameter in den Levovistgruppen blieb jedoch aus. Um möglichst konstante Untersuchungsbedingungen zu wahren, erhielten die mit SonoVue[®] untersuchten Tiere, obwohl bei den Schwefelhexafluoridbläschen keine negativen Effekte durch die Zufuhr von reinem Sauerstoff zu erwarten sind, ebenfalls Luft als Trägergas. Der untersuchungstechnische Grund für das Durchführen einer kontrollierten Beatmung ist in der besseren Berechenbarkeit der gleichmäßigen Atembewegungen und folglich geringeren Anfälligkeit für Bewegungsartefakte bei der Sonographie zu sehen.

5.1.4 Applikation der Signalverstärker

Alle Tiere dieser Studie erhielten die Signalverstärker über einen in der rechten V. cephalica antebrachii gelegten G20 Venenkatheter. Der Hersteller empfiehlt für Levovist[®] eine flexible Venenverweilkanüle ausreichend großen Kalibers (mindestens 19-20 G) zu verwenden. Der Zugang sollte nicht kleiner gewählt werden, da sonst bei der Injektion Druckverhältnisse entstehen können, die möglicherweise zu einer Abnahme der Mikrobläschenkonzentration führen. So beschreiben KRATZER et al. (2000) bei Injektion von Levovist[®] in das Ventil einer Venenverweilkanüle gegenüber Applikationen über den Hauptkanal bei sonst konstanten Bedingungen eine statistisch signifikant geringere Verstärkungsdauer. Sie erklären diese Beobachtung durch das Entstehen zu hoher Drücke bei Applikationen über das Venenkatheterventil. Obwohl für SonoVue[®] keine diesbezüglichen Gebrauchsinformationen existieren, wurden diese Vorsichtsmaßnahmen innerhalb der Studie berücksichtigt. Weiterhin muss, um eine Reduzierung der Mikrobläschenkonzentration und die Bildung größerer Luftblasen mit konsekutivem Verlust ihrer akustischen Eigenschaften zu verhindern, die injektionsfertige Suspension vorsichtig in die Spritze aufgezogen werden. Da eine hundertprozentige Standardisierung dieses Vorganges nicht möglich ist, muss sein Einfluss auf die Untersuchungsergebnisse kritisch diskutiert werden. Mit dem Beschränken auf ein und dieselbe Person beim Zubereiten, Aufziehen und Applizieren der Signalverstärker hat man versucht möglichst konstante Bedingungen zu schaffen. Zusätzlich sollte bei Bolusapplikationen auch ein zu schnelles Injizieren mit dem Versuch, für diese Vorgänge eine Zeitdauer von ein bis zwei Sekunden pro Milliliter Suspension einzuhalten, verhindert werden.

Die kontinuierliche Verabreichung der Signalverstärker erfolgte wie bei anderen Studien (HOSTEN et al. 1998; KRATZER et al. 2000) mittels eines handelsüblichen Perfusors[®]. Bei der Infusionsapplikation muss der Einsatz der Perfusorspritzen[®] anstelle der den Packungen beigelegten Originalspritzen kritisch diskutiert werden. Diese müssen aus Eichgründen des Gerätes eingesetzt werden, um dem Patienten eine den Einstellungen tatsächlich entsprechende Menge Flüssigkeit pro Zeit-

einheit zuführen zu können. Prinzipiell ist die Stabilität der Mikrobläschen innerhalb einer Perfusorspritze[®] oder einer Leitung beziehungsweise dem Kontakt zu Luft und Druck innerhalb der Röhren ab. Jedoch beschreiben zahlreiche Studien klinisch nutzbare Verstärkungen unter Einsatz verschiedener mit denen bei Bolusapplikationen vergleichbaren Dosierungen und Raten (GOLDBERG et al. 1993; ALBRECHT et al. 1998; CORREAS et al. 2000; ALBRECHT et al. 2000b). Eine größere Bedeutung der Verwendung von Perfusorspritzen[®] könnte bei SonoVue[®] vermutet werden, da es mit einer Glasspritze ausgeliefert wird. Gründe für die Materialwahl der Spritze beruhen aber laut Hersteller nicht auf Inkompatibilitäten der Substanz mit Plastikmaterialien, sondern sind vermarktungspolitischer Natur (WINFRIED RANDAHN, Leipzig, 2002). Ein weiterer Punkt, der bei Infusionsapplikationen kritisch beurteilt werden muss, ist die in den Zuführungsschläuchen auftretende Sedimentation beziehungsweise Flotation von Kontrastmittelbestandteilen mit folgender Beeinträchtigung ihrer akustischen Eigenschaften. Um die Effekte dieses Vorganges so weit wie möglich zu reduzieren, diene als Verbindungsstück zwischen Spritze und Patientenzugang eine mit 30 cm Länge verhältnismäßig kurze Verbindungsleitung. Diese Länge kann von dem Standpunkt der Praktikabilität und Handhabung als gerade noch ausreichend beurteilt werden. Bei Verwendung eines längeren Zuführungsschlauches besteht die Gefahr, dass durch sein größeres Volumen nicht mehr genügend Kontrastmittel den Patienten erreicht. Da bei diesen Bedingungen eine weitere Packung des Signalverstärkers zu verwenden wäre, sollte auch aus wirtschaftlichen Gesichtspunkten ein möglichst kurzes Verbindungsstück zwischen Patient und Infusionspumpe gewählt werden. Eine Sedimentation beziehungsweise Flotation der Suspensionsbestandteile wird zudem durch eine niedrige Infusionsrate oder große Gesamtmenge des zu verabreichenden Signalverstärkers gefördert. Zum jetzigen Zeitpunkt liegen allerdings keine Veröffentlichungen vor, die sich mit dieser Fragestellung beschäftigen oder entsprechende Grenzwerte ermittelt hätten. Berücksichtigung bei der Zeitdauer der Infusionsapplikation muss auch die mit acht Minuten angegebene Haltbarkeit der injektionsfertigen Levovistsuspension finden, während die sechsstündige Stabilität von SonoVue[®] dem Untersucher ein deutlich größeres Zeitfenster liefert. Da bei dieser Studie die Infusionszeit zwei Minuten betrug und die Suspensionen direkt vor der Untersuchung hergestellt worden ist, spielt die Haltbarkeit hier sehr wahrscheinlich keine Rolle.

Vor Applikation der Signalverstärker sind zur Sicherstellung der Venenkatheterdurchgängigkeit zwei Milliliter isotone Kochsalzlösung appliziert worden. Da es sich bei Levovist[®] um eine hyperosmolare Suspension handelt, die theoretisch Phlebitiden hervorrufen kann, und um eventuelle in der Venenverweilkanüle zurückgebliebene Kontrastmittelreste dem Blutstrom zuzuführen, sind auch nach jeder Applikation zwei Milliliter isotone Kochsalzlösung injiziert worden.

5.1.5 Kontrastverstärkte Sonographie

Alle Tiere wurden zur Untersuchung auf eine mit Polystyrolkugeln gefüllte Matte in Rückenlage verbracht, welche in der veterinärmedizinischen Abdominalsonographie von Kleintieren als Standardposition gesehen werden kann. Das Aufsuchen der Aorta abdominalis bereitete keine Schwierigkeiten, und durch Positionierung des Schallkopfes kranial der Abzweigungen der Aa. iliacaе externaе kann bei den Hunden von nahezu konstanten Untersuchungspunkten ausgegangen werden.

Die Einstellungen des Ultraschallgerätes sind so weit wie möglich konstant gehalten worden, mussten aber teilweise den individuellen anatomischen und hämodynamischen Gegebenheiten des jeweiligen untersuchten Hundes angepasst werden. Die akustische Sendeleistung des Gerätes lag stets bei 25 %, die Sendefrequenz des Schallkopfes im Spektraldoppler Modus konstant bei 6,2 MHz, die B-Bild Frequenz bei 8 MHz, und es gab immer nur eine knapp unterhalb (dorsal) des Untersuchungsgebietes positionierte Fokuszone. Die Messvolumengröße (3-9 mm) des Dopplers musste dem jeweiligen Aortendiameter angepasst werden und wurde um Gefäßwandartefakte zu vermeiden etwas kleiner als der Gefäßdurchmesser gewählt (HUCK u. HUCK 2001). Die Einstellungen der Dopplerempfangsverstärkung, Hochpassfilter und Geschwindigkeitsskala beziehungsweise PRF erfolgten mit dem Ziel, möglichst wenig Hintergrundrauschen zu erhalten und ein gerade noch erkennbares Gefäßsignal im Spektrum darzustellen. Das unverstärkte Gefäßsignal wurde mit der höchsten Geschwindigkeit auf circa 2/3 Höhe der maximal angezeigten positiven Geschwindigkeitsskala abgebildet, um genügend Reserven für die nach Signalverstärkung detektierbaren höheren Flussgeschwindigkeiten ohne das Auftreten von Aliasing zu schaffen. Die Applikation des Signalverstärkers bedingt durch die Erhöhung der detektierten Anzahl streuender Partikel einer bestimmten Geschwindigkeit eine zunehmend hellere Darstellung des Spektrums. Um eine Sättigung dieser Helligkeitsdarstellung nach Signalverstärkung zu verhindern, ist die Geräteeinstellung in Hinblick auf eine möglichst schwache Abbildung des nativen Spektrums vorgenommen worden. Die Winkelkorrektur ist ebenfalls nicht in Zusammenhang mit der Intensitätsmessung des Audiosignals zu sehen, da dieses unabhängig vom Dopplerwinkel ist (SCHWARZ et al. 1995). Diese Aussage trifft aber sicherlich nicht uneingeschränkt für den gesamten möglichen Bereich des Ankopplungswinkels zu, da zumindest theoretisch bei einem Dopplerwinkel von 90° keine Frequenzverschiebungen der sich bewegenden Partikel erfassbar sind (HUCK u. HUCK 2001). Auch wenn die besagten Einstellungsparameter nur einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Untersuchungsergebnisse zu haben scheinen, wären konstante Bedingungen für eine noch bessere Vergleichbarkeit der untersuchten Parameter vorzuziehen. Da aber in der Studie ebenfalls Wert auf eine akkurate, diagnostisch nutzbare Darstellung des klinisch relevanten Dopplerspektrums gelegt worden ist, war die individuelle Anpassung der Geräteeinstellung unumgänglich. Der mechanische Index, der das Ausmaß der Einflussnahme von Schallwellen auf Mikrobläschen am besten beschreibt und durch die gewählten Einstellungen direkt oder indirekt beeinflusst wird, lag jedoch während allen Untersuchungen konstant bei einem Wert von 0,3.

Das zur Beschreibung der Kontrastmitteleffekte gewonnene Audiosignal ist stets in einem kaudalen Abschnitt der Aorta abdominalis abgeleitet worden. Ein Grund für die Wahl dieses Untersuchungsgebietes lag in der guten sonographischen Einsicht dieses Gefäßteils mit einer nur geringen Gefahr von im Schallweg liegender artefaktverursachender Strukturen wie beispielsweise luftgefüllte Darmschlingen. Im kaudalen Abdomen spielen durch die Atmung bedingte Bewegungsartefakte eine weitaus geringere Rolle als bei der Sonographie weiter kranial gelegener Strukturen. Da die maximal erzielbare Verstärkung auch durch das Kaliber des Kontrastmittelbeinhaltenden Lumens mitbestimmt wird (SCHWARZ et al. 1996b), kann die Signalauswertung in der Aorta abdominalis diesbezüglich extreme Bedingungen wie in den Herzhöhlen oder kleinen Gliedmaßenarterien vermeiden. Nach der ersten Kreislaufpassage der Mikrobläschen verhält sich laut SCHWARZ et al. (1996b) die messbare Signalverstärkung und Kontrastdauer jedoch in den Arterien des gesamten Organismus gleich. Bei der Signalableitung aus einer Gliedmaßenarterie, die mit noch weniger Bewegungsartefakten verbunden wäre, müsste aufgrund des geringen Gefäßdurchmessers gerade bei den kleineren Hunden mit Problemen der adäquaten Positionierung des Dopplermessfensters gerechnet werden.

Der Schallkopf ist während der gesamten Untersuchungszeit manuell in Position gehalten worden. Trotz der kontrollierten Beatmung und folglich gleichmäßigen Atembewegungen der Hunde konnte ein mitunter kurzfristiges Verlassen der optimalen Untersuchungsebene nicht vermieden werden. Da die Korrektur des verschobenen Messvolumens umgehend erfolgte, ist eine nachhaltige Beeinflussung der Messergebnisse nicht zu erwarten.

Die Speicherung der Untersuchungen wurde etwa zwei Minuten vor der Kontrastmittelapplikation gestartet und bis subjektiv das Ausgangsniveau erreicht war, mindestens jedoch bis zehn Minuten nach Injektion, aufrechterhalten worden. Die Festlegung des Untersuchungsendes mittels eines subjektiven Eindrucks wird so auch in andern Studien gehandhabt (KRATZER et al. 2000). Da dieser Zeitpunkt immer noch weniger als zehn Minuten eingetreten war, bestand mit der praktizierten Messungszeit ein zusätzlicher Sicherheitsfaktor. Die Vorgehensweise rechtfertigt sich auch retrospektiv nach Auswertung der Daten mit der längsten nachgewiesenen Verstärkungsdauer von 463,3 Sekunden.

Aufgrund der Kenntnis einer möglichen Einflussnahme des Blutdrucks auf die Untersuchungsergebnisse (*siehe Kapitel 2.3.2.3*), muss die ausgebliebene Messung während der signalverstärkten Sonographie kritisch gesehen werden (VUILLE et al. 1994; SCHNEIDER et al. 1995). Da präzise Blutdruckwerte beim Hund jedoch nur durch eine intraarterielle Messung gewonnen werden können, musste aufgrund der Invasivität des Vorganges in dieser Studie auf die Blutdruckmessung verzichtet werden.

5.1.6 Datenspeicherung und Datenauswertung

Die in dieser Studie durchgeführte Speicherung der kontrastmittelverstärkten Ultraschalluntersuchungen in Bild und Ton auf S-VHS Videobändern zur späteren Auswertung hat sich in zahlreichen Untersuchungen bewährt (SMITH et al. 1989; SCHWARZ et al. 1995; BLOMLEY et al. 1999b; KRATZER et al. 2000; WEI et al. 2001). Die direkte Aufnahme des Audiosignals auf einem Computer stellt theoretisch einen unmittelbaren Weg dar, das digital ausgegebene Audiosignal auch digital zu speichern und vermeidet mögliche Qualitätsverluste durch die Umwandlung in ein analoges Signal. Die in dieser Studie eingesetzte Auswertungseinheit ist jedoch nur auf die Verarbeitung von analogen Signalen ausgelegt, weshalb der Weg über eine S-VHS Videoaufzeichnung vorgegeben ist.

Problematisch gesehen werden muss die Tatsache, dass Ultraschallgeräte vor der Abbildung und Ausgabe von Bildern diese mit nicht linearen Verfahren aufbereiten. Dies beinhaltet im Wesentlichen eine logarithmische Kompression und tiefenabhängige Verstärkungsanpassung des „Rohmaterials“ zur Erhaltung visuell akzeptabler Bilder (SCHWARZ et al. 1993). Hierdurch wird eine Quantifizierung der Signalverstärker durch Analyse des Bildmaterials und eine Vergleichbarkeit von Untersuchungen mit unterschiedlichen Geräten zusätzlich erschwert. Umgangen werden kann dieses Problem durch Nutzung der unveränderten Radiofrequenz-Daten des Ultraschallsystems. Das war zum Zeitpunkt dieser Studie nur unter Einsatz einer Reihe von komplexen Geräten und Messinstrumenten, die nur wenigen Forschungslabors zur Verfügung stehen, möglich (SCHWARZ et al. 1995). Alternativ lässt sich bei Messung der Signalverstärkung dieses Problem zum Teil auch durch Nutzung des Audiosignals, welches von Geräteseite nur minimal bearbeitet wird, umgehen (SCHWARZ et al. 1993). Weitere Nachteile der bildlichen Auswertung von Signalintensitäten gegenüber der Audiosignalnutzung sind der sehr limitierte dynamische Bereich, die schlechte zeitliche Auflösung und die Notwendigkeit bestimmte repräsentative Bildregionen für die Auswertung auszuwählen. SCHWARZ et al. (1993) haben in einer Studie an einem Phantommodell die Möglichkeit der Messung quantitativer Levovist[®] Kontrastkonzentrationen mittels Dopplersonographie beschrieben. Bei den 62 Messungen korrelierte die Lautstärke des Audiodopplersignals stark ($r=0,958$) mit der relativen Konzentration des Echoktrastes bei einem Signifikanzniveau von $P=0,0001$. Mit dieser Untersuchungstechnik ist auch der Nachweis einer Dosis-Effekt Beziehung von Levovist[®] (ALBRECHT et al. 1997) und SonoVue[®] (BLOMLEY et al. 1997) gelungen.

