

Ecocardiografia com contraste no infarto do miocárdio

Contrast echocardiography in myocardial infarction

Maria Luciana Zacarias Hannouche da Trindade¹, Marcelo Luiz Campos Vieira¹, Ana Clara Tude Rodrigues¹, Miguel José Francisco Neto¹, Claudio Henrique Fischer¹, Samira Saady Morhy¹

RESUMO

Os contrastes ecocardiográficos à base de microbolhas estão aprovados para várias situações da prática clínica. Novos *softwares*, como a imagem em segunda harmônica e o *power pulse inversion*, podem melhorar a visualização do contraste no exame ecocardiográfico. Neste artigo, discutem-se o início da prática da ecocardiografia com contraste, as novas tecnologias que ajudam na aquisição e melhora da imagem, e seu uso no infarto do miocárdio.

Descritores: Infarto do miocárdio/ultrassonografia; Ecocardiografia/métodos

ABSTRACT

The contrast agents used in ultrasound are approved for several clinical situations. New echocardiographic techniques, such as harmonic imaging and power pulse inversion imaging, can improve the visualization of microbubbles. In this article we discuss the early development of contrast echocardiography, new technologies that help improve image acquisition and its practical role in the assessment of myocardial infarction.

Keywords: Myocardial infarction/ultrasonography; Echocardiography/methods

INTRODUÇÃO

A ecocardiografia com contraste é uma técnica que utiliza agentes de contraste à base de microbolhas injetadas por via endovenosa periférica para melhorar o sinal ecocardiográfico⁽¹⁾. Os avanços tecnológicos e o emprego de agentes de contraste que possuem maior estabilidade na circulação têm posicionado a ecocardiografia com contraste como uma técnica segura e eficaz para avaliação da perfusão miocárdica⁽²⁾. As aplicações clínicas da ecocardiografia com contraste incluem a

avaliação de pacientes com doença arterial coronária suspeita ou conhecida, a determinação da área em risco e eficácia das terapias de reperfusão em pacientes com infarto agudo do miocárdio, a avaliação de viabilidade miocárdica após o infarto (fenômeno de *no-reflow*).

Contraste ecocardiográfico por microbolhas

O uso de solução salina agitada como fonte de contraste ecocardiográfico para realçar o sangue dentro do coração foi primeiramente descrita por Gramiak e Shah, em 1968, com base na criação de uma interface gás-sangue⁽³⁾. Essas microbolhas, por serem grandes, não transpunham a barreira pulmonar, e seu uso foi restrito à opacificação das cavidades cardíacas direitas.

O processo de sonificação, desenvolvido por Feinstein et al., permitiu a redução do tamanho das microbolhas, possibilitando sua passagem pela circulação capilar pulmonar e consequente opacificação das cavidades cardíacas esquerdas⁽⁴⁾. Devido ao seu pequeno diâmetro e por conterem ar ambiente em seu interior, essas microbolhas apresentavam pouca persistência na circulação sistêmica e dissolviam-se facilmente no sangue. Adicionalmente, também sofriam rápida destruição quando submetidas à exposição pela energia ultrassônica, dificultando sua utilização para o estudo do fluxo miocárdico⁽⁵⁾.

A utilização de gases de maior peso molecular e menor difusibilidade resultou em produção de agentes de contraste mais estáveis, capazes de permanecer por mais tempo na circulação sistêmica⁽⁶⁾.

Os contrastes de primeira geração são constituídos por microbolhas compostas por ar ambiente. Já os contrastes de segunda geração têm, em sua composição,

¹ Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

Autor correspondente: Maria Luciana Zacarias Hannouche da Trindade – Hospital Israelita Albert Einstein, Cardiologia Diagnóstica, Avenida Albert Einstein, 627/701 – Morumbi – CEP: 05652-900 – São Paulo, SP, Brasil – Tel.: (11) 2151-1233 – E-mail: maria.trindade@einstein.com.br

Data de submissão: 20/2/2013 – Data de aceite: 9/6/2013

gases de alto peso molecular, são envoltos por uma cápsula de proteína, lipídio ou polímeros químicos, e apresentam menor difusibilidade e maior estabilidade, propiciando sua passagem pela barreira capilar pulmonar, atingindo, assim, as cavidades esquerdas do coração e, conseqüentemente, a microcirculação coronariana⁽⁷⁾.

