Původní sdělení | Original research article

Zánětlivá infiltrace a přítomnost virového genomu v myokardu a jejich význam pro vývoj echokardiografických parametrů

(Impact of inflammatory infiltration and viral genome presence in myocardium on the changes of echocardiographic parameters)

Jan Krejčí^a, Hana Poloczková^a, Petr Hude^a, Tomáš Freiburger^c, Eva Němcová^{c,d}, Vít Žampachová^b, Alžběta Sirotková^b, Radka Štěpánová^d, Lenka Špinarová^a, Petr Němec^{c,d}, Jiří Vítovec^a^a I. interní kardiologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, International Clinical Research Center, Brno, Česká republika^b 1. patologický ústav Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno, Česká republika^c Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie, Brno, Česká republika^d International Clinical Research Center, Brno, Česká republika

INFORMACE O ČLÁNKU

Historie článku:

Došel do redakce: 24. 1. 2013

Přepřacován: 5. 2. 2013

Přijat: 18. 2. 2013

Dostupný online: 24. 2. 2013

Klíčová slova:

Dilatační kardiomyopatie

Endomyokardiální biopsie

Myokarditida

Zánětlivá kardiomyopatie

SOUHRN

Soubor nemocných a metodika: Do sledování bylo zařazeno 70 nemocných s čerstvě vzniklou dilatační kardiomyopatií (DKMP), s ejekční frakcí levé komory (EFLK) < 40 % a dobou trvání symptomů kratší než 12 měsíců. Ve vzorcích z endomyokardiální biopsie (EMB) byl stanoven průměrný počet T-lymfocytů (CD3+ buněk) a mononukleárních leukocytů (LCA+ buněk) v mm². Přítomnost zánětu byla hodnocena jako pozitivní v případě nálezu > 7 CD3+ buněk a/nebo > 14 LCA+ buněk v mm². Detekce patologických agens v myokardu byla provedena metodou kvantitativní polymerázové řetězové reakce (PCR).

Výsledky: Podle imunohistologického (IH) hodnocení mělo pozitivní nález (IH+), tedy přítomnou zánětlivou infiltraci v myokardu, 35 nemocných (tj. 50 %), u zbylých nemocných byl nález negativní (IH-). Při vyšetření za 6 měsíců došlo ve skupině IH+ ke zlepšení EFLK z 25 ± 9 % na 39 ± 11 % a snížení třídy klasifikace NYHA z 2,8 ± 0,5 na 1,7 ± 0,6 (obě $p < 0,001$). Ve skupině IH- nedošlo ke statisticky významné změně EFLK (z 23 ± 8 % na 27 ± 10 %), na rozdíl od změny třídy NYHA (z 2,5 ± 0,5 na 2,1 ± 0,7; $p < 0,05$). Při srovnání změny parametrů mezi oběma skupinami se výrazněji zlepšila skupina IH+, a to jak v případě změny EFLK ($p < 0,01$), tak i v případě třídy NYHA ($p < 0,001$). U 43 nemocných (tj. v 61 %) byl v myokardu zachycen virový genom (PCR byla pozitivní, PCR+). Při vyšetření za šest měsíců došlo ke statisticky významné změně EFLK jak ve skupině PCR+ (z 25 ± 8 % na 34 ± 12 %; $p < 0,01$), tak ve skupině PCR- (z 22 ± 8 % na 32 ± 12 %; $p < 0,001$), rozdíl mezi oběma skupinami nebyl statisticky významný. Třída klasifikace NYHA se statisticky významně a srovnatelně snížila v obou skupinách (z 2,6 ± 0,5 na 1,9 ± 0,6; $p < 0,001$; resp. z 2,7 ± 0,6 na 2,0 ± 0,7; $p < 0,001$).

Závěr: U nemocných s čerstvě vzniklou neischemickou dysfunkcí LK a biopsicky detekovanou myokarditidou došlo ve srovnání se skupinou bez průkazu zánětlivé infiltrace v šestiměsíčním sledování ke statisticky významnějšímu zlepšení funkce LK i funkčního stavu nemocných. Naopak přítomnost či nepřítomnost viru v myokardu neměla na změnu těchto parametrů významný vliv.

© 2013, ČKS. Published by Elsevier Urban and Partner Sp. z o.o. All rights reserved.

Adresa: MUDr. Jan Krejčí, Ph.D., I. interní kardiologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, International Clinical Research Center, Pekařská 53, 656 91 Brno, e-mail: jan.krejci@fnusa.cz

DOI: 10.1016/j.crvasa.2013.02.003

ABSTRACT

Patients and methods: 70 patients with a recent occurrence of DCM with left ventricle ejection fraction (LVEF) < 40 % and with the history of symptoms less than 12 months were enrolled to observation. In EMB samples the average number of T-lymphocytes (CD3+ cells) and mononuclear leucocytes (LCA+ cells) in mm² was determined. The presence of inflammation was evaluated as positive in case of findings > 7 CD3+ cells and/or > 14 LCA+ cells in mm². The detection of pathological agents in myocardium was performed by quantitative polymerase chain reaction (PCR).

Results: According to immunohistological (IH) assessment findings were positive (IH+) in 35 patients (i.e. 50%); thus the inflammatory infiltration was present in myocardium. In remaining patients the findings were negative (IH-). At 6-month follow-up, in the group of IH+ patients the LVEF improved from 25 ± 9% to 39 ± 11% and NYHA class declined from 2.8 ± 0.5 to 1.7 ± 0.6 (both $p < 0.001$). In IH- group change in LVEF (from 23 ± 8% to 27 ± 10%) in contrast to the change of NYHA class (from 2.5 ± 0.5 to 2.1 ± 0.7; $p < 0.05$) was not found statistically significant. Comparing changes in parameters between both groups, the IH+ group has significantly more improved in LVEF ($p < 0.01$) as well as in the NYHA class ($p < 0.001$). Viral genome was detected (PCR was positive, PCR+) in 43 patients (i.e. 61%). At 6-month follow-up, there were statistically significant changes of LVEF in PCR+ group (from 25 ± 8% to 34 ± 12%; $p < 0.01$) and also in PCR- group (from 22 ± 8% to 32 ± 12%; $p < 0.001$). The difference in changes of LVEF between these two groups was not statistically significant. Change in NYHA class was statistically significant and comparably reduced in both groups (from 2.6 ± 0.5 to 1.9 ± 0.6; $p < 0.001$; and from 2.7 ± 0.6 to 2.0 ± 0.7; $p < 0.001$, respectively).

