

Ultrasonografia przezczaszkowa wspomagana kontrastem w niedokrwieniowym udarze mózgu

Marta Nowakowska-Kotas

Katedra i Klinika Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

STRESZCZENIE

Ultrasonografia przezczaszkowa wspomagana kontrastem stanowi istotne narzędzie diagnostyczne u chorych z udarem mózgu. Zastosowanie kontrastów i związanych z nimi nowych metod analizy sygnału umożliwiło uzyskiwanie większego odsetka istotnych diagnostycznie obrazów w przypadku problemów technicznych lub u chorych z wysokim stopniem zwężeniem tętnic, a także pozwoliło na nieinwazyjne wyselekcjonowanie chorych z mikrozatorowością. Ponadto środki kontrastowe mogą wspomagać działanie trombolityczne rekombinowanego aktywatora plazminogenu oraz umożliwiają ocenę perfuzji mózgu w ostrej fazie udaru. Prawdopodobnie będą mogły także przyczynić się w przyszłości do prowadzenia terapii celowanej jako wektory przenoszące cząsteczki leków.

Polski Przegląd Neurologiczny 2013; 9 (1): 1-10

Słowa kluczowe: przezczaszkowa ultrasonografia dopplerowska, środki kontrastowe, udar mózgu

Wprowadzenie

Przezczaszkowa ultrasonografia dopplerowska (TCD, *transcranial Doppler*) i przezczaszkowa ultrasonografia dupleksowa z zakodowanym w kolorze przepływem (TCCD, *transcranial color-coded duplex*) to metody powszechnie stosowane w diagnostyce chorób naczyń mózgowych. Istotny wzrost znaczenia diagnostyki ultrasonograficznej

nastąpił w ostatniej dekadzie, wraz z pojawieniem się środków kontrastowych nowej generacji oraz wypracowaniem technik obrazowania specyficznych dla stosowanego kontrastu. Podobnie jak w przypadku rezonansu magnetycznego (MR, *magnetic resonance*) czy tomografii komputerowej, użycie środków kontrastowych w ultrasonografii zmienia sposób wykonywania badań, a ponadto umożliwia nowe zastosowania diagnostyczne i terapeutyczne zwłaszcza w odniesieniu do niedokrwieniowego udaru mózgu.

Rune Aaslid jako pierwszy zastosował fale ultrasonograficzne o częstotliwości 2 MHz do badań przezczaszkowych w 1981 roku [1]. Obecnie technika ta ma szerokie zastosowanie w neurologii: od oceny krążenia wewnątrzczaszkowego z ustalaniem dróg krążenia obocznego, poprzez wykrywanie i monitorowanie skurczu naczyniowego w przebiegu krwawienia podpajęczynówkowego, monitorowanie przebiegu embolizacji malfornacji naczyniowych, aż po analizę wazoreaktywności naczyń mózgowych w odpowiedzi na różne bodźce (np. hiperkapnię). W 1989 roku Schöning [2] opisał zastosowanie ultrasonografii przezczaszkowej w połączeniu z obrazowaniem w skali szarości, dając początek technice TCCD. Metoda ta identyfikuje naczynia, dokładniej lokalizuje zmiany patologiczne oraz umożliwia korekcję kąta pomiaru, a przez to pozwala na uzyskanie dokładniejszych pomiarów prędkości [2].

Poważnym ograniczeniem zastosowania obu metod w praktyce klinicznej jest stwierdzany u 10-20% populacji brak okien kostnych, zwłaszcza wśród kobiet po menopauzie. U niektórych

Adres do korespondencji: dr n. med. Marta Nowakowska-Kotas
Katedra i Klinika Neurologii UM
ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław
tel.: 71 734 31 70, faks: 71 734 31 09
e-mail: marnow64@interia.pl
Polski Przegląd Neurologiczny 2013, tom 9, 1, 1-10
Wydawca: VM Media sp. z o.o. VM Group sp.k.
Copyright © 2013 Via Medica

z tych chorych udaje się uzyskać widma prędkości przepływu, ale w wyniku niekorzystnego stosunku sygnału do szumu, zła jakość obrazu utrudnia prawidłową interpretację wyników. W takich przypadkach zastosowanie kontrastu umożliwia przeprowadzenie badania zarówno techniką TCD, jak i TCCD, niekiedy istotnie zwiększając dokładność pomiarów i pomagając w różnicowaniu pomiędzy stenozą a subtotałnym zwężeniem naczyń lub pomiędzy tętniakiem a malformacją tętniczo-żylną [3–6]. W badaniu przeprowadzonym u 687 pacjentów z użyciem TCCD wskazanie do zastosowania kontrastu stwierdzono u 8,8% chorych, uzyskując obraz diagnostyczny u 75% z nich przy insonacji przeskroniowej oraz u 81% przy insonacji podpotylicznej [7].

Ultrasonografia przezczaszkowa wspomagana kontrastem (cTCD, *contrast TCD*) jest przydatna do wykrywania przechodzenia materiału zatorowego pochodzenia żylnego z krążenia małego do krążenia systemowego, czyli tak zwanego przecieku prawo–lewo (RLS, *right-to-left shunt*). Jest to istotne zwłaszcza w diagnostyce chorych z kryptogennym udarem niedokrwiennym mózgu oraz w migrenie z aurą. W tych przypadkach znany jest związek pomiędzy występowaniem objawów a obecnością przetrwałego otworu owalnego (PFO, *patent foramen ovale*).

Spośród zastosowań cTCD, pozostających w fazie badań klinicznych, należy wymienić terapeutyczne zastosowanie fal ultradźwiękowych w udarze niedokrwiennym mózgu (tzw. sonotromboliza), molekularne obrazowanie blaszek miażdżycowych, celowaną terapię lekami przeciwnowotworowymi i terapię genową. Wykorzystanie nowych technik i możliwości aparatury pozwoli na obrazowanie trójwymiarowe zmian ogniskowych oraz ocenę perfuzji mózgu w czasie rzeczywistym.

Środki kontrastowe

Ultrasonograficzny kontrast w badaniach naczyniowych został zastosowany po raz pierwszy przez Gramiaka i Shaha w 1968 roku [8]. Podali oni do krwioobiegu wstrząśniętą sól fizjologiczną, obserwując wzmocnienie sygnału ultrasonograficznego dzięki odbiciu fali ultradźwiękowej od rozpuszczonych w cieczy mikropęcherzyków powietrza [8]. Mikropęcherzyki, wytwarzane podczas mieszania się soli fizjologicznej z powietrzem atmosferycznym, są stosunkowo duże i niestabilne, szybko też ulegają rozpuszczeniu. Kontrasty wytwarzane

przemysłowo mają cząsteczki o średnicy 2–5 μm , co gwarantuje im przejście przez krążenie płucne i dostanie się do układu krążenia systemowego. Głównym problemem technicznym pozostaje uzyskanie odpowiedniej stabilności pęcherzyków, poprzez dodawanie otoczek (np. z galaktozy, fosfolipidów, albumin, polimerów) oraz poprzez zastosowanie gazów o niskim współczynniku rozpuszczalności (np. perfluorokarbonów) [9].

W neurosonologii można wyróżnić kontrasty:

- stosowane rutynowo, np. w przypadkach okien kostnych słabej jakości, do oceny stopnia zwężenia tętnic zewnątrz- i wewnątrzczaszkowych i przy próbie wykrycia mikrozatorowości;
- pozostające w fazie badań eksperymentalnych i klinicznych, jak mikrosfery stosowane w sonotrombolizie, w badaniach perfuzyjnych mózgu i w próbach celowanej terapii.

Dożylnie kontrasty dostępne komercyjnie to: *Levovist*[®] (zawierający powietrze w otoczkę z galaktozy i kwasu palmitynowego) oraz *Sonovue*[®] (zawierający 6-fluorek siarki w otoczkę fosfolipidowej). Najczęściej używanym środkiem pozostaje jednak kontrast salinowy zawierający powietrze wymieszane z solą fizjologiczną, ze względu na bezpieczeństwo stosowania i niski koszt [10].

