

Ecocontrastografia miocardica

Cenni storici, aspetti metodologici e applicazioni cliniche

M. MADONNA, F. CELANI, S. FUNARO, F. DE MAIO, L. AGATI

MYOCARDIAL CONTRAST ECHOGRAPHY: HISTORY, METHODOLOGY AND CLINICAL APPLICATIONS

Recent studies have demonstrated the utility of myocardial contrast echography (MCE) in studying myocardial perfusion. Many different 1st- and 2nd-generation contrast media, such as Levovist, Sonovue, Optison, Definity and Imagent, are currently on the market or close to obtaining approval for diagnostic use in man. Contrast echography has, first and foremost, made it possible to precisely determine the no-reflow phenomenon in patients with acute myocardial infarction who have undergone procedures to reopen the blood vessel. It has also pointed up the importance of this phenomenon for the prognosis of patients in terms of functional recovery and ventricular remodelling. The most recent studies have shown angiography to be of limited use in studying no-reflow. It is now clear that, with this method, it is only possible to identify the occlusion or re-opening of the blood vessel responsible for the infarction, but that damage to the micro-circulation cannot be evaluated. This is revealed by the poor correlation between TIMI grading and perfusion score evaluated with MCE. Furthermore, the use of MCE is important to determine the degree of coronary stenosis, to identify micro-vascular damage during ischaemia-reperfusion, and to evaluate the presence of collateral circulation in the area at risk. In this latter

*Dipartimento di Scienze Cardiovascolari
e Respiratorie
Università degli Studi di Roma
«La Sapienza», Roma*

case a non-invasive method must be used to study collateral circulation that goes beyond the limits of other imaging techniques, such as coronary angiography, nuclear imaging techniques or magnetic resonance. All of these are expensive, invasive and unavailable in most hospitals. The specificity and sensitivity of methods that utilise radio nucleotides *versus* echo-dobutamine and MCE have also been compared. The results have shown that MCE has greater specificity than myocardial scintigraphy. With contrast echography it is possible to obtain additional information, including for the purpose of evaluating myocardial vitality. It is also possible to visualise myocardial reperfusion of segments supplied by the artery responsible for AMI, and to differentiate between cases of stunned myocardium, perfused but with impaired contractile function, and myocardial necrosis, not perfused and with impaired contractile function. Another recent study has shown that not only primary PCI but also rescue and delayed PCI reduce micro-vascular damage, and that MCE also plays a key role in such cases. Possibly the most exciting aspect of contrast echography, and one that is still in the research phase, is the possibility of examining ventricular remodelling in detail, and thus revealing the factors underlying it. Some recent studies have related the extension of

Indirizzo per la richiesta di estratti: Dott.ssa M. Madonna, Dipartimento di Scienze Cardiovascolari e Respiratorie, Università degli Studi di Roma «La Sapienza», Viale del Policlinico 155, 00196 Roma.
E-mail: Luciano.Agati@uniroma1.it

the infarction with remodelling, independently of functional recovery. In patients in whom the blood vessel has been re-opened, through either fibrinolysis or coronary angioplasty, the site of the infarction, the extension of necrosis and micro-vascular damage appear to play determinant roles in ventricular remodelling. Contrast echography at 24 hours after reperfusion, at 1 week and at 6 months, appears to provide important prognostic information thanks to the possibility of visualising the extension of the perfusion defect.

Key words: **Coronary disease, ultrasonography - Coronary circulation - Contrast media.**

Cenni storici

L'ecocontrastografia seppur nata occasionalmente nel 1969 durante un cateterismo cardiaco grazie a Gramiak e Shah^{1,2}, si è rivelata straordinariamente importante per le sue molteplici applicazioni cliniche. Le indicazioni maggiori all'ecocontrastografia sono costituite dalla definizione anatomica del cuore, dall'identificazione degli shunt intracardiaci, dall'incremento dei segnali Doppler e dalla visualizzazione del bordo endocardico e ultimamente dalla visualizzazione della perfusione miocardica.

L'utilizzazione dei mezzi di contrasto nasce dalla necessità di aumentare la riflessione di ultrasuoni del sangue. Infatti i globuli rossi in movimento riflettono ad una frequenza di circa 10 000 volte inferiore a quella dei tessuti solidi e quindi non sono visibili normalmente, mentre è possibile visualizzare il miocardio. L'obiettivo più ambito dall'ecocontrastografia è proprio lo studio non invasivo della perfusione miocardica³⁻⁵. Infatti con questa tecnica vengono introdotte nel letto ematico microbolle capaci di rafforzare il "backscattering" complessivo del mezzo per cui la soluzione diventa fortemente ecogena.

L'ecocontrasto è dovuto alla presenza di gas all'interno delle microbolle e perciò l'interfaccia gas/liquido produce una riflessione di ultrasuoni di almeno 10 volte superiore a quella tra liquido e solido. Meltzer *et al.* dimostrarono che l'ecocontrasto era prodot-

to solo dalle iniezioni di fluidi contenenti gas e che fluidi poveri di tali microbolle non erano in grado di generarlo. Un agente di contrasto deve distribuirsi all'interno delle camere cardiache proporzionalmente al flusso ematico, essere stabile, fisiologicamente inerte e a concentrazione fissa. Inoltre deve essere costituito da microbolle di grandezza non superiore a 7 µm per riuscire a superare il filtro capillare polmonare.

Proprio per tali motivi, alla fine degli anni '70 si potevano opacizzare con successo solo le sezioni destre del cuore in quanto le microbolle che avevano un diametro anche superiore a 10 µm rimanevano intrappolate nei capillari polmonari. Pertanto questa tecnica veniva usata in clinica solo per lo studio di shunt intracardiaci e rigurgiti valvolari e per la definizione dell'anatomia cardiaca nelle cardiopatie congenite⁶⁻¹².

Vennero sperimentate varie soluzioni chimiche da utilizzare come mezzi di contrasto. Alcune di esse, come ad esempio la soluzione fisiologica e la indocianina verde, dovevano essere agitate manualmente o attraverso il rapido trasferimento tra 2 siringhe utilizzando un rubinetto di regolazione ma soffrivano delle stesse limitazioni, non erano cioè in grado di superare il vallo polmonare. Furono fatti altri tentativi con il biossido di carbonio puro o la soluzione salina arricchita con biossido di carbonio, ma queste soluzioni vennero abbandonate precocemente perché ne era possibile solo l'iniezione intra-aortica. Altro tentativo fu fatto con microbolle a base di gelatina o Emagel (soluzione a base di gelatina utilizzata come plasma expander), ma seppur ottime in termini di stabilità e densità le loro dimensioni rimanevano ancora troppo grandi.

Il 1° agente di contrasto capace di superare la barriera capillare polmonare è stato l'albumina umana sonicata grazie all'osservazione da parte del Prof. Feinstein che la sonicazione di albumina umana produceva microbolle stabili e molto piccole. Più tardi si è visto che in realtà attorno alle microbolle si formava una capsula sottilissima in seguito alla denaturazione parziale dell'albumina umana a livello dell'interfaccia aria/acqua dovuta al calore generato durante la sonica-

zione. Essa consiste nell'espore l'aria già presente o introdotta in un mezzo liquido ad ultrasuoni ad alta energia, generati da un cristallo piezoelettrico così da ottenere delle microbolle gassose di diametro uniforme inferiore a 10 µm (in media tra 4 e 5 µm) e capaci di raggiungere agevolmente il cuore sinistro. In questo modo le dimensioni e la quantità di microbolle presenti nel liquido divengono parametri controllabili dal momento che erano correlati direttamente con l'energia e la durata dell'esposizione agli ultrasuoni. Tuttavia l'opacizzazione del ventricolo sinistro veniva raggiunto solo nel 40-60% dei casi e questo a causa di una bassa resistenza delle microbolle alla pressione. Infatti le microbolle devono resistere *in vivo* a sollecitazioni pressorie e scambi gassosi all'interno del circolo sistemico e quindi persistere per un tempo sufficiente, da 30 secondi a diversi minuti, alla formazione e all'analisi dell'immagine. La persistenza delle microbolle è influenzata da diversi fattori secondo la seguente relazione:

$$T=r^2 \cdot \rho / 2D \cdot C(s)$$

dove T è proprio la persistenza, r è il raggio delle microbolle, ρ è la densità del gas, D è la diffusibilità e C(s) è la concentrazione di saturazione. Perciò si utilizzeranno gas con una bassa diffusibilità nel sangue o si rivestiranno i gas con una sostanza capace di ridurre la tensione superficiale. Inoltre maggiore è la densità del gas e più bassa la concentrazione richiesta per raggiungere l'equilibrio con il sangue (costante di saturazione), più a lungo resteranno le microbolle in circolo. E la dimostrazione effettiva di queste conclusioni è stata effettuata solo negli anni '90 con l'introduzione dei gas fluoruri.