Conclusion: Patients with a recent occurrence of non-ischemic LV dysfunction and biopsy proven myocarditis have been found to show statistically significant improvement in the LV systolic function and functional status in comparison to the group of patients with no evidence of inflammatory infiltration in 6-month follow-up. On the contrary, the presence or absence of viruses in myocardium has no impact on the changes in these parameters.

Keywords:

Dilated cardiomyopathy
Endomyocardial biopsy
Inflammatory cardiomyopathy
Myocarditis

Úvod

Srdeční selhání je jedním z medicínsky i ekonomicky nejzávažnějších problémů současné kardiologie. Aktuálně nejčastější příčinou terminálního srdečního selhání vedoucího k transplantaci srdce je dilatační kardiomyopatie (DKMP) [1]. Velké úsilí bylo v posledních desetiletích věnováno pátrání po genetických příčinách tohoto onemocnění, nicméně ty byly identifikovány pouze ve 20–50 % případů. Většina případů tak byla nadále pokládána za idiopatické DKMP [2].

Z výsledků prací zaměřených na bioptickou diagnostiku DKMP bylo zjištěno, že přibližně 50 % případů pokládáných původně za „idiopatické“ DKMP má v myokardu přítomnou významnou zánětlivou infiltraci [3,4]. V takovém případě jde tedy o DKMP na podkladě myokarditidy; tento stav označujeme jako zánětlivou kardiomyopatii (ZKMP). Myokarditida se často může spontánně vyhojit, s tím může být spojeno v 50–70 % případů významné zlepšení systolické funkce levé komory (LK), případně i její úplná normalizace [5,6]. U zbylé části případů původně klasifikovaných jako ZKMP může i přes odeznění zánětu perzistovat systolická dysfunkce LK, či dokonce může dojít k její další progresi [7]. Dnes se předpokládá, že většina případů DKMP (již bez aktuálně detekované zánětlivé infiltrace) je následkem dříve proběhlé myokarditidy [8]. U části nemocných může být systolická dysfunkce LK spojena s pokračujícím či rekurentním zánětem myokardu – takový stav bychom diagnosticky klasifikovali jako ZKMP.

Řada prací také prokázala, že v myokardu nemocných s DKMP jsou často (ve 44–67 % případů) nalézány viry, resp. virová nukleová kyselina [3,9]. K detekci virů či jiných patogenních agens se nejčastěji užívá metoda

polymerázové řetězové reakce (PCR). O významu virové přítomnosti v myokardu máme ještě méně informací než o významu přítomnosti zánětlivé infiltrace. Podle některých prací [3,10,11] je záchyt virů v myokardu nepříznivým prognostickým markerem, jiní autoři naopak udávají, že přítomnost virů nemá na prognózu žádný vliv [9].

S těmito novými, často překvapujícími, a někdy kontroverzními nálezy souvisí oživení zájmu o bioptickou diagnostiku DKMP. Vedle samotného průkazu zánětu či virové přítomnosti a jejich klíčového významu pro stanovení správné diagnózy je výsledek endomyokardiální biopsie (EMB) důležitý rovněž pro odhad prognózy a také pro další terapeutická rozhodnutí [12,13].

Cíl práce

V naší práci jsme se zaměřili na detekci zánětlivé infiltrace a přítomnosti nukleové kyseliny řady potenciálních patogenů ve vzorcích EMB u nemocných s DKMP. V šestiměsíčním sledování jsme srovnali vývoj echokardiografických parametrů a funkčního stavu ve skupinách nemocných rozdělených jednak podle přítomnosti či nepřítomnosti zánětlivé infiltrace v myokardu, jednak podle přítomnosti či nepřítomnosti virů (případně jiných patogenů) v myokardu.

Soubor nemocných

Do sledování bylo zařazeno 70 nemocných s čerstvě vzniklou DKMP s ejekční frakcí (EF) LK < 40 % a dobou trvání symptomů do 12 měsíců, kteří byli minimálně po dobu 14 dnů léčeni standardní léčbou srdečního selhání (především inhibitory enzymu konvertujícího angiotensin, respektive blokátory receptoru AT₁ pro angiotensin II

Obr. 1 – PCR nález se zastoupením jednotlivých agens

a beta-blokátory, popř. antagonisty aldosteronu, diuretiky či digoxinem). U těchto nemocných byla jako příčina dysfunkce LK koronarograficky vyloučena ischemická choroba srdeční, pomocí echokardiografického vyšetření byla vyloučena přítomnost významné primární chlopenní vady. Anamnesticky a laboratorně jsme pátrali po možném toxonutritivním poškození myokardu či endokrinně podmíněné poruše funkce LK, což bylo rovněž pokládáno za vylučovací kritérium. Do sledování nebyli zařazeni ani nemocní s možným postižením funkce LK v důsledku tachykardie, ani nemocní, kterým byla kdykoliv v minulosti podávána chemoterapie.

Metodika

U nemocných, kteří splnili výše uvedená zařazovací kritéria a neměli přítomné žádné z vyřazovacích kritérií a kteří podepsali informovaný souhlas, byla provedena EMB z pravé komory (PK) (preferenčně z oblasti mezikomorového septa či hrotu PK). Byly odebrány čtyři vzorky na histologické a imunohistologické vyhodnocení a šest vzorků na PCR analýzu. Byl stanoven průměrný počet T-lymfocytů (CD3+ buněk) a mononukleárních leukocytů (LCA+ buněk) v mm². Přítomnost zánětu byla hodnocena jako pozitivní v případě nálezu > 7 CD3+ buněk a/nebo > 14 LCA+ buněk v mm² [14–17]. Detekce přítomnosti patologických agens v myokardu byla provedena metodou kvantitativní polymerázové řetězové reakce v reálném čase, a to pro parvovirus B19 (PVB19), cytomegalovirus (CMV), virus Epsteina-Barrové (EBV), herpes simplex virus 1, 2 (HSV 1, 2), lidský herpetický virus 6 (HHV-6), adenoviry (AV) a pro *Borrelia burgdorferi*, resp. metodou reverzní transkripce s následnou kvantitativní PCR v reálném čase pro enteroviry (EV).