Odpowiedź mikropęcherzyków kontrastu na działanie fali ultradźwiękowej zależy od natężenia energii akustycznej, ocenianego za pomocą indeksu mechanicznego (IM) oraz od samej ich budowy. Indeks mechaniczny zależy od parametrów nastawczych aparatury oraz własności akustycznych badanych tkanek i w standardowej diagnostyce ultrasonograficznej mieści się w przedziale 0,05–1,9. Przy niskich wartościach IM (< 0,2) mikropęcherzyki kontrastu są wprawiane w drgania i zaczynają oscylacyjnie zmieniać swoją objętość zgodnie z częstotliwością fali ultradźwiękowej (oscylacja liniowa). Przy wyższych wartościach IM (0,2–0,5) mikropęcherzyki podlegają oscylacji nieliniowej, wytwarzając między innymi składowe harmoniczne (fale o częstotliwości będącej wielokrotnością częstotliwości podstawowej, w tym najistotniejsza jest tzw. druga harmoniczna), z następczym wzmocnieniem sygnału odbieranym przez aparat. Przy wysokich wartościach IM (> 0,5) dochodzi do szybkiego niszczenia mikropęcherzyków z emisją silnego sygnału bogatego w elementy harmoniczne [9]. Opisane właściwości mikropęcherzyków gazu są wykorzystywane we współczesnej diagnostyce ultrasonograficznej.

Techniki obrazowania z zastosowaniem środków kontrastowych

Wraz z rozwojem kontrastów powstał szereg technik ultrasonograficznych zależnych od kontrastu. Wyróżnia się techniki oszczędzające oraz doprowadzające do rozpadu mikropęcherzyków.

Z grupy technik niewymagających niszczenia pęcherzyków wyróżnia się:

- obrazowanie harmoniczne (*contrast harmonic imaging*), służące zwiększeniu różnicy intensywności sygnału między tkankami a przestrzeniami wypełnionymi kontrastem. Dzięki emitowaniu przez sondę częstotliwości podstawowej i odczytywaniu drugiej harmonicznej odbitej przez mikropęcherzyki (SHI, *second harmonic imaging*), możliwe jest rozróżnienie sygnałów odbijających się liniowo od tkanek od tych odbijających się nieliniowo od cząsteczek kontrastu. Tą metodą można dokonywać oceny przepływu kapilarnego i została ona już użyta do oceny perfuzji mózgu u zdrowych ochotników oraz w przypadku udaru niedokrwiennego mózgu [11–13];
- obrazowanie techniką impulsu o odwróconej fazie — polegające na wysłaniu dwóch impulsów o jednakowej częstotliwości, przesuniętych w fazie o 180 stopni (tzw. odbić lustrzanych). Gdy obiekt drga liniowo, suma tych impulsów stanowi zero, gdy dochodzi do nieliniowej oscylacji, uzyskuje się sygnał bogaty w składowe harmoniczne. Pozwala to na uzyskanie lepszej jakości obrazu przy niskim IM, a więc na uniknięcie efektu szybkiego niszczenia mikropęcherzyków [14].

Techniki doprowadzające do zniszczenia mikropęcherzyków kontrastu wykorzystujące duże IM dzielą się na:

- wymuszoną emisję akustyczną (SAE, *stimulated acoustic emission*). Obserwowany nagły rozpad dużej liczby pęcherzyków oraz napływ kolejnych porcji mikropęcherzyków umożliwia wyróżnienie obszarów gromadzących ultrasonograficzny środek kontrastowy oraz ocenę reperfuzyj danego obszaru, co potwierdzono w badaniach zarówno u zdrowych ochotników, jak też u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu [15–17];
- obrazowanie rozrywania pęcherzyków (CBI, *contrast burst imaging*), technika podobna do powyżej omówionej, z tą różnicą, że pulsy fal ultrasonograficznych są bardziej szerokopasmowe i krótsze, co poprawia rozdzielczość wiązki

fal ultrasonograficznych oraz skraca czas akwizycji danych. Zaletą tej techniki jest możliwość jednoczesnego obrazowania obu półkul mózgu oraz zróżnicowanie metod analitycznych pozyskanych danych. Prace z użyciem tej techniki podkreślają wysoką zgodność wyników z perfuzją MR [18].

Zastosowanie kliniczne

Mikrozatorowość

Technika TCD wspomagana kontrastem ma istotne znaczenie w wykrywaniu zatorowej etiologii incydentów niedokrwienia mózgu. Przemijające sygnały o wysokiej intensywności (HITS, *high-intensity transient signals*) obserwowane już w podstawowym badaniu TCD mogą odpowiadać zarówno gazowemu, jak i tkankowemu materiałowi zatorowemu. Obserwowane są one w udarze niedokrwiennym mózgu, przemijającym niedokrwieniu mózgu, objawowym zwężeniu tętnicy szyjnej, olbrzymiokomórkowym zapaleniu tętnicy skroniowej, toczniu układowym, migrenie oraz podczas różnych procedur diagnostycznych i operacyjnych (takich jak angiografia, angioplastyka tętnic szyjnych, operacja na otwartym sercu, endarterektomia) [19–30]. Sygnały mikrozatorowe (MES, *microembolic signals*) po raz pierwszy wykryto za pomocą TCD ponad 20 lat temu [31]. Kryteria rozpoznawania sygnałów mikrozatorowych, ustalone na drodze konsensusu ekspertów w 1995 roku, stwierdzają, że MES powinien mieć amplitudę wyższą od tła spektrum doplerowskiego o co najmniej 3 dB, być przemijający i trwać krócej niż 300 ms, być jednokierunkowy i zgodny z kierunkiem widma doplerowskiego oraz powinien mu towarzyszyć charakterystyczny klik lub trzask [32]. Trwają prace nad systemem automatycznego rozróżniania sygnałów mikrozatorów od artefaktów [33–35]. Przyjmuje się, że mikrozatory gazowe charakteryzują się większą mocą sygnału akustycznego od mikrozatorów stałych, brane są również pod uwagę inne cechy sygnałów, takie jak odchylenie standardowe nachylenia obwiedni sygnału mikrozatorowego (SDSE, *standard deviation of the slopes of the envelope*) oraz symetria obwiedni sygnału w analizie czas/amplituda, które są możliwe do zaobserwowania za pomocą przetworników dwuwiązkowych [36–38].

Wykazanie mikrozatorów u chorych z objawami ogniskowego uszkodzenia mózgu i stwierdzonym tożsonym zwężeniem tętnicy środkowej mózgu może wskazywać na obecność wewnątrzczasz-

kowej powierzchni, na której aktywnie powstaje materiał zatorowy. Zdaniem niektórych autorów ma to znaczenie prognostyczne oraz wpływa na decyzję o ewentualnej interwencji angiochirurgicznej, chociaż nie zostało to uwzględnione w wytycznych kwalifikujących chorych do zabiegów na tętnicach szyjnych [39–46].

Zastosowanie cTCD umożliwia diagnostykę mikrozatorów paradoksalnych, które pochodzą z żył kończyn dolnych lub miednicy, przechodzą przez sercowy lub pozasercowy RLS do krążenia układowego i mogą powodować udary niedokrwienne [47]. Częstość występowania sercowego RLS u młodych chorych z udarem o nieustalonej etiologii ocenia się na około 50%, a w populacji ogólnej na 25–30% [48–50]. Również w populacji ludzi z żylakami kończyn dolnych stwierdza się zwiększoną częstość występowania RLS [51]. Rola PFO w powstawaniu udaru niedokrwinnego mózgu jest wciąż dyskusyjna. Według niektórych autorów, stwierdzenie obecności PFO nie niesie za sobą zwiększonego ryzyka ponownego wystąpienia incydentu niedokrwinnego [52]. W przeprowadzonej metaanalizie wykazano, że u 1/3 chorych z kryptogennym udarem mózgu z obecnym PFO wykonanie ablacji przetrwałego otworu nie zmniejszyło ryzyka wystąpienia ponownego udaru mózgu [53].

