

Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



Nové diagnostické a terapeutické aspekty
zánětlivé kardiomyopatie

MUDr. Petr Kuchynka

Praha 2011

Doktorské studijní programy v biomedicině

Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.

Školící pracoviště: II. interní klinika - klinika kardiologie
a angiologie Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty
Univerzity Karlovy v Praze

Školitel: as. MUDr. Stanislav Šimek, CSc.

Konzultant: doc. MUDr. Tomáš Paleček, Ph.D.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

Obsah

Abstrakt	5
Abstract	6
1. Úvod	7
2. Cíle a hypotézy	8
3. Metodika	10
3.1 Soubor nemocných	10
3.2 Elektrokardiografie	10
3.3 Echokardiografie.....	10
3.4 Laboratorní vyšetření krve.....	12
3.5 Endomyokardiální biopsie	12
3.6 Léčba.....	13
3.7 Sledování nemocných.....	14
3.8 Statistické hodnocení	14
4. Výsledky	15
4.1 Klinické, echokardiografické a EKG charakteristiky souboru	15
4.2 Laboratorní vyšetření.....	16
4.3 Endomyokardiální biopsie	17
4.4 Sérologické vyšetření.....	18
4.5 Cílená léčba řízená nálezem v endomyokardiální biopsii	19
4.5.1 Nemocní s bioptickým průkazem <i>Borrelia burgdorferi</i> léčení ceftriaxonem	19
4.5.2 Nemocní léčení imunosupresí.....	20
4.5.3 Nemocní léčení antivirotiky	21
5. Diskuze	23
5.1 Nálezy v endomyokardiální biopsii	23
5.2 Sérologické vyšetření.....	24

5.3	Cílená léčba	25
5.3.1	Skupina nemocných s průkazem <i>Borrelia burgdorferi</i>	25
5.3.2	Skupina nemocných léčená kombinovanou imunosupresí	25
5.3.3	Skupina nemocných léčená antivirotiky	26
6.	Závěry	27
7.	Použitá literatura	28
8.	Seznam publikací autora	32

Abstrakt

Úvod: Zánětlivá kardiomyopatie (ZKMP) patří mezi nefamiliární formy dilatační kardiomyopatie (DKMP) a endomyokardiální biopsie (EMB) je stěžejní pro její diagnostiku.

Cíle: Zjistit u nemocných s DKMP nejasné etiologie prevalenci ZKMP, zhodnotit význam sérologického vyšetření protilátek proti kardiotropním infekčním agens a posoudit efekt cílené léčby vedené výsledky EMB.

Metodika: EMB byla provedena u 56 jedinců průměrného věku 52 ± 10 let s DKMP nejasné etiologie a ejekční frakcí (EF) levé komory (LK) $< 40\%$ s anamnézou srdečního selhání kratší než 1 rok. Vzorky EMB byly analyzovány imunohistochemicky, metodou polymerázové řetězové reakce (PCR) a elektronovou mikroskopií.

Výsledky: Imunohistochemické vyšetření prokázalo zánětlivé poškození myokardu u 26 jedinců (46%), PCR metodou byl genom mikrobiálního agens zjištěn u 32 jedinců (57%). Elektronová mikroskopie prokázala přítomnost částic mikrobiálních agens u 41 jedinců (73%). Sérologickým vyšetřením krve jsme nezjistili pozitivitu IgM protilátek proti žádnému z vyšetřovaných mikrobiálních agens. Cílená léčba antibiotiky u nemocných s průkazem genomu *Borrelia burgdorferi* v EMB vedla k zmenšení rozměrů LK, zlepšení EF LK a zmírnění symptomatologie srdečního selhání.

Závěr: ZKMP je častou příčinou DKMP nejasné etiologie. Cílená léčba antibiotiky vede u nemocných s EMB průkazem genomu *Borrelia burgdorferi* ke zlepšení morfologicko-funkčních parametrů LK a ke zmírnění symptomatologie srdečního selhání. Sérologické vyšetření se nezdá být přínosné pro diagnostiku ZKMP.

Klíčová slova: dilatační kardiomyopatie, endomyokardiální biopsie, myokarditida, virus, *Borrelie*

Abstract

Introduction: Inflammatory cardiomyopathy (DCMi) represents a non-familial form of dilated cardiomyopathy (DCM) and endomyocardial biopsy (EMB) is crucial for its diagnosis.

Aims: To assess the prevalence of DCMi in patients with DCM of unclear origin, to evaluate the significance of serological tests for antibodies against infectious cardiotoxic agents and to analyze the effect of specific therapy guided by EMB results.

Methods: EMB was performed in 56 subjects (mean age 52 ± 10 years) with DCM of unclear etiology and left ventricular (LV) ejection fraction (EF) $< 40\%$ with a history of heart failure less than 1 year. EMB samples were analyzed by immunohistochemistry, polymerase chain reaction (PCR) and electron microscopy.

Results: Immunohistochemical examination revealed myocardial inflammation in 26 patients (46%), the PCR method detected genome of microbial agents in 32 patients (57%). Electron microscopy showed the presence of particles of microbial agents in 41 patients (73%). Serological blood tests found no IgM antibody positivity against any of the investigated microbial agents. Targeted antibiotic therapy in patients with evidence of *Borrelia burgdorferi* (Bb) genome in the EMB led to a reduction in LV size, improvement of LV EF and alleviate symptoms of heart failure.

Conclusion: DCMi is a frequent cause of DCM of unclear etiology. Specific antibiotic therapy in patients with evidence of Bb genome in EMB seems to improve morphological and functional parameters of the LV and to alleviate symptoms of heart failure. Serology does not appear to be beneficial for diagnosis of DCMi.

Keywords: dilated cardiomyopathy, endomyocardial biopsy, myocarditis, virus, *Borrelia*

1. Úvod

Zánětlivá kardiomyopatie (ZKMP) je definována jako myokarditida spojená se srdeční dysfunkcí (1) a patří mezi nefamiliární formy dilatační kardiomyopatie (DKMP) (2). Myokarditidu vedoucí ke vzniku ZKMP představuje akutní nebo chronický zánětlivý proces myokardu, který může mít celou řadou infekčních (3) či neinfekčních příčin (4). Podstatně častěji se na rozvoji myokarditidy podílejí infekční agens, a to především virová (5). Všeobecně je přijímán třístupňový model vývoje ZKMP, kdy na akutní zánět navazuje fáze chronického poškození myokardu, které je charakterizováno remodelací srdce a vývojem systolické dysfunkce levé komory (LK) (6). K definitivnímu průkazu zánětu srdečního svalu je u jedinců s podezřením na ZKMP prováděna endomyokardiální biopsie (EMB). Komplexní analýza EMB se v současnosti opírá o vyšetření imunohistochemické cílené na průkaz zánětlivé infiltrace myokardu a o vyšetření mikrobiologické zaměřené na průkaz perzistující infekce v myokardu. Imunohistochemické vyšetření ZKMP využívá detekce širokého spektra antigenů lidských leukocytů třídy I a II (HLA I a II), a průkazu CD (cluster of differentiation) znaků infiltrujících zánětlivých buněk (7). Mikrobiologické vyšetření je postaveno na průkazu přítomnosti kardiotropních virů či nevirových patogenů v myokardu nejčastěji polymerázovou řetězovou reakcí (PCR). Četnost záchytu jednotlivých virových agens v EMB se podle dosud provedených prací velice liší (8, 9) a o výskytu nevirových agens jako např. borrelií existuje jen minimální množství poznatků (10). Komplexní analýza EMB založená na kombinaci imunohistochemických a mikrobiologických metod je nutná s ohledem na možnost podávání specifické léčby. U nemocných s průkazem mikrobiálního agens v EMB připadá v úvahu cílená léčba antibiotiky (11), antivirotiky (12) či imunomodulační léčba interferony (13). Nemocné s absencí mikrobiálních agens v EMB a průkazem zánětlivé infiltrace myokardu je možné léčit naopak imunosupresivy (14, 15).