Echokardiografická vyšetření byla provedena na přístroji Vivid E9 (GE, Milwaukee, WI, USA) s použitím M5S sondy standardně podle doporučení American Society of Echocardiography a European Association of Echocardiography [18]. Tkáňově dopplerovské vyšetření (TDI) bylo provedeno pulsně-vlnovou metodou v apikální čtyřduťtinové projekci na septálním a laterálním okraji mitrálního anulu (uváděn je průměr z obou měření) a na volném okraji trikuspidálního anulu. Všechny nálezy byly v elektronické podobě archivovány. Vstupní echokardiografické vyšetření bylo provedeno ± jeden den od provedení EMB, kontrolní vyšetření bylo provedeno za šest měsíců ± 14 dnů od vstupního vyšetření stejným vyšetřujícím na stejném přístroji. Současně bylo provedeno kardiologické vyšetření se zhodnocením funkčního stavu.

Statistika

Sledované parametry byly popsány pomocí deskriptivní analýzy a počáteční hodnoty byly porovnány s hodnotami zjištěnými po šesti měsících. Dále bylo provedeno porovnání mezi skupinami pacientů jednak podle přítomnosti či nepřítomnosti zánětlivé infiltrace v myokardu a také podle přítomnosti či nepřítomnosti mikrobiálního (virového) genomu v myokardu.

Výsledky jsou prezentovány pomocí průměru se směrodatnou odchylkou a mediánu s jeho 95% intervalem spolehlivosti. Protože většina sledovaných parametrů nevykazuje normální rozložení (Shapirův-Wilkův test), byly provedeny neparametrické testy. Změna každého parametru po šesti měsících od počátku byla hodnocena pomocí párového Wilcoxonova testu. Pro srovnání parametrů mezi skupinami pacientů dle pozitivního/negativního nálezu byl použit Mannův-Whitneyho test. Všechny analýzy byly provedeny na 5% hladině významnosti (tj. – hodnoty $p < 0,05$ jsou považovány za statisticky významné).

Tabulka 1 – Srovnání skupin nemocných podle přítomnosti či nepřítomnosti zánětlivé infiltrace v myokardu

		IH pozitivní (n = 35)			IH negativní (n = 35)			
Parametr		Průměr (SD)	Medián (95% CI)	Hodnota p^*	Průměr (SD)	Medián (95% CI)	Hodnota p^*	Hodnota p^{**}
Věk (roky)	Počáteční hodnota	43,3 (13,44)	43,0 (36,00–49,00)		48,1 (10,37)	50,0 (46,00–52,00)		0,0779
Trvání symptomů (měsíce)	Počáteční hodnota	2,6 (2,94)	1,5 (1,00–2,00)		3,8 (2,63)	3,0 (2,50–4,00)		0,0015
CRP (mg/l)	Počáteční hodnota	21,0 (50,86)	3,3 (1,50–7,80)		7,2 (13,20)	2,6 (1,30–4,20)		0,4037
NYHA	Počáteční hodnota	2,8 (0,48)	3,0 (2,50–3,00)		2,5 (0,52)	2,5 (2,00–3,00)		0,0393
	Po 6 měsících	1,7 (0,58)	1,5 (1,50–2,00)		2,1 (0,67)	2,0 (2,00–2,50)		0,0060
	Rozdíl	–1,06 (0,725)	–1,00 (–1,50 až –0,50)	< 0,001	–0,33 (0,819)	0,00 (–0,50–0,00)	0,0423	< 0,001
EFLK (%)	Počáteční hodnota	25,1 (8,68)	25,0 (18,00–30,00)		23,1 (8,08)	23,0 (17,00–28,00)		0,2986
	Po 6 měsících	39,1 (10,98)	38,0 (35,00–45,00)		27,2 (9,87)	25,0 (23,00–30,00)		< 0,001
	Rozdíl	14,0 (13,60)	15,0 (5,00–20,00)	< 0,001	3,8 (12,24)	2,0 (–3,00–6,00)	0,2185	0,0017
DD (mm)	Počáteční hodnota	64,3 (9,05)	64,0 (60,00–71,00)		68,7 (7,73)	69,0 (65,00–74,00)		0,0283
	Po 6 měsících	60,1 (9,11)	58,0 (55,00–64,00)		66,7 (8,96)	67,5 (64,00–72,00)		0,0086
	Rozdíl	–4,2 (7,19)	–4,0 (–5,00–0,00)	0,0012	–2,2 (4,56)	–1,0 (–5,00–1,00)	0,0156	0,3170
DS (mm)	Počáteční hodnota	56,3 (9,75)	56,0 (51,00–60,00)		60,7 (7,66)	62,0 (57,00–65,00)		0,0488
	Po 6 měsících	48,9 (10,39)	48,0 (44,00–53,00)		57,7 (9,38)	60,0 (56,00–63,00)		0,0008
	Rozdíl	–7,3 (8,63)	–6,0 (–11,00 až –3,00)	< 0,001	–3,1 (6,16)	–2,0 (–5,00–0,00)	0,0043	0,0476
LVEDV (ml)	Počáteční hodnota	216,1 (64,82)	207,0 (175,00–264,00)		249,9 (60,08)	245,0 (217,00–288,00)		0,0245
	Po 6 měsících	187,7 (64,56)	168,0 (148,00–212,00)		233,8 (69,23)	236,0 (214,00–268,00)		0,0154
	Rozdíl	–28,4 (51,76)	–25,0 (–36,00 až –3,00)	0,0023	–17,4 (38,36)	–13,5 (–36,00–1,00)	0,0197	0,5552
LVESV (ml)	Počáteční hodnota	161,5 (59,37)	153,0 (124,00–178,00)		190,1 (53,34)	196,0 (160,00–216,00)		0,0433
	Po 6 měsících	120,4 (57,78)	109,0 (84,00–134,00)		174,1 (60,80)	181,0 (159,00–208,00)		0,0005
	Rozdíl	–41,1 (52,12)	–36,0 (–62,00 až –16,00)	< 0,001	–15,8 (40,00)	–13,0 (–31,00–4,00)	0,0276	0,0439
s' (cm/s)	Počáteční hodnota	5,3 (2,04)	5,0 (4,50–6,00)		4,9 (1,48)	5,0 (4,00–5,50)		0,6545
	Po 6 měsících	6,7 (2,06)	6,5 (5,50–7,00)		5,5 (1,31)	5,5 (5,00–5,50)		0,0055
	Rozdíl	1,6 (2,54)	1,3 (0,50–2,50)	0,0018	0,5 (1,61)	0,0 (–0,50–1,50)	0,1082	0,0820
e' (cm/s)	Počáteční hodnota	6,5 (1,92)	6,5 (6,00–7,50)		5,5 (2,06)	5,5 (5,00–6,00)		0,0178
	Po 6 měsících	6,8 (2,13)	6,8 (6,00–7,50)		6,0 (1,77)	5,5 (5,00–7,00)		0,0928
	Rozdíl	0,4 (2,66)	0,3 (–1,50–2,00)	0,4488	0,4 (2,29)	0,5 (–0,50–1,00)	0,3404	0,8795
E/e'	Počáteční hodnota	12,7 (4,50)	11,3 (10,44 – 13,86)		15,9 (8,93)	12,5 (11,07 – 17,08)		0,2234
	Po 6 měsících	10,6 (5,21)	9,5 (8,00 – 11,50)		10,1 (2,69)	9,7 (8,67 – 11,40)		0,6413
	Rozdíl	–3,1 (5,43)	–3,9 (–5,11 až –0,72)	0,0035	–4,9 (6,96)	–3,6 (–5,85 až –1,20)	< 0,001	0,8475
PK (mm)	Počáteční hodnota	33,6 (5,65)	34,0 (30,00–35,00)		36,5 (5,11)	37,0 (33,00–39,00)		0,0264
	Po 6 měsících	32,1 (4,92)	31,0 (29,00–36,00)		34,2 (6,22)	34,5 (31,00–39,00)		0,1498
	Rozdíl	–1,6 (6,41)	–1,0 (–4,00–0,00)	0,1227	–2,1 (5,64)	–2,5 (–5,00–0,00)	0,0551	0,6687

