

Ultrassom e Microbolhas na Recanalização de Artérias Coronarianas no Infarto Agudo do Miocárdio

Ultrasound and Microbubbles for Coronary Artery Recanalization in Acute Myocardial Infarction

Bruno Garcia Tavares^{1,2}, Jeane Mike Tsutsui^{1,2}, Miguel Osman Aguiar^{1,2}, Diego Ribeiro Garcia^{1,2}, Múcio Tavares Oliveira¹, Alexandre Soeiro¹, Pedro A Lemos-Neto¹, Roberto Kalil-Filho¹, Thomas Richard Porter³, Wilson Mathias-Jr^{1,2}
Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo¹, São Paulo, SP; Grupo Fleury² - Brasil; Universidade de Nebraska Medical Center³, Omaha - EUA

Resumo

Fundamento: Microbolhas intravenosas (MB) e ultrassom (US) têm sido utilizados para recanalizar vasos epicárdicos em modelos animais de infarto agudo do miocárdio com supradesnívelamento do segmento ST (IAM-SST). Nenhum estudo prévio demonstrando o valor dessa técnica foi realizado em humanos.

Objetivo: Estudo piloto realizado com o objetivo de avaliar a eficácia da utilização de MB e US (sonotrombólise) sobre as taxas iniciais de recanalização de artérias coronarianas em pacientes com IAM-SST.

Método: Estudamos 24 pacientes (18 homens, média etária de 58 ± 9 anos) que deram entrada no serviço de emergência com IAM-SST. Pacientes foram randomizados em um dos três grupos: MB + US especificamente desenvolvido para este protocolo, com duração de pulso 4-20 useg e índice mecânico (IM) >1.0 ($n = 7$), MB + US com impulsos repetitivos de alto IM (1.0), com duração de pulso < 2 useg ($n = 8$), ou grupo controle ($n = 9$) que recebeu MB + US apenas para analisar a perfusão dentro da área de risco. As MB utilizadas no estudo consistiam em solução de Definity 3%. Todos os pacientes foram submetidos a intervenção coronariana percutânea (ICP).

Resultados: As médias dos tempos porta-balão foram 76 ± 35 minutos no grupo MB + US 4-20 useg, 70 ± 20 minutos no grupo MB + US impulsos repetitivos e 81 ± 13 minutos no grupo controle ($p = NS$). Recanalização angiográfica antes da angioplastia foi observada em 75% dos pacientes tratados com MB + US impulsos repetitivos, em 43% no grupo tratado com MB + US 4-20 useg e em 11% do grupo controle ($p = < 0,05$).

Conclusão: Utilização de MB e US com impulsos repetitivos pode ser um método para recanalização precoce de artérias epicárdicas em pacientes com IAM-SST. (Arq Bras Cardiol: Imagem cardiovasc. 2016;29(3):92-98)

Palavras-chave: Infarto do Miocárdio; Ultrassonografia; Microbolhas; Terapia Trombolítica.

Summary

Background: Intravenous microbubbles (MB) and transthoracic ultrasound (US) have been utilized to recanalize epicardial vessels in animal models of ST segment elevation myocardial infarction (STEMI). The feasibility of such an ultrasound-guided approach in humans with STEMI have not been studied.

Objective: Pilot study with the aim to evaluate the efficacy of MB plus US on coronary artery recanalization rate in patients with STEMI.

Methods: Twenty-four patients (18 men, mean age 58 ± 9 years) admitted to the emergency room with STEMI were randomized into 3 groups. Patients either received MB plus custom designed high mechanical index (MI) impulses at 4-20 usec pulse duration ($n = 7$), MB plus diagnostic high MI (MI = 1.0) with multiple impulses < 2 usec pulse duration ($n = 8$) or MB plus limited diagnostic high MI impulses (< 5) just to analyze myocardial perfusion, control group ($n = 9$). MB utilized in the study consisted of a solution of Definity 3%. All randomized groups underwent emergent PCI.

Results: The mean door-to-balloon time were 76 ± 35 minutes in group US 4-20 usec, 70 ± 20 minutes in group US multiple impulses and 81 ± 13 minutes in control group ($p = NS$). Angiographic recanalization before PCI was observed in 75% of patients treated with US multiple impulses, in 43% for US 4-20 usec and 11% in control ($p = < 0.05$).

Conclusion: Utilization of MB and diagnostic US with multiple impulses may be a method of achieving early recanalization in acute STEMI. (Arq Bras Cardiol: Imagem cardiovasc. 2016;29(3):92-98)

Keywords: Myocardial Infarction; Ultrasonography; Microbubbles; Thrombolytic Therapy.

Full texts in English - <http://departamentos.cardiol.br/dic/publicacoes/revistadic/>

Correspondência: Jeane Mike Tsutsui •

Instituto do Coração (InCor)- HCFMUSP

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44. CEP 05403-000, São Paulo, SP - Brasil

E-mail: jeane.tsutsui@incor.usp.br

Artigo recebido em 24/04/2016; revisado em 05/05/2016; aceito em 09/06/2016.