Modalidades de imagem

As microbolhas, quando atingidas por um feixe de ultrassom, vibram e refletem ondas com frequências sonoras múltiplas da frequência fundamental emitida pelo ecocardiógrafo, que são conhecidas como harmônicas⁽⁸⁾. O desenvolvimento de novos sistemas de ultrassom capazes de identificar os sinais em segunda harmônica permitiu a formação da “imagem em segunda harmônica”, com detecção preferencial de sinais provenientes das microbolhas. Essa modalidade de imagem representou um grande avanço na melhora da qualidade das imagens bidimensionais, em razão da maior resolução da imagem e do delineamento dos bordos endocárdicos, proporcionados pela ventriculografia obtida pela presença de microbolhas na cavidade do ventrículo esquerdo (VE), com conseqüente análise mais adequada da motilidade regional e global⁽⁹⁾.

Entretanto, o uso de alta energia ultrassônica (altos índices mecânicos), presente durante a realização de exames em imagem fundamental ou mesmo segunda harmônica, faz com que as microbolhas sofram colapso. A rápida destruição das microbolhas impossibilita a avaliação da perfusão miocárdica quando se utiliza

apenas a imagem em segunda harmônica. Uma forma de se contornar esse problema é a emissão de pulsos de ultrassom intermitentes a cada dois, três, quatro ou mesmo dez batimentos cardíacos. Dessa forma, após um primeiro pulso de ultrassom de alta energia, há destruição completa das microbolhas em um dado campo ultrassônico. Como o próximo pulso de ultrassom é emitido somente segundos após a emissão do primeiro, dá-se tempo para que as microbolhas repleenham todo o leito microvascular, tornando possível o estudo da perfusão miocárdica, com obtenção de imagens estáticas, sem movimento em tempo real (Figura 1).

Ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real

O estudo da perfusão miocárdica pela ecocardiografia implica a administração intravenosa periférica de agentes de contraste à base de microbolhas que, por possuírem comportamento similar ao das hemácias, são excelentes marcadores de fluxo miocárdico, determinando a integridade da microcirculação coronariana⁽¹⁰⁾.

Recentemente, foi desenvolvida outra modalidade de imagem, chamada ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real (EPMTR), que permite a análise concomitante da perfusão miocárdica e a contração segmentar do VE. Todavia, o sinal proveniente das microbolhas é relativamente fraco com essa técnica. Com o objetivo de superar essa limitação, utiliza-se a técnica de pulsos com amplitude alternante, que consiste na emissão de dois pulsos de energia, em que um pulso é a metade da amplitude do outro. Na recepção, o pulso com a metade da amplitude é multiplicado por dois. Esses sinais são subtraídos, de forma que as estruturas que respondam de forma linear (tecidos) vão ter, ao final, redução ou ausência de sinal, enquanto que as estruturas que respondam de forma não linear (microbolhas), vão ter sinal diferente de zero, sendo, portanto detectado (Figura 2).