Sposób przeprowadzania prób na obecność RLS może mieć wpływ na uzyskany wynik. Wydaje się, że najczulszą metodą jest wykonanie pięciosekundowej próby Valsavy około 5 sekund po podaniu kontrastu oraz przeprowadzenie monitorowania przepływu w tętnicy środkowej mózgu przez około 40 sekund, choć pojedyncze MES stwierdza się także po 80–120 sekundach [54, 55]. Stworzono dwie skale nasilenia RLS oparte na liczbie zarejestrowanych pęcherzyków docierających do tętnicy środkowej mózgu w trakcie badania cTCD: powstała w wyniku międzynarodowego konsensusu oraz Skalę Logarytmiczną Spencera (SLS) (tab. 1, 2) [56, 57]. Skala SLS koreluje z możliwością przeprowadzenia interwencji zabiegowej, w postaci katetyzacji, która jest technicznie możliwa przy III stopniu lub wyższym [58].

Wyniki uzyskane za pomocą cTCD dobrze korespondują z wynikami przezprzełykowej echokardiografii (TEE, *transesophageal echocardiogram*), osiągając w stosunku do TEE 96–100% czułości przy 65–97% specyficzności. Większą dokładność odnotowano w przypadku zastosowania kontrastu Echovist-300 lub dużego bolusu wstrząśniętej soli fizjologicznej niż w przypadku małej dawki

Tabela 1. Skala opracowana w wyniku międzynarodowego konsensusu w 1998 roku (źródło [56])

Stopień	Opis
Brak	Brak mikrozatorów
I	1–20 mikrozatorów
II	> 20 mikrozatorów lub efekt „deszczu” w trakcie badania
III	Efekt „zasłony”, mikrozatory niepoliczalne

Tabela 2. Skala Logarytmiczna Spencera (źródło [57])

Stopień	Opis
Brak	Brak mikrozatorów
I	1–10 mikrozatorów
II	11–30 mikrozatorów
III	31–100 mikrozatorów
IV	101–300 mikrozatorów
V	> 300 mikrozatorów

wstrząśniętej soli fizjologicznej oraz przy jednoczesnym wykonaniu próby Valsavy [59–63]. Porównanie metod cTCD, TEE i echokardiografii przezklatkowej (TTE, *transthoracic echocardiogram*) w stosunku do wyników katetyzacji serca wykazało, że metoda cTCD ma najwyższą czułość ze wszystkich metod przy specyficzności porównywalnej z TEE [64].

Porównanie wyników uzyskanych metodą cTCD i równocześnie przeprowadzanej echokardiografii wewnątrzsercowej podczas zabiegu ablacji PFO wykazało, że druga z wymienionych metod może zaniżyć częstość występowania przecieku RLS u 34% chorych [65]. Monitorowanie metodą cTCD znalazło zastosowanie w wykrywaniu utrzymującego się po kardiochirurgicznej interwencji RLS, przy czym ujemny wynik uzyskany tą metodą nie wymaga dalszej weryfikacji, zaś dodatni wynik wymaga wykonania kontrolnej TEE [64, 65].

Należy zaznaczyć, że mimo rozwoju technik obrazowania echokardiografii przezklatkowej, między innymi poprzez zastosowanie obrazowania 3D z użyciem obrazowania harmonicznego, wciąż „złotym standardem” w diagnostyce RLS jest TEE, która, choć inwazyjna, pozwala zlokalizować i ocenić morfologię nawet niewielkiego przetrwałego otworu owalnego [66, 67].

Fale ultradźwiękowe, zwłaszcza w zakresie niskich częstotliwości, mogą wspomagać proces

trombolizy przez rekombinowany tkankowy aktywator plazminogenu (rt-PA, *recombinant tissue plasminogen activator*). Proponowane mechanizmy tego działania obejmują: wytwarzanie przez fale ultradźwiękowe przejściowych zmian strukturalnych w obrębie skrzepliny (tworzenie mikrojam w powierzchniowej warstwie skrzepliny, modyfikowanie agregacji włókien fibryny), poprawę penetracji rt-PA w głąb skrzepliny, zwiększenie resztkowego przepływu krwi. Przy niskich wartościach IM udział efektu termalnego oraz kawitacji (właściwości fal ultradźwiękowych do wytrącania pęcherzyków gazu rozpuszczonych w danej cieczy) wydaje się znikomy [68, 69].

Sonotromboliza

Pierwsze badanie, w którym zastosowano długotrwałe monitorowanie za pomocą standardowego aparatu TCD pacjentów z udarem niedokrwiennym mózgu podczas podawania rt-PA (tzw. sonotromboliza), wykazało większy odsetek pełnych i szybkich rekanalizacji u chorych monitorowanych [70]. Badanie *Combined Lysis of Thrombus in Brain Ischemia Using Transcranial Ultrasound and Systemic TPA* (CLOTBUST), przeprowadzone ogółem u 126 pacjentów z udarem niedokrwiennym mózgu leczonych rtPA w ciągu 3 godzin od wystąpienia objawów, polegało na stosowaniu dwugodzinnego monitorowania 2 MHz TCD podczas podawania rt-PA. Wyniki badania potwierdziły, że jest to procedura bezpieczna, zwiększająca odsetek chorych z całkowitą, szybką rekanalizacją, choć nie osiągnięto istotności statystycznej w tym względzie [71].

W badaniu *Transcranial Low-Frequency Ultrasound-Mediated Thrombolysis in Brain Ischemia* (TRUMBI) zastosowano ultradźwięki o niskiej częstotliwości w trakcie podawania rt-PA u 48 chorych mieszczących się w 3- lub 6-godzinnym oknie terapeutycznym. Badanie zostało przerwane, gdyż u 13 z 14 pacjentów w grupie badanej stwierdzono krwawienie śródczaszkowe w kontrolnym badaniu MR głowy, przy czym u 5 z tych chorych odnotowano pogorszenie stanu klinicznego. W porównaniu z grupą kontrolną (chorzy poddani leczeniu wyłącznie rt-PA), gdzie krwotok śródczaszkowy odnotowano u 5 z 12 pacjentów, była to różnica istotnie statystyczna. Po 3 miesiącach obserwacji grupy te nie różniły się śmiertelnością ani odsetkiem pełnych rekanalizacji. Niektóre z obserwowanych krwotoków w grupie badanej pojawiły się w nietypowych lokalizacjach (podpajęczynówkowo, wewnątrzkomorowo,

kontralateralnie), sugerując, że ultradźwięki o niskiej częstotliwości mogą wytwarzać miejsca sumowania się energii, prowadząc do rozrywania drobnych tętniczek lub uszkodzenia bariery krew–mózg [72].

Próba połączenia leczenia trombolitycznego z monitorowaniem metodą TCCD, podjęta przez Eggersa i wsp. u ogółem 25 pacjentów ze świeżym udarem niedokrwiennym mózgu w zakresie unaczynienia przez MCA, wykazała pełną lub częściową rekanalizację u 57% chorych w grupie badanej, w porównaniu z 21% w grupie kontrolnej [73]. Ponadto odnotowano lepszą sprawność chorych, mierzoną za pomocą skali Barthela, po 3-miesięcznym okresie obserwacji. Zwiększony odsetek krwawień śródczaszkowych w grupie badanej (18% v. 0%), przy małej grupie osób badanych, nie osiągnął poziomu istotności statystycznej, lecz nie pozwolił na jednoznaczne wyciągnięcie wniosków. Prawdopodobnie w zwiększeniu ryzyka krwawienia w przypadku stosowania TCCD w porównaniu z TCD odgrywa rolę poddawanie większej objętości mózgu działaniu fal ultradźwiękowych (podobnie jak w badaniu TRUMBI). Niewykluczone też, że istotne jest stosowanie w technice TCCD dwóch częstotliwości (1,8 MHz dla badań dopplerowskich, 4 MHz dla obrazowania w skali szarości), a przez to operowanie większymi wartościami indeksu mechanicznego [72, 73].

