

# Aplicaciones del contraste en la ecocardiografía

Petros Nihoyannopoulos\* y José Zamorano

Servicios de Cardiología. Hammersmith Hospital. Reino Unido y \* Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

*ecocardiografía/ ecocardiografía Doppler/ medios de contraste/ perfusión miocárdica*

El desarrollo de medios de contraste aplicados a la exploración diagnóstica con ultrasonidos ha sido lento y esporádico, no existiendo todavía en la actualidad ningún agente ideal. La mayoría de contrastes están formados por microburbujas llenas de aire que son capaces de generar un aumento de la señal ecográfica, potenciando por tanto la información derivada del ultrasonido. En este artículo revisamos las diferentes fases y aplicaciones diagnósticas por las que ha pasado la ecocardiografía con contraste. Inicialmente, los contrastes que no pasaban el árbol pulmonar, principalmente dedicados al estudio de cortocircuitos intracavitarios. Posteriormente, la siguiente generación de contrastes, que atraviesan la barrera pulmonar, con microburbujas de menor tamaño y estables que permiten el estudio del ventrículo izquierdo después de haber sido inyectados por vía intravenosa. Gracias a este tipo de agentes, el estudio de la perfusión miocárdica es posible en la actualidad, siendo el campo más prometedor de la ecocardiografía de contraste.

## APPLICATIONS OF CONTRAST IN ECHOCARDIOGRAPHY

The development of contrast media in ultrasound has been slow and sporadic, and there are no fully satisfactory agents for clinical imaging to date. Most contrast agents consist of air filled microbubbles which generate scattered echoes and enhance the ultrasound information. In this article we review the different phases of contrast echocardiography their potentials and clinical applications. First, right-sided echocontrast which is mainly used for the assessment of intracardiac shunts. Second, left-sided contrast agents with smaller and more stable microbubbles, that allow the visualization of the left ventricle after intravenous injection. With these agents, one it is now possible to study myocardial perfusion which is one of the most attractive potentials of these types of agents.

(*Rev Esp Cardiol* 1998; 51: 428-434)

## INTRODUCCIÓN

El contraste como medio diagnóstico se emplea habitualmente en radiología. Ciertas técnicas tales como la tomografía computarizada, las radiografías o la resonancia magnética utilizan contrastes que se introducen en el organismo con objeto de mejorar la resolución de la imagen obtenida. El desarrollo de medios de contraste aplicados a la exploración diagnóstica con ultrasonidos ha sido lento y esporádico y en la actualidad no existe todavía ningún agente ideal.

La posible aplicación del contraste en ecocardiografía fue ya descrita en 1968<sup>1</sup>. La mayoría de contrastes están formados por microburbujas llenas de aire que son capaces de generar un aumento de la señal ecográfica, lo que potencia la información derivada del ultrasonido. Inicialmente, los contrastes no podían pasar el árbol pulmonar debido a que bien su tamaño era grande (> 10  $\mu\text{m}$ ) o eran inestables y se disolvían rápida-

mente. La principal aplicación de este tipo de contrastes era el estudio de los cortocircuitos intracardíacos.

A mediados de los años 80 se desarrollaron ya contrastes capaces de pasar el árbol pulmonar. Estos agentes eran capaces de opacificar el ventrículo izquierdo después de haber sido inyectados en una vena periférica. Su aplicación más sencilla desde el comienzo fue la potenciación de las señales del Doppler. Más difícil fue la mejoría en la resolución de la imagen ecográfica del endocardio. A pesar de que estos agentes fueron eficaces en la demostración de defectos de perfusión, áreas isquémicas en riesgo, flujo coronario o en el cálculo de la reserva coronaria tras su inyección intracoronaria o intraaórtica, una óptima visualización de la perfusión miocárdica tras la inyección del contraste por vía intravenosa no se ha conseguido hasta la fecha. Sin embargo, éste es precisamente el mayor interés y la excitante perspectiva que aportan los contrastes de última generación, así como los recientes avances en los métodos de diagnóstico por la imagen. Nos atreveremos a especular que pronto existirán medios de contraste que, una vez inyectados por vía venosa y visualizados mediante ecocardiografía, serán capaces de proporcionar información fidedigna del estado de la perfusión miocárdica.

Correspondencia: Dr. J. Zamorano.  
Servicio de Cardiología. Hospital Clínico.  
Plaza de Cristo Rey, s/n. 28040 Madrid.

