

MOŽNOSTI VYUŽITÍ KONTRASTNÍ ULTRASONOGRAFIE (CEUS) V DIAGNOSTICKÉM ALGORITMU LOŽISKOVÝCH ZMĚN MLÉČNÉ ŽLÁZY

THE POSSIBILITIES OF CONTRAST-ENHANCED ULTRASOUND IN THE
DIAGNOSTIC ALGORITHM OF BREAST LESIONS

přehledový článek

Eva Janů¹

Sylva Rybníčková¹

Karel Dvořák²

Jiřina Little²

Monika Schneiderová¹

Vlastimil Válek²

¹Oddělení radiologie, Masarykův
onkologický ústav, Brno

²Klinika radiologie a nukleární
medicíny FN, Brno-Bohunice

Přijato: 15. 8. 2018.

Korespondenční adresa:

MUDr. Eva Janů
Masarykův onkologický ústav,
Oddělení radiologie
Žlutý kopec 7, 656 53 Brno
e-mail: eva.janu@mou.cz

Konflikt zájmů: žádný.

Hlavní stanovisko práce

Článek se zabývá metodikou kontrastní
ultrasonografie (CEUS) ložiskových změn prsu
a otázkou jejího zařazení do každodenní praxe
radiologa.

SOUHRN

Janů E, Rybníčková S, Dvořák K, Little J,
Schneiderová M, Válek V. Možnosti využití
kontrastní ultrasonografie (CEUS) v dia-
gnostickém algoritmu ložiskových změn
mléčné žlázy

S rozvojem ultrazvukové diagnostiky pro-
nikají do každodenní praxe i moderní
metody, jakými je například kontrastní
ultrasonografie (CEUS). Tato metoda si
již vydobyla pevné místo v algoritmu zob-
razování ložiskových změn jater a ledvin.
Její využití v ostatních oblastech je zatím
spíše okrajovou záležitostí. Na téma využití
metody CEUS v diferenciální diagnostice
ložiskových změn prsu najdeme v zahraniční
literatuře již řadu prací. Následující text se
zabývá metodikou vyšetření CEUS ložisek
prsu a otázkou využití a jejího zařazení do
každodenní praxe radiologa.

Klíčová slova: kontrastní ultrasonogra-
fie, CEUS, prsní léze, kvantitativní analýza,
kvalitativní analýza, karcinom prsu.

Major statement

The article discusses the methodology of contrast-
enhanced ultrasound (CEUS) of breast lesions and
the possibility to include this method into the daily
radiology practice.

SUMMARY

Janů E, Rybníčková S, Dvořák K, Little J,
Schneiderová M, Válek V. The possibilities
of Contrast-enhanced ultrasound in the dia-
gnostic algorithm of breast lesions

With the development of ultrasound ima-
ging modern methods such as contrast-
enhanced ultrasound (CEUS) have become
part of everyday practice. This imaging met-
hod has already gained an important role in
the diagnostic algorithm of liver and kidney
lesions. However, its use in other fields is
still a marginal issue. The role of CEUS in
the differential diagnostic algorithm of bre-
ast lesions is a topic of many foreign litera-
ture studies. The following text describes the
methodology of breast CEUS and discusses
its inclusion into daily radiology practice.

Key words: contrast-enhanced ultra-
sound (CEUS), breast lesions, qualitative
analysis, quantitative analysis, breast cancer.

ÚVOD

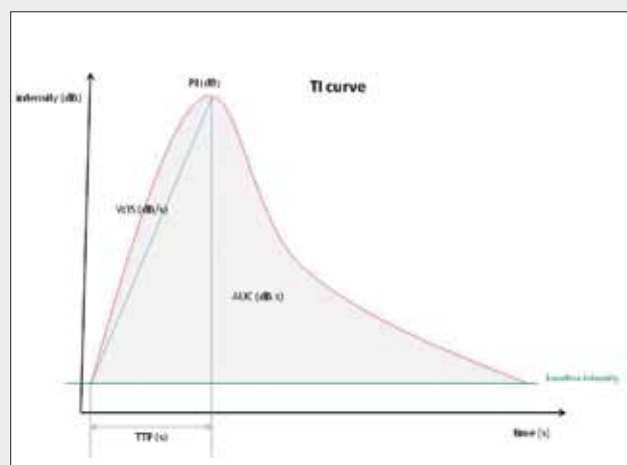
Karcinom prsu patří k nejčastějším nádorovým onemocněním u žen. Trendem je stále rostoucí incidence a stagnující či mírně klesající mortalita (1). Vzhledem k těmto informacím je zřejmé, že jsou kladeny stále vyšší nároky na prevenci a co nejčasnější diagnostiku tohoto onemocnění. Patologické změny zachycené na provedeném preventivním mamografickém či ultrazvukovém vyšetření jsou stále méně nápadné a ložiska mají i menší velikosti. Za těchto okolností se stává spolehlivé posouzení biologické povahy obtížné a nevyhne se poté opakovaným kontrolám a biopsiím. Cílem pokročilých metod je najít nejcitlivější ukazatel pro odlišení maligních a benigních ložisek. V případě kontrastní ultrasonografie pátráme po takovém typu cévního zásobení a jeho vnitřním uspořádání, které bude svědčit pro malignitu.

