

Masarykova univerzita

Lékařská fakulta

Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny

M U N I

**M U N I
M E D**

*Sepse, oběhové selhání a ARDS – epidemiologie, predikce a
možnosti terapie*

Habilitační práce dle § 72 odst. 3 písm. b) zákona o vysokých školách

MUDr. Jan Maláska, Ph.D.

BRNO 2022

Motto

“13. The delivery of good medical care is to do as much nothing as possible.”

„Laws of the House of God,” ~Samuel Shem

Poděkování

Chtěl bych především poděkovat své rodině, v první řadě své ženě Hance, bez jejíž dlouhodobé podpory by tato habilitační práce a vše co jí předcházelo, nevznikla. Děkuji také svým dětem Honzíkovi, Kubíkovi, Petříkovi, Amálce a Františkovi, za trpělivost v čase, kdy tato práce vznikala. Upřímné poděkování míří k mým rodičům, jejichž láska a příklad mě formovala. Tato práce vznikla také díky mým mnoha kolegům, spolupracovníkům, z nichž je těžké někoho jmenovitě upřednostnit. Speciálně však děkuji za vědecko-výzkumnou iniciaci nynějšímu prof. Jiřímu Fajkusovi a prof. Jiřímu Mayerovi a dále všem nadřízeným od začátku mé profesní dráhy – prof. Romanovi Vyzulovi, prof. Jiřímu Vorlíčkovi, prof. Pavlovi Ševčíkovi a prof. Romanu Gálovi, kteří pro mě byli a jsou vzorem v hledání ideálu lídra. Za možnost dlouhodobé spolupráce výzkumných skupin míří poděkování prof. Jiřímu Pařenicovi, se kterým vzniklo mnoho skvělých prací v průběhu mé výzkumné kariéry. Velké díky patří mým inspirativním kolegům doc. Jozefovi Klučkovi a prof. Petrovi Štourači za dlouholetou spolupráci, přístup a trpělivou pomoc s habilitační prací. Velkou inspirací v mé klinické a výzkumné činnosti bylo setkání a následná spolupráce s prof. Mervynem Singerem z Londýna, jehož přínos pro můj odborný rozvoj je neocenitelný. Nakonec zmíním mé velké přátele dr. Jana Staška a dr. Milana Kratochvíla, kteří jsou vzorem zanícených kliniků, pro které je pacient hlavním objektem jejich odborného zájmu.

OBSAH

1. Úvod.....	5
a. Historie sepse.....	6
b. Definice sepse.....	7
c. Epidemiologie sepse	13
d. Definice šoku a oběhového selhání.....	18
e. Patofyziologie šokových stavů.....	21
f. Patofyziologie sepse, inflamace a oběhového selhání.....	24
g. Možnosti ovlivnění inflamace u ARDS	31
h. Dlouhodobé následky sepse.....	35
i. Tematické okruhy habilitační práce.....	37
2. Epidemiologie, management a výsledek léčby pacientů se sepsí v České republice..	40
a. Patient survival, predictive factors and disease course of severe sepsis in Czech intensive care units.....	40
b. EPOSS & SEPSIS-Q: návrh a popis řešení projektů pro sledování léčby, morbidity a mortality pacientů s těžkou sepsí v České republice.....	53
3. Molekulární podklad dlouhodobých komplikací sepse.....	65
a. Telomerase activity and expression and telomere analysis in situ in the course of treatment of childhood leukemias.....	67
b. Telomerase as a diagnostic and predictive marker in colorectal carcinoma.....	74
4. Oběhového selhání u septického a kardiogenního šoku, prognostické faktory a dlouhodobé komplikace.....	84
a. Myokardiální dysfunkce v sepsi – diagnostika a terapie.....	86

b.	Dynamika hladiny interleukinu 6 u pacientů v septickém a kardiogenním šoku a u pacientů se STEMI.....	95
c.	Infectious Complications and Immune/Inflammatory Response in Cardiogenic Shock Patients.....	106
d.	Soluble ST2 levels in patients with cardiogenic and septic shock are not predictors of mortality.....	118
e.	Prognostic value of oxidative stress in patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock.....	125
5.	Možnosti ovlivnění inflamace na příkladu syndromu akutní respirační tísně.....	134
a.	Systémové kortikoidy v terapii ARDS vyvolaného COVID-19.....	134
b.	Effect of dexamethasone in patients with ARDS and COVID-19 (REMED trial)-study protocol for a prospective, multi-centre, open-label, parallel-group, randomized controlled trial.....	144
6.	Popularizační aktivity tematicky se vztahující k habilitační práci.....	162
7.	Seznam literatury se vztahem k tématu habilitační práce.....	163
8.	Seznam zkratk.....	168
9.	Literatura.....	174
10.	Komentář.....	208
11.	Habilitation Thesis Abstract.....	210

1. Úvod

Předkládaná habilitační práce dle § 72 odst. 3 písm. b) zákona o vysokých školách je souhrnem studií a odborných textů věnujícím se problematice sepse, oběhového selhání u septického šoku (SŠ) a kardiogenního šoku (KŠ) a syndromu akutní dechové tísně (ARDS). Zaměřuje se na epidemiologii, patofyziologii a možné prognostické faktory, včetně kardiovaskulárních následků po přežití sepse a nakonec možnostem ovlivnění rozvinuté inflamace u ARDS. Práce jsou pro počet publikací rozděleny systematicky do čtyř celků, které korelují s tématy mé výzkumné činnosti.

Sepse je dle nejaktuálnějšího konsenzu na její nozologické vymezení definována jako život ohrožující orgánová dysfunkce způsobená dysregulovanou odpovědí hostitele na infekci. [1] Sepse patří k nejčastějším onemocněním celosvětově, k nejvíce ekonomicky náročným diagnózám, vyžadujících roční náklady více než 20 miliard amerických dolarů. [2] Sepse a septický šok je také hlavní příčinou morbidit a mortality pacientů přijímaných na intenzivní péči. [3, 4] Šok manifestovaný oběhovým selháním je přítomný při přijetí na ICU až u 1/3 pacientů a je spojený s vysokou mortalitou a morbiditou. [5] Mortalita kardiogenního šoku je stále i přes pokroky v revaskularizační terapii vysoká a v závislosti na regionálních podmínkách může dosahovat až 51%. [6] Proto výzkum v oblasti zlepšení péče o pacienty v šokových stavech zahrnuje i použití prognostických biomarkerů, které budou v této habilitační práci podrobně komentované. Obrovskou zátěží pro zdravotnický systém a naopak velkou výzvou pro výzkum je onemocnění COVID-19. Nejtěžší formy s nejvyšší mortalitou tohoto onemocnění jsou spojené s rozvojem syndromu akutní dechové tísně. [7] Tedy hledání možností ovlivnění inflamace v této oblasti je jedním z velkých stimulů pro výzkumníky.

a. *Historie sepse*

Slovo sepse je staré nejméně 2700 let a pochází z řeckého slova *sepsis* (σηψις), které v originále znamenalo rozklad zvířat nebo organického hmoty rostlin za přítomnosti bakterií. [8] Poprvé je možné zaznamenat použití tohoto slova v Homérových básních, kde je sepse dávána do souvislosti jako odvozenina slova *sepo* (σηπω), což znamená doslova „já se rozkládám“. Stejně tak je možné najít použití slova *sepsis* a podobného slova *sepidon* (σηπεδ'ων) v Corpus Hippocraticum (O epidemiích B. 2,2, Prorret. I.99) jako synonym. Další učenci, jako Aristoteles, Plutarcha a Galén používali pojem sepse ve stejném významu jako Hippocrates. [8] Dalším popsáním a v té době již používaným byl pojem zánět (*inflammatio*), který Galén nebo i Celsus popsali jako přítomnost vazodilatace (*rubor*), teploty (*calor*), bolesti (*dolor*), zvýšené permeability kapilár (*tumor*) a dysfunkce (*functio laesa*).

V průběhu historie se lidstvo potýkalo s mnoha infekcemi, často charakteru epidemie. Navzdory tomu, že sepse byla bezesporu častou příčinou úmrtí v před antibiotické éře, k uchopení sepse, jako přesně dané nozologické jednotky-syndromu- došlo až na konci 20. století. [9]

b. Definice sepsy

V této části práce se již budu věnovat používáním termínu sepsy, ke kterému došlo v průběhu 20. století. V té době se začala sepsa používat v podobném významu, v kterém ji používáme dodnes. Začala se akcentovat reakce organismu na přítomnost infekce. Terminologie sepsy od prvních seriózních pokusů o uchopení a sémantické vymezení prošla několika změnami a od první konsenzuální konference pořádané v září roku 1991 v Nortbrook do dnešní doby významného posunu. [1, 9, 10]

V terminologickém definičním vývoji se dají vymezit cca tři milníky, které korespondují s konsenzuálními definicemi, které byly představeny v letech 1991, 2001 a aktuální v roce 2016. Předchozí definice plně reflektují dobu vzniku, včetně znalostí a podkladů, které byly k dispozici pohledem tzv. medicíny založené na důkazech (EBM, Evidence Based Medicine). [11]

První konsenzuální definice Americké společnosti hrudních lékařů (ACCP) a Společnosti pro medicínu kritických stavů (SCCM) byla publikována v roce 1992. [9]

Na sepsi bylo klinicky nahlíženo jako na rozvoj tzv. syndromu systémové inflamatorní odpovědi (SIRS – Systemic Inflammatory Response Syndrome) v odpovědi na infekci organismu viz tabulka 1.

Tabulka 1

Kritéria SIRS:
Teplota nad 38 °C nebo pod 36 °C
Tepová frekvence nad 90/min;
Dechová frekvence nad 20/min nebo pCO ₂ pod 4,26 kPa (32 mm Hg)
Leukocyty nad 12 tis./μl nebo pod 4 tis./μl nebo víc jak 10 % nezralých forem

Tento pohled rozlišoval sepsi (SIRS plus infekce), dále těžkou sepsi (sepse spojená s orgánovou dysfunkcí) a nakonec septický šok (sepse s arteriální hypotenzí navzdory intravaskulární aplikaci tekutin). [9]

Kritéria pro SIRS ale mají významně nízkou specificitu a bohužel opačně i velkou až extrémní senzitivitu. Tudíž při použití této definice dochází k tomu, že za sepsi jsou považovány, resp. diagnostikovány i neinfekční příčiny (např. trauma, pankreatitida, popáleniny a další). [12] Významným přínosem bylo, že pojem sepse byl konečně definován ve shodě široké odborné komunity, pro výzkumné účely bylo možné definovat kohortu pacientů, a tudíž byly rychle přijaty do praxe. V průběhu dalších let se začaly ukazovat nevýhody tohoto pojetí a některé již byly zmíněny výše. Je to vysoká senzitivita, kdy až 90% pacientů přijímaných na ICU splní kritéria SIRS. [10, 13] Důvodem je fakt, že mírná změna fyziologických funkcí a laboratorních parametrů byla brána jako splnění kritéria SIRS. K infekci ale přirozeně patří reakce na bakteriální, virové i mykotické agens a tedy určité změny v dechové frekvenci, tepové frekvenci, tělesné teplotě a počtu leukocytů, jsou tzv. fyziologické. Pokud ale je inzult (infekce) nadměrný event. je nadměrná reakce organismu, je již tato reakce organismu patologická a vede složitými a nesmírně komplexními patofyziologickými mechanismy k poškození hostitele. Výzvou je tedy rozpoznat a definovat hranici, kdy už k tomuto překročení dojde. Další výzvou je rozlišit, zda reakce organismu, tedy SIRS, je způsobené infekcí, nebo je vyvoláno sterilním inzultem (např. pankreatitida, popáleniny, trauma, operace).

Na základě výše zmíněných nevýhod systému jednoduché definice sepse jako společné přítomnosti SIRS a infekce byla uspořádána druhá konsensuální konference v roce 2001 ve Washingtonu za účasti vybraných zástupců několika odborných

společností, pro které je sepsa zásadní téma. [10] Měla za cíl navrhnout nový přístup a revidovat SIRS kritéria.

Výsledkem byla klasifikace, která na sepsi pohlížela více z klinického hlediska a snažila se více reflektovat klinickou praxi. Rozšířila možná klinická kritéria pro sepsi, kdy se za ni považovalo přítomnost potvrzené nebo předpokládané infekce a některé z mnoha kritérií, které byly uvedeny ve výčtu. Byla i snaha definovat malá a velká kritéria pro diagnostiku sepse, která však ve výsledku snižovala specifickou této definice. Snažila se zavést také určitý systém pro objektivizaci rozsahu sepse (staging), kdy navrhovala tzv. PIRO systém, který byl odvozen od známého systému TNM, který se již od roku 1946 používá v onkologii. [14] Stratifikovala pacienty na základě jejich predispozice (P-predisposition), origa a rozsahu infekce (I-infection), reakce organismu (R-response) a stupně přítomné orgánové dysfunkce (O-organ dysfunction). Místo zjednodušení předchozí definice a jejich stupňů (sepsa/těžká sepsa/septický šok) bylo naopak toto pojetí definice sepse pohledem času považováno za neúčinné, jelikož nebyla schopna definovat smysluplná a jednoduchá kritéria sepse. Proto se v klinické praxi a ve výzkumné činnosti, např. jako zařazovací kritéria do studií a klinických hodnocení dále, používala kritéria vytvořená Bone a spol v roce 1991. [9] Jedinou výjimkou je práce portugalských a australských autorů, kteří validovali PIRO systém v průběhu 6 měsíců na pěti pracovištích intenzivní péče s výsledky 1638 pacientů, s dobrým prediktivním efektem stran mortality u různých stupňů tíže onemocnění a v různých nemocnicích. [15]

V dalším průběhu i na základě proběhlých výzkumů, které ukázaly na podobnou patofyziologii iniciální aktivity inflamace infekční (tj. sepsa) a neinfekční-sterilní se pozornost směřovala na několik základních cílů – a) vytvořit definici, která by odlišovala zmíněné infekční a sterilní příčiny a b) zahrnout do pojmu sepse pouze

vážné stavy, kdy dochází k dysfunkcím jednoho a více orgánů a je nutné přijmout pacienta na jednotku intenzivní péče. [16, 17] K těmto cílům se přiblížilo tzv. Merinoff symposium pořádané ve Feinsteinově institutu. Zde byla založena iniciativa Globální aliance pro sepsi (GSA – Global Sepsis Alliance), která se výrazně jednotně shodla na třech východiscích:

- a) Návrhu definice sepse, kdy za sepsi byl považován stav, kdy odpověď organismu na infekci poškozuje jeho vlastní orgány a tkáně.
- b) Molekulární definic sepse
- c) Globální výzvu k větší aktivitě v této oblasti. [18]

Poté, co se revize definice sepse (tzv. druhá definice sepse z roku 2001) nedočkala obecného přijetí v používání v rutinní klinické praxi a ve výzkumné činnosti, např. při zařazování pacientů do studií a klinických hodnocení byla v roce 2016 publikována nejnovější definice sepse. [1] Tato tzv. SEPSIS-3 definice reflektovala významný pokrok, který výzkum patofyziologie sepse a orgánové dysfunkce za tu dobu prodělal. Od nových poznatků na úrovni molekulární, přes biochemické změny a změny na úrovni oběhu a orgánové dysfunkce. Také nové poznatky v managementu sepse a získaná data týkající se epidemiologie sepse byla v této definici reflektována. Od přechozích definic, které se spíše zaměřovaly na inflamaci a na dlouho mylně považovaný model, že sepsi je určitý začátek kontinua těžké sepse a septického šoku, nová definice tyto limitace překonala. Zároveň skupina expertů nominovaná odbornými společnostmi doporučovala, aby se termín těžká sepsi přestal používat, vzhledem k jeho redundanci. Dle SEPSIS-3 definice je za sepsi považována život ohrožující orgánová dysfunkce, která je způsobena dysregulovanou odpovědí hostitele (pacienta) na infekci. Definice má v sobě určitou objektivizaci a za novou orgánovu

dysfunkci je považováno zvýšení tzv. SOFA skóre o ≥ 2 body. (toto je spojené se zvýšenou nemocniční mortalitou o cca 10%). Septický šok je definován klinicky jako potřeba vazopresorů k udržení MAP (Mean Arterial Pressure, střední arteriální tlak) ≥ 65 mm Hg a zvýšená hodnota sérového laktátu (>2 mmol/l) při absenci hypovolémie. V souvislosti s vytvořením nové definice byla pro účely rychlého vyhledávání (identifikace) pacientů se sepsí – například na standardních odděleních, v přednemocniční péči - navrženo nové klinické skóre tzv. quickSOFA (qSOFA). Pokud mají pacienti splněno 2 a více kritérií qSOFA: dechová frekvence (DF) >22 /minutu, alterace neurologického stavu (pokles v tzv. GCS – Glasgow coma scale) a systolický tlak ≤ 100 mm Hg, bývá to spojené s horší prognózou. Historický exkurz od začátku konkrétnějšího uchopení pojmu sepse až k nejnovější definici, tj. SEPSIS-3, byl cílen k pochopení složitosti definování, co sepse je. Definovat tak složitý a komplexní proces, který zahrnuje souhru a ovlivňování mnoha patofyziologických cest (od rozpoznání patogena vrozenou imunitou až k ovlivnění koagulace a přímý vliv na rozvoj orgánové dysfunkce) není vůbec jednoduché a odborné komunitě to trvalo významný čas. Navzdory tomu, že se SEPSIS-3 blíží pravděpodobně nejvíce teoretickému ideálu obecné definice sepse, je možné a pravděpodobné, že s postupem poznatků, které v oblasti sepse přibývají exponenciálně, budeme mít k dispozici ještě přesnější definici. Zde hraje roli také pohled uživatele sepse – jiné nároky na definici má klinik, který potřebuje zejména klinická kritéria pro vyhledání a následný management, a jiné nároky na definici budou jistě z pohledu epidemiologa a zdravotního managementu, který ji bude spíše využívat pro účely ovlivnění procesů a systému. Důležitý moment v robustnosti jakékoliv definice je nutnost její validace, a to ideálně prospektivně. Retrospektivní

validace SEPSIS-3, a to jejích klinických kritérii, byla provedena a na ni navázala prospektivní validace. [19, 20]

c. Epidemiologie sepse

Epidemiologie sepse úzce souvisí s její definicí. Proto jí byla v předchozí kapitole věnována taková pozornost. Různými definicemi v průběhu novodobé historie intenzivní medicíny a medicíny obecně došlo k tomu, že údaje z různých období nejsou relevantně porovnatelné.

Nicméně sepse patří k jedním z nejčastějších příčin úmrtí celosvětově. V roce 2017 s použitím dat z Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors (GBD) byla odhadovaná celosvětová incidence sepse 48,9 milionů. Úmrtí z této příčiny byly udávány absolutně 11 milionů v roce 2017, což přepočteno na procenta bylo 19,7% ze všech úmrtí v tomto roce. [2] Globální incidence sepse se odhaduje na cca 270 (5% CI 176-412) na 100.000 obyvatel. [21]

Na národních úrovních např. ve Spojených státech amerických patří sepse k nejčastějším příčinám úmrtí v nemocnicích a vynaložené prostředky na ni byly např. v roce 2014 cca 24 miliard amerických dolarů. [22]

V České republice nemáme k dispozici relevantní data týkající se přesné incidence sepse a s ním spojená úmrtí. Práce z roku 2017 využila data z úmrtních listů a analyzovala kódy, které souvisí s diagnózou sepse podle 10. revize Mezinárodní klasifikace nemocí (MKN-10) a které byly uvedeny lékaři vyplňujícími úmrtní list. [23] V období 1998-2011 byla sepse uvedena u 3% celkových úmrtí. Autorka dále dokumentuje, že sepse byla nejčastěji (v cca 66%) uvedena pouze jako bezprostřední příčina úmrtí, což jistě vedlo k jejímu celkovému podhodnocení, jelikož ve statistikách zemřelých je uváděna pouze tzv. základní příčina smrti.

V České republice neexistuje systém na sběr dat souvisejících s incidencí a mortalitou sepse. Nicméně pokud hypotézuje, že naše země nevybočuje z evropského/celosvětového průměru, jde odhadnout roční incidenci sepse na cca 30

tisíc případů. [24, 25] Cíleně se prevalencí pacientů se sepsí/těžkou sepsí hospitalizovaných na jednotkách intenzivní péče věnoval jednodenní prevalenční sběr dat. [26] Jedná se o první prevalenční studii sepse/těžké sepse na intenzivní péči. Prevalence sepse analyzována na celkem 327 pacientech, kteří byli hospitalizováni ve studijní den na 54 ICU, byla 34,2% a těžké sepse 16,8%. Tato data se významně neliší od dat, která byla získána v evropských pracovištích intenzivní péče. Konkrétně multicentrická, observační studie SOAP (Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients), která byla prováděna na 198 ICU ve 24 Evropských zemích, včetně České republiky, zjistila, že z 3147 pacientů mělo sepsi v 37,4% případů. [27] Jedním ze závěrů bylo, že mortalita pacientů se sepsí byla signifikantně vyšší, než u pacientů bez sepse. V této souvislosti, pokud byl pacient přijímán z důvodu sepse nebo se sepse u něho vyvinula v průběhu hospitalizace, tak kromě zmiňované vyšší mortality byla i závažnější orgánová dysfunkce a signifikantně prodloužená doba pobytu na ICU a v nemocnici. V roce 2007 byla provedena prevalenční, prospektivní, jednodenní studie EPIC II (Extended Prevalence of Infection in Intensive Care), do které bylo zařazeno 14414 pacientů z 1265 ICU a 75 zemí, které byly zapojené do projektu. [3] Infekci ve sledovaný den mělo 51% pacientů a u 71% byly podávány antibiotika. Nejčastějším zdrojem infekce byl respirační trakt (64%) a nejčastějšími bakteriálními kmeny G-bakterie (70%). ICU a nemocniční mortalita pacientů s infekcí byla více jak 2x vyšší, než u pacientů bez prokázané infekce a dosahovala 25% a 33%. V České republice byla epidemiologická od pacientů hospitalizovaných se sepsí (těžkou sepsí) a septickým šokem na intenzivní péči získána v rámci projektu EPOSS. [28-30]

Do projektu bylo zařazeno 1082 pacientů. Data byla k dispozici u 897 pacientů. ICU a nemocniční mortalita byla ve sledovaném souboru 35,5% resp. 40,7%.

Další epidemiologická data týkající se obecné populace pacientů na ICU jsou k dispozici například ze studie ICON (Intensive Care Over Nations) - celosvětový mezinárodní audit pacientů přijímaných na ICU týkající se epidemiologie obecné populace kriticky nemocných pacientů zapojených pracovišť. [31] Do projektu bylo nakonec zapojeno 730 participujících oddělení v 84 zemích. Data byla zadávána v průběhu deseti denního auditu (8. květen – 18. květen 2012) u všech pacientů přijatých ve sledované období do studijních ICU (kromě pacientů, kteří byli přijati pouze pro rutinní pooperační sledování). Konečný počet pacientů byl 10.069 a u 2973 pacientů (29,5%) byla přítomna sepse důvodem při přijetí na ICU. Celková mortalita pacientů na ICU byla 16,2% a u pacientů se sepsí byla 25,8%, navíc nemocniční mortalita byla 22,4% u obecné populace a 35,3% u pacientů se sepsí. Riziko úmrtí navíc pozitivně korespondovalo s ekonomickou situací v zapojených zemích sledovanou pomocí velikosti hrubého národního produktu. Na projekt posléze navázalo hodnocení evropských ICU na základě projektu ICON a SOAP. [24] Krátkodobá mortalita, tj. nemocniční mortalita se u pacientů se sepsí a septickým šokem pohybuje cca 20-50% v závislosti na tíži onemocnění (počtu selhávajících orgánů), komorbiditách a věku pacienta. [32, 33] Vysoká mortalita pacientů byla také jedním z významných stimulů k založení mezinárodní iniciativy Surviving Sepsis Campaign (SSC, 2002), která byla iniciována dvěma odbornými společnostmi, které se starají o pacienty se sepsí, a to Evropskou společností intenzivní medicíny (ESICM) a Společností kritické medicíny (SCCM). Jedním z mnoha cílů je zlepšení péče, povědomí o sepsi a snížení mortality pacientů.

Studie, které zkoumaly léčebné intervence u pacientů se septickým šokem po roce 2010 (v následující dekádě) reportují mortalitu cca 24-41%. [34-36] Dokonce analýza dat z databáze intenzivní péče ICU v Austrálii a Novém Zélandě (12 letý časový

rámec) ukázala, že mortalita pacientů s těžkou sepsí během této doby klesla z 35% na 18%. [37] Tento trend byl pozorovatelný mezi několika skupinami pacientů, včetně všech věkových kategorií i typů (velikosti) nemocnice. Je významné, že v tomto období nebyla zavedena žádná nová specifická léčba pro pacienty se sepsí, ale pouze zlepšení kvality managementu těchto pacientů pravděpodobně vedlo k poklesu mortality až na polovinu. Toto by mohlo být jedním z dopadů iniciativy SSC, tedy zlepšení povědomí a managementu sepse, jak budu ještě dále diskutovat v tématu aktuálních doporučení a léčby sepse. Další údaje o mortalitě na sepsi ukazují cca 26%. [21] Nicméně data mohou být zkreslena tím, že primární data jsou často z prostředí intenzivní péče a ne standardních oddělení a dále z důvodu toho, že pocházejí z tzv. třetích zemí. Obecně se dá nicméně uzavřít, že trend posledního desetiletí je směrem ke snížené krátkodobé mortalitě pacientů se sepsí, jak např. dokumentuje porovnávací metaanalýza publikována v roce 2014, která v analyzovala data v průběhu dvaceti let. Krátkodobá mortalita z iniciální 49,9% klesla na konci sledovaného období až na 29% s ročním poklesem mortality cca 3%. [38]

Rizikové faktory pro krátkodobou mortalitu jsou komorbidity, pohlaví, věk, vyjádřený syndrom stařecké křehkosti, předchozí operace a sepse a genetická predispozice. [39-42]

Se zvýšenou krátkodobou mortalitou pacientů se sepsí, včetně prodlouženého pobytu v nemocnici a na ICU a zhoršení krátkodobé mortality, je spojené i dlouhodobé (až desetileté) zvýšené riziko dlouhodobé mortality. S tímto je logicky spojená i zhoršená dlouhodobá morbidita, která pro konkrétního pacienta může znamenat výrazné zhoršení kvality života (QoL – Quality of Life). Se vším je spojená i zátěž celospolečenská, která se netýká jen přímých nákladů na zvýšenou potřebu zdravotní péče týkajících se specifických potřeb pacientů po přežití ataky sepse, ale i spojené

nižší celospolečenské uplatnění a znovu začlenění do běžného života, včetně pracovního.

d) *Definice šoku a oběhového selhání*

Šok neboli oběhové selhání je stav, který je znám již dlouhou dobu. Význam šoku pro současnou intenzivní medicínu dokumentují data, která ukazují jeho

přítomnost až u cca 1/3 pacientů přijímaných na ICU. [5, 43]

Již průkopník a velké jméno mezi výzkumníky oběhu a šokových stavů, Carl

Wiggers, v roce 1918 v časopise JAMA (Journal of American Medical

Association) definoval oběhové selhání jako jakýkoliv stav, kdy je snížený

arteriální tlak s následným snížením kapilárního průtoku a pokud tento stav trvá

dlouho, vede k poruše funkce normálních orgánů a těch, které byly předtím

poškozené, brání v obnovení normální aktivity. [44] Již tehdy bylo oběhové

selhání považováno za častou a vážnou komplikaci klinických situací, pro které se

již dlouho předtím používal termín šok. Termín šok se začal používat teprve od

cca poloviny 18. století. [45]). Předtím byl šok spojován zejména s traumaty a

s klinickou situací, kterou nyní nazýváme traumaticko-hemoragický šok, tzv.

posttraumatický syndrom, který byl znám již od Hippokrata a Galéna. První

použití termínu šok je přisuzováno francouzskému chirurgovi Henri Francis

LeDran, který ve své knize použil výraz *le choc*. [46] Tento termín ale používal

pro výraz síly iniciálního inzultu a nespojoval ho s posttraumatickým syndromem.

Ale díky ne zcela korektnímu překladu britského lékaře Clarke, byl pojem šok

poprvé zaveden do anglické literatury ve spojení s náhlým zhoršením pacientova

klinického stavu ve spojení s velkými poraněními a ranami. Konečně anglický

chirurg George James Guthrie použil v roce 1815 ve své knize pojem šok ve

spojení s fyziologickou nestabilitou, zhruba pro situace, ve kterým tento pojem

používáme i my. [47]

Pojem šok je v současné době definován a vnímán jako klinická prezentace oběhového selhání, které vede k neadekvátní utilizaci kyslíku. [48, 49] Tato život ohrožující situace je přítomna až u cca 1/3 pacientů přijímaných na ICU. [5, 43] Diagnóza šoku je založena na třech komponentách – klinické, hemodynamické a biochemické známky:

1. Klinické: systémová hypotenze (bývá většinou přítomna) – typicky sTK < 90 mm Hg nebo MAP < 70 mm Hg, spojené s tachykardií
2. Hemodynamické: klinické známky hypoperfuze (někdy spojované a uváděné z edukačního hlediska jako tzv. „okna do mikrocirkulace“ nebo „okna do těla“) – kožní projevy (chladná, opocená kůže s vazokonstrikcí a cyanózou), renální (hodinová diuréza < 0,5 ml/kg/hodinu), neurologické (porucha neurologického stavu)
3. Biochemická/laboratorní: zvýšená hladina sérového laktátu

Vzhledem k zaměření mé výzkumné práce a potažmo i této habilitační práce se budu dále v popisu definice, patofyziologii a možnosti predikce věnovat pouze šoku septickému a kardiogennímu.

Septický šok je dle nejnovější konsenzuální konference SEPSIS-3 definován jako potřeba nasazení vazopresorů k udržení MAP \geq 65 mm Hg a zvýšená hodnota sérového laktátu (>2 mmol/l) při absenci hypovolémie. [1]

Kardiogenní šok je definován klinicky jako stav primárního postižení srdce s neadekvátním srdečním výdejem (CO, Cardiac Output), který vede ke klinickým a biochemickým známkám tkáňové hypoperfuze. [50] Ačkoliv to není nezbytné, některé klinické studie a registry používají objektivní kritéria kvůli objektivizaci zařazování pacientů a možnosti komparace studií mezi sebou. I například Evropská kardiologická společnost (ESC, European Society of Cardiology) ve

svém nejnovějším doporučení používá objektivní kritéria k definici kardiogenního šoku takto. [51]

1. Systolický tlak < 90 mm Hg s adekvátní stavem volémie

plus

2. Znamky hypoperfuze:

a) klinické známky: chladné končetiny, oligurie, alterace mentálního stavu, závrať, snížený pulzový tlak.