DOI: 10.5935/2318-8219.20160024

Introdução

Microbolhas de gás são pequenas microesferas carregadas com um gás que apresentam propriedades acústicas específicas que as tornam muito úteis como agentes de contraste ultrassonográfico para diagnóstico por imagem. A ecocardiografia contrastada diagnóstica, baseada na utilização de ultrassom e microbolhas, vem sendo utilizada para melhora de bordas endocárdicas e análise de perfusão miocárdica.^{1,2} A aplicação de pulsos com alto índice mecânico (IM) por meio de transdutores diagnósticos pode resultar em cavitação de microbolhas e permitir a análise do reenchimento do contraste do miocárdio, facilitando a avaliação da perfusão miocárdica.³⁻⁶ Adicionalmente, a destruição de microbolhas mediada por ultrassom pode ter aplicações terapêuticas, como liberação de drogas em locais específicos ou para acelerar a dissolução de trombos, também chamada de sonotrombólise.

As terapias atuais de recanalização em paciente com infarto agudo do miocárdio com supradesnivelamento do segmento ST (IAM-SST) incluem trombólise farmacológica e intervenção coronariana percutânea (ICP), ambas com melhora comprovada de prognóstico em pacientes com IAM-SST.^{7,8} Entretanto, cada uma dessas terapias apresenta limitações significantes na prática clínica. Demora no tempo entre a entrada e a dilatação arterial ainda existe mesmo em países desenvolvidos, durante a qual pode ocorrer necrose miocárdica. Esse problema é ainda maior em países em desenvolvimento, onde o acesso à ICP primária ou mesmo à terapia lítica é comprometido. Nesse contexto, a aplicação de ultrassom e microbolhas em pacientes com IAM-SST pode ser um tratamento bastante promissor. Em estudos pré-clínicos realizados com porcos observou-se que durante uma infusão intravenosa contínua de microbolhas contendo perfluorocarbonos a energia ultrassônica emitida por um transdutor de ultrassom diagnóstico foi capaz de restaurar o fluxo da microcirculação e melhorar as taxas de recanalização em modelos experimentais de oclusões trombóticas agudas de artérias coronarianas.^{9,10}

O objetivo deste estudo piloto foi avaliar a eficácia de microbolhas e ultrassom sobre as taxas iniciais de recanalização da artéria coronariana em pacientes com IAM-SST.

Método

População de estudo

Pacientes que chegaram no departamento de emergência com dor torácica e evidência de IAM-SST ao eletrocardiograma de 12 derivações (ECG) foram convidados a participar do estudo. Os critérios de inclusão foram: idade \geq 18 anos; elegibilidade para angioplastia coronariana percutânea de emergência; imagem ecocardiográfica apical e/ou paraesternal adequada e nenhuma contraindicação conhecida ou suspeita a agente de contraste ultrassonográfico usado no estudo. Os critérios de exclusão foram: choque cardiogênico; expectativa de vida inferior a dois meses ou pacientes em estado terminal; história de infarto do miocárdio prévio ou cardiopatia grave definida como insuficiência

cardíaca com fração de ejeção $<$ 40% em avaliação prévia; valvopatia com importante repercussão hemodinâmica; diátese hemorrágica conhecida ou contraindicação aos inibidores da glicoproteína 2b/3a, anticoagulantes ou aspirina; conhecido *shunt* direita/esquerda ou hipertensão pulmonar grave; mulheres em idade fértil. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Institucional (CAPPesq 342.799) e todos os pacientes ou seus familiares assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Protocolo de estudo

Os pacientes foram randomizados em três grupos (Figura 1):

- Grupo microbolhas mais IM alto 4-20 useg: pacientes receberam ultrassom especificamente desenvolvido para este protocolo com transdutor da Philips de 1,7 MHz-S5/1, imagem com índice mecânico (IM) $>$ 1.0 e duração pulso 4-20 useg, aplicado dentro da área de risco durante infusão contínua de microbolhas (Definity® 3%, Lantheus Medical Imaging);

- Grupo microbolhas mais IM alto múltiplos impulsos: pacientes receberam ultrassom diagnóstico com impulsos repetidos, com 15 quadros cada, de alto IM ($>$ 1.0) e curta duração (2 useg), aplicado dentro e fora da área de risco durante infusão contínua de microbolhas (Definity® 3%);

Os exames ecocardiográficos foram realizados com equipamento IE 33 – Philips Medical Systems. Em ambos os grupos a imagem de perfusão em tempo real com IM baixo foi utilizada para avaliar microbolhas na microvasculatura. Todos os pacientes receberam terapia antes e imediatamente após ICP por um período total de 50 a 60 minutos. A sonotrombólise era feita enquanto o paciente aguardava para ser levado à sala de hemodinâmica, sem atraso no tempo porta-balão devido ao protocolo de estudo.

- Grupo controle: receberam microbolhas (Definity 3%) e imagem de perfusão em tempo real com IM baixo apenas para analisar a perfusão dentro da área de risco em intervalos determinados. Todos os pacientes do grupo controle também foram submetidos a ICP.