Die Datenauswertung und Berechnung der Indizes ist mit einer für diesen Zweck konzipierten Analyseeinheit der Firma Schering AG, Berlin durchgeführt worden. Das System wurde im Rahmen der präklinischen Kontrastmittelforschung firmenintern validiert. Da bei der Datenanalyse rein akustische Phänomene im Sinne von Lautstärkeveränderungen in Abhängigkeit der Zeit berücksichtigt werden, ist eine darüber hinausreichende Beeinflussung der Ergebnisse durch kontrastmit-

telspezifische Eigenschaften nicht möglich. Somit kann die Auswertung auch der mittels SonoVue[®] verstärkten Untersuchungen mithilfe dieses Systems gerechtfertigt werden.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Signalverstärkung und Kontrastdauer

5.2.1.1 *Levovist[®] Bolus- und Infusionsapplikation*

Vergleicht man die nach Bolusapplikation von Levovist[®] im Mittel erreichte Kontrastdauer (über der Nulllinie) von etwa viereinhalb Minuten mit den Ergebnissen einer tierexperimentellen Studie an sieben Hunden von GOLDBERG et al. (1993), so fällt die dort erzielte Verstärkungsdauer von drei Minuten und mehr ähnlich aus. Sie verabreichen Boli von 0,01 bis 0,4 ml/kg der Konzentration 300 mg/ml in eine Vena femoralis oder Vena jugularis und bestimmen unter anderem die Dopplersignalverstärkungen in mehreren großen und kleinen Gefäßen. Die fehlende Dokumentation der Ergebnisse in Abhängigkeit der jeweiligen genauen Dosierung und des untersuchten Gefäßes schränken die direkte Vergleichbarkeit jedoch ein. Die gleiche Studie untersucht auch die Effekte einer über bis zu fünf Minuten aufrechterhaltenen Infusionsapplikation des gleichen Kontrastmittels in einer Rate von 0,04 bis 0,4 ml/min/kg bei den Hunden in besagten Untersuchungsgebieten. Sie erzielen bei einer Infusionsrate von 0,2 ml/min/kg Körpermasse in der Aorta ein mindestens fünf Minuten andauerndes Verstärkungsplateau von etwa 14 Dezibel. Die in der hier vorgelegten Studie niedrigeren Werte bezüglich Verstärkungen über 12 Dezibel von im Mittel circa 2,2 Minuten Dauer, können vornehmlich auf die geringere Rate von 0,1 ml/min/kg und die kürzere Applikationsdauer von zwei Minuten zurückzuführen sein. Obwohl in der Veröffentlichung von GOLDBERG et al. (1993) auch aufgrund der abweichenden Untersuchungsziele insbesondere Angaben über die genaue Geräteeinstellung fehlen und Methodikunterschiede vorliegen, handelt es sich doch um die Studie mit der besten Vergleichbarkeit zu der hier vorgelegten Arbeit.

Eine weitere Publikation dokumentiert eine Levovist[®] Bolusapplikation von 0,1 ml/kg der Konzentration 300 mg/ml an sechs Beaglen (UCHIMOTO et al. 2000). Ziel der Untersuchung ist die Beurteilung der Effektivität des Kontrastmittels über eine Bestimmung der linksventrikulären Kontrastverstärkung und -dauer, welche neben einem subjektiven Score Systems durch drei Personen mittels Videodensitometrie der Helligkeitswerte im Kammerlumen beurteilt wird. Alle Untersucher kategorisieren das Bildmaterial durchschnittlich als komplette Kontrastverstärkung des linken Ventrikels mit einer klaren Abzeichnung der Endokardgrenze (Score 3) bis zu einer zu intensiven Kontrastverstärkung mit Verdeckung von Herzstrukturen durch Schallschattenartefakte (Score 4). Die Dauer der Verstärkung des Score 2 (komplette Kontrastverstärkung des linken Ventrikels ohne eindeutige Abgrenzung des Endokards) bis Score 3 (s.o.) lag zwischen 86,3 und 97,7 Sekunden. Diese Verfahren werden zwar als aussagekräftig angesehen (BLOMLEY et al. 1999b), erlauben

aber keinen direkten Vergleich mit den Ergebnissen der Audiosignalanalyse. Für das Auftreten von Schallschattenartefakten, welche in der hier vorgelegten Studie trotz der zweifachen Dosis nur bei einem Hund zu beobachten war, scheint als Erklärung in erster Linie eine höhere Anflutungskonzentration der Mikrobläschen und das im Vergleich zur Aorta abdominalis größere Lumen der Herzhöhle plausibel. Acht 20-34 kg schwere (Mittelwert 24,9 kg) Mischlingshunde bekommen von SMITH et al. (1989) periphervenöse Boli von 2 ml Levovist® in der Konzentration 400 mg/ml injiziert mit dem Zweck, die Kontrastierungsfähigkeit der Herzhöhlen im Vergleich zu isotoner Kochsalzlösung, Indocyanin-Grün und SHU-454 zu ermitteln. Die Verstärkung ist mittels Videodensitometrie und ergänzender subjektiver Untersuchereinschätzung beurteilt worden, wodurch wiederum ein direkter Vergleich mit den Audioanalyseergebnissen bezüglich der Verstärkungsintensität nicht möglich ist. Die Kontrastdauer in der rechten Herzkammer ist im Mittel mit 22 Sekunden angegeben. Die im B-Modus durchgeführten Untersuchungen in den beiden letztgenannten Studien ähneln sich in Bezug auf die eingesetzte Dosis, das Untersuchungsgebiet und der Auswertungsmodalitäten. Die deutlichen Unterschiede der Kontrastdauer sind wahrscheinlich durch die unterschiedlichen Ultraschallgeräte und vor allem ihren Einstellungen begründet, die aber nur unvollständig erläutert werden. Die fehlenden Standards und vielfältigen Einflussfaktoren machen, wie an diesem Beispiel verdeutlicht, einen Vergleich von Kontrastmittelstudien sehr problematisch. Die in der vorgelegten Arbeit beschriebene, tendenziell längere Verstärkungsdauer kann mit dem hier eingesetzten, gegenüber dem B-Modus deutlich sensitiveren, PW-Doppler erklärt werden.

Die Veröffentlichungen über den diagnostischen Einsatz von Levovist® beim Menschen unterscheiden sich zum großen Teil in Bezug auf die verabreichte Gesamtmenge und Rate, das Untersuchungsgebiet und den Ultraschallmodus sowie die Geräteeinstellung und die Untersuchungsparameter erheblich voneinander. Ein direkter Vergleich dieser Studien untereinander, sowie mit den tierexperimentellen Untersuchungen erscheint daher nicht sinnvoll. Humanmedizinische Studienergebnisse beschreiben in der Regel eine maximale Verstärkung von etwa 20-25 Dezibel bei Bolusapplikation und etwa 15 Dezibel bei Infusionsapplikation (RIES et al. 1993; FÜRST et al. 1995; SCHLIEF 1996; BAUER et al. 1997; ALBRECHT et al. 1998). Die Dauer der deutlichen Signalverstärkung konnte in einer Studie pro Gramm Levovist® von 57 Sekunden nach Bolusapplikation (1 ml/sek) auf 68 Sekunden (3 ml/min) beziehungsweise 216 Sekunden (1 ml/min) nach Infusionsapplikation bei der Duplexsonographie von Nierenarterien gesteigert werden (ALBRECHT et al. 2000b). In der hier vorgelegten Studie sind mit durchschnittlich 1,4 g verabreichtem Levovist® eine mittlere Verstärkungsdauer über sechs Dezibel von 166 Sekunden bei Bolusapplikation und von 240 Sekunden nach Infusion, bei einer durchschnittlichen Rate von 2,3 ml/min erreicht worden. Das entspricht einer Signalverstärkung pro Gramm Levovist® von durchschnittlich 118 Sekunden bei Bolusapplikation und 171 Sekunden bei kontinuierlicher Verabreichung und bewegt sich in etwa in dem Bereich der oben genannten Ergebnisse von ALBRECHT et al. (2000b).

5.2.1.2 *SonoVue® Bolus- und Infusionsapplikation*

CORREAS et al. (2000) erreichten in der A. femoralis von sechs Hunden nach SonoVue® Bolusapplikation Verstärkungsspitzen von 20-35 Dezibel. Aus der nur angegebenen durchschnittlichen Körpermasse und dem angeführten Dosierungsbereich kann man eine annähernde Dosierung von 0,002 ml/kg-0,08 ml/kg Körpermasse errechnen. Die in der vorgelegten Arbeit gemessene im Mittel niedrigere Verstärkung von 19,68 Dezibel (17,6 bis 25,1 Dezibel) bei einer mit 0,1 ml/kg höheren Dosierung, ist aufgrund der sonst relativ ähnlichen Voraussetzungen sehr wahrscheinlich durch eine abweichende Einstellung des Ultraschallgerätes bedingt. So werden bei den Erläuterungen der Geräteeinstellungen keine Angaben über den Mechanischen Index gemacht, der vor allem die Signalstärke aber auch die Kontrastdauer beeinflusst und bei SonoVue® bis 0,1 gesenkt werden kann (SCHNEIDER 2000). Entsprechend lässt sich die in der gleichen Studie beschriebene maximale Verstärkung von 22 Dezibel bei Infusionsapplikationen mit einer annähernden Dosierung von 0,002-0,027 ml/min/kg gegenüber den mit einer Dosis von 0,05 ml/min/kg maximal erreichten 19,72 Dezibel (Mittelwert 18,53) erklären. Die Dokumentation der Kontrastdauer kann aufgrund der ungenauen Angabe bei Bolusapplikation nicht verglichen werden und fehlt bei Infusionsapplikation gänzlich. Auch die von KAPS et al. (2001a) erzielte höhere Verstärkung von 26 Dezibel bei einer Rate von etwa 0,06 ml/min/kg ist wahrscheinlich auf den Einfluss des Ultraschallgerätes und seiner Einstellung zurückzuführen. So wird beispielsweise in ihrer Studie ein Messvolumen von stets 20 Millimeter beschrieben, welches deutlich über dem Bereich der hier vorgelegten Arbeit von drei bis neun Millimetern liegt und zu höheren Verstärkungsspitzen führen kann (SEIDEL et al. 1999). Eine direkte Vergleichbarkeit der Kontrastdauer ist wegen der fünf Minuten längeren Applikationszeit nicht möglich.

Für die Veröffentlichungen über den diagnostischen Einsatz von SonoVue® beim Menschen ist analog zu Levovist® Studien festzustellen, dass sie sich in Bezug auf die verabreichte Gesamtmenge und Rate, das Untersuchungsgebiet und den Ultraschallmodus sowie die Geräteeinstellung und Untersuchungsparameter erheblich von dem hier durchgeführten Untersuchungsaufbau unterscheiden. Humanmedizinische Studien zeigen im allgemeinen maximale Verstärkungen von etwa 25 - 30 Dezibel mit Kontrastzeiten von etwa zwei bis sechs Minuten bei Bolusapplikationen (KAPS et al. 1999; KAPS et al. 2001a; SCHWEIKERT et al. 2002).

5.2.2 **Kinetik der Zeit-Intensitätskurven**

Der zeitliche Verlauf der Signalverstärkung folgt dem Ultraschall angepassten Prinzip der traditionellen Indikator-Verdünnung Theorie (SCHWARZ et al. 1996b). Die Zeit-Intensitätskurven des Doppler-Audiosignals geben Informationen über die intravaskuläre Kontrastkonzentration und lassen zwei Phasen erkennen. Die erste Phase mit dem schnellen Anstieg und relativ steilen Abfall

der Signalverstärkung nach Bolusapplikation korrespondiert mit der ersten Passage (first-pass Effekt) der Mikrobläschen durch das arterielle Blutsystem. Sie ist neben der Dosierung abhängig von dem Schlagvolumen des Herzens. Die Kinetik der zweiten Phase, die wesentlich die Dauer der Signalverstärkung bestimmt, repräsentiert die Rezirkulation der Mikrobläschen und verhält sich im gesamten Organismus gleich. Diese, im Vergleich zur ersten deutlich länger andauernde Phase, ist neben der Dosierung von der Elimination des Kontrastmittels aus dem Blut abhängig (SCHWARZ et al. 1996b; ROVAI et al. 1998; SEIDEL et al. 1999)

Bei der Infusionsapplikation gehen die beiden bei Bolusverabreichung beschriebenen Phasen ineinander über. Durch die langsamere Anflutung entstehen nicht die hohen Mikrobläschenkonzentrationen der Bolusapplikation und die Verteilung der streuenden Partikel spielt von Anfang an eine größere Rolle. Der Anstieg der Verstärkungskurve gestaltet sich langsamer und resultiert in dieser Studie nach Levovist[®] Injektion in einem geringeren Maximalwert, während nach Sonovueinjektionen dieser Unterschied statistisch nicht signifikant ist. Durch das kontinuierliche Nachliefern des Kontrastmittels stellt sich bei Überschreiten einer gewissen Menge von zugeführten Mikrobläschen ein Gleichgewicht zwischen Zufuhr und Abbau der Mikrobläschen ein, welches sich in einem Verstärkungsplateau widerspiegelt. Wird die Infusionsapplikation abgebrochen, überwiegt die Elimination des Kontrastmittels, welche mit einem zunehmendem Abfall der Zeit-Intensitätskurve verbunden ist (ALBRECHT et al. 1998).

Bei beiden Injektionsformen ist in Hinblick auf die Kontrastkinetik zu berücksichtigen, dass trotz der Zugehörigkeit zu der Gruppe der so genannten „blood-pool“ Kontrastmittel mit rein intravasaler Verteilung beide Signalverstärker eine extravasale Spätphase charakterisiert. Diese für die Organe Leber und Milz spezifische Phase ist verbunden mit einer Anreicherung der Mikrobläschen in den besagten Organen, die beim Menschen etwa zwei Minuten nach der intravenösen Applikation beginnt. Die meisten Autoren sehen dieses Phänomen in der Aufnahme von Mikrobläschen durch das Retikuloendotheliale System begründet (KAMIYAMA et al. 1996; BLOMLEY et al. 1998a; BLOMLEY et al. 1999a; HOHMANN et al. 2003)

5.2.3 Varianz innerhalb der Untersuchungsgruppen

Die akustischen Eigenschaften und somit die Effizienz der Mikrobläschen von Ultraschallkontrastmitteln unterliegen vielfältigen Einflussfaktoren. Wesentliche, die Signalverstärkung und oder Kontrastdauer bestimmende Größen sind neben den spezifischen Produkteigenschaften und Dosierungen, der Untersucher beziehungsweise seine Zubereitung der injektionsfertigen Substanzen und die Applikationsart des Signalverstärkers, das Ultraschallgerät, seine Einstellung sowie die Dauer der Schalleinwirkung, der Patient beziehungsweise seine Vitalparameter, das Untersuchungsgebiet und eine eventuelle Narkose, insbesondere die Zufuhr von Trägergasen bei Levovist[®].