NEBO

b) laboratorní známky: metabolická acidóza, zvýšený sérový laktát, elevovaný sérový kreatinin

e) *Patofyziologie šokových stavů*

K rozvoji šoku mohou vést čtyři základní patofyziologické mechanismy. [52]

(Weil and Shubin, 1971):

- A. Hypovolémie (ztráty tekutin – vnitřní nebo vnější)
- B. Problémy s distribucí, resp. systémovou vaskulární rezistencí (SVR (seps, anafylaxe)
- C. Kardiogenní mechanismy (myokarditida, arytmie, akutní infarkt myokardu, onemocnění chlopní)
- D. Obstrukce (tamponáda perikardu, plicní embolie, tenzní pneumotorax)

Tyto mechanismy se mohou navzájem překrývat a doplňovat, například pacient v septickém šoku při těžké pneumonii může mít komponentu distributivního, hypovolemického a v případě vyjádřené septické kardiomyopatie též složku kardiogenního šoku.

V další části se budu zabývat podrobněji pouze septických a kardiogenním šokem, které mají překvapivě hodně styčných ploch, jak v určitých klinických rysech, tak v patofyziologii. Dle studie SOAP II (Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients II), která zahrnovala 1679 pacientů hospitalizovaných na ICU byl nejčastějším typem septický šok (62%), kardiogenní šok (17%) a šok hypovolemický (16%). [53]

Septický a kardiogenní šok představují dvě formy oběhového selhání, s rozdílnou patogenezi, resp. etiologií, ale velice podobným zásadním dopadem na orgány/orgánové systémy. Molekulární mechanismy patogeneze septického šoku byly a jsou detailně popsány pomocí tzv. omických přístupů. [54-57] Rozdíly a podobnosti mezi kardiogenním a septickým šokem byly již dříve pozorované pomocí sledování hladin inflamatorních markerů, cytokinů a dalších molekul. [58-

62] Každopádně první pilotní data použitím analýzy transkriptomů, která poukázala na aktivaci stejných inflamatorních cest jak u kardiogenního, tak u septického šoku, byla publikována v roce 2019. [63]

Zjištění překryvu v patofyziologii těchto dvou typů šoků bylo významným a do určité míry překvapivým pokrokem v posledních desetiletích.

Kardiogenní šok je charakterizován významným snížením myokardiální kontraktility s výsledným snížením CO, které dále pokračuje do sníženého krevního tlaku (MAP), který vede k hypoperfuzi myokardu pomocí koronárních tepen, k další ischemii a snížení kontraktility. Tento „začarovaný kruh“ může vést ke smrti, pokud není přerušen, v případě kardiogenního šoku intervencemi primárně směřujícími ke zvýšení/obnovení CO. [64] První, časné deskripce kardiogenního šoku popisovaly pacienty se srdečním selháním a zvýšeným centrálním žilním tlakem (CVP, Central Venous Pressure). [65] S nástupem invazivnější hemodynamiky a zejména transpulmonální diluce byly poprvé popsány série pacientů s kardiogenním šokem způsobeným akutním infarktem myokardu. [66, 67] Klasický hemodynamický pohled na kardiogenní šok byl takový, že reakcí na snížený CO, spolu se zvýšeným tlakem v zaklínění (PCWP, Pulmonary Capillary Wedge Pressure) je zvýšení SVR, které má tendenci udržovat MAP v hodnotách dostatečných k perfuzi periferních tkání a orgánů. [68, 69] V dalších letech, zejména na základě výsledků studie SHOCK [69] bylo popsáno čtyři fenotypy hemodynamického obrazu kardiogenního šoku – tabulka 2. [50, 71]

Tabulka 2

		Stav volemie	
		Vlhký (hypervolemie)	Suchý (Hypovolemie)
Periferní cirkulace	Studená	Klasický kardiogenní šok (↓CI, ↑SVRI, ↑PCWP)	Euvolemický kardiogenní šok (↓CI, ↑SVRI, ↔PCWP)
	Teplá	Vazodilatační kardiogenní šok (nebo smíšený šok KŠ+SŠ) (↓CI, ↓/↔SVRI, ↑PCWP)	Vazodilatační šok (nejedná se o KŠ, ale o např. SŠ) (↑CI, ↑SVRI, ↓PCWP)

Tabulka 2 rozděluje kardiogenní šok na čtyři druhy dle fenotypů

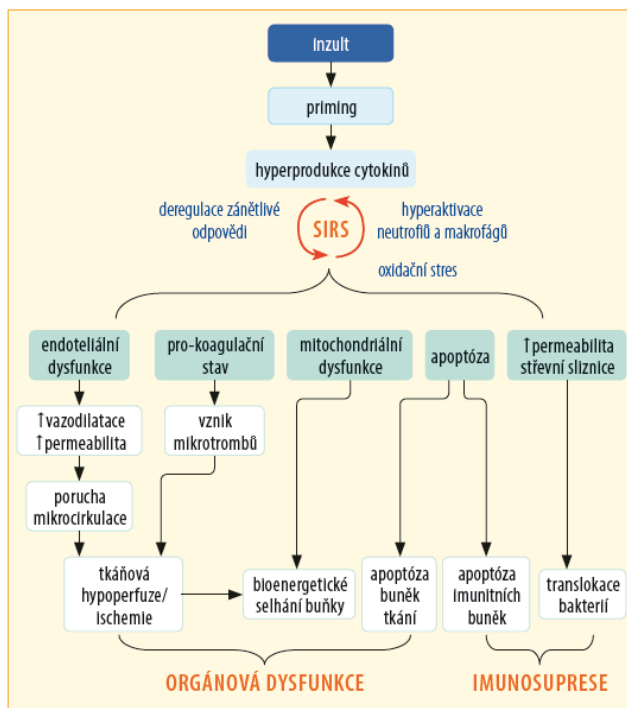
hemodynamického obrazu šokového stavu – upraveno dle Van Diepen et al., 2017

Nejčastější kombinací „studený“ a „vlhký“ fenotyp kardiogenního šoku je v klinické praxi v cca 2/3. Zde je nutné upozornit na typ vasodilatačního kardiogenního šoku nebo tzv. smíšeného šoku, který změnil paradigma vnímání kardiogenního šoku. Tento popsáný tzv. vasodilatační kardiogenní šok, který je spojený s aktivací inflamace a klinicky pozorovatelný jako kardiogenní šok se SIRS (zmíněný u první definice sepse) je spojený s vyšší mortalitou a vyšším rizikem rozvoje sepse. [72-74]

f) Patofyziologie sepse, inflamace a oběhového selhání

Patofyziologie sepse/septického šoku je velice komplexní a jedná se o vzájemné interakce mezi patogenem a hostitelem. [75] Není to pouze vystupňovaná imunitní prozánětlivá reakce, např. jako v případě jiných klinických situací, které budou rozebírány v této habilitační práci (KŠ s vazodilatací, ARDS a další), ale dochází zde k zapojení množství mediátorů, metabolických cest a signálních drah nesmírně komplexně propojených a s množstvím zpětnovazebních drah a regulací. [76] Komplexnost problému dokumentuje obrázek 1. Patogen v případě sepse nebo tzv. alarminy v případě neinfekční příčiny vyvolávají inflamatorní reakci, nazývanou jako „immune priming“, která vede k rozvoji SIRS. Na SIRS nasedají další patofyziologické faktory: dysfunkce endotelu, aktivace koagulace, mitochondriální dysfunkce, apoptóza a další. Komplexním působením systémové inflamace dochází ke vzniku orgánové dysfunkce. Současně s orgánovou dysfunkcí dochází i k rozvoji dysfunkce imunity, tzv. sepsí indukovaná dysfunkce imunity. [77]

Obrázek 1



Znázornění komplexní problematiky patofyziologie sepse, septického šoku a MODS. (Použito z knihy Maláska et al., 2020) [211]

Patogen, respektive jeho některé součásti, aktivují prvně vrozenou imunitu - jedná se zejména o monocyty, makrofágy, neutrofilů a tzv. NK buňky (Natural Killer Cells).

Tato aktivace je zprostředkována pomocí tzv. PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns). Jsou to specifické molekuly, např. endotoxin (lipopolysacharid) z buněčné stěny gram-negativních bakterií, peptidoglykan gram-pozitivních bakterií nebo beta-glukany hub.

[78] Kromě těchto specifických ligandů existují tzv. DAMPs (Damage-Associated Molecular Patterns), které sestávají z molekul a struktur, vyplavených z poškozených buněk, granul a jader, způsobené systémovou inflamací, (např. HMGB1, granulysin, HSP 60 a 70, protein S100, ATP, DNA/RNA). [79] Toto poškození nastává buď při sepsi anebo z příčin neinfekčních (tyto vyvolávají zmíněný tzv. SIRS). Tyto výše uvedené ligandy se nazývají jako tzv. alarminy a váží se na specifické receptory na imunitních buňkách. K nim patří zejména rodina tzv. TOLL-like receptorů (TLRs), nucleotide-binding and oligomerization domain (NOD)-like receptory (NLRs) a další, které jsou umístěny na imunitních buňkách. [80]

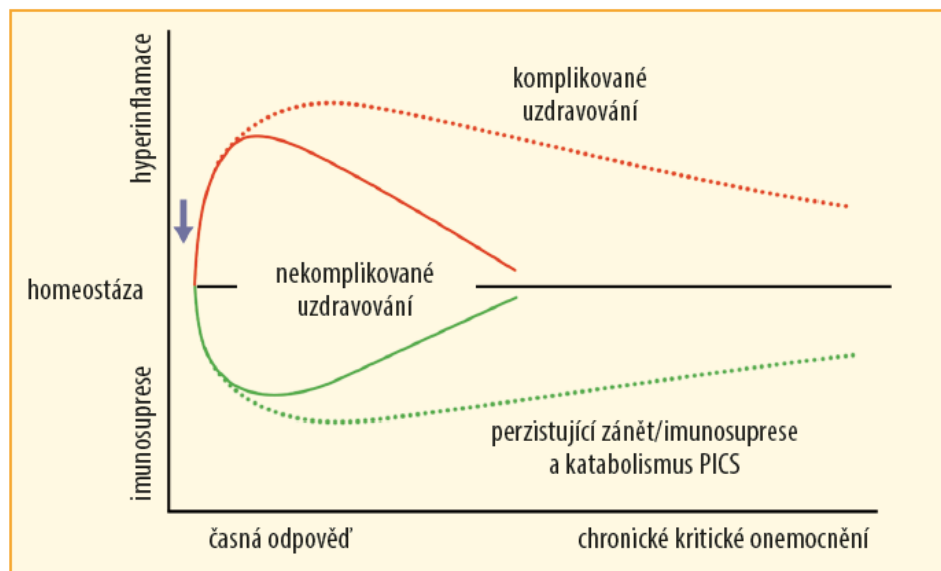
Aktivací receptorů pro PAMPs/DAMPs dochází k rychlé produkci proinflamatorních a antiinflamatorních molekul skrze ústřední aktivaci NF- κ B (nukleární faktor kappa B). [81] Dochází k vyplavování cytokinů - např. interleukin 1, 2, 6, aktivaci komplementu a dalších signálních cest, např. systém kaspáz. Tzv. „inflamatorní bouře“ dochází dále k aktivaci leukocytů a jejich pomnožení, navíc se aktivuje komplement, endotel, produkce tkáňového faktoru, aktivace koagulace a proteinů akutní fáze (PPPs). [82]

Pokud poté dojde k přemrštění imunitní odpovědi, dochází k poškození nejen patogenů, ale i pacienta. V sepsi dochází také k výrazné aktivaci koagulace. Je to dáno tím, že mezi inflamatorní a koagulační kaskádou existuje spousta propojení, aktivačních míst a zpětných vazeb. [83] Aktivace koagulace se liší nejen mírou iniciálního inzultu, tedy mírou imunitní odpovědi, ale i různé patogeny mají schopnost specificky a výrazně ovlivnit koagulační

kaskádu. Aktivace koagulace má za následek tvorbu mikrotrombů, které mají podstatný vliv v patogenezi mikrocirkulační poruchy, která je u pacientů se sepsí jedním z podstatných znaků.

Při aktivaci proinflamatorních cest dochází k sousledné aktivaci antiinflamatorních drah, tzv. CARS (Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome) s cílem zpětnovazební regulace, podrobněji viz obr. 2. Imunosuprese může být u některých pacientů vyjádřena natolik (často cca 7-10 den po iniciálním inzultu), že nejsou schopni odolávat sekundární infekci a často umírají na sekundární sepsi s MODS. [84] Aktivace proinflamatorní a antiinflamatorní fáze je sousledná a intenzita každé komponenty záleží na mnoha faktorech – genetická výbava a komorbidity pacienta a na typu patogenu a jeho virulenci. [85]

Obrázek 2



Průběh aktivace proinflamatorní a antiinflamatorní cesty a jejich role v další trajektorii pacienta. (Použito z knihy Maláska et al., 2020) [211]

Změny v endotelu v sepsi významným způsobem přispívají ke klinickému obrazu pacienta a také k jeho další prognóze. Dochází k poruše endoteliálních buněk a rozbití ochranné vrstvy endotelií – glykokalyxu, což rezultuje ve snížení bariérové funkce a dále k vazodilataci a ke zvýšené adhezi leukocytů a trombocytů. [86] Glykokalyx je vnitřní vrstva endotelu směrem do lumen cév, složená z glykoproteinů a glykolipidů, sloužící k zachování optimální permeability, regulaci adherence leukocytů a trombocytů a zachování endoteliální a plasmatické homeostázy. Její porušení s následnou poruchou permeability je základním podkladem snížené objemové efektivity koloidních roztoků v sepsi (a dalších klinických situacích, které vedou k poruše glykokalyxu). [87] Porucha glykokalyxu endotelu v sepsi má také prognostický význam ve vztahu k mortalitě. [88] Zvýšená permeabilita endotelu/kapilár vede k hromadění edémové tekutiny v intersticiu, podkoží a tělních dutinách.

Mikrotrombotizace ve spojitosti s aktivovaným a dysfunkčním endotelem vede k poruše mikrocirkulace.

Jedním z typických rysů sepse/septického šoku je tzv. tkáňová hypoxie a buněčná dysoxie.

V prvním případě tkáňové hypoxie (také se používá pojem mikrocirkulační hypoxie) se jedná o problém dodávky kyslíku do konkrétních buněk v důsledku dysfunkce oběhu a v druhém je porušena utilizace O_2 v důsledku tzv. tkáňové dysoxie. [89] V případě problému dodávky O_2 k jednotlivým buňkám v sepsi jsou příčiny systémové a lokální. K těm prvním se řadí hemodynamické změny makrocirkulace v sepsi, které mohou vést k nízké globální dodávce kyslíku do tkání a nepoměru mezi dodávkou (DO_2) a spotřebou kyslíku (VO_2). K druhým, tj. lokálním problémům při transportu kyslíku do tkání můžeme počítat poruchy mikrocirkulace. Oba způsoby vedou k nízkému parciálnímu tlaku kyslíku ve tkáních – ptO_2 – neboli tzv. tkáňové hypoxii. [90]

V druhém je porušena utilizace O_2 v důsledku tzv. tkáňové (buněčné) dysoxie (také se používá pojem mitochondriální hypoxie). Jedná se o poruchu extrakce kyslíku tkáněmi

navzdory dostatečné dodávce kyslíku do tkání nejčastěji zapříčiněnou tzv. mitochondriální dysfunkcí. [91]

V souvislosti nejen s mikrocirkulační a mitochondriální hypoxií dochází ke zvýšení laktátu u pacientů v sepsi a ve stavech oběhového selhání. [92, 93] Další příčiny zvýšení laktátu jsou zprostředkované aktivací stresové odpovědi (HPA- hypotalamo-pituitární-adrenální osou), kdy je mj. výrazně zvýšená glykolýza. Z toho vyplývá zvýšená nabídka pyruvátu, která vede k vyšším hladinám laktátu. [94] V sepsi je však také výrazně porušena laktátová klirens (zejména játry), která významně přispívá k eventuální perzistující laktacidémii. [93] Laktát je biomarker opakovaně prokázáný jako negativní prognostický faktor u pacientů v oběhovém selhání a sepsi. [95-97] Dále je využíván jako zdroj energie, jak v tzv. Coriho cyklu, kdy je laktát ze svalů využíván v játrech ke glukoneogenezi (a event. glykogenogenezi) a vzniklá glukóza je transportována zpět do svalů ke glykolýze. Navíc je laktát využíván mezibuněčným transportem jako zdroj energie pro neurony a také je schopen přímo vstupovat do mitochondrií, kde slouží k regeneraci elektronových transportních řetězců. [98, 99]

Porucha mikrocirkulace v šokových stavech je spolu s klasickým obrazem změn v makrocirkulaci zásadním momentem patofyziologie oběhového selhání a sepse. Pomocí přímého zobrazení kapilár (např. systém SDF) víme, že v sepsi dochází k poruše mikrocirkulace, jak ve smyslu zpomaleného proudění, tak ve smyslu závažných strukturálních změn s mikrotrombotizací. [100, 101] Funkčně tyto změny vedou k tkáňové hypoxii mimo jiné i efektem tzv. zkratování (shunting). Změny v mikrocirkulaci jsou prokázány jako negativní prediktor přežití pacientů se sepsí. [102]

Makrocirkulace (makrooběh), resp. její změny zahrnují téměř všechny typické rysy ostatních druhů šoků (více viz tabulka 3.). Typickou složkou bývá vazodilatace – tedy obraz distributivního šoku.

Tabulka 3.

Hemodynamický obraz septického šoku
Distribuční šok
Hypovolemický šok
Kardiogenní šok
Obstruktivní šok

Hemodynamický obraz septického šoku v různých stádiích může obsahovat komponenty téměř všech ostatních druhů šoků. (Použito z knihy Maláska et al., 2020) [211]

Distributivní složka je patofyziologicky zprostředkována systémovou inflamací s vyplavením cytokinů, kdy dochází k dilataci v arteriálním i venózním řečišti a tudíž ke snížení žilního návratu, k poklesu afterloadu levé komory a snížení SVRI. [103] V iniciálních stádiích situace makro- i mikrocirkulace zcela odpovídá distributivnímu šoku. V mikrocirkulaci dochází k dilataci jak arteriol, venul, tak i kapilár. [104]

Složka hypovolémie je způsobena jednak relativní hypovolémií díky vasodilataci, zejména venózní, a dále hypovolémií absolutní způsobená febriliemi, nízkým příjmem tekutin a také ztrátami intravaskulárních tekutin do intersticia v důsledku poruchy bariérové funkce endotelu. [105]

Složka kardiogenního šoku, tedy nízkého srdečního výdeje, je způsobena akutním (u přežívajících pacientů přechodným) snížením systolické a diastolické funkce srdce, která je typická pro sepsi a je nazývána tzv. septická kardiomyopatie (SKMP) nebo myokardiální dysfunkce v sepsi, také i septická myokardiální dysfunkce (SMD). Obecně dochází k poklesu ejekční frakce/tepového objemu (EF – Ejection Fraction, SV – Stroke Volume) a dilataci levé

komory s nízkými plnicími tlaky. Změny jsou reverzibilní a úprava systolické a diastolické funkce je prognosticky příznivou známkou. [106, 107]

g) Možnosti ovlivnění inflamace u ARDS

Inflamace (zánět) je přirozená odpověď imunitního systému organismu, která může být iniciována více faktory. [108] Typicky se jako spouštěči inflamace v klinické praxi vyskytují různé druhy patogenů, dále komponenty, které jsou výsledkem poškození buněčných struktur organismu (obsah cytosolu, jaderné komponenty, komponenty granulí), tzv. alarminy. [79] Inflamace jako součást tzv. syndromu systémové inflamatorní odpovědi (SIRS) může být více vyjádřená v určitém konkrétním orgánu, jako je to např. u syndromu akutní respirační tísně (ARDS). [109]

Patofyziologicky je ARDS charakterizované akutním difuzním poškozením plic na podkladě vystupňované zánětlivé reakce. ARDS vzniká s časovým odstupem od primárního inzultu, který může být jak plicní etiologie, tzv. primární ARDS (typicky pneumonie, plicní kontuze a další), tak mimoplicní etiologie, tzv. sekundární ARDS jako důsledek SIRS v rámci MODS (sepse, oběhové selhání, trauma). [110] V důsledku primárního onemocnění jsou do oběhu vyplavovány zánětlivé mediátory, které působí zánětlivou reakci plicních kapilár. Při rozvoji ARDS dochází k současnému poškození endotelu plicní mikrocirkulace a epitelu plicních alveolů, což vede ke vzniku alveolárního edému (nekardiálního), typického znaku exsudativní fáze ARDS. [111] Pokud pacient přečká fázi exsudativní, onemocnění dále postupuje přes fázi reparační buďto do funkčního uzdravení, nebo do fáze fibrotické. [112]

Plicní endotel je poškozován vícero mechanismy. Jedním je neutrofilní poškození, kdy dochází k akumulaci neutrofilů v plicní mikrocirkulaci. Jejich následná aktivace a degranulace uvolní do oběhu velké množství proinflatorních cytokinů, ROS a prokoagulačních faktorů (trombin), z nichž některé endotel přímo poškozují. [111] V poškozeném endotelu dochází k obnažení tkáňového faktoru (TF), iniciaci koagulační

kaskády a tvorbě mikrotrombů. Trombin následně aktivuje trombocyty, které degranulují a uvolňují do krve řadu molekul. Mezi nimi například P-selectin, protein podporující migraci a aktivaci neutrofilů v plicním endotelu. Aktivované trombocyty taktéž podporují expresi intracelulární adhezivní molekuly (ICAM-1) na buňkách endotelu, která stimuluje adhezi neutrofilů. [113] Neutrofilly exprimují struktury známé jako Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells-1 (TREM-1), které po rozeznání ligandu na povrchu trombocytů stimulují zánětlivou odpověď produkcí proinflamatorních cytokinů. Synergií trombocytů a neutrofilů tak dochází k dalšímu endoteliálnímu poškození. [114] Následkem všech těchto dějů se v alveolech akumuluje exsudát bohatý na proteiny, dochází k inaktivaci surfaktantu. ARDS se nachází v exsudativní fázi.

Poškození alveolárního epitelu je taktéž multifaktoriálního charakteru. Kromě působení primárního onemocnění (např. pneumonie), případně vlivu umělé plicní ventilace, dochází k poškození samotnou zánětlivou reakcí. V plicních alveolech se přirozeně vyskytují alveolární makrofágy (AM). V důsledku změn alveolárního mikroprostředí v rámci ARDS dochází k aktivaci TLR a AM mění svůj fenotyp na inflamatorní M1 makrofágy, uvolňují inflamatorní cytokiny (IL1beta, IL6 a TNF-alfa) a zvyšuje se aktivita inducibilní NO syntázy (iNOS). Pomocí těchto cytokinů jsou do alveolů rekrutovány neutrofilly z intravaskulárního prostoru (což je ještě zjednodušeno poruchou funkce endotelu), které následně poškozují alveoly zánětlivou reakcí. [112] Reparační fáze je závislá na vstřebání alveolárního exsudátu. Toto může být efektivní pouze v případě, že došlo k dostatečné regeneraci alveolárního epitelu. [115] Na této regeneraci se znovu podílejí alveolární makrofágy. Po odstranění vyvolávajících faktorů a pod vlivem IL4 a IL13, mění AM svůj fenotyp na anti-inflamatorní M2 makrofágy. Následně fagocytují apoptotické neutrofilly, inhibují produkci

proinflamatorních cytokinů a inhibují iNOS (čímž snižují hladinu reaktivních forem dusíku v alveolu). [116]

Obávanou pozdní komplikací ARDS je plicní fibróza. Stejně jako výše zmíněné patofyziologické mechanismy je i fibrotická přestavba závislá na AM. Tradičně je profibroticky vnímán fenotyp M2. Protrahované působení IL-4 a IL-13 působí persistenci M2 makrofágů a následnou excesivní fibrotizaci. Oproti tomu fenotyp M1, produkcí např. matrixové metaloproteinázy (MMP) a dalších antifibrotických cytokinů tyto procesy narušuje. [116]

V rámci potlačení inflamace a prevence fibrotizace u pacientů s ARDS byly zkoušeny různé skupiny léků s různým efektem. Jsou to např. inhibitory neutrofilní elastázy (NE), heparin, statiny, ACE inhibitory a další. [117] Z těchto lékových přípravků jsou některé stále slibné, nicméně dostatečně neprokázané pod zorným úhlem EBM a některé koncepty jsou již zcela uzavřeny s negativním výsledkem. [118] Nejvíce dat z klinických hodnocení a také velké patofyziologické předpoklady k efektivitě u ARDS mají glukokortikoidy.

Role glukokortikoidů (GC) v léčbě ARDS se opírá o jejich schopnost redukce systémové zánětlivé odpovědi, která je vedoucím patofyziologickým mechanismem plicního postižení. [119] Výsledky laboratorní studie naznačují, že snížená aktivita glukokortikoidových receptorů (GCR) u pacientů s ARDS vede ke zvýšení aktivity NF- κ B. Zvýšená aktivita NF- κ B stimuluje rozvoj zánětlivé odpovědi s negativním efektem na morbiditu a mortalitu. [120] Podávání adekvátních dávek exogenních GC vede ke zvýšení aktivity i absolutního množství GCR. Zvýšením aktivity GCR dochází k potlačení aktivity NF- κ B a následnému snížení hladin cirkulujících prozánětlivých cytokinů (TNF alfa, IL-1, IL-6), čímž GC zasahují do klíčového patofyziologického mechanismu ARDS. [119] Za předpokladu použití dostatečně

vysokých dávek dochází k aktivaci negenomických mechanismů. Snížením tvorby ROS a inhibicí degranulace neutrofilů snižují GC úroveň zánětlivé odpovědi. [121]

h. Dlouhodobé následky sepse

Krátkodobá mortalita pacientů se sepsí a septickým šokem je vysoká a může se týkat v závislosti na mnoha faktorech až 1/3 pacientů. [38] K rizikovým faktorům patří komorbidity, pohlaví, věk, vyjádřený syndrom stařecké křehkosti, předchozí operace, prodělaná sepse a genetická predispozice. [39-42] Celosvětově se odhaduje cca 14 miliónů pacientů ročně, kteří sepsí přežijí a vyžadují tak specifické zdravotní potřeby, včetně managementu dlouhodobých komplikací. [122] Tyto dlouhodobé následky sepse, které se týkají jak konkrétního pacienta, tak i z jiného pohledu celé společnosti, se začaly intenzivněji zkoumat před cca dvěma dekádami. Souvisí to s určitou změnou paradigmatu vnímání intenzivistů, kteří se kromě základního pohledu, jestli pacient přežije pobyt na ICU, začali ptát a zkoumat otázky, které se týkají QoL a dlouhodobé mortality a morbidit. [123] Víme, že dlouhodobá mortalita pacientů po prodělané sepsi je zvýšena, a že toto riziko je prokázáno až deset let po jejím prodělání. [124-126] Další komplikací je zvýšená incidence rehospitalizací, vrcholící v jednom roce až na 63%. [125] Pacienti po prodělané sepsi také mívají problémy s kognitivní dysfunkcí a je u nich zvýšené riziko demence a depresí. [127, 128] Sníženou kvalitu života pacientů po přežití sepse reportovalo několik výzkumníků a je shrnuta v systematickém souhrnu, které analyzovalo 12 studií zkoumajících QoL, zejména s použitím dotazníku SF-36 (Short Form 36). [129] V posledních letech je pozornost zaměřena na dlouhodobé kardiovaskulární komplikace těchto pacientů. Pacienti po prodělané sepsi mají statisticky signifikantně vyšší riziko kardiovaskulárních příhod: infarkt myokardu, iktus a prokázaná souvislost se zvýšenou incidencí fatálních koronárních příhod. [130] Patofyziologie zvýšeného rizika kardiovaskulárních příhod u pacientů po prodělané sepsi je intenzivně sledována. Jedním z mechanismů by mohlo být zvýšení sérové hladiny proteinu high mobility group box 1 (HMGB1), který zvyšuje expresi receptorů pro konečné produkty pokročilé glykace (receptors for advanced glycation endproducts, RAGE). [131] Další

hypotézou je sepsí akcentované stárnutí. Vzhledem k tomu, že mnoho dlouhodobých komplikací sepse je podobných s komplikacemi, které mají pacient starší a pacienti s vyjádřeným syndromem křehkosti, se spekuluje a existují jsou na to již data, že zkrácení telomer je pravděpodobně velice robustní hypotéza. [132] Se zkrácením telomer a akcentací buněčné senescence také souvisí genomická nestabilita a epigenetické změny. [133] Hypotéza dlouhodobých komplikací u pacientů se sepsí bude dále komentována v souvislosti s mým výzkumem v oblasti telomer.

g. Tematické okruhy habilitační práce

Prvním tematickým okruhem této habilitační práce je epidemiologie, management a výsledek léčby pacientů se sepsí v České republice (ČR). V situaci chybějících epidemiologických dat z pracovišť intenzivní péče týkajících se pacientů se sepsí a septickým šokem byla vytvořena výzkumná skupina EPOSS, která sdružuje pracoviště intenzivní péče z celé ČR. [28, 30] Projekt dále cílí na popis reálných dat popisujících klinický management těchto pacientů včetně výsledků léčby. Má role v projektu EPOSS je manažer projektu. Získaná data, která níže komentuji, jsou velice cenná a v regionu střední Evropy do jisté míry unikátní. [28, 29]

Druhým tematickým okruhem je dlouhodobá morbidita a mortalita pacientů po prodělané sepsi, kteří mají své specifické komplikace. V tomto oddílu habilitační práce se věnuji zejména možným patofyziologickým a molekulárním podkladům se zaměřením na hypotézu zkrácení telomer. Možná příčina urychleného vaskulárního stárnutí a urychlené senescence endotelu, které se projevuje v akcentované ateroskleróze může být na podkladu zkrácení délky telomer. Tato vysoce zajímavá oblast je výzkumně metodologicky demonstrována na mých dřívějších pracích týkající se výzkumu v oblasti telomer a telomerázové biologie pod vedením současného profesora Jiřího Fajkuse. [134, 135] Obě práce jsou již od počátku až do současnosti hojně citované významnými publikacemi z oboru. Význam a aktuálnost tématu telomer nachází ještě větší sílu v nynější situaci stran onemocnění COVID-19, u které také souvislost s délkou telomer a horší mortalitou byla recentně publikována. [136, 137]

Třetím tematickým okruhem je oběhového selhání u septického a kardiogenního šoku, prognostické faktory a dlouhodobé komplikace. V úvodu oddílu komentuji souhrnnou práci, která se zabývá myokardiální dysfunkcí v sepsi, tedy situaci, která spojuje

septický a kardiogenní šok, nejen na úrovni klinického fenotypu, ale i laboratorního.