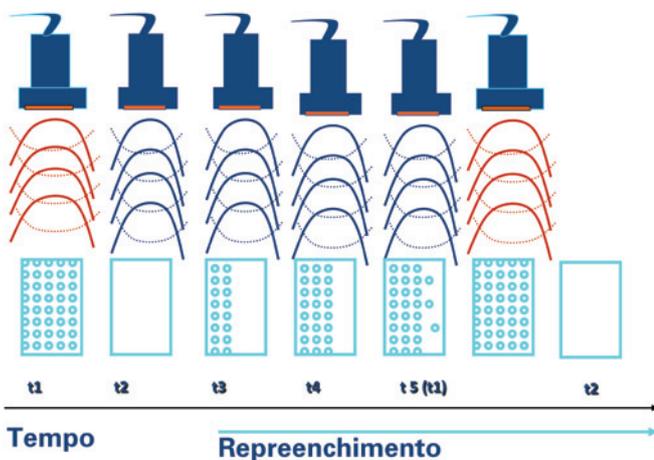


Figura 1. Esquema representativo da técnica de emissão de pulsos de ultrassom intermitente. O primeiro pulso de ultrassom de alta energia atinge as microbolhas na microcirculação e as destrói. Nesse processo, são emitidas harmônicas pelas microbolhas, as quais permitem a geração da imagem ecocardiográfica. Após cinco batimentos cardíacos, a microcirculação já se encontra repleencha, podendo, então, receber novo pulso de ultrassom, para que a imagem seja novamente formada

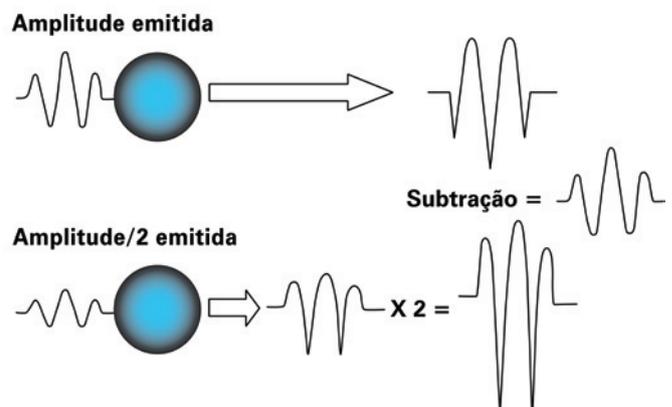


Figura 2. Técnica de pulsos com amplitude alternante com as microbolhas

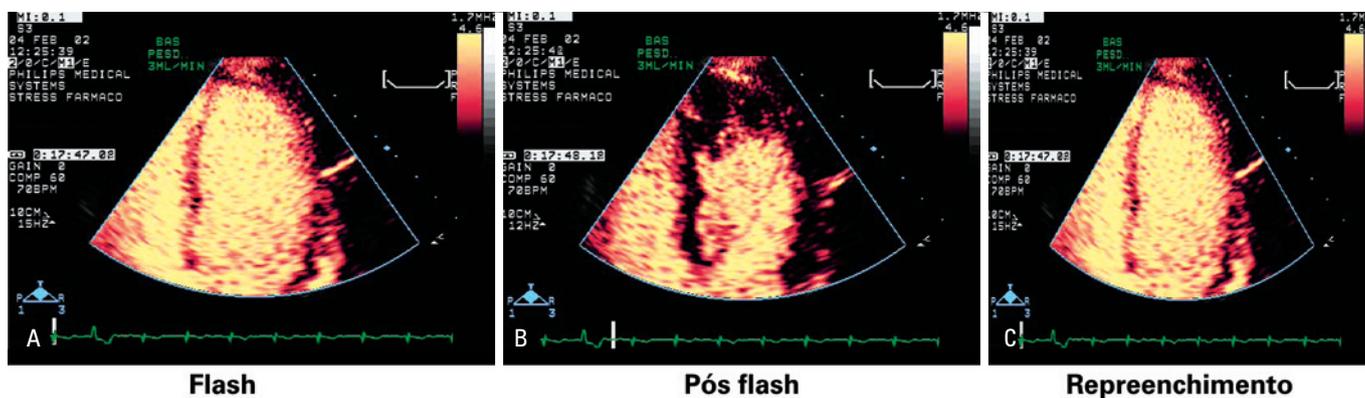


Figura 3. Imagens ecocardiográficas de perfusão miocárdica em tempo real. (A) Pulso de alta energia ultrassônica (índice mecânico - IM de 1,0). (B) Destruição das microbolhas no miocárdio. (C) Repreenchimento do miocárdio por microbolhas

