

Strokovni prispevek/Professional article

NEINVAZIVNO SPREMLJANJE ZAVRNITVENE REAKCIJE Z ANALIZO INTRAMIOKARDNIH ELEKTROGRAMOV PRI BOLNIKI PO ORTOTOPNI PRESADITVI SRCA. NAŠE IZKUŠNJE S PRVIMI SEDMIMI BOLNIKI

INTRAMYOCARDIAL ELECTROGRAMS FOR NONINVASIVE MONITORING OF REJECTION IN CARDIAC TRANSPLANT RECIPIENTS. INITIAL EXPERIENCE WITH SEVEN CASES

Igor Zupan, Nataša Gorkič, Darko Zorman

Klinični oddelek za kardiologijo, Klinični center, Zaloška 7, 1525 Ljubljana

Prispelo 2001-02-06, sprejeto 2001-05-16; ZDRAV VESTN 2001; 70: 335-9

Ključne besede: presaditev srca; intramiokardni elektrogram; elektrostimulacija

Key words: heart transplantation; intramyocardial electrograms; electrostimulation

Izvleček – Izhodišča. Zavrnitvena reakcija presadka je še vedno pomemben vzrok umrljivosti po presaditvi srca kljub vse bolj specifičnemu imunosupresivnemu zdravljenju. Klinično se ne izrazi, dokler ni huda, in tedaj težko spremenimo njen potek. Biopsija miokarda predstavlja zlati standard za zgodnje odkrivanje zavrnitvene reakcije in spremljanje uspešnosti zdravljenja, vendar gre za invazivno metodo, ki je ne moremo prepogosto uporabljati. Nova metoda neinvazivnega spremljanja bolnikov po presaditvi srca temelji na analizi evociranih prekatnih potencialov (EPP), ki jih pridobimo s programirano elektrostimulacijo srca. Iz spremembe naklona vala T sklepamo na parameter, ki je občutljiv za zavrnitev (RSP), iz dolžine trajanja repolarizacije pa na parameter, ki je specifičen za okužbo (ISP). Na ta način lahko varno ugotovimo zavrnitveno reakcijo 2. ali višje stopnje. Raziskave potrjujejo, da podatki, pridobljeni na ta način, sovpadajo z rezultati biopsij.

Abstract – Background. Despite the use of increasingly specific immunosuppressive therapy, rejection remains the leading cause of death in cardiac transplant patients. Clinical manifestations tend to occur at an advanced stage of the disease when its course is difficult to reverse. Endomyocardial biopsy is the gold standard for early detection and monitoring of cardiac transplant rejection. However, this approach is invasive and not suitable for routine use. A new, noninvasive alternative for monitoring cardiac transplant patients uses analysis of the ventricular evoked response (EPP) obtained by programmed electrical stimulation. Rejection-sensitive parameters (RSP) and infection-specific parameters (ISP) are extracted from changes in the slope of the T-wave and from the duration of repolarization, respectively. Rejection grade 2 or higher is diagnosed without exposing the patient to undue risk. The results obtained accord with biopsy findings.

Metode. Na iztočni trakt desnega prekata in na stransko steno levega prekata pritrdimo ob presaditvi srca posebni epikardialni elektrodi in ju povežemo z diagnostičnim srčnim spodbujevalnikom (Physios CTM 01, Biotronik, Nemčija), ki ga vsadimo v podkožje trebušne stene. Za analizo intramiokardnih elektrogramov je potrebna elektrostimulacija, najboljše s 100 utripi na minuto v trajanju 60 sekund, posebej iz levega in iz desnega prekata po enakem protokolu. Zbrane podatke pošljemo po internetu v centralno enoto tehnične univerze v Gradcu (Avstrija), od koder po nekaj minutah prejmemo analizirane podatke v obliki prognostičnih krivulj.

Methods. During the heart transplant procedure, two epimyocardial electrode leads are placed on the right ventricular outflow tract and the left ventricular lateral wall, and connected to the Physios CTM 01 pacemaker (Biotronik, Germany) implanted in the subcutaneous tissue of the abdominal wall. For the analysis of intramyocardial electrograms separate left ventricular and right ventricular pacing at a rate of 100 beats/min and lasting 60 seconds is required, following the same protocol. The electrogram data are then transferred via the Internet to the central data processing site in Graz (Austria). The processed data in the form of prognostic curves are sent back within a few minutes.