Pertanto gli agenti di contrasto in uso sono classificati come agenti di 1° generazione, contenenti aria ambiente e rivestiti da un involucro proteico e agenti di 2° generazione che utilizzano gas diversi.

Mezzi di contrasto di 1° generazione

Queste soluzioni sono state realizzate agitando manualmente miscele di aria e con-

trasti angiografici, albumina umana o semplicemente sangue. Si usano 2 siringhe, una con il componente e l'altra con 0,5 cc di aria collegate ad un rubinetto a 3 vie. Facendo passare rapidamente il contrasto da una siringa all'altra si crea una soluzione biancastra che viene iniettata per via venosa, cercando di evitare l'iniezione di bolle macroscopicamente evidenti. Mediante un processo di microcavitazione vengono prodotte delle microbolle di varie dimensioni ma comunque superiori a 20 µm e perciò non in grado di superare la barriera polmonare. Inoltre tali microbolle hanno anche un'emivita molto breve e ciò rappresenta un ulteriore limite. Infatti questi agenti sono utilizzabili solo per studiare le sezioni destre del cuore e comunque con la diffusione dell'ecocardiografia color Doppler il loro utilizzo è limitato solo a un eventuale studio poco invasivo degli shunt intracardiaci. I mezzi di contrasto di 1° generazione commerciali finora utilizzati sono Alunex, Echovist, Levovist.^{13, 14}

Essi hanno scarsi effetti collaterali ma grossi limiti; infatti hanno una grande fragilità e vengono distrutti dopo il 1° passaggio o da elevate pressioni di infusione. Il tempo di opacizzazione medio del ventricolo sinistro non è superiore a 30 secondi e per tale motivo è difficile avere l'opacizzazione del miocardio iniettando questi agenti di contrasto attraverso una via venosa periferica. I limiti sono rappresentati dalla filtrazione attraverso i capillari polmonari, la diffusibilità dell'aria, la suscettibilità alla pressione ventricolare sinistra.

Il coefficiente di riflessione dipende dal raggio delle microbolle perciò la riduzione del diametro di queste microbolle per la filtrazione attraverso i capillari polmonari provoca un decremento esponenziale del loro coefficiente di riflessione. Inoltre l'aria è un gas altamente diffusibile e durante il transito lungo il circolo, dopo iniezione intravenosa, tende a diffondere fuori dalle bolle, soprattutto se esposta all'aria contenuta nei polmoni, e quindi il diametro delle microbolle si riduce prima ancora di raggiungere il circolo sistemico. Infine resta il limite rappresentato dalla concentrazione delle microbolle nella gittata sistolica ventricolare sinistra e quindi la maggiore

o minore quantità capace di raggiungere la circolazione coronaria. Recenti studi utilizzando elevate energie ultrasonore con la tecnica intermittente hanno comunque dimostrato la possibilità di studiare la perfusione miocardica anche con questi agenti.

Mezzi di contrasto di 2° generazione

Sono caratterizzati da un'elevata persistenza in circolo e possono opacizzare non solo le cavità destre e sinistre del cuore ma anche il miocardio dopo iniezione venosa. Il gas più usato per questi agenti di contrasto è il perfluorcarbonio che è un gas denso con bassa diffusibilità e costante di saturazione. Pur legandosi nell'uomo con l'ossigeno non ha effetti avversi. Sono in sperimentazione numerosi nuovi agenti di contrasto, molti contengono questo gas proprio per la sua bassa diffusibilità e altri sono costituiti da aria contenuta in microbolle di elevato spessore o con surfactanti che ne riducono la tensione superficiale. Alcuni si comportano da traccianti di flusso in quanto il tempo di transito miocardico è quasi fisiologico, altri da traccianti di deposito poiché determinano una prolungata opacizzazione miocardica¹⁵⁻¹⁷. I mezzi di contrasto attualmente in studio sono:

1) Echogen è un'emulsione di dodecafluoropentano, un colloide a doppia fase, disponibile in forma liquida a temperatura ambiente e in forma gassosa alla temperatura corporea. Questa sostanza viene iniettata in fase liquida nel circolo ematico e subito dopo si formeranno delle microbolle con un diametro di 2-4 µm. In esperimenti animali si è vista l'opacizzazione del ventricolo sinistro anche solo dopo iniezione venosa ed essa oltre a essere molto densa e nettamente migliore di quella ottenuta con Albunex, è della durata di 20 minuti che è 200 000 volte maggiore di quella dell'aria! Sebbene non siano ancora chiare le effettive cause di queste proprietà attraverso esperimenti nei cani, si è visto che Echogen percorre più lentamente dei globuli rossi la microcircolazione e che la durata dell'opacizzazione è dose-correlata allo stesso modo di quella endocavitaria. Infatti in quantità di 0,5-0,7 cc/kg si ha una

discreta opacizzazione ma si osservano decremento transitorio delle pressioni sistemiche ed elevazione della frequenza cardiaca e della pressione arteriosa polmonare. Comunque il metodo è stato perfezionato a partire dall'ipotesi che la causa di questi effetti emodinamici fosse nella natura del surfactante contenuto nell'emulsione. L'agente viene preattivato e in questo modo si utilizzano dosi più basse di Echogen, 0,2 cc/kg e si aumenta la persistenza di 1 minuto.

2) Optison è un perfluoropentano contenente microbolle rivestite di albumina sonificata. Le dimensioni sono ottimali, il diametro medio delle microbolle è compreso tra 3,6 e 5,4 µm e si ha una densa opacizzazione del ventricolo sinistro anche solo dopo iniezione intravenosa ma la persistenza è bassa, della durata di circa 30 secondi; non ci sono effetti emodinamici dal momento che la cinetica delle microbolle è simile a quella dei globuli rossi. Normalmente l'Optison necessita di alte dosi per una prolungata opacizzazione del miocardio¹⁶⁻¹⁸.

3) Sonovue è costituito da microbolle di solfoesafluoride, stabilizzate da un lipide. Esso è isotonico e la sua viscosità è simile a quella del sangue. Studi sugli animali hanno dimostrato che il gas è fisiologicamente inerte. Il diametro medio delle microbolle è di 2,5 µm (nell'intervallo di 1-10 µm) tale da consentire al mezzo di contrasto di superare la barriera polmonare e opacizzare il ventricolo sinistro in maniera omogenea. Inoltre Sonovue è resistente alla pressione sistolica ventricolare sinistra e non diffonde nel compartimento extravascolare ma rimane nei vasi sanguigni fino a dissolversi e a essere eliminato nell'aria espirata. Numerosi studi clinici hanno confermato che è sicuro e ben tollerato; determina l'opacizzazione di entrambe le camere cardiache e migliora la definizione del bordo endocardico. Somministrato in bolo o in infusione continua si è dimostrato efficace per lo studio della perfusione miocardica¹⁸⁻²⁰.

4) PESDA (perfluorocarbon exposed sonicated dextrose and albumin) contiene un fluorocarbene gassoso rivestito da un involucro proteico studiato nell'Università del Nebraska.