## BASES FÍSICAS DE LOS MEDIOS DE CONTRASTE

Existen dos tipos de ecos generados por los ultrasonidos. Unos son los ecos especulares que nacen de las interfases con los órganos. Éstos son muy reflectantes y homogéneos, y se emplean para formar la imagen ecográfica. El segundo tipo son los denominados *scattered echoes* que se originan en el parénquima de los órganos. Éstos son habitualmente de menor longitud de onda y menor reflectividad que los primeros y son los que habitualmente se emplean en radiología abdominal para analizar los órganos abdominales.

Las microburbujas del contraste sirven para aumentar la reflectividad de estos segundos ecos débiles reflejados desde el parénquima de los órganos. La interfase aire-líquido que existe en las burbujas del agente de contraste es la última responsable del aumento de la señal acústica. Por ello, la intensidad del efecto provocado por el contraste depende del radio, estabilidad y compresibilidad de las microburbujas que contenga<sup>2</sup>. La amplitud de la señal obtenida aumenta exponencialmente con el radio de la microburbuja. La señal ecográfica reflejada también se incrementa en aquellas burbujas que son más compresibles pero debe destacarse que una excesiva compresibilidad de la burbuja ocasiona más inestabilidad y menor vida media de la misma.

Cuando un agente de contraste es introducido en la circulación y llega al corazón, llenará las cavidades cardíacas y aumentará la señal acústica derivada de los ecos generados por las células sanguíneas. Debido a que el efecto Doppler se basa en el mismo principio acústico, la introducción de contraste en el torrente sanguíneo también aumentará la señal del Doppler. Además, cuando un agente de contraste se distribuya desde la sangre hacia el miocardio, actuará como un agente similar a un trazador sanguíneo. En estos casos, las microburbujas además contribuirán a aumentar la señal acústica derivada de los ecos reflejados por el parénquima que hemos descrito previamente.

## APLICACIÓN DE LOS CONTRASTES DE PRIMERA GENERACIÓN

Las aplicaciones iniciales del contraste fueron la detección de cortocircuitos intracavitarios y la valoración de la regurgitación tricúspide. Estos agentes de primera generación no eran capaces de atravesar el árbol pulmonar y tan sólo podían opacificar el corazón derecho. Inicialmente, se inyectaba suero salino, dextrosa o verde de indocianina una vez que se habían agitado (bien dentro de la jeringa o con dos jeringas y una llave de tres pasos) para obtener una interfase aire-líquido. Debido a su gran disponibilidad y mínimo coste, estos agentes siguen utilizándose habitualmente en la clínica. El tiempo necesario para que estas burbujas

lleguen desde una vena periférica a las cavidades derechas es de 5-7 s, notándose posteriormente una opacificación de estas cámaras con una mejoría de la señal acústica recibida. Sin embargo, estos contrastes no pueden opacificar el corazón izquierdo porque o son de gran tamaño ( $> 10 \mu\text{m}$ ), y no pueden pasar el árbol pulmonar, o son muy pequeños y se colapsan al pasar por los capilares. Por este motivo, se han realizado grandes esfuerzos para obtener unas microburbujas uniformes ( $5 \mu\text{m}$ ), y estables, efecto que se logra añadiendo una membrana de albúmina o sacarosa que encapsula las microburbujas impidiendo su rápida destrucción.

A pesar del uso generalizado del Doppler color para el diagnóstico de cortocircuitos intracavitarios y la valoración de regurgitaciones valvulares, existen dos patologías en las que estos agentes de contraste de primera generación siguen teniendo una absoluta validez e indicación. Éstas son la detección de la persistencia de la vena cava superior izquierda y el foramen oval permeable (FOP).

El FOP permanece abierto en el 25% de los adultos<sup>3</sup> y desempeña un papel importante en la etiología de los episodios de accidentes cerebrovasculares embólicos de origen incierto en sujetos menores de 40 años<sup>4,5</sup>. La ecocardiografía transesofágica tiene una mayor sensibilidad que la transtorácica en la detección del FOP con la inyección simultánea de contraste<sup>6</sup>. La maniobra de Valsalva debe comenzar a realizarse cuando se inyecta el contraste y detenerse cuando éste aparece en la aurícula derecha. El aumento de la presión intratorácica interrumpe el retorno venoso; posteriormente existe un rápido vaciamiento de las venas periféricas en la aurícula derecha mientras que la aurícula izquierda recibe poca sangre de los pulmones. Estos hechos provocan que se favorezca el desarrollo de un pequeño gradiente entre la aurícula derecha y la izquierda con el consiguiente paso de burbujas de contraste desde la aurícula derecha a la izquierda si existe un FOP. La presencia de microburbujas en la aurícula izquierda en la región de la fosa oval, durante los 3 primeros ciclos cardíacos después de la aparición del contraste en la aurícula derecha es diagnóstica de FOP.