Obecně jsou novotvary prsu benigní i maligní povahy tvořeny „nádorovými buňkami“ a podpůrnou tkání. Ve většině případů představuje podpůrnou tkáň *normální tkáň daného orgánu*. Jedná se o vláknitou fibrózní tkáň, lymfatické cévy, někdy s nervovými vlákny, ale vždy doplněnou cévními strukturami, které zajišťují výživu novotvarů. Novotvorba cév (neoangiogeneze) je fyziologický proces rozvoje vaskularizace známý z embryogeneze a její regulace je spojena s řadou patologických stavů, například zánětlivých či autoimunitních onemocnění ale i s nádorovým bujením (2, 3). Růst nádorů podporuje řada růstových mediátorů, z nich nejznámější je VEGF (vascular endothelial growth factor). Novotvořené cévy nádorů jsou odlišné od normálních kapilár, charakterizuje je nepravidelný tvar, abnormální kalibr a vznik perivaskulárních prostor. Jejich výstelku tvoří fenestrované buňky endotelu. Všechny tyto změny vedou u patologických procesů k odlišnému prokrvení, nárůstu permeability a deregulaci (4). Expres VEGF a jeho receptorů je u karcinomu prsu prognostickým faktorem podobně, jakým je i velikost nádoru a histologický grade (5–7).

Obecně tedy můžeme u patologických ložisek prsu očekávat vyšší prokrvení ve srovnání s okolním parenchymem žlázy a dále i rozdílné charakteristiky perfuzních parametrů dle biologické agresivity. Těchto odlišností využíváme i při vyhodnocování MR prsů.

CEUS LOŽISEK PRSU, ANALÝZA DAT

Kontrastní ultrazvukové vyšetření je pokročilou metodou ultrazvukové diagnostiky. K tomu, abychom tato vyšetření mohli provádět, je nutné náležité přístrojové vybavení a nastavení přístroje do kontrastního režimu, který dokáže intravenózně podanou kontrastní látku s dostatečnou citlivostí detekovat. V České republice je pro humánní užití schválen jediný kontrastní preparát SonoVue (Bracco). Jedná se o čistě intravaskulární kontrastní látku a nositelem kontrastního zobrazení jsou mikrobublinky plynu (8). Snadná dostupnost a minimální množství nežádoucích účinků vedou k jejímu širokému využití. Kontraindikací k provádění je hypersenzitivita na podávanou léčivou látku, dále vyšetření neprovádíme u pacientů se známým pravo-levým srdečním zkratem, těžkou plicní arteriální hypertenzí, nekontrolovanou arteriální hypertenzí a pacientů s nestabilitou kardiovaskulárního systému. Vyšetření dále neprovádíme u těhotných a malých dětí, kde nebyla bezpečnost užití zkoumána. Jako optimální pro dia-



▲ Obr. 1

Obr. 1. Časově intenzitní (TI) křivka (TI curve). Modelový průběh změn intenzity signálu (osa y) kontrastní látky zaznamenaný v čase (osa x). Na obrázku jsou dále označeny nejčastější sledované parametry kvantitativní analýzy včetně příslušných jednotek. Maximální dosažená intenzita signálu – peak intensity (PI, dB), přírůstek intenzity signálu v čase wash in slope (WIS dB/s), čas potřebný k dosažení peakové intenzity – time to peak (TTP, s). Poslední parametr area under curve (AUC, dB.s) popisuje průběh sledovaných změn.

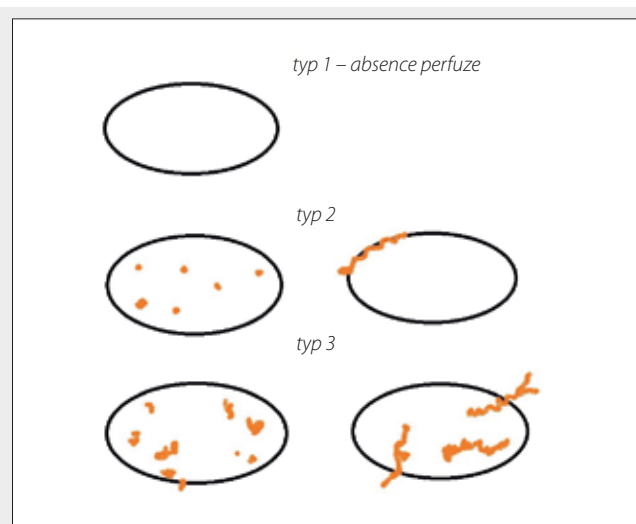
Fig. 1. Time-intensity curve (TIC). Model course of changes in signal intensity of contrast agent (y-axis) recorded over time (x-axis). The figure also shows the most frequently observed quantitative parameters and their units. Maximum peak intensity (PI, dB), wash in slope (WIS dB/s), time to peak (TTP, s). The last parameter, area under curve (AUC, dB.s), describes the course of monitored changes.