Modalità di infusione e aspetti metodologici

Tutti gli agenti di contrasto possono essere iniettati mediante infusione endovenosa continua o in bolo. La soglia diagnostica si mantiene a lungo con l'infusione continua, mentre il bolo consente di raggiungere un *plateau* più rapido dando tuttavia il fenomeno dell'attenuazione. Inoltre l'infusione venosa continua permette una costante velocità di rifornimento del microcircolo, condizione fondamentale per la valutazione quantitativa della perfusione miocardica. Alla luce di ciò appare allo stato attuale consigliabile utilizzare un'infusione continua²¹⁻²³.

I sistemi che possono essere utilizzati dalle varie apparecchiature ecocardiografiche per l'analisi del segnale emesso dalle microbolle di contrasto sono diversi. Alcuni utilizzano il segnale derivato dalla rottura delle bolle e sono basati sull'utilizzo di un imaging triggerato con emissione di impulsi ultrasonori a intervalli prefissati e sufficientemente lunghi da garantire che l'infusione continua del mezzo di contrasto ripristini il pool di microbolle distrutte precedentemente; altri invece utilizzano la risposta non lineare per risonanza delle microbolle introdotte in un fascio ultrasonoro a bassa intensità e con questa tecnica non è necessario utilizzare un imaging triggerato ma un imaging in continuo (real-time).

L'introduzione della modalità real-time ha reso desueta negli ultimi anni quella triggerata. Infatti anche se la maggior parte dei lavori sia sperimentali che clinici sono stati effettuati con la metodica triggerata, con la modalità real-time è possibile valutare contemporaneamente i dati di perfusione e di funzione contrattile e si osservano meno artefatti rispetto alla modalità triggerata legati alla non uniformità dell'energia prodotta con la distruzione delle microbolle.

Anche se siamo in attesa di più consistenti dati in letteratura, è evidente che la metodica real-time offre maggiori benefici in termini di facilità d'uso e di possibilità di impiego clinico e quindi al momento è la metodica da privilegiare.

Inizialmente la valutazione dei livelli di

perfusione è stata effettuata con un'analisi visiva delle variazioni del segnale mediante uno score a 3 o più punti che differenzia i segmenti in ben perfusi, non perfusi o con perfusione incompleta²⁴⁻²⁷. Nonostante il dato sia qualitativo la riproducibilità è elevata fino ad ora. Dall'analisi del valore di perfusione si può calcolare un indice di perfusione globale o regionale noto come Contrast Score Index (CSI) che in modo paragonabile al Wall Motion Score Index, rappresenta un indice della gravità del danno, in questo caso di perfusione²⁸.

Tuttavia si sta cercando di applicare un metodo quantitativo basata sull'analisi computerizzata dei livelli di videointensità segmentaria con la possibilità di costruire curve intensità/tempo che studiano la velocità di perfusione miocardica nel tempo²⁹. Questa analisi consentirà soprattutto di superare l'estrema variabilità che s'incontra nell'attribuire uno score ai segmenti con perfusione incompleta. Con l'infusione continua a velocità costante tutto il circolo coronarico è riempito di microbolle di contrasto e il segnale di videointensità raggiunto rappresenta il volume di sangue del microcircolo. Per valutare la velocità del flusso coronarico si sfrutta la possibilità di distruggere le microbolle utilizzando per un tempo sufficiente un segnale ultrasonoro ad alta potenza (flash). In questo modo tutto il microcircolo viene svuotato dalle microbolle e il miocardio non emette più un segnale videodensitometrico.

L'analisi del segnale prodotto dalle microbolle a tempo progressivamente crescente dal momento della rottura di esse fino alla completa opacizzazione del miocardio, consente di ricostruire una curva videointensità/tempo (curva di riempimento) che mostra una relazione non lineare adattata su una funzione esponenziale $[y=A(1-e^{-\beta t})+c]$, dove A è l'intensità del segnale al *plateau* che riflette il volume del flusso miocardico, β la velocità di crescita del *plateau* che riflette la velocità del flusso miocardico e c l'intercetta all'origine. Di conseguenza il prodotto $A \times \beta$ riflette il volume del flusso miocardico^{30, 31} (Figura 1). Le diverse regioni miocardiche vengono analizzate sistematicamente, in ogni istante, mediante le variazioni nel tempo dell'inten-

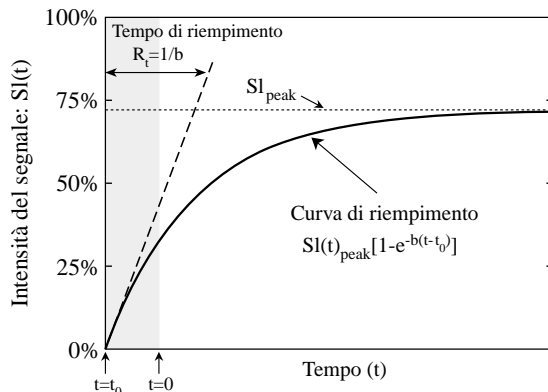


Figura 1. — Curva videointensità/tempo (curva di riempimento).

sità del segnale. Si disegna una regione di interesse (ROI) di dimensioni sufficienti ad essere contenuta nello spessore del segmento miocardio. Tuttavia la parete miocardica si muove a causa dell'escursione sisto-diastolica e/o dei movimenti respiratori e non è limitata a un gruppo di punti fissi nello spazio e in alcuni istanti potrebbe cadere fuori dalla regione di interesse. Sono in corso studi per risolvere questo inconveniente attraverso alcuni software che allineano automaticamente la ROI al muscolo cardiaco. La procedura è tutta automatizzata, l'intervento umano è limitato nel disegnare un poligono contenente il miocardio in ogni istante, l'errore è correlato solo alla qualità delle immagini (Figura 2). Usando questo software, il rilievo della videointensità può essere effettuato su ogni segmento del miocardio in 2-3-4 camere sia di base che durante stimolo iperemico, può così essere calcolato il flusso di riserva coronarica regionale. Diversi studi, usando immagini di perfusione triggerate o in real-time, hanno mostrato che ogni lesione coronarica può essere caratterizzata da una curva caratteristica durante un test di vasodilatazione.

Applicazioni cliniche

Già dagli studi effettuati con il 1° mezzo di contrasto a base di soluzione salina sonicata si era visto che non era possibile superare la

barriera polmonare a causa delle dimensioni delle microbolle, ma era possibile studiare solo il cuore destro e visualizzare eventuali shunt intracardiaci, fistole artero-venose polmonari, persistenza del forame ovale, che talvolta può essere causa di embolia paradossa e l'aneurisma del setto interatriale.

Oggi giorno grazie all'ausilio dei nuovi mezzi di contrasto che sono in grado di oltrepassare il microcircolo polmonare, è possibile migliorare la definizione anatomica delle strutture cardiache, valutare la presenza di trombi o vegetazioni sia nel cuore destro che sinistro, incrementare la sensibilità del Doppler, e, infine, studiare la perfusione del microcircolo coronarico.

Bordo endocardico

Con l'esame ecocardiografico convenzionale a causa di una cattiva finestra acustica (enfisema, habitus corporeo, decubito obbligato, accesso ristretto alla parete toracica, deformità scheletriche), si possono riscontrare difficoltà nella corretta valutazione della morfologia delle camere cardiache e della cinetica parietale. La somministrazione per via endovenosa di mezzi di contrasto, migliora nettamente la qualità d'immagine del bordo endocardico, permettendo una migliore valutazione sia della cinetica segmentale, che dei volumi cardiaci e della frazione d'eiezione³². Un nostro precedente lavoro, ha messo in evidenza che le moderne attrezzature che sfruttano la 2° armonica sono in grado di migliorare la qualità di immagine rispetto agli ecocardiografi che sfruttano l'imaging fondamentale, ma se viene somministrato mezzo di contrasto la qualità delle immagine migliora ulteriormente^{33,34}.

La caratteristica di migliorare la definizione del bordo endocardio, viene inoltre sfruttata per migliorare la sensibilità e specificità dei test provocativi.