La persistencia de la vena cava superior izquierda (PVCSI) es más frecuente en pacientes con cardiopatías congénitas (3-10%) que en la población general (0,5%). En la mayor parte de los casos la VCSI drena en el seno coronario para acabar posteriormente en la aurícula derecha. Menos frecuentemente drena en la aurícula izquierda o en las venas pulmonares dando origen a un *shunt* derecha izquierda. Cuando esta entidad no ha sido sospechada puede complicar el cateterismo cardíaco o la circulación extracorpórea durante la cirugía<sup>7</sup>. En aquellos casos en los que la VCSI drena al seno coronario, la inyección de contraste en una vena del brazo izquierdo opacifica el seno coronario y posteriormente la aurícula derecha<sup>8</sup>. También puede

sospechase la PVCSI al encontrar un seno coronario dilatado en el plano paraesternal eje largo.

## CONTRASTES QUE PASAN EL ÁRBOL PULMONAR

Un gran avance en el desarrollo de contrastes fue la introducción de la técnica de sonificación en la preparación de eco-contrastes<sup>9</sup>. El objeto de la sonificación es generar un gran número de microburbujas en una solución al aplicar sobre ésta los ultrasonidos. Este hecho puede provocar la creación de nuevas burbujas de aire, expansión de las que ya existían o rotura de las mismas con la creación de nuevas burbujas. La sonificación de la albúmina provoca la creación microburbujas encapsuladas estables de pequeño tamaño. Grinstaff y Suslick<sup>10</sup> demostraron que los radicales libres superóxido generados por calor producen durante la cavitación acústica residuos de óxido de cisteína entre las cadenas de albúmina. Estos puentes que se crean entre las cadenas de albúmina provocan la creación de unas burbujas de gas encapsulado, que le confieren a la burbuja estabilidad y un tamaño que permite su paso a través del árbol pulmonar.

## APLICACIÓN DE LOS CONTRASTES TRANSPULMONARES

### Ecocardiografía bidimensional

La limitación más importante en la aplicación diaria de la ecocardiografía bidimensional es la óptima visualización del borde endocárdico ventricular izquierdo. Una incorrecta visualización del endocardio de la pared lateral y del septo posterior no es un problema infrecuente. En algunas series, hasta el 10% de los enfermos tienen una incorrecta visualización del endocardio ventricular mediante ecocardiografía<sup>11</sup>. La primera consecuencia de este hecho es una valoración inadecuada de la contractilidad segmentaria, hecho especialmente acusado durante la ecocardiografía de estrés.

Existen dos formas por las que el contraste transpulmonar puede mejorar la definición del endocardio. En primer lugar, por una indirecta opacificación de las cavidades cardíacas (opacificación de la sangre intracavitaria) que provoca un efecto de contraste entre la sangre y el tejido con la consiguiente mejoría en la delineación del endocardio. Este hecho es más difícil en el eje corto paraesternal debido al efecto sombra provocado por la opacificación ventricular derecha. En segundo lugar, por la opacificación directa del miocardio.

Sin embargo, existen tres problemas fundamentales con este tipo de agentes de contraste. El primer problema es su poca estabilidad, por lo que su presencia

puede visualizarse tan sólo segundos. El segundo problema es que el grado de opacificación de la cavidad es proporcional a la calidad de la imagen, así que aquellos pacientes con mala señal acústica tendrán una peor opacificación de la cavidad por el contraste. El tercer problema es que durante la sístole, cuando el explorador necesita una mejor visualización del endocardio para una mejor valoración de la contractilidad segmentaria, existe una tendencia (al menos por la primera generación de estos contrastes), de desaparecer, por lo que también disminuye la opacificación de la cavidad<sup>12</sup>. Este hecho se debe probablemente a la destrucción de las microburbujas por el aumento de la presión intraventricular durante la sístole, o bien por una disminución del tamaño de la burbuja hasta convertirse en «no resonante», perdiendo su eco-reflectividad.