[106] Tato ojedinělá práce v českém jazyce dále uvádí problematiku biomarkerů a možnosti prognostikace mortality, které je ústřední téma tohoto oddílu. V návaznosti na tuto práci dále uvádím a komentuji práci týkající se problematiky interleukinu 6 (IL6) u pacientů se SŠ, KŠ a STEMI. Práce popisuje roli IL-6 v rozlišení těchto klinických situací jejich prognostickou roli. [138] Práce byla citována v systematickém přehledu ze skupiny Cochrane Library v roce 2019. [139] Podobně metodicky postavená práce na velkém souboru pacientů s KŠ, SŠ a STEMI, v mezinárodní spolupráci s francouzskou výzkumnou skupinu vedenou prof. Alexandrem Mebazzou popisuje infekční komplikace u pacientů v KŠ a diagnostickou a prognostickou roli čtyřech biomarkerů (CRP, PCT, PSP a PTX3). [62] Práce je součástí a citována v doporučení pro epidemiologii, patofyziologii a současný management kardiogenního šoku vytvořené v rámci Evropské asociace srdečního selhání Evropské kardiologické společnosti v roce 2020. Dalším biomarkerem, který jsme testovali opět na třech souborech pacientů (KŠ, SŠ, STEMI) byl solubilní ST2 (Serum Stimulation 2). [140] Unikátnost práce spočívá ve skutečnosti, že se jednalo o první publikovanou kohortu pacientů s KŠ a SŠ u kterých byly dokumentovány hodnoty sST2. Práce metodicky designované jako komparace tří skupin pacientů uzavírá recentní publikace týkající se role oxidativního stresu u pacientů v kardiogenním šoku. [141] Cílem tohoto souboru studií bylo testovat roli biomarkerů u pacientů v oběhovém selhání a jejich možné klinické využití.

Čtvrtým tematickým okruhem jsou možnosti ovlivnění inflamace na příkladu syndromu akutní respirační tísně. Zde uvádím recentní souhrnný článek z naší výzkumné skupiny, který dokumentuje spojení aktivace inflamace (obdobně jako u SŠ a KŠ) u pacientů se Syndromem akutní respirační tísně (ARDS) v souvislosti

s onemocněním COVID-19. [142] Tento aktuální článek kriticky shrnuje patofyziologii hyperinflamace u ARDS a data, která máme v současné době k dispozici, která se týkají možnosti použití kortikoidů v indikaci ARDS u pacientů s COVID-19. Tento souhrnný článek je v českém jazyce ojedinělý a navazuje na něj dotazníkové šetření naší výzkumné skupiny ve spolupráci s českými odbornými společnostmi a také Evropskou společností intenzivní medicíny (ESICM) a Evropskou společností anesteziologie a intenzivní péče (ESAIC). Poslední komentovanou publikací je strukturovaný souhrn protokolu klinického hodnocení (KH) studie REMED (EudraCT No.:2020-005887-70,NCT04663555), který zkoumá podávání dvou různých dávek dexamethasonu u pacientů s COVID-19 ARDS. [143] Jsem národním koordinátorem tohoto KH do kterého je zapojené 10 pracovišť intenzivní péče v České republice.

2. Epidemiologie, management a výsledek léčby pacientů se sepsí v České republice

a. *Patient survival, predictive factors and disease course of severe sepsis in Czech intensive care units: A multicentre, retrospective, observational study. Biomedical Papers-Olomouc. 2016*

Sepse je významným zdrojem mortality a morbidit hospitalizovaných pacientů [22] a patří mezi nejčastější příčiny úmrtí celosvětově. [2] Přesto data týkající se incidence a mortality pacientů se sepsí a septickým šokem v České republice nejsou systémově k dispozici. Proto byla v roce 2011 vytvořena iniciativa, do které byla zapojena většina fakultních a krajských nemocnic v České republice. Tento společný multicentrický projekt klinických pracovišť a Institutu biostatistiky a analýz Masarykovy Univerzity (IBA MU) EPOSS (Data-based Evaluation and Prediction of Outcome in Severe Sepsis) si stanovil za úkol zjistit základní epidemiologické charakteristiky pacientů přijímaných se sepsí (v době projektu označovaných jako těžká sepse) a septickým šokem na zapojená pracoviště intenzivní péče. Projekt byl schválen odbornými společnostmi, které garantují péči o pacienty hospitalizované na jednotkách intenzivní péče. Dalším cílem bylo parametrické sledování managementu těchto pacientů přímo v reálné klinické praxi. Na projekt dále navázala propojená edukační aktivita SEPSIS-Q cílená na zlepšení znalostí o léčbě pacientů se sepsí. Podrobný popis vzniku projektu, jeho cíle a technické řešení je součástí samostatné publikace, kterou uvádím a komentuji dále v této habilitační práci. [30]

Článek se věnuje kompletní analýze projektu EPOSS. Pro účely projektu bylo hodnoceno dosažení 10 diagnostických a terapeutických intervencí v průběhu prvních 6 hodin projektu obsažená v tzv. balíčcích pro léčbu sepse, které byly v té době doporučovány odbornými společnostmi. Do projektu bylo finálně zařazeno 1082 pacientů. [29] Kompletní data týkající se mortality a dalších klíčových parametrů léčby byla dostupná u 897 pacientů. ICU a nemocniční mortalita byla ve sledovaném souboru 35,5% resp. 40,7%. Nejčastěji bylo

splněno celkově 5 intervencí (32,9%). Intervence spojené s nižší nemocniční mortalitou byly CVP (centrální žilní tlak) $\geq 8-12$ mm Hg, MAP (střední arteriální tlak) ≥ 65 mm Hg, hodinová diuréza ≥ 0.5 mL/kg/h, hodnota sérového laktátu ≤ 4.0 mmol/L a podání antibiotik. Po korekci na věk pacientů a tíži iniciálního stavu hodnocenou pomocí APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II) skóre byly intervence spojené s nejnižší nemocniční mortalitou MAP (střední arteriální tlak) ≥ 65 mm Hg a hodnota sérového laktátu ≤ 4.0 mmol/L. Větší nemocniční mortalitu měli pacienti, kteří byli přijati z interního oddělení (45,7%) nebo z oborových ICU (41,6%) než pacienti přijatí z urgentního příjmu (38,0%) nebo centrálního příjmu (26,5%)

Shodou okolností byla část pracovišť zapojená do projektu EPOSS (leden 2011 až listopad 2013) zapojená také do celosvětového mezinárodního auditu ICON (Intensive Care Over Nations) (květen 2012) pacientů přijímaných na ICU týkající se epidemiologie obecné populace kriticky nemocných pacientů zapojených pracovišť. [31] Z této studie máme data týkající se pacientů se sepsí v zapojených Evropských pracovištích (fokusovaná pouze na Českou republiku nejsou k dispozici), kdy ICU mortalita pacientů se sepsí byla 25,6%. Na rozdíl od studie EPOSS, která byla longitudinální v průběhu téměř dvou let, byl ICON studií spíše prevalenční, průřezovou a navíc data, jsou vztažena na celou evropskou populaci. Za nejvýznamnější část této práce lze považovat skutečnost, že poprvé prospektivním způsobem, multicentricky získala fokusovaná data v České republice týkající se nejen epidemiologie, ale také managementu a trajektorie pacientů se sepsí a septickým šokem, tedy data, která přes startem projektu EPOSS nebyla známá.

Její význam je možno posoudit i na základě toho, že byla citována v recentním přehledném článku australských autorů týkající se výzev v reportování globálních trendů v epidemiologii pacientů se sepsí a septickým šokem léčených na ICU. [25] V současnosti je v přípravě projekt analyzující desetiletou mortalitu naší kohorty pacientů v projektu EPOSS.

Patient survival, predictive factors and disease course of severe sepsis in Czech intensive care units: A multicentre, retrospective, observational study

Radovan Uvizl^a, Milan Adamus^a, Vladimir Cerny^{b,c}, Ladislav Dusek^d, Jiri Jarkovsky^d, Vladimir Sramek^e, Martin Matejovic^f, Petr Stourac^{d,g}, Roman Kula^h, Jan Malaskaⁱ, Pavel Sevcik^{h,j}

Background. Severe sepsis/septic shock is associated with high mortality. In Central Europe, there is a dearth of information on the prevalence and treatment of severe sepsis. The EPOSS (Data-based Evaluation and Prediction of Outcome in Severe Sepsis) project launched in 2011 was aimed at collecting data on patients with severe sepsis/septic shock.

Methods. The EPOSS study processes data from the EPOSS project database, and is a retrospective, multicentre, observational study. This included all consecutive patients aged 18 and over who were admitted to participating ICUs from 1 January 2011 to 5 November 2013 and met the inclusion criteria of severe sepsis/septic shock. The primary endpoint was to analyse the relationship between in-hospital mortality (either in ICU or after discharge from ICU) and the type and number of fulfilled diagnostic and treatment interventions during the first 6 h after the diagnosis of severe sepsis/septic shock.

Results. The collected dataset involved 1082 patients meeting the criteria of severe sepsis/septic shock. Following data validation, a final dataset of 897 patients was obtained. The average age of the patient group was 64.7 years; mortality at discharge from EPOSS ICUs was 35.5% and from hospital 40.7%. Of the 10 evaluated diagnostic and treatment interventions within the initial 6 hours of identifying severe sepsis/septic shock (i.e. fulfilment of SSC bundles), four or five diagnostic and treatment interventions were administered to 58.4% patients. Combined diagnostic and treatment interventions associated with the lowest in-hospital mortality were: CVP of ≥ 8 -12 mm Hg & MAP of ≥ 65 mm Hg & Urine output at ≥ 0.5 mL/kg/h & Lactate of ≤ 4.0 mmol/L & Initial lactate measured & Antibiotics in the first hour. Lactate at < 4 mmol/L and MAP of ≥ 65 mm Hg remained statistically significant even after adjustment for patient age and APACHE II score. Statistically significantly increased in-hospital mortality was found in patients admitted from general departments (45.7%) or from other ICUs (41.6%), compared to a lower in-hospital mortality of patients transferred from outpatient clinics (26.5%) or Emergency (38.0%). Severe sepsis/septic shock patients transferred from the department of internal medicine were associated with a higher in-hospital mortality (45.1%) than surgical patients (35.5%).

Conclusions. The most effective measures associated with the lowest in-hospital mortality in septic shock patients were CVP of ≥ 8 -12 mm Hg, MAP of ≥ 65 mm Hg, urine output at ≥ 0.5 mL/kg/h, initial lactate level of ≤ 4.0 mmol/L and administration of antibiotics within the first hour.

Key words: severe sepsis, septic shock, lactate, mortality, assessment

Received: June 20, 2015; Accepted: September 22, 2015; Available online: October 23, 2015
<http://dx.doi.org/10.5507/bp.2015.052>

^aDepartment of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc and University Hospital Olomouc, Czech Republic

^bDepartment of Research and Development, Department of Anaesthesiology and Intensive Care, Faculty of Medicine in Hradec Kralove, Charles University in Prague and University Hospital Hradec Kralove, Czech Republic

^cDepartment of Anaesthesia, Pain Management and Perioperative Medicine, Dalhousie University, Halifax, Canada

^dInstitute of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech republic

^eDepartment Anaesthesia and Intensive Care, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno and St. Anne's University Hospital in Brno, Czech Republic

^fFirst Medical Department and Biomedical Centre, Faculty of Medicine in Plzen, Charles University in Prague and Teaching Hospital in Plzen, Czech Republic

^gDepartment of Paediatric Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno and University Hospital Brno, Czech Republic

^hDepartment of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Ostrava, Czech Republic

ⁱDepartment of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno and University Hospital Brno, Czech Republic

^jDepartment of Intensive Care Medicine and Forensic Studies, Faculty of Medicine, University of Ostrava, Czech Republic

Corresponding author: Jan Malaska, e-mail: jmalaska@fnbrno.cz

BACKGROUND

Sepsis, severe sepsis and particularly septic shock - the most severe form of systemic response to infectious insult

- are all associated with a high mortality rate of 20-70% depending on patient age, number of failing organ systems and/or comorbidities¹⁻³ leaving long-term devastating effects in survivors⁴. A number of national epidemiological

studies on patients with severe sepsis/septic shock have been described in the literature⁵⁻⁸. In the Czech Republic, there is a dearth of publications on both the prevalence and treatment of severe sepsis⁹. The EPOSS (Data-based Evaluation and Prediction of Outcome in Severe Sepsis) project was launched in 2011 with the aim of collecting data on patients with severe sepsis/septic shock and to aid in the evaluation of treatment efficacy¹⁰. The EPOSS project was conceived as a research project aiming to establish parametric documentation of the treatment of severe sepsis directly in clinical practice and consists of two parts: the EPOSS database (a collaborative programme in which multiple ICUs continuously collect data on severe sepsis) and the EPOSS study (analysis of data gathered in the EPOSS database). This article provides a summary of the results of the EPOSS study. The study assessed compliance with diagnostic and treatment interventions Sepsis Surviving Guidelines during the first 6 hours after the diagnosis of severe sepsis/septic shock. We recorded in-hospital mortality in relation to department from which the patients were transferred to the EPOSS ICU. The study also aimed to identify the most effective combination of diagnostic and treatment interventions related to in-hospital mortality of severe sepsis/septic shock.

METHODS

According to the STROBE statement¹¹.

Setting and study design

The EPOSS project processes data from the EPOSS project database, and is a retrospective, multicentre, observational study designed to assess both clinical and epidemiological data of ICU patients with severe sepsis in the Czech Republic. The Ethics Committee for Multicentric Trials of the University Hospital in Brno approved the

observational study with the need for patient informed consent being waived.

Participants

All patients aged 18 and over who were consecutively admitted to participating ICUs and met the inclusion criteria of severe sepsis/septic shock as defined by the ACCP/SCCM were included¹². The condition for patient enrolment was meeting the criteria of severe sepsis/septic shock identified either within the first 24-hour stay in EPOSS-ICUs, or within an interval of 24 h prior to admission to EPOSS-ICUs, combined with at least one of the criteria of organ dysfunction or clinical or laboratory signs of hypoperfusion according to “Score to assess

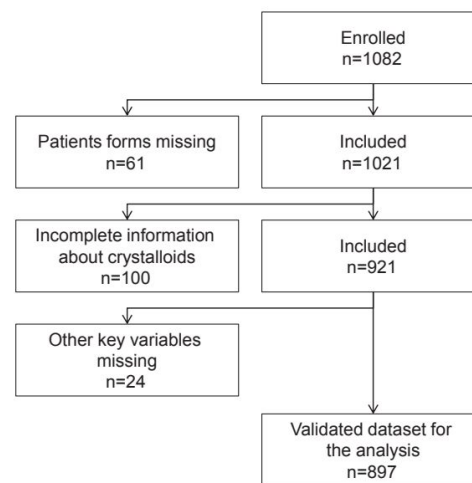


Fig. 1. Flow chart of data validation.

Table 1. Comparison of basic characteristic of patients included and excluded (incomplete data forms) from the analysis.

		Patient selection for analysis (n)		P
		Included (897)	Excluded (185)	
Gender	Female	342 (38.1%)	82 (44.3%)	0.118
	Male	555 (61.9%)	103 (55.7%)	
Age at enrollment	median (5-95% percentile)	66.0 (21.0; 92.0)	64.0 (35; 84.0)	0.932
Age category	Up to 60 yrs.	295 (33.0%)	65 (39.4%)	0.331
	60-70 yrs.	273 (30.5%)	48 (29.1%)	
	70-80 yrs.	193 (21.6%)	34 (20.6%)	
	More than 80 yrs.	133 (14.9%)	18 (10.9%)	
SOFA score	median (5-95% percentile)	10.0 (0.0; 20.0)	10.0 (73.0; 17.0)	0.551
APACHE II	median (5-95% percentile)	25.0 (2.0; 53.0)	28.0 (12.0; 43.0)	0.055
BMI (kg/m ²)	median (5-95% percentile)	27.0 (11.0; 69.1)	27.3 (19.0; 46.0)	0.533
BMI category	<= 20.0	62 (6.9%)	11 (6.9%)	0.315
	20.1-25.0	266 (29.7%)	51 (31.9%)	
	25.1-30.0	314 (35.1%)	43 (26.9%)	
	30.1-35.0	147 (16.4%)	32 (20.0%)	
	35.1+	106 (11.8%)	23 (14.4%)	
In-hospital mortality		365 (40.7%)	70 (37.8%)	0.470

Continuous data is described by median and range and tested using Mann Whitney U test. Categorical variables are described by absolute and relative frequencies and tested by ML Chi square test.

the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units" (SOFA) (ref.¹³). Inclusion criteria were always checked on discharge (even for patients who died in the hospital). Patients with incomplete data in their records were excluded (Table 1), (Fig. 1). Appendix 2 shows participating departments [see Additional file - Appendix 2]. The reference period for patient enrolment in the study was from 1 January 2011 to 5 November 2013. The aim of this article is to summarise data for the first one thousand patients in the EPOSS database. Regarding participation in the study, all ICUs in general, teaching and university hospitals in the Czech Republic were invited to cooperate. Participation by individual ICUs was voluntary. Three types of ICU were recorded in the EPOSS project database: surgical, medical and mixed. In the reference period, the following indicators were monitored in participating ICUs: the number of beds, the total number of patients, in-hospital mortality and the average Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) (ref.¹⁴) score of all patients in a given institution within the first 24 h of admission.

Data management

The project database was developed and maintained by the Institute of Biostatistics and Analyses, Masaryk University in Brno. Prior to launching the study, representatives of participating centres were trained in entering data into the registry. The project manager communicated electronically with data submitters, and centres involved in the project received a monthly report on the actual number of patients enrolled in the study. Detailed instructions for data entry, as well as the description, professional starting points, organisation and objectives of the project were available to all participants throughout the duration of the study at <http://eposs.registry.cz>. The Steering Committee continuously coordinated the collection and evaluation of data, and its members were always available to solve any issues.

Patients were monitored until their discharge from the hospital, or until death. Patients' records were used as the data source; data were retrospectively entered in an electronic form and sent to the research database through a web user interface.

The TrialDB application, which was adopted for the EPOSS project, was initially developed by the Centre for

Medical Informatics, Yale University School of Medicine (Connecticut, US), and further amended by the Institute of Biostatistics and Analyses of the Faculty of Medicine and the Faculty of Science of Masaryk University (IBA).

The core of the TrialDB data centre is composed of databases administered in the ORACLE 11g system. Such a database is accessed by a web application installed in the application server. The web application is implemented as a package of ASP (Active Server Pages); users may use a current web browser for access, i.e. it is not necessary to install any new software or other accessories. The supported browsers are IE 5.5+, Google Chrome and Mozilla Firefox. Unfortunately, support for rather obsolete browsers is necessary, as they are still broadly used in Czech hospitals.

All the communication between the client application and the server is made via a secured encrypted HTTPS protocol. Only centrally administered and registered users can access the application after entering a correct username and password allocated by the system administrator.

Measurement

Data were collected during the enrolment of patients into the study. An additional file shows this in more detail [see Additional file - Appendix 3].

Urine output was assessed as a goal of ≥ 0.5 mL/kg/h achieved in the first 6 h, or ≥ 3 mL/kg/6h respectively. Administration of crystalloid bolus ≥ 30 mL/kg at MAP ≤ 65 mm Hg was assessed collectively over the first 6 hours. Other diagnostic and treatment goals were evaluated after at least 6 h of treatment.

Outcome Assessment

The assessed primary endpoint was mortality until discharge from the hospital. We analysed the relationship between in-hospital mortality and the type and number of fulfilled diagnostic and treatment interventions in EPOSS ICUs. An evaluation viewpoint of each diagnostic and treatment intervention was whether it was (or was not) fulfilled within the initial period of six hours after the diagnosis of severe sepsis/septic shock (Table 2). The categories of fulfilled diagnostic and treatment interventions were defined on the basis of their interpretation consistency and adequate sample size. The reference cat-

Table 2. The diagnostic and treatment interventions, assessed within the initial 6 h of identifying severe sepsis/septic shock.

Initial lactate measurement (YES/NO)
Taking of blood cultures prior to antibiotics administration (YES/NO)
Administration of broad-spectrum antibiotics during the first hour of identifying severe sepsis/septic shock (YES/NO)
Administration of crystalloid bolus ≥ 30 ml/kg at MAP ≤ 65 mm Hg (YES/NO)
Measuring and achieving the normalization of lactate at ≤ 4 mmol/L (36 mg/dL) in the presence of initially elevated levels (YES/NO)
Administration of vasopressors in the event of persistent hypotension MAP ≤ 65 mm Hg, unresponsive to initial fluid resuscitation (YES/NO)
Achieving MAP of ≥ 65 mm Hg (YES/NO)
Measuring and achieving the target values of CVP $\geq 8 - 12$ mm Hg (YES/NO)
Measuring and achieving the target values of ScvO ₂ $\geq 70\%$ or SvO ₂ $\geq 65\%$ (YES/NO)
Urine output ≥ 0.5 mL/kg/h (YES/NO)

egory with the highest number of fulfilled components was selected as a reference category with the best survival.

We recorded the following basic patient data: gender (male/female), age at enrolment (years), age category (years), SOFA score, APACHE II, BMI (kg/m²), BMI category, in-hospital mortality.

In pursuing the relationship between in-hospital mortality and the admission source to the EPOSS ICU, we evaluated the sources (outpatient clinic, general ward, ER, other ICU), whether the primary admission was medical or surgical, eventually whether surgical admission was elective, acute or traumatological. From the number of completed interventions in the first 6 h, we assessed adherence to the Sepsis Surviving Guidelines.

Definitions

Sepsis was defined according to the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM) Consensus Conference¹².

Infection was defined in accordance with the International Sepsis Forum Consensus Conference on definitions of infection in the intensive care unit¹⁵.

Severe sepsis/septic shock was defined according to the International Sepsis Forum Consensus Conference on definitions of infection in the intensive care unit¹⁶.

Organ failure was defined according to a (SOFA) score of >2 (ref.¹³).

Patients without any reference to trauma or surgery were defined as "medical". "Surgical" patients were those who underwent surgery within four weeks (at the most) prior to the onset of severe sepsis/septic shock. "Planned surgical" were patients who had undergone a planned operation more than 24 h before the onset of symptoms of severe sepsis/septic shock. "Emergent surgical" were patients with surgery scheduled less than 24 h before the onset of sepsis symptoms. "Traumatological" were patients admitted in direct relation to trauma or complications relating to a trauma in intervals no more than thirty days before the onset of sepsis. Time 0 was defined in accordance with the International Sepsis Forum Consensus Conference on definitions of infection in the intensive care unit¹⁶.

"Admission source" was defined as the place from where the patient was directed for admission to EPOSS ICU (outpatient clinic, ER, ward, other ICU).

Statistical Methods

Patients with incomplete data in key mandatory variables at all time points (108 variables) were excluded from the analysis. The time points were: the moment of fulfilling criteria for severe sepsis/septic shock, and moment after the initial 6 h; the sum of variables at these time points (some or all of them depending on a variable) containing data on Age, Gender, APACHE II, SOFA, BMI, Crystalloids, MAP, CVP, Lactate, Antibiotics, Body temperature, Urine output, ScvO₂, SvO₂, Norepinephrine, Blood culture provides variables in the database. The selection of variables for the multivariate model was based on two principles: i) variables with a *P* value <0.1 in univariate analysis were selected for the development

of the multivariate model, ii) redundancy of variables was evaluated and only the most statistically significant variable out of the redundant set of predictors was selected. No replacement of missing values or outliers was performed in order to minimize bias due to changed content of retrospective clinical records. Missing values in mandatory variables were reported in separate tables, and the excluded cases were compared with validated records in order to exclude systematic bias due to data validation. The prerequisites of statistical computations were evaluated using visual inspection of data and normality tests; the redundancy of predictors was evaluated using the analysis of their associations (correlation for continuous variables and contingency table analysis for categorical variables). Standard descriptive statistics were applied to summarize the primary data; continuous variables as means and 95% confidence intervals or median and range; categorical variables by absolute and relative frequencies. Potential predictors of hospital mortality were analysed using logistic regression and risk or protective association was quantified by odds ratios (OR) with corresponding 95% confidence intervals. Multivariate logistics regression was adopted for adjusting univariate results for age and APACHE II, and for defining the final multivariate model. The selection of variables for the multivariate model was based on univariate *P* < 0.1 and redundancy analysis of these preselected predictors. *P* ≤ 0.05 was adopted as the level of statistical significance for all analyses and SPSS 21 (IBM Corporation, 2012) was the software used.

RESULTS

Participants

The project was a joint collaboration of 17 ICUs with a total of 220 beds in 12 hospitals. Based on a questionnaire on the long-term global characteristics of these centres, altogether 18,902 patients were admitted during the entire reference period (all diagnoses included). The average patient age was 60.2 years, the average APACHE II score at admission was 20, and the real in-hospital mortality was 11.4% irrespective of diagnosis.

Patients

For the period from 1 January 2011 to 5 November 2013, the EPOSS dataset contained data on 1,082 enrolled patients, and the final validated dataset involved 897 patients. The patient flow is shown in Fig. 1.

Descriptive data

The collected dataset included records of 1,082 patients meeting the criteria of severe sepsis/septic shock. Following data validation, a final dataset of 897 patients was obtained. The average patient age of the group was 66.0 years. Table 3 provides more details on the dataset.

Main results and mortality

All combinations of reported diagnostic and treatment interventions were examined, and the most significant combinations relating to in-hospital mortality were identi-

Table 3. Basic description at enrolment – gender, age, BMI, SOFA and APACHE II.

	Total (n=897)	In-hospital mortality	
		No (n=532) 59.3%	Yes (n=365) 40.7%
Female	342 (38.1%)	202 (38.0%)	140 (38.4%)
Male	555 (61.9%)	330 (62.0%)	225 (61.6%)
Age at enrolment	66.0 (21.0; 92.0)	65.0 (21.0; 92.0)	69.0 (21.0; 92.0)
BMI (kg/m ²)	27.0 (11.0; 69.1)	27.4 (11.0; 62.3)	26.2 (13.1; 69.1)
SOFA score	10.0 (0.0; 20.0)	9.0 (0.0; 20.0)	10.0 (1.0; 20.0)
APACHE II	25.0 (2.0; 53.0)	23.0 (2.0; 53.0)	29.0 (7.0; 51.0)

Continuous data is described by median and range.

Categorical variables are described by absolute and relative frequencies.

Table 4. Combination of the initial 6 h fulfilled diagnostic/treatment interventions as factors associated with in-hospital mortality: CVP \geq 8-12 mm Hg (CVP), MAP \geq 65mm Hg (MAP), Urine output \geq 0.5 mL/kg/hr (Urine output), Blood culture before ATB therapy (Blood), Lactate \leq 4.0 mmol/L (Lactate), Initial lactate measured (Initial lactate), Antibiotics in first hour (Antibiotics), ScvO₂ \geq 70% or SvO₂ \geq 65% (ScvO₂).

	Factor frequency	In-hospital mortality	<i>P</i>
CVP & MAP & Urine output & Lactate & Initial lactate & Antibiotics	69 (7.7%)	23.2%	0.003
MAP & Urine output & Initial lactate & Antibiotics	44 (4.9%)	56.8%	0.028
ScvO ₂ & MAP & Urine output & Blood & Lactate & Initial lactate	13 (1.4%)	15.4%	0.082
CVP & ScvO ₂ & MAP & Urine output & Lactate & Initial lactate & Antibiotics	11 (1.2%)	18.2%	0.147
MAP & Urine output & Blood & Lactate & Initial lactate	20 (2.2%)	25.0%	0.157
MAP & Urine output & Initial lactate	24 (2.7%)	54.2%	0.178
CVP & MAP & Urine output & Lactate & Initial lactate	20 (2.2%)	55.0%	0.194

Statistical significance is computed for comparison of mortality in the given combination in comparison to the rest of dataset using the maximum likelihood chi-square test

The Table shows the combinations of diagnostic/treatment interventions which achieved a statistical significance or are close to it.

Table 5. Diagnostic/treatment interventions – factor frequency in the initial 6 h, association with in-hospital mortality.

	Factor frequency	In-hospital mortality	OR (95% CI)	<i>P</i>
CVP 8 - 12 mm Hg	265 (29.5%)	37.4%	0.83 (0.61; 1.14)	0.250
ScvO ₂ \geq 70% or SvO ₂ \geq 65%	200 (22.3%)	37.5%	1.04 (0.55; 1.96)	0.898
MAP \geq 65mm Hg	821 (91.5%)	39.0%	0.45 (0.28; 0.73)	0.001
Urine output \geq 0.5 mL/kg/h	668 (74.5%)	38.3%	0.69 (0.51; 0.93)	0.017
Blood culture before ATB therapy	220 (24.5%)	36.4%	0.99 (0.96; 1.03)	0.686
Lactate \leq 4.0 mmol/L	560 (62.4%)	34.8%	0.35 (0.25; 0.49)	<0.001
Noradrenaline if MAP < 65mm Hg	66 (88.0%)	62.1%	3.28 (0.75; 14.30)	0.114
Crystalloids \geq 30 mL/kg if MAP < 65mm Hg	38 (50.7%)	60.5%	1.17 (0.47; 2.93)	0.740
Initial lactate measured	746 (83.2%)	40.8%	1.01 (0.71; 1.45)	0.936
Antibiotics in first hour	524 (58.4%)	39.7%	0.91 (0.69; 1.19)	0.472

Odds ratios and their statistical significance derived using univariate logistic regression model.

ified. Only two of these were statistically significant: CVP \geq 8-12 mm Hg & MAP \geq 65mm Hg & Urine output \geq 0.5 mL/kg/hr & Lactate \leq 4.0 mmol/L & Initial lactate measured & Antibiotics in first hour ($P = 0.003$) and MAP \geq 65mm Hg & Urine output \geq 0.5 mL/kg/hr & Initial lactate measured & Antibiotics in first hour ($P = 0.028$), respectively. Table 4 shows the combinations of diagnostic and treatment interventions which were statistically significant or close to it at $P \leq 0.05$.

Diagnostic and treatment interventions related to in-hospital mortality which were fulfilled during the first 6 h and which reached statistical significance were: MAP \geq 65mm Hg ($P = 0.001$), Urine output \geq 0.5 mL/kg/h ($P = 0.017$) and Lactate \leq 4.0 mmol/L ($P < 0.001$), (Table 5).

Assessment of the risk of in-hospital mortality adjusted for age and APACHE II showed that only Lactate < 4 mmol/L and MAP \geq 65 mm Hg were statistically significant ($P < 0.001$ for both factors), (Table 6).

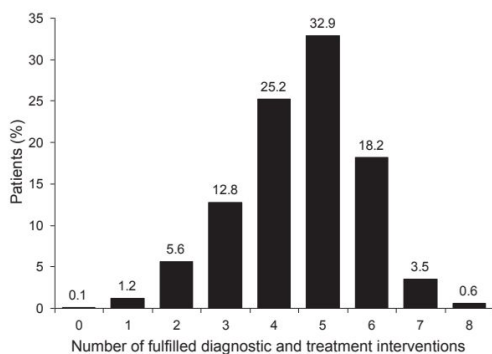


Fig. 2. Number of completed diagnostic and treatment interventions in the initial 6 h.

Of the ten evaluated diagnostic and treatment interventions, 58.1% of patients fulfilled 4-5 and 21.7% of patients achieved 6-7; however, the fulfilment of 8 was only reached in 0.6% of patients, while joint fulfilment of 9 or all 10 diagnostic and treatment interventions was not achieved in any of the patients (Fig. 2).

In-hospital mortality adjusted for age and APACHE II in relation to admission source to EPOSS ICUs: General wards (45.7%), other ICUs (41.6%), outpatient (OPD) clinics (26.5%) and ER (38.0%) respectively (Table 7).