La somministrazione di mezzo di contrasto sia durante esame ecocardiografico transtoracico che trasoesofageo, si è dimostrata un'ottima metodica nella diagnosi differenziale tra artefatti e masse intracardiache, riducendo notevolmente i dubbi interpretativi e gli errori che potevano nascere da una scorret-

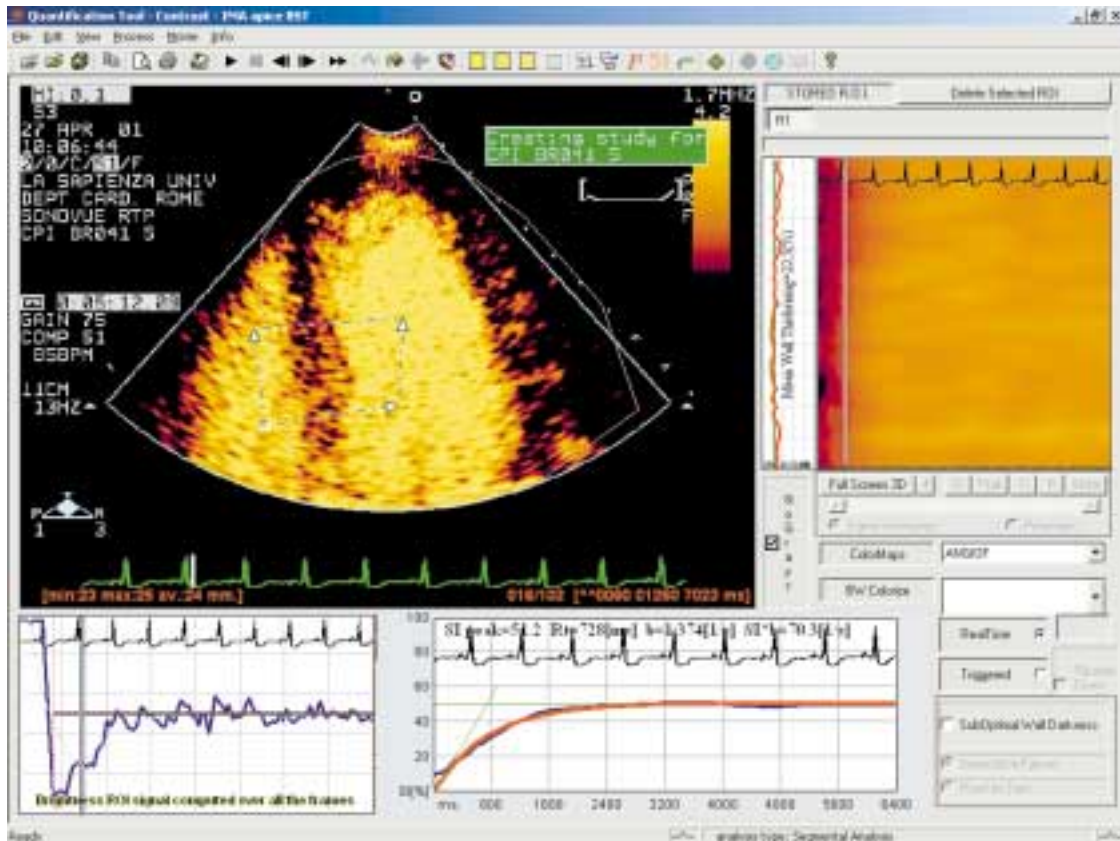


Figura 2. — Software per calcolare il flusso di riserva coronarica regionale.

ta interpretazione. Uno dei dubbi più frequenti, che si presenta al cardiologo clinico durante esame ecocardiografico transesofageo, è l'interpretazione delle immagini di plus in auricola sinistra. È noto infatti che la presenza dei muscoli pettinati, può condurre a una diagnosi erronea di trombosi e ciò può essere evitato con l'uso di mezzi di contrasto.

Flussimetria color-Doppler

Il rafforzamento del segnale Doppler, rappresenta, come abbiamo detto un'altra applicazione clinica. Il fascio di ultrasuoni che incontra il flusso sanguigno in movimento subisce una variazione di frequenza proporzionale alla velocità del sangue e ciò determina un incremento del segnale Doppler. La registrazione dei flussi con la semplice tecnica Doppler può di fatto, risul-

tare difficile soprattutto in pazienti enfisematosi, obesi o portatori di malformazioni ossee; a causa di uno scorretto allineamento del fascio ultrasonoro con la direzione del flusso. L'uso del contrasto migliora, in questi pazienti, il segnale Doppler sia nelle sezioni destre del cuore, dove permette una più facile e corretta stima della severità dell'ipertensione polmonare, che nelle sezioni sinistre, dove può essere utilizzato soprattutto nello studio delle valvulopatie in particolare la stenosi aortica.

Perfusione miocardica

La possibilità di studiare la perfusione miocardica con una metodica, non invasiva, economica, ripetibile e affidabile è stato un traguardo anelato da sempre. Oggi grazie alla messa a punto dei nuovi mezzi di contrasto e di apparecchiature sempre più sofisticate

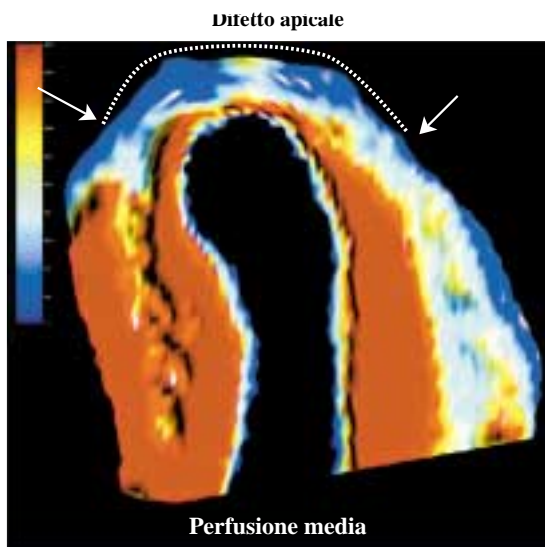


Figura 3. — Analisi della perfusione miocardica durante l'esame ecocardiografico.

che sfruttano la 2° armonica e l'imaging in real time, è possibile studiare in maniera molto affidabile e ripetibile, la perfusione miocardica a letto del paziente, durante un semplice esame ecocardiografico (Figura 3).

Tutte le limitazioni, che fino a oggi hanno fatto sì che tale metodica venisse messa in discussione, sono state in gran parte superate, sono notevolmente ridotti i fenomeni di attenuazione laterale, di saturazione («blooming effect») e gli artefatti.

Lo studio perfusionale del microcircolo coronarico trova importanti applicazioni nell'infarto miocardico acuto per una migliore valutazione dell'entità del danno miocardico, del successo delle procedure di riperfusione e dello studio della riserva coronarica e del fenomeno del no-reflow^{35,36}.

La presenza di flusso nell'arteria responsabile dell'IMA non necessariamente implica una perfusione del miocardio. L'assenza di riperfusione del miocardio (no-reflow) corrisponde istologicamente alla necrosi del tessuto. Il fallimento nel raggiungere un'adeguata perfusione del miocardio (aree di no-reflow) nell'IMA acuto è associato ad uno scarso recupero della funzione contrattile e a una prognosi peggiore. Le cause del no-reflow sono legate alla distruzione del micro-

circolo, all'ostruzione tromboembolica o all'edema dell'endotelio e del miocardio²⁸. Sappiamo che 1/4 dei pazienti con flusso TIMI 3 all'angiografia coronarica ha una scarsa perfusione tissutale. Il ripristino della perfusione del miocardio dopo la ricanalizzazione, nei pazienti con IMA acuto, è un requisito necessario per il recupero della funzione contrattile dopo ischemia acuta³⁷⁻⁴⁰.

Nei pazienti sottoposti a rivascularizzazione miocardica, lo studio con MCE permette di diagnosticare prontamente e in maniera non invasiva la presenza del fenomeno del no-reflow e di definirne la prognosi in termini di recupero funzionale e di rimodellamento ventricolare.

Il fenomeno del no-reflow può essere studiato anche con altre tecniche, quali l'angiografia coronarica, la scintigrafia e la risonanza magnetica nucleare. Tra le varie metodiche l'ecocontrastografia sembra essere la più promettente, soprattutto in considerazione dei costi elevati, dell'invasività e della non disponibilità nella maggior parte degli ospedali delle metodiche di imaging nucleare.