As imagens ecocardiográficas de perfusão miocárdica foram adquiridas nos planos apical quatro e duas câmaras e apical longitudinal, com software específico de imagem com perfusão miocárdica em tempo real. As imagens foram ajustadas para minimizar os artefatos em decorrência da mobilidade cardíaca e incluíram: IM baixo (usualmente 0,2), frequência de repetição de pulsos em torno de 25 Hz e densidade de linha máxima selecionados para se obter nítida opacificação miocárdica. Uma sequência de pulsos ultrassônicos com utilização de IM maior que 1,0 (impulso) foi manualmente disparada no pico de intensidade do contraste para destruir microbolhas dentro do miocárdio. Na sequência foram capturadas as imagens com baixo IM por pelo menos 15 ciclos cardíacos consecutivos para permitir o posterior reenchimento miocárdico.

Análise ecocardiográfica e angiográfica

A fração de ejeção e volumes diastólico final e sistólico final do ventrículo esquerdo foram calculados usando a regra

de Simpson. O índice de escore de motilidade segmentar foi calculado pelo somatório dos escores de motilidade dado a cada um dos segmentos do ventrículo esquerdo (1 = normal, 2 = hipocinesia, 3 = acinesia e 4 = discinesia) dividido pelo número de segmentos avaliados. O índice de perfusão miocárdica foi calculado como o somatório dos escores de perfusão miocárdica dado a cada um dos segmentos do ventrículo esquerdo (1 = perfusão normal, 2 = hipoperfusão e 3 = ausência de perfusão) dividido pelo número de segmentos avaliados.

A angiografia coronariana foi realizada seguindo protocolo convencional e a patência arterial foi determinada pela análise do fluxo no vaso relacionado ao infarto, antes da angioplastia. Foram definidos como artéria ocluída os casos com TIMI 0 ou 1 e como artéria aberta os casos com TIMI 2 ou 3.

As análises angiográficas e ecocardiográficas foram realizadas por cardiologista intervencionista e ecocardiografista experientes e que não tinham conhecimento da randomização do estudo.

Análise estatística

Os dados são descritos como média \pm desvio padrão para as variáveis com distribuição normal e como percentual para as variáveis qualitativas. As comparações entre o tempo porta-balão, duração da dor precordial e as taxas de recanalização obtidas imediatamente antes da angioplastia, entre os três grupos de estudo, foram realizadas utilizando o método ANOVA. Um valor $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Resultados

No período de 1 ano, um total de 24 pacientes (média etária de 58 ± 9 anos) que deu entrada no Serviço de Emergência com IAM-SST foi avaliado. Desses, 75% eram do sexo masculino, 62% eram tabagistas, 50% tinham antecedentes de dislipidemia, 50% eram hipertensos e 38% eram diabéticos. Os pacientes foram randomizados para os seguintes grupos: 7 pacientes no grupo IM alto 4-20 μ seg, 8 pacientes no grupo IM alto com múltiplos impulsos e 9 pacientes no grupo controle. Não houve diferença no tempo de duração da dor precordial dos três grupos, assim como nenhum atraso no tempo porta-balão foi observado nos três grupos (Tabela 1).

Os dados de avaliação ecocardiográfica dos pacientes estudados estão descritos na Tabela 2.

A taxa de recanalização angiográfica no início da angiografia (antes da realização de ICP) foi de 6 em 8 pacientes (75%) no grupo que recebeu microbolhas e ultrassom com IM alto e múltiplos impulsos, de 3 em 7 pacientes (43%) no grupo que recebeu microbolhas e ultrassom com IM alto e duração de pulso de 4-20 μ seg, e de 1 em 9 pacientes (11%) no grupo controle ($p < 0,05$), como ilustrado na Figura 2.

Descrevemos exemplo de paciente de 57 anos, sexo masculino, com antecedentes de tabagismo (40 cigarros/dia) e dislipidemia; deu entrada no departamento de emergência com quadro de dor precordial de intensidade 9 (0-10), irradiada para braço esquerdo, com duração de 1h30min. O ECG de entrada demonstrava supradesnivelamento de segmento ST em parede lateral (Figura 3A). O paciente assinou o termo de consentimento livre e esclarecido, realizou ecocardiograma com perfusão que demonstrou acinesia em parede inferior e septal associado a defeito de perfusão miocárdica (Figura 4A). O paciente foi submetido a tratamento com Definity® por via endovenosa periférica e a ultrassom com IM alto com múltiplos impulsos por um período de 15 minutos, enquanto aguardava a ICP. Na sala de hemodinâmica, antes da realização da angiografia coronariana, o paciente apresentou melhora da dor precordial e discreta redução do supradesnivelamento do segmento ST ao ECG (Figura 3B). A angiografia mostrou artéria coronariana direita com lesão suboclusiva com trombo, recanalizada (fluxo TIMI 3, Figura 5A). O paciente foi submetido a implante de stent intracoronariano (Figura 5B). Após angioplastia, o paciente permaneceu em tratamento com sonotrombólise até completar o tratamento. No ecocardiograma pós-tratamento observamos melhora da perfusão miocárdica na área infartada e manutenção da alteração de contratilidade segmentar (Figura 4B), com diminuição discreta da função global do ventrículo esquerdo (fração de ejeção 55%).