EPOSS ICU mortality was 35.5% (women 36.3%, men 35.0% respectively), mortality at discharge from hospital was 40.7% (women 40.9%, men 40.2% respectively).

Variables with $P < 0.1$ entered the multivariate analysis of factors associated with in-hospital mortality; all these factors with the exception of urine output ≥ 0.5 mL/kg/h remained statistically significant in the multivariate analysis (Table 8).

Table 6. Risk of in-hospital mortality adjusted to age and APACHE II.

	OR	P
CVP 8 - 12 mm Hg	0.88 (0.61; 1.27)	0.494
ScvO ₂ \geq 70% or SvO ₂ \geq 65%	1.03 (0.48; 2.22)	0.932
MAP \geq 65mm Hg	0.36 (0.20; 0.64)	<0.001
Urine output \geq 0.5 mL/kg/h	0.83 (0.58; 1.19)	0.302
Blood culture before ATB therapy	0.99 (0.95; 1.03)	0.665
Lactate \leq 4.0 mmol/L	0.34 (0.23; 0.50)	<0.001
Noradrenaline if MAP < 65mm Hg	2.87 (0.42; 19.46)	0.280
Crystalloids \geq 30 mL/kg if MAP < 65mm Hg	1.29 (0.44; 3.78)	0.643
Initial lactate measured	0.96 (0.62; 1.50)	0.871
Antibiotics in first hour	0.92 (0.67; 1.26)	0.609
Fulfilled 0-3 interventions	2.16 (1.28; 3.64)	0.004
Fulfilled 4 interventions	2.31 (1.50; 3.54)	0.000
Fulfilled 5 interventions	1.61 (1.10; 2.36)	0.015
Fulfilled 6-8 interventions	Reference category of fulfilled components	

Odds ratios and their statistical significance derived using univariate logistic regression model.

Table 7. Admission source, association with in-hospital mortality (adjusted to age and APACHE II).

	Factor frequency	In-hospital mortality	OR (95% CI)	P	
Admission (from)	OPD clinic	68 (7.6%)	26.5%	0.58 (0.30; 1.10)	0.094
	General ward	175 (19.5%)	45.7%	1.41 (0.94; 2.11)	0.093
	ER	142 (15.8%)	38.0%	0.81 (0.52; 1.24)	0.328
	Other ICU	512 (57.1%)	41.6%	1.05 (0.77; 1.44)	0.757
Primary admission	Medical	488 (54.4%)	45.1%	1.54 (1.12; 2.10)	0.007
	Surgical	409 (45.6%)	35.5%	0.65 (0.48; 0.89)	0.007
Surgical admission	Elective (planned)	107 (26.2%)	36.4%	0.87 (0.50; 1.52)	0.633
	Acute	267 (65.3%)	34.8%	0.92 (0.55; 1.55)	0.762
	Traumatology	35 (8.6%)	37.1%	2.01 (0.78; 5.14)	0.147
	Severe sepsis/septic shock episode in the last 3 months	96 (10.7%)	42.7%	1.12 (0.73; 1.73)	0.602

Odds ratios and their statistical significance derived using univariate logistic regression model.

Table 8. Multivariate analysis of factors associated with in-hospital mortality.

Variables		OR (95% CI)	P
Age category	Up to 60 yrs.	Reference	
	60-70 yrs.	1.261 (0.803; 1.980)	0.315
	70-80 yrs.	1.575 (0.966; 2.568)	0.068
	More than 80 yrs.	2.854 (1.634; 4.984)	<0.001
Primary admission	Medical	0.567 (0.391; 0.823)	0.003
Admission source	OPD clinic	Reference	
	General ward	4.045 (1.717; 9.530)	0.001
	ER	1.887 (0.791; 4.505)	0.153
	Other ICU	2.719 (1.233; 5.995)	0.013
Apache > 30		1.810 (1.232; 2.659)	0.002
MAP ≥ 65mm Hg		0.405 (0.206; 0.798)	0.009
Lactate ≤ 4.0 mmol/L		0.421 (0.267; 0.664)	<0.001
Fulfilled interventions	0-3	1.688 (0.803; 3.548)	0.167
	4	1.841 (1.082; 3.129)	0.024
	5	1.617 (1.067; 2.452)	0.024
	6-8	Reference	

Odds ratios and their statistical significance derived using multivariate logistic regression model.

DISCUSSION

This is the first-ever study describing the outcome of severe sepsis in ICUs in the Czech Republic. In this way, it provides important information on the epidemiology of severe infections in this country. The main result of the study is identification of combinations of effective diagnostic and treatment interventions within the initial 6 hours of diagnosis/treatment of severe sepsis/septic shock in relation to the lowest in-hospital mortality: CVP ≥8-12 mm Hg & MAP ≥65mm Hg & Urine output production ≥ 0.5 mL/kg/h & Lactate ≤ 4.0 mmol/L & Initial lactate measured & Antibiotics in the first hour. Achieving the key values as MAP ≥ 65mm Hg, Lactate ≤ 4.0 mmol/L and Urine output ≥ 0.5 mL/kg/h in the initial 6 hours of identifying severe sepsis/septic shock is statistically significantly associated with lower than the average in-hospital mortality in the patient group. Given the in-hospital mortality, these values can be assessed as protective. Conversely, persistent hypotension - MAP of ≤ 65 mm Hg, and the impossibility of achieving this MAP boundary can be assessed as risk factors of in-hospital mortality. Administering a crystalloid bolus of ≥ 30 mL/kg at a MAP of ≤ 65 mm Hg, as well as vasopressors in the case of persistent hypotension, a MAP ≤ 65 mm Hg, and unresponsive to initial fluid resuscitation, was more prevalent in the deceased than the survivor groups. The result shows that fulfilling important diagnostic and treatment interventions, such as fluid challenge or the support of vasopressors, despite their undeniable therapeutic benefits importance, they did not reduce in-hospital mortality without achieving adequate perfusion pressure. The mere presence of hypotension (MAP ≤ 65 mm Hg) was therefore the major prognostic factor increasing in-hospital mortality. However, the subgroup of patients with hypotension persisting within the initial 6 hours of severe sepsis/septic shock was small (N=75) and difficult to evaluate statistically.

Arterial blood pressure is a major determinant of regional flow, and is often used as an indicator of tissue perfusion but in reality, it is a poor indicator of blood flow. Distribution of flow for a given blood pressure is dependent on the relative values of the resistance in different vascular beds. Regional resistance cannot be assessed in the clinical setting, and hence we are left with blood pressure as a guide to therapy¹⁷.

Some authors recommend rethinking resuscitation endpoints in septic shock patients due to potential vasopressor overuse, and suggest tissue hypoperfusion deterioration be used during over emphasis on blood pressure instead of flow. A three-stage approach to resuscitation endpoints has been proposed: Step One (target minimum MAP 45-50 mmHg to preserve heart and brain perfusion), Step Two (target tissue perfusion-based endpoints irrespective of MAP < 65 mmHg - permissive hypotension), Step Three (target single-organ perfusion) (ref.¹⁸).

This study found higher in-hospital mortality in patients with severe sepsis/septic shock that developed during hospitalization than in those who were just admitted to hospital with symptoms of severe sepsis/septic shock. The results thus show a higher in-hospital mortality in patients admitted to EPOSS ICUs from general wards (45.7%) or other ICUs (41.6%), in contrast to lower in-hospital mortality in patients admitted from outpatient (OPD) clinics (26.5%) or ER (38.0%). This figure suggests a more serious course of sepsis caused more often by multi-resistant strains of hospital-acquired infections in patients already hospitalized, compared to severe sepsis caused in newly hospitalized patients by community infections. In assessing the differences in mortality rates however, we have to consider the potential influence of differences in sepsis-causative organisms, existing comorbidities, and the reason for being hospitalized in the first place. We are aware that although some of these were part of the APACHE II score evaluation, the adjustment might not be complete.

The results of the EPOSS study are consistent with the conclusions of the pilot study conducted by Malaska et al.¹⁰. These results showed the different importance of the diagnostic and treatment severe sepsis interventions in relation to in-hospital mortality. In our group of patients, we found a higher in-hospital mortality (40.7%) than in the compared studies which, however, do not state the input value of APACHE II (ref.^{3,19,21}). It is possible that the higher in-hospital mortality we found reflected the severity of patients' conditions (baseline APACHE II in our sample was 25), not only lower fulfilment level for diagnosis and treatment interventions. As expected, we found a statistically significant reduction in in-hospital mortality associated with increase in number of jointly fulfilled diagnostic and treatment interventions. In the group achieving 0-3 diagnostic and treatment interventions, the in-hospital mortality was 47.2%; for 4 and 5 it was 45.3% and 44.0% respectively. In the case of jointly fulfilled 6-8 diagnostic and treatment interventions, the in-hospital mortality decreased to 32.5%. The more treatment interventions were achieved within the first 6 h of treatment, the better was the probability of survival. This finding supports the concept of Sepsis Surviving Guidelines.

Improvements in the outcomes for patients with severe sepsis in relation to fulfilling SSC recommendations were addressed by Castellanos-Ortega et al. These authors reported a significant decrease in mortality within the intervention group compared to the historical group of patients (from 57.3% to 37.5%). An independent predictor of survival was concordance in six and more fulfilled interventions of septic package for the first 6 h²². In the present study, only 22.3% of our patients fulfilled six or more diagnostic and treatment interventions. This study has made a new contribution with a combination of factors, where reported studies compared only some diagnostic and treatment interventions^{19,20,22,23}.

As regards fluids, the current multicentre randomized ProCESS study questioned the importance of EGDT. The study worked with a group of patients with severe sepsis who were initially treated in the ER, i.e. patients newly admitted to hospital, and found no effect of EGDT on in-hospital mortality. This was 21.0% in patients with severe sepsis (EGDT group), 18.2% (protocol-based standard-therapy group) and 18.9% (usual-care group) (ref.¹⁷). In our study, cases from the ER formed only 15.8% of patients (in-hospital mortality 38%). Recurrence of an episode of severe sepsis/septic shock did not emerge as a significant prognostic factor, as 10.7% of the patients had already had an attack of severe sepsis/septic shock in the past 3 months. This figure, however, increased the average in-hospital mortality by only 1.4% to 42.7%. We do not have a clear explanation for this finding. In fact, we expected that an attack of severe sepsis/septic shock in the past three months would lead to a more significant increase in in-hospital mortality.

SSC recommendations between 2008 and 2012 were modified^{9-11,24}. Current SSC guidelines do not follow urine output in the initial 6 h. However, we consider the

achieved urine output as an important indicator of adequate renal perfusion, together with an adequately conducted fluid strategy; hence its inclusion here.

A major limitation of this study is that the EPOSS database does not provide data categories fully comparable with SSC. For this reason, the comparison of therapeutic interventions with SSC recommendations can only be general. Other limitations are that the study did not include patients with severe sepsis identified after a 24-hour stay in EPOSS ICUs or within an interval of more than 24 h prior to admission to EPOSS ICUs, or patients who had an attack of severe sepsis but were not admitted to any EPOSS ICU. We do not know what proportion of patients with severe sepsis did not pass through EPOSS ICU. The data may also be biased due to the involvement of only large hospitals and only some of their ICUs. We are also aware of the risk of selection bias: it is possible that EPOSS ICUs admitted patients with a poor prognosis where initial treatment in special ICUs or general wards was unsuccessful. The gradual involvement of centres during the observation as well as the absence of a control group is another drawback of our study. We only evaluated a recent group of patients without being able to assess the trend of the results. The strict validation procedure aimed at obtaining fully verified records for analysis, could lead to selection bias; nevertheless, no statistically significant differences in the key characteristics were found between included and excluded patients (Table 8).

Our study, the most extensive in Central Europe, provides extensive data on the epidemiology and observation of treatment parameters in severe sepsis. Until now, the only available results were those of the Slovak study by Zahorec et al. from 2005, which monitored 121 patients with a reported mortality of 51.2% (ref.²⁵). The first descriptive data on epidemiology of sepsis/severe sepsis in patients in the Czech Republic was assembled in 2003 thanks to a prospective, multicenter, one-day observational questionnaire by Cerny et al., which included 327 patients from 53 ICUs. Sepsis was diagnosed in 112 patients (34.2%) and 55 patients (16.8%) met the criteria for severe sepsis⁹. In general features, data from the EPOSS study on in-hospital mortality can be compared to data provided by the FINN study from 2007, for example (the ICU and in-hospital mortality in severe septic patients was 15.5% and 28.3% respectively) (ref.²⁶), and more recently, the Intensive Care Over Nations (ICON) audit from 2014 (in-hospital mortality in patients with sepsis was 35.3%) (ref.²⁷). The results of our study showed that efforts in this regard need to focus more intensely on active and early identification of patients with sepsis/severe sepsis and the consistent application of interventions that are based on SSC recommendations. It is necessary to promote the use of early SSC intervention also in patients suspected of developing severe sepsis to preclude mainly the development of hypotension. In relation to in-hospital mortality, we primarily showed the importance of interventions related to adequate organ perfusion. The SSC recommended procedures could be profitably used in patients who only tend to meet the criteria for severe sepsis too, although the

onset of severe sepsis is already indicated by laboratory evidence of inflammation.

CONCLUSIONS

The data support the fulfilment of diagnostic and treatment interventions in the early hours after identifying severe sepsis/septic shock. Combined diagnostic and treatment interventions which were fulfilled during the first 6 hours associated with the lowest in-hospital mortality were: CVP of ≥ 8 -12 mm Hg & MAP of ≥ 65 mm Hg & Urine output at ≥ 0.5 mL/kg/h & Lactate of ≤ 4.0 mmol/L & Initial lactate measured & Antibiotics in the first hour. We recorded lower than average in-hospital mortality with Lactate levels of ≤ 4.0 mmol/L following initial elevation, and a MAP of ≥ 65 mm Hg. The continuing presence of hypotension at MAP ≤ 65 mm Hg, even when adequate initial 6 h fluid resuscitation, was associated with higher than the average in-hospital mortality. Greater in-hospital mortality occurred in patients admitted from general departments or from other ICUs and a lower in-hospital mortality of patients received from outpatient clinics or Emergency. Higher in-hospital mortality in severe sepsis/septic shock patients was found in patients transferred from the departments of internal medicine than in surgical patients.

ABBREVIATIONS

ACCP, American College of Clinical Pharmacy; APACHE II, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II; BMI, Body Mass Index; CCTN, the Czech Clinical Trial Network; CSARIM, Czech Society of Anaesthesiology, Resuscitation and Intensive Medicine; CSFS, the Czech-Slovak Forum for Sepsis; CSIM, Czech Society of Intensive Medicine; CVP, Central Venous Pressure; EGD, Early Goal Directed Therapy; EPOSS, Data-based Evaluation and Prediction of Outcome in Severe Sepsis; ER, Emergency; ICU, Intensive Care Unit; MAP, Middle Arterial Pressure; OPD, Outpatient Department; OR, Odds ratio; SCCM, Society of Critical Care Medicine; ScvO₂, Central venous oxygen saturation; SOFA, Score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units; SSC, Sepsis Surviving Campaign; SvO₂, Mixed venous oxygen saturation.

Acknowledgement: The study was conducted under the auspices of the Czech Society of Anaesthesiology, Resuscitation and Intensive Medicine (CSARIM), the Czech Society of Intensive Medicine (CSIM), the Czech-Slovak Forum for Sepsis (CSFS) and the Czech Clinical Trial Network (CCTN).

The operation of the project database was supported by an unrestricted research grant from Astra-Zeneca.

Author contributions: RU, MA, VC, VS, MM: manuscript writing; MA, VC, VS, MM, LD, JJ, PSt, RK, JM, PSe: study design; RU, MA, VC, LD, JJ, PSe: analysis and in-

terpretation of data; MA, VC, MM, VS, PSt, RK: drafting the manuscript and revising it critically for important intellectual content; MA, VC, PSe: agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that queries relating to the accuracy and integrity of the work are appropriately investigated and resolved; MA, PSe: final approval.

REFERENCES

- Vincent J-L, Yasser S, Sprung CHL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, Le Gall JR, Payen D. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. *Crit Care Med* 2006;34:344-53.
- Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003;348:1546-54.
- Angus DC, Linde-Zwirbe WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29:1303-10.
- Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, Langa KM. Long-term cognitive impairment and disability among survivors of severe sepsis. *JAMA*. 2010;304:1787-94.
- Finfer S, Bellomo R, Lipman J, French C, Dobb G, Myburgh J. Adult population incidence of severe sepsis in Australian and New Zealand intensive care units. *Intensive Care Med* 2004;30:589-96.
- Brun-Buisson C, Meshaka P, Pinton P, Vallet B. EPISEPSIS: A reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med* 2004;30:580-8.
- Padkin A, Goldfrad C, Brady AR, Young D, Black N, Rowan K. Epidemiology of severe sepsis occurring in the first 24 hrs in intensive care units in England, Wales, and Northern Ireland. *Crit Care Med* 2003;31:2332-8.
- Varpula M, Karlsson S, Parviainen I, Ruokonen E, Pettila V. Community-acquired septic shock: Early management and outcome in a nationwide study in Finland. *Acta Anaesthesiol Scand* 2007;51:1320-6.
- Cerny V, Novak I, Sramek V. Prevalence of severe sepsis in the Czech republic-prospective, multicentric, one-day study. *Anest. intenziv. Med.* 2003;5:218-22.
- Malaska J, Slezak M, Schwarz D, Jarkovsky J, Adamus M, Cvachovec K, Cerny V, Dostal P, Fortova M, Havel E, Herold I, Kasal E, Kula R, Manak J, Matejovic M, Nalos D, Parizkova R, Sobanova A, Sramek V, Turek R, Zykova I, Dusek L, Sevcik P, Agalarev V, Bakalik P, Belanova V, Cerman J, Ciz L, Dadak L, Duba J, Fortunato J, Gabrhelik T, Gal R, Hulek R, Hrdy O, Huchy M, Chytra I, Klimes D, Klucka J, Kratochvil M, Koskova L, Maca J, Maslik O, Matysova M, Minarickova P, Molnarova J, Ondraskova H, Pelichovska M, Polak J, Schwarz R, Stasek J, Strazevska E, Suchomelova H, Suk P, Stourac P, Tichy J, Wolfova M, Uvizl R, Zapletalova H, Zatloukal J, Zimova I. Serious sepsis treatment in intensive care departments in the Czech Republic – EPOSS Project pilot results. *Vnitr Lek* 2013;59: 962- 70.
- von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. STROBE Initiative. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol* 2008;61(4):344-9.
- Bone RC, Sibbald WJ, Sprung CL. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest* 1992;101(6):1481-6.
- Vincent JL, de Mendoca A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, Sprung CL, Colardyn F. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: Results of a multicentric, prospective study. *Crit Care Med* 1998;26:1793-1800.
- Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985;13:818-29.
- Calandra T, Cohen J. The international sepsis forum consensus conference on definitions of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med* 2005;33: 1538-48
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med* 2003;29: 530-8.

17. Magder SA. The highs and lows of blood pressure: toward meaningful clinical targets in patients with shock. *Crit Care Med* 2014;42(5):1241-51
18. Dünser MW, Takala J, Brunauer A, Bakker J. Re-thinking resuscitation: leaving blood pressure cosmetics behind and moving forward to permissive hypotension and a tissue perfusion-based approach. *Crit Care* 2013;17:326.
19. Yealy DM, Kellum JA, Huang DT, Barnato AE, Weissfeld LA, Pike F, Terndrup T, Wang HE, Hou PC, LoVecchio F, Filbin MR, Shapiro NI, Angus DC. A Randomized Trial of Protocol-Based Care for Early Septic Shock. *N Engl J Med* 2014, DOI:10.1056/NEJMoal1401602
20. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, Peterson E, Tomlanovich M. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2001;345:1368-77.
21. O'Neill R, Morales J, Jule M. Early goal-directed therapy (EGDT) for severe sepsis/septic shock: with components of treatment are more difficult to implement in a community-based emergency department? *J Emerg Med* 2012;42:503-10.
22. Castellanos-Ortega A, Suberviola B, García-Astudillo LA, Holanda MS, Ortiz F, Llorca J. Impact of the Surviving Sepsis Campaign protocols on hospital length of stay and mortality in septic shock patients: results of a three-year follow-up quasi-experimental study. *Crit Care med* 2010;38:1036-43.
23. Focht A, Jones AE, Lowe TJ. Early goal-directed therapy: improving mortality and morbidity of sepsis in the emergency department. *Jt Comm J Qual Patient Saf.* 2009;35:186-91.
24. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis shock: 2012. *Crit Care Med* 2013;41:580-637.
25. Zahorec R, Firment J, Strakova J, Mikula J, Malik P, Novák I, Zeman J, Chlebo P. Epidemiology of severe sepsis in intensive care units in the Slovak Republic. *Infection* 2005;33:122-8.
26. Karlsson S, Varpula M, Ruokonen E, Pettila V, Parviainen I, Ala-Kokko TI, Kolho E, Rintala EM. Incidence, treatment, and outcome of severe sepsis in ICU-treated adults in Finland: the Finnsepsis study. *Intensive Care Med*, 2007;33:435-43.
27. Vincent JL, Marshall JC, Namendys-Silva SA, Anzueto A, Martin CD, Moreno R, Lipman J, Gomersall C, Sakr Y, Reinhart K, EPIC II Group of Investigators. Assessment of the worldwide burden of critical illness: the Intensive Care Over Nations (ICON) audit. *Lancet Respir Med.* 2014 May;2(5):380-6.

APPENDIX 1

Working group:

V. Agalarev, P. Bakalik, M. Balik, V. Belanova, L. Blahut, J. Cerman, L. Ciz, K. Cvachovec, L. Dadak, P. Dostal, J. Duba, M. Fortova, J. Fortunato, T. Gabrhelik, R. Gal, E. Havel, I. Herold, R. Hulek, O. Hrdy, M. Huchy, I. Chytra, T. Karvunidis, E. Kasal, D. Klimes, J. Klucka, M. Kratochvil, L. Koskova, J. Maca, J. Manak, O. Maslik, M. Matysova, P. Minarcikova, J. Molnarova, D. Nalos, H. Ondraskova, R. Parizkova, M. Pelichovska, M. Pizar, J. Polak, D. Schwarz, R. Schwarz, M. Slezak, A. Sobanova, J. Stasek, E. Strazevska, H. Harazim, P. Suk, J. Tichy, R. Turek, M. Wolfova, H. Zapletalova, J. Zatloukal, I. Zykova, I. Zimova.

APPENDIX 2

Centre Participants:

- Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc and University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic
- Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Ostrava and Faculty of Medicine, University of Ostrava, Czech Republic
- Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Praha Motol, Praha, Czech Republic
- Department of Anaesthesia and Intensive Care, St. Anne's University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University Brno, Czech Republic
- Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine, Masaryk University Brno and University Hospital Brno, Brno, Czech Republic
- Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Hospital in Zlin, Zlin, Czech Republic
- First Medical Department and Biomedical Centre, Faculty of Medicine in Plzen, Charles University in Prague and Teaching Hospital in Plzen, Czech Republic
- Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Hospital in Liberec, Liberec, Czech Republic
- Department of Anaesthesiology and Intensive Care, Faculty of Medicine in Hradec Kralove, Charles University in Prague and University Hospital Hradec Kralove, Hradec Kralove, Czech Republic
- Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Hospital in Usti nad Labem, Usti nad Labem, Czech Republic
- Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine in Plzen, Charles University in Prague and Teaching Hospital in Plzen, Czech Republic
- Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Hospital in Pardubice, Pardubice, Czech Republic
- Medical Department IPVZ, Hospital in Zlin, Zlin, Czech Republic
- Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Hospital in Mlada Boleslav, Mlada Boleslav, Czech Republic
- Department of Intensive Care Surgery, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc and University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic
- Department of Gerontology and Metabolic Care, Faculty of Medicine in Hradec Kralove, Charles University in Prague and University Hospital Hradec Kralove, Hradec Kralove, Czech Republic
- Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, General University Hospital in Praha, Praha, Czech Republic

APPENDIX 3

When including patients, the following data was registered:

- Age (years)
- Gender (male/female)
- Admission source to EPOSS-ICU (general ward, other ICUs, ER, outpatient clinic)
- Moment of meeting the criteria of severe sepsis
- APACHE II

In forms, at time of 0, 6 hours since identifying severe sepsis, the following data was registered:

- Fluid balance (mL/period of time)
- Administered solutions (mL/period of time), divided into crystalloids, colloids, albumin, plasma and erythrocyte preparations
- Body temperature (°C within the period of time)

- Administration of vasopressors (type and dose in ug/kg/min/period of time)
- Administration of inotropics (type and dose in ug/kg/min/period of time)
- Lactatemia (mmol/L/period of time)
- Urine output (mL/period of time)
- MAP (mmHg in the monitored time)
- CVP (mmHg in the monitored time)
- ScvO₂ or SvO₂ (% in the monitored time)
- Time of hemoculture taking (interval from the identification of severe sepsis/septic shock)
- Time of antibiotics administration (interval from the identification of severe sepsis/septic shock)
- Time of discharge from EPOSS-ICU (interval from the identification of severe sepsis/septic shock)
- Time of discharge from the hospital (interval from the identification of severe sepsis/septic shock)
- Time of death (interval from the identification of severe sepsis/septic shock)

b. EPOSS & SEPSIS-Q: návrh a popis řešení projektů pro sledování léčby, morbidity a mortality pacientů s těžkou sepsí v České republice. Anesteziologie & intenzivní medicína. 2013

Sepse je hlavní příčinou morbidity a mortality pacientů přijímaných na intenzivní péči. [3, 4, 27] Proto byla v roce 2011 na základě iniciativy 18 pracovišť intenzivní péče vytvořena výzkumná skupina. Ta iniciovala projekt klinických pracovišť a Institutu biostatistiky a analýz Masarykovy Univerzity (IBA MU) EPOSS (Data-based Evaluation and Prediction of Outcome in Severe Sepsis), který měl za cíl získat epidemiologická data o léčbě sepse (v té době označované jako těžké sepse) a septickém šoku na vybraných pracovištích intenzivní péče v České republice. Projekt získal oficiální záštitu České společnosti anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny (ČSARIM), České společnosti intenzivní medicíny (ČSIM) a Česko-Slovenského fóra pro sepsi (ČSFS) a byl schválen Multicentrickou etickou komisí (MEK) Fakultní nemocnice Brno (FB Brno). Komplexní popis projektu byl samostatně publikován. [30] Součástí projektu je i edukační portál www.SEPSIS-Q.cz, na kterém jsou publikovány edukační kazuistiky, které vycházejí z anonymizovaných patientských dat z jednotlivých pracovišť.

Primárním cílem projektu bylo:

- Definice parametrického záznamu o léčbě pacienta s těžkou sepsí a jeho praktická implementace v on-line dostupné databázi
- Popis reálné klinické praxe léčby pacientů s těžkou sepsí na datech sbíraných retrospektivně v reprezentativní síti klinických center, zjištění objektivních epidemiologických charakteristik pacientů a popis procesů v managementu těžké sepse na pracovištích intenzivní medicíny v České republice.

Součástí projektu pro zlepšování kvality péče o pacienty s těžkou sepsí byl také interaktivní přehrávač klinických případů těžké sepse.

Význam projektu spočívá v zapojení 18 pracovišť a tedy reprezentativním vzorku z České republiky, dále v komplexním řešení databázového systému, získání reálných dat o výsledku pacientů s těžkou sepsí a septickým šokem a nakonec vytvoření edukačního portálu s interaktivními kazuistikami ke zlepšení znalostí o managementu těchto pacientů.

PŮVODNÍ PRÁCE

EPOSS & SEPSIS-Q: návrh a popis řešení projektů pro sledování léčby, morbiditu a mortality pacientů s těžkou sepsí v České republice

Schwarz Daniel¹, Adamus Milan², Černý Vladimír³, Dušek Ladislav¹, Maláska Jan⁴, Matějovič Martin⁵, Ševčík Pavel^{4,6}, Šrámek Vladimír⁷

¹Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity

²Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc

³Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

⁴Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno

⁵1. interní klinika Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni a Fakultní nemocnice Plzeň

⁶Anesteziologicko-resuscitační klinika Lékařské fakulty Ostravské univerzity a Fakultní nemocnice Ostrava

⁷Anesteziologicko-resuscitační klinika Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny

Anest. intenziv. Med., 24, 2013, č. 4, s. 240-249

SOUHRN

Cíl studie: EPOSS (Data-based Evaluation and Prediction of Outcome in Severe Sepsis) & SEPSIS-Q jsou výzkumné projekty, jejichž cílem je parametrické sledování pacientů s těžkou sepsí, mapování epidemiologické situace těžké sepsí v České republice, jakož i hodnocení a zlepšování kvality péče o pacienty léčené pro těžkou sepsi.

Typ studie: Observační neintervenní retrospektivní studie.

Pracoviště: Vybrané jednotky intenzivní péče fakultních a krajských nemocnic.

Metody: V článku jsou představeny cíle, tvorba protokolu a způsob řízení projektů, plánované fokusované analýzy, struktura databáze i technické řešení. To zahrnuje čtyři základní komponenty: 1. data-akviziční

multicentrický systém, 2. informační portál <http://eposs.registry.cz>, 3. edukační portál <http://www.sepsis-q.cz> s komunikačním rozhraním k systému EPOSS a 4. interaktivní přehrávač výukových klinických scénářů případů těžké sepsí.

Závěr: Díky použitým technologiím a metodikám získá odborná lékařská veřejnost ve výstupech EPOSS & SEPSIS-Q nejen možnost hodnotit kvalitu péče o pacienty léčené pro těžkou sepsi, ale také možnost podpory vzdělávání budoucích lékařů novými pedagogickými metodami.

KLÍČOVÁ SLOVA

těžká sepsé – intenzivní péče – výzkumná databáze – neintervenní retrospektivní sběr dat – design projektu – výukové klinické scénáře

ABSTRACT

EPOSS & Sepsis-Q: Design and Description of Projects Focused on Monitoring of Treatment, Morbidity and Mortality of Patients with Severe Sepsis in the Czech Republic

Objective: EPOSS (Data-based Evaluation and Prediction of Outcome in Severe Sepsis) & SEPSIS-Q are research projects aimed at the development of a database for parametric monitoring of patients with severe sepsis and the mapping of sepsis epidemiology in the Czech



INTENZIVNÍ MEDICÍNA

Republic, as well as on the assessment and improvement of quality of care provided to patients treated for severe sepsis.

Design: Observational, non-interventional, retrospective study.

Settings: Selected intensive care units at University and regional hospitals.

Methods: The article introduces the aims, development of the study protocol and project management, primary and secondary outcomes, database structure and technical solution. The technical solution includes four components: 1. data-acquisition multicentric system, 2. information website <http://eposs.registry.cz>, 3. education portal <http://www.sepsis-q.cz> and 4. an interactive

player of educational clinical scenarios of severe sepsis cases.

Conclusion: The technologies and methods used in the projects help healthcare professionals to assess the quality of health care provided to patients treated for severe sepsis, and promote future physicians' education using new teaching methods.