Rezultati. V letu 2000 je vseh sedem bolnikov, ki smo jim presadili srce, prejelo diagnostični srčni spodbujevalnik. Od januarja do oktobra 2000 smo naredili skupno 18 biopsij miokarda ter izuršili 105 meritev evociranih prekatnih potencialov. Zaradi visoke korelacije med patohistološko analizo biopsij in rezultati meritev evociranih prekatnih potencialov smo lahko nekoliko znižali število biopsij.

Results. In the year 2000, the Physios CTM 01 diagnostic pacemaker was implanted in all 7 patients undergoing heart transplantation at this institution. A total of 18 endomyocardial biopsies and 105 ventricular evoked response measurements were carried out. A strong correlation was established between the results of biopsy and the ventricular evoked response parameters, both as concerns the diagnosis of reaction and infection, and the monitoring of treatment.

Zaključki. *Neinvasivno spremljanje bolnikov po presaditvi srca s pomočjo intramiokardnih elektrogramov je novejši način za zgodnje odkrivanje zavrtnitvene reakcije in okužbe. Primerjave med biopsijo miokarda in metodo intramiokardnih elektrogramov kažejo visoko stopnjo korelacije. Pričakovati je, da bomo s pomočjo opisane metode lahko pomembno zmanjšali število biopsij in bolje nadzorovali imunosupresivno zdravljenje.*

Uvod

Presaditev srca je dandanes najagresivnejši, vendar zelo uspešen način zdravljenja končne srčne odpovedi (1-5). Prvo presaditev srca s človeka na človeka je decembra 1967 napravil Christiaan N. Barnard. V Sloveniji je bila prva alotransplantacija opravljena leta 1990. Do sedaj je bila narejena presaditev srca pri 33 bolnikih, enoletno preživetje znaša več kot 70%, kar je primerljivo z mednarodnimi registri.

Zavrtnitvena reakcija presadka je še vedno glavni vzrok umrljivosti po presaditvi srca kljub vse bolj specifičnemu imunosupresivnemu zdravljenju (6). Epizode zavračanja so pogostejše v zgodnjem obdobju po presaditvi, zato v prvih mesecih opravljamo rutinske biopsije miokarda. Za izključitev zavrtnitve so potrebni vsaj štiri koščki miokarda, odvzeti s standardnim bioptomom (9 French), od tega mora vsaj 50% vzorcev vsebovati miokard in ne brazgotinskega tkiva s področja predhodnih biopsij. Verjetnost lažno negativnega izvida znaša od 2 do 5% (7). Občutljivost metode lahko zvečamo z jemanjem večjega števila vzorcev, pri tem pa se zaradi lažno negativnih rezultatov v 10 do 15% zniža specifičnost (8). Kontrolne biopsije praviloma delamo enkrat tedensko v prvem mesecu po presaditvi, vsak drugi teden v drugem mesecu po presaditvi in nato enkrat mesečno 6 mesecev po presaditvi. Kasneje so intervali med biopsijami daljši, npr. 12, 24, 36 tednov in nato 1, 2 in 3 leta po presaditvi srca. V vmesnem obdobju napravimo biopsijo, kadar to narekuje klinična slika (9).

Zapleti biopsije miokarda lahko nastanejo pri uvajanju kateetra (punkcija karotidne arterije, vazovagalne reakcije, krvavitve) ali pri odvzemu materiala (aritmije, motnje v prevajanju, perforacija) (7). Na srečo so zapleti redki in nimajo dolgoročnih posledic.

Neinvasivno spremljanje zavrtnitvene reakcije

Pri obravnavi zavrtnitvene reakcije je najpomembneje določiti časovno optimalni pričetek zdravljenja. Glede na histološke analize biopsij je kljub 30-letnim izkušnjam prag za pričetek zdravljenja še vedno nejasen. Prav zaradi tega potekajo številne raziskave, kjer skušajo najti sorodno metodo za odkrivanje akutne zavrtnitve, ki bi obenem tudi napovedala, ali je potrebno dodatno imunosupresivno zdravljenje ali pa bo do ozdravitve prišlo spontano. Za takšno analizo je potrebno včasih pridobivati podatke večkrat tedensko ali dnevno, zato mora biti metoda neinvasivna, zanesljiva, neodvisna od različnih opazovalcev in po možnosti cenena. Najbolj obetavna sta po dosedanjih raziskavah in kliničnih izkušnjah intramiokardni elektrogram, ki ga pridobimo s pomočjo posebej prirejenega srčnega spodbujevalnika in ehokardiografija (10-13).