2. Cíle a hypotézy

Cíl číslo 1:

Zjistit u nemocných s dilatační kardiomyopatií nejasné etiologie a anamnézou srdečního selhání kratší než 1 rok prevalenci ZKMP, a to na základě komplexního vyšetření endomyokardiální biopsie s hodnocením:

- přítomnosti imunohistochemických známek zánětu myokardu;
- přítomnosti genomu řady kardiotropních virů (herpetických virů, enterovirů, adenovirů a parvoviru B 19) a genomu *Borrelia burgdorferi*;
- elektronmikroskopické přítomnosti mikrobiálních agens, a to především virových

Hypotéza číslo 1:

Jedinci se ZKMP představují významnou podskupinu nemocných s morfologicko-funkčním obrazem dilatační kardiomyopatie. Přítomnost virového agens v myokardu je častá, virová agens se navíc nemusí vyskytovat v myokardu izolovaně, kdy nezdědka lze prokázat pozitivitu dvou i více virových patogenů. Česká republika je vysoce endemickou oblastí lymeské borreliózy a *Borrelia burgdorferi* se tak může často podílet na vzniku ZKMP. Elektronová mikroskopie může být přínosná v diagnostice ZKMP, protože se na rozdíl od PCR neomezuje na detekci jen předem určených mikrobiálních agens.

Cíl číslo 2:

Zhodnotit význam sérologického vyšetření protilátek proti kardiotropním virům a *Borrelia burgdorferi* v diagnostice biopticky zjištěné ZKMP.

Hypotéza číslo 2:

Pozitivní nález protilátek v třídách IgM a IgG je užitečný pro diagnostiku a hodnocení aktivity virového, resp. neviróvého infekčního onemocnění.

Sérologické vyšetření protilátek proti kardiotropním virům a *Borrelia burgdorferi* může být tedy přínosné při hodnocení významu perzistence virových a dalších infekčních agens detekovaných v EMB.

Cíl číslo 3:

Zhodnotit, zdali cílená léčba vede ke zlepšení strukturálních změn a systolické funkce LK a zlepšení symptomatologie srdečního selhání u nemocných s biopticky verifikovanou ZKMP.

Hypotéza číslo 3:

Borrelia burgdorferi je považována za primární patogen. V případě průkazu této spirochety v EMB povede cílená léčba antibiotiky k významnému zlepšení morfologických a funkčních parametrů LK a ke zmírnění symptomatologie srdečního selhání.

Perzistence virů v myokardu může souviset s rozvojem ZKMP a cílené léčba antivirotyky by tedy mohla vést k příznivému ovlivnění echokardiograficky zjišťovaných parametrů LK a ke zmírnění obtíží nemocných hodnocených NYHA (New York Heart Association) klasifikací.

Kombinovaná imunosupresivní léčba u nemocných s průkazem zánětlivého poškození myokardu a absencí průkazu mikrobiálního agens v EMB a symptomatologií srdečního selhání delší než 6 měsíců může podle dosud provedených studií vést ke zlepšení morfologických i funkčních parametrů LK a ke zmírnění dušnosti nemocných. Domníváme se, že tato léčba u nemocných s délkou symptomů srdečního selhání kratší než půl roku bude rovněž účinná, neboť časná imunosupresivní léčba by u těchto jedinců mohla efektivněji zabránit progresi negativní srdeční remodelace.

3. Metodika

3.1 Soubor nemocných

Soubor nemocných tvoří 56 jedinců (26 žen) průměrného věku 52 ± 10 let s nově vzniklým srdečním selháním nejasné etiologie. Jednalo se o nemocné se symptomy srdečního selhávání minimálně II. třídy dle NYHA klasifikace, trvajících maximálně 12 měsíců, systolickou dysfunkcí LK definovanou ejekční frakcí (EF) $< 40\%$, která perzistovala i po nejméně týdenní standardní léčbě srdečního selhávání. Za standardní léčbu byla považována terapie ACE inhibitory, resp. při jejich intoleranci sartany, dále betablokátory a při EF $< 35\%$ a symptomatice NYHA III. či IV. třídy spironolaktonem. Jedincům s projevy městnavé srdeční slabosti byla podávána kličková diuretika. U všech nemocných byly vyloučeny zjevné patologie, které by mohly vysvětlit systolickou dysfunkci LK. Jednalo se o více než 50% stenózu na jedné z hlavních větví věnčitých tepen dle koronarografického vyšetření, významnou chlopenní vadu (mimo funkční mitrální regurgitace), dekompenzovanou arteriální hypertenzi (TK \geq 180/110), supraventrikulární tachyarytmii, neléčenou thyreopatii, anamnézu etylismu, kardiotoxické onkologické léčby a familiární formu dilatační kardiomyopatie.

3.2 Elektrokardiografie

U všech jedinců bylo při přijetí provedeno standardní 12 svodové EKG. Hodnocenými parametry byly charakter srdečního rytmu, absence či průkaz kompletní blokády levého raménka Tawarova, denivelace ST úseků o více než 1 mm a přítomnost inverzí vln T.

3.3 Echokardiografie

Echokardiografická vyšetření byla prováděna v den provedení EMB a dále za 1, 3, 6, 12 měsíců. Tloušťka mezikomorového septa (IVS), zadní stěny LK (zsLK), end-

diastolický (LKd) a end-systolický rozměr (LKs) LK byly měřeny způsobem M v parasternální projekci na dlouhou osu LK (16). Za normální byly považovány hodnoty $LKd \leq 60\text{mm}$ a $LKs \leq 38\text{ mm}$ (17). Index sfericity byl hodnocen v apikální čtyřdutinové projekci jako poměr longitudinálního a transversálního rozměru LK v end-diastole (18). End-diastolický (EDV) a end-systolický objem LK (ESV) byly stanoveny Simpsonovou metodou v apikální čtyřdutinové projekci a pomocí nich byla následně spočtena EF LK (19). Za normální byly považovány hodnoty $EDV \leq 155\text{ ml}$, $ESV \leq 58\text{ ml}$ a $EF \geq 55\%$ (17). Typ diastolické funkce LK byl stanoven na základě kombinovaného hodnocení parametrů transmitrálního toku, toku v plicní žíle a pulzní tkáňové dopplerovské echokardiografie (20). Rozměr levé síně (LS) byl měřen způsobem M v parasternální projekci na dlouhou osu LK (16). K hodnocení objemu levé síně (LSV) bylo využito biplanární Simpsonovy metody (21). Dilatace LS byla definována hodnotami $LS > 40\text{mm}$, resp. $LSV > 28\text{ml/m}^2$ (17). Významnost funkční mitrální regurgitace (MR) byla posuzována semikvantitativně pomocí čtyřstupňové škály (stupně 1+ až 4+) (22). End-diastolický rozměr pravé komory (PK) a maximální rozměr pravé síně (PS) byly měřeny v apikální čtyřdutinové projekce (23). Za normální byly považovány hodnoty $PK \leq 42\text{mm}$ a $PS \leq 44\text{mm}$ (24). Systolická funkce pravé komory byla posuzována podle amplitudy pohybu volného okraje trikuspidálního anulu (TAPSE) (25). Za normální systolickou funkci PK byly považovány hodnoty $TAPSE \geq 17\text{mm}$ (24). Systolický tlak v plicnici (PASP) byl odhadován na základě hodnocení vrcholového gradientu trysky trikuspidální regurgitace s připočtením odhadovaného tlaku v pravé síni (26). K odhadu tlaku v pravé síni bylo využíváno hodnocení respirační variability rozměru dolní duté žíly, prováděné v subkostální projekci (27). Přítomnost plicní hypertenze byla definována hodnotou $PASP \geq 40\text{mmHg}$ (24).