gnostiku ložiskových změn mléčné žlázy se ukázalo podání kontrastní látky v množství 2,4 nebo 4,8 ml (9). Po bolusové aplikaci následuje snímání perfuzních změn. Využíváme akvizici informačních dat v podobě zaznamenané časové smyčky, se kterou je možné dále pracovat pomocí softwarového vybavení přístroje či vzdáleně na stolním počítači či notebooku. Nejvýraznější změny zachytíme obvykle v průběhu prvních minut vyšetření. K následnému vyhodnocení výsledků můžeme přistoupit stejně jako u MR dvěma způsoby. Jednak využít analýzu kvalitativní, kdy pouhým pozorováním hodnotíme přítomnost cévního zásobení, jeho strukturu, bohatost. Další možností je sledování perfuzních změn pomocí časové intenzitních křivek (TI curve). Modelový průběh TI křivky uvádí obrázek 1. Novotvořené cévy bývají obvykle křeččí, proto může nadměrná komprese prsu sondou v průběhu vyšetření zkreslit výsledky vyšetření.

KVALITATIVNÍ ANALÝZA

Kvalitativní analýza je hodnotící metoda, která nám poskytne řadu informací o uspořádání cévní sítě ložiskových změn prsu. Vedle pouhého pozorování změn prokrvení okem můžeme využít k posuzování i softwarově vypočítaných perfuzních map (např. MVI – microvascular imaging). Již několik studií prokázalo přínos této metody při diferenciální diagnostice ložiskových lézí prsu (10–14). Vzhledem k charakteru hodnocených změn zde může do jisté míry docházet k subjektivnímu posuzování.

Základní kategorizaci uvádí ve své práci Kedar et al. (10) a popisuje tři základní typy perfuzních charakteristik lo-



▲ Obr. 2

Obr. 2. **Hodnocení kvalitativní analýzy CEUS dle Kedar, typy perfuze ložisek, tři základní typy perfuze ložisek:** typ 1 – absence perfuze, typ 2 – homogenní a pravidelné vnitřní prokrvení léze a lemovitá perfuze, typ 3 – nehomogenní vnitřní prokrvení, penetrující nepravidelná síť cév
 Fig. 2. **Qualitative analysis of CEUS according to Kedar, types of perfusion of lesions, three basic types of perfusion:** type 1 – absence of perfusion, type 2 – homogeneous and regular internal vascularisation of a lesion and a ring-like marginal enhancement, type 3 – inhomogeneous internal vascularity, penetrating irregular network of blood vessels

žiskových změn prsu. Typ 1 je určen pro nesyťící se ložiska s úplnou absencí perfuze. Typ 2 charakterizuje benigní změny a reprezentují ho dva způsoby prokrvení. Jedním je homogenní perfuze ložiska, přičemž jednotlivé cévy jsou zde přibližně stejné velikosti. Druhým obrazem jsou cévy pravidelně uspořádané podél okraje ložiska. Třetí perfuzní typ 3 je vyhrazen maligním změnám a charakteristické jsou pro něj nepravidelně konfigurované cévy rozdílné velikosti místy splývající a dále opět nepravidelně probíhající cévy, které přiléhají nebo penetrují okraj tumoru. Schematické vyobrazení perfuzních změn uvádí obrázek 2.

S maligními typy nádorů se pojí i další charakteristiky, ke kterým patří zvýšená a heterogenní perfuze (62,8 %, 74,4 %). Centripetální charakter prokrvení se vyskytl v 69,8 % maligních a v 24,4 % benigních změn. Naopak s hypo- či izoperfuzí se častěji setkáváme stejně jako s homogenním syčením u ložisek benigní povahy (80,5 %, 24,4 %). Mezi další CEUS charakteristiky malignit řadíme neostrou hranici, nepravidelný okraj syčení, perfuzní defekty, nárůst velikosti ložiska po aplikaci kontrastní látky (11). Více cév se vyskytuje obvykle na periferii než v centru ložisek (15, 16). Rozšířené typografické hodnocení kvantitativní analýzy CEUS benigních a maligních změn přináší i další autoři, poslední práce WJR (17).