Bolniki in metode dela

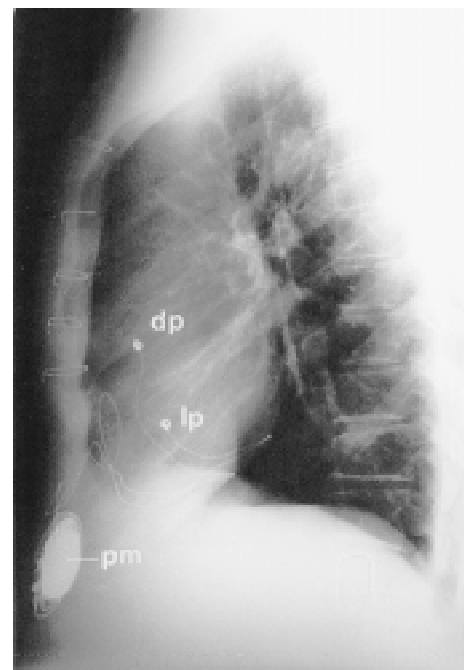
Že v začetnem obdobju presajanja srca so ugotovili, da zavrtnitvena reakcija spremeni površinski elektrokardiogram, predvsem QRS kompleks. Električna aktivnost srca je v tesni povezavi s funkcijskim stanjem srca. Z uvedbo zdravljenja zavrtnitvene reakcije s ciklosporinom je površinska elektrografija izgubila zanesljivost. Metoda za neinvasivno spremljanje zavr-

Conclusions. *Noninvasive monitoring after heart transplantation, using intramyocardial electrograms, is a new method for early detection of rejection and infection. Results from the analysis of the electrograms show high correlation with endomyocardial biopsy. Noninvasive cardiac graft monitoring may reduce the need for surveillance biopsies and may offer a tool to optimize immunosuppressive therapy after heart transplantation.*

nitvene reakcije s pomočjo intramiokardnih elektrogramov temelji na analizi evociranih prekatnih potencialov (EPP), ki jih pridobimo s programirano elektrostimulacijo srca s posebej prirejenim srčnim spodbujevalnikom. EPP posnamemo z unipolarno elektrodo, s katero tudi stimuliramo srčno mišico, dobljeni potencial odraža celotno električno aktivnost srca.

Potek operacije, namestitvev elektrod, snemanje EPP

Presaditev srca poteka na običajen način. Na iztočni trakt desnega prekata (4 cm od pulmonalne zaklopke, čim bližje prekatnega pretina) in na stransko steno levega prekata pritrdimo dve epimiokardialni elektrodi in ju povežemo s posebej prirejenim sekvenčnim (preddvorno-prekatnim, DDD) srčnim spodbujevalnikom (Physios CTM 01, Biotronik, Nemčija), ki ga vsadimo v podkožje trebušne stene (sl. 1). Elektrodo iz desnega prekata povežemo z vhodom za prekatno spodbujanje, elektrodo iz levega prekata pa z vhodom za preddvorno spodbujanje. Pooperativno sledi po nekaj dneh snemanje EPP. Zaradi lažje standardizacije uporabljamo za analizo intramiokardne elektrograme, pridobljene med elektrostimulacijo in ne med spontanim ritmom srca. Zato srčni spodbujevalnik v času meritev programiramo na višje frekvence stimulacije, običajno na 100 utripov na minuto. Za popolno analizo potrebujemo enominutni zapis elektrostimulacije, posebej iz levega



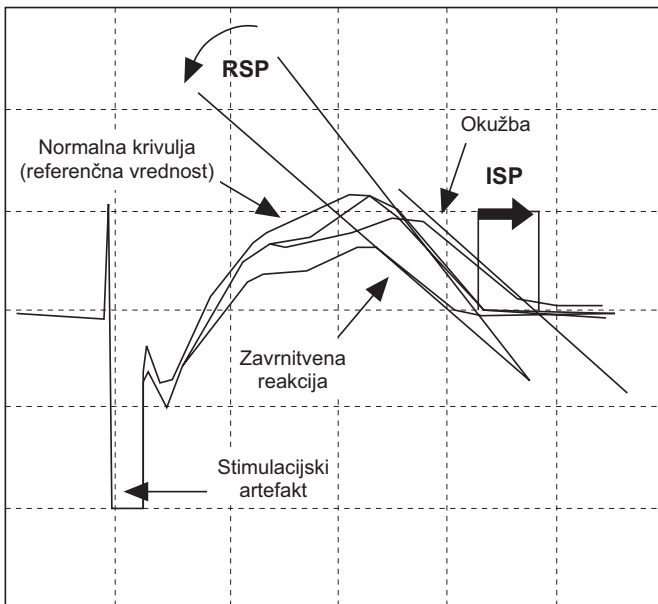
Sl. 1. Rentgenogram prsnih organov – stranska projekcija. Pričazani sta epimiokardni elektrodi na desnem prekatu (dp) in na levem prekatu (lp). pm – srčni spodbujevalnik.

