

과산화수소 대조 심초음파도를 이용한 생체 심근관류에

고려대학교 의과대학 내과학교실

김혜경 · 김영훈 · 안태훈 · 서홍석 · 노영무

= Abstract =

In Vivo Delineation of Regional Myocardial Perfusion in Open-Chest Dog by Hydrogen Peroxide Myocardial Contrast Echocardiography

Hye Kyung Kim, M.D., Young Hoon Kim, M.D., Tae Hoon Ahn, M.D.,
Hong Seok Suh, M.D. and Young Moo Ro, M.D.

Department of Internal Medicine, School of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

Intravascular injection of hydrogen peroxide produces oxygen microbubbles suitable for echocardiographic contrast enhancement. To evaluate the effect of a method of myocardial contrast 2-D-echocardiographic delineation of myocardium during acute coronary occlusion, injection of a fresh mixture of 2ml of 0.2% H_2O_2 and 1ml of heparinized dog blood into aortic root were made in 12 openchest dogs 10 minutes after occlusion of left anterior descending coronary artery distal to the first diagonal branch and left ventricular short axis 2-D echocardiographic images at the midpapillary muscle level were obtained. On injection of H_2O_2 blood mixture normally perfused myocardium was enhanced in echodensity but the area of malperfusion did not change in echodensity.

The borderlines between the area of normal perfusion and malperfusion was well delineated. The malperfused area measured at mid papillary muscle level by planimetry area method was $29.7 \pm 6.1\%$ and $32.6 \pm 6.7\%$ by endocardial circumferential length method. There was a linear correlation between planimetric estimate of area of malperfusion by H_2O_2 contrast echocardiography and visual determination of regional wall motion abnormality by 2-D echocardiography ($r=0.93$, $p<0.001$). There was no change in heart rate before, during and after H_2O_2 injection. Injection of H_2O_2 blood mixture caused bradycardia(8.3%), second degree A-V block(16.6%) and ventricular fibrillation(8.3%). H_2O_2 clearance was achieved in 3~10 minutes. These findings suggest that H_2O_2 enhanced myocardial contrast echocardiography using 2ml of 0.2% H_2O_2 and 1ml of blood mixture is an accurate, reproducible, real-time in vivo method of quantifying the extent of myocardial perfusion defect during acute coronary occlusion in dog.

서 론

In Vivo 상태에서 심근관류의 평가와 심근허혈

의 위험부위(area at risk)를 정확히 아는 것은 매우 중요하나 아직 간편하고 경제적인 방법이 별로 없었다. 지금까지 심근관류를 평가하는 목적으로

Thallium²⁰¹이나 Rubidium-82 같은 방사성물질을 이용하는 심근관류 검사가 이용되고 있으나^{1,2)}, 고가의 장비와 방사성 물질의 이용에 따른 문제점 외에도 생체내에서 실시간(real-time) 평가가 불가능한 제한점이 있다. 최근 좌심방 또는 관상동맥내로 대조영제(contrast agents)를 투여한 후 이면성 심초음파도를 이용하여 심근의 관류 정도를 평가하는 검사법이 시도된후³⁾ 동물실험을 통하여 심근관류 평가에 Gelatine-encapsulated microbubbles⁴⁾, 과산화수소(H_2O_2)⁵⁾, Renografin-76⁶⁾, Saccharide microparticles(SHU 454)⁷⁾, Pogglein colloid용액⁸⁾, Carbonated saline, Sonicated albumine⁹⁾ 등이 이용되고 있으며 최근에는 경피적 관상동맥 성형술후 또는 심근경색증에서 혈전용해술후 심근관류 평가의 한가지 방법으로 이같은 대조 심초음파도 검사가 시도되고 있다^{8,10,12-14)}.

금번 연구는 이같은 여러 대조물질 중에서 H_2O_2 를 이용한 대조 심초음파도의 in vivo상태에서 실시간(real-time)으로 시행하는 심근관류의 평가에 대한 유용성을 검토하고, 지금까지 알려진대로 심근벽 운동장애 부위가 실제로 대조 심초음파도로 평가한 관류장애 부위에 비하여 과대 평가되는지 또는 어느 정도 일치하는지를 규명하기 위한 실험적 연구이다.