Albunex (Infuson en Europa) es uno de los agentes de contraste transpulmonares que ha demostrado ser útil y seguro para mejorar la detección del endocardio<sup>13,14</sup>. Este contraste se obtiene por la sonificación del 5% de seroalbúmina humana. Durante este proceso, se forman burbujas de aire con un diámetro de 3-5 µm y una cápsula de albúmina entre 40 y 70 nm. La solución preparada para su utilización contiene entre 300-500 millones de microesferas/ml. Tras la inyección por vía intravenosa, las microesferas son suficientemente pequeñas y estables para pasar a la circulación pulmonar. La vida plasmática media de este agente es menor de 1 min tras su inyección. Al ser isoosmolar y químicamente inerte, no tiene efectos secundarios en el flujo coronario y en la hemodinámica cardíaca.

En un estudio previamente publicado, se administró, a 30 enfermos con angina estable, Infuson en reposo y durante el pico máximo de dobutamina al realizarse un ecocardiograma de estrés<sup>15</sup>. El contraste mejoró la definición del endocardio tanto en reposo como en el estrés, especialmente en aquellas regiones de poca ecogenicidad, como la cara lateral y anterobasal. Más aún, la variabilidad interobservador mejoró significativamente en la interpretación de la movilidad segmentaria.

### Ecocardiografía Doppler

El contraste también aumenta las señales obtenidas con el Doppler debido a que añade nuevas partículas móviles en la sangre sobre las que se reflejan los ultrasonidos. El resultado final es una mejoría espectacular de todas las señales Doppler, incluyendo su modalidad pulsada, continua y Doppler color. A pesar de que frecuentemente parece que la velocidad de la señal Doppler es mayor con contraste que sin él, esto simplemente se debe a una visualización más completa de la onda de flujo obtenida con la inyección de contraste. La intensidad de la señal derivada del Doppler se co-

rrelaciona con la información derivada del reflejo ultrasónico de las microburbujas que llevan la misma velocidad que las células del torrente sanguíneo. Cuanto peor sea la señal obtenida basalmente, mayor será el beneficio de la potenciación de la señal obtenido con el contraste. Este hecho ha sido recientemente demostrado en un estudio realizado en pacientes con estenosis aórtica y buena calidad de la señal acústica, en quienes la inyección de contraste no mejoraba significativamente la valoración de la estenosis<sup>16</sup>. Por el contrario, en pacientes con pobre calidad de la señal Doppler basalmente, la inyección de contraste mejoraba de manera significativa la onda de flujo.

La aplicación clínica más útil de los medios de contraste en el estudio Doppler es probablemente en aquellos pacientes con estenosis aórtica. A menudo, en estos casos es difícil obtener una señal adecuada de Doppler espectral. Tras la inyección intravenosa de contraste, la curva de flujo suele obtenerse fácilmente, incluso en aquellos pacientes con mala señal acústica basal<sup>17</sup>. El flujo en las venas pulmonares puede obtenerse con la ventana transtorácica y mejorar, por tanto, la valoración de la regurgitación mitral. Existe un estudio en el que en el 92% de los pacientes en los que se había inyectado el contraste SHU 508 fue posible recoger el flujo en venas pulmonares frente al 27% en los que no se inyectó previamente contraste<sup>16</sup>.

De forma similar, el flujo de regurgitación tricúspide es mejorado cuando se inyecta contraste intravenoso, lo que ayuda a mejorar las estimaciones de la presión ventricular derecha realizadas con ecocardiografía transtorácica. Naturalmente, este objetivo puede lograrse con medios de contraste que no atraviesen el árbol pulmonar.

Debe destacarse que estas aplicaciones de los medios de contraste para potenciar las señales del Doppler son de limitada aplicación en la práctica clínica diaria, fundamentalmente por la mejoría sustancial que en los últimos años ha existido en la tecnología de los ecocardiógrafos que permiten una muy correcta valoración con Doppler en los pacientes. En la experiencia de los autores, las dos situaciones en las que la potenciación de la señal acústica lograda por el contraste es eficaz son la valoración de algunos pacientes con estenosis aórtica (especialmente ancianos) y en el cálculo de las presiones ventriculares derechas en sujetos con una insuficiencia tricúspide trivial. En este segundo caso, es especialmente útil en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en los que la estimación de las presiones pulmonares son importantes.