Fig. 1. Chest x-ray – lateral view. Epimyocardial electrodes placed on the right ventricle (dp) and left ventricle (lp) are seen. pm – cardiac pacemaker.

in posebej iz desnega prekata. Podatke snemamo z namiznim računalnikom v standardnih pogojih, kar pomeni v ležečem položaju najmanj 5 minut pred preiskavo, po možnosti vedno ob enakem dnevnem času. Dobljene podatke shranimo na disketi in jih po internetni povezavi pošljemo v centralno enoto tehnične univerze v Gradcu (Avstrija). Podatke računalniško obdelajo, primerjajo z izvidi predhodnih meritev in po nekaj minutah prejmemo želene analize v obliki prognostičnih krivulj. Na njihovi osnovi lahko predvidimo nadaljnjo obravnavo bolnika.

Analiza intramiokardnih elektrogramov

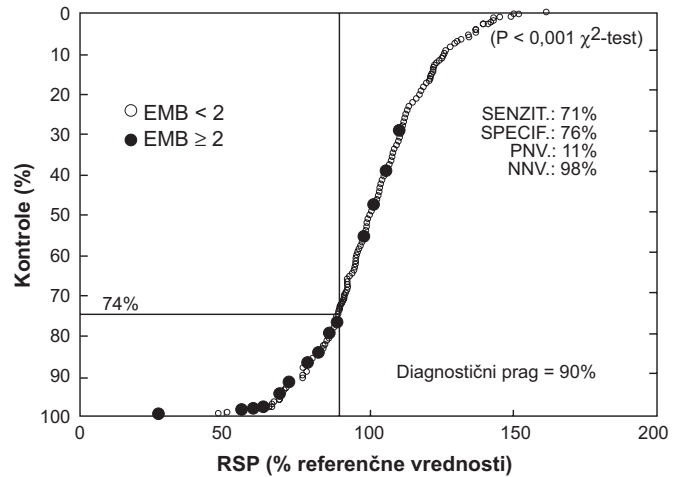
Analiza intramiokardnih elektrogramov omogoča diagnostiko zavrnitvene reakcije in/ali okužbe. Diagnostični parametri, na osnovi katerih sklepamo na prisotnost zavrnitvene reakcije ali okužbe, temeljijo na spremembi naklona vala t. Iz spremembe naklona vala t sklepamo na parameter, ki je občutljiv za zavrnitev (RSP), iz dolžine trajanja repolarizacije (čas med stimulacijskim artefaktom spodbujevalnika in koncem vala t) pa sklepamo na parameter, ki je specifičen za okužbo (ISP) (sl. 2). Na vrednosti RSP lahko vpliva oboje, tako zavrnitev kot okužba, medtem ko na vrednosti ISP vpliva le okužba. EPP spremeni tako humoralna kot tudi celična zavrnitev. V času spremljanja je vsak bolnik kontrola sam sebi, zato je zanesljivost metode odvisna od reproducibilnosti vzorca depolarizacije miokarda. Zato potrebujemo dobre začetne referenčne vrednosti, najbolj optimalno obdobje za začetek snemanja EPP je približno teden dni po presaditvi srca.



Sl. 2. Prikaz evociranega prekatnega potenciala (EPP) ter spremembe intramiokardnega elektrograma med zavrnitveno reakcijo (RSP) in med okužbo (ISP).

Fig. 2. Ventricular evoked response (EPP) and changes of intramyocardial electrogram due to graft rejection (RPS) and infection (ISP).

Na osnovi dosedanjih podatkov in izkušenj lahko s pomočjo intramiokardnih elektrogramov ugotovimo 2. ali višjo stopnjo zavrnitvene reakcije (tab. 1). Rezultati primerjav biopsije miokarda in intramiokardnih elektrogramov kažejo visoko korelacijo (12–14). Pomembno je, da ima analiza zelo visoko negativno napovedno vrednost v višini 98%, kar pomeni, da praktično ni lažno negativnih rezultatov. Tako bi lahko varno znižali število biopsij za več kot 50% (sl. 3).



Sl. 3. Primerjava biopsije miokarda (EMB) in intramiokardnih elektrogramov (glede na znižanje RSP). RSP – parameter, občutljiv za zavrnitev, PNV – pozitivna napovedna vrednost, NNV – negativna napovedna vrednost. Prirejeno po: Iberer F, Grasser B, Schreier G et al. *Transplant Proc* 1998; 30: 895–9.