Fino ad oggi la PET (positron emission tomography) è stata considerata il gold standard per lo studio della perfusione miocardica ma i suoi elevati costi ne riducono l'uso nella pratica clinica quotidiana⁴¹. Alcuni studi hanno confrontato la specificità e la sensibilità delle metodiche che utilizzano radionuclidi verso l'eco-dobutamina e l'MCE. I risultati hanno messo in evidenza una maggiore specificità dell'MCE. Infatti l'ecocontrastografia visualizza la perfusione all'interno di ogni segmento indipendentemente dalla perfusione degli altri; permette di studiare la cinetica regionale contemporaneamente alla perfusione; e infine utilizza traccianti puri di flusso mentre in medicina nucleare i traccianti sono parzialmente metabolici⁴²⁻⁴⁴.

Inoltre l'uso dell'MCE si è rivelato importante per la determinazione del grado di stenosi coronarica, per l'identificazione del danno microvascolare durante ischemia-riperfusione, per la valutazione della presenza del circolo collaterale all'interno dell'area a rischio⁴⁵.

Alcuni studi con MCE hanno dimostrato che le zone con adeguato flusso collaterale

vengono risparmiate dalla necrosi dopo la riperfusione, mentre le aree che vanno incontro a necrosi sono identificabili come aree con scarso flusso collaterale.

Con la metodica ecocontrastografica è stato possibile avere informazioni aggiuntive ai fini della valutazione della vitalità miocardica; tramite lo studio della perfusione miocardica residua nell'area infartuale è possibile distinguere il miocardio stordito, perfuso ma con alterazioni contrattili, rispetto a quello necrotico, non perfuso e con alterazioni contrattili. Quando è presente un difetto di perfusione all'MCE è raro osservare riserva contrattile e recupero funzionale al follow-up, mentre nei pazienti con evidente integrità del microcircolo la riserva inotropica è spesso conservata e si può assistere a un recupero funzionale a distanza ⁴⁶.

Rispetto all'eco-dobutamina, l'ecocontrastografia è una metodica relativamente più rapida, più semplice e sicura da effettuare. La distinzione, tra miocardio necrotico e stordito, precocemente dopo IMA può aiutarci a stratificare il rischio, a identificare i pazienti che hanno più probabilità di avere insufficienza cardiaca, tachicardie ventricolari e morte. Sia l'MCE che la dobutamina a basse dosi presentano simili potenzialità nell'evidenziare la presenza di miocardio vitale. La concordanza tra le presenza di riserva contrattile e perfusione miocardica sembra migliorare l'accuratezza diagnostica. La presenza di perfusione del microcircolo non sempre implica un recupero della funzione contrattile. L'integrazione delle 2 metodiche eco-dobutamina ed MCE sembra aumentare la specificità e il valore predittivo positivo ⁴⁷.

Nel campo dell'infarto miocardio acuto gli studi di perfusione con MCE sembrano avere un ruolo di grande potenzialità soprattutto nel valutare l'efficacia della terapia ripervasiva. Il precoce ripristino di un flusso coronarico anterogrado nel territorio infartuale è attualmente il trattamento più efficace nei pazienti con infarto miocardio acuto (IMA). Sebbene in alcuni pazienti la lisi del trombo avvenga spontaneamente, nella maggioranza dei casi dei pazienti con infarto miocardico con sopraslivellamento del tratto ST (STEMI)

il persistere dell'occlusione trombotica determina necrosi del miocardio. Il tempo in cui viene ripristinata la riperfusione rappresenta il modo più efficace nel ripristinare l'equilibrio tra domanda e apporto di ossigeno. L'efficacia sembra essere correlata alla rapidità con cui è ripristinata la riperfusione dopo l'occlusione coronarica. La prevenzione della morte cellulare restaurando il flusso sanguigno dipende dalla severità e dalla durata dell'ischemia preesistente. Più precocemente il flusso viene ripristinato maggiore è recupero della funzione del ventricolo sinistro e la riduzione della mortalità ⁴⁸. La presenza di circoli collaterali ha un ruolo importante nel preservare la funzione ventricolare sinistra dopo il ripristino della perfusione.

Attualmente l'impatto terapeutico verso i pazienti con IMA, si basa su rilievi clinici, enzimatici ed elettrocardiografici. La diagnosi di IMA viene effettuata in base alla presenza di uno dei seguenti criteri: dolore anginoso tipico della durata superiore a 20 minuti; nuovo sopraslivellamento del tratto ST >1 mm in 2 o più derivazioni periferiche contigue, o >2 mm in 2 o più derivazioni precordiali; aumento degli enzimi miocardiospecifici.

Il ruolo del danno del microcircolo, dopo terapia ripervasiva, è molto importante nella stratificazione prognostica del rischio. Circa 1/6 o 1/4 dei pazienti sottoposti a trombolisi che mostra un TIMI 3 ha una ridotta perfusione tissutale (fenomeno del no-reflow). È quindi importante valutare il successo della riperfusione coronarica esaminando il ripristino del flusso miocardico. Come abbiamo già visto in precedenza, l'integrità del microcircolo è essenziale affinché possa esserci un recupero della funzione contrattile ^{49, 50}.

In un nostro recente studio ⁵¹ abbiamo valutato il valore relativo dei diversi indici normalmente utilizzati nella pratica clinica per la diagnosi non-invasiva di riperfusione in confronto all'MCE. Abbiamo definito la riperfusione inadeguata in caso di mancata rapida riduzione del sopraslivellamento del tratto ST (riduzione >50% della sommatoria dei singoli sopraslivellamenti a 90 minuti dal trattamento), se il picco del CPK è tardivo (>12 ore) e in caso di mancata riduzione

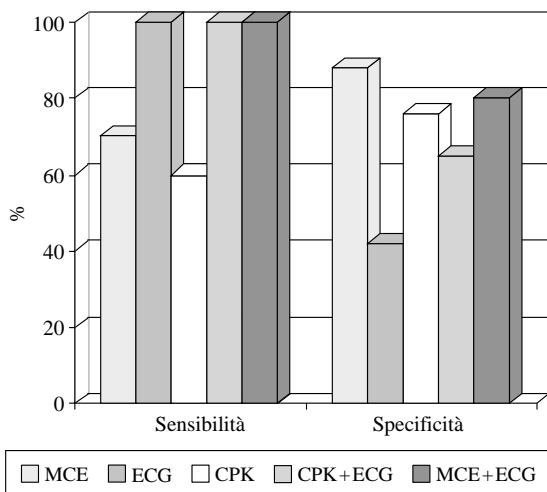


Figura 4. — Confronto tra i diversi indici normalmente utilizzati nella pratica clinica e l'MCE per la diagnosi non-invasiva di riperfusione.

>70% del difetto di perfusione dopo la procedura di rivascolarizzazione. La fattibilità dell'MCE nel territorio della discendente anteriore, della circonflessa e della coronaria destra è alta (>90%) e vi è una stretta concordanza con l'elevazione del tratto ST. I criteri elettrocardiografici sono più sensibili, ma meno specifici rispetto all'MCE nel definire la riperfusione miocardica. La diagnosi di fallimento della riperfusione può essere fatta con certezza solo quando entrambi i parametri sono concordanti. Comunque, le immagini ottenute con l'MCE possono determinare in modo accurato se la riperfusione miocardica ha avuto successo (Figura 4).

Numerosi studi hanno dimostrato l'efficacia della PTCA primaria nel ridurre il danno del microcircolo. Trial in corso stanno valutando inoltre l'efficacia e il ruolo della PTCA di salvataggio (rescue) sul danno microvascolare. Nostre osservazioni preliminari sembrano dimostrare che sia la PTCA primaria che la rescue sono entrambe efficaci nel ridurre il danno del microcircolo ^{52, 53} (Figura 5).