Tabulka 1 – Srovnání skupin nemocných podle přítomnosti či nepřítomnosti zánětlivé infiltrace v myokardu – pokračování

		IH pozitivní (n = 35)			IH negativní (n = 35)			
Parametr		Průměr (SD)	Medián (95% CI)	Hodnota p^*	Průměr (SD)	Medián (95% CI)	Hodnota p^*	Hodnota p^{**}
s'tri (cm/s)	Počáteční hodnota	10,2 (1,97)	10,0 (9,00–11,00)		10,8 (2,78)	11,0 (10,00–11,00)		0,3720
	Po 6 měsících	13,2 (3,92)	12,0 (12,00–14,00)		11,2 (2,26)	11,0 (10,00–13,00)		0,0219
	Rozdíl	3,1 (4,26)	3,0 (1,00–4,00)	< 0,001	0,2 (3,13)	0,0 (–2,00–2,00)	0,9201	0,0027
TAPSE (mm)	Počáteční hodnota	19,8 (4,23)	19,5 (17,00–21,00)		20,0 (4,58)	19,5 (18,00–22,00)		0,7712
	Po 6 měsících	22,6 (2,83)	23,0 (22,00–24,00)		20,2 (3,68)	20,0 (18,00–22,00)		0,0040
	Rozdíl	2,7 (5,62)	2,0 (0,00–6,00)	0,0170	–0,1 (4,44)	–1,0 (–2,00–2,00)	0,7093	0,0399

Rozdíl = hodnota po 6 měsících – počáteční hodnota.

* Hodnota p párového Wilcoxonova testu pro srovnání parametrů na počátku a po 6 měsících.

** Hodnota p Mannova-Whitneyho testu pro srovnání parametrů mezi skupinami nemocných (IH pozitivní vs. IH negativní).

CRP – C-reaktivní protein; DD – diastolický rozměr LK; DS – systolický rozměr LK; e' – vrcholová časné diastolická rychlost pohybu mitrálního anulu; E/e' – poměr časné diastolické rychlosti plnění LK a vrcholové časné diastolické rychlosti pohybu mitrálního anulu; EFLK – ejekční frakce levé komory; IH – imunohistologie; LVEDV – end-diastolický objem LK; LVESV – end-systolický objem LK; PK – rozměr pravé komory; s' – vrcholová systolická rychlost pohybu mitrálního anulu; s'tri – vrcholová systolická rychlost pohybu trikuspidálního anulu; TAPSE – amplituda exkurze trikuspidálního anulu.

Tabulka 2 – Srovnání skupin nemocných podle přítomnosti či nepřítomnosti virů v myokardu

		PCR pozitivní (n = 43)			PCR negativní (n = 26)			
Parametr		Průměr (SD)	Medián (95% CI)	Hodnota p^*	Průměr (SD)	Medián (95% CI)	Hodnota p^*	Hodnota p^{**}
Věk (roky)	Počáteční hodnota	45,9 (13,44)	49,0 (42,00–51,00)		44,8 (9,89)	45,0 (41,00–50,00)		0,5154
Trvání symptomů (měsíce)	Počáteční hodnota	3,6 (3,17)	3,0 (2,00–3,50)		2,8 (2,16)	1,5 (1,00–4,00)		0,4088
CRP (mg/l)	Počáteční hodnota	11,1 (35,06)	2,7 (1,40–4,60)		18,9 (41,06)	3,3 (1,50–4,80)		0,4557
NYHA	Počáteční hodnota	2,6 (0,49)	2,5 (2,50–3,00)		2,7 (0,55)	3,0 (2,50–3,00)		0,2257
	Po 6 měsících	1,9 (0,63)	2,0 (1,50–2,00)		2,0 (0,71)	2,0 (1,50–2,50)		0,5238
	Rozdíl	–0,68 (0,840)	–0,50 (–1,00 až –0,50)	< 0,001	–0,72 (0,867)	–0,50 (–1,50–0,00)	0,0006	0,9526
EFLK (%)	Počáteční hodnota	25,3 (8,46)	25,0 (20,00–30,00)		22,4 (8,16)	21,0 (17,00–28,00)		0,2130
	Po 6 měsících	34,0 (12,16)	31,5 (28,00–42,00)		32,4 (11,88)	30,0 (25,00–38,00)		0,6169
	Rozdíl	8,4 (12,87)	5,0 (2,00–11,00)	0,0095	9,6 (15,56)	5,0 (1,00–20,00)	< 0,001	0,9122
DD (mm)	Počáteční hodnota	66,2 (8,37)	66,0 (64,00–69,00)		67,2 (9,36)	68,0 (62,00–74,00)		0,6376
	Po 6 měsících	63,1 (9,70)	63,5 (56,00–69,00)		63,6 (9,54)	64,0 (55,00–70,00)		0,9224
	Rozdíl	–3,0 (6,34)	–2,5 (–4,00–0,00)	0,0041	–3,6 (5,79)	–3,0 (–6,00–0,00)	0,0020	0,5586
DS (mm)	Počáteční hodnota	57,7 (8,67)	58,0 (56,00–62,00)		59,8 (9,70)	61,5 (52,00–68,00)		0,3273
	Po 6 měsících	52,9 (10,63)	52,0 (48,00–59,00)		53,6 (11,31)	56,0 (45,00–60,00)		0,8711
	Rozdíl	–4,7 (7,80)	–4,0 (–6,00–0,00)	< 0,001	–6,3 (7,84)	–4,0 (–9,00 až –2,00)	< 0,001	0,3734
LVEDV (ml)	Počáteční hodnota	229,7 (62,34)	228,0 (207,00–249,00)		239,6 (69,21)	250,5 (197,00–288,00)		0,5236
	Po 6 měsících	208,3 (71,04)	204,5 (158,00–243,00)		212,3 (70,35)	214,0 (152,00–255,00)		0,8610
	Rozdíl	–21,0 (47,70)	–16,0 (–31,00 až –3,00)	0,0100	–27,7 (42,68)	–26,0 (–46,00 až –5,00)	0,0020	0,4030