Fig. 3. Comparison of endomyocardial biopsy (EMB) and intramyocardial electrograms (concerning the decline in RSP). RSP – rejection sensitive parameter, PNV – positive predictive value, NNV – negative predictive value. Adapted from: Iberer F, Grasser B, Schreier G et al. *Transplant Proc* 1998; 30: 895–9.

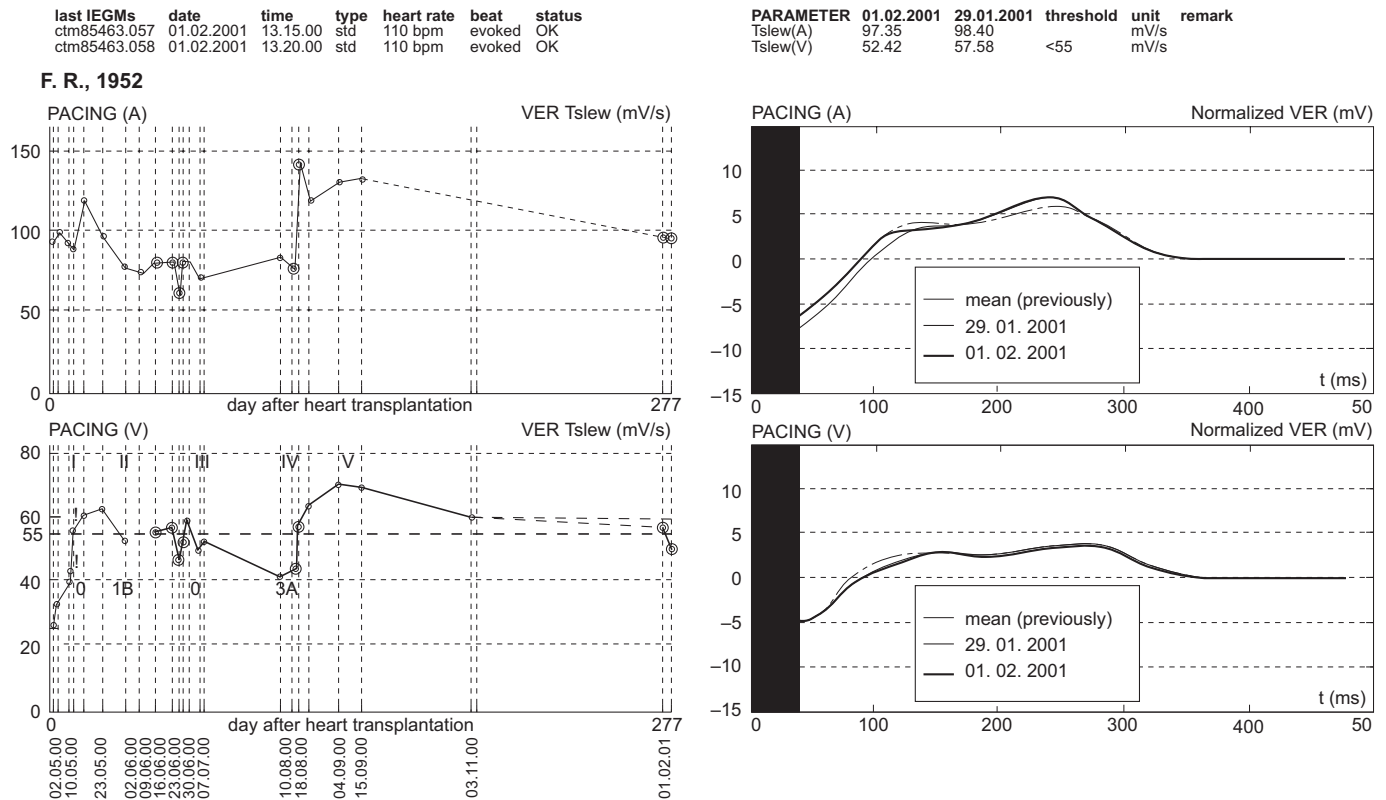
Tab. 1. Histološka klasifikacija zavrnitvene reakcije (Vir: International Society for Heart and Lung Transplantation).

Tab. 1. Histological classification of rejection (Source: International Society for Heart and Lung Transplantation).