3.4 Laboratorní vyšetření krve

Při přijetí k hospitalizaci byly u všech nemocných laboratorně stanovovány základní parametry indikující systémovou zánětlivou odpověď (hladina leukocytů v krevním obraze, C-reaktivní protein metodou turbidimetrie), hladina B-natriuretického peptidu (BNP) (chemiluminiscenční metoda), hodnota troponinu I (chemiluminiscenční metoda) a sérologické vyšetření protilátek v třídách IgM a IgG proti borreliím (Bb) (ELISA, konfirmace pozitivních nálezů metodou Western blot) a vyšetření protilátek proti HIV 1,2 (microparticle enzyme immunoassay) a proti virům hepatitid B a C (microparticle enzyme immunoassay). U prvních 36 jedinců bylo též při přijetí provedeno sérologické vyšetření protilátek v třídách IgM a IgG proti adenovirům (ADV) (komplement fixační reakce), parvoviru B19 (ELISA), enterovirům (echoviry a coxackie viry; komplement fixační reakce) a proti následujícím herpetickým virům: lidský herpes virus 6 (HHV 6) metodou imunofluorescence, herpes simplex virus 1 (HSV 1), virus Epsteina a Barrové (EBV) a cytomegaloviru (CMV) metodou ELISA.

3.5 Endomyokardiální biopsie

Všichni nemocní podepsali informovaný souhlas s provedením EMB. Biopsie byla prováděna z pravé komory cestou vena jugularis interna či z levé komory cestou arteria femoralis pomocí standardně vyráběného bioptomu (Cordis©). Rozhodnutí o provedení EMB z levé či pravé komory záviselo na zvyklosti katetrizujícího lékaře. Cílovou oblastí pro odběr vzorků srdeční svaloviny byla vždy oblast interventrikulárního septa. U každého jedince bylo EMB získáno 8-9 vzorků srdeční tkáně o průměrné velikosti 1-2 mm³. Dva vzorky byly ukládány do roztoku 10% formolu a následně vyšetřeny histologicky a imunohistochemicky. Histologické hodnocení bylo prováděno na základě Dallaských kritérií (28) a imunohistochemické vyšetření bylo založeno na průkazu CD3 znaků T lymfocytů a CD 68 znaků makrofágů (7). Nález byl hodnocen jako pozitivní pro přítomnost

myokardiálního zánětu v případě průkazu minimálně 5 makrofágů či 7 lymfocytů na mm² (7). Jeden vzorek EMB byl odeslán do Státního zdravotního ústavu na elektron-mikroskopické vyšetření cílené na přítomnost virů a u 5 nemocných ještě 1 vzorek EMB cílený na přítomnost Borrelií. Vzorky EMB byly transportovány ve fyziologickém roztoku a v laboratoři byla jeho elektron-mikroskopická analýza založena především na tzv. negativním barvení, při kterém se ke zlepšení vizualizace mikrobiálních agens používají soli těžkých kovů (29). Dalších pět vzorků EMB bylo vyšetřeno metodou PCR pro průkaz přítomnosti genomu DNA virů a borrelií nebo reverzní PCR pro průkaz přítomnosti RNA virů. Tyto vzorky biotického materiálu byly transportovány do příslušných laboratoří Státního zdravotního ústavu také ve fyziologickém roztoku. Vyšetření PCR bylo cílené na průkaz genomu herpetických virů (herpes simplex virus 1 a 2, lidský herpes virus 6, virus Epstein a Barrové, cytomegalovirus), enterovirů (echoviry a coxsackie typu A a B), adenovirů, parvoviru B19 a Borrelia burgdorferi. Pro většinu vyšetřovaných mikrobiálních agens byla dostupná pouze kvalitativní diagnostika (anglicky nested PCR). Kvantitativní PCR vyšetření metodikou tzv. real time PCR bylo dostupné jen u parvovirů a herpetických virů, a to jen u limitovaného počtu nemocných, proto jeho výsledky nejsou uvedeny.

3.6 Léčba

Všichni nemocní dostávali optimalizovanou léčbu chronického srdečního selhání podle současných doporučení České kardiologické společnosti (30), ke které byla dle nálezu v EMB v indikovaných případech přidávána léčba cílená.

Nemocní s průkazem genomu Borrelia burgdorferi v EMB byli intravenózně léčeni cefalosporiny III. generace, ceftriaxonem, v dávce 2 gramy 1x denně dobu 3 týdnů. Jedinci, kteří měli imunohistochemické známky myokarditidy a neměli PCR zjištěný genom borrelie či vyšetřovaných kardiotropních virů a negativní byl i nález elektronové mikroskopie, byli perorálně léčeni kombinovanou

imunosupresivní terapií složenou z prednisonu a azathioprinu podle schématu užitého Wojniczcem (14). Kortikoterapie trvala celkem 90 dní a spočívala v iničiální dávce prednisonu 1 mg/kg podávané po dobu 12 dní a poté postupně snižované o 5 mg každých 5 dnů až na koncovou dávku 0,2 mg/kg. Azathioprin byl podáván 100 dní v dávce 1 mg/kg a tato dávka nebyla během léčby měněna.

Jedinci s bioptickým průkazem virového genomu v EMB byli cíleně léčeni antivirotiky. Léčba byla u všech nemocných intravenózní (u 1 z nemocných intravenózní jen zpočátku a pak perorální) a trvala 2 týdny. U jednoho nemocného s pozitivitu genomu HSV 1 a byl podáván acyclovir prvních 5 dní intravenózně 500 mg po 8 hodinách a poté 9 dní perorálně 400 mg po 4 hodinách s vynecháním 1 dávky v průběhu noci. Dvěma nemocným s pozitivitou genomu HHV 6 byl podáván gancyclovir v dávce 5 mg/kg po 12 hodinách. Jeden nemocný s pozitivitou genomů CMV i EBV byl také léčen gancyclovirem ve stejné dávce.

3.7 Sledování nemocných

Po propuštění z diagnostické hospitalizace byly za 1, 3, 6 a 12 měsíců od EMB provedeny ambulantní kontroly se zhodnocením symptomatologie srdečního selhání a provedením fyzikálního vyšetření, EKG a echokardiografického vyšetření.

3.8 Statistické hodnocení

K statistickému hodnocení bylo použito programu STATISTICA, verze 8 (Statsoft ©). Hodnoty jsou uváděny jako průměr \pm směrodatná odchylka pro kontinuální proměnné či jako absolutní hodnota a procentuální podíl pro dichotomické proměnné. Párový i nepárový dvouvýběrový Studentův t-test a Mann-Whitneyův U test byly využity ke zhodnocení rozdílů nezávislých proměnných. Závislé proměnné byly hodnoceny pomocí Wilcoxonova testu. Za statistiky významné byly považovány hodnoty $p < 0,05$.

4. Výsledky

4.1 Klinické, echokardiografické a EKG charakteristiky souboru

Klinické charakteristiky vyšetřovaného souboru jsou uvedeny v Tabulce číslo 1. Většina jedinců byla při přijetí výrazně symptomatická, ve funkční třídě NYHA III a IV (73%). Průměrná délka trvání symptomů srdečního selhání nečinila více než 1,5 měsíce (maximální trvání symptomů bylo 10 měsíců, minimální 14 dnů).