방 법

1. 실험동물의 준비

잡종견 12마리(체중 18.7 ± 3.2 kg)를 체중 kg당 30mg의 Sodium pentobarbital을 정맥주사하여 마취 시킨후 기관지 삽관을 시행하고 실내공기로 인공 호흡을 지속하였으며, 실험도중 마취의 정도가 낮아지는 소견이 있을 때에는 Sodium pentobarbital 5~10mg씩을 추가로 주사하여 마취상태를 유지하였다. 과산화수소 혼합 혈액의 투여를 위하여 우측고동맥에 7F도관을 삽입하였다. 심전도는 Lead II를 이용하여 기록하였으며 심박수는 R-R간격을 이용하여 구하였다. 개를 우와위로 놓은 후 좌측 제5늑간부를 절개하고 개흉하여 심장을 노출 시킨후 심낭요람을 만들어 심장을 안정되게 받쳐 놓은 후 좌전하행 관상동맥을 제일 대각분지 직하부위에서 심장으로부터 박리하였으며 이 주

위로 관상동맥 폐쇄를 위한 명주실을 삽입하고 폐쇄고리(Snare)를 만들었다.

2. 대조물질의 투여와 심초음파도의 기록

과산화수소의 투여와 심초음파도의 기록은 우측고동맥을 통하여 대동맥 근부에 삽입된 7F 심도관을 이용하여 H_2O_2 와 혈액의 혼합액을 일시에 주입하였다. H_2O_2 혼합혈액은 0.2% H_2O_2 2cc에 heparine을 섞은 개의 혈액 1cc를 혼합하여 기포가 형성되는 것을 확인하고 2~3초내에 주입하였다.

이면성 심초음파도의 기록은 5MHZ 심초음파 변환기와 Hewlett-Packard사 심초음파기를 이용하여 얻었고 이를 Panasonic AG 6300 녹화기록기로 영상을 기록한 후 분석에 사용하였다. 심초음파도의 기록시 좌심실 단축 단면상을 유두근 중간부위에서 기록하여 모든 분석에 사용하였다. 개 흉한 상태에서 직접 심장표면에 심초음파관을 놓을 때 근접상을 얻을 수 없으므로 고무주머니로 만든 물주머니를 심장에 얹어 놓고 이 위에 심초음파 변환기를 놓아 좌심단축단면상을 쉽게 얻도록 하였다.

3. 비관류 부위의 측정

대조 심초음파도로 본 비관류 부위의 측정은 관상동맥 폐쇄시 이면성 심초음파도 좌심실 유두근 중간부위의 단축단면상에서 H_2O_2 대조 심초음파도로 미세기포관류상이 보이는 정상관류 부위와 기포상이 보이지 않는 비관류(허혈) 부위를 측정하였다. 기록된 심초음파도에서 심전도의 R파와 일치하는 확장기말에서 Planimeter를 이용하여 심외벽으로부터 구한 면적에서 심내벽으로 구한 면적을 뺀 것을 좌심실 심근면적으로 하고 이중 비관류(허혈) 부위는 다시 Planimeter를 이용하여 정상 관류부위와의 백분율을 구하였으며 이 방법으로 구한 값이 심내벽의 전체 길이를 이용한 심근허혈 부위의 길이의 비와 어느 정도 차이가 있는지를 알기 위하여 심내벽의 길이를 이용한 정상부위 심내막의 길이와 비관류 부위의 심내막의 길이의 백분율을 구하였다.

4. 국소 벽운동 장애의 평가

심근 허혈 부위의 벽운동 장애의 측정은 관상동맥 폐쇄 10분후에 H_2O_2 혼합혈액의 투여전에

이면성 심초음파도를 이용하여 좌심실 단축 단면상을 유두근 중앙부위에서 얻어 이 부위에서 평가하였다. 상술하면 Planimeter로 얻은 정상운동 부위와 이상운동 부위의 면적을 백분율로 하는 방법과 심내막 길이를 이용한 벽운동 장애부위의 길이를 구하고 이를 백분율로 표시하는 방법을 사용하였다. 벽운동 장애 여부는 육안으로 벽운동저하(hypokinesis), 벽운동소실(akinesis) 및 이상벽운동(dyskinesis)를 모두 포함하였으며, 2회에 걸쳐 얻은 값을 평균하여 사용하였다.