Discussão

Atualmente, o principal alvo terapêutico no IAM-SST tem sido a recanalização epicárdica. Apesar de a ICP ser a primeira opção de escolha para o tratamento dos pacientes com IAM-SST, no Brasil, apenas um pequeno número de pacientes tem acesso a essa modalidade terapêutica. Mesmo assim, nos pacientes em que a recanalização epicárdica é bem-sucedida por meio de ICP de urgência, a microvasculatura distal ao vaso ocluído permanece fechada, resultando em significativa necrose miocárdica em até 65% dos pacientes.^{11,12}

Tabela 1 – Duração de dor torácica e tempo porta-balão nos três grupos

	Tempo porta-balão (minutos)	Duração dor precordial (horas)
IM alto 4-20 useg (n = 7)	76 \pm 35	3:28
IM alto múltiplos impulsos (n = 8)	70 \pm 20	3:30
Controle (n = 9)	81 \pm 13	3:25
p	ns	ns

Tabela 2 – Características ecocardiográficas da função ventricular esquerda

Grupo	FEVE (%)	VDFVE (mL)	VSFVE (mL)	IEMS	IPM	Número de segmentos com defeito perfusão
Controle	49	93	47,5	2	2	9
Controle	48	125	65	2,23	2,29	15
Controle	34	180	118	2,7	2,56	16
Controle	42	71	41	2,05	2	11
Controle	25	142	107	2,35	2,29	14
Controle	49	65	33	1,64	1,41	7
Controle	32	144	108	2,47	2,29	15
Controle	39	80	49	2,11	2	12
Controle	41	83	49	1,94	1,93	9
IM alto 4-20 µseg	36	135	87	2,17	2,05	11
IM alto 4-20 µseg	47	74	39,5	2,05	1,88	9
IM alto 4-20 µseg	55	84	38	1,76	1,12	2
IM alto 4-20 µseg	57	80	34,5	1,7	1,41	6
IM alto 4-20 µseg	54	87	40	1,41	1,41	7
IM alto 4-20 µseg	46	48	26	2,05	1,82	9
IM alto 4-20 µseg	64	106	38	1,17	1,23	4
IM alto múltiplos impulsos	41	113	67	1,76	2,17	12
IM alto múltiplos impulsos	41	92	54	2,05	1,86	7
IM alto múltiplos impulsos	35	156	141	2,35	2,23	14
IM alto múltiplos impulsos	35	103	67	2,05	2,16	12
IM alto múltiplos impulsos	43	120	68	2,41	2,37	13
IM alto múltiplos impulsos	57	90	39	1,23	1,47	5
IM alto múltiplos impulsos	63	46	17	1,23	1,17	3
IM alto múltiplos impulsos	62	60	23	1,17	1,17	3

FEVE: fração de ejeção do ventrículo esquerdo; VDFVE: volume diastólico final do ventrículo esquerdo; VSFVE: volume sistólico final do ventrículo esquerdo; IEMS: índice de escore de motilidade segmentar; IPM: índice de perfusão miocárdica.

O ultrassom transtorácico com alta energia tem sido estudado como um tratamento adjuvante aos fibrinolíticos no tratamento de trombos arteriais, bem como um método isolado no tratamento de trombos vasculares.¹³⁻¹⁷ Um mecanismo proposto de como o ultrassom dissolve o trombo é induzindo cavitação.^{18,19} A cavitação é a geração ultrassônica dos corpos de gases que se expandem e retraem. Isso leva a forças de cisalhamento, que perturbam o meio e têm o potencial de romper trombos.

Aplicação futura

A demonstração de que o uso de microbolhas, originalmente empregadas para fins de diagnóstico por ultrassom, também tem efeito na restauração do fluxo da coronária epicárdica e da microcirculação acometidas no IAM-SST terá um impacto drástico sobre a forma como são manuseados os pacientes na fase inicial do tratamento. Em razão da ampla disponibilidade e segurança do ultrassom e das microbolhas, a terapia para restauração do fluxo sanguíneo poderia ser iniciada em unidades de atendimento primárias e em ambulâncias por técnicos qualificados, tão logo

o diagnóstico de IAM-SST fosse estabelecido. Isso implicaria a diminuição de perdas significativas da musculatura cardíaca que ocorrem durante a espera para a realização da angioplastia primária de emergência de forma segura, além da redução de complicações futuras ao paciente como desenvolvimento de insuficiência cardíaca e arritmias complexas.

Limitações

Trata-se de estudo piloto e resultados em maior número de pacientes, assim como análise de demais parâmetros de perfusão miocárdica para definição de impacto na microvasculatura ainda serão necessários.