Rozdílnosti ve způsobu prokrvení můžeme objevit i v samotné skupině maligních ložisek, vedle předpokladatelných odlišností na základě histologické povahy a gradu, popsala studie Zhao (18) rozdílnosti v prokrvení související i s velikostí nádorů. Mezní je velikost ložisek 20 mm, kdy nádory menší velikosti charakterizuje homogenní typ prokrvení, kdežto větší heterogenní způsob perfuze. Kvalitativní analýzou CEUS u zhoubných ložisek se zabývali i CAO (19), kde autoři spojují s maligním nálezem dále i tyto znaky: přítom-

nost defektu perfuze, přítomnost penetrující cév, heterogenní a centripetální typ perfuze s tím, že tyto znaky mohou predikovat prognózu nemoci pacientky s karcinomem prsu.

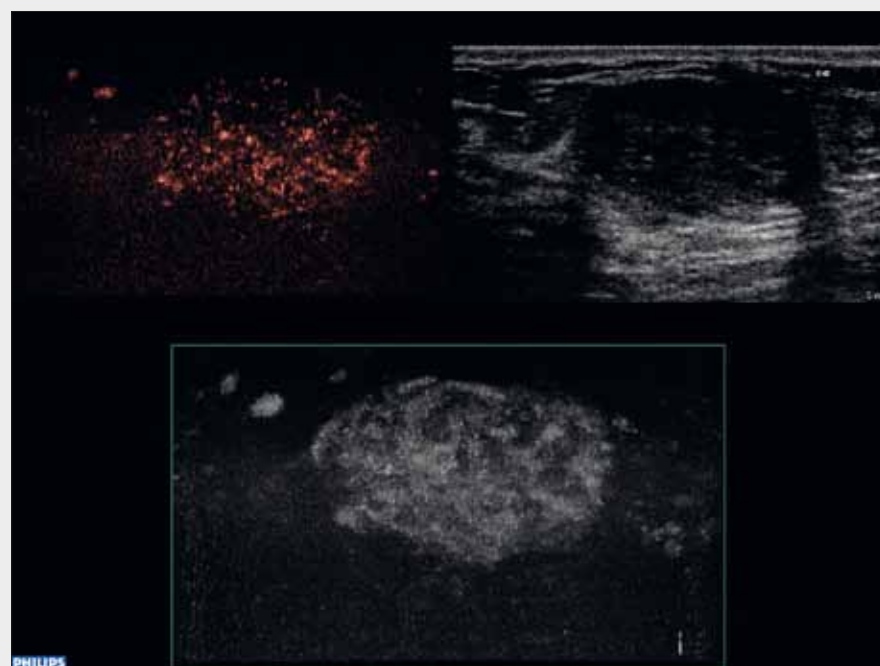
KVANTITATIVNÍ ANALÝZA

Kvantitativní analýza nabízí objektivní posouzení perfuzních změn v čase na základě časově intenzitních křivek (TI curve, schematické vyobrazení viz obr. 1). Pro přesné zaznamenání výsledků vyšetření je potřeba mít na paměti hlavní úskalí metody. Důležité je jednak správné časování vyšetření s ohledem na individuální rozdíly v nástupu perfuze v závislosti na srdečním výdeji. Pokud budeme provádět vzájemné porovnání hodnot parametrů TI křivek z odlišných ROI u různých pacientek, pak je nutné odečtení nenulové intenzity signálu pozadí vyšetřované oblasti před kontrastním vyšetřením (odstraníme tak falešně vyšší absolutní intenzity signálu) tak, aby byl následně hodnocen jen skutečný přírůstek signálu po aplikaci kontrastní látky.