### Ecocardiografía de contraste miocárdico

La expectativa más importante de los contrastes transpulmonares es la potenciación directa de la señal

**TABLA 1**  
**Características del agente de contraste ideal**

- 
1. No tóxico y metabólicamente inerte
  2. Estable
  3. Diámetro entre 2 y 8  $\mu\text{m}$
  4. Que atraviese la circulación pulmonar y red capilar
  5. Resistente a la presión ventricular izquierda
  6. Que su reología intravascular sea similar a la de los glóbulos rojos
  7. Que no salga del espacio intravascular
  8. Que no posea ningún efecto en el flujo coronario, hemodinámica o función ventricular izquierda
  9. Deberá ser cuantificable y reproducible la relación entre las mediciones obtenidas con videodensitometría y la cantidad de trazador por unidad de tejido miocárdico
- 

miocárdica. Dado que el contraste es un trazador sanguíneo, que se distribuye proporcionalmente de acuerdo con la distribución del flujo sanguíneo, cuando alcanza el miocardio provoca un aumento de la señal acústica regional, que proporcionará información de la perfusión tanto del miocardio sano como enfermo. La ecocardiografía de contraste se ha empleado tras la inyección intraaórtica o intracoronaria para la valoración de defectos de perfusión<sup>18</sup>, zonas isquémicas en riesgo<sup>19</sup>, flujo coronario<sup>20</sup> y cálculo de la reserva coronaria<sup>21,22</sup>. En la **tabla 1** se exponen las características del agente de contraste ideal para la cuantificación de la perfusión miocárdica.

Recientemente hemos empleado un agente de contraste nuevo en nuestro laboratorio, Echogen (Sonus Pharmaceutical-Abbott Laboratories, EE.UU.), para la valoración de la delineación del endocardio y la detección de la perfusión miocárdica tras su administración intravenosa. Echogen es una emulsión líquido-líquido que contiene dodecafluoropentano (DDFP), que tiene un punto de ebullición mucho más bajo que la temperatura del cuerpo (28,5 °C). La dispersión de esta emulsión contiene burbujas de un diámetro aproximado de 0,3  $\mu\text{m}$ . Tras la administración intravenosa, la dispersión de la emulsión provoca su activación y la aparición de microburbujas de DDFP de un diámetro entre 2 y 3  $\mu\text{m}$  que provocan una gran reflectividad durante el estudio ecocardiográfico. Las microburbujas de DDFP permanecen en el torrente sanguíneo mucho más tiempo que otras burbujas de aire, dióxido de carbono u otros gases de tamaño similar. Además, este agente no se metaboliza sino que se expulsa por la respiración prácticamente inalterado.

Se administró Echogen intravenoso en 22 voluntarios sanos con objeto de valorar la opacificación del miocardio<sup>23</sup>. Se valoró siempre la ventana paraesternal eje corto. La opacificación del ventrículo izquierdo y la delineación del endocardio se consideraron útiles desde el punto de vista diagnóstico en 21 pacientes