W modelach zwierzęcych potwierdzono wspomagający trombolizę efekt mikropęcherzyków kontrastu [74, 75]. Pierwsze duże badanie z wykorzystaniem mikropęcherzyków w sonotrombolizie u ludzi obejmowało 38 chorych, u których zastosowano trzy bolusy preparatu *Levovist*[®] razem z dwugodzinnym monitorowaniem metodą TCD oraz dożylnym podaniem rt-PA z następczym porównaniem z grupą badaną we wspomnianym wcześniej badaniu CLOTBUST [76]. W grupie z dodatkowo podanym kontrastem uzyskano rekanalizację w 55% przypadków, w porównaniu z 40% i 23% przypadków odpowiednio w grupach poddanych sonotrombolizie i trombolizie. Odsetek zarejestrowanych krwotoków w grupie badanej wyniósł 23%, z czego 3% stanowiły krwotoki objawowe, co według autorów może wynikać z wyższego odsetka wczesnych rekanalizacji. W badaniu z zastosowaniem kontrastu (*Sonovue*[®]) i TCCD w trakcie dożylnego podawania rt-PA u chorych z udarem mózgu w przebiegu niedrożności MCA osiągnięto całkowitą rekanalizację u 48% chorych [77]. Badanie zostało przerwane ze względu na wysoki odsetek zarejestrowanych

krwawień śródczaszkowych (78%), z których żadne nie było objawowe. Niewyjaśnione pozostaje, jaki udział w zwiększonym ryzyku krwawienia śródczaszkowego miał kontrast ultrasonograficzny, a jaki samo monitorowanie za pomocą TCCD. Brak jest badań dotyczących tego zagadnienia.

Do badań wprowadzono kontrasty nowej generacji, składające się z gazu perfluoropropanowego zamkniętego w fosfolipidowej otoczce, które poddane działaniu fal ultradźwiękowych o częstotliwości 2 MHz mogą powiększać swoją objętość, oscylować lub rozpadać się, wytwarzając przy tym dodatkową energię i powodować wzmocnienie echa [78]. Kontrast perflutrenowo-lipidowy u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu dociera do miejsca zakrzepu, ponadto u 75% pacjentów przenika do miejsc, gdzie nie uwidoczniło wcześniej przepływu, a u około 80% raptownie zwiększa rejestrowany przepływ w badanej tętnicy środkowej mózgu [79]. Umożliwia to lepszą penetrację rt-PA w głąb skrzepu, choć istnieją przesłanki, że same mikrosfery lipidowe, bez udziału leku trombolizującego, mogą przyspieszać rozpuszczanie skrzepu [80, 81].

W wieloośrodkowym badaniu *Transcranial Ultrasound In Clinical Sonothrombolysis* (TUCSON) z udziałem 35 pacjentów poddanych leczeniu dożylnemu rt-PA, u niektórych chorych zastosowano dodatkowo stałe monitorowanie metodą TCD w połączeniu z kontrastem perflutrenowo-lipidowym w dwóch możliwych dawkach. Osiągnięto szybszą i pełniejszą rekanalizację w grupach, którym podano kontrast w większej i mniejszej dawce w porównaniu z grupą kontrolną (odpowiednio 67% i 45% v. 33%) [82]. Ponadto zaobserwowano nieistotną statystycznie tendencję do lepszej sprawności ruchowej po 3 miesiącach. Badanie przerwano, gdy u 3 chorych (27%) poddanych leczeniu większą dawką kontrastu stwierdzono krwawienie wewnątrzczaszkowe, w dwóch przypadkach prowadzące do zgonu. Autorzy sugerują, że różnica w odsetku krwawień może wynikać z nieprawidłowej randomizacji grup (wyższa wyjściowa punktacja NIHSS, dłuższy czas między podaniem rt-PA a kontrastem w grupie, która otrzymała większą dawkę kontrastu).

W trakcie badań klinicznych (IMS III, *Interventional Management of Stroke*) mających docelowo objąć 900 chorych oceniany jest kateter EKOS *Neurowave*[®], służący do podaży dotętnicznej środka trombolitycznego, posiadający jednocześnie możliwość generowania fal ultradźwiękowych o częstotliwości 1,7–2,1 MHz [83]. Umożliwia to

zmniejszenie strat energii fal ultradźwiękowych podczas przechodzenia fal przez kości czaszki. Badanie ma za zadanie porównać standardowe dożylnie leczenie trombolityczne z interwencyjnymi technikami dotętnicznymi.

Podsumowując zastosowanie ultrasonografii przezczaszkowej z kontrastem w leczeniu udaru niedokrwiennego, warto zapoznać się z metaanalizą uwzględniającą wyniki dużych, randomizowanych badań (CLOTBUST, TUCSON, TRUMBI) [84]. Stwierdzono, że stosowanie trombolizy, zarówno z TCD, jak i TCCD, wiąże się z wyższym prawdopodobieństwem osiągnięcia całkowitej rekanalizacji, przy jednoczesnym zachowaniu podobnego do standardowej trombolizy profilu bezpieczeństwa. Po uwzględnieniu badań z użyciem najnowszej generacji kontrastów i ultradźwięków o wysokiej częstotliwości, stwierdzono, że takie uzupełnienie trombolizy nie zwiększa ryzyka krwawienia śródczaszkowego, natomiast prawie trzykrotnie zwiększa prawdopodobieństwo pełnej rekanalizacji. Najistotniejszym problemem ograniczającym zastosowanie sonotrombolizy pozostaje brak odpowiednio wyszkolonego, stale dostępnego personelu. Przeprowadzane są badania, obecnie znajdujące się w fazie klinicznej, nad urządzeniem mającym w sposób automatyczny dostarczać bezpieczną dawkę energii w badany obszar mózgu [85, 86].

Perfuzja

W przyszłości, dzięki dalszemu rozwojowi technik zależnych od kontrastu, możliwa będzie ocena, a także monitorowanie perfuzji mózgu w ostrej fazie udaru. Obrazowanie perfuzji w udarze niedokrwiennym mózgu umożliwia dokładniejsze określenie etiologii udaru oraz ma znaczenie rokownicze. Obecnie do oceny perfuzji używane są Tc-HMPAO-SPECT, PET, Xenon-CT i perfuzja MR, których wadą jest albo konieczność podawania radioaktywnych substancji, albo czasochłonność i uciążliwość dla chorych [87–90]. Technika TCCD wspomagana bolusem kontrastu (*Levovist*[®] lub *SonoVue*[®]) jako narzędzie nieinwazyjne i łatwo dostępne może być przydatna we wczesnym diagnozowaniu i monitorowaniu zaburzeń naczyniowych. Na podstawie pomiarów uwzględniających czas napływania kontrastu i jego wypłukiwania z badanego rejonu oprogramowanie wyznacza krzywe intensywności sygnału i umożliwia uzyskanie różnych parametrów perfuzji, takich jak czas do punktu maksymalnego wzmocnienia (*time to peak intensity*), czas trwania maksymal-

nego wzmocnienia (*peak width*) czy też pole pod krzywą (AUC, *area under curve*), umożliwiających pomiar przepływu krwi w makro- i mikroskali [91]. Badania z użyciem obrazowania harmonicznego wykazały użyteczność TCCD w ocenianiu perfuzji ludzkiego mózgu zarówno u zdrowych ochotników, jak też u chorych z udarem mózgu [92–95]. Podobnie, przy zastosowaniu techniki emisji wymuszonej akustycznie, uzyskano ocenę perfuzji w czasie rzeczywistym z dobrą korelacją z mózgowym przepływem krwi (CBF, *cerebral blood flow*) u zwierząt, a następnie u zdrowych ludzi i u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu [96–98]. Głównym ograniczeniem tych technik jest konieczność podawania jednej iniekcji bolusu dla każdej badanej płaszczyzny, w związku z czym wzrasta ilość użytego kontrastu oraz czasochłonność badania. Badaniem TCCD można opisać zmiany przepływu mózgowego, ale nie ma obecnie metod bezwzględnego pomiaru perfuzji, gdyż istnieje zbyt duża zmienność międzyosobnicza dystrybucji kontrastu po podaniu bolusu. Opracowywane są techniki trójwymiarowe, które umożliwią pomiary objętościowe obszaru objętego udarem i obszaru penumbry, a przez to ocenę rozległości udaru mózgu w trzech płaszczyznach [96, 98].