Obecně předpokládané kinetické parametry křivky platné u maligních nádorů vykazují rychlý a výrazný nástup syčení následovaný časným poklesem perfuze ve srovnání s normální nepostiženou tkání prsu. Již v naší předchozí práci (20) zabývající se využitím kvantitativní analýzy CEUS prsu jsme prokázali odlišnosti v perfuzní kinetice ložiskových změn prsu. Jako nejúspěšnější parametry posuzování jsme vyhodnotili time to peak (TTP) a wash in slope (WIS). Ve spojení s maligními nálezy jsme prokázali statisticky významně nižší hodnoty parametru TTP a významně vyšší hodnoty WIS, oba tyto nálezy si vysvětlujeme časným a výraznějším nástupem prokrvení u zhoubných ložisek. K podobným závěrům došli ve své práci Szabo et al. (4), kteří se zaměřili na hodnocení charakteristik CEUS pouze u skupiny pacientek s verifikovaným karcinomem prsu a rovněž popsali vzestup perfuze zejména ve spojení s agresivnějšími typy karcinomů prsu spojených se špatnou prognózou. V této skupině se vyskytoval časnější peak enhancement a byla i rychlejší eliminace mikrobublin. Histopatologickým korelátem tohoto faktu je vyšší výskyt arteriovenózních anastomóz u maligních typů nádorů (21). Sledování ostatních parametrů kvantitativní analýzy (PI, AUC) nepřineslo v našem souboru větší statistickou významnost v diferenciaci biologické povahy ložiskových změn. Signifikantně vyšší hodnoty TTP (9, 22) a parametru PI (12) uvádí i další studie. Příklady vyhodnocení kvantitativní analýzy s typickým obrazem pro benigní a maligní změny uvádí obrázky 5 a 6. Využitím obou metod, tedy kvalitativní a kvantitativní analýzy a jejich kombinací se ve své práci zabývá Wan et al. (12), a zdůrazňuje větší přínos samotné kvalitativní a kombinované analýzy.

KONTRASTNÍ ULTRASONOGRAFIE (CEUS) VERSUS MAGNETICKÁ REZONANCE (MR) LOŽISEK PRSU

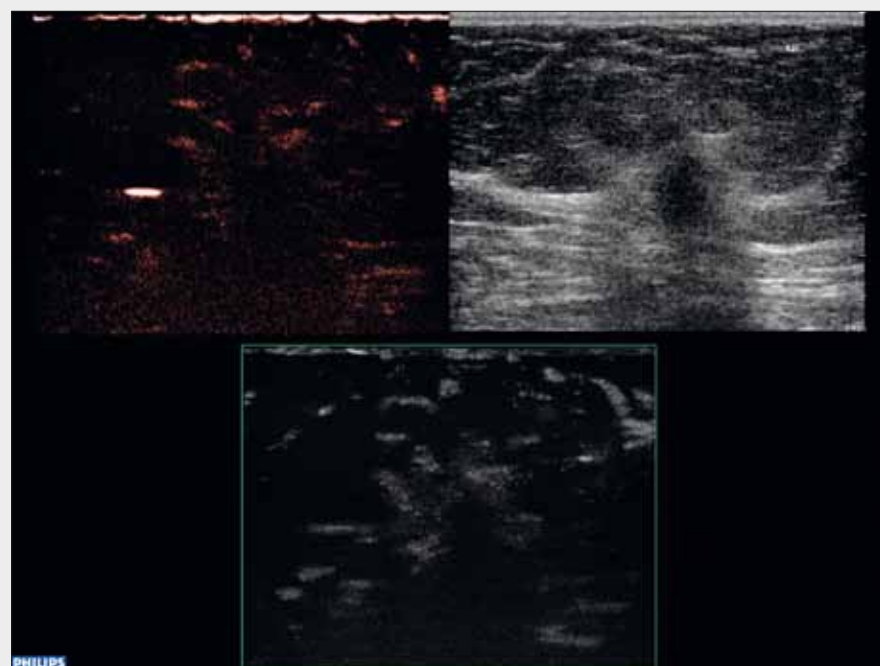
Hovoříme-li o kontrastní ultrasonografii, nástavbové metodě konvenčního ultrazvukového vyšetření, nevyhne se srovnání s relativně rozšířenou a v běžné praxi používanou metodou magnetické rezonance (MR). Oba přístupy nacházejí odlišné uplatnění a ve vybraných případech se mohou dobře doplňovat. Zcela jistou limitací CEUS ložisek prsu je skuteč-



◀ Obr. 3

Obr. 3. Příklad výsledku kvalitativní analýzy CEUS zpracované metodou MVI, jedná se o homogenně prokrvené benigního ložisko histologicky – verifikovaný fibroadenom

Fig. 3. An example of the qualitative analysis of CEUS processed by the MVI technique, a benign lesion with homogeneous blood perfusion histopathologically – verified as fibroadenoma