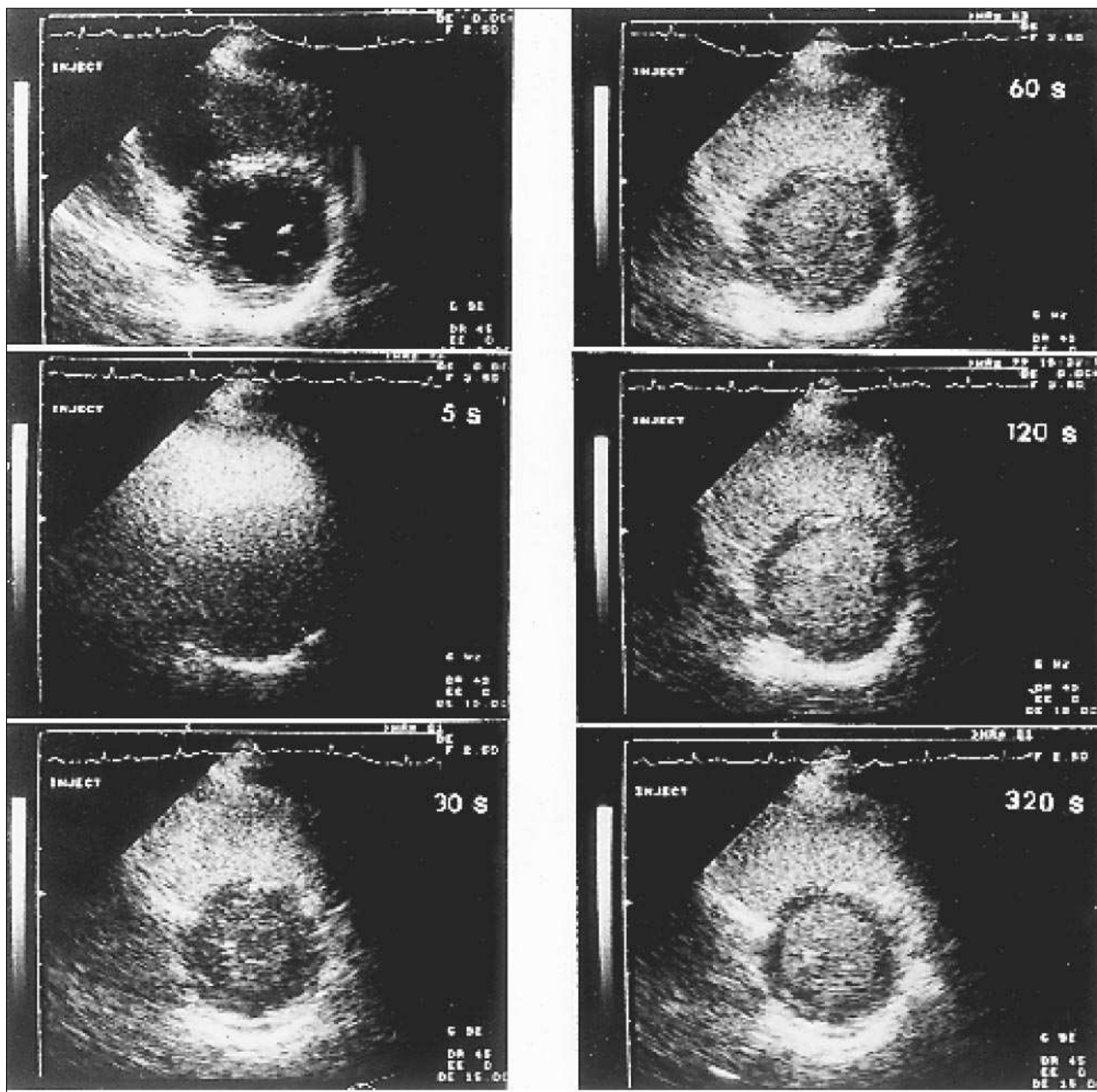


Fig. 1. Planos seriados obtenidos en el eje corto antes (superior) y después de la inyección de Echogen. Durante la diástole existe una progresiva opacificación de la cavidad ventricular. El borde endocárdico es manifiesto y existe una mejoría en la visualización del miocardio, documentándose claramente con videodensitometría. La duración del aumento de la señal acústica provocada por el contraste comienza a los 5 s de la infusión y dura hasta los 320 s.

(95,5 %) (fig. 1). Sin embargo, el aspecto más importante fue la valoración de la perfusión miocárdica analizada mediante videodensitometría. No existieron efectos secundarios.

En 13 sujetos (59%) se logró detectar el agente contraste en el miocardio mediante estimación visual durante  $133 \pm 81$  s. Este hecho se confirmó con videodensitometría en los primeros 7 pacientes. La opacificación del miocardio se cuantificó con la videodensitometría basada en un escala de 256 grises (GSU). La

intensidad de la escala de grises se midió en el septo anterior y cara inferior de cada sujeto antes y en el pico máximo de concentración de contraste intramio-cárdico. El porcentaje de aumento de la señal acústica en cada segmento se calculó como la diferencia entre la intensidad de grises «máxima» y la de antes de la inyección normalizada por 100. La densidad en el septo aumentó en un 35,9% (de 65,3 a 88 GSU;  $p < 0,1$ ) y en la cara inferior en un 34,6% (de 63,1 a 85 GSU;  $p < 0,1$ ).

Podemos especular que el flujo coronario puede analizarse con el empleo de este fármaco, comparando, como sugiere Skyba<sup>24</sup>, las intensidades del contraste en las diferentes paredes ventriculares. Sin embargo, esta perspectiva debe ser todavía investigada debido a que el efecto miocárdico del contraste está influido por factores físicos, relacionados con el propio contraste, el flujo coronario, el volumen sanguíneo intramiocárdico y la presión intracoronaria<sup>25</sup>. La intensidad del contraste intramiocárdico está también regionalmente afectada por la cantidad (masa) de agente inyectado<sup>26,27</sup>.

## NUEVAS TECNOLOGÍAS

A pesar del desarrollo de nuevos medios de contraste con mayor estabilidad y vida media, sigue siendo difícil demostrar la perfusión miocárdica con el empleo de las técnicas ecocardiográficas convencionales. Por ello, se han realizado intentos con objeto de desarrollar nuevas tecnologías que permitan mejorar la sensibilidad en la detección de pequeñas cantidades de contraste en el miocardio.