Tabulka číslo 1 Klinická charakteristika souboru

Počet jedinců	56
Věk (roky)	52±10
Muži/ženy	36/20
Výška (cm)	174±10
Váha (kg)	87±19
Systolický TK (mmHg)	117±15
Diastolický TK (mmHg)	71±13
Tepová frekvence (min ⁻¹)	81±14
NYHA třída II/III/IV	15/15/26
Symptomy srdečního selhání (měsíce)	1,4±0,9

Parametry zjištěné při vstupním echokardiografickém vyšetření jsou souhrnně uvedeny v Tabulce číslo 2. Objemy a rozměry LK byly v průměru zřetelně zvýšeny, systolická funkce LK byla těžce snížena. Těžká diastolická dysfunkce (restriktivní typ plnění) byla zjištěna u 20 jedinců (36%), středně významná dysfunkce (tzv. pseudonormalizace plnění) u 11 nemocných (20%). Lehkou diastolickou dysfunkci LK (porucha relaxace) jsme našli u 10 jedinců (18%). U 15 nemocných nebylo možné diastolickou funkci LK vzhledem k nepřítomnosti sinusového rytmu či existenci významné mitrální regurgitace validně posoudit. Dilatace LS byla přítomná u všech nemocných. Významná sekundární mitrální regurgitace (stupně 3+ a 4+) se vyskytovala u 10 jedinců (18% souboru). Plicní hypertenze byla zjištěna u 41% souboru.

Při elektrokardiografickém vyšetření byla při přijetí u 5 jedinců přítomna fibrilace síní s klidnou odpovědí komor ($< 100/\text{min}$), u ostatních vyšetřovaných byl přítomen sinusový rytmus. Blokáda levého raménka Tawarova se vyskytovala u 11 jedinců (20%). Repolarizační změny, tj. deprese úseků ST a inverze vln T, byly zjištěny u 26 nemocných (46%).

Tabulka číslo 2 Echokardiografické parametry souboru

IVS (mm)	10±1
LKd (mm)	68±7
LKs (mm)	59±8
zsLK (mm)	9±1
EDV (ml)	207±70
ESV (ml)	151±55
EF (%)	26±6
Index sféricity LK	1,5±0,2
LS (mm)	51±7
LSV (ml)	105±34
PS (mm)	42±7
PK (mm)	37±6
TAPSE (mm)	17±4
PASP (mmHg)	42±11
MR 1+/2+/3+/4+	23/23/8/2

4.2 Laboratorní vyšetření

Vyšší hladina CRP ($> 7 \text{ mg/l}$) byla přítomna u 15 jedinců (27%) a leukocytóza ($> 10 \cdot 10^9/\text{l}$) u 11 nemocných (20%). Normální hladina BNP $\leq 100 \text{ ng/l}$ nebyla při přijetí zjištěna u žádného z nemocných. U 25% jedinců se hodnota BNP pohybovala v intervalu 100-400 ng/l a u 75% bylo BNP výrazně zvýšeno nad 400 ng/l. Troponin I byl zvýšen nad horní hranici normy ($> 0,03 \mu\text{g/l}$) u 77% vyšetřovaných.

4.3 Endomyokardiální biopsie

Výsledky vyšetření bioptických vzorků metodou PCR shrnuje Tabulka číslo 3. PCR metodou jsme prokázali genom mikrobiálního agens celkem u 32 jedinců (57%). Genom *Borrelia burgdorferi* byl zjištěn u 14 jedinců (25%). Z virových agens byly nejčastěji detekovány parvoviry v 39%, dále HHV6 v 18%, enteroviry v 14%, HSV 1 v 5%, CMV v 4%, EBV v 2%. U 3 nemocných (5%) byly v EMB nalezeny současně genomy 2 mikrobiálních agens a u 4 (7%) genomy 3 mikrobiálních agens. Genomy HSV 2 a adenovirů nebyly zjištěny u žádného z nemocných.

Tabulka číslo 3 Prevalence genomu virů a *Borrelia burgdorferi* v EMB

HSV 1	5%
HSV 2	0%
EBV	2%
CMV	4%
HHV 6	18%
Enteroviry	14%
Adenoviry	0%
Parvovirus B19	39%
<i>Borrelia burgdorferi</i>	25%

Elektronová mikroskopie prokázala přítomnost částic mikrobiálních agens u 41 jedinců (73%) (Tabulka číslo 4). V 68 % se jednalo o izolovaný výskyt agens a u 32 % jedinců byla zjištěna 2, respektive 3 mikrobiální agens současně. U necelé poloviny souboru (48%) se jednalo o záchyt částic morfologie virové čeledi herpesviridae, ve 23% byly zjištěny částice morfologie virové čeledi parvoviridae, u 13% picornaviridae a u 2% paramyxoviridae. Z nevirových agens jsme detekovali u 4% souboru částice mykoplasm a u 2% *Borrelie burgdorferi*. Výskyt *Borrelie burgdorferi* byl takto zjištěn u jednoho nemocného s negativitou PCR vyšetření cíleného na průkaz této spirochety.

Tabulka číslo 4 Prevalence virových čeledí a nevirových agens v EMB zjištěných elektronovou mikroskopií

Herpesviridae	48%
Parvoviridae	23%
Picornaviridae	13%
Paramyxoviridae	2%
Mycoplasma	4%
Borrelia	2%

Imunohistochemické vyšetření prokázalo zánětlivé postižení myokardu u 26 jedinců (46%). Pozitivitu imunohistochemického vyšetření doprovázenou současným průkazem genomu mikrobiálního agens či nálezem mikrobiální částice elektronovou mikroskopií v myokardu jsme zjistili u 22 jedinců (39% nemocných). U 4 jedinců (7%) byly patrné imunohistochemické známky zánětu myokardu bez průkazu genomu či částic mikrobiálního agens. U 19 jedinců (34%) byl v myokardu přítomen genom nebo částice mikrobiálních agens, imunohistochemické vyšetření však bylo negativní. U 11 jedinců (20%) jsme neprokázali ani imunohistochemické známky zánětlivé infiltrace myokardu, ani mikrobiální agens.

4.4 Sérologické vyšetření

Sérologickým vyšetřením krve jsme nezjistili pozitivitu IgM protilátek proti žádnému z vyšetřovaných virových či bakteriálních agens. Pozitivita protilátek v třídě IgG proti HSV 1 byla zjištěna u 100% vyšetřených, proti viru EBV u 96%, proti CMV u 68%, proti HHV 6 u 56%, proti echovirům v 67%, proti coxsackie virům v 19%, proti parvoviru B19 v 76% a proti ADV u 19% vyšetřených. U 13% byla přítomna pozitivita IgG protilátek proti Bb. Sérologické vyšetření protilátek IgG proti tomuto patogenu vykazovalo hraničně uspokojivou pozitivní i negativní prediktivní hodnotu (71%, resp. 82%). Sérologická vyšetření HIV a hepatitid B a C byla zcela negativní.

4.5 Cílená léčba řízená nálezem v endomyokardiální biopsii

4.5.1 Nemocní s bioptickým průkazem *Borrelia burgdorferi* léčení ceftriaxonem

U 14 nemocných (25% souboru) jsme prokázali genom či částice *Borrelie burgdorferi* v EMB. U 2 jedinců byla elektronovou mikroskopií navíc zjištěna současně i přítomnost částic mykoplazmat. Vývoj echokardiografických parametrů při cílené léčbě ceftriaxonem ukazuje Tabulka číslo 5. Po léčbě antibiotikem došlo během 12 měsíčního sledování k statisticky významnému zmenšení rozměrů a objemů LK. Došlo též k výraznému zlepšení globální systolické funkce LK hodnocené EF LK. Vstupně byla středně významná a těžká diastolická dysfunkce (pseudonormalizované resp. restriktivní plnění) LK přítomná u 8 nemocných a po 12 měsících jen u 2 nemocných; ke zlepšení plnění o minimálně 1 stupeň klasifikace diastolické dysfunkce došlo u 8 nemocných (57% jedinců). Významně se zmenšila mitrální regurgitace. Zaznamenáno bylo i signifikantní zlepšení systolické funkce PK a významný pokles systolického tlaku v plicnici.

Příznivé změny v remodelaci LK byly zjištěny již během prvních 3 měsíců sledování a byly následovány pozitivní remodelací pravostranných srdečních oddílů. K normalizaci rozměrů LK a její globální systolické funkce došlo konkrétně u 2 nemocných, u zbylých 12 jedinců (včetně 2 jedinců s průkazem nejen *Borrelie burgdorferi*, ale i mykoplazmat) sice nebyla zjištěna úplná normalizace systolické funkce LK, ale u všech z nich došlo ke zlepšení EF doprovázeného zmenšením end-diastolických i end-systolických rozměrů LK.