성 적

1. 정상관류 부위와 비관류 부위의 조기 발견

전례에서 제1대각분지 직하부위의 좌전 하행 관상동맥 폐쇄 후 H_2O_2 혈액 혼합액을 투여한 후 2~3초내에 정상적으로 관류되는 부위는 H_2O_2 에서 생성된 산소의 미세기포로 인한 백색의 심근 관류상을 볼 수 있었다. 그러나 관상동맥 폐쇄로 혈류가 차단되어 관류가 일어나지 않은 비관류 부위는 H_2O_2 투여전과 동일한 심초음파상을 보였으며 관류부위와 비관류부위가 명확하게 구별되었다(Fig. 1). 따라서 0.2% H_2O_2 ml와 1ml의 개의 혈액을 혼합한 H_2O_2 혈액 대조물은 비관류 부위를 명확하게 구별할 수 있는 적절한 물질로 보인다.

또한 제1대각분지 직하의 좌전하행 관상동맥 폐쇄는 좌심실 유두근 중앙부위의 단축 단면상으로 볼 때 허혈부위는 좌심실 전벽의 일부와 심실 중격의 일부를 포함하여 좌심실 근육 면적의 $29.7 \pm 6.17\%$, 좌심실 내경의 $32.6 \pm 6.7\%$ 에 해당하는 부위였다. 이 허혈부위의 크기는 백분율로 볼 때 planimeter로 면적을 이용하여 구하는 방법이나, 심내막의 길이로 구하는 방법이 큰 차이가 없으므로 간단히 심내막 길이를 이용하여 백분율로 표시할 수 있는 것으로 보인다.

2. 벽운동이상

관상동맥 폐쇄 후 심근벽운동 장애 부위는 그림 1의 예에서 보는 것과 같이 좌심실 전벽의 일부와 중격의 일부에 걸쳐 수축운동의 소실이 뚜렷하게 보였으며, Planimeter로 구한 운동장애 부위는 $31.7 \pm 5.8\%$ 였고 심내막 길이를 이용한 면적으로 본

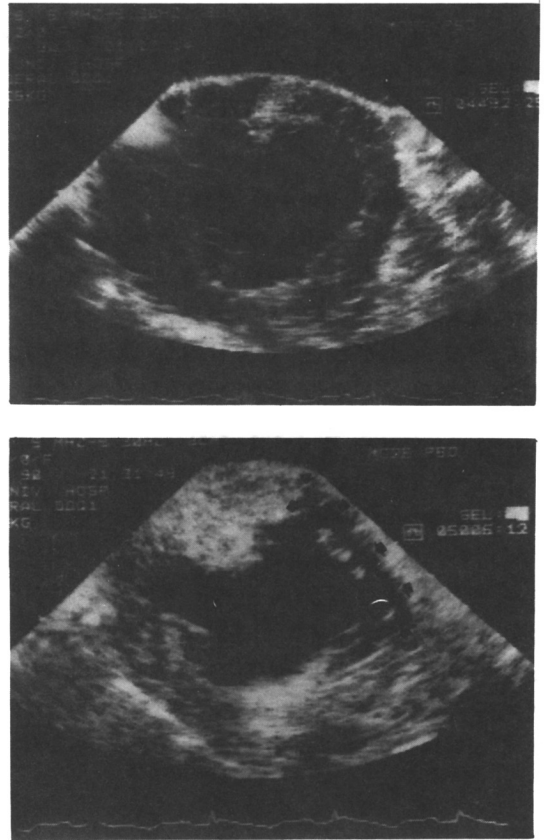


Fig. 1. An example of two-dimensional echocardiographic image.

- A : Baseline image : After left anterior coronary artery distal to the first diagonal branch was occluded, a short axis image of mid-papillary muscle level was obtained before injection of H_2O_2 blood mixture.
B : After injection of the H_2O_2 blood mixture into aortic root, myocardial area with normal perfusion was opacified by O_2 microbubbles, while the area of malperfusion remained dark(arrows).

운동장애 부위는 $34.2 \pm 5.7\%$ 였으며 양자간에 차이가 없었다.

3. 심근 허혈부위와 벽운동 장애 부위와의 관계

Planimeter로 얻은 좌심실의 심근허혈 부위 면적과 Planimeter로 구한 벽운동 장애를 보이는 부위와의 상관관계가 높았으며($r=0.93$, $p<0.001$), 심내막 길이로 본 양자간의 관계는 역시 큰 상관

관계를 보여($r=0.89$, $p<0.001$) 벽운동 장애의 발현과 허혈위치가 일치함을 보여주어 심근허혈에 비하여 벽운동장애의 과대평가는 없었다(Fig. 2, 3).