Como praticamente não ocorre destruição das microbolhas, há saturação destas no miocárdio, e sua intensidade permanece constante. Há, então, outro componente-chave, que é a emissão de dois a cinco pulsos de alta energia ultrassônica - *flash* (Figura 3) para destruição do contraste miocárdico, a fim de que seja documentada e posteriormente medida a taxa de replechimento do miocárdio pelas microbolhas, imediatamente após os pulsos de alta energia, sem a necessidade de alinhamento e de pós-processamento da imagem. Isso torna o método factível e de grande potencial para aplicabilidade clínica⁽¹¹⁾.

A opacificação miocárdica tem demonstrado um caminho promissor para o diagnóstico e o prognóstico de pacientes com infarto agudo do miocárdio (IAM), por apresentar o potencial de fornecer informações qualitativas e quantitativas sobre o fluxo microvascular regional e global do VE^(12,13).

Fluxo microvascular

O compartimento vascular no miocárdio compreende as grandes artérias, as arteríolas, a rede capilar e veias intramiocárdicas menores. A microcirculação coronariana é definida por ser composta de vasos menores que 200 μ m de diâmetro. Nesse complexo sistema, o fluxo coronariano total corresponde a, em média, de 4 a 5% do débito cardíaco e, em condições basais, 8% da massa do VE é constituída por sangue presente na microcirculação, 90% do qual está dentro dos capilares, ora denominado volume sanguíneo miocárdico⁽¹⁴⁾. A velocidade do sangue, nos vasos coronarianos, está diretamente relacionada ao calibre dos vasos, sendo de cerca de 40cm/s em artérias epicárdicas e de 1mm/s ou menos nos capilares de seres humanos⁽¹⁵⁾. A microcirculação não consiste apenas em um canal passivo através do qual o sangue é transportado pelo miocárdio, mas sim

em um local ativo de controle de fluxo sanguíneo, com regulação complexa e dependente de mecanismos metabólicos e miogênicos. Afim de que a troca capilar seja preservada, vários mecanismos fisiológicos mantêm a pressão hidrostática capilar constante no miocárdio em torno de 30mmHg, com a pressão pré e pós-capilar de, aproximadamente, 45 e 15mmHg, respectivamente⁽¹⁶⁾. As arteríolas coronárias atuam como vasos de resistência. Elas têm musculatura lisa e possuem resposta miogênica imediata, daí a resistência arteriolar poder mudar segundo a segundo para manter a pressão pré-capilar constante. Por outro lado, as vênulas coronárias têm resposta miogênica fraca e controlam a resistência local pela mudança das propriedades reológicas do sangue. Os capilares são muito pequenos e oferecem alta resistência, mas, como são arranjados em paralelo, a resistência capilar total diminui com o aumento do número de capilares. Em repouso, aproximadamente 60% da resistência vascular miocárdica total é oferecida pelas arteríolas, 25% pelos capilares e 15% pelas vênulas⁽¹⁷⁾. Por meio de estímulos retrógrados, em geral medidos pelo aumento do consumo de oxigênio, pode haver maior ou menor recrutamento capilar, sendo que, em condições basais, em torno da metade deles encontra-se inoperante⁽¹⁸⁾.

Quantificação do fluxo miocárdico

Recentemente, tem se mostrado que a destruição de microbolhas pelo ultrassom pode ser usada para a medida do fluxo sanguíneo miocárdico, durante infusão contínua do agente de contraste. A concentração relativa deste, em diferentes leitos do miocárdio, representa a densidade capilar ou a soma de sua área seccional. Microbolhas podem ser destruídas por alguns pulsos de ultrassom de alta energia e, a partir daí, sua taxa de reaparecimento no miocárdio pode ser medida e representa a velocidade média das microbolhas na microcirculação. Isso é pos-