Un altro campo di applicazione dell'MCE è lo studio della riserva coronarica, prima e dopo una procedura di angioplastica, con o senza impianto di stent, mediante vasodilatazione indotta con adenosina (140 µg/kg/90 s) o con dipiridamolo (0,56 µg/kg/in 4 minu-

ti seguito dopo 2 minuti da un'altra dose di 0,28 µg/kg in 2 minuti ⁵⁴. Si definisce riserva coronarica (CRF) la capacità fisiologica del flusso coronarico di aumentare di almeno 3 volte al di sopra dei livelli basali per soddisfare un eventuale aumento del flusso di ossigeno. Essa è espressione del rapporto tra il flusso massimo coronarico e il flusso in condizioni basali e il valore normale è >3.

In passato alcuni Autori hanno dimostrato come la riserva coronarica si riduca progressivamente per ostruzioni coronariche >50% e si annulli per stenosi >80% ⁵⁵. L'aumento della resistenza al flusso dovuto alla stenosi viene compensato dalla dilatazione del microcircolo distale e pertanto una riduzione della riserva coronarica si dimostra essere proporzionale alla gravità della stenosi.

Ma l'aspetto forse più entusiasmante dell'ecocontrastografia che è in corso di studio a tutt'oggi, è la possibilità di approfondire e perciò rivelare i fattori determinanti il rimodellamento ventricolare ⁵⁶.

Dopo l'infarto miocardico il ventricolo va incontro a modificazioni di dimensioni, forma e spessori. Oltre alle dimensioni dell'IMA i determinanti del processo di rimodellamento sono le condizioni di carico del ventricolo sinistro e la pervietà della coronaria che irrorava la zona dell'infarto. La pervietà dell'arteria responsabile dell'IMA accelera il processo di cicatrizzazione e aumenta l'edema dei tessuti circostanti la zona infartuata, riducendo l'espansione e la dilatazione. L'espansione infartuale è determinata da: scivolamento tra i fasci muscolari e riduzione dei miociti della zona infartuata; rottura delle cellule miocardiche; perdita di tessuto nella zona necrotica.

L'espansione della zona infartuale si associa a una maggiore incidenza di insufficienza cardiaca e aneurisma ventricolare e in rari casi un'eccessiva espansione può causare la rottura del ventricolo.

La dilatazione del ventricolo sinistro è un meccanismo di compenso utile a mantenere una gittata sistolica nei limiti della norma, tuttavia si associa a una ripolarizzazione ventricolare non uniforme e predispone all'insorgenza di aritmie.

La riperfusione precoce riduce le dimen-

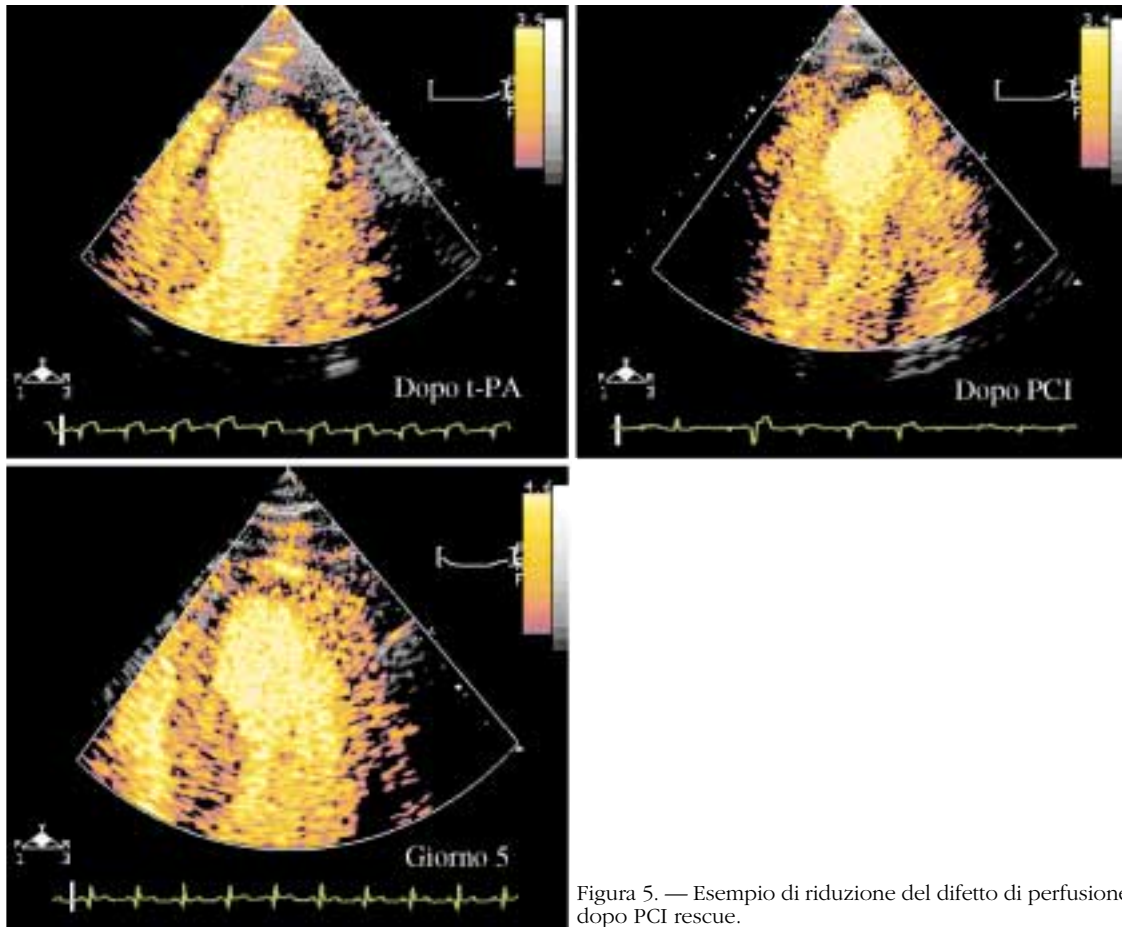


Figura 5. — Esempio di riduzione del difetto di perfusione dopo PCI rescue.

sioni della necrosi miocardica e previene la dilatazione del ventricolo, favorendo la cicatrizzazione della zona infartuata.

Alcuni recenti studi stanno cercando di chiarire con precisione quali siano i fattori determinanti nel rimodellamento ventricolare. Hanno messo in correlazione l'estensione dell'infarto con il rimodellamento indipendentemente dal recupero funzionale. Nei pazienti in cui è stata effettuata la riapertura del vaso, sia con fibrinolisi che con PTCA, la sede dell'infarto, l'estensione della necrosi e del danno microvascolare sembrano avere un ruolo determinante nel rimodellamento ventricolare. L'MCE eseguito 24 ore dopo la riperfusione e 1 settimana dopo, sembra dare informazioni prognostiche importanti proprio grazie alla visualizzazione dell'estensione del difetto di perfusione.

Conclusioni

L'ecoconstrastografia sembra quindi essere una metodica efficace, sicura, sia nel campo dell'infarto miocardico acuto per lo studio dell'efficacia della terapia riperfusiva; per la valutazione prognostica post-ricanalizzazione e per lo studio del rimodellamento postinfartuale; sia nella cardiopatia ischemica cronica per la valutazione della vitalità miocardica, della riserva di flusso coronarico regionale e per lo studio dell'ischemia inducibile.

Nonostante i dati preliminari incoraggianti, ci aspettiamo che la qualità delle immagini ecoconstrastografiche migliorino in modo tale che l'MCE venga introdotto come metodica di routine, e ciò richiederà un importante riassetto organizzativo del laboratorio di ecocardiografia sia in termini culturali che di

risorse umane e materiali. Ma ancora di più ci aspettiamo che l'ecocontrastografia assuma un ruolo decisionale nel paziente con infarto miocardico acuto, sospetto o accertato ⁵⁷.

Riassunto

Recenti studi hanno dimostrato l'utilità dell'ecocontrastografia miocardica (MCE) per studiare la perfusione miocardica. Numerosi mezzi di contrasto di 1° e 2° generazione, come Levovist, Sonovue, Optison, Definity e Imagent, sono attualmente in commercio o prossimi all'approvazione per uso diagnostico nell'uomo.