Für eine Varianz der Ergebnisse muss trotz präziser Einhaltung der Herstellungsanweisungen für die injektionsfertige Suspension ein Einfluss dieses Vorgangs diskutiert werden. Um hier möglichst konstante Bedingungen zu schaffen, erfolgte die Zubereitung zwar immer durch dieselbe Person, trotzdem kann das per Hand Aufschütteln des Reagenzes unmöglich exakt in gleicher Weise bei allen Zubereitungen eingehalten werden. Auch ist eine Varianz der gemessenen Parameter durch das Aufziehen der Suspensionen per Hand und bei Bolusapplikation die manuelle Zufuhr des Kontrastmittels, welche über entstehende Druckschwankungen die akustischen Eigenschaften der Mikrobubbles beeinflussen können, zu erwägen. Bei Infusionsapplikationen ist zwar innerhalb der Gruppe dieselbe körpermassbezogene Rate verabreicht worden, jedoch unterscheiden sich das jeweilige Gesamtvolumen und die pro Zeiteinheit verabreichten Mengen. Das kann zu einem unterschiedlichen Ausmaß der Sedimentation beziehungsweise Flotation der Kontrastmittelbestandteile innerhalb des Applikationssystems und der zuführenden Schläuche führen und ebenfalls zu einer Variation der Ergebnisse beitragen. SCHWARZ et al. (1993) beschreiben sogar eine große Variation der Streueigenschaften bei der Signalintensitätsmessung von frisch zubereitetem Levovist® verschiedener Packungen bei sonst konstanten Bedingungen in einem in vitro Flussmodell.

Auch ist eine Varianz der Untersuchungsergebnisse aufgrund der zwischen den einzelnen Hunden variierenden Kenngrößen wie **Sauerstoffpartialdruck des Blutes, Herzfrequenz und Blutdruck** zu diskutieren.

Da die signalverstärkende Wirkung von Levovist® durch den Sauerstoffpartialdruck im Blut beeinflusst wird, können Schwankungen dieses nicht dokumentierten Wertes zu einer Varianz der Untersuchungsergebnisse beitragen (KASHIWAGI et al. 2001). Das Ausmaß eines möglichen Einflusses bei den Untersuchungsbedingungen der hier vorgelegten Studie kann aber auch aufgrund des nicht aufgezeichneten zeitlichen Verlaufs des Sauerstoffpartialdruckes nicht bestimmt werden.

Von einer Auswirkung der unterschiedlichen Herzfrequenz auf die bestimmten Parameter der Levovistgruppen ist aufgrund der Untersuchungsergebnisse von UCHIMOTO et al. (2000), die nach Levovist® Applikation keine Korrelation zwischen der Signalverstärkung beziehungsweise der Kontrastdauer und der Herzfrequenz beschreiben, nicht auszugehen. Diesbezügliche Untersuchungen unter Verwendung von SonoVue® liegen nicht vor.

Den Effekt verschiedener statischer Drücke zwischen 0 und 200 mmHg auf die Kontrastkinetik von Levovist® untersuchen VUILLE et al. (1994) mittels eines in vitro Modells. Sie weisen dabei ein mit steigendem Druck zunehmend schnelleres Nachlassen der Kontrastintensität nach, wofür ihnen eine beschleunigte Diffusion des Gases aus den Mikrobubbles heraus als plausibelste Erklärung erscheint. Für SonoVue® beschreiben SCHNEIDER et al. (1995) in vitro die gleiche Abhängigkeit der mit zunehmendem Druck sinkenden Kontrastintensität, wobei hier ein kritischer Druck (definiert als der Druck bei dem die Kontrastintensität um 50 % gefallen ist) von 127 mmHg ermit-

telt wird. Die *in vitro* durchgeführten Studien sind nicht direkt auf *in vivo* Verhältnisse übertragbar, weil die Mikrobläschen bei klinischer Anwendung nicht ständig einem konstant hohen Druck ausgesetzt sind, sondern bei Durchströmung des Kreislaufes Druckschwankungen unterliegen. Zudem ist ein abweichendes Reagieren der Mikrobläschen unter pulsatilem Druck und im Medium Blut gegenüber der *in vitro* verwandten Kochsalzlösung möglich. Dennoch muss von einer Einflussnahme des Blutdruckes auf die Kontrasteigenschaften der Signalverstärker unter klinischen Bedingungen ausgegangen werden und kann in der hier vorgelegten Arbeit zu einer Varianz der Untersuchungsergebnisse beigetragen haben.

Insbesondere für die erzielbare Maximalverstärkung aber auch für die Dauer des Kontrasteffektes spielen das verwandte Ultraschallgerät inklusive Schallkopf und ihre Einstellungen eine entscheidende Rolle (SCHWARZ et al. 1993; SCHWARZ et al. 1995; SCHWARZ et al. 1996b; WALKER et al. 1997; SEIDEL et al. 1999). Da aus dargelegten Gründen die Einstellungsparameter nicht vollständig konstant gehalten werden konnten, muss eine Mitverantwortlichkeit dieses Umstandes an der Ergebnisvarianz diskutiert werden. SCHWARZ et al. (1995) konnten in einer Studie eine Unabhängigkeit der Audiosignalintensität von der eingestellten **PRF** des Dopplers beziehungsweise Fließgeschwindigkeit der streuenden Partikel zeigen. Bei Annäherung der gemessenen Geschwindigkeit an die Nyquistgrenze muss jedoch mit einer Abschwächung des Audiosignals gerechnet werden, was in der vorgelegten Studie anhand des dargestellten Dopplerspektrums ausgeschlossen werden kann. Da sie aber bei der Untersuchung dieser Beziehung anstelle der Mikrobläschen eines Kontrastmittels ein solides Dopplerphantom einsetzen, berücksichtigt ihre Aussage nicht eine Zerstörung der streuenden Partikel durch die Schalleinwirkung. Ein *in vitro* Nachweis einer zunehmenden Persistenz von Levovist[®] Luftbläschen bei Absenken der PRF konnte hingegen von WALKER et al. (1997) bewiesen werden. Somit muss eine gewisse Varianz der Untersuchungsergebnisse der vorgelegten Arbeit durch die unterschiedlich hoch zu wählende PRF in Betracht gezogen werden.

Die unterschiedlichen **Anschallwinkel** in Bezug auf den Gefäßverlauf der Untersuchungen sollten keinen Einfluss auf die Ergebnisse und somit die Vergleichbarkeit der Untersuchungen haben. Zwar ist die Frequenz der Audiodopplersignale, die Informationen über die Geschwindigkeit der streuenden Partikel enthält, abhängig von dem Anschallwinkel, aber die Bestimmung der relativen Signalstärke bleibt davon unberührt (SCHWARZ et al. 1993).

Die **Dopplerempfangsverstärkung** hat keinen Einfluss auf die Sendeleistung beziehungsweise den Mechanischen Index, da es sich um einen Parameter handelt, der die Dopplersignale erst nachdem sie aus dem Organismus reflektiert wurden, bearbeitet. Ein Anheben der Dopplerempfangsverstärkung geht zwar mit einer Intensitätserhöhung des Audiosignals einher (SCHWARZ et al. 1995), beeinflusst aber die Ergebnisse nicht, da es sich um relative Werte handelt, die sich aus den

Signalunterschieden vor und nach Kontrastmittelapplikationen ergeben und die Empfangsverstärkung während einer Untersuchung nicht verändert wurde.

Den Einfluss zwei verschiedener Größen (5 mm und 20 mm) des **Dopplermessvolumens** und zwei unterschiedlicher **Hochpassfiltereinstellungen** (100 Hz und 500 Hz) auf die Kontrastdauer und die Signalverstärkung bei sonst konstanten Bedingungen untersuchen SEIDEL et al. (1999) nach Applikation körpermassbezogener Dosierungen von Levovist[®] und SonoVue[®]. In Bezug auf die Kinetik der Doppler Zeit-Intensitätskurve beider Signalverstärker kann kein Einfluss der Einstellungsparameter ermittelt werden. Die mittleren maximalen Signalverstärkungen jedoch liegen bei dem größeren Messvolumen und der niedrigeren Hochpassfiltereinstellung tendenziell höher, wofür bei SonoVue[®] eine statistische Signifikanz nachweisbar war, bei Levovist[®] allerdings nicht, was auf die hohe Varianz der individuellen Maximalverstärkungswerte bei diesem Kontrastmittel zurückgeführt wird. Diese Ergebnisse können jedoch nicht auf die hier vorgelegte Studie übertragen werden. Während SEIDEL et al. (1999) in ihrer Studie die Arteria cerebialis caudalis etwa gleich großer Hunde (14,3-16,2 kg Körpermasse) untersuchen und das Messvolumen in longitudinaler Ausrichtung innerhalb des Gefäßes positionieren, ist mit den beiden Messvolumengrößen die Proportion zur Körpermasse und somit zur Dosierung nicht mehr gegeben. Bei der hier vorgelegten Studie jedoch ist dieser Parameter stets dem anatomisch vorgegebenen, aortalen Querdurchmesser des jeweiligen Hundes angepasst worden, womit die Relation zur Dosierung beziehungsweise zu den pro Volumeneinheit erfassten streuenden Partikeln hergestellt sein sollte. Zudem ist die Variationsbreite mit drei bis neun Millimeter beziehungsweise 58-162 Hertz deutlich niedriger ausgefallen.

Ein weiterer Parameter mit Einfluss auf die Audiosignalintensität ist die bei Gewebepassage auftretende Schallabschwächung. Wie SCHWARZ et al. (1995) zeigen können, nimmt mit zunehmender Abschwächung der Schallwellenenergie die Intensität des Audiosignals ab. Kritisch gesehen werden muss die sich durch Variation der untersuchten Tiergrößen ergebenden unterschiedlichen **Untersuchungstiefen** mit entsprechend variabler Schallabschwächung. Da der mechanische Index aber stets bei 0,3 lag, sollte diesem Umstand keine entscheidende Bedeutung zugeschrieben werden.

Der Einfluss des Ultraschallgerätes auf die Untersuchungsergebnisse wird vornehmlich durch die mechanische Einwirkung der Schallwellen auf die Mikrobubbles bestimmt, deren Ausmaß sich durch den Mechanischen Index ausdrückt. Alle konstant gehaltenen (B-Bild-Frequenz, Dopplerfrequenz, Sendeleistung, Fokusanzahl und -positionierung, Winkelsteuerung, spektrale Durchlaufgeschwindigkeit) und variierten (PRF, Messvolumen, Untersuchungstiefen) Geräteeinstellungen wurden in der durchgeführten Studie so gewählt, dass sich ein konstanter MI von 0,3 ergab. Kritisch diskutiert werden müssen hingegen zum einen eventuelle Schwankungen des MI, die im zweiten Komma-Bereich des Wertes liegen und von dem Ultraschallgerät nicht erfasst beziehungsweise dokumentiert werden. Zum anderen beträgt nach Hersteller die Genauigkeit der MI Angabe für Wer-

te $\geq 0,4$ nur $\pm 50\%$. Für den Bereich $< 0,4$ liegen leider keine Angaben für den GE Logic 700[®] vor. Da während aller Untersuchungen nur ein einzelner Gefäßabschnitt unter der Einwirkung von Ultraschallwellen stand, spielt dieser Faktor in Anlehnung an entsprechende Untersuchungsergebnisse von SEIDEL et al. (1999) bezogen auf die Kontrastdauer eine eher untergeordnete Rolle, während hingegen ein erheblicher Einfluss auf die maximal erzielte Signalverstärkung besteht.

5.2.4 Vergleich der einzelnen Untersuchungsgruppen

Der Vergleich der Untersuchungsergebnisse zwischen den gebildeten Gruppen darf bei einer Einschätzung ihrer diagnostischen klinischen Wertigkeit nicht losgelöst von der jeweiligen Indikation für eine kontrastverstärkte Sonographie beurteilt werden. Möchte man beispielsweise einen Vitalitätsnachweis einer pathologischen Struktur, die nativsonographisch keinen nachweisbaren Blutfluss zeigt, über eine signalverstärkte Untersuchung führen, so ist in diesem Fall zur Abbildung sehr feiner Gefäße mit ungünstigen Schallbedingungen wie geringer oder langsamer Fluss eine hohe Maximalverstärkung entscheidend, während die Kontrastdauer eine nur untergeordnete Rolle spielt. Bei der Beantwortung komplexer klinischer Fragestellungen im Zusammenhang mit mehreren oder langstreckigen Gefäßen hingegen ist der Kontrastdauer eine übergeordnete Rolle zuzusprechen.

Die direkte Vergleichbarkeit der Gruppen verschiedener Kontrastmittel wird durch die Problematik der schwer vergleichbaren Dosierungen eingeschränkt. Auch die theoretische Verabreichung in etwa gleicher Mengen streuender Mikrobäschen ermöglicht keinen direkten Vergleich, da ihre akustischen Eigenschaften nicht nur von den Kontrastmittelkonzentrationen abhängen, sondern auch von ihrem streuenden Querschnitt, der eng mit ihren physikalischen Eigenschaften wie den Hüll- und Gasbeschaffenheiten verknüpft ist (DE JONG et al. 1991).

Vergleicht man die Dauer der Verstärkung über der Nulllinie, fällt ein signifikant längerer Effekt der Levovist[®] Infusionsapplikation gegenüber der Bolusapplikation des gleichen Kontrastmittels auf. Dieser Unterschied lässt sich durch die protrahierte Applikationsdauer mittels kontinuierlicher Verabreichung erklären. In den Sonovuegruppen liegt zwar der Mittelwert für die Kontrastdauer über der Nulllinie bei Infusionsapplikation auch höher als nach Bolusverabreichung, ist aber wegen der geringeren Differenz und der relativ hohen Standardabweichung in der Bolusgruppe statistisch nicht signifikant. Aus klinischer Sicht ist die Verstärkungsdauer über der Nulllinie von untergeordneter Bedeutung, weil hier auch Werte, die unter einem diagnostisch nutzbaren Effekt liegen, erfasst werden. Allerdings ist es schwierig, eine Schwelle zu definieren, welche über die diagnostische Nutzbarkeit der Verstärkung entscheidet. Auch wenn diese wie bereits angeführt von der Indikation und den individuellen Untersuchungsgegebenheiten bestimmt wird, kann nach KAPS et al. (2001b) ab einer Signalverstärkung von fünf Dezibel von einem diagnostischen Nutzen ausgegangen werden.

Die Kontrastdauer über sechs Dezibel ist bei Levovist[®] Infusionsapplikation statistisch signifikant länger als bei Bolusapplikation der gleichen Substanz. Der Mittelwert für diesen Parameter ist in Gruppe SI höher als bei Gruppe SB und auch als bei Gruppe LI. Jedoch sind hier die Unterschiede, auch aufgrund der hohen Standardabweichungen, nicht signifikant.

Bei Werten über 12 Dezibel konnten zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Hier lagen die Mittelwerte nach SonoVue[®] Applikation deutlich höher als in den Levovist[®] Gruppen der gleichen Applikationsform mit einem p-Wert von 0,04 für die Bolusgabe und einem p-Wert von 0,028 für die kontinuierliche Applikation. Das Signifikanzniveau liegt aber aufgrund der multiplen Gruppenvergleiche nicht bei dem üblichen Wert von 0,05, sondern wurde nach der Bonferroni-Methode auf 0,0125 gesenkt.