Výrazně byla také zlepšena symptomatologie srdečního selhání hodnocená NYHA klasifikací ($3,2 \pm 0,9$ vstupně a $1,5 \pm 0,7$ po 12 měsících; $p < 0,05$). Zlepšení v symptomatologii srdečního selhání o minimálně 1 třídu klasifikace NYHA bylo pozorováno u všech nemocných.

Tabulka číslo 5 Vývoj echokardiografických parametrů jedinců s EMB pozitivitou *Borrelia burgdorferi* léčených ceftriaxonem (n=14)

	Vstupně	1.měsíc	3.měsíc	6.měsíc	12.měsíc
IVS (mm)	10±1	10±1	10±1	10±2	10±2
LKd (mm)	66±5	64±5	64±4*	58±7†	59±5*
LKs (mm)	58±7	53±8	50±8*	45±8*	45±6*
zsLK	10±1	9±2	10±2	9±1	10±1
EDV (ml)	189±37	174±50	165±42*	150±39*	150±47*
ESV (ml)	140±34	117±40	102±33†	84±30†	85±36†
EF (%)	26±6	33±9†	39±12†	45±9†	47±10†
LS (mm)	50±6	49±4	48±5	44±5*	45±4*
LSV (ml)	90±45	104±26	87±34	64±4	70±18
PS (mm)	41±7	40±10	41±8	36±5*	39±3
PK (mm)	36±6	35±6	36±6	32±4*	34±4
TAPSE	17±3	19±3	20±5*	21±3†	21±3†
PASP	42±10	34±5*	37±8	29±5†	34±4*
MR 1-4+	1,9±0,9	1,5±0,9	1,5±0,8	1,2±0,3*	0,9±0,6†

* p<0,05; † p<0,01 vstupní vyšetření versus jednotlivá následující měření v průběhu 12 měsíčního sledování

4.5.2 Nemocní léčení imunosupresí

Jednalo se o skupinu 4 jedinců s pozitivním imunohistochemickým vyšetřením a absencí nálezu mikrobiálního agens v EMB. Vývoj echokardiografických parametrů shrnuje Tabulka číslo 6. Vzhledem k malé velikosti této skupiny nebylo možno srovnat vývoj těchto parametrů pomocí statistických metod; je však patrné, že v průběhu sledování byly zaznamenány pozitivní změny ve smyslu zmenšení objemů LK a zmenšení velikosti pravé komory a srdečních síní, zlepšení systolické funkce LK i pravé komory, zmenšení tíže funkční mitrální regurgitace i hodnoty systolického tlaku v plicnici. Dále byly zjištěny změny plnění LK, kdy vstupně byla středně významná a těžká diastolická dysfunkce LK přítomná u 3 nemocných a po 12 měsících jen u 1 nemocného; ke zlepšení plnění o minimálně 1 stupeň klasifikace diastolické dysfunkce došlo u 2 nemocných. U všech nemocných

léčených kombinovanou imunosupresí došlo k zmiřnění symptomatologie srdečního selhání (vstupně NYHA třída $4,0 \pm 0$, po 12 měsících $1,7 \pm 0,9$).

Tabulka číslo 6 Vývoj echokardiografických parametrů jedinců léčených imunosupresí (n=4)

	Vstupně	1.měsíc	3.měsíc	6.měsíc	12.měsíc
IVS (mm)	9±1	9±1	9±1	10±1	10±1
LKd (mm)	71±3	70±4	73±2	73±1	74±2
LKs (mm)	61±3	61±3	61±2	60±1	63±2
zsLK	9±1	8±1	9±1	10±1	8±1
EDV (ml)	195±28	199±23	212±19	202±26	170±22
ESV (ml)	155±23	157±11	150±24	142±28	121±29
EF (%)	20±4	21±3	30±6	30±5	30±8
LS (mm)	52±3	59±4	50±4	46±2	46±3
LSV (ml)	116±13	110±10	100±8	73±4	79±4
PS (mm)	45±2	50±7	42±2	37±6	32±4
PK (mm)	41±3	40±3	37±2	36±4	29±1
TAPSE	15±3	18±2	18±5	18±6	20±8
PASP	53±7	59±6	46±7	37±8	49±6
MR 1-4+	2,9±0,7	2,0±0,3	2,2±0,8	2,3±0,3	2,2±0,3

4.5.3 Nemocní léčení antivirotiky

Čtyři nemocné jsme na základě výsledku EMB cíleně léčili antivirotiky. Vývoj echokardiografických parametrů v průběhu sledování shrnuje Tabulka číslo 7.

Vzhledem k malé velikosti této skupiny nebylo ani zde možno srovnat vývoj těchto parametrů pomocí statistických metod. K normalizaci end-diastolických a end-systolických rozměrů a normalizaci systolické funkce LK došlo jen u 1 nemocného. Jednalo se o jedince s průkazem genomu HSV 1 léčeného acyclovirem. U dalších 2 nemocných, léčených gancyclovirem pro přítomnost HHV 6, došlo k mírnému zlepšení EF LK. U 1 nemocného, kterému byl vzhledem k průkazu CMV a EBV podáván rovněž gancyclovir, se EF LK nezměnila. Vstupně byla středně významná a těžká diastolická dysfunkce LK přítomná u 4

nemocných a po 12 měsících jen u 1 nemocného; ke zlepšení plnění o minimálně 1 stupeň klasifikace diastolické dysfunkce došlo u 3 nemocných. U všech jedinců došlo k zlepšení symptomatologie srdečního selhání (NYHA třída vstupně $3,0 \pm 0,8$ a po 12 měsících $1,5 \pm 0,5$).

Tabulka číslo 7 Vývoj echokardiografických parametrů jedinců léčených antirotiky (n=4)

	Vstupně	1.měsíc	3.měsíc	6.měsíc	12.měsíc
IVS (mm)	9±1	9±2	8±1	11±1	10±1
LKd (mm)	75±7	74±8	74±12	72±6	66±16
LKs (mm)	67±7	65±11	62±19	59±9	30±21
zsLK (mm)	10±1	7±1	8±1	9±1	10±1
EDV (ml)	266±100	273±122	248±145	305±178	291±219
ESV (ml)	203±89	199±102	181±129	226±166	206±198
EF (%)	25±4	30±9	35±13	33±12	44±20
LS (mm)	53±7	51±6	47±10	46±6	51±5
LSV (ml)	102±20	105±13	50±14	81±23	87±15
PS (mm)	38±3	41±2	39±5	36±4	39±5
PK (mm)	36±3	38±1	31±4	33±2	33±1
TAPSE	19±2	23±1	21±1	22±5	21±5
PASP	35±4	36±4	35±4	33±5	30±3
MR 1-4+	1,7±0,1	1,5±0,6	1,7±0,6	1,3±0,5	1,2±0,2