Actualmente, la mayor parte de estas nuevas tecnologías han utilizado las propiedades físicas de algunos medios de contraste por las cuales, cuando las microburbujas reciben un haz de ultrasonido, absorben una cantidad de energía que es de nuevo reemitida en armónicos de esta frecuencia absorbida (especialmente en el segundo armónico)<sup>28,29</sup>. Separando la información generada por el tejido de la generada por el contraste se logra una mejor visualización del contraste en el interior del miocardio. El desarrollo de la tecnología del segundo armónico permite la detección de muy pequeñas cantidades de contraste en el miocardio después de su inyección intravenosa. Estos transductores capaces de emitir en una frecuencia determinada y recibirla al doble de la frecuencia emitida (segundo armónico) pueden ser incorporados a los ecocardiógrafos habituales y de hecho ya están disponibles en el mercado.

Estudios recientes han demostrado que existe una destrucción de las microburbujas de contraste una vez son expuestas al haz de ultrasonidos. Este hecho limita de algún modo el potencial del contraste a la hora de detectar perfusión miocárdica. Con objeto de limitar o reducir este fenómeno, se ha tratado de disminuir la potencia emisora de ultrasonido de los transductores aunque se disminuya la resolución espacial del ultrasonido. También con este fin, se está trabajando con una disminución de la exposición del tiempo de emisión del ultrasonido, emitiéndose el haz de forma intermitente y no de forma continua como hasta ahora ocurre<sup>30</sup>. Esto significa que tan sólo una imagen ecocardiográfica se genera en cada ciclo cardíaco en contraposición a lo que actualmente se hace: en cada segundo se obtienen aproximadamente 30 imágenes

ecocardiográficas (30 frames/s). Utilizando una emisión intermitente de los ultrasonidos se ha logrado una mejoría importante en la detección de la perfusión miocárdica dado que se reduce considerablemente la destrucción de las microburbujas provocada por el propio ultrasonido y además aquellas burbujas que se destruyen son reemplazadas antes de que se genere la siguiente imagen ecocardiográfica.

Los campos en los que el empleo de contraste intravenoso parecen prometedores son la valoración de las oclusiones coronarias agudas, los procedimientos de repercusión, el estudio de la viabilidad miocárdica y la valoración de la circulación colateral o estado de puentes aortocoronarios.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Gramiak R, Shah PM. Echocardiography of the aortic root. *Invest Radiol* 1968; 3: 356-388.
2. De Jong N. Basic Principles of ultrasound contrast agents. En: De Jong N, editores. *Acoustic Properties of Ultrasound Contrast Agents*. Woerden, Holanda: Zuidam and Zonen, 1993; 17-36.
3. Hagen PT, Scholz DG, Edwards WD. Incidence and size of patent foramen ovale during the first 10 decades of life: an autopsy study of 965 normal hearts. *Mayo Clin Proc* 1984; 59: 17-20.
4. Webster MWI, Smith HJ, Sharpe DN, Chancellor AM, Swift DL, Bass NM et al. Patent foramen ovale in young stroke patients. *Lancet* 1988; 2: 11-12.
5. Lechat P, Mas JL, Lascault G, Loron P, Theard M, Klimczak M et al. Prevalence of patent foramen ovale in patients with stroke. *N Engl J Med* 1988; 318: 1.148-1.152.
6. Hausmann D, Mugge A, Becht I, Daniel WG. Diagnosis of patent foramen ovale by transoesophageal echocardiography and association with cerebral and peripheral embolic events. *Am J Cardiol* 1992; 70: 668-672.
7. Frank CG, Maloney JV. Surgical significance of congenital anomalies of the coronary sinus. *J Cardiovasc Surg* 1968; 9: 420-427.
8. Cohen BE, Winer HE, Kronzon I. Echocardiographic findings in patients with left superior vena cava and dilated coronary sinus. *Am J Cardiol* 1979; 44: 158-161.
9. Feinstein SB, Ten Cate FJ, 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.
10. Grinstaff MW, Suslick KS. Air-filled proteinaceous microbubbles: synthesis of an echo contrast agent. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 7.708-7.710.
11. Erbel R, Schweizer P, Meyer J, Krebs W, Yalkinoglu O, Effert S. Sensitivity of cross-sectional echocardiography in detection of impaired global and regional left ventricular function: prospective study. *Int J Cardiol* 1985; 7: 375-389.
12. Shapiro JR, Reisner SA, Lichtenberg GS, Meltzer RS. Intravenous contrast echocardiography with use of sonicated albumin in humans: systolic disappearance of left ventricular contrast after transpulmonary transmission. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 1.603-1.607.
13. Feinstein SB, Cheirif J, Ten Cate FJ, Silverman PR, Heidenreich PA, Dick C et al. Safety and efficacy of a new transpulmonary ultrasound contrast agent: initial multicenter clinical results. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 316-324.
14. Crouse LJ, Cheirif J, Hanly DE, Kisslo JA, Labovitz AJ, Raichlen JS et al. Opacification and border delineation improvement in patients with suboptimal endocardial border definition in routine