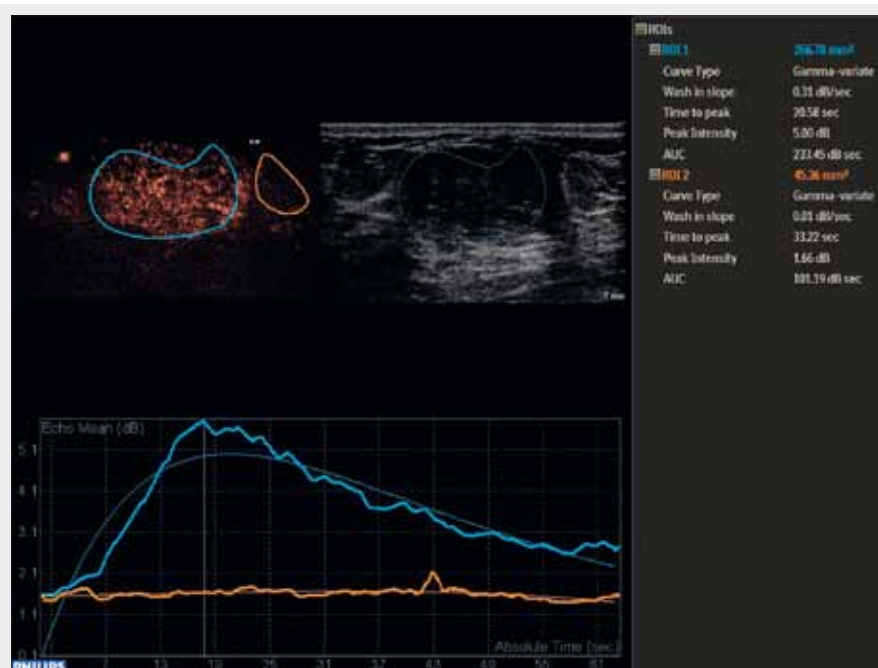
◀ Obr. 4

Obr. 4. Příklad výsledku kvalitativní analýzy CEUS u pacientky s invazivním karcinomem prsu. Nehomogenně prokrvené ložisko s penetrujícími okrajovými cévami (centripetálním typ prokrvení), léze postkontrastně zvětšuje velikost, centrum zůstává avaskulární.

Fig. 4. An example of qualitative analysis in a patient with invasive breast cancer (NST). Heterogeneous enhancement of the lesion with penetrating peripheral vessels (centripetal perfusion), the lesion shows postcontrast enlargement, its center remains avascular.

nost, že nejsme během jediného vyšetření schopni zhodnotit celý prs, a tak nám zůstávají případná výraznější prokrvená (potencionálně maligní) ložiska, která nebyla například v terénu nepravidelné struktury mléčné žlázy v nativním US detekována, skryta a využití této metody jako screeningové proto nemůžeme doporučit. Při vyšetření CEUS zůstáváme tedy omezeni na sledování jediné vytipované léze či její určité výseče. K zobrazení celého ložiska si můžeme v případě posuzování pouze kvalitativních parametrů dopomoci využitím jemného kývavého pohybu sondou v průběhu vyšetření, nabízí se i možnost použití 3D sond, která je v poslední době zkoumána a s pozitivními výsledky přichází Wan-RU (25). Studie Ricci (24) provedla srovnání výsledků vyšetření ložisek získaných oběma metodami (tj. CEUS i MR) a závěry

CEUS hodnotí jako spolehlivé, napomáhající k diferenciální diagnostice biologické povahy a zároveň vykazující typické obrazy sycení včetně perfuzních křivek, které jsou dobře korelovatelné s TI křivkami získanými při MR. V případě, že výsledky analýzy CEUS dále podpoříme i o základní informace o ložisku získané z nativního B-módu, senzitivita a specifita metody se dále zvyšuje (81,8 %, 78,6 %) (21) a je srovnatelná hodnotami dosahovanými při MR. Kontrastní ultrasonografie tedy nachází uplatnění především v situacích, kdy potřebujeme podezřelou lézi dále specifikovat, a může nám tak sloužit jako nástroj k redukcí počtu prováděných core-cut biopsií u benigních ložisek. Nespornou předností kontrastního ultrazvuku je jeho dobrá dostupnost, nižší cena vyšetření a minimálního množství nežádoucích účinků.



Obr. 5

Obr. 5. **Kvantitativní analýza CEUS.** Záznam změn prokrvení ložiska v čase pomocí vykreslené křivky intenzit u histologicky verifikovaného benigního ložiska prsu – fibroadenomu. Křivka syčení vykazuje postupný relativně pomalý nárůst i pokles intenzity signálu v čase.

Fig. 5. **Quantitative analysis of CEUS.** A time-intensity curve showing changes in blood perfusion of histopathologically verified benign fibroadenoma. There is a relatively slow increase and decrease in signal intensity over time.