5. Diskuze

5.1 Nálezy v endomyokardiální biopsii

Na základě komplexní analýzy EMB vycházející z imunohistochemického vyšetření a z mikrobiologických metod zahrnujících PCR a elektronovou mikroskopii jsme prokázali přítomnost virového či bakteriálního agens u 73% jedinců zkoumaného souboru. Elektronovou mikroskopií jsme zjistili mikrobiální agens u 73% jedinců a metodou PCR u 57% nemocných. Pozitivita průkazu mikrobiálního agens byla u 39% nemocných doprovázena zánětlivým postižením myokardu. U 7% jedinců jsme imunohistochemické známky zánětu myokardu zjistili izolovaně. Pouze u 20% nemocných celého zkoumaného souboru byla EMB zcela negativní stran průkazu mikrobiálního patogenu i stran negativity imunohistochemického vyšetření. V souhrnu lze tedy říci, že výsledky naší studie nasvědčují skutečnosti, že ZKMP by mohla mít zásadní podíl na etiologii nově vzniklého srdečního selhání na podkladě DKMP, což je v souladu s pracemi zahraničních autorů (8, 9). V naší práci byly nejčastěji zachyceny virovými agens herpetické viry a parvoviry. Z bakterií jsme relativně často, u čtvrtiny nemocných, prokázali přítomnost *Borrelia burgdorferi*, ostatní neviróvá agens se vyskytovala jen poměrně zřídka a jednalo se o záchyt mykoplazmat u 4% nemocných. Vyšší výskyt mikrobiálních agens v naší práci, než ve studiích zahraničních autorů, resp. nález neviróvých agens jako jsou mykoplasmata, je podmíněn tím, že analýza EMB nebyla založena pouze na PCR, ale opírala se rovněž o elektronovou mikroskopii. Na rozdíl od virů byly bakterie do současné doby stanovovány v EMB jen zřídka. V geografických oblastech podobných České republice se jednalo především o hodnocení přítomnosti infekce *Borrelia burgdorferi*. Ve studii německých autorů byl borreliový genom v myokardu zjištěn u méně než 1 % vyšetřených jedinců s dilatační kardiomyopatií (10). Recentní práce Bartůňka et al. však naznačila možnost výrazně většího zastoupení

borreliové infekce v etiologii DKMP (31). Přítomnost *Borrelia burgdorferi* v EMB byla v našem souboru zjištěna u jedné čtvrtiny všech nemocných. Daleko vyšší prevalenci tohoto infekčního patogenu v naší práci i v práci Bartůňka et al. v porovnání s četností jeho výskytu uváděným německými autory dáváme do souvislosti s významně vyšším výskytem endemických oblastí pro infekci *Borrelia burgdorferi* v regionu České republiky. Naše dosavadní výsledky jasně podporují hypotézu, že infekce *Borrelia burgdorferi* může být příčinou, a v podmínkách České republiky poměrně častou, vzniku ZKMP, resp. DKMP.

5.2 Sérologické vyšetření

Sérologické vyšetření IgM a IgG protilátek proti virovým a nevirovým agens je běžně užívanou metodou ke stanovení aktivity infekčního onemocnění. V našem souboru jsme pozitivitu IgM protilátek nezjistili proti žádnému z detekovaných virových agens, ani proti *Borrelia burgdorferi*. Protilátky třídy IgG proti dalším zkoumaným mikrobiálním agens byly ve vysokém procentu nalezeny proti herepetickým virům, enterovirům a parvoviru B19 (56-100% případů). Vysoký výskyt séropozitivity IgG v případě herpetických virů, ale i dalších virů jako jsou enteroviry nebo parvoviry, je nejspíše podmíněn výraznou promořeností obecné populace těmito viry v dospělosti. Stanovování IgG protilátek proti kardiotropním virům tak nemá zásadní výpovědní hodnotu pro diagnostiku ZKMP. Pozitivita IgG protilátek proti *Borrelia burgdorferi* byla zjištěna u 7 jedinců (13% nemocných) a u 5 z nich byla *Borrelia burgdorferi* prokázána v EMB. Sérologické vyšetření protilátek IgG proti tomuto patogenu tak vykazovalo hraničně uspokojivou pozitivní i negativní prediktivní hodnotu (71%, resp. 82%).

V souhrnu je zřejmé, že stanovení IgM protilátek je pro stanovení diagnózy ZKMP zcela nepřínosné. Stanovení IgG protilátek pro diagnostiku ZKMP má určitý význam pouze v případě *Borrelie burgdorferi*. Zásadním vyšetřením pro přesnou

etiologickou diagnostiku ZKMP je tedy EMB, kterou nelze sérologickým vyšetřením nahradit.

5.3 Cílená léčba

5.3.1 Skupina nemocných s průkazem *Borrelia burgdorferi*

Cílená léčba borreliové infekce antibiotiky je všeobecně uznávanou léčebnou strategií (32, 33). V našem souboru intravenózní léčba ceftriaxonem vedla ke statisticky příznivým změnám ve smyslu reverzní remodelace LK doprovázené zlepšením její systolické i diastolické funkce a zmenšení funkční mitrální regurgitace. Současně došlo i k významnému zmírnění symptomatologie srdečního selhání. Příznivý efekt léčby ve smyslu zlepšení systolické funkce LK byl v našem souboru zaznamenán u všech léčených, k její kompletní normalizaci však došlo jen u dvou z nich. Za pravděpodobnou příčinu rozdílného vlivu cílené léčby u jednotlivých nemocných považujeme rozdílné trvání borreliové infekce. Délku trvání borreliózy nebylo totiž u nemocných možno zjistit. Nikdo z jedinců s pozitivním bioptickým průkazem *Borrelia burgdorferi* neměl anamnézu žádného ze stádií lymeské borreliózy a u nikoho z nich nebyla také zjištěna přítomnost pozitivivity IgM protilátek. Je tedy možné, že u nemocných s minimální odezvou na antibiotickou léčbu již nebyla přítomna aktivně probíhající infekce, ale jednalo se pouze o nález genomu bakterie přítomného v myokardu od dříve prodělané infekce staršího data.

5.3.2 Skupina nemocných léčených kombinovanou imunosupresí

Tuto skupinu tvořili jedinci s pozitivním imunohistochemickým vyšetřením, u kterých jsme ani metodou PCR, ani elektronovou mikroskopií neprokázali mikrobiální agens v EMB. Náš soubor se tedy od dosud publikovaných prací lišil tím, že se k diagnostice mikrobiálních agens využívala i elektronová mikroskopie

a nejednalo se tedy o vyloučení jen omezeného množství mikrobiálních agens, na které byla cílena PCR. Vzhledem k malé velikosti této skupiny nebylo možno srovnat vývoj těchto parametrů pomocí statistických metod; zjištěny však byly příznivé známky srdeční remodelace představované především zmenšením objemu LK a zlepšením systolické funkce LK. Naše výsledky u minimálního počtu nemocných naznačující možný příznivý vliv kombinované imunosuprese u nemocných s anamnézou srdečního selhání kratší než 6 měsíců a jsou v souladu s prací Zimmermanna et al. (34). Jelikož se jedná o dosud jedinou práci dokumentující význam léčby kortikoidy u nemocných s anamnézou srdečního selhání kratší než 6 měsíců, bude ještě nutno vyčkat výsledků dalších studií.

5.3.3 Skupina nemocných léčených antivirotiky

Tuto skupinu nemocných tvořili 4 jedinci s průkazem genomu herpetických virů v EMB, kteří byli léčeni acyclovirem resp. gancyclovirem. S ohledem na minimální velikost souboru ani v tomto případě nebylo možné provést statistickou analýzu vývoje morfologicko-funkčních parametrů srdečních oddílů a symptomatiky nemocných. Je však možné říci, že u 1 z nemocných došlo ke kompletní normalizaci EF LK a u 2 dalších jedinců se systolická funkce LK při porovnání se vstupní hodnotou zlepšila. U všech 4 jedinců dále došlo k zmírnění symptomatologie srdečního selhání.

Naše poznatky s léčbou antivirotiky lze srovnat pouze s kazuistickými sděleními (12, 35), a tak bude nutné k ověření významu podávání antivirotik u nemocných s DKMP a průkazem viru v EMB nutno vyčkat provedení příslušných studií.

6. Závěry

Hypotéza čísla 1 byla potvrzena.

Zánětlivá kardiomyopatie tvoří významnou podskupinu dilatační kardiomyopatie. Přítomnost virového agens v endomyokardiální biopsii je častá a virová agens se nevyskytují v myokardu pouze izolovaně. *Borrelia burgdorferi* je zjišťována relativně často v endomyokardiální biopsii. Elektronová mikroskopie je užitečnou metodou v diagnostice zánětlivé kardiomyopatie.