4. H₂O₂ 투여와 심박수의 변화

관상동맥 폐쇄 후 H₂O₂ 투여 전 심박수는 분당 117.9 ± 22.2 회, H₂O₂ 투여로 대조 심초음파도가 보일 때 분당 122.0 ± 22.4 회, H₂O₂ 투여 3~5분 후 대조 영상이 소실된 후 분당 119.4 ± 22.8 회로서 H₂O₂ 투여와 심박수는 관계가 없었다.

5. H₂O₂ 투여와 부정맥의 출현

H₂O₂ 투여 후 이로 인한 것으로 생각되는 부정맥으로서 동서맥 1례(8.3%), 2도 방실 전도장애 2례(16.1%), 심실세동 1례(8.3%)였다. 심실세동을 보인 예는 H₂O₂와 개의 혈액을 혼합한 후 즉시 주입하지 못하고, 10여초 지연되게 주입한 예에서 보였다. 이는 주사 지연으로 H₂O₂로부터 O₂기포가 커져서 주입시 기포 색전을 일으켜 정상 관류 부위에 심근허혈이 발생하여 나타난 것으로 추측된다.

고 안

금번 연구에서 알 수 있었던 것은 급성 관상동맥

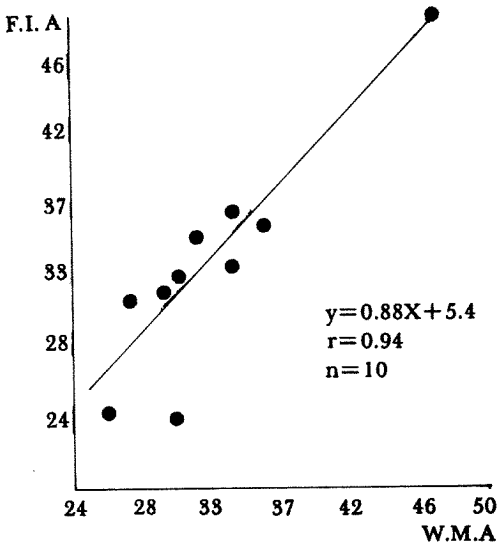


Fig. 2. Correlation between Fractional Ischemic Area (F.I.A.) by contrast echocardiogram and wall motion abnormality(W.M.A.).

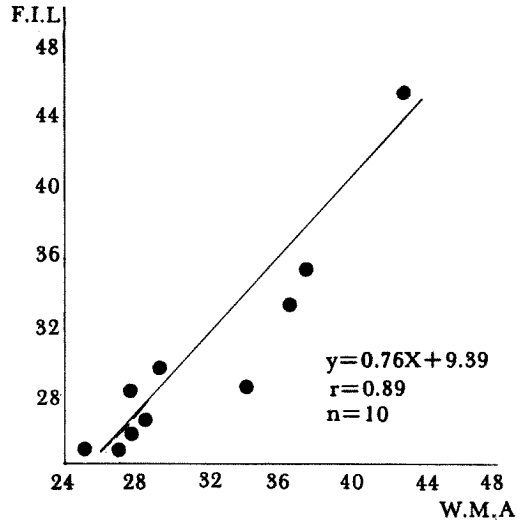


Fig. 3. Correlation between Fractional Ischemic Length(F.I.L.) by contrast echocardiogram and wall motion abnormality(W.M.A.).
A F.I.L.

폐쇄로 유발된 심근관류 장애를 H₂O₂ 혼합 혈액 투여 후 대조 심초음파도를 시행할 때 전례에서 명확하게 정상관류 부위와 심근관류 장애 부위를 구별할 수 있는 초음파 영상을 얻을 수 있었고, 따라서 이같은 심근관류장애의 부위와 정도를 정량적으로 평가할 수 있었으며, 비관류 부위의 벽운동 장애 범위와 좋은 일치율을 보여 주었다는 것이다.