KEYWORDS

severe sepsis, intensive care, research database, non-interventional retrospective data collection, project design, educational clinical scenarios

1. ÚVOD - VÝCHODISKA PROJEKTŮ EPOSS & SEPSIS-Q

Těžká sepsis je celosvětově jednou z hlavních příčin mortality kriticky nemocných pacientů. I přes pokroky v terapii dosahuje mortalita v závislosti na věku a dalších faktorech až 60 %, přičemž tato diagnóza spotřebovává až 40 % výdajů vynakládaných na intenzivní péči [1, 2]. V posledních desetiletích jsme svědky nárůstu zájmu o sepsi, a to od molekulárních mechanismů [3] a animálních modelů [4], přes matematické modely [5] až po vývoj a klinické hodnocení nových léků [6–8]. Od průlomové Riversovy „Early Goal Directed Therapy“ [9], která ukázala, že zavedení časné a cílené protokolizované léčby vedlo k výraznému zlepšení výsledků léčby těžké sepsis, ověřují s větší či menší úspěšností efektivitu tzv. „septických balíčků“ [10, 11] desítky studií [12]. Zkoumají se dopady implementace protokolů pro léčbu sepsis na klinický outcome pacientů [13, 14], objevují se první epidemiologická hodnocení, jako jsou panevropská rozsáhlá studie SOAP (Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients) [15] nebo studie EPIC I a II (The European Prevalence of Infection in Intensive Care) [16–18]. Hlavním sledovaným parametrem většiny uvedených prací však zůstává krátkodobá mortalita.

Přesných informací o pacientech, kteří těžkou sepsis přežijí, jaká je jejich mortalita a morbidita v horizontu delším než 28 dní a jaká je jejich kvalita života, bylo dosud publikováno poměrně málo [19, 20]. Až od začátku nového tisíciletí se totiž začínají objevovat práce zkoumající fenomén sepsis z epidemiologického hlediska a také v dlouhodobém horizontu. Jejich autoři se zaměřují na objektivní posuzování incidence, prevalence a mortality sepsis v národním i mezinárodním měřítku, a to v různých časových intervalech [1, 2, 21, 22]. I přes určitá metodologická omezení poskytly tyto práce nejen důležité údaje pro doložení významu a závažnosti sepsis, ale často popisují také etiologii, průběh a výsledky léčby

těžké sepsis. V současné době jsou k dispozici také zajímavé výsledky získané analýzou dat z různých národních klinických registrů, které zatím ukazují spíše nepříznivá fakta o dalším osudu propuštěných pacientů. Ti sice ataku těžké sepsis přečkají a dožijí se propuštění z nemocnice, jejich 12měsíční mortalita však může dosahovat až 42,5 % [23].

Jaká je situace v naší zemi? Některá česká pracoviště se zúčastnila výše uvedené studie SOAP v průběhu května 2002, nicméně data za Českou republiku nebyla samostatně analyzována. Dne 10. dubna 2003 proběhla prospektivní multicentrická jednodenní studie „Prevalence těžké sepsis v České republice“ [24], do níž bylo zahrnuto 327 nemocných z celkem 53 pracovišť JIP nebo ARO, s průměrným věkem 53 let a s rozmezím 0,5–87 let. Prevalence sepsis byla 34,2 %, z toho na těžkou sepsis připadalo 16,8 % pacientů. Pomineme-li národní Registr intenzivní péče, jehož výtěžnost pro hodnocení kvality péče o pacienty léčených pro těžkou sepsis není velmi přínosná, je nutno konstatovat, že i přes obrovský socioekonomický dopad těžké sepsis chybějí v České republice spolehlivé dlouhodobé demografické a epidemiologické údaje. S ambicí tento stav změnit přišel počátkem roku 2011 společný projekt klinických pracovišť a Institutu biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity (IBAMU), nazvaný EPOSS (Data-based Evaluation and Prediction of Outcome in Severe Sepsis).

2. CÍLE, RELEVANCE A LIMITACE

EPOSS je koncipován jako multicentrický výzkumný projekt s cílem zavést parametrické sledování léčby těžké sepsis přímo v klinické praxi, odhalit objektivní epidemiologické charakteristiky pacientů a popsat procesy v managementu těžké sepsis na pracovištích intenzivní medicíny v ČR – viz shrnutí primárních a sekundárních cílů projektu v tabulce 1.



INTENZIVNÍ MEDICÍNA

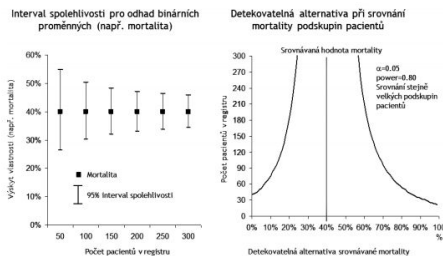
Skutečnost, že před startem EPOSS & SEPSIS-Q nebyla k dispozici charakteristika pacientů s těžkou sepsí, chyběla data o jejich dlouhodobé mortalitě a morbiditě, a stejně tak chyběl i parametrický popis managementu těžké sepsy na pracovištích intenzivní péče v ČR, ukazuje na význam a důležitost těchto dvou projektů. Lze předpokládat, že při zapojení všech významných pracovišť intenzivní péče podílejících se na léčbě pacientů s těžkou sepsí, poskytnou obdržené výsledky z vědeckých výpočtů a fokusovaných analýz velmi realistický obraz o epidemiologii a managementu těžké sepsy v naší zemi, jakož i o kvalitě a výsledcích léčby tohoto závažného onemocnění. Podstatné budou rovněž výstupy z edukační části projektu, zaměřené na tvorbu výukových klinických scénářů, neboť tyto bude možné využít k dalšímu směřování ke správné klinické praxi.

Limitace projektu EPOSS lze spatřovat zejména v potenciální náchylnosti k selekci zařazovaných pacientů z participujících pracovišť. Řízení projektu je tedy zajištěno tak, aby byly v databázi k dispozici záznamy o všech konsekutivních pacientech s těžkou sepsí. Zařazování pacientů je dále harmonizováno s ohledem na organizaci přednemocniční péče, která se v České republice významně odlišuje od té v anglosaských zemích, jejichž odborné autority byly lídry v tvorbě balíčků pro léčbu těžké sepsy [10, 11].

Do databáze EPOSS proto nejsou zařazováni ti pacienti, jejichž průběh nemoci se komplikuje

Tab. 1 Primární a sekundární cíle projektu EPOSS

Primární cíle
Definice parametrického záznamu o léčbě pacienta s těžkou sepsí a jeho praktická implementace v on-line dostupné výzkumné databázi.
Popis reálné klinické praxe v léčbě těžké sepsy na datech sbíraných retrospektivně v reprezentativní síti klinických center; zjištění objektivních epidemiologických charakteristik pacientů a popis procesů v managementu těžké sepsy na pracovištích intenzivní medicíny v ČR.
Sekundární cíle
Korelace faktického dosažení vybraných cílových parametrů během iniciální resuscitace pacientů v těžké sepsí s mortalitou a morbiditou pacientů a s jejich kvalitou života hodnocenou v intervalu 90, 180 a 360 dní od diagnózy těžké sepsy.
Při dostupnosti ekonomických dat od zdravotních pojišťoven zhodnocení nákladů na zdravotní péči u pacientů s těžkou sepsí léčených na pracovištích intenzivní péče v ČR.
U vybraných záznamů, které ponесou kazuisticky cenný obsah, vytvořit komentované klinické scénáře jako multimediální pomůcky určené pro výuku klinického rozhodování.



Obr. 1 Analýza síly statistických testů pro stanovení minimálního počtu záznamů pro ověření stanovených hypotéz v analýzách projektu EPOSS

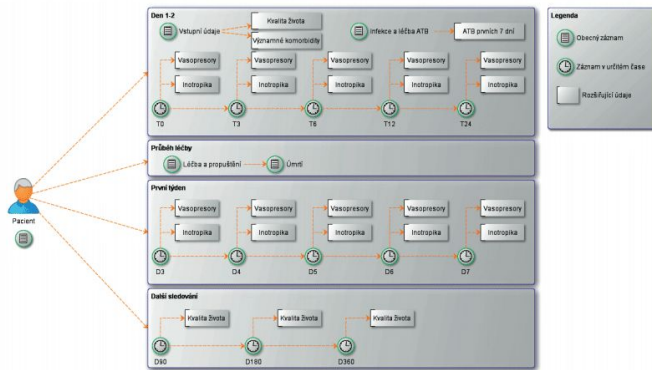
nozokomiální sepsí na pracovišti EPOSS (definitivní doba vzniku > 24 hod po příjmu na pracoviště EPOSS). Databáze tedy poskytuje přehled o výskytu a léčbě těžké sepsy na zapojených fakultních a krajských pracovištích, ovšem vzhledem k charakteru projektu nemůže poskytnout kompletní informace o výskytu těžké sepsy v jednotlivých zdravotnických zařízeních.

S ohledem na výše uvedené cíle projektu bude hrát důležitou roli také míra, s jakou se podaří dlouhodobě sledovat klinické výsledky a kvalitu života přeživších pacientů. Potenciálně nízká míra návratnosti způsobená obtížemi s dostupností pacientů po odchodu z nemocnice, ale také jejich vysokou mortalitou, může být příčinou chybějících pozorování, a tak i nemožnosti realizovat plánované vědecké výpočty a fokusované analýzy na celém souboru dat.

Při navrhování protokolu projektu byl proveden výpočet spolehlivosti odhadů a analýza síly statistických testů (obr. 1). Potenciální rizikové faktory ovlivňující mortalitu budou hodnoceny pomocí vícerozměrné logistické regrese. Po dosažení dostatečné doby sledování pacientů bude pro posouzení rizikových faktorů využit vhodný typ analýzy časově cenzurovaných dat (Coxův model proporcionálních rizik, Kaplan-Meierova metoda analýzy přežití).

3. ZAŘAZOVÁNÍ PACIENTŮ

Cílovou skupinou jsou pacienti starší 18 let, přijatí primárně pro těžkou sepsí, nebo splňující kritéria těžké sepsy do 24 hodin od přijetí na participující pracoviště projektu EPOSS. Sepse byla definována podle konsenzuální konference z roku 2003 [25] jako infekce s přítomností minimálně dvou kritérií pro syndrom systémové zánětlivé odpovědi (SIRS – Systemic Inflammatory Response Syndrome). Těžká



Obr. 2 Struktura výzkumné databáze EPOSS ukazuje základní dělení záznamu do fází a formulářů

Tab. 2 Přehled parametrů ve výzkumné databázi EPOSSw

Demografická data	Pohlaví, věk, BMI
Příjem	datum, čas; datum a čas splnění kritérií těžké sepsy; příjem interní, chirurgický, elektivní, akutní, traumatologický; příchod z: domu, jiné nemocnice, zařízení dlouhodobé péče; cesta převzetí na JIP – urgentní příjem, ambulance, oddělení, jiná JIP;
Vstupní charakteristiky	vstupní charakteristika – APACHE předchozí kvalita života – SF36
Významné komorbidity	CHRI, CHOPN, diabetes, autoimunitní onemocnění aj. sledovaná chronická medikace – betablokátory, statiny, kortikoidy
Sledované parametry v časových intervalech T0, T3, T6, T24 a dále po dnech D1–D7	hemodynamika – CVT, MAP, CI, PAOP oxygenační parametry – PaO ₂ , S(C)vO ₂ , vasopresory, inotropika, bilance tekutin laboratoř – PCT, CRP, KO, kontrola glykémie, laktát, koagulace, jaterní testy, renální funkce SOFA
Antiinfekční léčba	primární zdroj sepsy – plicě, břicho, krevní řečiště, kůže a měkké tkáně, katérová sepsy, močové a pohlavní ústrojí, CNS identifikace patogenu – G+, G-, anaeroby, fungi léčba – preparát, datum a čas podání, dávka, způsob podání shoda iniciální empirické antiinfekční terapie s kulturačním nálezem
Sledované intervence	odběr hemokultury, kortikoidy, PAC, miniinvazivní monitoring, echokardiografie, RRT (renal replacement therapy), nutrice
Průběh onemocnění, propuštění, dlouhodobé sledování	způsob a důvod ukončení hospitalizace osud pacienta po propuštění z JIP, další ataka sepsy data o mortalitě a kvalitě života po propuštění v časových intervalech – 90, 180, 360 dní od diagnózy těžké sepsy kvalita života zaznamenávána dotazníkem SF36

BMI – body mass index, JIP – jednotka intenzivní péče, APACHE II skóre (acute physiology and chronic health evaluation), SF36 – dotazník na kvalitu života (short form), CHRI – chronická renální insuficience, CHOPN – chronická obstrukční plicní nemoc, CVT – centrální venózní tlak, MAP – střední arteriální tlak (mean arterial pressure), CI – srdeční index (cardiac index), PAOP – okluzní tlak v plicnici (pulmonary artery occlusion pressure), PaO₂ – parciální tlak kyslíku v arteriální krvi, ScvO₂ – saturace venózní nebo centrální venózní krve, PCT – procalcitonin, CRP – C-reaktivní protein, KO – krevní obraz, SOFA skóre (sequential organ failure assesment score), CNS – centrální nervová soustava, G+ grampozitivní, G- gramnegativní, PAC – Swanův-Ganzův katétr (pulmonary artery catheter)]



INTENZIVNÍ MEDICÍNA

sepsě byla definována jako sepsě s přítomností minimálně jedné orgánové dysfunkce.

4. DEMOGRAFICKÁ DATA, KLINICKÁ DATA A ÚDAJE O KVALITĚ ŽIVOTA

Data o případech těžké sepsě jsou v jednotlivých centrech zadávána proškolenými lékaři-investigátory retrospektivně v parametrické formě pomocí on-line formulářů generovaných z data-akviziční webové aplikace. Struktura výzkumné databáze EPOSS zahrnuje jednak vstupní údaje (vstupní kritéria těžké sepsě, datum narození, pohlaví, klinické pracoviště) a dále klinické údaje v deseti časových fázích během prvních sedmi dnů hospitalizace. Klinické parametry pokrývají podrobné informace o antiinfekční terapii, o průběhu onemocnění a dále také informace důležité při propuštění pacienta z JIP. Dále se zadávají údaje z dlouhodobého sledování pacienta (90., 180. a 360. den od stanovení diagnózy je sledován klinický výsledek a kvalita života) a také datum a příčina eventuálního úmrtí. Struktura výzkumné databáze EPOSS je schematicky znázorněna na obrázku 2, detailní přehled parametrů je v tabulce 2.

5. ŘÍZENÍ PROJEKTU A ETICKÉ OTÁZKY

Do projektů EPOSS & SEPSIS-Q se postupně zapojily všechny fakultní nemocnice v naší zemi a drtivá většina krajských nemocnic (obr. 3) a seznam pracovišť v příloze. Vybraní reprezentanti všech

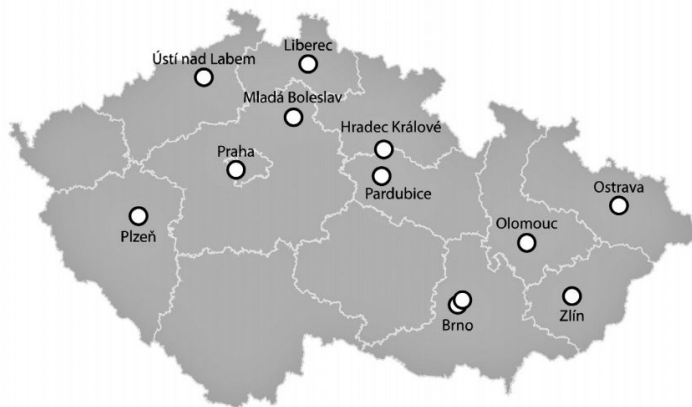
zapojených pracovišť tvoří odbornou radu projektu (jmenný seznam viz příloha). Ta rozhoduje o případných změnách ve struktuře výzkumné databáze EPOSS a o navázaných validačních pravidlech, kterými je zajišťována integrita dat, vyplněnost povinných položek a kontrola logických vztahů mezi hodnotami zadanými do různých formulářů jednoho záznamu (fáze léčby, propuštění, follow-up, úmrtí). Na řízení projektu se dále podílí řídicí komise („steering committee“, jmenný seznam členů je uveden v příloze), která řeší zejména otázky publikačních výstupů, směřování vědeckých výpočtů a fokusovaných analýz.

Pracoviště IBA MU, které v projektech EPOSS & SEPSIS-Q zajišťuje návrhy, vývoj a provoz technického řešení, jakož i analytickou podporu investigátorům, je držitelem tří ISO certifikací zaměřených na management systémů jakosti, IT služeb a bezpečnosti informací. Projekt EPOSS byl schválen multicentrickou etickou komisí FN Brno dne 19. 11. 2011. Od pacientů, u kterých bylo prováděno dlouhodobé sledování po propuštění z nemocnice, byl vyžádán písemný informovaný souhlas.

6. KOMPONENTY TECHNICKÉHO ŘEŠENÍ

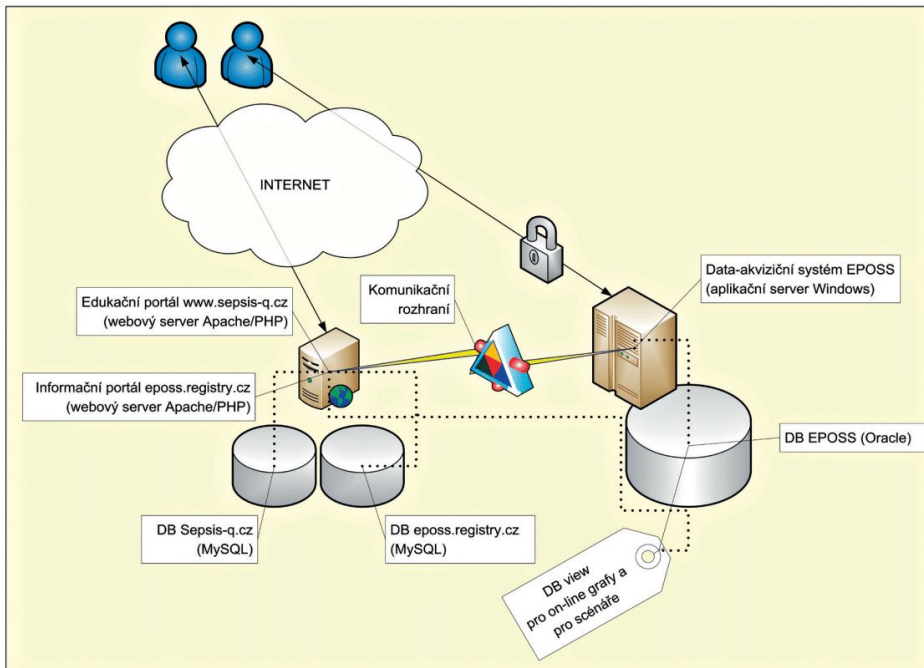
Technické řešení projektů EPOSS & SEPSIS-Q se opírá o následující čtyři komponenty:

1. data-akviziční multicentrický systém – výzkumná databáze EPOSS,
2. informační portál EPOSS.REGISTRY.CZ s on-line generovanými grafy,



Obr. 3 Do projektů EPOSS & SEPSIS-Q se zapojilo 18 klinických pracovišť z České republiky. Seznam pracovišť je uveden v příloze





Obr. 4 Základní komponenty technického řešení v projektu EPOSS & SEPSIS-Q

3. edukační portál WWW.SEPSIS-Q.CZ s komunikačním rozhraním k systému EPOSS,
4. interaktivní přehrávač výukových klinických scénářů případů těžké sepse.

Všechny čtyři komponenty, které schematicky ukazuje obrázek 4, byly sladěny prostřednictvím komunikačních rozhraní tak, že se vůči svým uživatelům jeví jako jeden komplexní systém.

6.1. Systém pro multicentrický sběr dat – výzkumná databáze EPOSS

Systémy pro multicentrický protokolární sběr dat, vyvinuté a provozované na IBA MU, splňují jak legislativní nároky, neboť jsou v souladu s EU e-Privacy Directive, dále HIPAA (Health Insurance Portability and Accountability Act) a také PIPEDA (Personal Information Protection and Electronic Documents Act), tak i požadavky na bezpečnost a dostupnost, neboť jsou provozovány v nezávislých profesionálních serverovnách se záložními zdroji, monitorováním 24/7/365 a s minimální dostupností 99,5 %.

Data-akviziční systém pro projekt EPOSS vyžaduje na straně uživatele pouze běžný internetový prohlížeč. Komunikace mezi uživatelem a centrálním datovým úložištěm je použitím protokolu SSL (Secure Sockets Layer) zabezpečena šifrováním. Servery IBA MU, na kterých je data-akviziční systém pro projekt EPOSS provozován, využívají certifikáty vydané certifikační autoritou TERENA Certificate service (tzv. kořenová certifikační autorita).

Centrální datové úložiště se skládá z SQL (Structured Query Language) databáze a dále z webové aplikace, která uživatelům předkládá k této databázi komfortní rozhraní, a to prostřednictvím on-line formulářů. Funkcionalita webové aplikace umožňuje následující operace:

1. autentizace a autorizace uživatelů;
2. vkládání nových záznamů, jejich vyhledávání a editace;
3. audit historie provedených změn na jednotlivých záznamech;
4. definice validačních pravidel na několika úrovních:

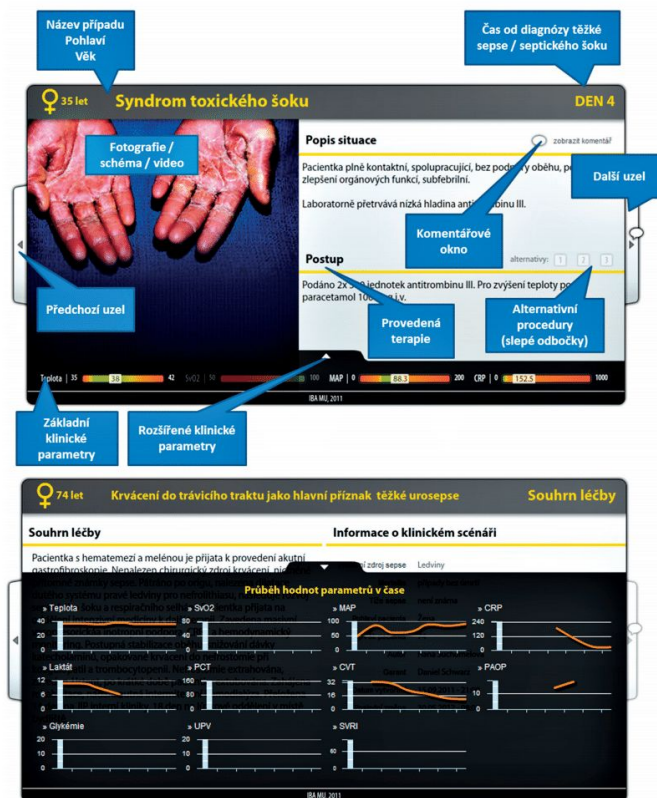


INTENZIVNÍ MEDICÍNA

- bezprostřední kontrola zadávaných údajů do jednotlivých polí formulářů na platné intervaly hodnot, délky řetězců apod.;
 - kontrola chybějících povinných údajů a kontrola platnosti vztahů mezi vybranými údaji při odeslání formuláře na server;
 - pokročilá validační pravidla, která zahrnují složené SQL dotazy do databáze a podmíněné výrazy, spouštěná v 24hodinových intervalech nad celou databází tak, aby bylo možné kontrolovat logické vztahy zadaných hodnot na různých formulářích;
5. automatizované generování přehledových sestav pro management projektu;
 6. datové rozhraní pro on-line generované grafy;
 7. export dat pro analytickou podporu IBA MU;
 8. administrační a monitorovací nástroje pro technickou podporu IBA MU (helpdesk).

6. 2. Informační portál EPOSS.REGISTRY.CZ s on-line generovanými výstupy analýzy dat

Informační portál o cílech, způsobu řešení a průběžných výsledcích v projektu EPOSS (<http://www.eposs.registry.cz>) byl vybudován pomocí redakčního systému IBA.Backoffice, který slouží obecně pro zpracování internetových prezentací s administrativním obsahem. Přístupnost portálu byla zajištěna dodržením doporučení WCAG 2.0 (Web Content Accessibility Guidelines 2.0) a jeho použitelnost ověřena heuristickým testováním uživatele.



Obr. 5 Ukázky z interaktivního přehrávače výukového klinického scénáře. Ten se v prohlížeči ukazuje jako objekt obsluhovaný v prostředí Adobe Flash Player.





ských úspěchů a neúspěchů při práci s jednotlivými stránkami. Investigátorům výzkumné databáze EPOSS poskytuje informační portál vstupní stránku s přihlašovacím formulářem do data-akvizičního systému a dále také on-line grafický reporting, který představuje sadu čtyř grafů. Ty prezentují základní deskriptivní statistické ukazatele aktuálního souboru dat: rozdělení pohlaví, věku, primárního zdroje sepse a dále časový vývoj celkového počtu validních záznamů v databázi.

6. 3. Edukační portál WWW.SEPSIS-Q.CZ s komunikačním rozhraním k systému EPOSS

Cílem webového portálu WWW.SEPSIS-Q.CZ je poskytnout místo pro publikaci edukačních a informačních materiálů o sepsi. Technicky i obsahově nejzajímavější částí edukačního portálu jsou tzv. klinické scénáře. Jedná se o výukové objekty připomínající kazistiky, ovšem s propracovanější podporou pro výuku či nácvik klinického rozhodování. Ze stovek záznamů o těžké sepsi, které budou zaznamenávány ve výzkumné databázi EPOSS, mohou být prostřednictvím komunikačního rozhraní vybrány zajímavé případy pro jejich následné rozšíření do anonymizované podoby klinického scénáře – vhodně upraveného pro kontaktní výuku metodami PBL (problem-based learning) nebo eventuálně také pro distanční výuku či samostudium.

6. 4. Přehrávač klinických scénářů případů těžké sepse

Klinické scénáře jsou po dokončení schvalovány vybraným garantem, jmenovaným odbornou radou projektu. Po schválení klinického scénáře jsou na edukačním portálu SEPSIS-Q ihned publikována metadata o tomto scénáři, tj. údaje o autorovi, garantovi, názvu případu a jeho stručné shrnutí. Přehled dostupných scénářů lze filtrovat podle pohlaví, mortality a tíže sepse. Ukázky zobrazení klinického scénáře jsou na obrázku 5. Každý scénář se zobrazuje v podobě objektu přehrávaného v prostředí Adobe Flash Player. Toto prostředí (plug-in do internetového prohlížeče) je dostupné všem uživatelům zdarma. Z dlouhodobých statistik vyplývá, že prostředí Adobe Flash Player má nainstalováno více než 95 % internetových uživatelů. Jedná se o moderní technologii, velmi často využívanou při elektronické podpoře výuky.

7. ZÁVĚR

Výsledky první fáze projektů EPOSS & SEPSIS-Q [26] ukazují, že se díky podpoře a spolupráci všech participujících pracovišť podařilo během let 2011 až 2012 uvést v život smysluplný nástroj, který umožňuje objektivní dokumentaci

demografických charakteristik, průběhu léčby a dalšího osudu pacientů s těžkou sepsi, což jsou údaje, které dosud nebyly v České republice známy. Struktura výzkumné databáze EPOSS je navržena tak, že umožňuje provádět řadu zajímavých vědeckých výpočtů a konkrétně fokusovaných analýz. Po naplnění databáze dostatečným počtem validních záznamů, včetně údajů z dlouhodobého sledování, bude velmi zajímavé porovnat zjištěné závěry s výsledky publikovanými v zahraničí.

V práci bylo představeno technické řešení projektů EPOSS & SEPSIS-Q, které je složeno ze čtyř komponent, jež dohromady tvoří robustní infrastrukturu s potenciálem ucházet se o mezinárodní projekty v oblasti lékařské vzdělávací informatiky (medical educational informatics). Díky použitým technologiím a metodikám bude mít odborná lékařská veřejnost nejen možnost hodnotit kvalitu péče o pacienty léčené pro těžkou sepsi, ale také jí budou rozšířeny možnosti, jak podporovat novými pedagogickými metodami vzdělávání budoucích lékařů. Ti pak budou sami výsledky lékařské péče v této oblasti ovlivnit.