- | | | |
|----|--------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0 | - ni zavrnitve (ni znakov vnetja ali nekroze miocitov) | - no rejection (no evidence of inflammation or myocyte damage) |
| 1A | - blaga zavrnitev (fokalni infiltrat, ni nekroze miocitov) | - mild rejection (focal lymphocytic infiltration and no myocyte damage) |
| 1B | - blaga zavrnitev (difuzni infiltrat, ni nekroze miocitov) | - mild rejection (diffuse infiltrate with no myocyte damage) |
| 2 | - fokalna zmerna zavrnitev (en vnetni fokus, nekroza miocitov) | - focal moderate rejection (one focus with myocyte damage) |
| 3A | - multifokalna zmerna zavrnitev (več vnetnih fokusov, nekroza miocitov) | - multifocal moderate rejection (multifocal infiltrates, as well the presence of myocyte damage) |
| 3B | - difuzna zmerna/mejno huda zavrnitev (difuzno vnetje, nekroza miocitov) | - diffuse moderate/borderline severe rejection (diffuse inflammation, with myocyte damage) |
| 4 | - huda zavrnitev (difuzno vnetje, nekroza miocitov, krvavitve) | - severe rejection (diffuse inflammation, myocyte necrosis, hemorrhage) |

Rezultati

V letu 2000 je bilo v Kliničnem centru narejenih 7 ortotopnih presaditev srca in vsi bolniki so prejeli diagnostični srčni spodbujevalnik Physios CTM 01. Vse bolnike smo indukcijsko zdravili z antilimfocitnim serumom v prvih treh dneh in vzdrževalno zdravili z imunosupresivnimi zdravili, ki so vsebovala ciklosporin A, azatioprin in prednizon. V obdobju spremljanja bolnikov smo izvršili 18 biopsij miokarda in naredili 105 meritev EPP. Meritve EPP smo vršili v rednih časovnih razmikih s pričetkom 4. dan po operaciji in v času hospitalizacije, sicer pa pri vsaki ambulantni kontroli in na dan, ko je bila narejena biopsija miokarda. Sprva smo poleg klinične slike, laboratorijskih izvidov in izvida intramiokardnega elektrograma za potrditev diagnoze opravili še biopsijo miokarda, s pridobivanjem



Sl. 4. Prikaz analize evociranih prekatnih potencialov (EPP) pri našem bolniku v pooperativnem obdobju. Desna polovica slike predstavlja spreminjanje vala t – zgoraj za levi prekat in spodaj za desni prekat. Leva polovica slike predstavlja prognostične krivulje, zgoraj iz levega prekata in spodaj iz desnega prekata. I – referenčne vrednosti EPP; II – zavrnitvena reakcija 1A-1B; III – aspergiloza, bakterijski infekt; IV – zavrnitvena reakcija 3A; V – normalizacija stanja.

Fig. 4. Analysis of the ventricular evoked response (EPP) in our cardiac transplant patient started after the operation. The right half of the figures represents changes of the t -wave and the left half of the figures represents prognostic curves for the left ventricle (top) and right ventricle (bottom). I – EPP-reference values; II – rejection 1A-1B; III – aspergilosis, bacterial infection; IV – rejection 3A; V – normalisation.

izkušenj pri meritvah intramiokardnega elektrograma pa smo biopsijo kot rutinsko metodo občasno opustili. Potek zdravljenja z značilnimi odstopanji EPP je prikazan na sliki 4. Pri 48-letnem moškem je bila 1. 5. 2000 narejena ortotopna presaditev srca zaradi dilatacijske kardiomiopatije. Teden dni po presaditvi smo posneli začetne referenčne vrednosti EPP, biopsija miokarda je nakazala možnost humoralne zavrnitve, celične zavrnitve ni bilo (I). Ob redni kontroli (bolnik je bil asimptomatski) smo 2. 6. posneli EPP. Iz znižanja RSP smo sklepali na zavrnitveno reakcijo, ki smo jo potrdili z biopsijo miokarda (celična zavrnitev stopnje 1B in 1A, možnost humoralne zavrnitve), sledilo je imunosupresivno zdravljenje s pulzom kortikosteroidov (II). RTG p.c. je 5. 6. pokazal dve okrogli omejeni zgoštvitvi, iz sputuma smo izolirali glivo *Aspergillus fumigatus*. Bolnika smo zdravili z amfotericinom do popolne regresije pljučnih infiltratov, ob kontrolni biopsiji miokarda celična zavrnitev skoraj ni bila več prisotna (stopnja 0), še vedno je ostajala možnost humoralne zavrnitve (III). 24. 7. (10 dni po odpustu iz bolnišnice) je zbolel s povišano temperaturo, mrzlicami, glavobolom, bolečinami v stegnih in mečih. V področju pooperativne brazgotine je bil velik ulkus z gnojnim dnom, ugotovili smo tudi kožno spremembo v področju mezinca leve spodnje okončine, ki je bila sumljiva za septično embolijo. Zdravili smo ga z dvotirno antibiotično terapijo. V posnetku EPP z dne 10. 8. smo iz znižanja RSP ponovno sklepali na zavrnitveno reakcijo, biopsija miokarda je pokazala celično zavrnitev stopnje 3A in možnost humoralne zavrnitve (IV). Po pulznem zdravljenju s kortikosteroidi ni bilo več znakov za

zavrnitveno reakcijo v EPP, tako da se za nadaljnje kontrolne biopsije miokarda nismo odločili (V).