sível pois, após sua destruição, o tempo disponível para outro influxo de microbolhas percorrer qualquer distância dentro do feixe de ultrassom é determinado pelo aumento da intensidade acústica (IA) em um determinado intervalo de pulso do ultrassom (o intervalo entre a formação de duas imagens). Por outro lado, a concentração das microbolhas na microcirculação é linearmente proporcional à IA e reflete o volume sanguíneo microvascular. Dessa forma, para qualquer intervalo de pulso, a IA dentro do feixe será proporcional à distância percorrida pelas microbolhas dentro do feixe. Como a velocidade das microbolhas é constante na microcirculação, a IA será maior com o aumento do tempo de exposição ao ultrassom de baixa energia, até um momento de saturação capilar dentro do feixe de ultrassom. Portanto, a IA, nesse momento, permanecerá constante, refletindo a concentração relativa de microbolhas nos tecidos.

Quando as microbolhas são administradas por via intravenosa de forma contínua, com taxa de infusão e concentração constantes, é atingido um estado de equilíbrio, em que a concentração de microbolhas no sangue é igual à sua concentração no miocárdio. Desse modo, considerando-se que a concentração de microbolhas dentro do miocárdio é proporcional à fração de volume sanguíneo e conhecendo-se a velocidade do sangue, é possível estimar o fluxo sanguíneo miocárdico⁽¹⁹⁾.

Existem três modelos de quantificação do fluxo sanguíneo miocárdico pela ecocardiografia com contraste. O primeiro é a análise visual, que é semiquantitativa, subjetiva, limitada à experiência dos observadores e baseada na determinação de escores de perfusão, que variam de perfusão normal à ausência de perfusão. Essa forma comumente avalia somente o componente de volume de sangue microvascular e, por razões de limitação da percepção do olho humano, perde informações valiosas sobre a velocidade do fluxo. O segundo é a quantificação do volume sanguíneo do miocárdio (representado pela letra A) e da velocidade do fluxo sanguíneo do miocárdio (representado pela letra grega β) em regiões de interesse do miocárdio (*regions of interest* – ROI), por meio de um programa de computador específico. O terceiro modelo consiste na imagem paramétrica, que é um método novo de quantificação automática, em que o fluxo sanguíneo miocárdico é codificado em cores em todo o miocárdio, de acordo com o grau de perfusão. Graduações de cor são linearmente aplicadas com base em valores médios, com pontos de corte fixados nos valores médios (verde), valores entre dois terços e um terço dos valores médios (amarelo) e valores abaixo de um terço do valor médio (vermelho), correspondendo à perfusão normal, redução da perfusão e redução importante da perfusão, respectivamente.

Avaliação da circulação colateral após infarto agudo do miocárdio e fenômeno de *no-reflow*

Sabia et al. estudaram 43 pacientes com infarto inferior e artéria coronária direita ocluída, entre o segundo dia e quinta semana, por injeção direta de contraste na artéria coronária esquerda. Eles demonstraram que, após a injeção intracoronária, houve opacificação de todo o miocárdio em 32 pacientes, sugerindo a circulação colateral para a área de infarto. A angiografia coronária, por outro lado, não evidenciou circulação colateral abundante, demonstrando que a ecocardiografia com contraste é mais acurada na avaliação de colaterais, visto que a angiografia define apenas vasos maiores que 100 μ m. Nesse estudo, 78% dos pacientes que exibiram adequada circulação colateral para o leito de infarto pela ecocardiografia com contraste demonstraram melhora da função sistólica regional 30 dias após o fluxo ser restaurado. Destes, somente 17 pacientes tinham circulação colateral pela angiografia. Esses dados indicam que, além da duração da oclusão coronária, a extensão da perfusão miocárdica residual é também determinante do tamanho do infarto⁽²⁰⁾.