Conclusão

Neste estudo piloto demonstramos que a utilização de microbolhas e ultrassom em pacientes com IAM-SST é exequível em serviço de emergência. As forças de radiação acústica geradas pelos impulsos repetidos de US diagnóstico de alto IM aplicados

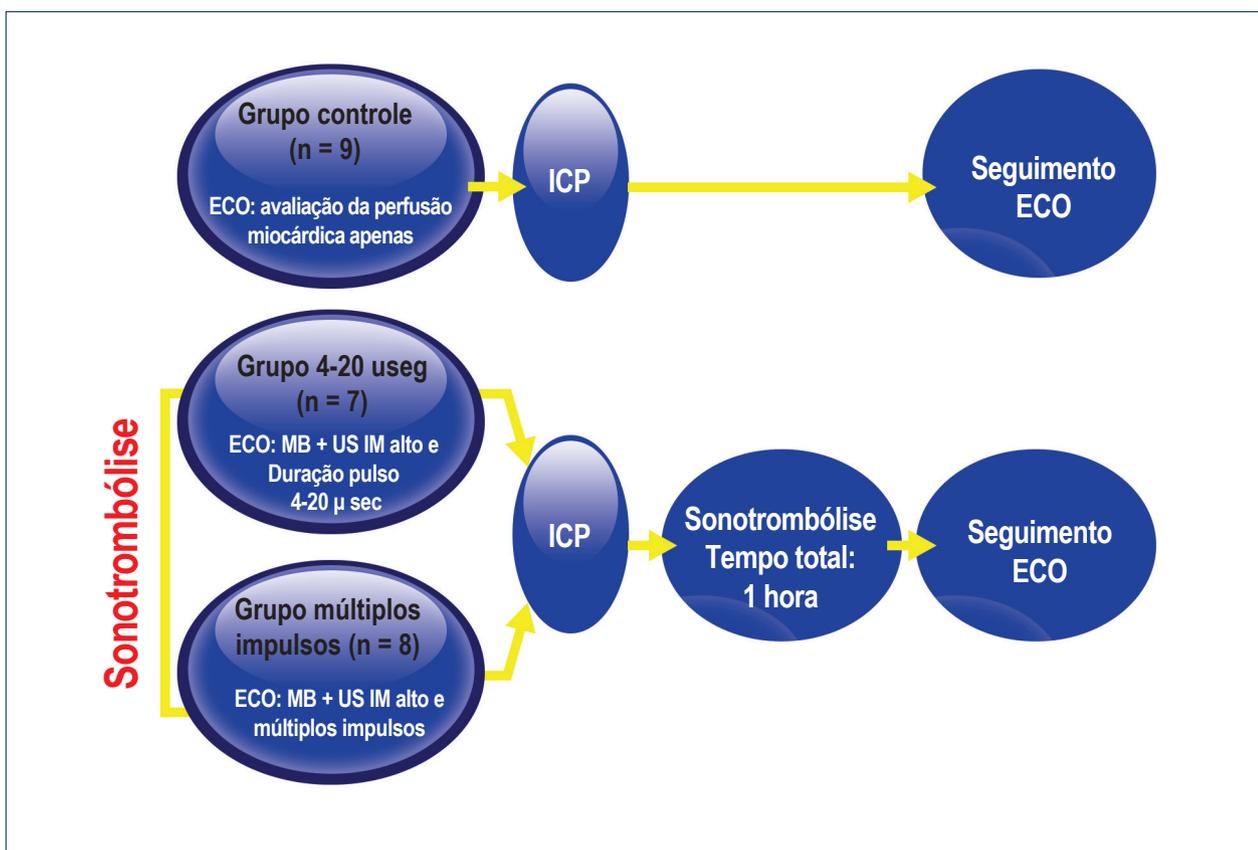


Figura 1 – Fluxograma demonstrando a randomização dos três grupos. MB: microbolhas; US: ultrassom; IM: índice mecânico; ICP: intervenção coronariana percutânea.