La metodica ecocontrastografica ha permesso innanzitutto di evidenziare in modo preciso la presenza del fenomeno del no-reflow in pazienti con infarto miocardico acuto sottoposti a procedura di riapertura del vaso e di dimostrare l'importanza di tale fenomeno per la prognosi dei pazienti in termini di recupero funzionale e di rimodellamento ventricolare.

Negli studi più recenti si sono evidenziati i limiti dell'angiografia proprio nello studio del fenomeno del no-reflow; infatti, con questa metodica è ormai chiaro che è possibile identificare solamente l'occlusione o la riapertura del vaso responsabile dell'infarto ma non di valutare il danno del microcircolo, come dimostrato dalla ridotta correlazione tra il grado TIMI e il punteggio di perfusione valutato con MCE.

Inoltre l'uso del MCE si è rivelato importante per la determinazione del grado di stenosi coronarica, per l'identificazione del danno microvascolare durante ischemia-riperfusion, per la valutazione della presenza del circolo collaterale all'interno dell'area a rischio. In quest'ultimo caso si è evidenziata la necessità di avere a disposizione una metodica non invasiva per lo studio del circolo collaterale che superasse i limiti delle altre metodiche di imaging quali l'angiografia coronarica, le metodiche di imaging nucleare, la risonanza magnetica, rappresentati dai costi elevati, dall'invasività e dalla non disponibilità nella maggior parte degli ospedali. Alcuni studi, inoltre, hanno confrontato la specificità e la sensibilità delle metodiche che utilizzano radionuclidi verso l'ecodobutamina e l'MCE e i risultati hanno messo in evidenza una maggiore specificità del MCE rispetto alla scintigrafia miocardica.

Con la metodica ecocontrastografica è stato possibile avere informazioni aggiuntive anche ai fini della valutazione della vitalità miocardica; essa consente di visualizzare la ripercussione miocardica dei segmenti riforniti dall'arteria responsabile dell'IMA; di dimostrare la presenza di miocardio stordito, perfuso ma con alterazioni contrattili, rispetto a quello necrotico, non perfuso e con alterazioni contrattili. In un altro recente studio è stato evidenziato che non sol-

tanto la PCI primaria ma anche quella di salvataggio (rescue) e quella tardiva riducono il danno microvascolare e l'MCE ha un ruolo chiave anche in questo caso.

Ma l'aspetto forse più entusiasmante dell'ecocontrastografia, che è in corso di studio a tutt'oggi, è la possibilità di approfondire e perciò rivelare i fattori determinanti il rimodellamento ventricolare. Alcuni recenti studi hanno messo in correlazione l'estensione dell'infarto con il rimodellamento indipendentemente dal recupero funzionale. Nei pazienti in cui è stata effettuata la riapertura del vaso, sia con fibrinolisi che con angioplastica coronarica, la sede dell'infarto, l'estensione della necrosi e del danno microvascolare sembrano avere un ruolo determinante nel rimodellamento ventricolare. L'esame ecocontrastografico eseguito 24 ore, 1 settimana e 6 mesi dopo la ripercussione, sembra dare informazioni importanti, prognostiche importanti proprio grazie alla visualizzazione dell'estensione del difetto di perfusione.

Parole chiave: Ecocontrastografia miocardica - Perfusione miocardica - Mezzi di contrasto.

Bibliografia

1. Gramiak R, Shah PM. Echocardiography of the aortic root. *Invest Radiol* 1968;3:356-66.
2. Gramiak R, Shah PM, Kramer DH. Ultrasound cardiography. Contrast studies. *Radiology* 1969;92:939-48.
3. Burns PN. Ultrasound contrast agents in radiological diagnosis. *Radiol Med* 1987;1-5:71-82.
4. Willard GW. Ultrasonically induced cavitation in water: a step by step process. *J Acoust Soc Am* 1953;25:669-86.
5. Feinstein SB, Ten Kate KJ, Zwehl W, Ong K, Maurer G, Tei C *et al*. Two-dimensional contrast echocardiography I. *In vitro* development and quantitative analysis of echo contrast agents. *J Am Coll Cardiol* 1984;3:14-20.
6. Beckmann S, Schartl M, Bocksch W, Paeppler W. Stress echocardiography: evaluation of left ventricular function after administration of the transpulmonary echo contrast medium SHU 508 A. *Z Kardiol* 1993;82:317-23.
7. Kremkau FW, Gramiak R, Casteren EL, Shah PM, Kramer DH. Ultrasonic detection of cavitation at catheter tips. *Am J Roentgenol* 1970;110:177-83.
8. Bove AA, Zinskin MC, Mulchin WL. Ultrasonic detection of *in vivo* cavitation and pressure effects of high-speed injections through catheters. *Invest Radiol* 1969;4:236-40.
9. Lauteborn W. Numerical investigation of non-linear oscillations of gas bubbles in liquids. *J Am Soc Acoust* 1976;59:283-93.
10. Prosperetti A. Non-linear oscillations of gas bubbles in liquids: steady-state solutions and the connections between subharmonic signal and cavitation. *J Acoust Soc Am* 1974;56:878-85.
11. Tucker DG, Welsby VG. Ultrasonic monitoring of decompressions. *Lancet* 1968;1:1253.
12. Lindner JR, Dent JM, Moos SP, Jayaweera AR, Kaul S. Enhancement of left ventricular cavity opacification by harmonic imaging after venous injection of Albunex. *J Am Cardiol* 1997;79:1657-62.
13. Schwarz KQ, Chen X, Steinmetz S, Phillips D. Harmonic imaging with Levovist. *J Am Soc Echocardiogr* 1997;10:1-10.