Das Verstärkungsniveau von 18 Dezibel ist in den Bolusgruppen bei jeweils zehn Untersuchungen überschritten worden und nach kontinuierlicher Verabreichung von Levovist[®] resultierten nur bei einer und von SonoVue[®] bei sieben Messungen höhere Werte. Während diese Kontrastdauer unter Bolusapplikation keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Signalverstärkern aufzeigte, war SonoVue[®] bei Infusionsapplikation mit einem Überschreiten des Verstärkungspegels bei sieben Hunden gegenüber dem einen bei Levovist[®] deutlich überlegen. Bei klinischen Indikationen die eine möglichst lange und hohe Signalverstärkung beanspruchen, sollte folglich bei Zugrundelegung dieses Ergebnisses auf eine SonoVue[®] Infusionsapplikation zurückgegriffen werden.

Die Tatsache der statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Applikationsformen bezüglich der erzielten Kontrastdauer über der Nulllinie und über sechs Dezibel bei Levovist[®], nicht aber bei SonoVue[®] Applikationen, kann nicht eindeutig erklärt werden. Theoretisch wäre eine bei den niedrigeren Konzentrationen der Infusionsapplikationen höhere Empfindlichkeit der Schwefelhexafluoridbläschen gegenüber den persistenzlimitierenden Einflüssen des Organismus und der Schallwellen möglich. Es gibt jedoch keine diesbezüglichen Hinweise in anderen Veröffentlichungen, noch kann die hier vorgelegte Studie diesen Sachverhalt endgültig klären. Zu der nicht vorhandenen statistischen Signifikanz der bei Infusion gegenüber der Bolusapplikation von SonoVue[®] im Mittelwert höher liegenden Werte trägt zum Teil die relativ hohe Standardabweichung vor allem in der Bolusgruppe dieses Kontrastmittels bei.

Die Maximalverstärkung nach Bolusapplikation liegt bei beiden Kontrastmitteln mit einem Mittelwert von knapp unter 20 Dezibel sehr nah beieinander und fällt für Levovist[®] im Vergleich zu den Werten nach kontinuierlicher Verabreichung des gleichen Signalverstärkers signifikant höher aus. Zwischen den Sonovuegruppen existieren für diesen Parameter keine statistischen Unterschiede. Die Gründe für diesen Sachverhalt können nicht endgültig geklärt werden. Theoretisch wäre hier eine schallwellenbedingte Zerstörung der Mikrobläschen bei der ersten Passage durch die Aorta

abdominalis möglich. Auch ist hypothetisch das Erreichen einer Sättigungsschwelle der Intensitätsmessung des Dopplers oder eine Ergebnisbeeinflussung durch das Auftreten von Schallschattenartefakten bei höheren Mikrobläschenkonzentrationen denkbar. Diesen Erklärungsversuchen stehen aber sowohl die bei einem Hund dokumentierte Maximalverstärkung von 25,1 Dezibel als auch das nur bei diesem Patienten beobachtete Schallschattenphänomen entgegen. Die Injektion von SonoVue[®] mittels Perfusor[®] ist mit signifikant höheren Maximalverstärkungswerten als die Gabe von Levovist[®] in der gleichen Applikationsform verbunden.

Die Berechnung der Fläche unter der Zeit-Intensitätskurve, welche eine Aussage über die effektive Anzahl von Mikrobläschen machen soll, zeigte bei Vergleich der beiden Levovist[®] Gruppen und zwischen den beiden SonoVue[®] Applikationsformen über sechs beziehungsweise zwölf Dezibel keine signifikanten Unterschiede. Der Vergleich der Bolusgruppen wies für SonoVue[®] höhere Werte mit einem p-Wert von 0,045 bei Verstärkungen über sechs Dezibel und einem p-Wert von 0,031 über zwölf Dezibel auf. Auch liegen bei Auswertung der Gruppen mit Infusionsapplikationen für SonoVue[®] höhere Werte mit einem p-Wert von 0,041 über der Schwelle von sechs Dezibel und mit 0,006 über zwölf Dezibel vor. Hierbei ist wiederum zu beachten, dass aufgrund der stark konservativen statistischen Berechnung nur der letztgenannte Wert eine Signifikanz aufweist. Auf den Index über 18 Dezibel sind die entsprechenden Ausführungen bei der Kontrastdauer über dieser Schwelle übertragbar. Tendenziell sprechen die Ergebnisse nach Infusionsapplikation in der gewählten Dosierung für eine Überlegenheit von SonoVue[®] bei der Erzielung höherer Verstärkungen über einen längeren Zeitraum.

5.2.5 Vergleich der zusammengefassten Gruppen

Die Bildung der hier ausgewerteten Gruppen erfolgte durch den Zusammenschluss der jeweiligen Einzelgruppen, die das gleiche Kontrastmittel erhielten oder die gleiche Applikationsform erfahren haben. Diese Gruppenformierung ist eher von theoretischem Interesse, soll aber eine bessere Einschätzung der Eigenschaften des Signalverstärkers beziehungsweise der Applikationsform in gegenseitiger Unabhängigkeit ermöglichen.

Beim Vergleich der beiden Kontrastmittel liegen die Mittelwerte der untersuchten Parameter bei SonoVue[®] alle höher als unter Verwendung von Levovist[®]. Die Unterschiede sind für die Kontrastdauer über 12 Dezibel und Fläche unter der Kurve über 6 und 12 Dezibel statistisch hoch signifikant und für die maximale Signalverstärkung statistisch signifikant. Bei Beurteilung der Signalverstärker unabhängig von der Applikationsform zeigt sich folglich SonoVue[®] unter den Untersuchungsbedingungen der hier vorgelegten Arbeit dem Levovist[®] überlegen.

Die Auswertung der Untersuchungsergebnisse der Applikationsformen ohne Berücksichtigung des eingesetzten Kontrastmittels ergeben Mittelwerte aller Parameter, die mit Ausnahme der Maximalverstärkung in den Infusionsgruppen, über den entsprechenden Werten nach Bolusapplikation liegen. Statistisch hochsignifikant sind diese Unterschiede bei der Kontrastdauer über der Nulllinie und über sechs Dezibel. Bei der Applikation eines Kontrastmittelbolus wird hingegen ein statistisch hochsignifikant stärkeres Signal gegenüber den Infusionsgruppen ermittelt. Hieraus lässt sich ein Vorteil der Bolusapplikation bei der Zielstellung, möglichst hohe Verstärkungen zu erreichen, und für die Infusionsapplikation ein gewisse Überlegenheit, ein protrahiertes Verstärkungsniveau zu erzeugen, ableiten.

5.2.6 Schlussfolgerungen

Mithilfe der eingesetzten Ultraschallkontrastmittel konnte bei allen untersuchten Hunden eine deutliche Signalverstärkung im PW-Doppler Modus in der Aorta abdominalis nachgewiesen werden. Die eingesetzten Dosierungen der Kontrastmittel führten hierbei zu einer über der von KAPS et al. (2001b) definierten Schwelle der klinischen Nutzbarkeit von fünf Dezibel liegenden Signalverstärkung. Das Auftreten von Schallschattenartefakten bei nur einem Hund der SonoVue[®] Bolusgruppe kann als Hinweis gegen eine zu hohe Dosierung der Signalverstärker gesehen werden, die zwar nicht mit Folgen für das Tier verbunden wäre, aber einer Verschwendung der Kontrastmittelsuspension gleichkäme. Auch wenn die verabreichten Kontrastmittelmengen für die hier dokumentierte Untersuchung als geeignet erscheinen, sind sie doch nicht von allgemeiner Gültigkeit, da sie insbesondere auch von dem Untersuchungsgebiet und dem eingesetzten Ultraschallverfahren abhängig sind.

Bei Analyse der Applikationsformen unabhängig von dem jeweiligen Kontrastmittel sind nach Bolusapplikation höhere Werte der Maximalverstärkung und nach Infusionsapplikation teilweise höhere Kontrastdauerparameter zu verzeichnen. Folglich empfiehlt sich beispielsweise bei sehr schwachen nativen Signalen die Bolusapplikation und für die Untersuchung längerer Gefäßabschnitte oder für komplexe Untersuchungstechniken die Infusionsapplikation. Prinzipiell ist die kontinuierliche Verabreichung der Substanzen mit einem größeren apparativen Aufwand verbunden und birgt eine höhere Gefahr die akustischen Eigenschaften der Kontrastmittel negativ zu beeinflussen. Daher ist sie insbesondere dann angezeigt, wenn die Bolusapplikation nicht zum Ziel führt.

Da beim Vergleich der untersuchten Verstärkungsparameter beider Ultraschallkontrastmittel alle signifikanten Unterschiede Vorteile bei SonoVue[®] zeigen, erscheint letztgenannte Substanz dem Levovist[®] unter den Bedingungen dieser Studie überlegen. Auch bezüglich der Handhabung bei der Herstellung und der Stabilitätsdauer nach Anmischen der Substanzen von sechs Stunden bei So-

noVue[®] gegenüber den acht Minuten bei Levovist[®] ist erstgenanntes Kontrastmittel deutlich überlegen. So bietet SonoVue[®] dem Anwender beispielsweise die Möglichkeit, mit dem Inhalt einer Durchstechflasche weitere Patienten zu untersuchen. Es hat sich die zwingende Notwendigkeit gezeigt die Herstellerangaben für die Zubereitung und den Umgang mit der injektionsfertigen Suspension einzuhalten da sonst ein Verlust der signalverstärkenden Wirkung zu erwarten ist. Den gleichen Effekt hätte ein Auftreten von hohen Druckschwankungen bei zu vehementem Aufziehen oder Applizieren der gebrauchsfertigen Substanzen insbesondere in kleinlumige Venenzugänge. Bei einer Untersuchung des Patienten in Allgemeinanästhesie ist bei der eventuellen Zufuhr von Inhalationsgasen nach Injektion von Levovist[®] darauf zu achten, keinen reinen Sauerstoff zu verabreichen was mit einer Reduktion der Anzahl effektiver Mikrobläschen verbunden wäre. Bei SonoVue[®] ist kein negativer Einfluss von reinem Sauerstoff als Trägergas bekannt, was für seinen Einsatz bei Risikopatienten als Vorteil gesehen werden kann. Dieser Umstand kann gerade in der Tiermedizin von Bedeutung sein, da Gefäßuntersuchungen vor allem im kranialen Abdomen aufgrund der durch Atembewegungen verursachten Artefaktbildung behindert werden. Eine regelgerechte Untersuchung wie sie beim Menschen in Apnoephasen stattfindet sind beim Tier nur in Sedation oder Anästhesie denkbar.

Über den diagnostischen Nutzen von Ultraschallkontrastmitteln in der Tiermedizin kann noch keine abschließende Aussage getroffen werden, was aber auch nicht Ziel dieser Arbeit war. In einigen Gebieten der Veterinärsonographie ist jedoch eine vergleichbare Steigerung der Spezifität und Sensitivität der diagnostischen Aussagekraft wie sie in der Humanmedizin bereits erreicht wurde zu erwarten. Es besteht allerdings noch Bedarf für eine Vielzahl weiterer Grundlagenuntersuchungen in der Tiermedizin. So ist beispielsweise bei Tieren die Phasenlänge für die arterielle, portale und venöse Passage von Kontrastmitteln noch nicht ermittelt worden, die aber beim Menschen die Grundlage für die Etablierung charakteristischer Anflutungsmuster von Mikrobläschen bei sonographisch erfassten fokalen Parenchymveränderungen stellt. Problematisch für einen veterinärmedizinischen Einsatz dieser Substanzen können bei bestimmten Fragestellungen die noch geringe Verbreitung von Ultraschallgeräten mit kontrastmittelspezifischen Abbildungsverfahren und die hohen Kosten der Signalverstärker gesehen werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Peter Himmelsbach

Vergleich der Ultraschallkontrastmittel Levovist[®] und SonoVue[®] verabreicht als Bolus und Infusionsapplikation bei Hunden.

Klinik für Kleintiere, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Eingereicht im Juni 2005

99 Seiten, 20 Abbildungen, 14 Tabellen, 217 Literaturstellen, 2 Anhänge.

Schlüsselworte: Ultraschallkontrastmittel, Hund, Infusion, Bolus, Levovist[®], SonoVue[®]

In der Veterinärmedizin existieren bisher kaum Veröffentlichungen über den klinischen Einsatz von Ultraschallkontrastmitteln, obwohl eine ähnliche Verbesserung von Spezifität und Sensitivität der sonographischen Diagnostik wie in der Humanmedizin denkbar ist. So war es Ziel dieser Arbeit, die Ultraschallkontrastmittel Levovist[®] und SonoVue[®] nach periphervenöser Bolus- und Infusionsapplikation bei Hunden zu vergleichen. Der Effekt dieser Substanzen wurde anhand der zeitabhängigen Intensitätsveränderungen des PW-Doppler-Audiosignals in der Aorta abdominalis untersucht. Die hierfür verwandten 48 Hunde stammten aus dem Patientengut der Klinik für Kleintiere der Veterinärmedizinischen Fakultät, Universität Leipzig und zeigten keine anamnestischen, klinischen oder sonographischen Hinweise auf eine Erkrankung. Sie wurden nach dem Zufallsprinzip vier Untersuchungsgruppen zu je zwölf Tieren zugeordnet

Gruppe LB : Levovist[®] Bolusapplikation - Gruppe SB : SonoVue[®] Bolusapplikation

Gruppe LI : Levovist[®] Infusionsapplikation - Gruppe SI : SonoVue[®] Infusionsapplikation

Die Bolusgruppen erhielten 0,2 ml/kg Körpermasse Levovist[®] in der Konzentration 300 mg/ml und 0,1 ml/kg Körpermasse SonoVue[®]. Diese Mengen sind in den Infusionsgruppen in einer Rate von 0,1 ml/min/kg bei Levovist[®] und 0,05 ml/min/kg bei SonoVue[®] appliziert worden. Das Audiosignal des PW-Dopplers wurde anschließend mit einer für diesen Zweck konzipierten Analyseinheit ausgewertet. Für jede Messreihe konnte so die Kontrastdauer über der Nulllinie, über 6, 12 und 18 Dezibel, die maximale Signalverstärkung und die für die effektive Anzahl der streuenden Partikel stehende Fläche unter der Kurve über einem Niveau von 6, 12 und 18 Dezibel ermittelt und eine gewisse Vergleichbarkeit der Untersuchungen ermöglicht werden. Die Mittelwerte der Parameter innerhalb der einzelnen Untersuchungsgruppen sind in *Tabelle 14* angeführt. Die Dokumentation von einem Wert der Audiosignallautstärke pro Herzzyklus erlaubte die Erstellung und Beurteilung der Zeit-Verstärkungskurven für die jeweiligen Messreihen.

Tab.14: Mittelwerte der bestimmten Parameter der einzelnen Untersuchungsgruppen.

	Levovist® Bolus (Gruppe LB)	Levovist® Infusion (Gruppe LI)	SonoVue® Bolus (Gruppe SB)	SonoVue® Infusion (Gruppe SI)
Parameter				
Kontrastdauer > Nulllinie [sek]	276,25	335,57	292,05	325,91
Kontrastdauer > 6 dB [sek]	166,42	239,92	223,17	260,25
Kontrastdauer > 12dB [sek]	95,67	133,17	164,17	196,92
Kontrastdauer > 18dB [sek]	20,50	--	22,80	71,43
Maximale Signalverstärkung [dB]	19,84	16,28	19,68	18,53
AUC > 6 dB [dB*sek]	2154,17	2803,92	3160,83	3639
AUC > 12 dB [dB*sek]	1531	1819,67	2645,92	3073,42
AUC > 18 dB [dB*sek]	391,20	--	460	1347

Bei Vergleich der Parameter zwischen den einzelnen Untersuchungsgruppen (Signifikanzniveau 1,25 %) konnte eine statistisch signifikant längere Kontrastdauer über der Nulllinie und über sechs Dezibel nach Infusionsapplikation gegenüber der Bolusapplikation von Levovist® ermittelt werden. Die Bolusgabe von Levovist® hingegen resultierte in signifikant höheren Maximalverstärkungen als bei kontinuierlicher Verabreichung der gleichen Substanz. Die Infusionsapplikation von SonoVue® führte zu einer höheren Maximalverstärkung und größeren Fläche unter der Kurve über 12 Dezibel als bei Levovist®. Bei Vergleich der beiden Bolusgruppen und bei Vergleich der beiden SonoVue® Applikationsformen ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Um eine bessere Einschätzung der Eigenschaften des Signalverstärkers beziehungsweise der Applikationsform in wechselseitiger Unabhängigkeit zu ermöglichen, sind entsprechende Einzelgruppen zusammengefasst worden. Der statistische Vergleich der nach Signalverstärker zusammengefassten Gruppen (Signifikanzniveau 5 %) zeigte signifikant bessere Werte für SonoVue® bei Verstärkungen über 12 Dezibel, der maximalen Signalverstärkung und der Fläche unter der Kurve über 6 und 12 Dezibel. Bei den nach Applikationsform zusammengefassten Gruppen führte die Infusion zu signifikant längerer Kontrastdauer über der Nulllinie und über 6 Dezibel, während bei Bolusapplikationen höhere Maximalverstärkungen resultierten.