미세기포를 생성할 수 있는 물질을 관상동맥내로 주입함으로써 정상관류 부위에 미세기포로 생성된 대조 심초음파영상을 DeMaria등이³⁾ 얻은 후 지금까지 생체내에서 실시간으로 직접 심근관류 상태를 평가하는 방법으로 대조 심초음파도의 사용이 개발되고 발전되어^{4,15-17)} 동물실험에서의 관류상태의 평가는 물론 임상에서도 관상동맥 질환에서의 심근관류 장애의 평가¹⁷⁾, 경피적 관상동맥 성형술 후 심근관류의 평가¹⁰⁾등에 이용되고 있으며 향후 심근경색증에서 혈전용해술 후 심근관류 장애의 호전의 확인과 평가에 사용될 수 있는 한 가지 방법으로¹⁸⁾ 기대되고 있다.

금번 연구에서 보면 H₂O₂ 혼합 혈액의 주입과 거의 동시에 산소 미세기포로 관류되는 정상 관류부위와 관상동맥 폐쇄로 혈류가 차단되는 비관류 허혈 부위는 경계가 분명한 지역으로 선명하게

구별할 수 있었으며 특히 심박수가 120회 내외인 때에도 명확하게 구별됨은 물론 녹화후 느린 영상으로 보거나 정지 영상에서는 구별이 쉬워 실험 중 또는 실험후 녹화 영상으로도 정상 심근관류 부위와 비관류 부위의 위치와 범위를 정확히 알 수 있는 방법임을 확인 할 수 있었다. Kemper등⁵⁾은 0.3% H_2O_2 2ml와 개의 혈액 1ml을 사용하여 좋은 영상을 얻었음을 보고한바 있으나 금번 연구에서 저자가 사용한 0.2% H_2O_2 2ml로서도 명확한 영상을 얻을 수 있어 0.2% H_2O_2 의 사용도 좋은 대조 영상을 얻을 수 있는 농도임을 알 수 있었다. 이같은 대조물질은 양이나 농도를 증가 시킴으로서 더 선명한 초음파상을 얻을 수 있겠으나 정상관류 부위에서 미세기포라 할지라도 다량의 기포는 오히려 관류장애의 원인이 될 수도 있으며 이처럼 기포량이 증가하면 독성이 증가하고 심근내에서 정체시간이 길어짐을 Xie²²⁾이 보고한바 있다.

금번 연구에서 사용한 0.2% H_2O_2 와 혈액을 혼합한 후 시간을 10초 정도 지연시킬 때 거대기포가 형성됨을 관찰하였으며 이것을 주입한 1례에서 수분후 심실세동이 발생됨을 관찰하였다. 이처럼 거대기포가 형성된 대조물질의 주입이 정상부위에 기포색전을 광범위하게 유발시킨 것인지는 확인할 수 없었으나 좌심실의 운동 저하가 동반된 점을 볼 때 기포색전의 가능성을 배제할 수 없었다.

이같은 심실세동이 관상동맥 폐쇄로 인한 심근 허혈로 유발된 것인지 기포색전에 의한 것인지 확실히 알 수 없으나 관상동맥 폐쇄로 심근 허혈이 유발된 후 거대기포와 다량의 미세기포가 일시에 정상 관류를 저해한다면 심근허혈을 악화시키고 치명적인 부정맥을 유발시킬 수도 있고 심근 수축력의 변화등으로 실험결과에도 영향을 미칠 수 있을 것이므로 H_2O_2 혼합 혈액은 가능하면 적은 양을 2~3초 이내에 주사하는 것이 좋을 것으로 생각된다.

금번 연구에서 비관혈부위의 범위와 국소벽운동장애의 범위의 정도가 잘 일치됨을 보여 주어 심근허혈로 발생한 벽운동장애가 심근허혈 부위 즉 관류장애 지역을 간접적으로 알 수 있는 좋은 방