Obr. 6

Obr. 6. **Kvantitativní analýza CEUS.** Příklad TI křivky u zhoubného ložiska invazivního duktálního karcinomu (NST), je zde patrný nápadný časný nárůst intenzity signálu i její pokles

Fig. 6. **Quantitative analysis of CEUS.** An example of the time-intensity curve of the invasive carcinoma (NST), there is a noticeable early increase as well as decrease in signal intensity

ZÁVĚR

Kontrastní ultrasonografie je moderní metoda sloužící k cílenému posouzení ložiskových změn mléčné žlázy identifikovatelných v nativním B obraze. Metoda přináší užitečné informace o cévní mikroarchitektice. Byly nalezeny určité vzorce platné pro posuzování kvalitativních i kvantitativních parametrů analýzy CEUS včetně stanovení základních charakteristik odlišujících maligní nádory. CEUS přináší přes-

nění v rámci diferenciální diagnostiky ložiskových změn prsu. Vzhledem k heterogenitě nádorů může v některých případech docházet k překrývání nálezů platných pro benigní a maligní ložiska, proto je nezbytné vždy komplexní posuzování léze. Možnosti využití této metody v běžné praxi by měly být dále zkoumány, například s cílem redukovat počet core-cut biopsií prováděných u benigních změn či v případě hodnocení léčebné odpovědi u pacientů s neoadjuvantní chemoterapií.

LITERATURA

1. Májek O, Daneš J, Skovajsová M, Bartoňková H, Šnajdrová L, Gregor J, Mužík J, Dušek L. Mamo.cz – Program

mamografického screeningu v České republice [online]. Brno: Masarykova univerzita 2018 [cit. 2018-04-12]. Dostupný z: <http://www.mamo.cz>. Verze 1.4c.

2. Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. Nature [serial on the Internet] 2005; 438(7070): 932–936 [cited April 11, 2018]. Available from: Academic Search Ultimate.