Celowana podaż leków

Ultradźwięki mają również zastosowanie lecznicze, jak dotąd głównie w dermatologii, polegające na wspomaganie dostarczania leków do tkanek i komórek, między innymi poprzez zwiększanie przepuszczalności błon komórkowych [99]. Skuteczność sonotrombolizy z kontrastem wynika przynajmniej częściowo z ułatwienia penetracji cząsteczkom leku do miejsca docelowego. Zastosowanie kontrastów składających się z otoczki i zawartego wewnątrz gazu otworzyło drogę do zaprojektowania cząsteczek wykazujących zdolność do wiązania się z określonymi epitopami i receptorami komórkowymi, dzięki czemu można wpływać na gromadzenie się kontrastu w określonych rejonach. Szerokie spektrum ligandów, wliczając w to przeciwciała, węglowodany i peptydy, może być zastosowane do wybiórczego ukierunkowania mikropęcherzyków kontrastu. Dotychczas udowodniono *in vivo* oraz *in vitro* wzmożone przyłączanie się mikropęcherzyków, poprzez ukierunkowanie cząsteczek kontrastu na określone molekuły (m.in. integryny, receptory GP IIb/IIIa), do śródbłonna zaktywizowanego lub powstałego w trakcie neoangiogenezy, naczyń

węzłów chłonnych oraz zaktywizowanych trombocytów [100–105]. Nowsze cząsteczki kontrastu są tak projektowane, by ligand ulegał odsłonięciu i wiązaniu się z cząsteczką docelową dopiero po zastosowaniu energii ultradźwięków. Można dzięki temu uniknąć niepożądanego wiązania się cząsteczek kontrastu z tkankami w obszarach niepoddanych działaniu ultradźwięków [106]. Ustalono też, że choć same fale ultradźwiękowe mają wpływ na zwiększenie przepuszczalności błony komórkowej oraz zwiększenie przepuszczalności bariery krew–mózg, to cząsteczki kontrastu mają działanie addytywne, dzięki czemu ułatwione zostaje dostarczenie leku do ośrodkowego układu nerwowego [107, 108]. Stworzono już pierwsze cząsteczki zawierające rt-PA, które dotychczas skutecznie zastosowano do prewencji incydentów zakrzepowych w obrębie mięśnia sercowego u psów [109]. Przeprowadzono pojedyncze badania z użyciem leków przeciwnowotworowych na liniach komórkowych między innymi czerniaka, raka piersi, potwierdzające te obserwacje [110, 111]. Podjęto też próby dostarczenia wewnątrz cząsteczek kontrastu materiału DNA, na przykład kodującego białka markerowe (np. beta-galaktozydazę) lub syntetyczne oligonukleotydy, które modulują ekspresję genów poprzez inaktywację docelowego genu [112]. Wadami tej metody są ograniczenie efektu terapeutycznego do stosunkowo małych przestrzeni oraz krótkotrwałość oddziaływania na przepuszczalność błon biologicznych. W związku z tym powstaje problem, gdzie najlepiej usytuować cząsteczki leku — wewnątrz czy na powierzchni mikropęcherzyka? Chociaż dotychczasowe próby terapii przeciwnowotworowej i genowej z użyciem mikropęcherzyków nie przyczyniły się istotnie do zwiększenia skuteczności leczenia, to uważa się, że w miarę udoskonalania technik komponowania mikropęcherzyków powiązanych z lekami zastosowanie tej techniki będzie się dynamicznie rozwijać [113].

Bezpieczeństwo stosowania kontrastów ultrasonograficznych

Doświadczenie kliniczne wykazało, że wstrzyknięcie gazu do układu naczyniowego w niewielkiej ilości (< 200 μ l) nie jest groźne dla pacjenta. Także preparaty komercyjne kontrastów cechują się wysokim profilem bezpieczeństwa. Podawane w piśmiennictwie działania uboczne zdarzają się rzadko. W większości przypadków objawy niepożądane to dolegliwości o łagodnym prze-

biegu, które szybko ustępują także bez interwencji medycznej, na przykład ból lub zawroty głowy, nudności, senność, wysypka, zaczerwienienie skóry w miejscu wkłucia dożylnego, uderzenia gorąca, zaczerwienienie twarzy, uczucie drętwienia i mrowienia kończyn, ból w klatce piersiowej [114]. Poważniejsze objawy: spadki ciśnienia krwi, zasłabnięcia, zaburzenia rytmu pracy serca, występowały głównie u pacjentów z istotnymi schorzeniami układu krążenia, a więc z potencjalnie dużym ryzykiem ostrych incydentów kardiologicznych. W pracy oceniającej bezpieczeństwo próby TCD na obecność PFO z użyciem mikropęcherzyków przeprowadzonej u 508 pacjentów, powikłania niedokrwienne stwierdzono u 0,6% badanych [115]. Należy pamiętać o przeciwwskazaniach do stosowania kontrastów w przypadku ciężkiego nadciśnienia płucnego, wady serca z przeciekiem odwróconym, ciężkiej niewydolności krążenia (IV stopień wg *New York Heart Association*), poważnych zaburzenia rytmu serca, niedawno przebytego zawału serca (do 7. dnia od wystąpienia zawału), niestabilnej choroby wieńcowej, ostrego zapalenia wsierdza, niedawno przebytego zatoru (do 7 dni od wystąpienia zatoru), ciężkiego zapalenia płuc, ciąży oraz u dzieci (z powodu braku badań klinicznych w tej grupie wiekowej).

Podsumowanie

Badania ultrasonograficzne z zastosowaniem środków wzmacniających sygnał dopplerowski, z uwagi na wysoką skuteczność diagnostyczną, nieinwazyjność, powtarzalność, szeroką dostępność i relatywnie niski koszt, są bardzo atrakcyjną, a jednocześnie konkurencyjną metodą w obrazowaniu tętnic wewnątrzczaszkowych. Mogą również mieć zastosowanie w monitorowaniu i wspomaganiu leczenia udaru mózgu.

PIŚMIENNICTWO

1. Aaslid R., Markwalder T., Nornes H. Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recording of flow velocity in basal cerebral arteries. *JNS* 1982; 57: 769–774.
2. Schöning M., Grunert D., Stier B. Transkranielle Duplexsonographie durch den intakten Knochen: Ein neues diagnostisches Verfahren. *Ultraschall in Med.* 1989; 10: 66, 71.
3. Droste D., Boehm T., Ritter M., Dittrich R., Ringelstein E. Benefit of Echocontrast-Enhanced Transcranial Arterial Color-Coded Duplex Ultrasound. *Cerebrovasc. Dis.* 2005; 20: 332–336.
4. Gahn G., Gerber J., Hallmeyer S. i wsp. Contrast-enhanced Transcranial Color-Coded Duplexsonography in Stroke Patients with Limited Bone Windows. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2000; 21: 509–514.
5. Seidel G., Kaps M., Gerriets T. Potential and Limitations of Transcranial Color-Coded Sonography in Stroke Patients. *Stroke* 1995; 26: 2061–2066.
6. Lorenz M., Thoelen N., Loesel N. i wsp. Assessment of Cerebral Autoregulation with Transcranial Doppler Sonography in Poor Bone Windows

Using Constant Infusion of an Ultrasound Contrast Agent. *Ultrasound Med. Biol.* 2008; 34: 345–353.