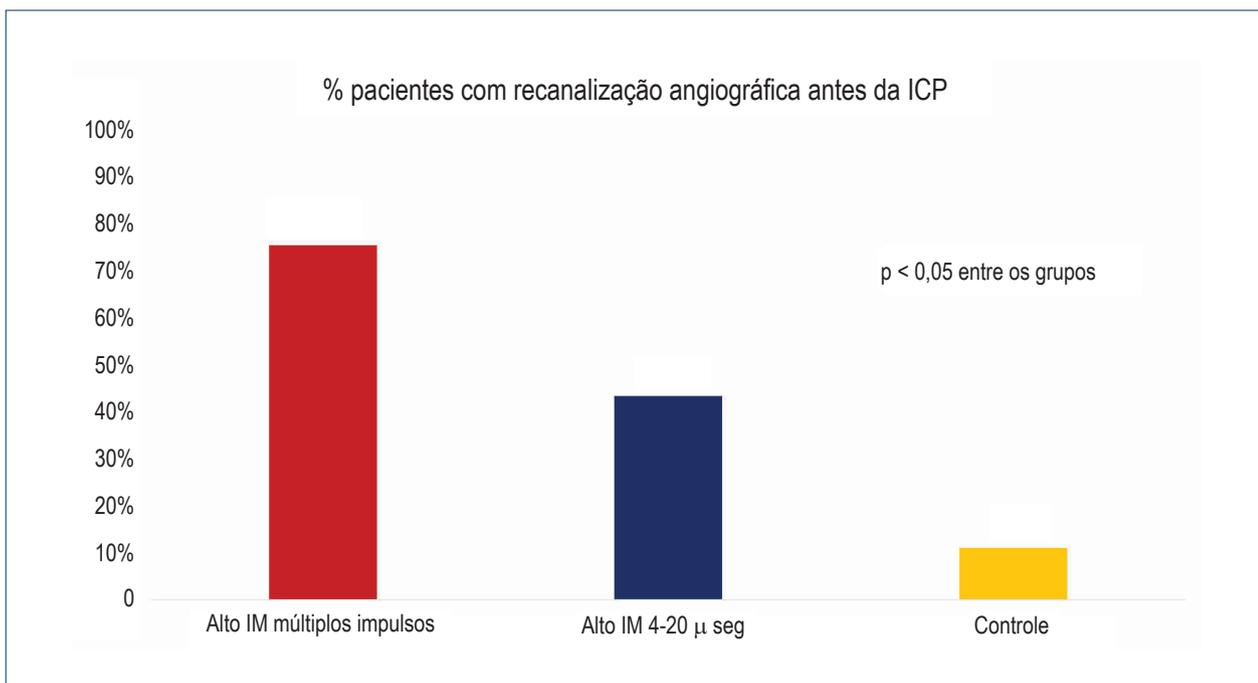


Figura 2 – Taxa de recanalização angiográfica observada antes na angiografia inicial, antes da intervenção coronariana percutânea (ICP) nos três grupos do estudo.

no miocárdio podem ser um método para recanalização precoce de artérias epicárdicas em pacientes com IAM-SST.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Tsutsui JM, Kalil-Filho R, Porter TR, Mathias-Jr W; Obtenção de dados: Tavares BC, Aguiar MO, Garcia DR, Soeiro A; Análise e interpretação dos dados: Tavares BC, Aguiar MO, Garcia DR, Lemos-Neto PA; Análise estatística: Tsutsui JM; Obtenção de financiamento: Porter TR, Mathias-Jr W; Redação do manuscrito: Tavares BC, Soeiro A, Lemos-Neto PA; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Tsutsui JM, Kalil-Filho R, Porter TR, Mathias-Jr W; Acompanhamento clínico dos pacientes com infarto agudo do miocárdio: Oliveira MT.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado por Fapesp – Fundação de apoio à pesquisa do estado de São Paulo (projeto 2010/52114-1)

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de doutorado (mestrado, doutorado, livre-docência) de Bruno Garcia Tavares no Instituto do Coração – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

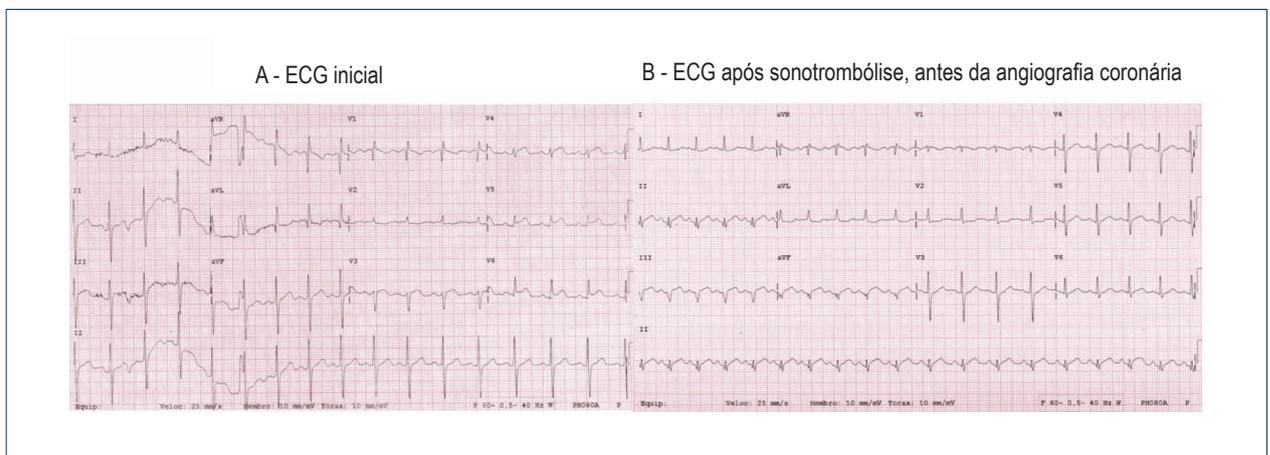


Figura 3 – Traçados do eletrocardiograma de 12 derivações (ECG) na entrada do serviço de emergência (A) demonstrando supradesnivelamento de segmento ST em parede lateral e após 15 minutos de sonotrombólise, antes da angiografia coronariana, com discreta redução do supradesnivelamento do segmento ST (B).