14. De Jong N, Ten Cate FJ, Lancee CT, Roelandt JR, Bom N. Principle and recent developments in ultrasound contrast agents. *Ultrasonics* 1991;29:324-30.
15. Cohen JL, Cherif J, Segar DS, Gillam LD, Gottdiener JS, Hausnerova E *et al*. Improved left ventricular endocardial border delineation and opacification with Optison (FS069), a new echocardiographic contrast agent. Results of a phase III multicenter trial. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:746-52.
16. Miller Jeffrey J, Tiemann K, Podell S, Doerr Stevens JK, Kuvelas T, Greener Y *et al*. *In vitro*, animal, and human characterization of Optison infusions for myocardial contrast echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 1999;12:1027-34.
17. Scherer PW, Gobran S, Aukburg SJ, Baumgardner JE, Bartkowski R, Neufeld GR *et al*. Numerical and experimental study of steady-state CO₂ and inert gas washout. *J Appl Physiol* 1998;64:1022-9.
18. Schneider M, Arditi M, Barrau M, Brochot J, Broillet A, Ventrone R *et al*. BR1: a new ultrasonographic contrast agent based on sulfur hexafluoride-filled microbubbles. *Invest Radiol* 1995;30:451-7.
19. Rovai D, Morales MA, Amyot R, L'Abbate A. Clinical experience with Sonovue in myocardial perfusion imaging. *Echocardiography* 2000;6(Pt 2):17-23.
20. Bokor D. Diagnostic efficacy of Sonovue. *Am J Cardiol* 2000;86:19G-24G.
21. Lindner JR, Villanueva FS, Dent JM, Wei K, Skelenar J, Kaul S. Assessment of resting perfusion with myocardial contrast echocardiography: theoretical and practical considerations. *Am Heart J* 2000;139(2 Pt 1):231-40.
22. Weissman NJ, Cohen MC, Hack TC, Gillam LD, Cohen JL, Kitzman DW. Infusion *versus* bolus contrast echocardiography: a multicenter, open-label, crossover trial. *Am Heart J* 2000;139:399-404.
23. Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, Linka A, Skyba DM, Kaul S. Basis for detection of stenosis using venous administration of microbubbles during myocardial contrast echocardiography: bolus or continuous infusion? *J Am Coll Cardiol* 1998;32:252-60.
24. Ragosta M, Camarano G, Kaul S, Powers ER, Sarembock IJ, Gimple LW. Microvascular integrity indicates myocellular viability in patients with recent myocardial infarction. New insights using myocardial contrast echocardiography. *Circulation* 1994;89:2562-9.
25. Brochet E, Czitrom D, Karila-Cohen D, Seknadji P, Faraggi M, Benamer H *et al*. Early changes in myocardial perfusion patterns after myocardial infarction: relation with contractile reserve and functional recovery. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:2011-7.
26. Swinburn JM, Lahiri A, Senior R. Intravenous myocardial contrast echocardiography predicts recovery of dysynergic myocardium early after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:19-25.
27. Czitrom D, Karila-Cohen D, Brochet E, Juliard JM, Faraggi M, Aumont MC *et al*. Acute assessment of microvascular perfusion patterns by myocardial contrast echocardiography during myocardial infarction: relation to timing and extent of functional recovery. *Heart* 1999;81:12-6.
28. Agati L, Tonti G, Pedrizzetti G. Contrast echocardiography in coronary artery disease. Clinical application of quantitative analysis. In: Garcia Fernandez MA, Zamorano J, editors. *Contrast echo book*. Heidelberg: Springer-Verlag; in press 2003.
29. Lafitte S, Higashiyama A, Masugata H, Peters B, Strachan M, Kwan OL *et al*. Contrast echocardiography can assess risk area and infarct size during coronary occlusion and reperfusion: experimental validation. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1546-54.
30. Shimoni S, Frangogiannis NG, Aggeli CJ, Shan K, Quinones MA, Espada R *et al*. Microvascular structural correlates of myocardial contrast echocardiography in patients with coronary artery disease and left ventricular dysfunction: implications for the assessment of myocardial hibernation. *Circulation* 2002;106:950-6.
31. Andrassy P, Zielinska M, Busch R, Schomig A, Firschke C. Myocardial blood volume and the amount of viable myocardium early after mechanical reperfusion of acute myocardial infarction: prospective study using venous contrast echocardiography. *Heart* 2002;87:350-5.
32. Schroder K, Agrawal R, Voller H, Schlieff R, Schroder R. Improved of endocardial border delineation in suboptimal echocardiograms using the new left heart contrast agent SH U 508 A. *Int J Cardiac Imaging* 1994;10:45-51.
33. Agati L, Autore C, Funaro S, Veneroso G, Dagianti A, Lamberti A *et al*. Non-invasive assessment of myocardial perfusion using harmonic Angio and intravenous pump infusion of Levovist®: preliminary results in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2000;86 Suppl:28G-30G.
34. Agati L, Funaro S, Veneroso G, Bilotta F. Assessment of no-reflow phenomenon after acute myocardial infarction using Harmonic Angio and intravenous pump infusion of Levovist: comparison with intracoronary contrast injection. *J Am Soc Echo* 2001;14:773-81.
35. Ito H, Maruyama A, Iwakura K, Takiuchi S, Masuyama T, Hori M *et al*. Clinical implications of the "no-reflow" phenomenon. A predictor of complications and left ventricular remodeling in reperfused anterior wall myocardial infarction. *Circulation* 1996;93:223-8.
36. Kenner M, Zajac EJ, Kondos GT, Dave R, Winkelmann JW, Jofus J *et al*. Ability of the no-reflow phenomenon during an acute myocardial infarction to predict left ventricular dysfunction at one-month follow-up. *Am J Cardiol* 1995;76:861-8.
37. Bax JJ, Wijns W, Cornel JH, Visser FC, Boersma E, Fioretti PM. Accuracy of currently available techniques for prediction of functional recovery after revascularization in patients with left ventricular dysfunction due to chronic coronary artery disease: comparison of pooled data. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:1451-60.
38. Agati L, Voci P, Bilotta F, Luongo R, Autore C, Penco M *et al*. Influence of residual perfusion within the infarct zone on the natural history of left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction: a myocardial contrast echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:336-42.
39. Agati L. Microvascular integrity after reperfusion therapy. *Am Heart J* 1999;138:76-9.
40. Kaul S. Coronary angiography cannot be used to assess myocardial perfusion in patients undergoing reperfusion for acute myocardial infarction. *Heart* 2001;86:483-4.
41. 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;16:695-704.
42. Muro T, Hozumi T, Watanabe H, Yamagishi H, Yoshizawa M, Takeuchi K *et al*. Assessment of myocardial perfusion abnormalities by intravenous myocardial contrast echocardiography with harmonic power doppler imaging: comparison with positron emission tomography. *Heart* 2003;89:145-9.
43. Panza JA, Dilsizian V, Laurienzo JM, Curiel RV, Katsiyannis PT. Relation between thallium uptake and contractile response to dobutamine. *Circulation* 1995;91:2556-65.
44. Shimoni S, Frangogiannis NG, Aggeli CJ, Shan K, Verani MS, Quinones MA *et al*. Identification of hibernating

- myocardium with quantitative intravenous myocardial contrast echocardiography: comparison with dobutamine echocardiography and thallium-201 scintigraphy. *Circulation* 2003;107:538-44.
45. Agati L, Funaro S, Veneroso G, Volponi C, Tonti G. Clinical utility of contrast echocardiography in the management of patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2002;4 Suppl C:C27-34.
 46. Main ML, Magalski A, Morris BA, Coen MM, Skolnick DG, Good TH. Combined assessment of microvascular integrity and contractile reserve improves differentiation of stunning and necrosis after acute anterior wall myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1079-84.
 47. Agati L, Voci P, Autore C, Luongo R, Testa G, Mallus MT *et al.* Combined use of dobutamine echocardiography and myocardial contrast echocardiography in predicting regional dysfunction recovery after coronary revascularization in patients with recent myocardial infarction. *Eur Heart J* 1997;18:771-9.
 48. Agati L, Funaro S, Madonna MP, De Maio F, Celani F, Tonti G. Tailored reperfusion strategies in acute myocardial infarction: role of MCE. *Echocardiography* 2002;19:621-7.
 49. Ohmori K, Cotter B, Leistad E, Bhargava V, Wolf PL, Mizushige K *et al.* Assessment of myocardial postreperfusion viability by intravenous myocardial contrast echocardiography: analysis of the intensity and texture of opacification. *Circulation* 2001;103:2021-7.
 50. Sakuma T, Hayashi Y, Sumii K, Imazu M, Yamakido M. Prediction of short- and intermediate-term prognoses of patients with acute myocardial infarction using myocardial contrast echocardiography one day after ricanalization. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:890-7.
 51. Agati L, Funaro S, Volponi C. Intravenous contrast echocardiography with harmonic angio for the assessment of myocardial salvage after thrombolytic therapy in acute anteroseptal myocardial infarction: comparison with clinical markers of successful reperfusion. *Circulation* 2000;102 Suppl II:748.
 52. Agati L, Funaro S, Veneroso G, Madonna MP, De Maio F, Celani F *et al.* Use of MCE in identifying patients with failed reperfusion after thrombolysis in acute myocardial infarction: comparison with TIMI myocardial perfusion grade and clinical markers of reperfusion. *J Am Coll Cardiol (Suppl)*. In press 2003.
 53. Agati L, Iacoboni C, De Maio F, Funaro S, Madonna MP, Celani F *et al.* Tissue level perfusion after primary or rescue coronary angioplasty in acute myocardial infarction. A myocardial contrast echocardiography study. *J Am Coll Cardiol (Suppl)*. In press 2003.
 54. Agati L, Voci P, Bilotta F, Luongo R, Iacoboni C, Fedele F *et al.* Dipyridamole myocardial contrast echocardiography in patients with single vessel coronary artery disease: perfusion, anatomic and functional correlates. *Am Heart J* 1994;128:28-35.
 55. Gould KL, Lipscomb K, Hamilton GW. Physiologic basis for assessing critical coronary stenosis. Instantaneous flow response and regional distribution during coronary hyperemia as measures of coronary flow reserve. *Am J Cardiol* 1974;33:87-94.
 56. Agati L, Funaro S, Volponi C, Veneroso G, Autore C. Influence of microvascular damage on left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2001;37 Suppl A:390A.
 57. Kaul S. Myocardial contrast echocardiography in acute myocardial infarction: time to test for routine clinical use? *Heart* 1999;81:2-539.