7. Zunker P., Wilms H., Brossmann J., Georgiadis D., Weber S., Deuschl G. Echo Contrast-Enhanced Transcranial Ultrasound: Frequency of Use, Diagnostic Benefit, and Validity of Results Compared With MRA. *Stroke* 2002; 33: 2600–2603.
8. Gramiak R., Shah P.M. Echocardiography of the aortic root. *Invest. Radiol.* 1968; 3: 356–366.
9. Correas J., Bridal L., Lesavre A., Méjean A., Claudon M., Hélénon O. Ultrasound contrast agents: properties, principles of action, tolerance, and artifacts. *Eur. Radiol.* 2001; 11: 1316–1328.
10. Jauss M., Zanette E. Detection of Right-to-Left Shunt with Ultrasound Contrast Agent and Transcranial Doppler Sonography. *Cerebrovasc. Dis.* 2000; 10: 490–496.
11. Harrer J.U., Klotzsch C. Second Harmonic Imaging of the Human Brain: The Practicability of Coronal Insonation Planes and Alternative Perfusion Parameters. *Stroke* 2002; 33: 1530–1535.
12. Postert T., Muhs A., Meves S., Federlein J., Przuntek H., Buttner T. Transient Response Harmonic Imaging: An Ultrasound Technique Related to Brain Perfusion. *Stroke* 1998; 29: 1901–1907.
13. Harrer J.U., Klotzsch C., Stracke C.P., Moller-Hartmann W. Cerebral perfusion sonography in comparison with perfusion MRT: a study with healthy volunteers. *Ultraschall. Med.* 2004; 25: 263–269.
14. Rosenthal S.J., Jones P.H., Wetzel L.H. Phase Inversion Tissue Harmonic Sonographic Imaging: A Clinical Utility Study. *Am. J. Roentgenol.* 2001; 176: 1393–1398.
15. Kern R., Perren F., Schoeneberger K., Gass A., Hennerici M., Meairs S. Ultrasound Microbubble Destruction Imaging in Acute Middle Cerebral Artery Stroke. *Stroke* 2004; 35: 1665–1670.
16. Lim A., Cosgrove D. Functional studies in Cosgrove D: Advances in contrast agent imaging using Cadence™ contrast pulse sequencing technology (CPS) and SonoVue®. *Eur. Radiol. Suppl.* 2004; 14: 110–115.
17. Pohl C., Tiemann K., Schlosser T., Becher H. Stimulated acoustic emission detected by transcranial color doppler ultrasound: a contrast-specific phenomenon useful for the detection of cerebral tissue perfusion. *Stroke* 2000; 31: 1661–1666.
18. Meves S.H., Wilkening W., Thies T. i wsp. Comparison between echo contrast agent-specific imaging modes and perfusion-weighted magnetic resonance imaging for the assessment of brain perfusion. *Stroke* 2002; 33: 2433–2437.
19. Schäuble B., Wijman C.A.C., Koleini B., Babikian V.L. Ophthalmic Artery Microembolism in Giant Cell Arteritis. *J. Neuroophthalmol.* 2000; 20: 273–275.
20. Diehl R.R., Sliwka U., Rautenberg W., Schwartz A. Evidence for embolization from a posterior cerebral artery thrombus by transcranial Doppler monitoring. *Stroke* 1993; 24: 606–608.
21. Georgiadis D., Grosset D.G., Kelman A., Faichney A., Lees K.R. Prevalence and characteristics of intracranial microemboli signals in patients with different types of prosthetic cardiac valves. *Stroke* 1994; 25: 587–592.
22. Markus H., Droste D.W., Brown M.M. Detection of asymptomatic cerebral embolic signals with doppler ultrasound. *Lancet* 1994; 343: 1011–1012.
23. Siebler M., Sitzer M., Steinmetz H. Detection of intracranial emboli in patients with symptomatic extracranial carotid artery disease. *Stroke* 1992; 23: 1652–1654.
24. Siebler M., Sitzer M., Rose G., Bendfeldt D., Steinmetz H. Silent cerebral embolism caused by neurologically symptomatic high-grade carotid stenosis: Event rates before and after carotid endarterectomy. *Brain* 1993; 116: 1005–1015.
25. Jansen C., Ramos L.M., van Heesewijk J.P., Moll F.L., van Gijn J., Ackersstaff R.G. Impact of microembolism and hemodynamic changes in the brain during carotid endarterectomy. *Stroke* 1994; 25: 992–997.
26. Bunegin L., Wahl D., Albin M.S. Detection and volume estimation of embolic air in the middle cerebral artery using transcranial Doppler sonography. *Stroke* 1994; 25: 593–600.
27. Markus H.S., Clifton A., Buckenham T., Brown M.M. Carotid angioplasty. Detection of embolic signals during and after the procedure. *Stroke* 1994; 25: 2403–2406.
28. Markus H. Microembolism in Cerebral Angiography. *Echocardiography.* 1996; 13: 537–542.
29. Khan K., Yeung M., Burbridge B., Wells C., Shuaib A. Transcranial Doppler signals during cerebral angiography and cardiac catheterization. *JSCD* 1995; 5: 187–191.