Unter den Bedingungen dieser Studie ist SonoVue® dem Levovist® in den genannten Verstärkungsparametern überlegen und zeigt auch in der Handhabung und Stabilitätsdauer der injektionsfertigen Suspension Vorteile. Bei zeitaufwendigen Untersuchungen kann durch eine kontinuierliche Verabreichung des Signalverstärkers der Kontrasteffekt zum Teil verlängert werden, birgt aber neben dem größeren apparativen Aufwand eine höhere Gefahr die akustischen Eigenschaften der Mikrobäschen negativ zu beeinflussen. Daher scheint sie insbesondere dann angeszeigt, wenn die Bolusapplikation nicht zum Ziel führt. Mit den gewählten Dosierungen und Infusionsraten konnte bei allen Hunden eine deutliche Signalverstärkung erzielt werden. Somit erscheint ihr klinischer Einsatz in der Tiermedizin beispielsweise bei unzureichender nativer Signalintensität oder zur weiteren Charakterisierung sonomorphologisch pathologischer Strukturen möglich.

7 SUMMARY

Comparison of the ultrasound contrast media Levovist[®] and SonoVue[®] in dogs following peripheral venous bolus and infusion application

Peter Himmelsbach

Department of Small Animal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in June 2005

99 pages, 20 figures, 14 tables, 217 references, 2 appendices.

Keywords: ultrasound contrast media, dog, infusion, bolus, Levovist[®], SonoVue[®]

Hitherto there have scarcely been any publications in veterinary medicine about the clinical use of ultrasound contrast media, although a similar improvement in the specific, sensitive nature of sonogram diagnosis is conceivable here as in human medicine. The aim of this study was to compare the ultrasound contrast media Levovist[®] and SonoVue[®] in dogs following peripheral venous bolus and infusion application. The effect of these substances was examined according to the change in intensity over time of the PW-Doppler output signal in the abdominal aorta. The 48 dogs used for this purpose were patients at the Department of Small Animal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig and showed no signs of any disease in the case history, in clinical symptoms or in the sonogram. They were allocated at random into four study groups of 12 animals each.

Group LB : Levovist[®] bolus application - Group SB : SonoVue[®] bolus application

Group LI : Levovist[®] infusion application - Group SI : SonoVue[®] infusion application

The bolus groups received 0.2 ml/kg body weight Levovist[®] in the concentration 300 mg/ml and 0.1 ml/kg body weight SonoVue[®]. In the infusion group, these quantities were administered at a rate of 0.1 ml/min/kg for Levovist[®] and 0.05 ml/min/kg for SonoVue[®]. The audio signal of the PW-Doppler was then evaluated with an analysis unit designed for this purpose. For every series, the contrast time was measured above the zero line, above 6, 12 and 18 decibel, together with the maximum signal amplification and the area standing for the effective number of scattering particles under the curve above a level of 6, 12 and 18 decibel, allowing for a certain comparability of the tests. The mean parameter values within the individual test groups are shown in *Table 14*. The documented values of the audio signal volume per heart cycle were used for production and evaluation of the time/amplification curves for each series of tests.

Tab.14: Mean values of the examined parameters in each study group

	Levovist® bolus (Group LB)	Levovist® infusion (Group LI)	SonoVue® bolus (Group SB)	SonoVue® infu- sion (Group SI)
parameter				
contrast time > zero line [sec]	276,25	335,57	292,05	325,91
contrast time > 6 dB [sec]	166,42	239,92	223,17	260,25
contrast time > 12dB [sec]	95,67	133,17	164,17	196,92
contrast time > 18dB [sec]	20,50	--	22,80	71,43
maximum amplification [dB]	19,84	16,28	19,68	18,53
AUC > 6 dB [dB*sec]	2154,17	2803,92	3160,83	3639
AUC > 12 dB [dB*sec]	1531	1819,67	2645,92	3073,42
AUC > 18 dB [dB*sec]	391,20	--	460	1347

A comparison of the parameters between the individual study groups (significance level 1.25 %) revealed a statistically significant longer contrast time above the zero line and above six decibel after infusion application compared to the bolus application of Levovist®. By contrast, bolus application of Levovist® resulted in significantly higher maximum amplification than was the case in continuous administration of the same substance. The infusion application of SonoVue® resulted in a higher maximum amplification and larger area under the curve above 12 decibel than for Levovist®. A comparison of the two bolus groups and a comparison of the two SonoVue® forms of application did not reveal any statistically significant differences.

For better estimation of the properties of the signal amplifier respectively application form in mutual independence, corresponding individual groups were put together. The statistical comparison of the groups put together according to signal amplifier (significance level 5%) revealed significantly improved values for SonoVue® for amplification above 12 decibel, maximum signal amplification and the area under the curve above 6 and 12 decibel. For the groups put together according to application form, infusion resulted in significantly longer contrast time above the zero line and above 6 decibel, while bolus application resulted in higher maximum amplifications.

Under the conditions of this study, SonoVue® is superior to Levovist® in the named amplification parameters and also reveals advantages in handling and in the stability life of the suspension ready for injection. Long-term examinations with continuous administration of the signal amplifier can on the one hand increase the contrast effect; but on the other hand, together with the increase in required apparatus, there is also a greater risk of a negative effect on the acoustic properties of the microbubbles. This would appear to be indicated in particular when bolus application does not produce the desired effect. The selected doses and infusion rates achieved a clear signal amplification in all dogs. They would therefore appear to be suitable for clinical use in veterinary medicine, for example in cases of inadequate native signal intensity or for further characterisation of sonomorphologically pathological structures.

8 LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Abildgaard A, Egge TS, Klow NE, Jakobsen JA. Use of sonicated albumin (Infuson) to enhance arterial spectral and color Doppler imaging. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1996; 19(4):265-71.
- (2) Abramowicz JS. Ultrasound contrast media and their use in obstetrics and gynecology. *Ultrasound Med Biol* 1997; 23(9):1287-98.
- (3) Albrecht T. Administration by infusion. In: Dawson P, Cosgrove D, Grainger R, editors. *Textbook of Contrast media*. Isis Medical Media Ltd. Oxford UK; 1999. p. 499-500.
- (4) Albrecht T, Blomley MJ. Characteristics of hepatic hemangiomas at contrast-enhanced harmonic US. *Radiology* 2001; 220(1):269-70.
- (5) Albrecht T, Blomley MJ, Cosgrove DO, Taylor-Robinson SD, Jayaram V, Eckersley R et al. Non-invasive diagnosis of hepatic cirrhosis by transit-time analysis of an ultrasound contrast agent. *Lancet* 1999a; 353(9164):1579-83.
- (6) Albrecht T, Blomley MJ, Cosgrove DO, Taylor-Robinson SD, Jayaram V, Eckersley R et al. Transit-time studies with levovist in patients with and without hepatic cirrhosis: a promising new diagnostic tool. *Eur Radiol* 1999b; 9 Suppl 3:377-81.
- (7) Albrecht T, Blomley MJ, Heckemann RA, Cosgrove DO, Jayaram V, Butler-Barnes J et al. Stimulierte akustische Emission mit dem Ultraschall-Kontrastmittel Levovist: Ein klinisch nutzbarer Kontrasteffekt mit leberspezifischen Eigenschaften. *Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 2000a; 172(1):61-7.
- (8) Albrecht T, Blomley MJ, Urbank A. Doppler quantification of Levovist infusions in vivo: a linear dose-response relationship. *Radiology* 1997.
- (9) Albrecht T, Cosgrove DO, Butler-Barnes J, Jayaram V, Mahler M, Urbank A et al. Vergleich von Bolusgabe und Infusion des Ultraschallkontrastmittels Levovist in der farbkodierten Duplexsonographie von Nierenarterien. *Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 2000b; 172(10):824-9.
- (10) Albrecht T, Hoffmann CW, Wolf KJ. Sonographie von Lebermetastasen mit leberspezifischem Kontrastmittel. *Radiologe* 2001; 41(1):8-15.
- (11) Albrecht T, Urbank A, Mahler M, Bauer A, Dore CJ, Blomley MJ et al. Prolongation and optimization of Doppler enhancement with a microbubble US contrast agent by using continuous infusion: preliminary experience. *Radiology* 1998; 207(2):339-47.
- (12) Allen CM. Cabbages and CABG. *BMJ* 1988; 297(6662):1485-6.
- (13) Aronson S, Bender E, Feinstein SB, Heidenreich PH, Ellis J, Dick C et al. Contrast echocardiography: a method to visualize changes in regional myocardial perfusion in the dog model for CABG surgery. *Anesthesiology* 1990; 72(2):295-301.
- (14) Bahlmann EB, McQuillan BM, Handschumacher MD, Chow CM, Guerrero JL, Picard MH et al. Effect of destructive pulse duration on the detection of myocardial perfusion in myocardial contrast echocardiography: In vitro and in vivo observations. *J Am Soc Echocardiogr* 2002; 15(12):1440-7.
- (15) Bahr A, Wrigley R, Salman M. Quantitative evaluation of imagent as an abdominal ultrasound contrast medium in dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 2000; 41(1):50-5.
- (16) Bartolozzi C, Lencioni R, Ricci P, Paolicchi A, Rossi P, Passariello R. Hepatocellular carcinoma treatment with percutaneous ethanol injection: evaluation with contrast-enhanced color Doppler US. *Radiology* 1998; 209(2):387-93.
- (17) Battino J. Echogenicity of blood. *J Radiol* 1992; 73(12):705-708. Abstract.

- (18) Bauer A, Becker G, Henz P, Jachimczak P, Schwarz KQ, Haase A et al. Transcranial duplex ultrasound: experience with contrast enhancing agents. *Int Angiol* 1997; 16(4):216-21.
- (19) Bauer A, Becker G, Krone A, Fröhlich T, Bogdahn U. Transcranial duplex sonography using ultrasound contrast enhancers. *Clin Radiol* 1996; 51(Suppl 1):19-23.
- (20) Bauer A, Schlieff R. Galactose-based echo-enhancers: Echovist and Levovist. In: Dawson P., Cosgrove DO, Grainger R.O., editors. *Textbook of Contrast media*. Isis Medical Media Ltd. Oxford UK; 1999. p. 518-23.
- (21) Baumgartner RW. Transcranial color-coded duplex sonography. *J Neurol* 1999; 246(8):637-47.
- (22) Bayfield MS, Lindner JR, Kaul S, Ismail S, Sheil ML, Goodman NC et al. Deoxygenated blood minimizes adherence of sonicated albumin microbubbles during cardioplegic arrest and after blood reperfusion: experimental and clinical observations with myocardial contrast echocardiography. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997; 113(6):1100-8.
- (23) Bazzocchi M, Quaia E, Zuiani C, Moroldo M. Transcranial Doppler: state of the art. *Eur J Radiol* 1998; 27 Suppl 2:S141-S148.
- (24) Bergmann L. *Der Ultraschall*. 2 ed. VDI Verlag, Berlin; 1939.
- (25) Blomley M, Albrecht T, Cosgrove D, Jayaram V, Butler-Barnes J, Eckersley R. Stimulated acoustic emission in liver parenchyma with Levovist. *Lancet* 1998a; 351(9102):568.
- (26) Blomley M, Jayaram V, Cosgrove DO. Linear dose response relationship with the US contrast agent BR1; a quantitative study in normal volunteers. *Eur Radiol* 1997; 7(suppl):69.
- (27) Blomley MJ, Albrecht T, Cosgrove DO, Eckersley RJ, Butler-Barnes J, Jayaram V et al. Stimulated acoustic emission to image a late liver and spleen-specific phase of Levovist in normal volunteers and patients with and without liver disease. *Ultrasound Med Biol* 1999a; 25(9):1341-52.
- (28) Blomley MJ, Albrecht T, Cosgrove DO, Jayaram V, Eckersley RJ, Patel N et al. Liver vascular transit time analyzed with dynamic hepatic venography with bolus injections of an US contrast agent: early experience in seven patients with metastases. *Radiology* 1998b; 209(3):862-6.
- (29) Blomley MJ, Cooke JC, Unger EC, Monaghan MJ, Cosgrove DO. Microbubble contrast agents: a new era in ultrasound. *BMJ* 2001a; 322(7296):1222-5.
- (30) Blomley MJ, Sidhu PS, Cosgrove DO, Albrecht T, Harvey CJ, Heckemann RA et al. Do different types of liver lesions differ in their uptake of the microbubble contrast agent SH U 508A in the late liver phase? Early experience. *Radiology* 2001b; 220(3):661-7.
- (31) Blomley MJK, Cosgrove DO, Eckersley RJ. Quantification and functional imaging with echo-enhancing agents. In: Dawson P., Cosgrove DO, Grainger R.O., editors. *Textbook of Contrast media*. Isis Medical Media Ltd. Oxford UK; 1999b. p. 579-87.
- (32) Bokor D, Chambers JB, Rees PJ, Mant TG, Luzzani F, Spinazzi A. Clinical safety of SonoVue, a new contrast agent for ultrasound imaging, in healthy volunteers and in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Invest Radiol* 2001; 36(2):104-9.
- (33) Bonagura JD, Pipers FS. Diagnosis of cardiac lesions by contrast echocardiography. *J Am Vet Med Assoc* 1983; 182:396-402.
- (34) Borges AC, Richter WS, Witzel C, Witzel M, Grohmann A, Reibis RK et al. Myocardial contrast echocardiography for predicting functional recovery after acute myocardial infarction. *Int J Cardiovasc Imaging* 2002; 18(4):257-68.
- (35) Bracco International B.V. SonoVue Produktinformation. Strawinskylaan 3051, 1077ZX Amsterdam, Niederlande; 2001
- (36) Calliada F, Campani R, Bottinelli O, Bozzini A, Sommaruga MG. Ultrasound contrast agents: basic principles. *Eur J Radiol* 1998; 27 Suppl 2:157-60.