3. **Folkman J.** Tumor Angiogenesis: Therapeutic Implications. *New England Journal Of Medicine* [serial on the Internet] 1971; 285(21): 1182 [cited April 11, 2018]. Available from: Supplemental Index.
4. **Szabó B, Saracco A, Aspelin P, Axelsson R, Tanczos E, Wilczek B, et al.** Correlation of contrast-enhanced ultrasound kinetics with prognostic factors in invasive breast cancer. *European Radiology* [serial on the Internet] 2013; 23(12): 3228–3236 [cited April 11, 2018]. Available from: Scopus®.
5. **Zhou Y, Tan F, Hess K, Yung W.** The expression of PAX6, PTEN, vascular endothelial growth factor, and epidermal growth factor receptor in gliomas: relationship to tumor grade and survival. *Clinical Cancer Research: An Official Journal Of The American Association For Cancer Research* [serial on the Internet] 2003; 9(9): 3369–3375 [cited April 11, 2018]. Available from: MEDLINE Complete.
6. **Jin Q, Hemminki K, Försti A, Chen B, Klaes R, Utracka-Hutka B, et al.** Vascular endothelial growth factor polymorphisms in relation to breast cancer development and prognosis. *Clinical Cancer Research* [serial on the Internet] 2005; 11(10): 3647–3653 [cited April 11, 2018]. Available from: Scopus®.
7. **Linderholm B, Lindh B, Beckman L, Erlanson M, Edin K, Henriksson R, et al.** Original Contribution: Prognostic Correlation of Basic Fibroblast Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor in 1307 Primary Breast Cancers. *Clinical Breast Cancer* [serial on the Internet] 2003; 4340–4347 [cited April 11, 2018]. Available from: ScienceDirect.
8. **Weskott H.** Emerging roles for contrast-enhanced ultrasound. *Clinical Hemorheology & Microcirculation* [serial on the Internet] 2008; 40(1): 51–71 [cited April 12, 2018]. Available from: Academic Search Ultimate.
9. **Saracco A, Szabó B, Aspelin P, Leifland K, Tanczos E, Axelsson R, et al.** Contrast-enhanced ultrasound using real-time contrast harmonic imaging in invasive breast cancer: comparison of enhancement dynamics with three different doses of contrast agent. *Acta Radiologica (Stockholm, Sweden: 1987)* [serial on the Internet] 2015; 56(1): 34–41 [cited April 11, 2018]. Available from: MEDLINE Complete.
10. **Kedar R, Cosgrove D, McCreedy V, Bamber J, Carter E.** Microbubble contrast agent for color Doppler US: Effect on breast masses work in progress. *Radiology* [serial on the Internet] 1996; 198(3): 679–686 [cited April 11, 2018]. Available from: Scopus®.
11. **Wang Y, Fan W, Zhao S, Zhang K, Zhang L, Ma R, et al.** Qualitative, quantitative and combination score systems in differential diagnosis of breast lesions by contrast-enhanced ultrasound. *European Journal Of Radiology* [serial on the Internet] 2016; 8548–8554 [cited April 11, 2018]. Available from: ScienceDirect.
12. **Wan C, Du J, Fang H, Li F, Wang L.** Evaluation of breast lesions by contrast enhanced ultrasound: qualitative and quantitative analysis. *European Journal Of Radiology* [serial on the Internet] 2012; 81(4): e444–e450 [cited April 11, 2018]. Available from: MEDLINE Complete.
13. **Saracco A, Szabó B, Aspelin P, Leifland K, Wilczek B, Axelsson R, et al.** Differentiation between benign and malignant breast tumors using kinetic features of real-time harmonic contrast-enhanced ultrasound. *Acta Radiologica* [serial on the Internet] 2012; 53(4): 382–388 [cited April 11, 2018]. Available from: Academic Search Ultimate.
14. **Zhao L, Liu H, Wei Q, Xu G, Wu J, Pu H, et al.** Contrast-Enhanced Ultrasonography Features of Breast Malignancies with Different Sizes: Correlation with Prognostic Factors. *Biomed Research International* [serial on the Internet] 2015; 2015613831 [cited April 11, 2018]. Available from: MEDLINE Complete.
15. **Fischer D, Baltzer P, Malich A, Wurdinger S, Freesmeyer M, Kaiser W, et al.** Is the „blooming sign“ a promising additional tool to determine malignancy in MR mammography?. *European Radiology* [serial on the Internet] 2004 ; 14(3): 394–401 [cited April 11, 2018]. Available from: MEDLINE Complete.
16. **Less J, Skalak T.** Microvascular Architecture in a Mammary Carcinoma: Branching Patterns and Vessel Dimensions. *Cancer Research* [serial on the Internet] 1991; 51(1): 265–273 [cited April 11, 2018]. Available from: Scopus®.
17. **Luo J, Chen J, Chen Q, Yue L, Zhou G, Lu J, et al.** Predictive model for contrast-enhanced ultrasound of the breast: Is it feasible in malignant risk assessment of breast imaging reporting and data system 4 lesions? *World Journal Of Radiology* [serial on the Internet] 2016; 8(6): 600–609 [cited April 11, 2018]. Available from: MEDLINE Complete.
18. **Zhao H, Xu R, Ouyang Q, Chen L, Dong B, Huihua Y.** Contrast-enhanced ultrasound is helpful in the differentiation of malignant and benign breast lesions. *European Journal Of Radiology* [serial on the Internet] 2010; 73288–73293 [cited April 11, 2018]. Available from: ScienceDirect.
19. **Cao X, Bao W, Zhu S, Wang L, Sun M, Xue J, et al.** Original Contribution: Contrast-Enhanced Ultrasound Characteristics of Breast Cancer: Correlation with Prognostic Factors. *Ultrasound In Medicine & Biology* [serial on the Internet] 2014; 4011–17 [cited April 11, 2018]. Available from: ScienceDirect.
20. **Němcová E, Křikavová L, Pavlík T, Jandáková E, Dvořák K.** Význam kvantitativní analýzy kontrastní ultrasonografie v diferenciální diagnostice ložiskových lézí prsu – prospektivní studie. *Ces Radiol* 2015; 69(3): 201–206.
21. **Du J, Li F, Fang H, Xia J, Zhu C.** Correlation of real-time gray scale contrast-enhanced ultrasonography with microvessel density and vascular endothelial growth factor expression for assessment of angiogenesis in breast lesions. *Journal Of Ultrasound In Medicine* [serial on the Internet]. (n.d.), [cited April 11, 2018]; 27(6): 821–831. Available from: Science Citation Index.
22. **Huber S, Helbich T, Kettenbach J, Dock W, Zuna I, Delorme S.** Effects of a microbubble contrast agent on breast tumors: computer-assisted quantitative assessment with color Doppler US – early experience. *Radiology* [serial on the Internet] 1998; 208(2): 485–489 [cited April 12, 2018]. Available from: MEDLINE Complete.
23. **Jia W, Tang L, Wang D, Chai W, Fei X, Wang W, et al.** Three-dimensional Contrast-enhanced Ultrasound in Response Assessment for Breast Cancer: A Comparison with Dynamic Contrast-enhanced Magnetic Resonance Imaging and Pathology. *Scientific Reports* [serial on the Internet] 2016; 33832 [cited April 11, 2018]. Available from: Complementary Index.
24. **Ricci P, Cantisani V, Balesio L, Pagliara E, Drudi F, Erturk S, et al.** Benign and malignant breast lesions: Efficacy of real time contrast-enhanced ultrasound vs. magnetic resonance imaging. *Ultraschall In Der Medizin* [serial on the Internet] 2007; 28(1): 57–62 [cited April 11, 2018]. Available from: Scopus®.
25. **Jia W, Tang L, Wang D, Chai W, Fei X, Wang W, et al.** Three-dimensional Contrast-enhanced Ultrasound in Response Assessment for Breast Cancer: A Comparison with Dynamic Contrast-enhanced Magnetic Resonance Imaging and Pathology. *Scientific Reports* [serial on the Internet] 2016; 33832 [cited April 12, 2018]. Available from: Complementary Index.