30. Caputi L., Usai S., Carriero M.R. i wsp. Microembolic Air Load During Contrast-Transcranial Doppler: A Trigger for Migraine With Aura? *Headache* 2010; 50: 1320–1327.
31. Padayachee T., Gosling R., Bishop C., Burnard K., Browse N. Monitoring middle cerebral artery blood velocity during carotid endarterectomy. *Br. J. Surg.* 1986; 73: 98–100.
32. Consensus Committee of the Ninth International Cerebral Hemodynamic Symposium. Basic Identification Criteria of Doppler Microembolic Signals. *Stroke* 1995; 26: 1123.
33. Keunen R.W.M., Stam C.J., Tavy D.L.J., Mess W.H., Titulaer B.M., Ackerstaff R.G.A. Preliminary Report of Detecting Microembolic Signals in Transcranial Doppler Time Series With Nonlinear Forecasting. *Stroke* 1998; 29: 1638–1643.
34. Ries F., Tiemann K., Pohl C., Bauer C., Mundo M., Becher H. High-Resolution Emboli Detection and Differentiation by Characteristic Postembolic Spectral Patterns. *Stroke* 1998; 29: 668–672.
35. Russell D., Brucher R., Markus H.S., Punter M. Embolus detection and differentiation using multifrequency transcranial Doppler * response: *Stroke* 2006; 37: 340–342.
36. Russell D., Brucher R. Online automatic discrimination between solid and gaseous cerebral microemboli with the first multifrequency transcranial Doppler. *Stroke* 2002; 33: 1975–1980.
37. Evans D.H. Embolus differentiation using multifrequency transcranial Doppler. *Stroke* 2006; 37: 1641.
38. Smith J.L., Evans D.H., Naylor A.R. Analysis of the frequency modulation present in doppler ultrasound signals may allow differentiation between particulate and gaseous cerebral emboli. *Ultrasound Med. Biol.* 1997; 23: 727–734.
39. Segura T., Serena J., Castellanos M., Teruel J., Vilar C., Davalos A. Embolism in acute middle cerebral artery stenosis. *Neurology* 2001; 56: 497–501.
40. Ritter M., Dittrich R., Thoenissen N., Ringelstein E., Nabavi D. Prevalence and prognostic impact of microembolic signals in arterial sources of embolism. *J. Neurol.* 2008; 255: 953–961.
41. Mackinnon A.D., Aaslid R., Markus H.S. Ambulatory Transcranial Doppler Cerebral Embolic Signal Detection in Symptomatic and Asymptomatic Carotid Stenosis. *Stroke* 2005; 36: 1726–1730.
42. Valton L., Larrue V., le Traon A.P., Massabau P., Geraud G. Microembolic Signals and Risk of Early Recurrence in Patients With Stroke or Transient Ischemic Attack. *Stroke* 1998; 29: 2125–2128.
43. Abbott A.L., Chambers B.R., Stork J.L., Levi C.R., Bladin C.F., Donnan G.A. Embolic Signals And Prediction of Ipsilateral Stroke or Transient Ischemic Attack in Asymptomatic Carotid Stenosis: A Multicenter Prospective Cohort Study. *Stroke* 2005; 36: 1128–1133.
44. Molloy J., Markus H.S. Asymptomatic Embolization Predicts Stroke and TIA Risk in Patients With Carotid Artery Stenosis. *Stroke* 1999; 30: 1440–1443.
45. Siebler M., Nachtmann A., Sitzer M. i wsp. Cerebral Microembolism and the Risk of Ischemia in Asymptomatic High-Grade Internal Carotid Artery Stenosis. *Stroke* 1995; 26: 2184–2186.
46. Markus H.S., King A., Shipley M. i wsp. Asymptomatic embolisation for prediction of stroke in the Asymptomatic Carotid Emboli Study (ACES): a prospective observational study. *Lancet Neurol.* 2010; 9: 663–671.
47. Carolei A., Marini C., Ferranti E., Frontoni M., Prencipe M., Fieschi C. A prospective study of cerebral ischemia in the young. Analysis of pathogenic determinants. The National Research Council Study Group. *Stroke* 1993; 24: 362–367.
48. Cabanes L., Mas J.L., Cohen A. i wsp. Atrial septal aneurysm and patent foramen ovale as risk factors for cryptogenic stroke in patients less than 55 years of age. A study using transesophageal echocardiography. *Stroke* 1993; 24: 1865–1873.
49. Hagen P., Scholz D., Edwards W. Incidence and size of patent foramen ovale during the first decade of life: an autopsy study of 965 normal hearts. *Mayo Clin. Proc.* 1984; 59: 17–20.
50. Di Tullio M., Sacco R.L., Gopal A., Mohr J.P., Homma S. Patent Foramen Ovale as a Risk Factor for Cryptogenic Stroke. *Annals of Internal Medicine* 1992; 117: 461–465.
51. Wright D., Gibson K., Barclay J., Razumovsky A., Rush J., McCollum C. High prevalence of right-to-left shunt in patients with symptomatic great saphenous incompetence and varicose veins. *J. Vasc. Surg.* 2010; 51: 104–107.
52. Feurer R., Sadikovic S., Sepp D. i wsp. Patent foramen ovale is not associated with an increased risk of stroke recurrence. *European Journal of Neurology* 2010; 17: 1339–1345.
53. Alsheikh-Ali A.A., Thaler D.E., Kent D.M. Patent Foramen Ovale in Cryptogenic Stroke: Incidental or Pathogenic? *Stroke* 2009; 40: 2349–2355.
54. Droste D.W., Lakemeier S., Wichter T. i wsp. Optimizing the technique of contrast transcranial doppler ultrasound in the detection of right-to-left shunts. *Stroke* 2002; 33: 2211–2216.
55. Droste D.W., Kriete J., Stypmann J. i wsp. Contrast Transcranial Doppler Ultrasound in the Detection of Right-to-Left Shunts: Comparison of Different Procedures and Different Contrast Agents. *Stroke* 1999; 30: 1827–1832.
56. Ringelstein B., Droste D.W., Babikian V.L. i wsp. Consensus on Microembolus Detection by TCD. *Stroke* 1998; 29: 725–729.
57. Spencer M.P., Moehring M.A., Jesurum J., Gray W.A., Olsen J.V., Reisman M. Power M-Mode Transcranial Doppler for Diagnosis of Patent Foramen Ovale and Assessing Transcatheter Closure. *J. Neuroimaging* 2004; 14: 342–349.
58. Lao A.Y., Sharma V.K., Tsvigoulis G. i wsp. Detection of Right-to-Left Shunts: Comparison between the International Consensus and Spencer Logarithmic Scale Criteria. *J. Neuroimaging* 2008; 18: 402–406.
59. Jauss M., Zanette E. Detection of Right-to-Left Shunt with Ultrasound Contrast Agent and Transcranial Doppler Sonography. *Cerebrovasc. Dis.* 2000; 10: 490–496.
60. Droste D.W., Silling K., Stypmann J. i wsp. Contrast Transcranial Doppler Ultrasound in the Detection of Right-to-Left Shunts: Time Window and Threshold in Microbubble Numbers. *Stroke* 2000; 31: 1640–1645.
61. Uzuner N., Horner S., Pichler G., Svetina D., Niederkorn K. Right-to-Left Shunt Assessed by Contrast Transcranial Doppler Sonography: New Insights. *J. Ultrasound. Med.* 2004; 23: 1475–1482.
62. Mangiafico S., Scandura S., Ussia G.P. i wsp. Transesophageal echocardiography and transcranial color Doppler: independent or complementary diagnostic tests for cardiologists in the detection of patent foramen ovale? *J. Cardiovasc. Med.* 2009; 10: 143–148.
63. Van H., Poommipanit P., Shalaby M., Gevorgyan R., Tseng C., Tobis J. Sensitivity of transcranial Doppler versus intracardiac echocardiography in the detection of right-to-left shunt. *JACC: Cardiovasc. Imaging* 2010; 3: 343–348.
64. Sorensen S.G., Aguilar H., Mcknight W.K., Thomas H., Muhlestein J.B. Transcranial Doppler Quantification of Residual Shunt after Percutaneous Patent Foramen Ovale Closure. Comparison of Two Devices. *J. Interv. Cardiol.* 2010; 23: 575–580.
65. Orzan F., Liboni W., Bonzano A. i wsp. Follow-up of residual shunt after patent foramen ovale closure. *Acta Neurol. Scand.* 2010; 122: 257–261.
66. Maffè S., Dellavesa P., Zenone F. i wsp. Transthoracic second harmonic two- and three-dimensional echocardiography for detection of patent foramen ovale. *Eur. J. Echocardiogr.* 2010; 11: 57–63.
67. Chen W.J., Kuan P., Lien W.P., Lin F.Y. Detection of patent foramen ovale by contrast transesophageal echocardiography. *Chest* 1992; 101: 1515–1520.
68. Tachibana K. Enhancement of fibrinolysis with ultrasound energy. *J. Vasc. Intervent. Radiol.* 1992; 3: 199–203.
69. Francis C.W., Blinc A., Lee S., Cox C. Ultrasound accelerates transport of recombinant tissue plasminogen activator into clots. *Ultrasound Med. Biol.* 1995; 21: 419–424.
70. Alexandrov A.V., Demchuk A.M., Felberg R.A. i wsp. High Rate of Complete Recanalization and Dramatic Clinical Recovery During tPA Infusion When Continuously Monitored With 2-MHz Transcranial Doppler Monitoring. *Stroke* 2000; 31: 610–614.
71. Alexandrov A.V., Molina C.A., Grotta J.C. i wsp. Ultrasound-Enhanced Systemic Thrombolysis for Acute Ischemic Stroke. *NEJM* 2004; 351: 2170–2178.
72. Daffertshofer M., Gass A., Ringleb P. i wsp. Transcranial low-frequency ultrasound-mediated thrombolysis in brain ischemia: increased risk of hemorrhage with combined ultrasound and tissue plasminogen activator: results of a phase II clinical trial. *Stroke* 2005; 36: 1441–1446.
73. Eggers J., Koch B., Meyer K., König I., Seidel G. Effect of ultrasound on thrombolysis of middle cerebral artery occlusion. *Ann. Neurol.* 2003; 53: 797–800.
74. Culp W.C., Porter T.R., Lowery J., Xie F., Roberson P.K., Marky L. Intracranial clot lysis with intravenous microbubbles and transcranial ultrasound in swine. *Stroke* 2004; 35: 2407–2411.
75. Culp W., Porter T.R., McCowan T. i wsp. Microbubble-augmented ultrasound de clotting of thrombosed arteriovenous dialysis grafts in dogs. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2003; 14: 343–347.
76. Molina C.A., Ribo M., Rubiera M. i wsp. Microbubble administration accelerates clot lysis during continuous 2-MHz ultrasound monitoring in stroke patients treated with intravenous tissue plasminogen activator. *Stroke* 2006; 37: 425–429.