- (37) Campani R, Calliada F, Bottinelli O, Bozzini A, Sommaruga MG, Draghi F et al. Contrast enhancing agents in ultrasonography: clinical applications. *Eur J Radiol* 1998; 27 Suppl 2:161-70.
- (38) Catalano O, Esposito M, Lobianco R, Cusati B, Altei F, Siani A. Hepatocellular carcinoma treated with chemoembolization: assessment with contrast-enhanced doppler ultrasonography. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1999; 22(6):486-92.
- (39) Chen S, Kroll MH, Shohet RV, Frenkel P, Mayer SA, Grayburn PA. Bioeffects of myocardial contrast microbubble destruction by echocardiography. *Echocardiography* 2002; 19(6):495-500.
- (40) Choi BI, Kim AY, Lee JY, Kim KW, Lee KH, Kim TK et al. Hepatocellular carcinoma: contrast enhancement with Levovist. *J Ultrasound Med* 2002; 21(1):77-84.
- (41) Christiansen C, Vebner AJ, Muan B, Vik H, Haider T, Nicolaysen H et al. Lack of an immune response to Albunex, a new ultrasound contrast agent based on air-filled albumin microspheres. *Int Arch Allergy Immunol* 1994; 104(4):372-8.
- (42) Claudon M, Plouin PF, Baxter GM, Rohban T, Devos DM. Renal arteries in patients at risk of renal arterial stenosis: multicenter evaluation of the echo-enhancer SH U 508A at color and spectral Doppler US. Levovist Renal Artery Stenosis Study Group. *Radiology* 2000; 214(3):739-46.
- (43) Correas JM, Burns PN, Lai X, Qi X. Infusion versus bolus of an ultrasound contrast agent: in vivo dose-response measurements of BR1. *Invest Radiol* 2000; 35(1):72-9.
- (44) Cosgrove DO. Basic principles of the use of microbubbles. In: Dawson P., Cosgrove DO, Grainger R.O., editors. *Textbook of Contrast media*. Isis Medical Media Ltd. Oxford UK; 1999a. p. 465-85.
- (45) Cosgrove DO. Microbubbles: practical considerations. In: Dawson P., Cosgrove DO, Grainger R.O., editors. *Textbook of Contrast media*. Isis Medical Media Ltd. Oxford UK; 1999b. p. 497-509.
- (46) Cosgrove DO. Non-bubble approaches. In: Dawson P., Cosgrove DO, Grainger R.O., editors. *Textbook of Contrast media*. Isis Medical Media Ltd. Oxford UK; 1999c. p. 453-60.
- (47) Cosgrove DO, Blomley MJK. Echo-enhancing ('contrast') agents for ultrasound. In: Dawson P., Cosgrove DO, Grainger R.O., editors. *Textbook of Contrast media*. Isis Medical Media Ltd. Oxford UK; 1999. p. 451-2.
- (48) Cotter B, Mahmud E., Kwan OL, DeMaria AN. New ultrasound contrast agents: expanding upon existing clinical applications. In: Goldberg BB, editor. *Ultrasound Contrast Agents*. Martin Dunitz, London; 1997. p. 31-42.
- (49) Curie J, Curie P. Sur l'électricité polaire dans les cristaux hémihédres à faces inclinées. *C R Acad Sci* 1880; 91:383-6.
- (50) de Jong N, Ten Cate FJ, Lancee CT, Roelandt JR, Bom N. Principles and recent developments in ultrasound contrast agents. *Ultrasonics* 1991; 29(4):324-30.
- (51) de Jong N, Ten Cate FJ, Vletter WB, Roelandt JR. Quantification of transpulmonary echocontrast effects. *Ultrasound Med Biol* 1993; 19(4):279-88.
- (52) Delius M, Jordan M, Eizenhoefer H, Marlinghaus E, Heine G, Liebich HG et al. Biological effects of shock waves: kidney haemorrhage by shock waves in dogs--administration rate dependence. *Ultrasound Med Biol* 1988; 14(8):689-94.
- (53) Delorme S, Debus J. Physikalische und technische Grundlagen. In: Delorme S, Debus J, editors. *Ultraschall-diagnostik - Verstehen, Lernen, Anwenden*. Hippokrates Verlag Stuttgart; 1998a. p. 35-88.
- (54) Delorme S, Debus J. Schnupperkurs Dopplersonographie. In: Delorme S, Debus J, editors. *Ultraschall-diagnostik - Verstehen, Lernen, Anwenden*. Hippokrates Verlag Stuttgart; 1998b. p. 248-58.
- (55) Desir RM, Cheirif J, Bolli R, Zoghbi WA, Hoyt BD, Quinones MA. Assessment of regional myocardial perfusion with myocardial contrast echocardiography in a canine model of varying degrees of coronary stenosis. *Am Heart J* 1994; 127(1):56-63.

- (56) Dill-Macky MJ, Burns PN, Khalili K, Wilson SR. Focal hepatic masses: enhancement patterns with SH U 508A and pulse-inversion US. *Radiology* 2002; 222(1):95-102.
- (57) Ding H, Kudo M, Onda H, Suetomi Y, Minami Y, Maekawa K. Hepatocellular carcinoma: depiction of tumor parenchymal flow with intermittent harmonic power Doppler US during the early arterial phase in dual-display mode. *Radiology* 2001; 220(2):349-56.
- (58) Doppler JC. Über das farbige Licht der Dopplersterne und einiger anderer Gestirne des Himmels. *Abh königl böhm Ges Wiss* 1843; 2:465-82.
- (59) Dowling RJ, House MK, King PM, Bourke JL, Gibson RN. Contrast-enhanced Doppler ultrasound for renal artery stenosis. *Australas Radiol* 1999; 43(2):206-9.
- (60) Duck FA, Starritt HC, Aindow JD, Perkins MA, Hawkins AJ. The output of pulse-echo ultrasound equipment: a survey of powers, pressures and intensities. *Br J Radiol* 1985; 58(694):989-1001.
- (61) el Mouaaouy A, Naruhn M, Becker HD, Schliep R. Intraoperative echo-contrast ultrasound examination of malignant liver neoplasms--initial clinical experience. *Surg Endosc* 1991; 5(4):214-8.
- (62) Esteban JM, Gil J. Therapeutic effect of chemoembolization therapy on hepatocellular carcinoma: evaluation with contrast-enhanced power Doppler sonography and contrast-enhanced harmonic imaging. *Acad Radiol* 2002; 9(Suppl 2):382-3.
- (63) Ferrareso M, Raiteri M, Bellapi A, Berardinelli L, Vegeto A. Use of a newly developed ultrasound contrast medium for color Doppler evaluation in kidney transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31(1-2):1354-6.
- (64) Ferrer JM, Samsó JJ, Serrando JR, Valenzuela VF, Montoya SB, Docampo MM. Use of ultrasound contrast in the diagnosis of carotid artery occlusion. *J Vasc Surg* 2000; 31(4):736-41.
- (65) Forsberg F. Physics of ultrasound contrast agents. In: Goldberg BB, editor. *Ultrasound Contrast Agents*. Martin Dunitz Ltd, London; 1997. p. 9-20.
- (66) Forsberg F, Liu JB, Burns PN, Merton DA, Goldberg BB. Artifacts in ultrasonic contrast agent studies. *J Ultrasound Med* 1994; 13(5):357-65.
- (67) Forsberg F, Liu JB, Merton DA, Rawool NM, Goldberg BB. Parenchymal enhancement and tumor visualization using a new sonographic contrast agent. *J Ultrasound Med* 1995; 14(12):949-57.
- (68) Forsberg F, Shi WT. Physics of contrast microbubbles. In: Goldberg BB, Raichlen JS, Forsberg F, editors. *Ultrasound Contrast Agents*. Martin Dunitz Ltd, London; 2001. p. 15-25
- (69) Fritzsche T, Heldmann D, Hauff P. Safety studies with Levovist. In: Dawson P., Cosgrove DO, Grainger R.O., editors. *Textbook of Contrast media*. Isis Medical Media Ltd. Oxford UK; 1999. p. 505-8.
- (70) Fujita Yet al. Assessment of the distribution of renal cortical blood flow by contrast ultrasonography. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1994; 36(3):218-226. Abstract.
- (71) Fürst G, Sitzler M, Hofer M, Steinmetz H, Hacklander T, Modder U. Kontrastmittelverstärkte farbkodierte Duplexsonographie hochgradiger Karotisstenosen. *Ultraschall Med* 1995; 16(3):140-4.
- (72) Gebel M, Caselitz M, Bowen-Davies PE, Weber S. A multicenter, prospective, open label, randomized, controlled phase IIIb study of SH U 508 a (Levovist) for Doppler signal enhancement in the portal vascular system. *Ultraschall Med* 1998; 19(4):148-56.
- (73) Goldberg BB, Liu JB, Burns PN, Merton DA, Forsberg F. Galactose-based intravenous sonographic contrast agent: experimental studies. *J Ultrasound Med* 1993; 12(8):463-70.
- (74) Goodwin JK, Holland M. Contrast echoaortography as an aid in the diagnosis of right-to-left shunting patent ductus arteriosus. *Vet Radiol Ultrasound* 1995; 36(2):157-9.
- (75) Gottlieb S, Ernst A, Meltzer RS. Effect of pressure on echocardiographic videodensity from sonicated albumin: an in vitro model. *J Ultrasound Med* 1995; 14(2):109-16.

- (76) Gramiak R, Shah PM. Echocardiography of the aortic root. *Invest Radiol* 1968; 3(5):356-66.
- (77) Guazzaroni M, Mari A, Politi C, Guazzaroni M, Remedi S, Mallarini G et al. [Ultrasound hysterosalpingography with levovist in the diagnosis of tubaric patency]. *Radiol Med (Torino)* 2001; 102(1-2):62-6.
- (78) Haerten R. Technik der Doppler- und Farbduplex-Sonographie. In: Bogdahn U, Becker G, Schlachetzki F, editors. *Echosignalverstärker und transkraniale Farbduplex-Sonographie*. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin - Wien; 1998. p. 78-92.
- (79) Hartley CJ, Cheirif J, Collier KR, Bravenec JS, Mickelson JK. Doppler quantification of echo-contrast injections in vivo. *Ultrasound Med Biol* 1993; 19(4):269-78.
- (80) Harvey CJ, Lim AK, Blomley MJ, Taylor-Robinson SD, Gedroyc WM, Cosgrove DO. Detection of an occult hepatocellular carcinoma using ultrasound with liver-specific microbubbles. *Eur Radiol* 2002; 12(Suppl 4):70-3.
- (81) Hashimoto M, Watanabe O, Hirano Y, Kato K, Watarai J. Use of carbon dioxide microbubble-enhanced sonographic angiography for transcatheter arterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 1997; 169(5):1307-10.
- (82) Hauff P, Fritzscht T, Reinhardt M, Weitschies W, Luders F, Uhlendorf V et al. Delineation of experimental liver tumors in rabbits by a new ultrasound contrast agent and stimulated acoustic emission. *Invest Radiol* 1997; 32(2):94-9.
- (83) Hausmann D, Sudhir K, Mullen WL, Fitzgerald PJ, Ports TA, Daniel WG et al. Contrast-enhanced intravascular ultrasound: validation of a new technique for delineation of the vessel wall boundary. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23(4):981-7.
- (84) Hirooka K, Miyatake K, Hanatani A, Komamura K, Nakatani S, Yasumura Y et al. Enhanced methods for visualizing myocardial perfusion with peripheral venous injection of levovist: application of triggered harmonic imaging and triggered harmonic power Doppler imaging techniques. *Int J Card Imaging* 2000; 16(4):233-46.
- (85) Hofstee DJ, Hoogland PH, Schimsheimer RJ, de Weerd AW. Contrast enhanced color duplex for diagnosis of subtotal stenosis or occlusion of the internal carotid artery. *Clin Neurol Neurosurg* 2000; 102(1):9-12.
- (86) Hohmann J, Skrok J, Puls R, Albrecht T. Charakterisierung fokaler Leberläsionen mit kontrastmittelgestütztem "low MI real time" Ultraschall und SonoVue. *Rofo Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bildgeb Verfahren* 2003; 175(6):835-43.
- (87) Holz K, Becker R, Schurmann R. Ultrasound in the investigation of tubal patency. A meta-analysis of three comparative studies of Echovist-200 including 1007 women. *Zentralbl Gynakol* 1997; 119(8):366-73.
- (88) Hosten N, Puls R, Sahimbas O, Balzer J, Urbank A, Felix R. Farb-Doppler-Sonographie bei der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit: Kontinuierliche Applikation eines Signalverstärkers. *Rofo Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bildgeb Verfahren* 1998; 169(5):495-8.
- (89) Hotzinger H. Endovaginale Sonographie in der Diagnostik des weiblichen Beckens. *Radiologe* 1994; 34(7):351-61.
- (90) House MK, Dowling RJ, King P, Bourke JL, Jardine C, Thomson KR et al. Doppler ultrasound (pre- and post-contrast enhancement) for detection of recurrent stenosis in stented renal arteries: preliminary results. *Australas Radiol* 2000; 44(1):36-40.
- (91) Huck K, Huck B. Funktionell orientierte angiologische Untersuchung mit den Dopplerverfahren. In: Huck K, editor. *Kursbuch Doppler- und Duplexsonographie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York; 2001. p. 31-111.
- (92) Hughes DI, Duck FA. Automatic attenuation compensation for ultrasonic imaging. *Ultrasound Med Biol* 1997; 23(5):651-64.
- (93) Ilkiw JE, Pascoe PJ. Isoflurane: Pros and cons. In: Schmidt-Oechtering GU, Alef M, editors. *Neue Aspekte der Veterinärnarkose und Intensivtherapie*. Berlin: Blackwell Wissenschafts-Verlag; 1995. p. 102-4.

- (94) Ismail S, Jayaweera AR, Skyba DM, Sklenar J, Goodman NC, Kaul S. Integrated backscatter and digital acquisition during myocardial contrast echocardiography: is there an advantage over conventional echocardiography for intracoronary injections? *J Am Soc Echocardiogr* 1995; 8(4):453-64.
- (95) Kamiyama N, Moriyasu F, Kono Y, Mine Y, Nada T, Yamasaki N. Investigation of the "Flash Echo" signal associated with an ultrasound contrast agent. *Radiology* 1996; 201.
- (96) Kaps M, Legemate DA, Ries F, Ackerstaff RG, Markus H, Pezzoll C et al. SonoVue in transcranial Doppler investigations of the cerebral arteries. *J Neuroimaging* 2001a; 11(3):261-7.
- (97) Kaps M, Seidel G, Algermissen C, Gerriets T, Broillet A. Pharmacokinetics of echocontrast agent infusion in a dog model. *J Neuroimaging* 2001b; 11(3):298-302.
- (98) Kaps M, Seidel G, Bokor D, Modrau B, Algermissen C. Safety and ultrasound-enhancing potentials of a new sulfur hexafluoride- containing agent in the cerebral circulation. *J Neuroimaging* 1999; 9(3):150-4.
- (99) Kashiwagi Yet al. Effect of oxygen inhalation on myocardial opacification using levovist: an animal experimental study. *J Cardiol* 2001; 37(6):335-340. Abstract.
- (100) Kaul S. Contrast echocardiography and myocardial perfusion. *Clin Cardiol* 1991; 14(11 Suppl 5):15-8.
- (101) Kaul S, Kelly P, Oliner JD, Glasheen WP, Keller MW, Watson DD. Assessment of regional myocardial blood flow with myocardial contrast two-dimensional echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 1989; 13(2):468-82.
- (102) Kedar RP, Cosgrove D, McCready VR, Bamber JC, Carter ER. Microbubble contrast agent for color Doppler US: effect on breast masses. *Radiology* 1996; 198(3):679-86.
- (103) Keller MW, Glasheen W, Kaul S. Albutex: a safe and effective commercially produced agent for myocardial contrast echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 1989; 2(1):48-52.
- (104) Kiefer I, Himmelsbach P, Alef M, Oechtering G, editors. Einsatz von Signalverstärkern bei der abdominalen Sonographie des Hundes. 25. Ultraschall Dreiländertreffen degum-sgum-ögum, Nürnberg 2001a.
- (105) Kiefer I, Himmelsbach P, Alef M, Oechtering G, editors. Abdominal Sonography with Coded Harmonic Angio in small animals. Annual Meeting of the European Association of Veterinary Diagnostic Imaging 2001, Paris 2001b.
- (106) Klews P-M. Die Physik und Technik der Ultraschalldiagnoseverfahren. In: Kubale R, Stiegler H, editors. Farbkodierte Duplexsonographie. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York; 2002. p. 1-69.
- (107) Köhler W, Schachtel G, Voleske P. Biostatistik. 3 ed. Springer Verlag, Berlin; 2002.
- (108) Kratzer W, Kachele V, Merkle E, Mason RA, Buchner M, von Tirpitz C et al. Kontrastverstärkte Power-Doppler-Sonographie: Vergleich verschiedener Applikationsformen des Ultraschallkontrastverstärkers Levovist. *Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 2000; 172(5):443-8.
- (109) Kuersten B, Murthy TH, Li P, Liu Z, Locricchio E, Baisch C et al. Ultraharmonic myocardial contrast imaging: in vivo experimental and clinical data from a novel technique. *J Am Soc Echocardiogr* 2001; 14(9):910-6.
- (110) Lacourciere Y, Levesque J, Onrot JM, Wilson SR, Szaky E, Thibodeau M et al. Impact of Levovist ultrasonographic contrast agent on the diagnosis and management of hypertensive patients with suspected renal artery stenosis: a Canadian multicentre pilot study. *Can Assoc Radiol J* 2002; 53(4):219-27.
- (111) Lefevre F, Correas JM, Briancon S, Helenon O, Kessler M, Claudon M. Contrast-enhanced sonography of the renal transplant using triggered pulse-inversion imaging: preliminary results. *Ultrasound Med Biol* 2002; 28(3):303-14.
- (112) Lencioni R, Pinto S, Napoli V, Bartolozzi C. Noninvasive assessment of renal artery stenosis: current imaging protocols and future directions in ultrasonography. *J Comput Assist Tomogr* 1999; 23(Suppl 1):95-100.