Tabulka 2 – Srovnání skupin nemocných podle přítomnosti či nepřítomnosti virů v myokardu – pokračování

Parametr		PCR pozitivní (n = 43)			PCR negativní (n = 26)			Hodnota p**
		Průměr (SD)	Medián (95% CI)	Hodnota p*	Průměr (SD)	Medián (95% CI)	Hodnota p*	
LVESV (ml)	Počáteční hodnota	171,3 (54,15)	173,0 (153,00–196,00)		183,3 (64,93)	189,0 (128,00–238,00)		0,4137
	Po 6 měsících	144,0 (63,24)	130,5 (110,00–175,00)		150,1 (68,22)	159,0 (91,00–190,00)		0,7755
	Rozdíl	–26,3 (46,66)	–24,0 (–34,00 až –1,00)	0,0009	–33,2 (51,04)	–28,0 (–40,00 až –8,00)	0,0014	0,6085
s' (cm/s)	Počáteční hodnota	5,2 (1,84)	5,0 (4,50–5,50)		5,0 (1,67)	4,5 (4,00–6,00)		0,5841
	Po 6 měsících	6,1 (1,90)	5,5 (5,50–6,50)		6,4 (1,77)	6,0 (5,50–7,00)		0,5147
	Rozdíl	0,9 (2,07)	0,5 (0,00–1,50)	0,0174	1,4 (2,43)	1,0 (0,00–2,00)	0,0848	0,4556
e' (cm/s)	Počáteční hodnota	6,0 (1,95)	6,0 (5,00–6,50)		6,0 (2,23)	6,0 (4,50–7,00)		0,9685
	Po 6 měsících	6,2 (1,88)	6,0 (5,50–7,00)		6,7 (2,18)	6,3 (5,00–8,50)		0,4030
	Rozdíl	0,2 (2,18)	0,5 (–0,50–1,00)	0,5823	0,5 (2,85)	0,0 (–1,50–3,00)	0,2678	0,6145
E/e'	Počáteční hodnota	13,9 (6,19)	12,0 (11,17–15,50)		15,3 (8,88)	12,2 (10,44–16,44)		0,8472
	Po 6 měsících	10,6 (4,67)	9,8 (8,60–11,40)		9,8 (3,05)	9,3 (8,38–10,93)		0,6984
	Rozdíl	–4,0 (6,11)	–3,7 (–5,33 až –1,33)	< 0,001	–4,2 (6,57)	–3,7 (–6,48 až –0,92)	0,0015	0,8075
PK (mm)	Počáteční hodnota	34,8 (5,76)	35,0 (33,00–38,00)		35,5 (5,35)	35,0 (31,00–39,00)		0,7327
	Po 6 měsících	33,2 (5,75)	34,0 (30,00–36,00)		33,3 (5,23)	31,0 (30,00–37,00)		0,8303
	Rozdíl	–1,5 (6,45)	–1,0 (–4,00–0,00)	0,1308	–2,1 (5,04)	–2,0 (–5,00–0,00)	0,0504	0,6077
s'tri (cm/s)	Počáteční hodnota	10,5 (2,49)	10,0 (9,00–11,00)		10,6 (2,40)	11,0 (9,00–11,00)		0,8235
	Po 6 měsících	11,9 (2,90)	12,0 (11,00–13,00)		12,6 (4,08)	12,0 (11,00–13,00)		0,6717
	Rozdíl	1,3 (3,39)	1,5 (0,00–3,00)	0,0235	2,0 (4,78)	1,0 (0,00–3,00)	0,0297	0,7993
TAPSE (mm)	Počáteční hodnota	19,4 (4,64)	19,0 (18,00–20,00)		20,8 (3,94)	21,0 (19,00–23,00)		0,1879
	Po 6 měsících	21,2 (3,22)	21,0 (20,00–23,00)		21,6 (3,99)	21,5 (19,00–24,00)		0,8565
	Rozdíl	1,3 (5,18)	0,5 (–1,00–4,00)	0,1827	1,0 (5,23)	0,0 (–1,00–2,00)	0,5207	0,7912

Rozdíl = hodnota po 6 měsících – počáteční hodnota, * hodnota p párového Wilcoxonova testu pro srovnání parametrů na počátku a po 6 měsících, ** hodnota p Mannova-Whitneyho testu pro srovnání parametrů mezi skupinami nemocných (IH pozitivní vs. IH negativní).

CRP – C-reaktivní protein; DD – diastolický rozměr LK; DS – systolický rozměr LK; e' – vrcholová časné diastolické rychlosti pohybu mitrálního anulu; E/e' – poměr vrcholové časné diastolické rychlosti plnění LK a vrcholové časné diastolické rychlosti pohybu mitrálního anulu; EFLK – ejekční frakce levé komory; LVEDV – end-diastolický objem LK; LVESV – end-systolický objem LK; PCR – polymerázová řetězová reakce; PK – rozměr pravé komory; s' – vrcholová systolická rychlost pohybu mitrálního anulu; s'tri – vrcholová systolická rychlost pohybu trikuspidálního anulu; TAPSE – amplituda exkurze trikuspidálního anulu.