Appendix

Odborná rada EPOSS & SEPSIS-Q

Prof. MUDr. Pavel Ševčík, CSc. – vedoucí projektu (Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno, Anesteziologicko-resuscitační klinika Lékařské fakulty Ostravské univerzity a Fakultní nemocnice Ostrava)

Prof. MUDr. Vladimír Černý, Ph.D. (Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové)

MUDr. Roman Kula, CSc. (Anesteziologicko-resuscitační klinika Lékařské fakulty Ostravské univerzity a Fakultní nemocnice Ostrava)

MUDr. Jan Maláška, Ph.D. – manažer projektu (Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno)

MUDr. Pavel Dostál, Ph.D. (Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové)

MUDr. Renata Pařízková, Ph.D. (Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové)

MUDr. Martin Slezák – koordinátor výzkumné databáze EPOSS (Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno)





INTENZIVNÍ MEDICÍNA

MUDr. Jiří Tichý (Anesteziologicko-resuscitační klinika Lékařské fakulty Ostravské univerzity a Fakultní nemocnice Ostrava)

Doc. RNDr. Ladislav Dušek, Ph.D. – vedoucí informační části projektu (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA (Klinika anesteziologie a resuscitace 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice v Motole)

Prof. MUDr. Martin Matějovič, Ph.D. (I. interní klinika Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni a Fakultní nemocnice Plzeň)

Doc. MUDr. Eduard Kasal, CSc. (Anesteziologicko-resuscitační klinika Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni a Fakultní nemocnice Plzeň)

Doc. MUDr. Vladimír Šrámek, Ph.D. (Anesteziologicko-resuscitační klinika Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny)

Prim. MUDr. Daniel Nalos (Oddělení intenzivní medicíny, Masarykova nemocnice Ústí nad Labem)

Prim. MUDr. Ivan Herold, CSc. (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Klauďánova nemocnice Mladá Boleslav)

MUDr. Jan Maňák, Ph.D. (Klinika gerontologická a metabolická Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové)

Doc. MUDr. Milan Adamus, Ph.D. (Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc)

MUDr. Eduard Havel, Ph.D. (Chirurgická klinika Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové)

MUDr. Ivana Zýková (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice Liberec)

Prim. MUDr. Magdalena Fořtová (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Pardubická krajská nemocnice)

Prim. MUDr. Anna Šobáňová (Oddělení intenzivní péče operačních oborů, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

Prim. MUDr. Radovan Turek (Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, Zlín)

RNDr. Daniel Klimeš, Ph.D. (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)

Bc. Richard Hůlek (Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity)





Krajská nemocnice Liberec – Anesteziologicko-resuscitační oddělení
Klaudiánova nemocnice Mladá Boleslav – Anesteziologicko-resuscitační oddělení
Masarykova nemocnice Ústí nad Labem – Oddělení intenzivní medicíny
Krajská nemocnice T. Bati – Anesteziologicko-resuscitační oddělení
Krajská nemocnice T. Bati – Jednotka intenzivní péče Interní kliniky IPVZ

Literatura

1. **Angus, D. C. et al.** Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Critical Care Medicine*, 2001, 29, 7, pp. 1303–1310.
2. **Martin, G. S. et al.** The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000. *New England Journal of Medicine*, 2013, 348, 16, pp. 1546–1554.
3. **Cinell, I., Opal, S. M.** Molecular biology of inflammation and sepsis: a primer. *Crit. Care Medicine*, 2009, 37, 1, pp. 291–304.
4. **Doi, K. et al.** Animal models of sepsis and sepsis-induced kidney injury. *The Journal of Clinical Investigation*, 2009, 119, 10, pp. 2868–2878.
5. **Namas, Rami et al.** Sepsis: Something old, something new, and a systems view. *Journal of Critical Care*, 2012, 27, 3, p. 314. e311–314.e311. doi: 10.1016/j.jcrrc.2011.05.025.
6. **Knaus, W. A.** The clinical evaluation of new drugs for sepsis: A prospective study design based on survival analysis. *JAMA*, 1993, 270, 10, pp. 1233–1241.
7. **Payen, D. et al.** International integrated database for the evaluation of severe sepsis and drotrecogin alfa (activated) therapy: Analysis of efficacy and safety data in a large surgical cohort. *Surgery*, 2006, 140, 5, pp. 726–739.
8. **Fitousis, K. et al.** Evaluation of empiric antibiotic use in surgical sepsis. *The American Journal of Surgery*, 2010, 200, 6, pp. 776–782.
9. **Rivers, E. et al.** Early Goal-Directed Therapy in the Treatment of Severe Sepsis and Septic Shock. *New England Journal of Medicine*, 2001, 345, 19, pp. 1368–1377.
10. **Dellinger, R. P. et al.** Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Critical Care Medicine*, 2008, 36, 1.
11. **Dellinger, R. P. et al.** Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012. *Critical Care Medicine*, 2013, 41, 2.
12. **Barochia, A. V. et al.** Bundled care for septic shock: An analysis of clinical trials. *Critical Care Medicine*, 2010, 38, 2, pp. 668–678.
13. **Lambert, M.-L. et al.** Clinical outcomes of health-care-associated infections and antimicrobial resistance in patients admitted to European intensive-care units: a cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 2011, 11, 1, pp. 30–38.
14. **Westphal, G. A. et al.** Reduced mortality after the implementation of a protocol for the early detection of severe sepsis. *Journal of Critical Care*, 2011, 26, 1, pp. 76–81.
15. **Vincent, J. et al.** Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. *Critical Care Medicine*, 2006, 34, 2, pp. 344–353.
16. **Vincent, J.** The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe: Results of the European prevalence of infection in intensive care (epic) study. *JAMA*, 1995, 274, 8, pp. 639–644.
17. **Vincent, J.** EPIC II: sepsis around the world. *Minerva anesthesiologica*, 2008, 74, 6, pp. 293–296.
18. **Hanberger, H. et al.** Increased mortality associated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in the Intensive Care Unit: results from the EPIC II study. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2011, 38, 4, pp. 331–335.
19. **Karlsson, S. et al.** Long-term outcome and quality-adjusted life years after severe sepsis. *Critical Care Medicine*, 2009, 37, 4, pp. 1268–1274.
20. **Oeyen, S. G. et al.** Quality of life after intensive care: a systematic review of the literature. *Critical Care Medicine*, 2010, 38, 12, pp. 2386–2400.
21. **Adrie, C. et al.** Epidemiology and economic evaluation of severe sepsis in France: age, severity, infection site, and place of acquisition (community, hospital, or intensive care unit) as determinants of workload and cost. *Journal of Critical Care*, 2005, 20, 1, pp. 46–58.
22. **Brun-Buisson, C.** Épidémiologie des états septiques graves. *Dossier thématique: Choc septique*, 2006, 35, 3, Part 2, pp. 513–520.
23. **Winters, B. D. et al.** Long-term mortality and quality of life in sepsis: A systematic review. *Critical Care Medicine*, 2010, 38, 5, pp. 1276–1283.
24. **Černý, V., Novák, I., Šrámek, V.** Prevalence těžké sepse v České republice – prospektivní multicentrická jednodenní studie. *Anest. Intenziv. Med.*, 2003, 14, 5, pp. 218–222.
25. **Levy, M. M. et al.** 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit. Care Medicine*, 2003, 31, 4, pp. 1250–1256.
26. **Maláška, J. et al.** Léčba těžké sepse na pracovištích intenzivní péče v České republice – pilotní výsledky projektu EPOSS. *Vnitřní lékařství*, 2013, akceptováno k publikaci.

Podporováno výzkumným grantem společnosti AstraZeneca.
Projekt EPOSS probíhá pod záštitou Česko-Slovenského fóra pro sepsi, České společnosti intenzivní medicíny ČLS JEP, České společnosti anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny ČLS JEP a Czech Clinical Trials Network.

Do redakce došlo dne 19. 2. 2013.

Do tisku přijato dne 15. 5. 2013.

Adresa pro korespondenci:

Ing. Daniel Schwarz, Ph.D.
Institut biostatistiky a analýz
Masarykovy univerzity
Kamenice 5
625 00 Brno
e-mail: schwarz@iba.muni.cz



3. Molekulární podklad dlouhodobých komplikací sepse

Vzhledem k datům, která poukazují na vysokou incidenci sepse a její mortalitu dosahující až cca 20% všech globálních úmrtí, byla vyhlášena Světovou zdravotnickou organizací (WHO) jako celosvětová zdravotní priorita. [144]

V souvislosti s intenzivní péčí je septický šok stále hlavní příčinou mortality na ICU. [145] Se zlepšujícím se trendem k poklesu dlouhodobé mortality u pacientů po přežití sepse se v poslední dekádě začínají více zkoumat specifické komplikace, které se vyvíjejí u pacientů, kteří tyto stavy přežijí. Tzv. post-septický syndrom (PSS) je kombinací specifických neuropsychických, imunitních, renálních a kardiovaskulárních komplikací. [130, 146] Dokonce zvýšené kardiovaskulární riziko může přetrvávat 5 až 10 let po propuštění z nemocnice. [147] Je pravděpodobné, že mechanismem dlouhodobých kardiovaskulárních komplikací je také urychlená tzv. endoteliální senescence. V endoteliálních buňkách dochází k morfologickým a metabolickým změnám, které vedou ke snížení produkce NO, zvýšení produkce cytokinů a zvýšené inflamatorní odpovědi. [132, 148] Výše uvedené mění endotel v chronicky zánětlivě změněnou, protrombotickou a dysfunkční bariéru, která je podkladem dlouhodobých kardiovaskulárních příhod u pacientů po prodělané sepsi. Jedním z mechanismů urychleného stárnutí endotelií je pravděpodobně zkrácení telomer. [149-151] Telomery, které se přirozeně při každé buněčné replikaci zkracují, tvoří s dalšími proteiny tzv. telozom, který do určité limitní délky ochraňuje konce chromozomů, aby nebyly rozpoznány jako zlomy. V okamžiku dosažení určité limitní délky telomer dochází k zastavení buněčné replikace a buňka přechází do tzv. apoptózy. V této souvislosti se objevují práce, které u pacientů v septickém šoku prokazují zkrácenou délku telomer v leukocytech (LTL), které pravděpodobně souvisí s aktivitou cytokinů a zvýšením ROS. [152, 153] V návaznosti na septický šok máme u systémové

hyperinflamace u COVID-19 pacientů, která bude ještě zmiňována, k dispozici velice recentní data, která dokladují možnost asociace zkrácení LTL a špatné prognózy pacientů s onemocněním COVID-19. [136, 137] V této souvislosti je zkoumán enzym telomeráza, který za fyziologických okolností v určitých buňkách, ale také v nádorových buňkách prodlužuje, resp. udržuje délku telomer. Při stanovení LTL a aktivity telomerázy se používá metoda, která byla zavedena do praxe již před delší dobou a která také byla použita v této originální práci, kterou zde uvádím. Metodu stanovení LTL, aktivity telomerázy a exprese mRNA pro katalytickou podjednotku telomerázy (hTERT) ukazujeme na příkladu aktivace telomerázové aktivity a délky telomer u pacientů s akutní leukemií a kolorektálním karcinomem. [134, 135]

- a. Telomerase activity and expression and telomere analysis in situ in the course of treatment of childhood leukemias. Blood Cells Molecules and Diseases. 2000*

V této práci jsme se zaměřili na pediatrické pacienty s akutní leukemií (akutní lymfoblastickou leukemií (ALL) a akutní myeloblastickou leukemií (AML)). Po získání IS byly pacientům odebírány vzorky periferní krve, event. kostní dřeně a vyšetřovány na aktivitu telomerázy, expresi mRNA pro hTERT a vyšetřována délka telomer. Celkem bylo v práci analyzováno 8 pacientů. U všech pacientů byla zjištěna vysoká aktivita telomerázy a exprese mRNA pro hTERT a také korelace s klinickým průběhem a odpovědí na terapii.

Práci zde uvádím, jelikož se v poslední době zvyšuje zájem o výzkum v oblasti telomer jako podklad tzv. PSP a dlouhodobých kardiovaskulárních komplikací a navíc nyní v situaci pandemie se ještě tento zájem v souvislosti s hyperinflamací u COVID-19 a souvislostí LTL a prognózy pacientů, ještě více zintenzivnil. Také podobnost molekulárních mechanismů aktivace inflamace u sepse a patofyziologie nádorů již byla zmíněna. Význam práce je také možno dokumentovat na citačních ohlasech, kdy byla celkem 19 citována ve významných pracích autorů z nejvýše renomovaných pracovišť a také fakt, že ještě v roce 2021 je citována.

Telomerase Activity and Expression and Telomere Analysis *in Situ* in the Course of Treatment of Childhood Leukemias

Submitted 09/12/00

(Communicated by M. Lichtman, M.D., 09/15/00)

Jan Maláska,^{1,2,3} Marie Skleničková,^{1,3} Kateřina Krejčí,^{1,4} Lenka Fajkusová,⁵
Milan Bajer,² Hana Hrstková,² and Jiří Fajkus^{1,4}

ABSTRACT: Samples of blood and marrow from children with leukemia were assayed for telomerase activity and expression on the day of diagnosis and during the course of chemotherapy. A strong correlation between either variables and clinical response was observed in most patients. A unique case was observed in which telomerase activity was only moderately increased on diagnosis; it gradually increased in the course of therapy, and a subsequent decrease occurred only after application of intensified therapy. This patient did not respond to therapy, his disease progressed, and he finally died during intensified therapy. In another patient, analysis of telomere lengths using dideoxy-PRINS revealed a single telomere expansion on a long arm of chromosome 4, suggesting involvement of a telomerase-independent mechanism of telomere elongation. © 2000 Academic Press

Key Words: acute leukemias; telomerase; *in situ* analysis of telomeres; chemotherapy, predictive factors.

INTRODUCTION

Telomerase activity is regarded as an essential step for the immortalization of human cells, both *in vitro* and in tumor progression *in vivo*. Although altered telomerase activity is not a cause of malignancy, a strong association between the presence of telomerase activity and malignancy makes the enzyme one of the most common tumor markers (1). The knowledge of human telomerase subunit composition made it possible to combine the test for activity of telomerase [commonly performed as the telomere repeat amplification protocol, TRAP (2)] with the RT-PCR test for expression of its reverse transcriptase and RNA subunits. A further step in understanding telomere biology could be achieved through accumulating information on regulatory mechanisms controlling telomere lengths in the presence of telomerase

activity, e.g., via folding of telomeric DNA into telomerase-inaccessible structures such as t-loops or quadruplexes promoted by specific proteins. Hopefully, the intriguing question of differential regulation of telomere lengths on individual chromosomes will also be answered. The method of terminal restriction fragments (TRF) has shown that telomeres gradually shorten during tumorigenesis and are stabilized only upon activation of telomerase, typically at their shortened sizes. Besides telomerase, rare cases of activation of alternative mechanism of telomere lengthening (ALT) were observed in both *in vitro* immortalized human cells and tumor tissue samples (3). The ALT mechanism, probably based on recombination events, results in generation of sequence-heterogeneous telomeres expanded to multiples of their original lengths. A commonly used TRF technique (Southern hybridization of terminal restric-

Correspondence and reprint requests to: Jiří Fajkus, Institute of Biophysics, Královopolská 135, CZ-61265 Brno, Czech Republic. Fax: +4205-41211293. E-mail: fajkus@ibp.cz.

¹ Department of Analysis of Biologically Important Molecular Complexes, Masaryk University Brno, Czech Republic.

² Faculty Hospital Brno, Jihlavská 20, CZ-639 00 Brno, Czech Republic.

³ These two authors contributed equally.

⁴ Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Královopolská 135, CZ-61265 Brno, Czech Republic.

⁵ Research Institute of Child Health, Černopolní 9, CZ-66262 Brno, Czech Republic.



1079-9796/00 \$35.00
Copyright © 2000 by Academic Press
All rights of reproduction in any form reserved

TABLE 1
Telomerase Activities in the Course of Therapy

Patient No.	Diagnosis	0 BM	0 PB	2 PB	4 PB	6 PB	8 PB	15 PB	34 PB	34 BM
1	AML	94.8	65.1	n	n	n	n	18.9	21.1	n
2	ALL	100.0	70.7	61.7	46.4	12.1	17.1	14.9	17.1	26.2
3	ALL	41.0	37.9	48.0	n	75.5	46.5	18.7	†	n
4	ALL	n	98.0	n	25.3	21.7	16.2	21.0	10.4	n
5	ALL	n	52.7	36.2	30.0	31.5	19.9	11.1	n	n
6	AML	n	98.4	†	n	n	n	n	n	n
7	ALL	n	80.5	n	16.3	13.5	11.3	9.2	n	n
8	ALL	n	120.9	†	n	n	n	n	n	n
Control 1	—	n	18.2	n	n	n	n	11.8	14.6	n
Control 2	—	n	21.2	n	n	n	n	17.2	18.3	n

Note. n, data not available; †, patient died; BM, bone marrow; controls 1, 2, healthy individuals (without treatment).

tion fragments) is able to show only the average size of telomeres, not their individual differences or even a complete loss or extreme expansion at certain chromosome arms. Instead of TRF, a quantitative analysis of telomeres *in situ* using a dideoxy-version of PRimed *IN Situ* labeling (dideoxy-PRINS) technique has become a tool of choice for detailed analysis of telomeres.

In this report we present results of our study on telomere dynamics (telomerase activity and

expression, telomere analysis *in situ*) in the course of therapy of cases of childhood leukemia.

MATERIALS AND METHODS

Patients

Eight children with acute leukemia have been followed, six of them diagnosed as acute lymphoblastic leukemias (ALL) and two as acute myeloid

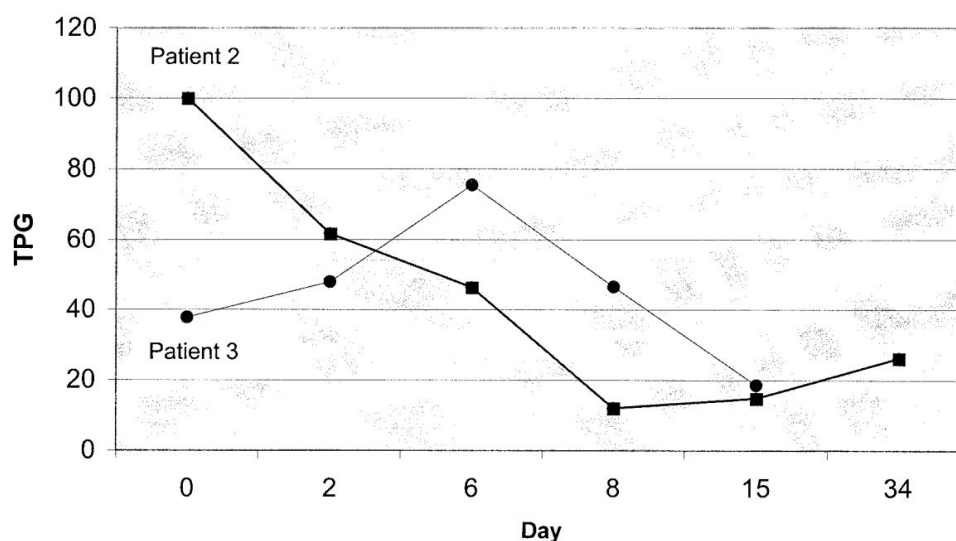


FIG. 1. Profiles of telomerase activities during treatment of childhood acute leukemias. Results in TPG units (total product generated, Intergen Manual) were calculated from the signals obtained from two parallel reactions (60 ng of total protein per assay) using the TRAPEze telomerase detection kit (Intergene). While the profile observed in patient 2 is typical for most patients (see Table 1), the increase in telomerase activity during the first 6 days of treatment in patient 3 is unique within our set of patients (see also Results and Discussion).

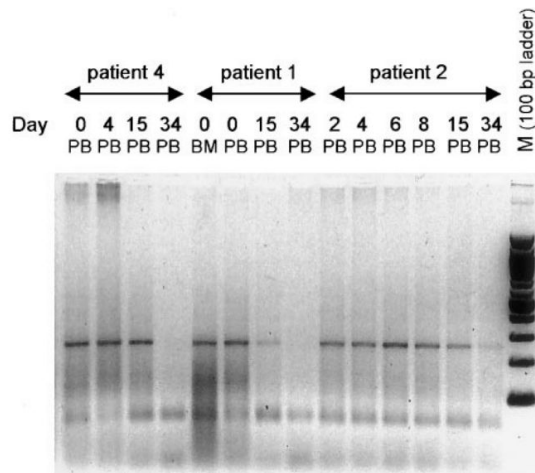


FIG. 2. Expression of the catalytic subunit of telomerase (hTERT) during the treatment period of three different patients. RNA samples were first analyzed for G3PDH as a reference transcript, and then used for RT-PCR of hTERT. PB, peripheral blood; BM, bone marrow.

leukemia (AML). Written informed consent was obtained from each patient or their parents. On the day of diagnosis (day 0), bone marrow (BM) and peripheral blood (PB) was collected. Further collection of blood was performed on days 2, 4, 6, 8, 15, and 34 of therapy.

Patients with ALL were treated according to the BFM 95 protocol, and those with AML according to the BFM 98 protocol.

Telomerase Activity and Expression Assays

Nucleated cells were isolated from blood or marrow samples using HISTOPAQUE-1.077 (Sigma Diagnostics) according to the manufacturer's instructions. The resulting cell pellet was divided into aliquots for preparation of cell extracts for TRAP assay, total RNA preparation and cell counting. A TRAPeze telomerase detection kit (Intergene) was used for preparation of cell extracts and for semiquantitative TRAP assay according to the supplier's instructions. A non-isotopic detection method using SYBR Green (Molecular Probes) staining of reaction products after separation by polyacrylamide electrophoresis has been used throughout. The protein concentration

in cell extracts was determined by the Bradford procedure (4).

Total RNA was isolated from blood or marrow cells using a RNeasy Mini kit (QIAGEN) and the quality of the product was checked on an agarose gel. RT-PCRs were performed using an Enhanced Avian RT-PCR kit with primers specific for the telomerase catalytic subunit (5'-CCTCTGTGCTGGGCCTGGACGATA-3' and 5'-ACGGCTGGAGGTCTGTCAAGGTAG-3'), the RNA subunit (5'-CCTAACTGAGAAGGGCGTAGG and 5'-GACTCGCTCCGTTCTCTTC-3') and for G3PDH mRNA (5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3' and 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3') as a reference transcript. After reverse transcription (46°C/45 min) and initial denaturation (94°C/3 min), PCR proceeded for 30 cycles (94°C/45 s, 55°C/30 s, 68°C/45 s) followed by a final extension step (68°C/5 min).

In Situ Analysis of Telomeres

Cell suspensions obtained on the day of diagnosis from blood of eight patients were analyzed by dual color PRINS (PRimed *In Situ* labeling). In the first step, telomeres were labeled by dideoxy-primed *in situ* labeling (dideoxy PRINS) using the probe Telo2 (CCCTAA)₇ (5). PRINS utilizes an unlabeled probe which after hybridization to its target sequence serves as a primer for chain elongation using Tth DNA polymerase to incorporate labeled nucleotides. Dideoxy-PRINS is more specific for labeling sequences which lack one or more of the four bases of DNA; the base(s) not needed for chain elongation can be added in the form of dideoxynucleotide(s) to reduce non-relevant priming from random breaks in chromosomal DNA. In the case of the human C-rich telomeric strand, the dideoxynucleotide used is ddGTP. Telo2-primed synthesis was visualized through incorporation of fluorescein-dUTP (Roche). After the chain elongation, the 3'-ends of products were blocked by ddNTP before the next PRINS reaction (6).

Finally, centromeres of chromosome 4 were labeled with the common PRINS reaction using the probe Alpha 4/12 (5'-CTG AGA ATG CTT

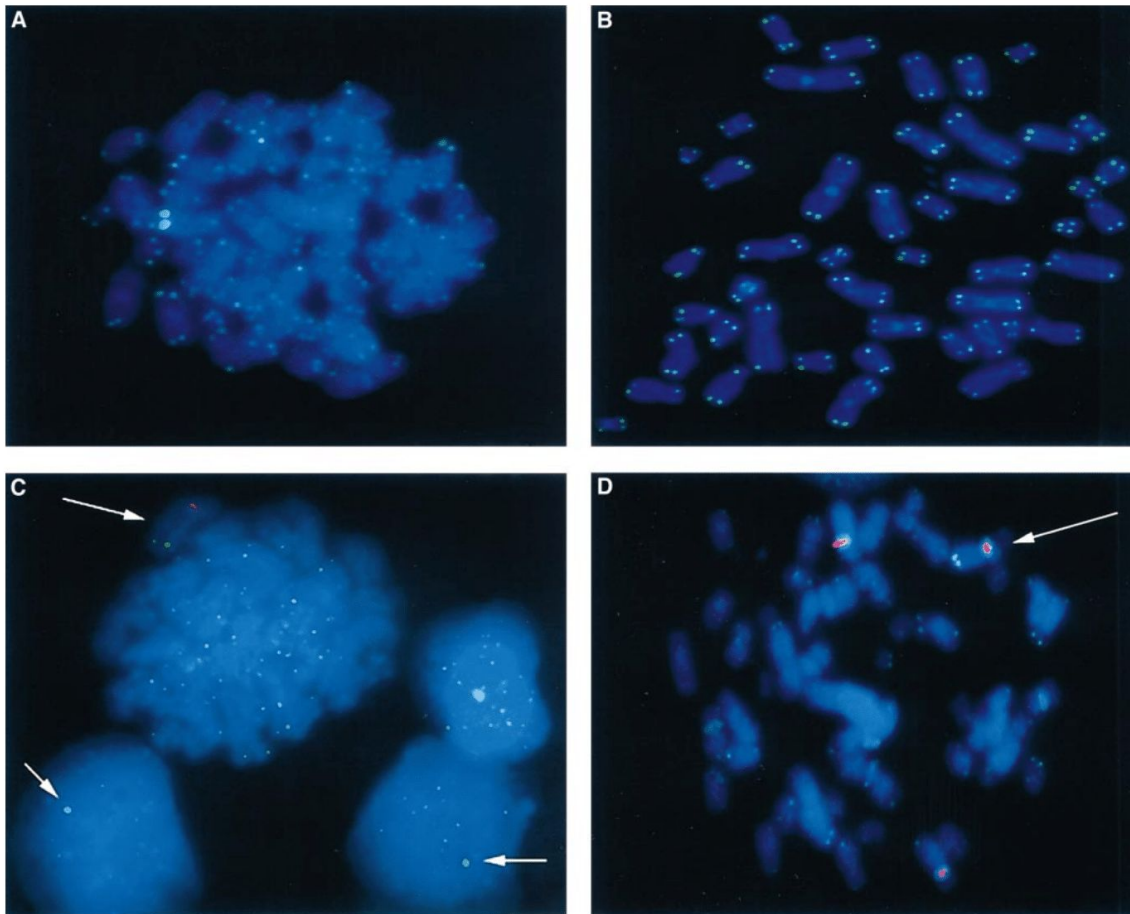


FIG. 3. Analysis of telomeres of patient 2 by dideoxy-PRINS with the probe Telo2. On one chromosome, an increased telomeric signal was observed (arrows) corresponding to a (8.6 ± 3.5) -fold telomere expansion with respect to the average of the other telomeric signals (A). Healthy control is shown for comparison (B). The chromosome possessing the expanded telomere was identified as chromosome 4 using PRINS with the centromeric probe Alpha 4/12 (C, D). The amplified telomeric signal can also be seen in interphase nuclei (C).

CTC TCT AGA TCT AGT TAT TAT ATG TCA
TCC C-3') (7) and digoxigenin-dUTP label
(Roche). Rhodamine-conjugated anti-digoxigenin
antibody (Roche) was used for visualization.

RESULTS AND DISCUSSION

Telomerase Activity Profiles in the Course of Therapy

All eight acute leukemia patients were telomerase-positive on the day of diagnosis and showed several fold increase of activity compared to

healthy donors (Table 1). In further samples collected in the course of therapy, a tight correlation of telomerase activity with the clinical response was observed: most patients showed a complete morphological remission and a corresponding decrease of telomerase activity almost to the levels of healthy donors within several days after diagnosis (a typical profile is shown in Fig. 1, patient 2). A unique case was observed in the case of ALL patient 3 whose telomerase activity on the day of diagnosis (day 0) was only moderately increased above the normal; in the course of ther-

apy the activity gradually increased until day 6, and a subsequent decrease occurred only after application of intensified therapy (Fig. 1, patient 3). This patient did not respond to therapy, his disease progressed and he finally died during intensified therapy.

Expression of Telomerase RNA and Catalytic Subunit

RT-PCR examination of expression of the RNA subunit (hTR) revealed its ubiquitous occurrence in all samples collected. Telomerase catalytic subunit (hTERT) mRNA was present in all samples until day 15, and disappeared or was substantially reduced on day 34 (Fig. 2). Expression of hTERT, was also detected in RNA samples from healthy donors, corresponding to the low levels of telomerase activity found in their cell extracts.

Dideoxy-PRINS Analysis of Telomeres

The telomere-specific probe Telo2 showed a striking expansion of only a single telomere in one of eight patients (patient 2), while the normal telomere length distribution was found in 7 cases as well as in healthy donors. As chromosomes of this patient formed clusters (Fig. 3), it was difficult to obtain a karyotype to identify the chromosome bearing the expanded telomere. Therefore, a secondary PRINS reaction with a centromere-specific probe was applied which proved that the signal was localized on the q arm of chromosome 4. The telomeric signals from eight metaphases were evaluated using software Telomere Quantifier (DAKO, Denmark), and that on the expanded telomere corresponded to a (8.6 ± 3.5) -fold elongation with respect to the average of lengths of all the other telomeres on a given metaphase.

Due to the low number of cases analyzed here, it is not possible to deduce a direct connection between this single telomere expansion and the diagnosis. Nevertheless, the occurrence of this phenomenon and the extent of expansion suggests the presence of a telomerase-independent mechanism of telomere elongation and corresponds with the previous observation (8) in a Ph-positive, B-

ALL patient. In contrast to previously described mechanism of alternative lengthening of telomeres (ALT) (3, 9), the single telomere expansion observed here occurs in telomerase-positive cells, while ALT and telomerase activity seem to be mutually exclusive and apply to all telomeres within a cell (10). Our data thus suggest that a certain level of telomere length regulation is chromosome- or even telomere-specific.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Dr. Ronald Hancock (Laval University Cancer Research Centre) for critical reading of the manuscript and DAKO (Denmark) for providing us with software Telomere Quantifier. This work was supported by the Grant Agency of the Czech Republic, Project 301/99/0045, the Grant Agency of the Academy of Sciences of the Czech Republic, Project S5004010, and the Ministry of Education of the Czech Republic, Project VS97032.

REFERENCES

1. Shay, J. W. (1997) Telomerase in human development and cancer. *J. Cell Physiol.* **173**, 266–270.
2. Kim, N. W., Piatyszek, M. A., Prowse, K. R., Harley, C. B., West, M. D., Ho, P. L. C., Coviello, G. M., Wright, W. E., Weinrich, S. L., and Shay, J. W. (1994) Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* **266**, 2011–2015.
3. Bryan, T. M., Englezou, A., Dalla-Pozza, L., Dunham, M. A., and Reddel, R. R. (1997) Evidence for an alternative mechanism for maintaining telomere length in human tumors and tumor-derived cell lines. *Nat. Med.* **3**, 1271–1274.
4. Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248–254.
5. Therkelsen, A. J., Nielsen, A., Koch, J., Hindkjaer, J., and Kolvraa, S. (1995) Staining of human telomeres with PRimed *IN Situ* labeling (PRINS). *Cytogenet. Cell Genet.* **68**, 115–118.
6. Hindkjaer, J., Koch, J., Therkelsen, C., Brandt, C. A., Kolvraa, S., and Bolund, L. (1994) Fast, sensitive multicolor detection of nucleic acids *in situ* by PRimed *IN Situ* labeling (PRINS). *Cytogenet. Cell Genet.* **66**, 152–154.
7. Koch, J., Hindkjaer, J., Kolvraa, S., and Bolund, L. (1995) Construction of a panel of chromosome-specific oligonucleotide probes (PRINS-primers) useful

- for the identification of individual human chromosomes *in situ*. *Cytogenet. Cell Genet.* **71**, 142–147.
8. Krejčí, K., and Koch, J. (1999) Molecular cytogenetics investigation of the telomeres in a case of Philadelphia positive B-ALL with of a single telomere expansion. *Neoplasia* **1**, 492–497.
 9. Bryan, T. M., and Reddel, R. R. (1997) Telomere dynamics and telomerase activity in *in vitro* immortalised human cells. *Eur. J. Cancer* **33**, 767–773.
 10. Perrem, K., Bryan, T. M., Englezou, A., Hackl, T., Moy, E. L., and Reddel, R. R. (1999) Repression of an alternative mechanism for lengthening of telomeres in somatic cell hybrids. *Oncogene* **18**, 3383–3390.

b. Telomerase as a diagnostic and predictive marker in colorectal carcinoma.