Razpravljanje

Metodo neinvazivnega spremljanja zavrnitvene reakcije s pomočjo intramiokardnih elektrogramov uporabljajo rutinsko v Evropi in ZDA od decembra 1998, do konca leta 2000 so v 18 centrih vključili skupno več kot 300 bolnikov. Opravili so več kot 8000 preiskav, v centralni enoti v Gradcu pa so analizirali več kot 28.000 intramiokardnih elektrogramov (15). Trenutno poteka multicentrična študija v štirih transplantacijskih centrih v Evropi, rezultati bodo znani v letošnjem letu. Biopsija miokarda trenutno še vedno velja kot zlati standard za diagnostiko zavrnitve (8, 16). Pomanjkljivost je v tem, ker je metoda invazivna in je ne moremo izvajati prepogosto, npr. vsak dan. Histološki izvid predstavlja le trenutni posnetek celične infiltracije, za spremljanje zavrnitvene reakcije pa želimo imeti bolj natančen vpogled v dogajanje, za kar je potrebno tudi vsakodnevno monitoriranje. Na ta način se lahko pravočasno odločimo za spremembo zdravljenja ali prilagoditev odmerka zdravila.

Pri analizi podatkov iz več centrov se je glede pričetka zdravljenja zavrnitve izkazalo, da ni visoke korelacije z rezultati biopsij. Za ZDA velja, da se posamezni centri odločajo različno in da pri tem poleg biopsije upoštevajo še druge indikatorje in klinične znake zavrnitve (14). Neinvazivno spremljanje zavr-

nitve bi tako precej izboljšalo kakovost življenja bolnikom po presaditvi srca.

Pri vrednotenju rezultatov intramiokardnih elektrogramov je potrebno upoštevati, da ima vsak center lahko svoj specifičen prag (referenčno mejo) tako glede diagnoze kot tudi glede pričetka zdravljenja zavrntitve. Referenčna meja pomeni odstopanje EPP med zavrntitvijo glede na normalno stanje, izraženo v odstotkih. Glede na to razmerje je možno ustrezno znižati število biopsij (sl. 3). Če se npr. kak center odloči za referenčno mejo 90%, potem bi prospektivno lahko varno znižali število biopsij do 75%. Omeniti velja visoko negativno napovedno vrednost metode, ki praktično izključuje obstoj zavrntitvene reakcije. Pozitivna napovedna vrednost metode je precej nizka, ker na EPP poleg zavrntitve vplivajo podobno tudi infekcija in dilatacija prekata. To je trenutno tudi glavna pomanjkljivost metode.

Okvara sinusnega vozla po presaditvi srca. Srce je po presaditvi denervirano in ima običajno zaradi odsotnosti vagusnih niti nekoliko višjo osnovno srčno frekvenco. Simpatično in parasimpatično nitje v mesecih po presaditvi delno reinervira srčno mišico, tako da se lažje prilagaja naporu (17, 18). Najpogostejša motnja v prevajanju srčnega impulza po presaditvi srca je okvara sinusnega vozla, ki se klinično odraža kot relativna bradikardija. Prisotna je kar pri 50% bolnikov v prvih tednih po presaditvi srca (19). Sinusna bradikardija privede do znižanja minutnega volumna srca, to pa lahko zveča umrljivost. Trajno elektrostimulacijo srca zato potrebuje okrog 16% bolnikov (20). Vzroki za okvaro sinusnega vozla so številni: ishemija med hipotermijo, kirurška poškodba sinusnega vozla ali perinodalnega atrijskega tkiva, uporaba amiodarona pred presaditvijo, imunološki procesi, poškodba simpatičnega nitja ob atriotomiji (21). Atrio-ventrikularne prevodne motnje so bistveno redkejšje.

Sklepi

Neinvazivno spremljanje bolnikov po presaditvi srca s pomočjo intramiokardnih elektrogramov je novejši način za zgodnje odkrivanje zavrntitvene reakcije in okužbe. Metoda je reproducibilna, pomembna je visoka negativna napovedna vrednost. Primerjave med EMB in metodo intramiokardnih elektrogramov kažejo visoko stopnjo korelacije. S pomočjo znižanja RSP ugotavljamo stopnjo zavrntitvene reakcije 2 ali več. Iz dobljenih podatkov lahko sklepamo o uspešnosti zdravljenja zavrntitvene reakcije. Pričakovati je, da bomo s pomočjo opisane metode lahko pomembno zmanjšali število biopsij in bolje nadzorovali imunopresivno zdravljenje.