Do sledování bylo zařazeno 70 nemocných průměrného věku 46 ± 12 let; EFLK byla 24 ± 8 %, třída klasifikace NYHA $2,6 \pm 0,5$ a délka trvání symptomů $3,2 \pm 2,8$ měsíce.

Při rozdělení nemocných podle imunohistologického (IH) hodnocení mělo pozitivní nález (IH+), tedy přítomnou zánětlivou infiltraci v myokardu, 35 nemocných (tj. 50 %), negativní (IH–) rovněž 35 nemocných (50 %). Ve skupině IH+ byla vstupně EFLK 25 ± 9 % a třída NYHA $2,8 \pm 0,5$; ve skupině IH– EFLK 23 ± 8 % a třída NYHA $2,5 \pm 0,5$. Rozdíl v EFLK mezi oběma skupinami nebyl statisticky významný, zatímco rozdíl ve třídě klasifikace NYHA stati-

stický významný byl ($p < 0,05$). Při kontrolním vyšetření za šest měsíců došlo ve skupině IH+ ke zlepšení EFLK na 39 ± 11 % ($p < 0,001$) a třídy NYHA klasifikace na $1,7 \pm 0,6$ ($p < 0,001$). Ve skupině IH– nedošlo ke statisticky významné změně EFLK (27 ± 10 %), změna třídy NYHA klasifikace významná byla ($2,1 \pm 0,7$; $p < 0,05$). Při srovnání změny parametrů mezi oběma skupinami se výrazněji zlepšila skupina IH+, a to jak v případě změny EFLK ($p < 0,01$), tak i v případě třídy NYHA ($p < 0,001$). Další hodnocené parametry jsou uvedeny v tabulce 1.

V případě rozdělení souboru podle výsledku PCR jsme ve 43 případech (tj. v 61 %) získali PCR pozitivní (PCR+)

nález, tzn. že u těchto nemocných byl detekován v myokardu virový genom. U 39 z nich (tj. u 91 % ze všech PCR+, resp. 56 % z celého souboru) byl přítomen PVB19 (zastoupení virů viz obr. 1). Vstupní charakteristiky PCR+ a PCR– skupiny se nelišily: ve skupině PCR+ byla EFLK 25 ± 8 %, třída klasifikace NYHA $2,6 \pm 0,5$; ve skupině PCR– potom EFLK 22 ± 8 % a NYHA $2,7 \pm 0,6$. Při kontrolním vyšetření za šest měsíců došlo ke statisticky významné změně EFLK jak ve skupině PCR+ (EFLK 34 ± 12 %; $p < 0,01$), tak ve skupině PCR– (EFLK 32 ± 12 %; $p < 0,001$), rozdíl mezi oběma skupinami statisticky významný nebyl. Třída klasifikace NYHA se statisticky významně snížila v obou skupinách, v PCR+ na $1,9 \pm 0,6$ ($p < 0,001$) a v PCR– na $2,0 \pm 0,7$ ($p < 0,001$), rozdíl mezi oběma skupinami statisticky významný nebyl. Další hodnocené parametry viz tabulku 2.

Diskuse

Problematika zánětlivé kardiomyopatie se v posledních letech stala předmětem opětovného zájmu. Vedly k tomu především nové diagnostické možnosti, které výrazně zlepšily naši schopnost tuto diagnózu stanovit a také skutečnost, že se na podkladě zpřesněné diagnostiky objevily možnosti specifické cílené léčby (protivirová léčba, imunosupresivní léčba) [8,12,13,16,17,19–21].

Přes významný pokrok v neinvazivní diagnostice založené na nukleární magnetické rezonanci (MR) [22–24] je za zlatý standard diagnostiky ZKMP pokládána EMB [5,11,17,25,26]. Rozmachu bioptické diagnostiky předcházelo zdokonalení instrumentária umožňujícího bezpečné provedení EMB s nízkým rizikem periprocedurálních komplikací, a zejména zavedení imunohistologických metod hodnocení bioptických vzorků, které přineslo zvýšenou senzitivitu tohoto vyšetření [14,15,27]. Imunohistologické hodnocení doplnilo do té doby užívané histologické hodnocení (použité např. v Myocarditis Treatment Trial), které se samo o sobě ukázalo být málo senzitivní [28–30]. Přítomnost zánětlivé infiltrace byla v několika studiích s dlouhodobým sledováním potvrzena jako negativní prognostický faktor [9,11]. Naše výsledky však ukazují, že minimálně v krátkodobém horizontu je přítomnost myokarditidy (skupina IH+, resp. ZKMP) spojena se statisticky významným zlepšením echokardiografického i klinického nálezu, který jsme nepozorovali u většiny sledovaných parametrů ve skupině nemocných bez prokázaného zánětu (IH–, resp. DKMP) – viz tabulku 1. Podobné výsledky prezentoval dříve Zimmermann et al. [31], který stejně jako my prokázal zlepšení echokardiografických parametrů u nemocných s biopticky detekovaným zánětem myokardu. V naší práci se ve skupině nemocných se ZKMP významně zlepšila řada parametrů (systolický rozměr LK, end-systolický objem LK, end-diastolický rozměr LK, end-diastolický objem LK, E/e', systolická rychlost pohybu mitrálního i trikuspidálního anulu, TAPSE). Ve skupině s nezánnětlivou DKMP došlo u některých parametrů rovněž ke zlepšení – vedle klasifikace NYHA se snížil systolický i diastolický rozměr LK, end-systolický i end-diastolický objem LK nebo poměr E/e'. U většiny z nich ale změna parametru nebyla tak výrazná jako v případě ZKMP. Délka symptomů ve skupině IH+ byla kratší než ve skupině IH– ($2,6 \pm 2,9$; resp. $3,8 \pm 2,6$; $p < 0,01$), naopak hodnota CRP byla v obou skupinách obdobná (medián 3,3 vs. 2,6 mg/l; $p = \text{NS}$).