A oclusão coronariana aguda leva à necrose celular e à consequente lesão miocárdica funcional definitiva. Kloner et al., avaliando o tempo de eventos em modelo experimental, demonstraram que, após 40 minutos de isquemia por oclusão coronária, uma quantidade variável de miócitos estava necrótica, enquanto a rede microvascular estava ainda intacta. Após 90 minutos ou mais de oclusão coronária, grande percentagem de células miocárdicas estava lesada, e a microvasculatura mostrava perda de sua integridade anatômica⁽²¹⁾. No momento da abertura da coronária, o refluxo (*reflow*) foi encontrado somente nas áreas com microvasculatura anatomicamente preservada, enquanto não houve reperfusão nas áreas com rede microvascular danificada. Essa falha de reperfusão, após prolongada isquemia, inicialmente postulada por Krug et al. e, mais tarde, demonstrada por Kloner et al., é chamada de fenômeno *no-reflow*^(21,22).

Jeremy et al., em modelo experimental (90 minutos de oclusão coronária seguidos de reperfusão), evidenciaram que, nas primeiras 4 horas após a abertura da artéria coronária, a região sem perfusão microvascular se tornava progressivamente maior na área relacionada ao infarto, e que isso ocorreu devido à oclusão microvascular por neutrófilos no miocárdio pós-isquêmico⁽²³⁾. Em modelo experimental similar, Ambrosio et al. encontraram prejuízo progressivo do *reflow* intramiocárdico, com área de *no-reflow* tardio (3 a 5 horas após a reperfusão) quase três vezes maior que a área de *no-reflow* após reperfusão precoce (2 minutos após a reperfusão)⁽²⁴⁾.

Utilizando a ecocardiografia com contraste à base de microbolhas, Ito et al. avaliaram, pela injeção intracoronária, o fenômeno *no-reflow* em pacientes com IAM de parede anterior que tiveram recanalização precoce (dentro de 6 horas do início da dor no peito) e que demonstraram que o sucesso angiográfico do *reflow* (fluxo TIMI grau 3) não indicava necessariamente adequada perfusão miocárdica⁽²⁵⁾.

Em outro estudo de pacientes com IAM de parede anterior submetidos à angioplastia primária, Ito et al. demonstraram, pela injeção intracoronária de contraste à base de microbolhas, que, se mais de 25% da área em risco permanecesse com defeito de perfusão após a recanalização, haveria reperfusão incompleta, determinando o que conceituaram como *no-reflow*. No acompanhamento de 30 dias, a fração de ejeção do VE melhorou apenas no grupo com fluxo “TIMI” grau 3 e com ausência de *no-reflow*⁽²⁶⁾. Assim, o fenômeno *no-reflow* é uma expressão de dano microvascular e está associado com necrose miocárdica mais extensa e pior função contrátil regional e global.

Caldas et al. avaliaram, pela ecocardiografia com imagem intermitente e contraste administrado em veia periférica, 31 pacientes nas primeiras 48 horas de primo IAM de parede anterior tratados com fibrinolítico ou intervenção coronária percutânea com sucesso. Foi evidenciado que o índice de escore de perfusão miocárdica do VE foi preditor independente de remodelamento ventricular esquerdo e proporcional ao índice de escore de contratilidade segmentar na evolução de 6 meses. A presença do fenômeno de *no-reflow* teve maior impacto sobre o remodelamento ventricular esquerdo que os segmentos miocárdicos com perfusão diminuída (*low-reflow*). Pacientes com mais que dois segmentos miocárdicos sem opacificação após o contraste evoluíram, em 6 meses, com recuperação funcional ou reserva contrátil em apenas 28% dos segmentos miocárdicos supridos pela artéria coronária descendente anterior. Por outro lado, os pacientes com dois ou menos segmentos sem opacificação apresentaram, em 6 meses, recuperação da função contrátil em repouso ou reserva contrátil em 70% dos segmentos supridos pela artéria coronária descendente anterior⁽²⁷⁾.