Hypotéza číslo 2 nebyla potvrzena.

Sérologické vyšetření není přínosné pro diagnostiku zánětlivé kardiomyopatie charakterizované perzistencí virového agens v myokardu. Sérologické vyšetření může být sice využito v diagnostice zánětlivé kardiomyopatie asociované s borreliovou infekcí, ale musí se jednat pouze o jednu ze součástí provedených vyšetření a diagnostiku jistě nelze postavit pouze na provedení tohoto vyšetření.

Hypotéza číslo 3 byla zčásti potvrzena.

Antibiotická léčba, přidaná ke konvenční léčbě srdečního selhání, u nemocných s průkazem *Borrelie burgdorferi* v myokardu vede ke zlepšení strukturálních a funkčních parametrů LK a ke zmírnění symptomatologie srdečního selhání. Vzhledem k tomu, že však k podobně příznivým změnám vedla i samostatně podávaná konvenční léčba nemocných, a to včetně podskupiny odpovídající idiopatické dilatační kardiomyopatii (výsledky skupiny konvenčně léčených nemocných a jejich podskupin nebylo možné s ohledem na stránkový rozsah do autoreferátu začlenit a jsou podrobně rozebrány v disertační práci), nelze nyní význam antibiotické terapie zcela validně posoudit. K ověření skutečného významu antibiotické léčby nemocných s průkazem Bb v myokardu by bylo nutné provést randomizovanou studii, kdy by antibiotiky byla léčena jen jedna část nemocných.

7. Literatura

1. Richardson P, Mc Kenna W, Bristow M, et al. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996;93: 841-2.
2. Elliot P, Anderson B, Arbustini, et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2008;29: 270-6.
3. Dennert R, Crijns HJ, Heymans S. Acute viral myocarditis. *Eur Heart J* 2008; 29, 2073–2082.
4. Mason JW. Myocarditis and dilated cardiomyopathy: an inflammatory link. *Cardiovasc Res* 2003;60: 5-10.
5. Kühl U, Pauschinger M, Noutsias M, et al. Diagnosis and treatment of patients with virus induced inflammatory cardiomyopathy. *Eur Heart J Supplements* 2002;4: 173-8.
6. Hjalmarsen A, Fu M, Mobini R. Who are the enemies? Inflammation and autoimmune mechanisms. *Eur Heart J Supplements* 2002;4: G27-G32.
7. Kühl U, Noutsias M, Seeberg B, et al. Immunohistological evidence for a chronic intramyocardial inflammatory process in dilated cardiomyopathy. *Heart* 1996;75: 295-30.
8. Bowles NE, Kearney DL, Pauschinger M, et al. Detection of viruses in myocardial tissues by polymerase chain reaction, evidence of adenovirus as a common cause of myocarditis in children and adults. *J Am Coll Cardiol* 2003;42: 466-72.
9. Kühl U, Pauschinger M, Noutsias M, et al. High prevalence of viral genomes and multiple viral infections in the myocardium of adults with "idiopathic" left ventricular dysfunction. *Circulation* 2005;111: 887-93.
10. Pankuweit S, Hufnagel G, Eckhardt H, et al. Cardiotropic DNA viruses and bacteria in the pathogenesis of dilated cardiomyopathy with or without inflammation. *Med Klin Munich* 1998;93: 223-8.
11. Gasser R, Fruhwald F, Schumacher M, Seinost G, Reisinger E, Eber B, Keplinger A, Horvath R, Sedaj B, Klein W, Pierer K. Reversal of *Borrelia burgdorferi* associated dilated cardiomyopathy by antibiotic treatment? *Cardiovasc Drugs Ther.* 1996 ;10: 351-60.
12. Weinkauff J, Walia R, Berry GJ, Vagelos R, Faul JL. Lymphocytic Myocarditis After Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24: 1163–5.

13. Kühl U, Pauschinger M, Schwimmbeck PL, et al. Interferon-beta treatment eliminates cardiotropic viruses and improves left ventricular function in patients with myocardial persistence of viral genomes and left ventricular dysfunction. *Circulation* 2003;107: 2793–8.
14. Wojnicz R, Nowalany-Kozielska E, Wojciechowska C, et al. Randomized, placebo-controlled study for immunosuppressive treatment of inflammatory dilated cardiomyopathy: two-year follow-up results. *Circulation* 2001;104: 39-45.
15. Frustaci A, Russo MA, Chimenti C. Randomized study on the efficacy of immunosuppressive therapy in patients with virus-negative inflammatory cardiomyopathy: the TIMIC study. *Eur Heart J* 2009;30: 1995-2002.
16. Sahn DJ, De Maria A, Kisslo J, et al: Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation* 1978;58: 1072-83.
17. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ; Chamber Quantification Writing Group; American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee; European Association of Echocardiography. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005 18: 1440-1463.
18. Tumkosit M, Martin CG, Bayram E, Morgan TM, Lane KS, Rerkpattanapipat P, Hamilton CA, Link KM, Hundley WG. Left ventricular spherical remodeling and apical myocardial relaxation: cardiovascular MR imaging measurement of myocardial segments. *Radiology* 2007;244(2): 411-8.
19. Weyman AE, Doty WD. Left ventricle. In: Weyman AE, ed. *Cross sectional echocardiography*. Philadelphia: Lea and Febiger, 1982: 267.
20. Appleton CP, Jensen JL, Hatle LK, et al: Doppler evaluation of left and right ventricular diastolic function: a technical guide for obtaining optimal flow velocity recordings. *J Am Soc Echocardiogr* 1997;10: 271-92.

21. Messika-Zeitoun D, Bellamy M, Avierinos JF, Breen J, Eusemann C, Rossi A, Behrenbeck T, Scott C, Tajik JA, Enriquez-Sarano M. Left atrial remodelling in mitral regurgitation—methodologic approach, physiological determinants, and outcome implications: a prospective quantitative Doppler-echocardiographic and electron beam-computed tomography study. *Eur Heart J* 2007;28: 1773-81.
22. Zoghbi WA, Enriquez-Sarano M, Foster E, et al. Recommendations for evaluation of the severity of native valvular regurgitation with two-dimensional and Doppler echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2003;16: 777-802.
23. Bommer W, Weinert L, Neumann A, et al. Determination of right atrial and right ventricular size by two-dimensional echocardiography. *Circulation* 1979;60: 91-100.
24. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, Solomon SD, Louie EK, Schiller NB. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2010;23: 685-713.
25. Samad BA, Alam M, Jensen-Urstad K. Prognostic impact of right ventricular involvement as assessed by tricuspid annular motion in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2002;90: 778–81.
26. Yock PG, Popp RL. Noninvasive estimation of right ventricular systolic pressure by Doppler ultrasound in patients with tricuspid regurgitation. *Circulation* 1984;70: 657-62.
27. Kircher BJ, Himelman RB, Schiller NB. Noninvasive estimation of right atrial pressure from the inspiratory collapse of the inferior vena cava. *Am J Cardiol* 1990;66: 493-6.
28. Aretz HT, Billingham ME, Edwards WD, et al. Myocarditis. A histopathologic definition and classification. *Am J Cardiovasc Pathol* 1987;1: 3-14.
29. Curry A, Appleton H, Dowsett B. Application of transmission electron microscopy to the clinical study of viral and bacterial infections: present and future. *Micron* 2006;37: 91-106.
30. Špinar J, Hradec J, Meluzín J, et al. Doporučení pro diagnostiku a léčbu chronického srdečního selhání ČKS 2006. *Cor Vasa* 2007;49: K5-K34.