- (113) Leong-Poi H, Le E, Rim SJ, Sakuma T, Kaul S, Wei K. Quantification of myocardial perfusion and determination of coronary stenosis severity during hyperemia using real-time myocardial contrast echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2001; 14(12):1173-82.
- (114) Lindner JR, Skyba DM, Goodman NC, Jayaweera AR, Kaul S. Changes in myocardial blood volume with graded coronary stenosis. *Am J Physiol* 1997; 272(1 Pt 2):567-75.
- (115) Linka AZ, Sklenar J, Wei K, Jayaweera AR, Skyba DM, Kaul S. Assessment of transmural distribution of myocardial perfusion with contrast echocardiography. *Circulation* 1998; 98(18):1912-20.
- (116) Llull JB. Sonovue (BR-1). In: Dawson P., Cosgrove DO, Grainger R.O., editors. *Textbook of Contrast media*. Isis Medical Media Ltd. Oxford UK; 1999. p. 532-4.
- (117) Ludwig GD. The Velocity of sound through tissues and the acoustic impedance of tissues. *J Acoust Soc Am* 1950; 22:862-6.
- (118) Maresca G, Summaria V, Colagrande C, Manfredi R, Calliada F. New prospects for ultrasound contrast agents. *Eur J Radiol* 1998; 27 Suppl 2:S171-S178.
- (119) Masugata H, Lafitte S, Peters B, Strachan GM, DeMaria AN. Comparison of real-time and intermittent triggered myocardial contrast echocardiography for quantification of coronary stenosis severity and transmural perfusion gradient. *Circulation* 2001; 104(13):1550-6.
- (120) Matsuda Y, Yabuuchi I. Hepatic tumors: US contrast enhancement w.
- (121) Maurer G. Contrast echocardiography: clinical utility. *Echocardiography* 2000; 17(6 Pt 2):5-9.
- (122) Meza M, Greener Y, Hunt R, Perry B, Revall S, Barbee W et al. Myocardial contrast echocardiography: reliable, safe, and efficacious myocardial perfusion assessment after intravenous injections of a new echocardiographic contrast agent. *Am Heart J* 1996; 132(4):871-81.
- (123) Mills JD, Fischer D, Villanueva FS. Coronary collateral development during chronic ischemia: serial assessment using harmonic myocardial contrast echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(2):618-24.
- (124) Missouriis CG, Allen CM, Balen FG, Buckenham T, Lees WR, MacGregor GA. Non-invasive screening for renal artery stenosis with ultrasound contrast enhancement. *J Hypertens* 1996; 14(4):519-24.
- (125) Morel DR, Schwieger I, Hohn L, Terretz J, Llull JB, Cornioley YA et al. Human pharmacokinetics and safety evaluation of SonoVue, a new contrast agent for ultrasound imaging. *Invest Radiol* 2000; 35(1):80-5.
- (126) Mulvagh SL, Foley DA, Aeschbacher BC, Klarich KK, Seward JB. Second harmonic imaging of an intravenously administered echocardiographic contrast agent: Visualization of coronary arteries and measurement of coronary blood flow. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27(6):1519-25.
- (127) Muro T, Hozumi T, Watanabe H, Yamagishi H, Yoshiyama M, Takeuchi K et al. Assessment of myocardial perfusion abnormalities by intravenous myocardial contrast echocardiography with harmonic power Doppler imaging: comparison with positron emission tomography. *Heart* 2003; 89(2):145-9.
- (128) Murphy KJ, Bude RO, Dickinson LD, Rubin JM. Use of intravenous contrast material in transcranial sonography. *Acad Radiol* 1997; 4(8):577-82.
- (129) Neuerburg-Heusler D, Hennerici M. *Ultraschallverfahren. Gefäßdiagnostik mit Ultraschall - Doppler- und farbkodierte Duplexsonographie der großen Körperarterien und -venen*. Thieme Verlag Stuttgart; 1995. p. 1-23.
- (130) Nicolau C, Catala V, Vilana R, Gilibert R, Bianchi L, Sole M et al. Evaluation of hepatocellular carcinoma using SonoVue, a second generation ultrasound contrast agent: correlation with cellular differentiation. *Eur Radiol* 2004; 14(6):1092-9.
- (131) Numata K, Isozaki T, Ozawa Y, Sakaguchi T, Kiba T, Kubota T et al. Percutaneous ablation therapy guided by contrast-enhanced sonography for patients with hepatocellular carcinoma. *Am J Roentgenol* 2003; 180(1):143-9.

- (132) Nygren AT, Jogestrand T. Detection of patent foramen ovale by transcranial Doppler and carotid duplex ultrasonography: a comparison with transoesophageal echocardiography. *Clin Physiol* 1998; 18(4):327-30.
- (133) Olivier NB. Congnital heart diseases in dogs. In: Fox PR, editor. *Canine and Feline Cardiology*. 1988. p. 357-89.
- (134) Ota T, Kisslo J, von Ramm OT, Yoshikawa J. Real-time, volumetric echocardiography: usefulness of volumetric scanning for the assessment of cardiac volume and function. *J Cardiol* 2001; 37(Suppl 1):93-101.
- (135) Pelberg RA, Wei K, Kamiyama N, Sklenar J, Bin J, Kaul S. Potential advantage of flash echocardiography for digital subtraction of B-mode images acquired during myocardial contrast echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 1999; 12(2):85-93.
- (136) Petrick J, Zomack M, Schlieff R. An investigation of the relationship between ultrasound echo enhancement and Doppler frequency shift using a pulsatile arterial flow phantom. *Invest Radiol* 1997; 32(4):225-35.
- (137) Phillips D, Chen Q, Baggs R, Rubens D, Violante M, Parker KJ. The particle/bubble ultrasound contrast agent. In: Goldberg BB, editor. *Ultrasound Contrast Agents*. Martin Dunitz Ltd, London; 1997. p. 149-58.
- (138) Porter TR, Li S, Kilzer K, Deligonul U. Effect of a Residual Stenosis by Quantitative Angiography on the Myocardial Contrast Defect Observed Following Coronary Reperfusion Using Intermittent Harmonic Ultrasound Imaging and Intravenous Perfluorocarbon Ultrasound Contrast. *Echocardiography* 1999; 16(8):785-97.
- (139) Porter TR, Xie F. Clinical experience in the detection of coronary artery disease with myocardial contrast echocardiography. *Echocardiography* 2002; 19(5):399-407.
- (140) Porter TR, Xie F, Li S. Differences in Myocardial Contrast Produced with Transient Response Imaging When Using Intravenous Microbubbles Containing Gases of Different Molecular Weight. *Echocardiography* 1997; 14(5):441-6.
- (141) Porter TR, Li S, Kilzer K, Deligonul U. Correlation between quantitative angiographic lesion severity and myocardial contrast intensity during a continuous infusion of perfluorocarbon-containing microbubbles. *J Am Soc Echocardiogr* 1998; 11(7):702-10.
- (142) Poulsen Nautrup C. Physikalische Grundlagen. In: Poulsen Nautrup C, Tobias R, editors. *Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze*. Schlütersche Verlagsgesellschaft Hannover; 1998a. p. 21-30.
- (143) Poulsen Nautrup C. Technische Grundlagen. In: Poulsen Nautrup C, Tobias R, editors. *Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze*. Schlütersche Verlagsgesellschaft Hannover; 1998b. p. 31-59.
- (144) Precht M., Kraft R. *Biostatistik 2*. 5 ed. Oldenbourg, R. Verlag GmbH; 1993.
- (145) Price RJ, Kaul S. Contrast ultrasound targeted drug and gene delivery: an update on a new therapeutic modality. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2002; 7(3):171-80.
- (146) Puls R, Hosten N, Lemke M, Teichgraber UK, Steinkamp HK, Felix R. Perfusion abnormalities of kidney parenchyma: microvascular imaging with contrast-enhanced color and power Doppler ultrasonography-- preliminary results. *J Ultrasound Med* 2000; 19(12):817-21.
- (147) Quaia E, Bertolotto M, Dalla PL. Characterization of liver hemangiomas with pulse inversion harmonic imaging. *Eur Radiol* 2002; 12(3):537-44.
- (148) Ratanakorn D, Myers LG, Tegeler CH. Detection of air microbubbles in the internal jugular vein after intravenous injection of contrast agent for the diagnosis of patent foramen ovale. *J Clin Ultrasound* 2002; 30(8):506-9.
- (149) Ries F. Clinical experience with echo-enhanced transcranial Doppler and duplex imaging. *J Neuroimaging* 1997; 7(Suppl 1):15-21.
- (150) Ries F, Honisch C, Lambertz M, Schlieff R. A transpulmonary contrast medium enhances the transcranial Doppler signal in humans. *Stroke* 1993; 24(12):1903-9.

- (151) Ries F, Kaal K, Schultheiss R, Solymosi L, Schlieff R. Air microbubbles as a contrast medium in transcranial Doppler sonography. A pilot study. *J Neuroimaging* 1991; 1(4):173-8.
- (152) Rooney JA. Hemolysis near an ultrasonically pulsating gas bubble. *Science* 1970; 169(948):869-71.
- (153) Rooney JA. Shear as a mechanism for sonically induced biological effects. *J Acoust Soc Am* 1972; 52(6):1718-24.
- (154) Rosenkranz K, Zendel W, Langer R, Heim T, Schubeus P, Scholz A et al. Contrast-enhanced transcranial Doppler US with a new transpulmonary echo contrast agent based on saccharide microparticles. *Radiology* 1993; 187(2):439-43.
- (155) Rovai D, Lubrano V, Vassalle C, Paterni M, Marini C, Kozakova M et al. Detection of perfusion defects during coronary occlusion and myocardial reperfusion after thrombolysis by intravenous administration of the echo-enhancing agent BR1. *J Am Soc Echocardiogr* 1998; 11(2):169-80.
- (156) Scherer PW, Gobran S, Aukburg SJ, Baumgardner JE, Bartkowski R, Neufeld GR. Numerical and experimental study of steady-state CO₂ and inert gas washout. *J Appl Physiol* 1988; 64(3):1022-9.
- (157) Schering Deutschland GmbH. Levovist Produktinformation. Max-Dohrn-Strasse 10, D-10589 Berlin; 1997
- (158) Schlieff R. Developments in echo-enhancing agents. *Clin Radiol* 1996; 51 Suppl 1:5-7.
- (159) Schlieff R. Galactose-based echo-enhancing agents. In: Goldberg BB, editor. *Ultrasound Contrast Agents*. Martin Dunitz Ltd, London; 1997. p. 75-82.
- (160) Schlieff R, Bauer A. Ultraschallkontrastmittel. Neue Perspektiven in der Ultraschalldiagnostik. *Radiologe* 1996; 36(1):51-7.
- (161) Schmid V, Lang JH. Intravascular ultrasound contrast media. *Vet Radiol Ultrasound* 1995; 36(4):307-14.
- (162) Schmidt-Oechtering GU. Atmung und Beatmung bei Hund und Katze. In: Schmidt-Oechtering GU, Alef M, editors. *Neue Aspekte der Veterinärnarkose und Intensivtherapie*. Berlin: Blackwell Wissenschafts-Verlag; 1995. p. 105-10.
- (163) Schmidt-Oechtering GU, Alef M. Injektionsnarkose für längere Eingriffe. In: Schmidt-Oechtering GU, Alef M, editors. *Neue Aspekte der Veterinärnarkose und Intensivtherapie*. Berlin: Blackwell Wissenschafts-Verlag; 1995. p. 46-56.
- (164) Schneider M. Characteristics of SonoVue trade mark. *Echocardiography* 1999a; 16(7 Pt 2):743-6.
- (165) Schneider M. SonoVue, a new ultrasound contrast agent. *Eur Radiol* 1999b; 9(Suppl 3):347-8.
- (166) Schneider M. Design of an ultrasound contrast agent for myocardial perfusion. *Echocardiography* 2000; 17(6 Pt 2):11-6.
- (167) Schneider M. Contrast media in ultrasonography: from synthesis to clinical use. The SonoVue example. *Ann.Cardiol.Angeiol.(Paris)* 2002; 51(4):218-220.Abstract.
- (168) Schneider M, Arditi M, Barrau MB, Brochet J, Broillet A, Ventrone R et al. BR1: a new ultrasonographic contrast agent based on sulfur hexafluoride-filled microbubbles. *Invest Radiol* 1995; 30(8):451-7.
- (169) Schneider M, Broillet A, Arditi M, Ventrone R, Puginier J. Doppler intensitometry with BR1, a sonographic contrast agent. *Acad Radiol* 1996; 3(Suppl 2):308-11.
- (170) Schrope B, Newhouse VL, Uhlendorf V. Simulated capillary blood flow measurement using a nonlinear ultrasonic contrast agent. *Ultrason Imaging* 1992; 14(2):134-58.
- (171) Schumann PA, Christiansen JP, Quigley RM, McCreery TP, Sweitzer RH, Unger EC et al. Targeted-microbubble binding selectively to GPIIb/IIIa receptors of platelet thrombi. *Invest Radiol* 2002; 37(11):587-93.