77. Perren F, Loulidi J., Poglià D., Landis T., Sztajzel R. Microbubble potentiated transcranial duplex ultrasound enhances IV thrombolysis in acute stroke. *J. Thromb. Thrombolysis* 2008; 25: 219–223.
78. Meairs S. Contrast-enhanced ultrasound perfusion imaging in acute stroke patients. *Eur. Neurol.* 2008; 59 (supl. 1): 17–26.
79. Alexandrov A.V., Mikulik R., Ribo M. i wsp. A pilot randomized clinical safety study of sonothrombolysis augmentation with ultrasound-activated perflutren-lipid microspheres for acute ischemic stroke. *Stroke* 2008; 39: 1464–1469.
80. Unger E.C., Porter T., Culp W., Labell R., Matsunaga T., Zutshi R. Therapeutic applications of lipid-coated microbubbles. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004; 56: 1291–1314.
81. Culp W.C., Flores R., Brown A.T. i wsp. Successful microbubble sonothrombolysis without tissue-type plasminogen activator in a rabbit model of acute ischemic stroke. *Stroke* 2011; 42: 2280–2285.
82. Molina C.A., Barreto A.D., Tsvigoulis G. i wsp. Transcranial Ultrasound in Clinical Sonothrombolysis (TUCSON) trial. *Ann. Neurol.* 2009; 66: 28–38.
83. Khatri P., Hill M.D., Palesch Y.Y. i wsp. Methodology of the Interventional Management of Stroke III Trial. *Int. J. Stroke* 2008; 3: 130–137.
84. Tsvigoulis G., Eggers J., Ribo M. i wsp. Safety and efficacy of ultrasound-enhanced thrombolysis: a comprehensive review and meta-analysis of randomized and nonrandomized studies. *Stroke* 2010; 41: 280–287.
85. Alexandrov A., Schafer M. Operator-independent device for sonothrombolysis. *Cerebrovasc. Dis.* 2008; 26 (supl. 1): 6.
86. Rubiera M., Alexandrov A.V. Sonothrombolysis in the Management of Acute Ischemic Stroke. *Am. J. Cardiovasc. Drugs* 2010; 10: 5–10.
87. Rordorf G., Koroshetz W.J., Copen W.A. i wsp. Regional ischemia and ischemic injury in patients with acute middle cerebral artery stroke as defined by early diffusion-weighted and perfusion-weighted MRI. *Stroke* 1998; 29: 939–943.
88. Alexandrov A.V., Black S.E., Ehrlich L.E. i wsp. Simple Visual Analysis of Brain Perfusion on HMPAO SPECT Predicts Early Outcome in Acute Stroke. *Stroke* 1996; 27: 1537–1542.
89. Catafau A.M. Brain SPECT in Clinical Practice. Part I: Perfusion. *J. Nucl. Med.* 2001; 42: 259–271.
90. Camargo E.E. Brain SPECT in Neurology and Psychiatry. *J. Nucl. Med.* 2001; 42: 611–623.
91. Eyding J., Krogias C., Meves S. i wsp. Quantitative ultrasonographic evaluation of cerebral perfusion in acute stroke is possible. *Stroke* 2004; 35: 2432–2433.
92. Postert T., Federlein J., Weber S., Przuntek H., Büttner T. Second harmonic imaging in acute middle cerebral artery infarction: preliminary results. *Stroke* 1999; 30: 1702–1706.
93. Seidel G., Algermissen C., Christoph A., Claassen L., Vidal-Langwasser M., Katzer T. Harmonic imaging of the human brain: visualization of brain perfusion with ultrasound. *Stroke* 2000; 31: 151–154.
94. Federlein J., Postert T., Meves S., Weber S., Przuntek H., Büttner T. Ultrasonic evaluation of pathological brain perfusion in acute stroke using second harmonic imaging. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2000; 69: 616–622.
95. Rim S., Leong-Poi H., Lindner J.R. i wsp. Quantification of cerebral perfusion with "real-time" contrast-enhanced ultrasound. *Circulation* 2001; 104: 2582–2587.
96. Eyding J., Wilkening W., Reckhardt M. i wsp. Contrast Burst Depletion Imaging (CODIM): a new imaging procedure and analysis method for semiquantitative ultrasonic perfusion imaging. *Stroke* 2003; 34: 77–83.
97. Kern R., Perren F., Schoeneberger K., Gass A., Hennerici M., Meairs S. Ultrasound Microbubble Destruction Imaging in Acute Middle Cerebral Artery Stroke. *Stroke* 2004; 35: 1665–1670.
98. Ivancevich N., Pinton G.F., Nicoletto H.A., Bennett E., Laskowitz D.T., Smith S.T. Real-time 3-D contrast-enhanced transcranial ultrasound and aberration correction. *Ultrasound Med. Biol.* 2008; 34: 1387–1395.
99. Kassan D.G., Lynch A.M., Stiller M.J. Physical enhancement of dermatologic drug delivery: iontophoresis and phonophoresis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1996; 34: 657–666.
100. Weller G.E., Lu E., Csikari M.M. i wsp. Ultrasound imaging of acute cardiac transplant rejection with microbubbles targeted to intercellular adhesion molecule-1. *Circulation* 2003; 108: 218–224.
101. Villanueva F.S., Jankowski R.J., Klibanov S. i wsp. Microbubbles targeted to intercellular adhesion molecule-1 bind to activated coronary artery endothelial cells. *Circulation* 1998; 98: 1–5.
102. Schumann P.A., Christiansen J.P., Quigley R.M. i wsp. Targeted-microbubble binding selectively to GP IIb/IIIa receptors of platelet thrombi. *Invest. Radiol.* 2002; 37: 587–593.
103. Hauff P., Reinhardt M., Briel A., Debus N., Schirner M. Molecular targeting of lymph nodes with selectin ligand-specific us contrast agent: a feasibility study in mice and dogs. *Radiology* 2004; 231: 667–673.
104. Wheatley M.A., Lathia J.D., Oum K.L. Polymeric ultrasound contrast agents targeted to integrins: importance of process methods and surface density of ligands. *Biomacromolecules* 2007; 8: 516–522.
105. Ellegala D.B., Leong-Poi H., Carpenter J.E. i wsp. Imaging tumor angiogenesis with contrast ultrasound and microbubbles targeted to alpha(v) beta3. *Circulation* 2003; 108: 336–341.
106. Borden M.A., Sarantos M.R., Stieger S.M., Simon S.I., Ferrara K.W., Dayton P.A. Ultrasound radiation force modulates ligand availability on targeted contrast agents. *Mol. Imaging* 2006; 5: 139–147.
107. McDannold N., Vykhodtseva N., Raymond S., Jolesz F.A., Hynynen K. MRI-guided targeted blood-brain barrier disruption with focused ultrasound: histological findings in rabbits. *Ultrasound Med. Biol.* 2005; 31: 1527–1537.
108. Hynynen K. Focused ultrasound for blood-brain disruption and delivery of therapeutic molecules into the brain. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2007; 4: 27–35.
109. Jun J., Shang-Yi J., Jian-An Y. i wsp. Ultrasound-targeted transfection of tissue-type plasminogen activator gene carried by albumin nanoparticles to dog myocardium to prevent thrombosis after heart mechanical valve replacement. *Int. J. Nanomedicine* 2012; 7: 2911–2919.
110. Li X., Jin Q., Chen T. i wsp. LyP-1 ultrasonic microbubbles targeting to cancer cell as tumor bio-acoustics markers or drug carriers: targeting efficiency evaluation in microfluidic channels. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2009; 2009: 463–466.
111. Sonoda S., Tachibana K., Uchino E. i wsp. Inhibition of melanoma by ultrasound-microbubble-aided drug delivery suggests membrane permeabilization. *Cancer Biol. Ther.* 2007; 6: 1276–1283.
112. Kodama T., Tan P.H., Offiah I. i wsp. Delivery of oligodeoxynucleotides into human saphenous veins and the adjunct effect of ultrasound and microbubbles. *Ultrasound Med. Biol.* 2005; 31: 1683–1691.
113. Hernot S., Klibanov A.L. Microbubbles in ultrasound-triggered drug and gene therapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008; 60: 1153–1166.
114. Kaps M., Legemate D.A., Ries F. i wsp. SonoVue™ in Transcranial Doppler Investigations of the Cerebral Arteries. *J. Neuroimaging* 2001; 11: 261–267.
115. Tsvigoulis G., Stamboulis E., Sharma V.K. i wsp. Safety of transcranial Doppler 'bubble study' for identification of right to left shunts: an international multicentre study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2011; 82: 1206–1208.