31. Bartůněk P, Goričan K, Veiser T, Táborský M, Hulínská D. Significance of *Borrelia* infection in development of dilated cardiomyopathy (a pilot study). *Prague Med Rep* 2007;108: 339–347.
32. Bergler-Klein J, Ullrich R, Glogar D, Stanek G. Lyme borreliosis and cardiomyopathy. *Wien Med Wochenschr* 1995;145: 196-198
33. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klemperer MS, Krause PJ, Bakken JS, Strle F, Stanek G, Bockenstedt L, Fish D, Dumler JS, Nadelman RB. The clinical assessment, treatment, and prevention of lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2006 ;43: 1089-134.
34. Zimmermann O, Kochs M, Zwaka TP, Kaya Z, Lepper PM, Bienek-Ziolkowski M, Hoher M, Hombach V, Torzewski J. Myocardial biopsy based classification and treatment in patients with dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2005 ;104: 92-100.
35. Stack WA, Mulcahy HE, Fenelon L, Hegarty JE. Cytomegalovirus myocarditis following liver transplantation. *Postgrad Med J* 1994; 70: 658-60.

8. Seznam publikací autora

A) Publikace s IF *in extenso*, které jsou ve vztahu k tématu dizertační práce

1) **Kuchynka P**, Paleček T, Hrbáčková H, Vitková I, Šimek S, Nemeček E, Aster V, Louch WE, Aschermann M, Linhart A. Herpes simplex virus-induced cardiomyopathy successfully treated with acyclovir. *Wien Klin Wochenschr* 2010;122: 592-595.

(IF 2009 0,955)

2) Paleček T, **Kuchynka P (sdílené první autorství)**, Hulínská D, Schramlová J, Hrbáčková H, Vitková I, Šimek S, Horák J, Louch WE, Linhart A. Presence of *Borrelia burgdorferi* in endomyocardial biopsies in patients with new-onset unexplained dilated cardiomyopathy. *Med Microbiol Immunol* 2010;199(2): 139-143.

(IF 2009 3,767)

3) Bělohávek J, **Kuchynka P**, Machala L, Dytrich V, Vítková I, Schramlová J, Šmíd O, Gandalovičová J, Linhart A: Successfully resuscitated sudden cardiac death in a young homosexual male with HIV myocarditis. *Curr HIV Res* 2009;7(4): 434-436.

(IF 2009 1,978)

B) Publikace bez IF *in extenso*, které jsou ve vztahu k tématu dizertační práce

1) **Kuchynka P**, Paleček T, Šimek S, Horák J, Vítková I, Schramlová J, Hulínská D, Aster V, Aschermann M, Linhart A. Komplexní bioptická diagnostika zánětlivé kardiomyopatie jako příčiny nově vzniklého srdečního selhání nejasné etiologie: první zkušenosti. *Cor Vasa* 2009;51(9): 572–577.

2) **Kuchynka P**, Paleček T, Šimek S, Vítková I, Schramlová J, Hulínská D, Aster V, Dostálová G, Sudheera M, Aschermann M, Linhart A. Zánětlivá kardiomyopatie: aktuální pohled na diagnostiku a léčbu. *Cor Vasa* 2009;51(1): 32–37.

3) **Kuchynka P**, Paleček T, Šimek S, Hulínská D, Magage S, Dostálová G, Havránek Š, Linhart A. Zánětlivá kardiomyopatie na podkladě borreliové infekce, bez systémové sérologické odezvy. *Cor Vasa* 2007;49: 426-430.

4) Paleček T, **Kuchynka P**, Šimek S, Horák J, Vítková I, Hulínská D, Schramlová J, Aschermann M, Linhart A. Zánětlivá kardiomyopatie: současný pohled na diagnostiku a léčbu, vlastní zkušenosti. LL 2009; 14: 29-32.

C) Publikace s IF in extenso, bez vztahu k tématu dizertační práce

1) **Kuchynka P**, Paleček T, Vilikus Z, Havranek S, Taborska K, Louch WE, Linhart A. Cardiac structural and functional changes in competitive amateur cyclists. Echocardiography 2010;27(1): 11-16.

(IF 2009 1,444)

2) Paleček T, Bultas J, Hajek M, Karetova D, **Kuchynka P**, Kautzner J, Elleder M, Linhart A: Association between cardiac energy metabolism and gain of left ventricular mass in Fabry disease. Int J Cardiol 2010;144: 337-339.

(IF 2009 3,469)

3) Paleček T, Dostalova G, **Kuchynka P**, Karetova D, Bultas J, Elleder M, Linhart A. Right Ventricular Involvement in Fabry disease. J Am Soc Echocardiogr 2008;21: 1265-1268.

(IF 2008 2,256)

4) Widimsky P, Motovská Z, Simek S, Kala P, Pudil R, Holm F, Petr R, Bílková D, Skalická H, **Kuchynka P**, Poloczek M, Miklík R, Maly M, Aschermann M; PRAGUE-8 Trial Investigators. Clopidogrel pre-treatment in stable angina: for all patients>6 h before elective coronary angiography or only for angiographically selected patients a few minutes before PCI? A randomized multicentre trial Prague-8. Eur Heart J 2008;29: 1495-1503.

(IF 2008 8,917)

5) Danzig V, Míková B, **Kuchynka P**, Benáková H, Zima T, Kittnar O, Skrha J, Linhart A, Kalousová M. Levels of Circulating Biomarkers at Rest and after Exercise in Coronary Artery Disease Patients. Physiol Res 2010;59(3): 385-392.

(IF 2009 1,43)

6) Paleček T, **Kuchynka P**, Linhart A. Treatment of Takotsubo Cardiomyopathy. Curr Pharm Des 2010;16: 2905-2909.

(IF 2009 4,414)

D) Publikace bez IF *in extenso*, bez vztahu k tématu dizertační práce

- 1) **Kuchynka P**, Paleček T, Šimek S, Lubanda JC, Elleder M, Špička I, Jansa P, Linhart A. Izolovaná forma srdeční amyloidózy v podobě počínající infiltrativní kardiomyopatie bez restriktivní fyziologie. Vnitř Lék 2008; 54: 1010-1013.
- 2) **Kuchynka P**, Šimek S, Procházka P, Goláň L, Danzig V, Dostál O, Mrázek V, Horák J, Aschermann M, Linhart A. Traumatická disekce koronární tepny jako příčina infarktu myokardu. Interv Akut Kardiol 2006;5: 93-94.
- 3) Šimek S, Šimková R, Dostál O, Skalická H, **Kuchynka P**, Danzig V, Goláň L, Linhart A. Poruchy glukózového metabolismu a význam orálního glukózového tolerančního testu u nemocných s akutními koronárními syndromy. Interv Akut Kardiol 2006;5: 174-180.
- 4) Šimek S, Horák J, Danzig V, **Kuchynka P**, Goláň L, Bělohávek J, Mrázek V, Aschermann M, Linhart A. Akutní koronární syndromy a nová doporučení pro strategii léčby nemocných. Medicína po promoci 2006;1: 66-73.
- 5) Šimek S, Danzig V, Šimková R, Horák J, **Kuchynka P**, Linhart A. Léčba trombotického uzávěru degenerovaného žilního aortokoronárního bypassu. Kazuistiky v diabetologii 2006;2: 10-12.
- 6) Šimek S, Horák J, Kovárník T, Danzig V, **Kuchynka P**, Goláň L, Mrázek V, Aschermann M. Akutní koronární syndromy. Medicína po promoci 2005;3: 63-71.
- 7) Dostál O, Bělohávek J Kovárník T, **Kuchynka P**, Linhart A: Infarkt myokardu u starších pacientů. Kardiologická revue, 2007, 9,: 82-87.
- 8) Pravečková A, Paleček T, **Kuchynka P**, Lindner J, Linhart A. Primární trikuspidální regurgitace vzniklá v důsledku tupého traumatu hrudníku při autohavárii. Cor Vasa 2009;51: 813–816.
- 9) Linhart A, **Kuchynka P**. Prevence náhlých kardiovaskulárních úmrtí u sportovců. Kap Kardiol 2010; 2: 17-23.