Sbano et al., estudando 50 pacientes com IAM tratados com terapia fibrinolítica, demonstraram que o grupo que evoluiu com recuperação da função ventricular esquerda em 6 meses apresentava perfusão em 65,8% dos segmentos infartados pela ecocardiografia com contraste e imagem intermitente, realizada na primeira semana após o evento. Já o grupo que apresentava perfusão somente em 25,5% dos segmentos infartados evoluiu sem melhora da função ventricular esquerda. To-

dos os segmentos miocárdicos sem perfusão pela ecocardiografia com contraste não apresentaram recuperação da função contrátil em um período de 6 meses⁽²⁸⁾.

Trindade et al. notaram excelente correlação entre a ecocardiografia de perfusão miocárdica em tempo real, em especial a imagem paramétrica, e a ressonância magnética, nas medidas do tamanho do infarto e seu percentual, assim como na determinação de sua extensão transmural em 30 pacientes internados por primo IAM, tratados com fibrinolítico ou intervenção coronária percutânea primária até 12 horas do evento⁽²⁹⁾.

Em resumo, a ecocardiografia com contraste é um método seguro e eficaz na avaliação de doença coronariana⁽³⁰⁾.

REFERÊNCIAS

1. Becker H, Burns P. Handbook of contrast echocardiography – left ventricular function and myocardial perfusion. New York: Springer-Verlag Publishers; 2000. p.88-108.
2. Senior R, Swinburn JM. Incremental value of myocardial contrast echocardiography for the prediction of recovery of function in dobutamine nonresponsive myocardium early after acute myocardial infarction. Am J Cardiol. 2003;91(4):397-402.
3. Gramiak R, Shah PM. Echocardiography of the aortic root. Invest Radiol. 1968;3(5):356-66.
4. Feinstein SB, Cate T, Zwehl W, Ong K, Maurer G, Tei C, et al. Two-dimensional contrast echocardiography in vitro development and quantitative analysis of echo contrast agents. J Am Coll Cardiol. 1984;3(1):14-20.
5. Feinstein SB, Cheirif J, Ten Cate FJ, Silverman PR, Heidenreich PA, Dick S, et al. Safety and efficacy of a new transpulmonary ultrasound contrast agent: initial multicenter clinical results. J Am Coll Cardiol. 1990;16(2):316-24.
6. Porter TR, Xie F, Kriesfield A, Kilzer K. Noninvasive identification of acute myocardial ischemia and reperfusion with contrast ultrasound using intravenous perfluoropropane-exposed sonicated dextrose albumin. J Am Coll Cardiol. 1995;26(1):33-40.
7. Porter TR, Xie F. Visually discernible myocardial echocardiographic contrast following intravenous injection of sonicated dextrose albumin microbubbles containing high molecular weight less soluble gases. J Am Coll Cardiol. 1995;25(2):509-15.
8. Minnaert M. On musical air bubbles and the sounds of running water. Phil Mag. 1933;16(104):235-48.
9. Kornbluth M, Liang DH, Paloma A, Schnittger I. Native tissue harmonic imaging improves endocardial border definition and visualization of cardiac structures. J Am Soc Echocardiograph. 1998;11(7):693-701.
10. Jayweera AR, Edwards N, Glasheneen W, Villanueva FS, Abbot RD, Kaul S. In vivo myocardial kinetics of air-filled albumin microbubbles during myocardial contrast echocardiography: comparison with radiolabeled red blood cells. Circ Res. 1994;74(6):1157-65.
11. Villarraga HR, Foley DA, Aeschbacher BC, Klarich KW, Mulvagh SL. Destruction of contrast microbubbles during ultrasound imaging at conventional power output. J Am Soc Echocardiogr. 1997;10(8):783-91.
12. Kaul S, Senior R, Dittrich H, Raval U, Khattar R, Lahiri A. Detection of coronary artery disease with myocardial contrast echocardiography: comparison with 99mTc-sestamibi single-photon emission computed tomography. Circulation. 1997;96(3):785-92.
13. Camarano G, Ragosta M, Gimple LW, Powers ER, Kaul S. Identification of viable myocardium with contrast echocardiography in patients with poor left ventricular systolic function caused by recent or remote myocardial infarction. Am J Cardiol. 1995;75(4):215-9.