법임을 알 수 있었다. 이같은 사실은 이미 잘 알려져 있고 또한 임상에서도 심근허혈의 정도와 부위를 평가하는데 흔히 이용되고 있으나 지금까지 다른 보고를 보면 국소벽 운동장애가 실제 심근허혈부위의 범위보다 과대하게 측정되어^{4, 23)} 이같은 점이 국소벽 운동의 평가에 감안되어 왔다. 이같은 국소벽 운동장애는 육안적 방법을 이용할 때 검사자의 경험과 초음파상의 질 등에 따라 차이가 있고, 정량적인 방법으로서 다소 미흡한 점은 있으나 경험이 있는 관찰자가 제어된 실험에서의 초음파상으로 평가하여 이같은 약점을 어느 정도 보완하려고 하였으며, 따라서 금번 연구에서 보인 것처럼 벽운동이상 부위가 과대 측정되지 않은 것은 임상에서 보는 것과 다른 것으로 생각된다. 또한 과대측정이 되지 않고 일치율이 높은 것은 육안적 방법으로 심근허혈의 주변부위 즉, 정상 부위와의 근접부위에도 정량적으로 보면 벽운동장애가 있을 것으로 보이나, 육안적 방법으로 이같은 경계부위의 운동장애를 측정치 못하였을 가능성을 배제할 수 없을 것으로 보인다.

H_2O_2 투여시 동성서맥, 방실전도장애나 심실세동이 발생하여 이 검사법이 위험이 없지 않은 것임을 알 수 있었다.

특히 1례(8.3%)에서 보인 것이긴 하나 관상동맥 폐쇄 후 H_2O_2 지연투여로 거대산소 기포에 의한 정상 관류부위의 혈류방해를 염두에 두어야 할 것으로 보이며, 특히 이같은 위험이 예상될 때에는 가능하면 H_2O_2 의 양이나 농도를 낮추는 방법이 더 좋을 것이나 이때 대조의 정도가 낮아져서 심근허혈 부위의 명확한 판정이 어려울 수 있을 것이다. 이같은 점을 모두 감안하여 볼 때 현 시점에서 이 방법을 동물실험의 경우 심근관류 차단을 증명하여야 하는 특별한 경우에만 사용하여야 할 방법으로 생각되며 특히 기포 주입에 따른 정상 관류 부위의 일과성 허혈성 손상으로 인한 Stunning Phenomenone의 출현으로 심근 수축과 연관된 동물실험에서는 사용키 어려울 것으로 보인다. 따라서 향후 소량의 대조물질을 사용하거나 심근대사나 허혈에 영향을 미치지 않는 대조물질을 개발하여야만 완전한 심근대조 심초음파도 검사법으로 사용될 수 있을 것으로 보인다.

결 론

H_2O_2 (0.2% 2ml와 혈액 1ml 혼합) 대조 심초음파도 검사는 개흉견에서 좌전 하행 관상동맥 폐쇄시 정상 관류부위와 비관류 부위의 위치와 정도를 정확하게 측정할 수 있으며 비관류 부위의 벽운동 장애와도 매우 좋은 일치율을 보여 H_2O_2 대조 심초음파도가 동물실험에서 관상동맥 폐쇄로 인한 관류장애를 평가하는 유용한 방법으로 생각된다. 그러나 H_2O_2 에서 발생한 미세기포로 또한 정상관류 부위의 관류장애를 유발할 수도 있을 것으로 보아 H_2O_2 의 용량, 주사방법, 검사대상 등을 엄격히 하여 시행하여야 할 것으로 보인다.

References

- 1) Bodenheimer MM, Banka VoSo and Helfant RH : Nuclear cardiology. II. The role of myocardial perfusion imaging thallium-201 in diagnosis of coronary heart disease. *Am J Cardiol* 45 : 674, 1980
- 2) Carr EA, Jr, Beierwaltes WH, Wegst AV, and Bartlett JD, Jr : Myocardial scanning with rubidium-86. *J Nucl Med* 3 : 76, 1962
- 3) DeMaria AN, Bommer WJ, Riggs K, Dejee A, Ling KM, Kwan O, Mason DT : Echocardiographic visualization of myocardial perfusion by left heart and intracoronary injections of echocontrast agents (abstr). *Circulation* 62(suppl II) : III-143 (abst) 3
- 4) Armstrong WF, Mueller TM, Kinney EL, Tickner EG, Dillon JC, Feigenbaum H : Assessment of myocardial perfusion abnormalities with contrast-enhanced two-dimensional echocardiography. *Circulation* 66 : 166, 1982
- 5) Kemper AJ, O'Boyle JE, Sharma S, Cohen CA, Kolner RA, Khuri S, Parisi AF : Hydrogenperoxide contrast-enhanced two-dimensional echocardiography : real time in vivo delineation of regional myocardial perfusion. *Circulation* 68 : 603, 1983
- 6) Kaul S, Glasheen W, Ruddy TD, Pandian NG, Weymann AE, Okada RD : The importance of defining left ventricular area at risk in vivo during acute myocardial infarction : an experimental evaluation with myocardial contrast two-dimensional

sional echocardiography.