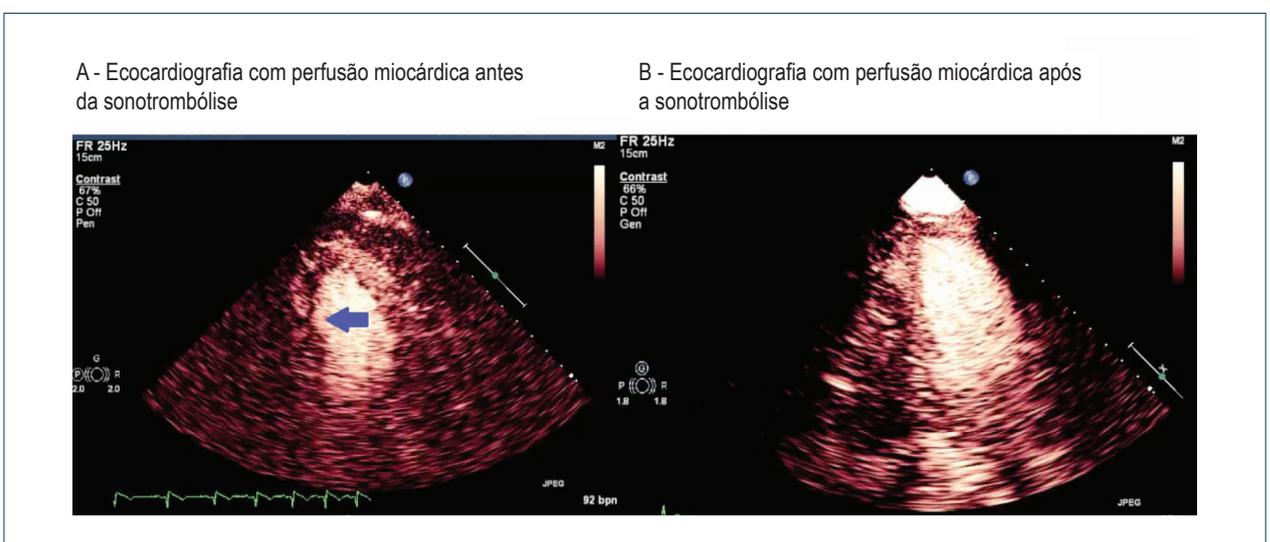


Figura 4 – Imagens ecocardiográficas de perfusão em tempo real em plano apical 2 câmaras demonstrando acinesia da parede inferior associado a defeito de perfusão (A, seta). Após 15 minutos de sonotrombólise, antes da realização da angiografia coronariana, a avaliação ecocardiográfica demonstrou permanência da acinesia inferior, mas melhora do defeito de perfusão miocárdica nesta parede (B).

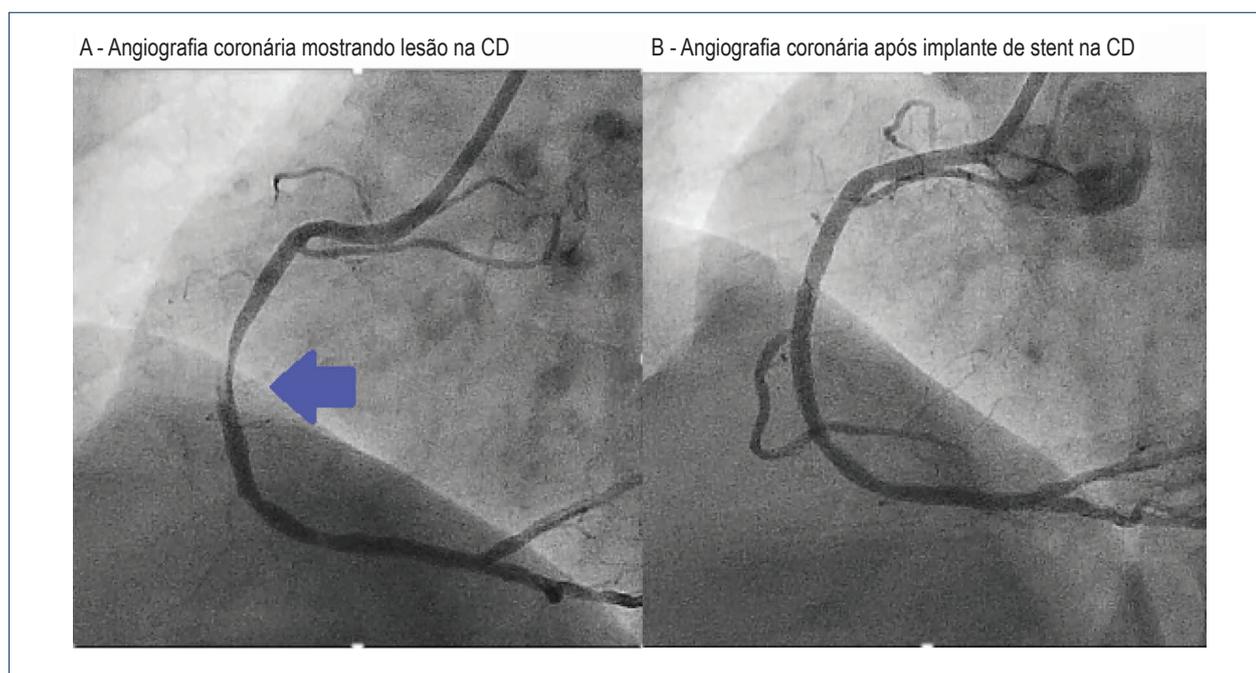


Figura 5 – Imagens de angiografia coronária após 15 minutos de sonotrombólise mostrando suboclusão com trombo em terço médio da artéria coronariana direita (A, seta), com presença de fluxo de enchimento TIMI 3. Paciente foi submetido a implante de stent intracoronariano (B).