Neoplasma. 2004

Metodologické možnosti výzkumu telomer a s ní spojené telomerázy jsou v této práci demonstrovány na datech získaných v prospektivní, observační studii u pacientů s kolorektálním karcinomem (Colorectal Cancer, CRC). [135] Cílem této práce bylo zhodnocení diagnostické a prediktivní úlohy telomerázy. Do studie byli zařazeni pacienti, u kterých byl získán informovaný souhlas s odběrem vzorku tumoru a přilehlé, morfoloicky normální tkáně během plánované operace pro nově diagnostikovaný CRC. Metodologicky jsme prováděli vyšetření celkové telomerázové aktivity (TRAP assay) a zhodnocení exprese mRNA pro katalytickou podjednotku telomerázy (hTERT) pomocí RT-PCR metody. Celkový počet pacientů, od kterých jsme získali vzorky k analýze byl 41. Vyšetřili jsme celkem 82 vzorků (vždy párový vzorek tumorózní a makroskopicky normální přilehlé tkáně). Telomerázová aktivita byla pozitivní v 83% vzorků nádorové tkáně (34/41). Vzorky přilehlé tkáně byly buď zcela negativní (61%) nebo mírně pozitivní (39%). Výsledky získané analýzou exprese mRNA pro hTERT byly pozitivní u všech 34 tumorózních vzorků, u kterých byla detekována aktivita telomerázy. Překvapivě byla exprese hTERT mRNA detekovaná u 3 vzorků CRC tumoru, které byly negativní na telomerázovou aktivitu. Toto pozorování jsme ale podložili detekcí alternativní sestřihové (alternativní splicing) α -varianty mRNA pro zmiňovanou hTERT. Tato inhibiční varianta byla prokázána v naše projektu a dále i v ostatních výzkumných skupinách s inhibičním efektem na expresi enzymu telomerázy. [154-156] Exprese mRNA pro hTERT byla také prokázána v naší studii v 19 vzorcích z makroskopicky intaktní okolní tkáně a to zejména ve vzorcích, kde byla telomerázová aktivita mírně zvýšená. Tyto fakta mohou být vysvětleny mikroinvazí nádoru do okolní tkáně. Pro možnou podporu této naší

hypotézy jsme dále vyšetřili vzorky od pacientů, kteří byli operováni pro jiné než nádorové onemocnění. U této skupiny kontrolních vzorků byla exprese mRNA hTERT lehce detekovatelná. Navíc jsme v naší práci prokázali korelaci aktivity telomerázy s metastázami do lymfatických uzlin.

Význam práce je možné ukázat na citačním ohlasu. Práce byla citována do této doby celkem 20x (dle WOS).

Telomerase as a diagnostic and predictive marker in colorectal carcinoma*

J. MALÁSKA^{1,2}, Z. KUNICKÁ³, M. BORSKÝ⁴, M. SKLENIČKOVÁ¹, M. NOVOTNÁ³, L. FAJKUSOVÁ^{3,4}, J. ŽALOUĐÍK², J. FAJKUS^{1,3**}

¹Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, 61265 Brno, e-mail: fajkus@ibp.cz, ²Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, ³Department of Functional Genomics and Proteomics, Masaryk University Brno, ⁴University Hospital Brno, Department of Internal Medicine and Hematooncology, Centre of Molecular Biology and Gene Therapy, Brno, Czech Republic

Received September 9, 2003

In a search for molecular markers providing both informative diagnostics of malignant disease, and rational stratification of a therapeutic strategy to achieve optimal response in a given patient, we examined the possibility of using telomerase for this purpose in colorectal cancer. Telomerase, a ribonucleoprotein enzyme complex catalysing synthesis of chromosome ends (telomeres), has been known as an almost universal tumor marker but its predictive value has been found in only a limited number of malignant tumor types. Telomerase activity and expression of its catalytic subunit hTERT was determined in 82 surgical specimens from 41 patients (a sample of tumor tissue and of adjacent morphologically normal tissue was obtained from each patient). Telomerase activity was present in tumor samples from 34 (83%) patients, reaching an average value of 47.6 telomerase units (T.U.), while adjacent tissue specimens were either negative (in 25 (61%) patients), or slightly positive (in 16 (39%) patients) showing 1.5 T.U. on average. In tumor samples from patients without lymphatic node metastases (pN0), an average of 37.1 T.U. was found. In contrast, in tumor samples from patients with lymphatic node involvement (pN1 or pN2) the average activity was significantly higher (60.2 T.U., $p < 0.05$). In patients with distant metastases a tendency towards higher telomerase activity, although lacking statistical significance, could be observed. Among patients that obtained chemotherapy with 5-fluorouracil, those with low telomerase activity showed a tendency to chemosensitivity. Expression of hTERT was detected not only in samples showing telomerase activity, but also in a considerable portion of telomerase-negative samples either from the tumor or the adjacent normal tissue. We demonstrate that some of these apparent discrepancies may be attributed to differential splicing of hTERT mRNA. We conclude that TRAP assay for telomerase activity is more informative than the common testing for hTERT expression. Telomerase activity is useful both as a diagnostic as well as a predictive factor in colorectal cancer.

Key words: colorectal carcinoma, telomerase, diagnostic and predictive marker

Colorectal carcinoma belongs to the group of most frequently diagnosed tumors and is a significant cause of morbidity and mortality in all over the world. Its increasing incidence and the relatively low efficiency of chemotherapy represent major therapeutic problems. Besides the development of new cytostatic drugs, another approach to therapeutic progress could arise from individual planning of a therapeutic strategy based on evaluation of predictive

factors, i.e. molecular determinants allowing to assess the effect of different modalities of anticancer therapy. A number of genetic alterations accompanies the pathologic transformation of normal colonic epithelium to an adenomatous polyp and ultimately an invasive cancer. It is therefore feasible to search for such markers among genes whose mutations are involved in this long-term multistep process of disease progression. These include for example adenomatous polyposis coli (APC), K-ras protooncogene, DCC (Deleted in Colorectal Cancer) tumor-suppressor gene, tumor-suppressor genes of the transforming growth factor beta (TGF-beta) pathway, p53 tumor-suppressor gene and genes involved in DNA mismatch repair [8].

Besides gene mutations and possibly other (epigenetic)

*This work was supported by the Grant Agency of the Academy of Sciences of the Czech Republic, project S5004010 and the institutional support (MSM143100008 and Z5004920).

** Author to whom correspondence should be sent.

Table 1. An overview of previous results on the possible predictive value of telomerase activity in colorectal cancer

No. of tumor specimens tested	Presence of telomerase activity	Tested correlation(s) of telomerase activity with other clinicopathogenic factors / result	Reference
23	23 (100%)	clinical staging / no; p53 mutations / no	[2]
37	19 (51%)	Astler and Collier staging / yes (C>A,B) lymph node metastasis / yes differentiation grading / yes (poorly and moderately > well) mitotic and Ki-67 labeling index / yes Bcl-2 expression / no p53 accumulation / no	[10]
67	50 (75%)	microsatellite instability / no	[16]
29	29 (100%)	Dukes' staging / yes (A and C>B) location / yes (right>left)	[7]
50	33 (66%)	differentiation grading / yes (poorly>well) clinical staging / no Bcl-2 expression / yes (higher activity in Bcl-2-positive samples)	[9]
30	27 (90%)	depth of invasion / yes age, gender, histologic type, location / no lymph node metastasis, lymphatic infiltration, Dukes' stage / no venous invasion / yes liver metastasis / yes	[13]
20	15 (75%)	depth of tumor invasion / no lymphatic and/or venous involvement / no regional lymph node metastasis and Dukes' stage / no	[1]

changes leading to altered gene expression (e.g., DNA methylation and histone acetylation), transformed cells have to possess a functioning telomere-maintenance mechanism to escape cell cycle arrest or apoptosis after critical telomere shortening due to incomplete chromosome-end replication. In about 85% of all cancers and about the same percentage of colorectal cancers [11], telomere maintenance is achieved by activation of telomerase, a complex synthesising telomeres via the reverse transcriptase activity of its catalytic protein subunit, hTERT, using a template region of an RNA subunit, hTR (see [6] for recent review). The rest can be accounted for by alternative telomere lengthening (ALT) mechanisms operating via a telomerase-independent (probably recombination) pathway [3]. Consequently, telomerase activity has become an almost universal diagnostic marker in oncology, but its predictive value has been shown in only a limited number of tumor types. In colorectal cancer, there are discrepant reports on this subject. A significant correlation of telomerase activity with tumor staging, cell differentiation, proliferation and lymph node metastasis in colorectal carcinomas has been reported [10]. Another group observed a significant difference in telomerase activity between tumors with and without venous invasion [13]. Telomerase activity was correlated with depth of invasion and liver metastasis but

not with lymph node metastasis, lymphatic infiltration or Dukes stage. In another recent study [1] no significant correlation was observed between telomerase activity levels and clinicopathological parameters such as depth of tumor invasion, lymphatic and/or venous involvement, and regional lymph node metastasis and Dukes' stage. An overview of previous results is given in Table 1.

The aim of our present study was therefore to bring independent novel data to the ongoing discussion on the diagnostic and predictive value of telomerase in colorectal cancer. These data show not only a strong correlation of telomerase activity with malignant phenotype, but also with lymph node metastasis. We further show that assays for telomerase activity are more informative than a simple RT-PCR test of hTERT expression, as the latter is also positive in a considerable portion of telomerase-negative samples coming either from the tumor or the adjacent normal tissue. We also demonstrate that some of these apparent discrepancies may be attributed to differential splicing of hTERT mRNA [4, 14, 17].

Material and methods

Patients. Surgical specimens of tumor and adjacent mor-

phologically normal tissue were obtained from 41 patients who provided written informed consent to provide samples for molecular genetic examination (a total of 82 specimens were analyzed). Diagnosis of colorectal adenocarcinoma was confirmed by histological typing. Among 41 patients, 3 showed grade I, 34 grade II, and 3 were of grade III, and in one sample this criteria could not be applied. In the TNM classification, there were 3 of pT2, 20 of pT3 and 17 of pT4 stage, and in one sample this was not applicable. With respect to lymphatic node involvement, there were 24 patients of pN0, 12 of pN1 and 2 of pN2 classification, and in 3 samples the pN status could not be assessed (see also Table 2 in the Results section).

Telomerase activity assay. A TRAPEze Telomerase Detection Kit (Intergene) was used for preparation of tissue extracts from surgical specimens and for semiquantitative TRAP assays according to the supplier's instructions. Two reactions using aliquots corresponding to tumor tissue and adjacent tissue were tested in parallel. Reaction products were separated on 12.5% polyacrylamide gels (19:1 acrylamide:bisacrylamide), stained using SYBR Green I (Molecular Probes) and detected in blue fluorescence mode on a PhosphorImager STORM860 (Molecular Dynamics). Semi-quantitative evaluation in relative telomerase units (T.U.) was performed using ImageQuant software (Molecular Dynamics).

RNA isolation, RT-PCR analysis of hTERT expression and detection of differential hTERT splicing. Total RNA was isolated from surgical specimens using a RNeasy Mini Kit (QIAGEN) and the quality of the product was checked on an agarose gel. RNA concentration was measured using RiboGreen RNA quantitation reagent (Molecular Probes). Random hexamer-primed cDNA was synthesized from 200 ng of total RNA in a 20 μ l reaction using a GeneAmp RNA PCR kit (Applied Biosystems). Amplifications were performed using AmpliTaq Gold DNA polymerase (Applied Biosystems) in the supplied reaction buffer and 2 mM MgCl₂ with an initial denaturation at 95 °C for 10 min followed by 40 cycles (95 °C/30 s, 55 °C/30 s, 72 °C/30 s) and a final extension (72 °C/7 min). As an independent internal marker of overall transcription, expression of HPRT was detected by RT-PCR in parallel.

For analysis of differential splicing of hTERT mRNA, cDNA was prepared using 200 ng of RNA and a Super Script First Strand Synthesis System for RT-PCR (Gibco BRL) with random hexamers. The amplification of alternatively spliced hTERT cDNA was performed with TERT-2164S and TERT-2620A primers as described [15]. Products were labeled during PCR with α -[³²P]dCTP (75 kBq per PCR reaction). Amplified products were electrophoresed on 6% polyacrylamide gel with 1% urea and visualized by use of PhosphorImager or X-ray film. As an internal control, expression of HPRT was detected by RT-PCR in parallel.

Results and discussion

The overview of results is given in Table 2. In these data, telomerase activity is positive in 34 of 41 tumor specimens (83%) showing an average of about 48 telomerase units (T.U.). This percentage corresponds well with summarized data obtained by other groups [12]. Tumor-adjacent tissue specimens are either negative (in 25 (61%) patients), or slightly positive (in 16 (39%) patients) showing 1.5 T.U. on average. Expression of hTERT was detected by RT-PCR in all 34 telomerase-positive tumor specimens and in 3 of 7 telomerase-negative tumor specimens. This apparent discrepancy can be explained in all these 3 samples by the presence of an α splicing variant of hTERT mRNA whose inhibitory effect has been reported recently [4, 17] or, alternatively, by the absence of the full-length ($\alpha^+\beta^+$) hTERT mRNA transcript (Fig. 1). To our knowledge, our data represent the first report on alternate hTERT mRNA splicing in colorectal cancer specimens and correspond to our previous findings in normal and carcinoma colon cell lines [5].

Expression of hTERT was found also in 19 specimens from adjacent morphologically normal tissue, mostly in specimens where a slight telomerase activity had been detected. The slight activity and positive RT-PCR results can be explained in these cases by invasion of tumor cells to adjacent tissue and/or by presence of normal proliferating cells in colon crypts.

To test the latter possibility, additional control specimens from 3 non-tumor patients (samples of colorectal mucosa

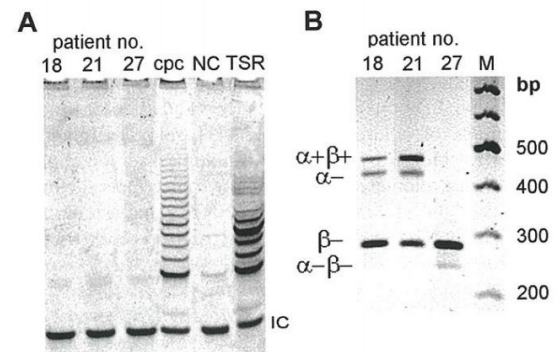


Figure 1. Analysis of telomerase activity (A), expression and splicing pattern (B) of the hTERT mRNA region 2164-2620 (Genebank AF15950) in selected tumor samples. Tumor samples of patients 18, 21 and 27 display no telomerase activity in TRAP assays (A), although they show expression of hTERT mRNA (B). This apparent discrepancy can be explained by the presence of an inhibitory α splicing variant of hTERT mRNA (patient 18 and 21) or by the absence of the full-length length ($\alpha^+\beta^+$) hTERT mRNA transcript (patient 27). cpc – control positive HeLa cells, NC – negative control, TSR – telomerase quantitation control, IC – internal amplification control, M – DNA length marker.

Table 2. Summary of results

Patient no.	specimen T/N*	histology typing	differentiated	pT	staging pN	M	location	chemother. response	telomerase activity	hTERT expression	splicing pattern
1	T	Tubopapillary adenocarc.	Well	T2	N0	M0	Rectum	FU non response	30.3	Yes	n.a.
2	N T	- adenomatous polyp	- n.a.	- n.a.	- n.a.	- n.a.	Colon descendens	- n.a.	1.6 11.9	Yes Yes	n.a. n.a.
3	N T	- Tubopapillary adenocarc., exulcerated	- Moderately	- T3	- N0	- Mx	Colon sigmoideum	- n.a.	0.0 91.4	No Yes	n.a. $\alpha+\beta+$, $\beta-$
4	N T	- Tubopapillary adenocarc., metastasis	- Moderately	- T4	- NO	- M1	Omentum	- n.a.	1.9 11.5	Yes Yes	$\alpha+\beta+$, $\alpha-$, $\beta-$ $\alpha+\beta+$, $\alpha-$, $\beta-$, $\alpha-\beta-$
5	N T	- Tubopapillary adenocarc., metastasis	- Moderately	- T4	- N1	- M1	Liver	- FU response	0.0 11.8	Yes Yes	$\alpha+\beta+$, $\alpha-$, $\beta-$ $\alpha+\beta+$, $\beta-$
6	N T	- Tubopapillary adenocarc., exulcerated	- Moderately	- T3	- N0	- M1	Rectum	- n.a.	0.0 1.3	No Yes	0 n.a.
7	N T	- Tubopapillary adenocarc., exulcerated	- Moderately	- T3	- N1	- Mx	Rectum	- n.a.	1.5 18.0	Yes Yes	n.a. $\alpha+\beta+$, $\alpha-$, $\beta-$, $\alpha-\beta-$
8	N T	- Tubopapillary adenocarc.	- Moderately	- T4	- Nx	- Mx	Colon descendens	- n.a.	0.0 20.5	Yes Yes	$\beta-$ n.a.
9	N T	- Tubopapillary adenocarc.	- Moderately	- T4	- Nx	- Mx	Colon transversum	- FU response	0.0 46	No Yes	0 n.a.
10	N T	- Tubopapillary adenocarc.	- Moderately	- T4	- N0	- Mx	Colon ascendens	- FU response	0.0 123	No Yes	0 n.a.
11	N T	- Tubopapillary adenocarc., exulcerated	- Moderately	- T2	- N1	- Mx	Rectum	- n.a.	0.0 1.3	No Yes	0 n.a.
12	N T	- Tubopapillary adenocarc., exulcerated	- Moderately	- T2	- N0	- M0	Rectum	- FU response	0.0 6.0	No Yes	0 n.a.
	N	-	-	-	-	-		-	1.6	Yes	n.a.

	T		T3	N1	M1	Rectum	FU response	0.0	No	0
13	T	Tubopapillary adenocarc., exulcerated	Moderately	-	-	Rectum	-	0.0	No	0
14	T	Adenocarcinoma, exulcerated	Poorly	T4 N1	Mx	Colon descendens	n.a.	0.0	No	0
15	T	Tubopapillary adenocarc., exulcerated	Moderately	T3 N0	Mx	Caecum	n.a.	0.0	No	0
16	T	Adenocarc.	Moderately	T3 N0	M0	Colon descendens	FU response	0.0	No	0
17	T	Mucinous adenocarc.	Moderate	T3 N0	Mx	Colon descendens	n.a.	0.7	Yes	n.a.
18	T	Tubopapillary adenocarc., exulcerated	Poorly	T3 N0	M0	Rectum	FU response	1.0	Yes	n.a.
19	T	Adenocarc., exulcerated	Moderately	T4 N2	Mx	Colon sigmoideum	-	9.4	Yes	n.a.
20	T	Tubopapillary adenocarc., exulcerated	Well	T4 N2	M0	Rectum	n.a.	1.8	Yes	n.a.
21	T	Adenocarc., exulcerated	Moderately	T3 N1	Mx	Rectum	n.a.	0.0	Yes	$\alpha+\beta+$, α , β -
22	T	Tubopapillary adenocarc.	Moderately	T4 N1	Mx	Colon sigmoideum	n.a.	0.0	Yes	$\alpha+\beta+$, α , β -
23	T	Tubopapillary adenocarc., exulcerated	Moderately	T3 N0	Mx	Rectum	n.a.	47.0	Yes	$\alpha+\beta+$, α , β -
24	T	Carcinomatous polyp	Moderately	T3 N0	Mx	Colon rectosigmoideum	Rectum n.a.	0.0	No	0
25	T	Mucinous adenocarc.	Moderately	T4 N0	Mx	Colon transversum	n.a.	1.3	Yes	$\alpha+\beta+$, α , β -
26	T	Tubopapillary adenocarc.	Moderately	T3 N0	Mx	Colon rectosigmoideum	n.a.	1.4	Yes	$\alpha+\beta+$, α , β -
27	T	Carcinomatous polyp	Moderately	T4 N0	M1	Colon ascendens	FU non response	195.0	Yes	$\alpha+\beta+$, α , β -
	N	-	-	-	-	-	-	0.0	No	0
	N	-	-	-	-	-	-	8.3	Yes	n.a.
	N	-	-	-	-	-	-	0.0	No	0
	N	-	-	-	-	-	-	12.3	Yes	n.a.
	N	-	-	-	-	-	-	1.8	Yes	n.a.
	N	-	-	-	-	-	-	0.0	Yes	β , α / β -
	N	-	-	-	-	-	-	0.0	Yes	β , α / β -

	T	Tubopapillary adenocarc.	Moderately	T3	N0	Mx	Caecum	n.a.	1.9	Yes	$\alpha+\beta+, \alpha-, \beta-$
28	T	Tubopapillary adenocarc.	Moderately	T3	N0	Mx	Caecum	n.a.	1.9	Yes	$\alpha+\beta+, \alpha-, \beta-$
29	T	Adenocarc., exulcerated	Moderately	T3	N0	Mx	Colon descendens	n.a.	1.9 2.6	Yes Yes	$\alpha+\beta+, \alpha-, \beta-$ n.a.
30	T	Tubopapillary adenocarc., exulcerated	Moderately	T4	N1	Mx	Colon descendens	n.a.	0.0 4.4	No Yes	0 n.a.
31	T	Tubopapillary adenocarc., exulcerated	Moderately	T4	N0	Mx	Colon rectosigmoideum	n.a.	0.0 1.1	No Yes	0 $\beta-, \alpha-\beta-$
32	T	Tubopapillary adenocarc., exulcerated	Moderately	T4	N0	Mx	Rectum	n.a.	0.0 2.9	Yes Yes	$\alpha+\beta+, \alpha-, \beta-$ n.a.
33	T	Tubopapillary adenocarc., exulcerated	Moderately	T3	N1	Mx	Rectum	FU response	1.6 0.0	Yes No	n.a. 0
34	T	Mucinous adenocarc.	Moderately	T4	N0	M1	Colon sigmoideum	n.a.	0.0 38.5	No Yes	0 $\alpha+\beta+, \beta-$
35	T	Mucinous adenocarc., exulcerated	Moderately	T4	N1	M0	Rectum	n.a.	0.0 0.0	No No	0 0
36	T	Adenocarc., exulcerated	Moderately	T3	N0	Mx	Rectum Colon sigmoideum	n.a.	0.0 3.8	No Yes	0 $\alpha+\beta+, \beta-$
37	T	Adenocarc., exulcerated	Moderately	T3	N0	Mx	Colon rectosigmoideum	n.a.	0.9 4.4	Yes Yes	$\alpha+\beta+, \beta-$ $\alpha+\beta+, \beta-$
38	T	Adenocarc.	Well	T3	N0	Mx	Rectum	n.a.	0.0 0.0	Yes No	$\beta-$ 0
39	T	Tubopapillary adenocarc., exulcerated	Moderately	T4	N1	M1	Colon sigmoideum	FU non response	219.0	No Yes	0 $\alpha+\beta+, \alpha-, \beta-, \alpha-\beta-$
40	T	Tubopapillary adenocarc., exulcerated	Moderately	T3	N0	Mx	Colon descendens	n.a.	1.0 147.0	Yes Yes	$\alpha+\beta+, \beta-, \alpha-\beta-$ $\alpha+\beta+, \beta-, \alpha-\beta-$
41	T	Adenocarc.	Poor	T3	N1	M0	Rectum	FU non response	1.1 195	Yes Yes	$\beta-$ $\alpha+\beta+, \beta-$
	N	-	-	-	-	-	-	-	1.5	Yes	$\alpha+\beta+, \beta-$

* T = tumour or suspected tumour specimen, N = normal specimen, n.a. = not analyzed

and of complete colon section) were analyzed in parallel. No hTERT mRNA expression was detected in all 3 samples of colorectal mucosa, while it could be found (showing the same splicing pattern) in complete colon sections, probably reflecting the presence of proliferating cells from colon crypts. Considering these results we conclude that testing of hTERT mRNA expression is less informative than TRAP assays for telomerase activity, unless a quantitative version of RT-PCR and complementary information on the splicing pattern are available.

Concerning the potential predictive value of telomerase activity, tumor samples from patients without lymphatic node metastases (pN0) show an average value of 37.1 T.U. In contrast, in tumor samples from patients with lymphatic node involvement (pN1 or pN2) the average activity was significantly higher (60.2 T.U., $p < 0.05$). These data thus correspond to previous findings showing a correlation of telomerase activity with lymph node metastasis [10], but contradict a couple of other reports [1, 13].

In patients with distant metastases a tendency towards higher telomerase activity, although lacking statistical significance, could be observed. Among twelve patients that obtained chemotherapy with 5-fluorouracil, eight had objective response. Six of these patients showed low levels of telomerase activity (0.0–6.0 T.U.) while within the non-responding group only one patient with no activity occurred.

We conclude that telomerase activity is useful both as a diagnostic and a predictive factor in colorectal cancer.

We thank Dr. R. HANCOCK (Laval University Cancer Research Center, Quebec, Canada) for helpful comments and revision of the manuscript.

References

- [1] ABE N, WATANABE T, NAKASHIMA M, MASAKI T, MORI T et al. Quantitative analysis of telomerase activity: a potential diagnostic tool for colorectal carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 692–695.
- [2] BROWN T, ALDOUS W, LANCE R, BLASER J, BAKER T, WILLIARD W. The association between telomerase, p53, and clinical staging in colorectal cancer. *Am J Surg* 1998; 175: 364–366.
- [3] BRYAN TM, ENGLEZOU A, DALLA-POZZA L, DUNHAM MA, REDDEL RR. Evidence for an alternative mechanism for maintaining telomere length in human tumors and tumor-derived cell lines. *Nat Med* 1997; 3: 1271–1274.
- [4] COLGIN LM, WILKINSON C, ENGLEZOU A, KILIAN A, ROBINSON MO, REDDEL RR. The hTERT α splice variant is a dominant negative inhibitor of telomerase activity. *Neoplasia* 2000; 2: 426–432.
- [5] FAJKUS J, BORSKÝ M, KUNICKÁ Z, KOVAŘÍKOVÁ M, DVOŘÁKOVÁ D et al. Changes in telomerase activity, expression and splicing in response to differentiation of normal and carcinoma colon cells. *Anticancer Res* 2003; 23: 1605–1612.
- [6] FAJKUS J, ŠIMÍČKOVÁ M, MALÁSKA J. Tiptoeing to chromosome tips: facts, promises and perils of today's human telomere biology. *Phil Trans R Soc Lond Ser B-Biol Sci* 2002; 357: 545–562.
- [7] FUJITA M, TOMITA S, FUKUI H, UEDA Y, FUJIMORI T. Semi-quantitative procedure for telomeric repeat amplification protocol (TRAP) assay in colorectal carcinomas. *J Exp Clin Cancer Res* 1999; 18: 119–124.
- [8] GRYPFER, SWALLOW C, BAPAT B, REDSTON M, GALLINGERS, COUTURE J. Molecular biology of colorectal cancer. *Curr Probl Cancer* 1997; 21: 233–300.
- [9] HIDA A, YAMAGUCHI A, HIROSE K. Telomerase activity in colorectal cancer and its relationship to bcl-2 expression. *J Surg Oncol* 2000; 73: 219–223.
- [10] OKAYASU I, MITOMI H, YAMASHITA K, MIKAMI T, FUJIWARA M et al. Telomerase activity significantly correlates with cell differentiation, proliferation and lymph node metastasis in colorectal carcinomas. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998; 124: 444–449.
- [11] SHAY JW, BACCHETTI S. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer* 1997; 33: 787–791.
- [12] SHAY JW, WRIGHT WE. Telomeres and Telomerase in the Regulation of Human Cellular Aging. *Molecular Biology of Aging: Alfred Benzon Symposium* 1999; 44: 148–158.
- [13] SHOJI Y, YOSHINAGA K, INOUE A, IWASAKI A, SUGIHARA K. Quantification of telomerase activity in sporadic colorectal carcinoma: association with tumor growth and venous invasion. *Cancer* 2000; 88: 1304–1309.
- [14] ULANER GA, HU JF, VU TH, GIUDICE LC, HOFFMAN AR. Telomerase activity in human development is regulated by human telomerase reverse transcriptase (hTERT) transcription and by alternate splicing of hTERT transcripts. *Cancer Res* 1998; 58: 4168–4172.
- [15] ULANER GA, HU JF, VU TH, ORUGANTII H, GIUDICE LC, HOFFMAN AR. Regulation of telomerase by alternate splicing of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) in normal and neoplastic ovary, endometrium and myometrium. *Int J Cancer* 2000; 85: 330–335.
- [16] UNATE H, Ikeguchi M, KAIBARA N, OKAMURA D, NISHIHARA S et al. Telomerase activity and microsatellite instability in colorectal cancer and adenoma. *Int J Oncol* 1998; 13: 1223–1228.
- [17] YIX, WHITE DM, AISNER DL, BAUR JA, WRIGHT WE, SHAY JW. An alternate splicing variant of the human telomerase catalytic subunit inhibits telomerase activity. *Neoplasia* 2000; 2: 433–440.

4. Oběhového selhání u septického a kardiogenního šoku a prognostické faktory

Šok, resp. jeho klinická manifestace ve formě oběhového selhání, je přítomný při přijetí na ICU až u 1/3 pacientů a je spojený s vysokou mortalitou a morbiditou. [5] Klasické členění a klasifikace typů šoků pochází od jednoho ze zakladatelů oboru intenzivní medicíny a to od prof. Harryho Maxe Weila. [52, 157] Člení šoky na čtyři základní typy: hypovolemický, kardiogenní, obstruktivní a distributivní. Klasicky jsou první tři typy šoků považovány za stavy s nízkým srdečním výdejem (CO), zatímco u posledního dochází vlivem uvolňování inflamatorních mediátorů k výsledné vazodilataci. Toto uvolňování mediátorů je typické pro septický šok a klasické vnímání zásadní překryv různých typů šoků nepředpokládalo. Postupem doby došlo dalším výzkumem v oblasti šoků ke zjištění, že fenotypicky se šoky mohou překrývat (např. u septického šoku může být přítomna složka kardiogenní, hypovolemická i obstruktivní) a u všech typů šoků může dojít k aktivaci inflamatorních mediátorů a zvýšenému oxidačnímu stresu (ROS, Reactive Oxygen Species) k dalšímu tkáňovému poškození. [48] Kardiogenní (KŠ) a septický šok (SŠ) mají za některých okolností společné rysy nejen na úrovni molekulární (viz dále), ale i na úrovni klinické, kdy vyjádřená septická kardiomyopatie nízkým srdečním výdejem evokuje šok kardiogenní (bude diskutováno v oddílu 3).