- 7) Scharfe M, Fritzsche T, Miszalek V : Quantification of myocardial perfusion by contrast echocardiography. *Can J Cardiol Suppl* 25A, July, 1986
- 8) Santoso T, Roelandt T, Mansyoe H, Meltzer RS, Hugenholts PG : Myocardial perfusion imaging in humans by contrast echocardiography using polygelin colloid solution. *J Am Coll Cardiol* 6 : 612, 1985
- 9) Feinstein SB, Cate FJT, Zwehl W, Ong K, Maurer G, Tei C, Shah PM, Meerbaum S, Coday E : Two-dimensional contrast echocardiography. In vitro development and quantitative analysis of echocntrast agents. *J Am Coll Cardiol* 3 : 14, 1984
- 10) Reisner SA, Ong LS, Lichtenberg GS, Shapiro JR, Amico AF, Allen MN, Meltzer RS : Quantitative assessment of the immediate results of coronary angioplasty by myocardial contrast echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 13 : 852, 1989
- 11) Shapiro RJ, Xie F, Meltzer RS : Myocardial contrast two dimensional echocardiography close myocardial effect relations of intracoronary microbubbles. *J Am Coll Cardiol* 12 : 765, 1988
- 12) Cheirig J, Zoghbi WA, Raizner AE, Minor ST, Winters WL, Jr, Klein MS, Debauche TL, Lewis JM, Roberts R, Quinones MA : Assessment of myocardial perfusion in humans by contrast echocardiography. Evaluation of regional coronary reserve by peak contrast intensity. *J Am Coll Cardiol* 11 : 735, 1988
- 13) Keller MW, Glasheen W, Smucker ML, Burwell LR, Watson DD, Kaul S : Myocardial contrast echocardiography in humans. II. Assessment of coronary blood flow reserve. *J Am Coll Cardiol* 12 : 925, 1988
- 14) Feinstein SB, Lang RM, Dick C, Neumann A, Feldmann T, Borow KM : Contrast echocardiography during coronary arteriography in humans : Perfusion and anatomic studies. *J Am Coll Cardiol* 11 : 59, 1988
- 15) Tei C, Sakamaki T, Shah PM, Meerbaum S, Shimura K, Kondo S, Corday E : Myocardial contrast echocardiography : A reproducible technique of identifying regional perfusion deficits. *Circulation* 67 : 585, 1983
- 16) Kemper AJ, Force T, Kloner R, Gilfoil M, Perkins L, Hale S, Alker K, Parisi AF : Contrast echocardiographic estimation of regional myocardial blood flow after acute coronary occlusion. *Circulation* 72 : 1115, 1985

- 17) Pandian NG, Kieso RA, Kerber RE : *Two-dimensional echocardiography in experimental coronary stenosis. II. Relationship between systolic wall thinning and regional myocardial perfusion in severe coronary stenosis. Circulation* 66 : 603, 1982
- 18) Martin RP : *Myocardial contrast echocardiography : A light in the heart of darkness. J Am Coll Cardiol* 13 : 857, 1989
- 19) Vandenberg BF, Kieso R, Fox-Eastham K, Chilian W, Kerber RE : *Quantification of myocardial perfusion by contrast echocardiography : Analysis of contrast gray level appearance variables and intracyclic variability. J Am Coll Cardiol* 13 : 200, 1989
- 20) Kaul S, Kelly P, Oliner JD, Glasheen WP, Kelly MW, Watson DD : *Assessment of regional myocardial blood flow with myocardial contrast two-dimensional echocardiography. J Am Coll Cardiol* 13 : 468, 1989
- 21) Vandenberg BF, Feinstein SB, Kieso RA, Hunt M, Kerber RE : *Myocardial risk area and peak gray level measurement by contrast echocardiography : Effect of microbubble size and concentration, injection rate and coronary vasodilation. Am Heart J* 115 : 733, 1988
- 22) Lim YJ, Nanto S, Masuyama T, Kodama K, Ikeda T, Kitabatake A, Kamada T : *Visualization of subendocardial myocardial ischemia with myocardial contrast echocardiography in humans. Circulation* 79 : 233, 1989