Jak již bylo zdůrazněno, nedílnou součástí hodnocení bioptických vzorků je detekce případné přítomnosti mikrobiálního (zejména virového) genomu v myokardu, nejčastěji pomocí metody PCR. V posledních letech byla popsána změna ve výskytu jednotlivých virů. Původně byly za nejčastější příčinu virových myokarditid pokládány enteroviry a adenoviry, v současnosti bývají nejčastěji nacházeny zejména PVB19 a také HHV-6, což odpovídá našim nálezům [3,32,33]. Převaha výskytu PVB19 v našem souboru byla výrazná – izolovaně nebo v kombinaci s dalším virem se objevil u 91 % všech pozitivních testovaných jedinců (obr. 1). Pátrání po významu přítomnosti PVB19 ve vzorcích myokardu je v současnosti jedním z nejdiskutovanějších problémů. Jde totiž nejen o nejčastěji zachycený virus v myokardu nemocných s DKMP, ale také o virus, který bývá velmi často přítomen (v 50–80 % případů!) v myokardu jedinců s normální funkcí LK, kteří podstupují kardiokirurický výkon např. pro chlopenní vadu či ICHS [32,34]. Jiné práce uvádějí vyšší výskyt PVB19 u nemocných se zánětlivou kardiomyopatií než u pacientů s nezánnětlivou kardiomyopatií [35], další naopak PVB19 označují za „nevinného pozorovatele“ bez souvislosti se současným postižením myokardu [34,36,37]. Kvalitativní hodnocení je samozřejmým základem, minimálně v případě PVB19 se zdá být nezbytné pro upřesnění jeho významu také kvantitativní hodnocení. Výsledky některých prací ukazují, že nízká virová nálož PVB19 není schopná indukovat myokarditidu [34,38]. V této souvislosti je důležité zdůraznit, že v případě všech našich pozitivních nálezů PVB19 byla virová nálož hodnocena jako nízká a byla pod hranici 500 kopií/μg nukleové kyseliny, která se pokládá za potřebnou pro indukci zánětu [38]. Ovšem i tato koncepce založená na kvantifikaci virové nálože byla zcela recentně zpochybněna výsledky studie německých autorů, kteří hodnotili virovou aktivitu pomocí stanovení mRNA a kteří prokázali, že i při nízké virové náloži PVB19 může docházet k aktivní replikaci viru, což zvýšená hodnota mRNA odráží (Schultheiss – ústní sdělení na kongresu ESC 2012).

Dalším z důvodů pro indikaci EMB u nemocných s DKMP jsou možnosti indikace specifické léčby. Pro použití imunosupresivní či antimikrobiální léčby je zcela nezbytné znát nález z EMB (imunohistologický i mikrobiologický). Při prokázaném zánětu a negativním výsledku PCR může imunosupresivní léčba přidaná k běžné léčbě srdečního selhání přinést prospěch [16,19]. Naopak podání imunosuprese nemocným s virovou přítomností v myokardu vedlo ke zhoršení stavu těchto jedinců [39]. V případě nepřítomnosti zánětu nemá imunosupresivní léčba smysl. Pro podávání protivirové léčby je mnohem méně údajů, podle některých léčba interferonem vedoucí k odstranění zejména adenovirů a enterovirů z myokardu přináší zlepšení echokardiografických parametrů [8], což zase jiní autoři nepotvrdili [40]. Zkoumání efektu specifické léčby ovšem nebylo předmětem naší práce, nemocní zařazení do tohoto hodnocení byli léčeni pouze standardní léčbou srdečního selhání. V současnosti je zahajována randomizovaná multicentrická akademická studie CZECH-ICIT, který vznikla ve spolupráci dvou českých pracovišť (I. interní kardiologická klinika, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Mezinárodní centrum klinického výzkumu a II. interní kliniky kardiologie a angiologie Všeobecné fakultní nemocnice v Praze), která se bude zabývat imunosupresivní léčbou nemocných se ZKMP.

Závěr

U nemocných s čerstvě vzniklou dysfunkcí LK a biopticky detekovanou myokarditidou došlo ve srovnání se skupinou bez průkazu zánětlivé infiltrace v šestiměsíčním sledování ke statisticky významnějšímu zlepšení funkce LK i funkčního stavu nemocných. Naopak přítomnost či nepřítomnost virů v myokardu neměla na změnu těchto parametrů významný vliv.

Práce vznikla za podpory Evropského regionálního rozvojového fondu – Projekt FNUSA-ICRC (No. CZ.1.05/1.1.00/02.0123) a grantu IGA MZ ČR NT14087-3/2013.