Referências

- Mulvagh S, Rakowski H, Vannan MA, Abdelmoneim SS, Becher H, Bierig M, et al. American Society of Echocardiography Consensus Statement on the Clinical Applications of Ultrasonic Contrast Agents in Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2008;21(11):1179-201.
- Porter TR, Abdelmoneim S, Belcik JT, McCulloch ML, Mulvagh SL, Olson JJ, et al. Guidelines for the cardiac sonographer in the performance of contrast echocardiography: a focused update from the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2014;27(8):797-810.
- Shimoni S, Zhoghbi WA, Xie F, Kricsfeld D, Iskander S, Gobar L, et al. Real-time assessment of myocardial perfusion and wall motion during bicycle and treadmill exercise echocardiography: comparison with single photon emission computed tomography. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37(3):741-7.
- Porter TR, Xie F. Myocardial perfusion imaging with contrast ultrasound. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2010;3(2):176-87.
- 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(5):473-83.
- Vogel R, Indermuhle A, Reinhardt J, Meier P, Siegrist PT, Namdar M, et al. The quantification of absolute myocardial perfusion in humans by contrast echocardiography: algorithm and validation. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(5):754-62.
- Pollack CV Jr, Braunwald E. 2007 Update to the ACC/AHA. Guidelines for the management of patients with unstable angina and non ST-segment elevation myocardial infarction: implications for Emergency Department Practice. *Ann Emerg Med.* 2008;51(5):591-606.
- O'Gara PT, Kushner FG, Ascheim DD, Casey DE Jr, Chung MK, de Lemos JA, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation.* 2013;127(4):529-55.
- Xie F, Lof JMS, Matsunaga T, Zutshi R, Porter TR. Diagnostic ultrasound combined with glycoprotein 2b/3a targeted microbubbles improve microvascular recovery following acute coronary thrombotic occlusions. *Circulation.* 2009;119(10):1378-85.
- Xie F, Slikerveer J, Gao S, Lof J, Kamp O, Unger E, et al. Coronary and microvascular thrombolysis with guided diagnostic ultrasound and microbubbles in acute ST segment elevation myocardial infarction. *J Am Soc Echocardiogr.* 2011;24(12):1400-8.
- Nicoli G, Burzotta F, Galiuto L, Crea F. Myocardial no-reflow in humans. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(4):281-92.
- McLaughlin MG, Stone GW, Aymong E, Gardner G, Mehran R, Lansky AJ, et al. Prognostic utility of comparative methods for the assessment of ST-segment resolution after primary angioplasty for acute myocardial infarction: the Controlled Abciximab and Device Investigation to Lower Late Angioplasty Complications (CADILLAC) trial. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(6):1215-23.
- Tachibana K, Tachibana S. Albumin microbubble echo-contrast material as an enhancer for ultrasound accelerated thrombolysis. *Circulation.* 1995;92(5):1148-50.
- Porter TR, Leveen RF, Fox R, Kricsfeld A, Xie F. Thrombolytic enhancement with perfluorocarbon-exposed sonicated dextrose albumin microbubbles. *Am Heart J.* 1996;132(5):964-8.
- Suchkova VN, Baggs RB, Francis CW. Effect of 40 KHz ultrasound on acute thrombotic ischemia in a rabbit femoral artery thrombosis model: enhancement of thrombolysis and improvement in capillary muscle perfusion. *Circulation.* 2000;101(19):2296-301.
- Dhond MR, Nguyen TT, Dolan C, Pulido G, Bommer WJ. Ultrasound-enhanced thrombolysis at 20 KHz with air-filled and perfluorocarbon-filled contrast biospheres. *J Am Soc Echocardiogr.* 2000;13(11):1025-9.
- Xie F, Tsutsui JM, Lof J, Unger EC, Johanning J, Culp WC, et al. Effectiveness of lipid microbubbles and ultrasound in de clotting thrombosis. *Ultrasound Med Biol.* 2005;31(7):979-85.
- Everbach EC, Francis CW. Cavitational mechanisms in ultrasound-accelerated thrombolysis at 1 MHz. *Ultrasound Med Biol.* 2000;26(7):1153-60.
- Prokop AF, Soltani A, Roy RA. Cavitational mechanisms in ultrasound-accelerated fibrinolysis. *Ultrasound Med Biol.* 2007;33(6):924-33.