Literatura

1. Griffith BP. Cardiac transplantation. *Ann Thorac Surg* 1990; 50: 161-2.
2. Shumway NE. Cardiac transplantation. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 6-7.
3. Ewans RW. The relation between experience and outcome in heart transplantation. *N Engl J Med* 1993; 328: 514-5.
4. Crumbley AJ. Cardiac transplantation. *Ann Thorac Surg* 1998; 65: 1489-91.
5. Bailey LL. Current opinion in heart transplantation: an introduction. *Curr Opin Organ Transpl* 2000; 5: 115-7.
6. Pardo Mindan FJ, Panizo A, Lozano MD, Herreros J, Mejia S. Role of endomyocardial biopsy in the diagnosis of chronic rejection in human heart transplantation. *Clin Transplant* 1997; 11: 426-31.
7. Spiegelhalter DJ, Stovin PGI. An analysis of repeated biopsies following cardiac transplantation. *Stat Med* 1982; 2: 33-40.
8. Zerbe TR, Arena V. Diagnostic reliability of endomyocardial biopsy for assessment of cardiac allograft rejection. *Hum Pathol* 1988; 19: 1307-17.
9. Sethi GK, Copeland JG. Routine surveillance endomyocardial biopsy. *Ann Thorac Surg* 1997; 64: 1230-0.
10. Mankad S, Murali S, Kormos RL, Mandarin WA, Gorcsan J. Evaluation of the potential role of color-coded tissue Doppler echocardiography in the detection of allograft rejection in heart transplant recipients. *Am Heart J* 1999; 138: 721-30.
11. Grauhan O, Muller J, Pfitzmann R et al. Humoral rejection after heart transplantation: reliability of intramyocardial electrogram recordings (IMEG) and myocardial biopsy. *Transpl Int* 1997; 10: 439-45.
12. Iberer F, Grasser B, Schreier S et al. Introducing a new clinical method for noninvasive rejection monitoring after heart transplantation to clinical practice: Analysis of paced intramyocardial electrograms. *Transplant Proc* 1998; 30: 895-9.
13. Schaffellner S, Grasser B, Kniepeiss D et al. Noninvasive heart monitoring after heart transplantation with CHARM (computerized heart allograft recipient monitoring): clinical experience. *Transplant Proc* 2000; 32: 642-4.
14. Bourge R, Eisen H, Hershberger R et al. Noninvasive rejection monitoring of cardiac transplants using high resolution intramyocardial electrograms: Initial US multicenter experience. *Pace* 1998; 21: 2338-44.
15. Grasser B, Iberer F, Schreier G et al. Non-invasive cardiac allograft monitoring: The Graz experience. *J Heart Lung Transplant* 2000; 19: 653-9.
16. Nielsen H, Soerensen FB, Nielsen B. Reproducibility of the acute rejection diagnosis in human cardiac allografts. The Stanford classification and the international grading system. *J Heart Lung Transpl* 1993; 12: 239-43.
17. Bengel FM, Ueberfuhr P, Ziegler SI, Nekolla S, Reichart B, Schweiger M. Serial assessment of sympathetic reinnervation after orthotopic heart transplantation. A longitudinal study using PET and C-11 hydroxyephedrine. *Circulation* 1999; 99: 1866-71.
18. Arrowood JA, Minisi AJ, Goudreau E, Davis AB, King AL. Absence of parasympathetic control of heart rate after human orthotopic cardiac transplantation. *Circulation* 1997; 96: 3492-8.
19. Heinz G, Hirschl M, Buxbaum P, Laufer G, Gasic S, Laczkovics A. Sinus node dysfunction after orthotopic cardiac transplantation: postoperative incidence and long-term implications. *Pacing Clin Electrophysiol* 1992; 15: 731-7.
20. Jacquet L, Ziady G, Stein K, Griffith B, Armitage J, Hardesty R, Kormos R. Cardiac rhythm disturbances early after orthotopic heart transplantation: prevalence and clinical importance of the observed abnormalities. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 832-7.
21. Di Biase A, Tse TM, Schnittger I, Wexler L, Stinson EB, Valantine HA. Frequency and mechanisms of bradycardia in cardiac transplant recipients and need for pacemakers. *Am J Cardiol* 1991; 67: 1385-9.