Literatura

- [1] J. Stehlik, L.B. Edwards, A.Y. Kucheryavaya, et al., The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-seventh official adult heart transplant report-2010, *Journal of Heart and Lung Transplantation* 29 (2010) 1089–1103.
- [2] L. Dellefave, E.M. McNally, The genetics of dilated cardiomyopathy, *Current Opinion in Cardiology* 25 (2010) 198–204.
- [3] U. Kühl, M. Pauschinger, M. Noutsias, et al., High prevalence of viral genomes and multiple viral infections in the myocardium of adults with “idiopathic” left ventricular dysfunction, *Circulation* 111 (2005) 887–893.
- [4] L.T. Cooper, The heat is off: immunosuppression for myocarditis revisited, *European Heart Journal* 30 (2009) 1936–1939.
- [5] U. Kühl, H.P. Schultheiss, Myocarditis, *Deutsches Ärzteblatt International* 109 (2012) 361–368.
- [6] A. D'Ambrosio, G. Patti, A. Manzoli, et al., The fate of acute myocarditis between spontaneous improvement and evolution to dilated cardiomyopathy: a review, *Heart* 85 (2001) 499–504.
- [7] L.T. Cooper, Myocarditis, *The New England Journal of Medicine* 360 (2009) 1526–1538.
- [8] U. Kühl, Antiviral treatment of myocarditis and acute dilated cardiomyopathy, *Heart Failure Clinics* 1 (2005) 467–474.
- [9] I. Kindermann, M. Kindermann, R. Kandolf, et al., Predictors of outcome in patients with suspected myocarditis, *Circulation* 118 (2008) 639–648.
- [10] U. Kühl, M. Pauschinger, P.L. Schwimmbeck, et al., Interferon- β treatment eliminates cardiotropic viruses and improves left ventricular function in patients with myocardial persistence of viral genomes and left ventricular dysfunction, *Circulation* 107 (2003) 2793–2798.
- [11] A.L. Caforio, F. Calabrese, A. Angelini, et al., A prospective study of biopsy-proven myocarditis: prognostic relevance of clinical and aetiopathogenetic features at diagnosis, *European Heart Journal* 28 (2007) 1326–1333.
- [12] R. Dennert, H.J. Crijns, S. Heymans, Acute viral myocarditis, *European Heart Journal* 29 (2008) 2073–2082.
- [13] H.P. Schultheiss, U. Kühl, What are the current treatment options for myocarditis?, *Dialogues in Cardiovascular Medicine* 14 (2009) 187–193.
- [14] U. Kühl, M. Noutsias, B. Seeberg, H.P. Schultheiss, Immunohistological evidence for chronic intramyocardial inflammatory process in dilated cardiomyopathy, *Heart* 75 (1996) 295–300.
- [15] B. Maisch, B. Bultman, S. Factor, World Heart Federation consensus conference's definition on inflammatory cardiomyopathy (myocarditis): report from two expert committees on histology and viral cardiomyopathy, *Heartbeat* 4 (1999) 3–4.
- [16] A. Frustaci, M.A. Russo, C. Chimenti, Randomized study on the efficacy of immunosuppressive therapy in patients with virus-negative inflammatory cardiomyopathy: the TIMIC study, *European Heart Journal* 30 (2009) 1995–2002.
- [17] I. Kindermann, C. Barth, F. Mahfoud, et al., Update on myocarditis, *Journal of the American College of Cardiology* 59 (2012) 779–792.
- [18] R.M. Lang, M. Bierig, R.B. Devereux, et al., Recommendations for chamber quantification, *European Journal of Echocardiography* 7 (2006) 79–108.
- [19] R. Wojnicz, E. Nowalany-Kozielska, C. Wojciechowska, et al., Randomized, placebo controlled study for immunosuppressive treatment of inflammatory dilated cardiomyopathy, *Circulation* 104 (2001) 39–45.
- [20] L.T. Cooper, Myocarditis, *Dialogues in Cardiovascular Medicine* 14 (2009) 155–168.
- [21] H.P. Schultheiss, U. Kühl, L.T. Cooper, The management of myocarditis, *European Heart Journal* 32 (2011) 2616–2625.
- [22] M.G. Friedrich, U. Sechtem, J. Schultz-Menger, et al., Cardiovascular magnetic resonance in myocarditis: a JACC White paper, *Journal of the American College of Cardiology* 17 (2009) 1475–1487.
- [23] H. Baccouche, H. Mahrholdt, G. Meinhardt, et al., Diagnostic synergy of non-invasive cardiovascular magnetic resonance and invasive endomyocardial biopsy in troponin-positive patients without coronary artery disease, *European Heart Journal* 30 (2009) 2869–2879.
- [24] M.A. Olimulder, J. van Es, M.A. Galjee, The importance of cardiac MRI as a diagnostic tool in viral myocarditis-induced cardiomyopathy, *Netherlands Heart Journal* 17 (2009) 481–486.
- [25] L.T. Cooper, K.L. Baughman, A.M. Feldman, et al., The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology, *Circulation* 116 (2007) 2216–2233.
- [26] A. Yilmaz, I. Kindermann, M. Kindermann, et al., Comparative evaluation of left and right ventricular endomyocardial biopsy: differences in complication rate and diagnostic performance, *Circulation* 122 (2010) 900–909.
- [27] M. Noutsias, M. Pauschinger, H.P. Schultheiss, U. Kühl, Advances in the immunohistological diagnosis of inflammatory cardiomyopathy, *European Heart Journal Supplements* 4 (2002) I54–I62.
- [28] H.T. Aretz, Myocarditis: the Dallas criteria, *Human Pathology* 18 (1987) 619–624.
- [29] J.W. Mason, J.B. O'Connell, A. Herskowitz, et al., A clinical trial of immunosuppressive therapy for myocarditis. The Myocarditis Treatment Trial Investigators, *The New England Journal of Medicine* 333 (1995) 269–275.
- [30] K.L. Baughman, Diagnosis of myocarditis: death of Dallas criteria, *Circulation* 113 (2006) 593–595.
- [31] O. Zimmermann, M. Kochs, T.P. Zwaka, et al., Myocardial biopsy based classification and treatment in patients with dilated cardiomyopathy, *International Journal of Cardiology* 104 (2005) 92–100.
- [32] F. Kuehe, J. Lindner, K. Matsche, et al., Prevalence of parvovirus B19 and human bocavirus DNA in the heart of patients with no evidence of dilated cardiomyopathy or myocarditis, *Clinical Infectious Diseases* 49 (2009) 1660–1666.
- [33] L.A. Blauwet, L.T. Cooper, Myocarditis, *Progress in Cardiovascular Diseases* 52 (2010) 274–288.
- [34] U. Lotze, R. Egerer, B. Glöck, et al., Low level myocardial parvovirus B19 persistence is a frequent finding in patients with heart disease but unrelated to ongoing myocardial injury, *Journal of Medical Virology* 82 (2010) 1449–1457.
- [35] F. Escher, S. Modrow, T. Sabi, et al., Parvovirus B19 profiles in patients with acute myocarditis and chronic dilated cardiomyopathy, *Medical Science Monitor* 14 (2008) 589–597.
- [36] S.C. Koepsell, D.R. Anderson, S.J. Radio, Parvovirus is a bystander in adult myocarditis, *Cardiovascular Pathology* 21 (2012) 476–481.
- [37] G.C. Stewart, J. Lopez-Molina, R.V. Gottumukkala, et al., Myocardial parvovirus B19 persistence: lack of association with clinicopathologic phenotype in adults with heart failure, *Circulation: Heart Failure* 4 (2011) 71–78.
- [38] C.T. Bock, K. Klingel, R. Kandolf, Human parvovirus B19-associated myocarditis, *The New England Journal of Medicine* 362 (2010) 1248–1249.
- [39] A. Frustaci, C. Chimenti, F. Calabrese, et al., Immunosuppressive therapy for active lymphocytic myocarditis. Virological and immunologic profile of responders versus nonresponders, *Circulation* 107 (2003) 857–886.
- [40] O. Zimmermann, C. Rodewald, M. Radermacher, et al., Interferon β -1b therapy in chronic viral dilated cardiomyopathy – is there a role for specific therapy?, *Journal of Cardiac Failure* 16 (2010) 348–356.