- (172) Schwarz KQ, Becher H, Schimpfky C, Vorwerk D, Bogdahn U, Schlieff R. Doppler enhancement with SH U 508A in multiple vascular regions. *Radiology* 1994; 193(1):195-201.
- (173) Schwarz KQ, Bezante GP, Chen X. When can Doppler be used in place of integrated backscatter as a measure of scattered ultrasound intensity? *Ultrasound Med Biol* 1995; 21(2):231-42.
- (174) Schwarz KQ, Bezante GP, Chen X, Phillips D, Schlieff R. Hemodynamic effects of microbubble echo contrast. *J Am Soc Echocardiogr* 1996a; 9(6):795-804.
- (175) Schwarz KQ, Bezante GP, Chen X, Schlieff R. Quantitative echo contrast concentration measurement by Doppler sonography. *Ultrasound Med Biol* 1993; 19(4):289-97.
- (176) Schwarz KQ, Chen X, Bezante GP, Phillips D, Schlieff R. The Doppler kinetics of microbubble echo contrast. *Ultrasound Med Biol* 1996b; 22(4):453-62.
- (177) Schweikert K, Operschall C, Lull JB, Lyrer P. Transcranial duplex imaging with a sulfurhexafluoride echocontrast agent: enhancement and diagnostic quality. *J Neuroimaging* 2002; 12(1):19-27.
- (178) Sehgal CM, Arger PH, Pugh CR. Sonographic enhancement of renal cortex by contrast media. *J Ultrasound Med* 1995; 14(10):741-8.
- (179) Seidel G, Beller KD, Aaslid R, Hummel RP, Thibaut U, Vidal-Langwasser M et al. The influence of different gases on acoustic properties of a spherosome-based ultrasound contrast agent (BY963). A transcranial Doppler-sonography study. *J Neuroimaging* 1998; 8(2):83-7.
- (180) Seidel G, Vidal-Langwasser M, Algermissen C, Gerriets T, Kaps M. The influence of Doppler system settings on the clearance kinetics of different ultrasound contrast agents. *Eur J Ultrasound* 1999; 9(2):167-75.
- (181) Senior R. Left ventricular contrast echocardiography: role for evaluation of function and structure. *Echocardiography* 2002; 19(7 Pt 2):615-20.
- (182) Shi WT, Forsberg F, Liu JB, Rawool NM, Goldberg BB. Blood flow estimation with harmonic Flash Echo Imaging. *Ultrason Imaging* 2001; 23(3):161-70.
- (183) Shirato K, Morimoto M, Tomita N, Kokawa A, Sugimori K, Saito T et al. Hepatocellular carcinoma: therapeutic experience with percutaneous ethanol injection under real-time contrast-enhanced color Doppler sonography with the contrast agent Levovist. *J Ultrasound Med* 2002; 21(9):1015-22.
- (184) Siegert J. Grundlagen der Ultraschallkontrastmittel. In: Kubale R, Stiegler H, editors. *Farbkodierte Duplexsonographie*. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York; 2002. p. 95-104.
- (185) Sirlin CB, Girard MS, Baker KG, Steinbach GC, Deiranieh LH, Mattrey RF. Effect of acquisition rate on liver and portal vein enhancement with microbubble contrast. *Ultrasound Med Biol* 1999; 25(3):331-8.
- (186) Sitzler M, Rose G, Furst G, Siebler M, Steinmetz H. Characteristics and clinical value of an intravenous echo-enhancement agent in evaluation of high-grade internal carotid stenosis. *J Neuroimaging* 1997; 7(Suppl 1):22-5.
- (187) Smith MD, Elion JL, McClure RR, Kwan OL, DeMaria AN. Left heart opacification with peripheral venous injection of a new saccharide echo contrast agent in dogs. *J Am Coll Cardiol* 1989; 13(7):1622-8.
- (188) Sponheim N, Myhrum M. An in vitro study on the influence of limited frequency resolution on contrast agent-enhanced Doppler signals. *Ultrasonics* 1996; 34(2-5):599-601.
- (189) Starritt HC, Duck FA, Humphrey VF. Forces acting in the direction of propagation in pulsed ultrasound fields. *Phys Med Biol* 1991; 36(11):1465-74.
- (190) Takeuchi M, Yoshitani H, Miyazaki C, Haruki N, Otani S, Sakamoto K et al. Color kinesis during contrast-enhanced dobutamine stress echocardiography. *Circ J* 2003; 67(1):49-53.
- (191) Tanaka S, Ioka T, Oshikawa O, Hamada Y, Yoshioka F. Dynamic sonography of hepatic tumors. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 177(4):799-805.

- (192) Tani T, Tanabe K, Ono M, Katayama M, Ibuki M, Mizoguchi S et al. Quantitative assessment of harmonic power Doppler myocardial perfusion imaging with intravenous Levovist in patients with myocardial infarction: comparison with myocardial viability evaluated by thallium- 201 single-photon emission computed tomography and coronary flow reserve. *Eur J Echocardiogr* 2002; 3(4):287-97.
- (193) Tiemann K. Clinical value of myocardial contrast echocardiography in chronic coronary artery disease. *Echocardiography* 2002; 19(7 Pt 2):635-9.
- (194) Totaro R, Del Sette M, Marini C. Echocontrast agents in neurosonology. *Funct Neurol* 1999; 14(4):235-9.
- (195) Toyoda H, Kumuda T, Nakano S, Takeda I, Sugiyama K, Kiriya S et al. Significance of tumor vascularity as a predictor of long-term prognosis in patients with small hepatocellular carcinoma treated by percutaneous ethanol injection therapy. *J Hepatol* 1997; 26(5):1055-62.
- (196) Uchimoto R, Niwa K, Tsuda N, Miyazawa T, Brautigam M. Comparison of the efficacy of two air-based contrast agents in dogs. *Eur J Ultrasound* 2000; 11(2):127-33.
- (197) Uggowitz M, Kugler C, Groll R, Mischinger HJ, Stacher R, Fickert P et al. Sonographic evaluation of focal nodular hyperplasias (FNH) of the liver with a transpulmonary galactose-based contrast agent (Levovist). *Br J Radiol* 1998; 71(850):1026-32.
- (198) Ujino K et al. Novel method for assessing myocardial perfusion: visualization and measurement of intramyocardial coronary blood flow in the entire left ventricular wall using contrast enhanced, high frequency Doppler echocardiography. *Jpn.Heart J.* 2001; 42(1):101-113.Abstract.
- (199) Ungemach FR. Umrechnung von Humandosierungen für Tiere. In: Löscher W, Ungemach FR, Kroker R, editors. Berlin und Hamburg: Paul Parey; 1994. p. 402-3.
- (200) Unger EC, McCreery TP, Sweitzer RH, Shen D, Wu G. In vitro studies of a new thrombus-specific ultrasound contrast agent. *Am J Cardiol* 1998; 81(12A):58-61.
- (201) Unger EC, Wu Q, McCreery T, Matsunaga TO. Thrombus-specific contrast agents for imaging and thrombolysis. In: Goldberg BB, Raichlen JS, Forsberg F, editors. *Ultrasound Contrast Agents*. Martin Dunitz, London; 2001. p. 337-45.
- (202) Valentini S, Fedrigo M, Negrini S, Spinella G. Utilizzazione di un mezzo di contrasto transpolmonare (Levovist) nell'esame ecografico vascolare nel cane. *Veterinaria* 1999.
- (203) Vilana R, Llovet JM, Bianchi L, Sanchez M, Pages M, Sala M et al. Contrast-enhanced power Doppler sonography and helical computed tomography for assessment of vascularity of small hepatocellular carcinomas before and after percutaneous ablation. *J Clin Ultrasound* 2003; 31(3):119-28.
- (204) Villanueva FS, Glasheen WP, Sklenar J, Kaul S. Characterization of spatial patterns of flow within the reperfused myocardium by myocardial contrast echocardiography. Implications in determining extent of myocardial salvage. *Circulation* 1993; 88(6):2596-606.
- (205) von Herbay A, Vogt C, Haussinger D. Pulse inversion sonography in the early phase of the sonographic contrast agent Levovist: differentiation between benign and malignant focal liver lesions. *J Ultrasound Med* 2002; 21(11):1191-200.
- (206) von Herbay A, Vogt C, Haussinger D. Differentiation between benign and malignant hepatic lesions: utility of color stimulated acoustic emission with the microbubble contrast agent Levovist. *J Ultrasound Med* 2004; 23(2):207-15.
- (207) Vuille C, Nidorf M, Morrissey RL, Newell JB, Weyman AE, Picard MH. Effect of static pressure on the disappearance rate of specific echocardiographic contrast agents. *J Am Soc Echocardiogr* 1994; 7(4):347-54.
- (208) Walker KW, Pantely GA, Sahn DJ. Ultrasound-mediated destruction of contrast agents. Effect of ultrasound intensity, exposure, and frequency. *Invest Radiol* 1997; 32(12):728-34.
- (209) Warren PS, Garrek WJ, Kossoff G. The liquid-filled stomach: an ultrasonic window to the upper abdomen. *J Clin Ultrasound* 1978; 6:315-20.

-
- (210) Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, Linka A, Skyba DM, Kaul S. Basis for detection of stenosis using venous administration of microbubbles during myocardial contrast echocardiography: bolus or continuous infusion? *J Am Coll Cardiol* 1998; 32(1):252-60.
- (211) Wei K, Le E, Bin JP, Coggins M, Thorpe J, Kaul S. Quantification of renal blood flow with contrast-enhanced ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37(4):1135-40.
- (212) Weiß C. Basiswissen Medizinische Statistik. 2 ed. Springer Verlag, Berlin; 2002.
- (213) Weskott HP. Ultraschall Diagnostik mit Kontrastmittel - Ein Überblick. Siloah Krankenhaus, Klinikum Hannover, Deutschland. 1999. Unpublished Work.
- (214) Wible J, Jr., Wojdyla J, Bugaj J, Brandenburger G. Effects of inhaled gases on the ultrasound contrast produced by microspheres containing air or perfluoropropane in anesthetized dogs. *Invest Radiol* 1998; 33(12):871-9.
- (215) Wrigley R, Bahr A, editors. Detection of Portosystemic venous shunting in dogs by contrast assisted ultrasonography. Sixth Annual Conference of EAVDI, Vienna, Austria 1999.
- (216) Yamamoto K, Shiraki K, Deguchi M, Sugimoto K, Sakai T, Ohmori S et al. Diagnosis of hepatocellular carcinoma using digital subtraction imaging with the contrast agent, Levovist: comparison with helical CT, digital subtraction angiography, and US angiography. *Oncol Rep* 2002; 9(4):789-92.
- (217) Yang CC, Chen CH, Yeh YH. Enhanced color flows in hepatic tumors. *Hepatogastroenterology* 2002; 49(48):1506-9.

ANHANG – ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:	Mikrobläschen Resonanz	14
Abbildung 2:	Die Oszillation eines Mikrobläschens unter dem Einfluss steigender akustischer Energie	15
Abbildung 3:	Mikroskopische Vergrößerung eines Galaktosemikropartikels mit Gastaschen	21
Abbildung 4:	SonoVue® Struktur	26
Abbildung 5:	Zeit-Signalintensitätskurven im Vergleich von Levovist® Bolus- und Infusionsapplikation	36
Abbildung 6:	Duplex-Bild (B-Modus und PW-Doppler) vor der Levovist® Infusionsapplikation	55
Abbildung 7:	Duplex-Bild (B-Modus und PW-Doppler) während der Levovist® Infusionsapplikation	56
Abbildung 8:	Zeit-Signalintensitätskurve Levovist® Bolusapplikation	57
Abbildung 9:	Zeit-Signalintensitätskurve Levovist® Infusionsapplikation	59
Abbildung 10:	Zeit-Signalintensitätskurve SonoVue® Bolusapplikation	60
Abbildung 11:	Zeit-Signalintensitätskurve SonoVue® Infusionsapplikation	62
Abbildung 12:	Kontrastdauer über Nulllinie	64
Abbildung 13:	Kontrastdauer über 6 Dezibel	64
Abbildung 14:	Kontrastdauer über 12 Dezibel	64
Abbildung 15:	Kontrastdauer über 18 Dezibel	64
Abbildung 16:	Maximal erzielte Verstärkung	65
Abbildung 17:	Fläche unter der Kurve bei einer Verstärkung über 6 Dezibel	66
Abbildung 18:	Fläche unter der Kurve bei einer Verstärkung über 12 Dezibel	66
Abbildung 19:	Fläche unter der Kurve bei einer Verstärkung über 18 Dezibel	66
Abbildung 20:	Duplex-Bild (B-Modus und PW-Doppler) vor und nach Kontrastmittelapplikation.	73

ANHANG - TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:	Signalement der untersuchten Hunde	44
Tabelle 2:	Anzahl der Messergebnisse für die untersuchten Parameter in den einzelnen Gruppen	52
Tabelle 3:	Ergebnisse der untersuchten Parameter nach Levovist [®] Bolusapplikation	58
Tabelle 4:	Ergebnisse der untersuchten Parameter nach Levovist [®] Infusionsapplikation	59
Tabelle 5:	Ergebnisse der untersuchten Parameter nach SonoVue [®] Bolusapplikation	61
Tabelle 6:	Ergebnisse der untersuchten Parameter nach Sonovue [®] Infusionsapplikation	62
Tabelle 7:	Deskriptive Statistik der einzelnen Untersuchungsgruppen	63
Tabelle 8:	Deskriptive Statistik der zusammengefassten Gruppen	67
Tabelle 9:	Signifikanzniveau für die Unterschiede einzelner Untersuchungsgruppen	68
Tabelle 10:	Signifikanzniveau für die Unterschiede der nach Ultraschallkontrastmittel zusammengefassten Gruppen	69
Tabelle 11:	Signifikanzniveau für die Unterschiede der nach Applikationsformen zusammengefassten Gruppen	69
Tabelle 12:	p-Werte der Wechselwirkung für die Unterschiede der zusammengefassten Gruppen	70
Tabelle 13:	Korrelationsanalyse zwischen den Parametern und der Körpermasse in den einzelnen Untersuchungsgruppen	71
Tabelle 14:	Mittelwerte der bestimmten Parameter der einzelnen Untersuchungsgruppen	97

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Gerhard Oechtering, der nicht nur das Thema dieser Arbeit ins Leben gerufen, sondern auch die technischen, fachlichen und organisatorischen Voraussetzungen für ihr Gelingen geschaffen hat möchte ich sehr herzlich danken. Seine Anregungen und konstruktive Kritik trugen wesentlich zu der Fertigstellung dieser wissenschaftlichen Arbeit bei. Daneben ermöglichte mir Prof. Dr. Oechtering auch die Ausbildung zum Fachtierarzt für Klein- und Heimtiere wofür ich ihm ebenso dankbar bin.

Dank gilt insbesondere auch Herrn Dr. Ingmar Kiefer nicht nur für die vielfältige fachliche Unterstützung in Theorie und Praxis bei der unmittelbaren Durchführung dieser Arbeit sondern auch für seine weit darüber hinaus gehende freundschaftliche Betreuung. Er gab mir stets auch in seiner Freizeit fachkundige Hilfestellung und motivierte mich ferner in schwierigen Phasen der Entstehung dieser Arbeit voranzuschreiten. Nicht zuletzt verdanke ich Herrn Dr. Kiefer meine Ausbildung in der sonographischen Diagnostik die nicht nur Voraussetzung für das Zustandekommen dieser Promotionsschrift war, sondern auch einen sehr wichtigen Grundstein meines beruflichen Werdegangs darstellt.

Für die kompetente fachliche Beratung und die Bereitstellung der Analyseeinheit für die kontrastverstärkten Ultraschalluntersuchungen möchte ich Herrn Dr. Peter Hauff, Herrn Michael Reinhardt und Herrn Dr. Frank Scholle von der Firma Schering Ag, Berlin meinen Dank aussprechen. Desgleichen danke ich Herrn Winfried Randhan, Firma Bracco international und Herrn Dr. Peter Solleder, Firma Altana Pharma, Konstanz für die fachkundige Unterstützung bei der Planung der Untersuchungsmethodik.

Herrn Dr. Hans-Peter Weskott, Krankenhaus Siloah, Hannover danke ich für die geduldige Beantwortung meiner Fragen über die Anwendung von Ultraschallkontrastmitteln und für die Möglichkeit in seiner Abteilung zu hospitieren.

Bei Herrn Jörg Reizte der Firma MoReData möchte ich mich für die Hilfestellung bei der statistischen Auswertung der Untersuchungsergebnisse bedanken.

Meinen Eltern gebührt ganz besonderer Dank für die weitreichende persönliche und finanzielle Unterstützung bei allen Belangen außerhalb der fachlichen Fragestellungen, ohne die das Entstehen dieser Arbeit kaum vorstellbar gewesen wäre. Zudem möchte ich meiner lieben Frau

die mich ebenso wie meine Eltern besonders in schwierigen Phasen dieser Arbeit motivierend unterstützt hat herzlich danken.

Nicht zuletzt danke ich Frau PD Dr. Michaela Alef für die organisatorische Mithilfe bei der Durchführung der Untersuchungen und für ihre fachlich fundierte Beratung bei anästhetischen Fragestellungen und der Gestaltung der Promotionsschrift. Auch möchte ich meiner Kollegin Franziska Müller für die tatkräftige Unterstützung bei einigen Untersuchungen und der Datenanalyse danken.