14. Kaul S, Jayaweera AR. Coronary and myocardial blood volumes: noninvasive tools to assess the coronary microcirculation? *Circulation*. 1997;96(3):719-24.
15. Kaul S, Ito Hiroshi. Microvasculature in acute myocardial ischemia: Part I Evolving concepts in pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Circulation*. 2004;109(3):310-5.
16. Järhult J, Mellander S. Autoregulation of capillary hydrostatic pressure in skeletal muscle during regional arterial hypo and hypertension. *Acta Physiol Scand*. 1974;91(1):32-41.
17. Kaul S, Ito H. Microvasculature in acute myocardial ischemia: part I: evolving concepts in pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Circulation*. 2004;109(2):146-9.
18. Jayaweera AR, Wei K, Coggins M, Bin JP, Goodman C, Kaul S. Role of capillaries in determining CBF reserve: new insights using myocardial contrast echocardiography. *Am J Physiol*. 1999;277(6 Pt 2).
19. Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, Linka A, Skyba DM, Kaul S. Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation*. 1998;97:473-83.
20. Sabia PJ, Powers ER, Ragosta M, Sarembock IJ, Burwell LR, Kaul S. An association between collateral blood flow and myocardial viability in patients with recent myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1992;327(26):1825-31.
21. Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB. The "no-reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. *J Clin Invest*. 1974;54(6):1496-508.
22. Krug A, Du Mesnil de Rochemont W, Korb G. Blood supply to the myocardium after temporary coronary occlusion. *Circ Res*. 1966;19:57-62.
23. Jeremy RW, Links JM, Becker LC. Progressive failure of coronary flow during reperfusion of myocardial infarction: documentation of the no reflow phenomenon with positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol*. 1990;16(3):695-704.
24. Ambrosio G, Weisman HF, Mannisi JA, Becker LC. Progressive impairment of regional myocardial perfusion after initial restoration of postischemic blood flow. *Circulation*. 1989;80(6):1846-61.
25. Ito H, Tomooka T, Sakai N, Yu H, Higashino Y, Fujii K, et al. Lack of myocardial perfusion immediately after successful thrombolysis. A predictor of poor recovery of left function in anterior myocardial infarction. *Circulation*. 1992;85(5):1699-705.
26. Ito H, Okamura A, Iwakura K, Masuyama T, Hori M, Takiuchi S, et al. Myocardial perfusion patterns related to thrombolysis in myocardial infarction perfusion grades after coronary angioplasty in patients with acute anterior wall myocardial infarction. *Circulation*. 1996;93(11):1993-9.
27. Caldas MA, Tsutsui JM, Kowatsch I, Andrade JL, Nicolau JC, Ramires JF, et al. Value of myocardial contrast echocardiography for predicting left ventricular remodeling and segmental functional recovery after anterior wall acute myocardial infarction. *J Am Soc Echocardiogr*. 2004;17(9):923-32.
28. Sbrano JC, Tsutsui JM, Andrade JL, Nicolau JC, Meneghetti JC, Franchini Ramires J, et al. Detection of functional recovery using low-dose dobutamine and myocardial contrast echocardiography after acute myocardial infarction treated with successful thrombolytic therapy. *Echocardiography*. 2005;22(6):496-502.
29. Trindade ML, Caldas MA, Tsutsui JM, Rosario MA, Rochitte CE, Nicolau JC, et al. Determination of size and transmural extent of acute myocardial infarction by real-time myocardial perfusion echocardiography: a comparison with magnetic resonance imaging. *J Am Soc Echocardiogr*. 2007;20(2):126-35.
30. Dolan MS, Gala SS, Dodla S, Abdelmoneim SS, Xie F, Cloutier D, et al. Safety and efficacy of commercially available ultrasound contrast agents for rest and stress echocardiography a multicenter experience. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(1):32-8.