- echocardiography: results of phase III Alunex multicenter trial. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 1.494-1.500.
15. Ikonomidis I, Holmes E, Nihoyannopoulos P. Assessment of left ventricular wall motion after intravenous injection of Alunex during dobutamine stress echocardiography [resumen]. *Circulation* 1995; 92 (Supl 1): 477.
  16. Von Bibra H, Sutherland G, Becher H, Neudert J, Nihoyannopoulos P. Clinical usefulness of left heart Doppler contrast enhancement by saccharidebased transpulmonary contrast agent. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 500-508.
  17. Nakatani S, Imanishi T, Terasawa A, Beppu S, Nagata S, Miyatake K. Clinical application of transpulmonary contrast-enhanced Doppler technique in the assessment of severity of aortic stenosis. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20: 973-978.
  18. Tei C, Sakamaki T, Shah PM, Meerbaums S, Shimoura K, Kondo S et al. Myocardial contrast echocardiography: a reproducible technique of myocardial opacification for identifying regional perfusion deficits. *Circulation* 1983; 67: 585-593.
  19. Kaul S, Pandian NG, Okada RD, Pohost GM, Weyman AE. Contrast echocardiography in acute myocardial ischaemia. I. In vivo determination of total left ventricular «area at risk». *J Am Coll Cardiol* 1984; 4: 1.272-1.282.
  20. Tei C, Kondo S, Meerbaum S, Ong K, Mauer G, Wood F et al. Correlation of myocardial echo contrast disappearance rate («washout») and severity of experimental coronary stenosis. *J Am Coll Cardiol* 1984; 3: 39-46.
  21. Kemper AJ, Force T, Kloner R, Gilfoil M, Perkins L, Hale S et al. Contrast echocardiographic estimation of regional myocardial blood flow after acute coronary occlusion. *Circulation* 1985; 72: 1.115-1.124.
  22. Keller MW, Glasheen W, Smucker ML, Burwell LR, Watson DD, Kaul S. Myocardial contrast echocardiography in humans. II. Assessment of coronary flow reserve. *J Am Coll Cardiol* 1988; 12: 925-934.
  23. Nihoyannopoulos P, Rallidis L, Correias J-M, Quay SC. Myocardial enhancement following peripheral intravenous injection of activated QW3600 (Echogen) in normal human volunteers. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27 (Supl A): 378A.
  24. Skyba DM, Jayaweera AR, Goodman NC, Ismail S, Camarano G, Kaul S. Quantification of myocardial perfusion with myocardial contrast echocardiography during left atrial injection of contrast. Implication for venous injection. *Circulation* 1994; 90: 1.513-1.521.
  25. Rovai D, DeMaria AN, L'Abbate A. Myocardial contrast echo effect: the dilemma of coronary blood flow and volume. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 12-17.
  26. Madaras EI, Perez J, Sobel BE, Mottley JG, Miller JG. Anisotropy of the ultrasonic backscatter of myocardial tissue. II. Measurements in vivo. *J Acoust Soc Am* 1988; 83: 762-769.
  27. Powsner SM, Keller MW, Saniie J, Feinstein SB. Quantitation of echocontrast effect. *Am J Physiol Imaging* 1986; 1: 124-128.
  28. Scope BA, Newhouse VL. Second harmonic ultrasonic blood perfusion measurement. *Ultrasound Med Biol* 1993; 19: 567.
  29. Mulvagh SL, Foley DA, Aeschbacher BC, Klarich KK, Seward JB. Second harmonic imaging of an intravenously administered echocardiographic contrast agent: visualisation of coronary arteries and measurement of coronary blood flow. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 1.519-1.525.
  30. Porter TR, Xie F. Transient myocardial contrast after initial exposure to diagnostic ultrasound pressure with minute dose of intravenously injected microbubbles. Demonstration and potential mechanisms. *Circulation* 1995; 92: 2.391-2.395.