Stanovení prognózy, tedy predikce klinického výsledku u pacientů jak s kardiogenním, tak septickým šokem je velice důležitá nejen pro event. stratifikace rizika a individualizovaný management pro konkrétního pacienta, tedy tzv. personalizovaná medicína (personalized medicine nebo také precision medicine (precizní medicína)), ale i z hlediska populačního pro zlepšení výsledků celkové léčby a racionálnějšímu využívání medicínských zdrojů. Pro predikci průběhu onemocnění a výsledků léčby je možné použít buď různé skórovací systémy anebo určité biomarkery, resp. jejich kombinace. Ze skórovacích systémů je validován pro

všeobecnou populaci pacientů na intenzivní péči např. systém APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II) nebo SAPS II (Simplified Acute Physiology Score II), které vykazují dobrou diskriminační hodnotu. [158, 159] U pacientů, kteří mají kardiogenní šok z příčiny akutního koronárního syndromu (ACS) se může také použít tzv. GRACE skóre (Global Registry of Acute Coronary Events), který má dobrou diskriminaci stran nemocniční a dlouhodobé mortality pacientů s kardiogenní šokem, ale pouze z příčiny ACS. [160] Nebo například recentně validované IABP-SHOCK II skóre. [161] Jedná se o skórovací systémy, které určují závažnost onemocnění v prvních 24 hodinách po příjmu pacienta. Většinou v sobě zahrnují zhodnocení nejhorsích fyziologických hodnot v průběhu příjmu a také berou v potaz eventuální chronická onemocnění pacienta. Tyto jednorázové systémy ale nemohou být používány k definitivnímu stanovení pravděpodobnosti mortality u konkrétního pacienta. Jako určitý doplněk ke skórovacím systémům je k dispozici množství dat různých hemodynamických a zobrazovacích parametrů, které jsou spojené s nemocniční mortalitou pacientů, jak kardiogenního, tak septického šoku (např. dávka a počet vazopresorů, laktát, přítomnost mitrální regurgitace, ejekční frakce levé komory (EF LK), Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) flow a další.). Ideálním biomarkerem by měl být ten, který je validován, nejlépe externí validací stran diskriminační schopnosti predikovat mortalitu. K těmto charakteristikám se svým způsobem blíží hodnocení hladin inflamatorních markerů, např. IL-6, prokalcitonin (PCT), klírens laktátu a natriuretické peptidy (BNP, B-type natriuretic peptide a NT-proBNP, N-terminal fragment pro-BNP). [138, 162-166] Praktickým příkladem použití inflamatorních markerů v rutinní klinické praxi je dg. superinfekce u pacientů s KŠ. [167, 168] Výzvou do budoucnosti je nalezení markerů, které se dají použít v různých fázích rozvoje kardiogenního šoku a které jsou specifické pro určitou dysfunkci/selhání konkrétního orgánu. [169] Na příkladu biomarkerů endoteliálních buněk jde dobře demonstrovat, jak lze využít integrující a komplexní úlohu aktivace endotelií

s možností sledování jejich parametrů k predikci průběhu onemocnění, tedy sepse, resp. septického šoku. [170] Tato akutní endoteliální dysfunkce může být počátkem chronické endoteliální dysfunkce a tzv. zrychleného vaskulárního stárnutí. Tento mechanismus může být podkladem pro prokázané zvýšené kardiovaskulární riziko pacientů, kteří přežijí sepsi, v rámci PSS. [130] Efekt je pravděpodobně sledovatelný až 10 let po propuštění po prodělané sepsi. [147] Pravděpodobným patofyziologickým momentem se jeví akcelerovaná ateroskleróza na možném podkladě zkrácení délky telomer, diskutovaná v předchozím oddíle. [171]

a. *Myokardiální dysfunkce v sepsi – diagnostika a terapie. Vnitřní lékařství. 2010*

Management sepse (do roku 2016 klasifikovaná jako těžké sepse) a septického šoku musí být komplexní a odráží do určité míry složitost její patofyziologie. Při podrobnějším prozkoumání iniciální fáze, terapie těchto pacientů kombinuje několik relativně jednoduchých přístupů. Tyto jsou součástí doporučení iniciativy Surviving Sepsis Campaign, která již od roku 2002, tedy od roku jejího vzniku vydává v pravidelných intervalech odborná doporučení na diagnostiku a léčbu sepse. Poslední doporučení byla vydána v roce 2021 a předchází v roce 2012 a 2016. [172-176] V rámci rozvoje syndromu multiorgánové dysfunkce/multiorgánového selhání (MODS/MOF) může u části pacientů dojít k poškození myokardu, které se projeví snížením srdečního výdeje. V tomto okamžiku se hemodynamický obraz SŠ překrývá díky sníženému CO s KŠ. Poškození myokardu v sepsi bylo poprvé popsáno Margaret Parkerovou et al. již v roce 1984. [177] Pomocí vyšetření radionuklidové ventrikulografie a zavedeným plicnicovým katetrem (PAC, Pulmonary Artery Catheter) pozorovali reverzibilní pokles EF LK pod 40 % u pacientů se septickým šokem. Redukovaná EF LK byla pozorována u 50 % pacientů v septickém šoku, a do konce 25 % pacientů bez šokových známek ji mělo významně redukovanou. V průběhu dalších let s rozvojem ultrazvukových metod vyšetření srdce, tedy transtorakální (TTE) a transezofageální echokardiografie (TEE) byla tato pozorování potvrzena a dále rozvedena. [178, 179] Pro stav poškození myokardu v sepsi se můžeme v literatuře setkat se synonymy: septická kardiomyopatie (SKMP), septické myokardiální dysfunkce (SMD) a dalšími. V diagnostice SMD se používají v současné době zejména echokardiografické metody a tyto dokáží odhalit její přítomnost až u 2/3 pacientů v sepsi/septickém šoku. Biomarkery, které bývají u pacientů se SMD zvýšené a je možné je využít i k predikci prognózy těchto pacientů jsou troponiny (cTnI a cTnT) a natriuretické peptidy (NT-proBNP a BNP). Asociace hladiny troponinů s mortalitou pacientů v septickém šoku jsou opakovaně prokázány. [180, 181] Obdobně byly

publikovány práce, které reportují hladiny natriuretických peptidů, zejména NT-proBNP ve spojení s mortalitou pacientů v sepsi/septickém šoku. [178, 182] Náš článek se kromě role laboratorních markerů věnuje a kriticky shrnuje i další diagnostické přístupy, tedy TTE/TEE a roli hemodynamického monitoringu. Nakonec rozebíráme, jak zvolit management a jaké lékové možnosti máme k dispozici.

Tento komentovaný a další navazující článek z naší výzkumné skupiny, který se věnuje charakteristice a patogenetickým mechanismům SMD, je ojedinělou komplexní souhrnnou publikací v českém jazyce na téma SMD. [107]

Výzkum dalších biomarkerů a možnosti predikce mortality u pacientů s oběhovým selháním, konkrétně pacienti v SŠ a KŠ, bude dále diskutována v tomto oddílu mé habilitační práce.

Myokardiální dysfunkce v sepsi – diagnostika a terapie

J. Maláška, M. Slezák, K. Muriová, J. Stašek, P. Ševčík

Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Lékařské fakulty MU a FN Brno, pracoviště Bohunice, přednosta prof. MUDr. Pavel Ševčík, CSc.

Souhrn: Dysfunkce myokardu jako součást multiorgánového selhání postihuje až 2/3 pacientů v těžké sepsi. Je zajímavé, že i u pacientů s normálním echokardiografickým nálezem můžeme prokázat elevaci sérové hladiny troponinů a natriuretických peptidů. Prokázaná prognostická síla těchto markerů na morbiditu a mortalitu pacientů ukazuje na významnou roli skrytého poškození myokardu v sepsi. Terapeuticky zasahujeme až v případech, kdy nízký srdeční výdej není schopen uspokojit metabolické potřeby tkání. V současné době jsou vzhledem ke známým nežádoucím účinkům klasických inotropik zkoumány nové terapeutické přístupy. Jedná se zejména o použití levosimendanu, který představuje slibnou alternativu, a to nejen kvůli svému inotropnímu účinku. Včasná diagnostika, stanovení prognózy a léčebné strategie u pacientů se SMD poskytují široké pole pro další výzkum a představuje výzvu pro klinické pracovníky různých oborů.

Klíčová slova: sepsi – myokardiální dysfunkce – troponin – BNP – echokardiografie – inotropika – levosimendan

Myocardial dysfunction in sepsis – diagnostics and therapy

Summary: Incidence of myocardial dysfunction in studies with severe sepsis patients is up to two thirds of patients. On the other side, patients with normal echocardiography have some type of myocardial injury, which can be detected by elevated serum levels of troponins and natriuretic peptides. Strong prognostic value of these markers regarding morbidity and mortality of septic patients indicates an important role of this „occult“ myocardial injury. Therapeutical interventions should take place only in situation in that low cardiac output is not capable to ensure metabolic demands of tissues. Nowadays, because of detrimental effects of classical inotropes, new strategies are under investigation. Namely levosimendan is promising alternative, not only related to its inotropic effects. Early diagnostics, assessment of prognosis and therapeutic strategy in patients with SMD are challenging for continuing research and for clinicians of different specialities.

Key words: sepsis – myocardial dysfunction – troponin – BN – echocardiography – inotropes – levosimendan

Diagnostické a prognostické ukazatele myokardiální dysfunkce

Sepsis indukovaná dysfunkce myokardu, spojená se strukturálním poškozením kardiomyocytů, je sledovatelná v biochemických parametrech. Souhrn těchto markerů detekujících myokardiální dysfunkci a dalších, které poskytují prognostickou informaci u septických pacientů, představuje tab. 1 [1–3].

Cirkulující faktory v septickém šoku vedou k tzv. minimálnímu poškození myokardiálních buněk. Prokázán je přímý cytotoxický efekt endotoxinu, který cestou aktivace kaspázy 3 vede ke štěpení kontraktilních proteinů, předpokládá se vliv cytokinů a kyslíkových radikálů. TNF- α zvyšuje permeabilitu endotelu – podobná alterace permeability probíhá i v membráně myocytů a vede k uvolnění cTnI [4]. Stanovení

hladin cTnI a cTnT je standardem pro diagnostiku a stanovení rizika u pacientů s akutním koronárním syndromem. Zvýšené hladiny ale pozorujeme i u srdečního selhání neischemického původu, u plicní embolie, renálního selhání a u heterogenní populace kriticky nemocných [5,6]. Zvýšená koncentrace byla popsána i v plazmě pacientů v sepsi a septickém šoku v asociaci se vzestupem mortality. V studii Mehty et al byla sérová hladina cTnI elevována až u 43 % pacientů se septickým šokem [4]. Výše zmíněné studie zaměřené na kriticky nemocné poukázaly na zvýšenou mortalitu u pacientů se sérovou hladinou cTnI > 1,0 ng/ml v porovnání s pacienty, kteří měli troponin negativní, nezávisle na příčině positivity. Pacienti s elevovanými hladinami troponinu měli větší sklon k hypotenzii, vyšší spotřebu vazoaktivních látek, hodnoty

APACHE II skóre, častěji byla nutnost umělé plicní ventilace a zůstávali hospitalizováni déle na jednotkách intenzivní péče [7]. Elevace hladin cTnI též koreluje s poklesem funkce levé komory (pokles LVSWI – Left Ventricular Stroke Work Index), a to i u pacientů bez koronární léze. Ver Elst et al zjistili statisticky významnou asociaci mezi přítomností těchto specifických a senzitivních ukazatelů poškození kardiomyocytů a dysfunkcí levé komory objektivizované transezofageální echokardiografií (TEE). cTnI byl senzitivnější marker než cTnT nebo CK-MB, ale všechny tyto kardiospecifické markery korelovaly s poškozením kardiomyocytů [6]. Dále Turner et al ve své studii zjistili, že hladiny cTnI byly zvýšené u většiny pacientů se septickým šokem, měly ale tendenci k návratu do normálu u pacientů, kteří přežili [8]. Stále je věcí

Tab. 1. Souhrn studií o biochemických ukazatelích sepsi a myokardiální dysfunkce.

Studie	Diagnóza (n)	Těžká sepsi/ septický šok	Biochemické ukazatele	Přítomné korelace
Roch et al [19]	septický šok (39)	0/39	NT-proBNP	- s mortalitou (p = 0,002) - negativní korelace s LVSWI (p = 0,008)
Hartemink et al [18]	septický šok (14)	0/14	α-ANP, cGMP Endothelin	- zvýšené hodnoty u nepřežívajících (p < 0,05) - negativní korelace s LVSWI (p < 0,05) - korelace s myokardiální depresí (p < 0,05)
Charpentier et al [2]	těžká sepsi/ septický šok (34)	9/25	BNP	- zvýšené hodnoty u pacientů s kontraktální dysfunkcí (p < 0,05) - zvýšení hodnot 2. a 3. den u zemřelých (p < 0,05)
ver Elst et al [6]	septický šok (46)	0/46	cTnI, cTnT	- korelace s dysfunkcí levé komory (p < 0,001) - s APACHE II (p < 0,018) - s věkem (p < 0,001)
King et al [5]	kriticky nemocní (128)	46	cTnI	- korelace s mortalitou (p < 0,001) - s APACHE II (p < 0,001) - s multiorgánovým selháním a mortalitou (p < 0,001)
Mehta et al [4]	septický šok (37)	0/37	cTnI	- zvýšená spotřeba inotropních látek (p = 0,018) - vyšší APACHE II (p = 0,004) a mortalita (p = 0,04) - abnormální echokardiografie (p = 0,002) - negativní korelace s LVEF (p = 0,04)
Turner et al [8]	kriticky nemocní (21)	0/15	cTnI	- s mortalitou (p = 0,01) - negativní s LVSWI (p = 0,01)
Clec'h et al [1]	šok (75)	0/62	Prokalcitonin	- se septickým šokem (p < 0,01) - hladina PCT den 1. koreluje s mortalitou
Presneill et al [3]	kriticky nemocní (82)	17/29	G-CSF GM-CSF IL-6	- s APACHE II (G-CSF p < 0,002; pro IL-6 p < 0,001) - korelace s přítomností
Soriano et al [9]	těžká sepsi/septický šok (25)	25	cTnI	- negativní korelace s LVSWI (p = 0,0066)

GM-CSF – Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor, G-CSF – Granulocyte Colony-Stimulating Factor

diskuze, zda uvolnění troponinu u pacientů se sepsí odpovídá ireverzibilnímu myokardiálnímu poškození nebo reverzibilní myokardiální depresi. Zatímco u myokardiálního infarktu jsou hladiny troponinů zvýšené několik dní, u septických pacientů bylo pozorováno jen krátkodobé přechodné zvýšení. To předpokládá uvolnění troponinu bez přítomnosti myokardiální nekrózy a tomu odpovídají i nálezy z autopsií [9]. V poškození myokardu může dále hrát roli mikrovaskulární trombóza při sepsi indukované disseminované intravaskulární koagulopatii. Možnost podílu mikroinfarktů s uvolněním troponinu na rozvoji SMD nelze vyloučit.

Poselstvím výše zmíněných studií bylo upozornění na korelaci zvýšených hladin kardiálních troponinů u septických pacientů se závažností myokardiální dysfunkce a horší prognózou. cTnI je tedy možno využít jako čas-

ného markeru závažnosti a průběhu onemocnění.

Natriuretické peptidy

Natriuretické peptidy – BNP (Brain Natriuretic Peptide) a NT-proBNP (N-Terminal pro-Brain Natriuretic Peptide) – byly původně nazvány podle místa objevu – v mozku prasete, nicméně u člověka je téměř výhradně produkován v srdci, především v myokardu komor [10, 11]. Prohormon pro-BNP je syntetizován ventrikulárními myocyty jako odpověď na mechanické protažení a štěpí se na aktivní BNP a biologicky inaktivní NT-proBNP. Na rozdíl od ANP (Atrial Natriuretic Peptide), BNP a NT-proBNP nejsou intracelulárně skladovány, ale po expresi genu pro BNP se nárazově syntetizují. BNP má natriuretické a vazodilatační efekty a působí komplementárně k renin-angiotenzin-aldosteronovému sy-

stému (RAAS) [2]. Hlavním stimulem pro syntézu a uvolnění BNP je distenze komory, sérové hladiny korelují s tíží srdečního selhání. Při hodnotách BNP < 100 pg/ml v séru pacienta je diagnóza kongestivního srdečního selhání nepravděpodobná, nad hranici 500 pg/ml naopak téměř jistá. Intermediální, tzv. šedá zóna BNP – mezi 100 a 500 pg/ml – zahrnuje např. stabilní dysfunkci levé komory a některá nekardiální onemocnění [10].

Několik studií se zabývalo otázkou, zda BNP správně koreluje s levostrannými plnicími tlaky a jaká je jeho prognostická hodnota u pacientů se sepsí. Závěry byly rozporuplné. Studie Witt-hauta et al [12] zjistila negativní korelaci mezi BNP a srdečním indexem (CI – Cardiac Index), ale nebyla nalezena žádná korelace mezi BNP a tepovým objemem (SV – Stroke Volume), LVSWI (Left Ventricular Stroke Work

Index) a PAOP (Pulmonary Capillary Wedge Pressure). V další studii zaměřené na pacienty s těžkou sepsí a septickým šokem byly hladiny BNP 1.–4. den signifikantně vyšší u pacientů se zhoršenou systolickou funkcí levé komory než u těch, kde zůstala systolická funkce zachována; závěr této studie rovněž poukázal na prognostickou hodnotu BNP. Hladina BNP v séru > 190 pg/ml oddělovala přežívající pacienty se 70% senzitivitou a 67% specifivitou [2]. Nicméně další studie dospěly k opačným závěrům [13], kdy přežívající měli vyšší hladiny BNP nebo práce neprokázaly prognostický význam hladin BNP u kriticky nemocných pacientů [14,15]. BNP tedy není jasným a spolehlivým prediktorem systolické dysfunkce myokardu vyjádřené změnou LV EF u pacientů se sepsí.

V porovnání se systolickou funkcí levé komory je korelace mezi diastolickou funkcí levé komory a hladinou BNP jasná – narušená relaxace, restriktivní porucha [16]. Jelikož u pacientů se sepsí pozorujeme i narušenou diastolickou funkci levé komory, můžeme najít zvýšení BNP, ale zachovanou LV EF [17]. Navíc u septických pacientů může stoupat vaskulární plicní rezistence na podkladě souběžného plicního postižení typu ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome). I přes použití protetivní ventilace vzniká u asi 25% pacientů s ARDS akutní cor pulmonale, co je pravděpodobně asociováno s elevací hladinami BNP (ANP). V těchto případech je obtížné rozlišit jen na základě izolované hodnoty BNP, jaký je podíl sepse a jaký připadá na zvýšenou plicní vaskulární rezistenci [18,19]. V této situaci může být výhodná monitorace pacienta pomocí plicnicového katétru a echokardiografie.

Významné zvýšení hodnot u nepřežívajících pacientů se septickým šokem je pozorováno i u NT-proBNP. Hodnota > 13 600 pg/ml predikuje mortalitu u kriticky nemocných se 73% senzitivitou a 83% specifivitou, rovněž platí negativní korelace s LVSWI [19]. Výhoda měření NT-proBNP oproti BNP

spočívá v jeho delším biologickém poločasu. Může tak odrážet hemodynamické a zánětlivé stimuly za delší období a ukazuje se být vhodnějším markerem myokardiální dysfunkce, a tedy prognózy pacienta.

ANP (Atrial Natriuretic Peptide)

U pacientů se septickým šokem byly také zjištěny zvýšené hladiny ANP. Tyto hodnoty byly asociovány např. s vysokými plicními tlaky, s LVSWI a RVSWI [20]. Podobné závislosti byly zjištěny i u prohormonu pro-ANP při zkoumání souboru septických pacientů [21].

Závěrem lze říci, že BNP, NT-proBNP a ANP, jejichž zvýšená hladina má prediktivní význam již po 24 hod od rozvoje septického šoku, mohou být užitečné k detekci myokardiální dysfunkce ve včasné fázi sepse, spíše však jako komplementární laboratorní markery k základním diagnostickým metodám – hemodynamickému a echokardiografickému monitoringu.

Hemodynamický monitoring

Nezbytnou součástí intenzivní péče o septického pacienta je dosažení a udržení základních hemodynamických cílů odpovídajících současným doporučením, koncentrovaným např. v dokumentu „Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock“ [22]. V iničiální fázi jde především o udržení centrálního žilního tlaku – Central Venous Pressure (CVP) v rozmezí 8–12 mm Hg, středního arteriálního tlaku – Mean Arterial Pressure (MAP) nad 65 mm Hg. Pokud tohoto cíle není dosaženo v prvních 6 hod navzdory adekvátní tekutinové resuscitaci a je nutno podávat vazopresory, je indikována invazivní monitorace hemodynamických parametrů.

Základní metodou první volby je zavedení periferního arteriálního katétru, jež umožní nejen spolehlivé měření krevního tlaku, ale ve spojení s monitory založenými na technologii analýzy pulzové křivky otvírá široké možnosti minimálně invazivního měření užitečných paramet

trů – srdečního výdeje (CO, CI), systémové vaskulární rezistence (SVR), extravaskulární plicní vody (EVLW), global end diastolic volume (GEDV). U pacientů na umělé ventilaci je možné navíc hodnotit i dynamické parametry – variace tepového objemu a tlaku (SVV, PPV), které odrážejí adekvátnost preloadu. Výhodou je minimální invazivita, rychlá a kontinuální informace o hemodynamických parametrech, hodnoty jsou však stanoveny nepřímou, matematickým algoritmem. A v případech, kdy jsou přítomné arytmie a je přítomna spontánní dechová aktivita, nelze tyto metody použít vůbec.

Stále diskutovanou je otázka indikací a přínosu plicnicového katétru – Pulmonary Artery Catheter (PAC), který navzdory invazivitě a s vědomím některých limitů při interpretaci hodnot – pacienti na umělé ventilaci, chlopenní vady – zůstává „zlatým standardem“ hemodynamického monitorování. Základním parametrem vedle srdečního výdeje je tlak v zaklínění – PAOP (Pulmonary Artery Occlusion Pressure), jehož cílová hodnota u septických pacientů by měla být 12–15 mm Hg, nezastupitelnou hodnotu pro posouzení dodávky a spotřeby kyslíku má saturace smíšené venózní krve – $S_{v}O_2$. Nevýhodou plicnicového katétru je zvýšená invazivita, měl by být vyhrazen pro oběhově nestabilní pacienty nereagující na standardní terapii a použit jen po nezbytně nutnou dobu. V žádném ze studií zabývajících se sepsí nebyl prokázán benefit PAC řízené terapie.

Cílem invazivního monitoringu by měla být správná interpretace zjištěných hodnot – preloadu (CVP, PAOP, SVV), kontraktility (CO), afterloadu (SVR), včasná identifikace problému a především cílená intervence – inotropika, vazokonstriktory, tekutiny – směřující k optimalizaci makro- a mikrohemodynamických parametrů.

Echokardiografie

Echokardiografie má v diagnostice septické myokardiální dysfunkce nezastupitelnou roli. Nejde jen o včasné za-

chycení poruchy a její terapii, ale trend výkonnosti levé komory je významný i prognosticky – jak již bylo zmíněno, u přežívajících pacientů dochází k normalizaci během 10 dní od rozvoje septického stavu. Zajímavým fenoménem u přežívajících je výrazná dilatace komory – nárůst left ventricle end diastolic area (LVEDA) – zachováající tepový objem navzdory zhoršené ejekční frakci, naopak pacienti, kteří sepsi nepřežili, měli rozměry levé komory normální [23].

Mezi vhodné echokardiografické parametry s určitým prognostickým impaktem patří např. left ventricular stroke work index (LVSWI), left ventricular fractional area (LVFA) při použití TEE nebo early diastolic mitral annular velocity jako známka poruchy relaxace. Echokardiografické vyšetření u pacientů v sepsi přináší cenné informace použitelné v každodenním rozhodování o léčebné strategii. Základní parametry – enddiastolické rozměry levé komory, výpočet LV EF, echokardiografické známky poruchy relaxace – by tedy bylo žádoucí vyšetřovat denně, minimálně však 1., 3., 5., 7. a 10. den, v ideálním případě stejným zkušeným kardiologem – echokardiografistou.

Je nutno septickou myokardiální dysfunkci léčit?

Základním obecným předpokladem zvládnutí sepse je její včasné rozpoznání a neodkladná terapie, založená na rychlém iniciálním podání antibiotik, efektivní chirurgické eradikaci zdroje infekce, tekutinové resuscitaci a podpůrných opatřeních, jako je umělá plicní ventilace, hemodynamickým monitoringem řízená farmakologická podpora oběhu a další. V experimentálních studiích byly zkoušeny četné preparáty, cílené proti vystupňované proinflatorní odpovědi organismu (kortikosteroidy, antiendotoxinové protilátky, antagonisté TNF, antagonisté IL-1 receptoru, anti-LPS protilátky). V následných klinických studiích však nedošlo k poklesu mortality, naopak, často byla mortalita

v intervenované skupině pacientů signifikantně vyšší a lékové studie byly předčasně zastavovány. Tato fakta jen potvrzují multifaktoriální patogeneze sepse a nutnost komplexního přístupu.

Terapie

Základním terapeutickým cílem je korekce sepsí indukované hypotenze. Spočívá v optimalizaci preloadu infuzní terapií (CVP, echokardiografie, PAOP), při přetrvávající hypotenzi po korekci systémové vaskulární resistance vazokonstriktory je indikována inotropní podpora myokardu. Otázka léčby SMD per se je složitější. Pokud SMD považujeme za adaptační reakci organismu, terapeuticky zasahujeme až v případě, kdy nízký srdeční výdej není schopen uspokojit metabolické potřeby tkání a dochází k nárůstu laktátu. V situaci, kdy volumoterapie a vazopresory nezajistí přijatelné makrohemodynamické parametry, je na místě aplikace inotropika, nejčastěji dobu-taminu. Pokud selže i tato kombinace, může být dalším krokem zvažení nasazení adrenalinu. Při podávání katecholaminů je však nutno mít na paměti jejich společné nežádoucí účinky – poruchy rytmu, zvýšení spotřeby O₂ myokardem [24], nárůst rezistence k inzulinu. V tomto směru jsou zajímavé studie s inhibitory PDE (Phosphodiesterase, fosfodiesteráza), které kromě terapie srdečního selhání vykazují zajímavé účinky na inhibici TNF a endotoxinem indukovaného orgánového selhání.

Noradrenalin

Vazopresorem první volby u pacientů se septickým šokem je noradrenalin. Jeho dominantně α -agonistické účinky zvyšují periferní cévní rezistenci a střední arteriální tlak (MAP – Mean Arterial Pressure) bez velkého efektu na srdeční výdej, v kombinaci s malým inotropním β -mimetickým efektem není vzestup aťterloadu levé komory nepřiměřený. Podávání noradrenalinu v septickém šoku je tedy spojeno se vzestupem MAP i systémového průtoku krve.

Z experimentálních septických modelů však vyplývají závěry o selhání noradrenalinu při obnově mikrovaskulární perfuze a tkáňové oxygenace, zejména ve splanchnické části cirkulace [25]. Např. Krejčí et al na prasečím modelu septického šoku sledováním mikrocirkulace pomocí laser-dopplerovské flowmetrie zjistili snížený krevní průtok v jejunu a v pankreatu u zvířat, kterým byl aplikován noradrenalin [26]. V dalším septickém, tentokrát krysím endotoxemickém modelu, byla signifikantně snížena tkáňová oxygenace v mukóze ilea a zvýšená hodnota laktátu v séru [27]. Tato a další data podtrhují nežádoucí účinky noradrenalinu na regionální perfuzi, oxygenaci a metabolický distres v septickém šoku.

Vazopresin

Vazopresin (antiuretický hormon, terlipressin, ADH) je silným vazokonstriktorem a sehrává ústřední roli v odpovědi organismu na hypotenzi. Způsobuje vzestup SVR, pokles srdeční frekvence a má i antiuretický účinek. Landry et al zjistili deficit vazopresinu v septickém šoku. Následná infuze relativně malých dávek zlepšila odpověď na katecholaminy u pacientů v septickém šoku s refrakterní hypotenzí, často umožňující redukcii jejich podávání [28]. Signifikantní přínos byl prokázán při kombinaci ADH s noradrenalinem na dlouhodobém animálním modelu sepse [29]. ADH má i nežádoucí účinky, např. pokles CO a tepové frekvence. Dále k nim patří arytmie, myokardiální, mezenterická a digitální ischemie [30].

Levosimendan

V patogenezi SMD sehrává důležitou úlohu porucha metabolismu kalcia v kardiomyocytech. Fosforylace myofilament redukuje senzitivitu myofibril na kalcium, což vede k redukcii myokardiální kontraktility způsobenou změnou interakcí cTnI a cTnC [31]. Dalším mechanismem je snížení hustoty rhodaninových receptorů na sarkoplazmatickém retikulu (SR) v kar-

diomyocytu. Toto vede k následnému snížení uvolňování kalcia ze SR a ke snížení kontraktility [32]. Levosimendan je kalciový senzitivizér, který zlepšuje srdeční kontraktilitu a vede ke koronární a periferní vazodilataci [33]. Tento efekt je zprostředkován Ca-dependenční vazbou na troponin C za vzniku silnější kontrakce kardiomyocytu bez vzestupu intracelulární koncentrace kalcia a žádného nebo jen malého vzestupu konzumce kyslíku myokardem. Jeho účinek je dobře prozkoumán v terapii srdečního selhání.

Z experimentálních dat se v animálním modelu endotoxemie jako výhodná ukázala kombinace levosimendanu s noradrenalinem [34]. V jiném zvířecím modelu sepse (CLP – cecal ligation and puncture) bylo porovnáváno podání levosimendanu a noradrenalinu. Oba preparáty měly srovnatelný efekt na zlepšení CO bez signifikantního ovlivnění mikrocirkulace. Jedině levosimendan však jednoznačně zlepšil tkáňový parciální tlak O_2 a snížil hladinu laktátu v séru, což ukazuje na mechanismus nezávislý na makrohemodynamice. Diskutuje se o několika možnostech, z nichž přímý protizánětlivý efekt a snížení utilizace O_2 periferními tkáněmi patří k nejvíce pravděpodobným [35]. Dubin et al v experimentálním ovčím modelu sepse prokázal, že levosimendan (oproti dobutaminu) zachovává regionální dodávku O_2 v mezenterální cirkulaci [36].

První klinické použití levosimendanu bylo poprvé popsáno Matějovičem v roce 2005 [37]. Od té doby byly popsány další aplikace levosimendanu v léčbě refrakterního septického šoku v rámci podání u jednotlivého pacienta či malých skupin pacientů. Bylo shodně referováno zlepšení hemodynamiky, zejména zvýšení CO a VO_2 (globální dodávky kyslíku), zlepšení metabolismu a snížení spotřeby vazopresorů [38,39]. První randomizovanou klinickou studii publikoval Morelli et al. Soubor 30 pacientů byl randomizován do 2 skupin. První k podávání standardní terapie užívající jako inotropi-

kum dobutamin a druhé byl aplikován levosimendan 0,2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ bez úvodního bolusu. Skupina s levosimendanem měla jednoznačně lepší CI, LV EF, VO_2 a DO_2 a v porovnání s dobutaminem i LVÉDV, LVSWI a snížení hodnoty laktátu v séru [40]. Další klinickou randomizovanou studií bylo zhodnocení levosimendanu u pacientů se septickým šokem a ARDS se selháním pravé komory. 35 pacientů bylo randomizováno k podání 24hodinové infuze levosimendanu (0,2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ bez úvodního bolusu) nebo k placebo. Výsledky studie potvrdily zlepšení globální hemodynamiky. Došlo též ke snížení MPAP (Mean Pulmonary Artery Pressure), redukcii afterloadu pravé komory s následným zlepšením RVEF. Podstatným klinickým pozorováním bylo zvýšení DO_2 a S_vO_2 , což jen potvrdilo závěry předchozích studií, ve kterých levosimendan vykazoval pozitivní efekt na globální tkáňovou oxygenaci [41].

Nežádoucí účinky při podání levosimendanu jsou zejména způsobené jeho vazodilatačním efektem. Zahrnují hlavně systémovou hypotenzi, bolesti hlavy a nevolnost. Jsou přinejmenším částečně spojené s dávkovacími schémata levosimendanu (původně se podával bolus a vyšší dávky v kontinuální infuzi – 0,4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$). V obou klinických studiích z Morelliho skupiny, při nichž byl podáván levosimendan u pacientů se septickým šokem, nedošlo k výrazné změně MAP a tepové frekvence. Dalším důvodem, proč nežádoucí účinky nebyly tak vyjádřené, je jistě i adekvátní tekutinová resuscitace a konkomitantní podávání noradrenalinu.

Data, která máme v současné době k dispozici stran podávání levosimendanu u pacientů v septickém šoku, podporují jeho aplikaci jako bezpečnou a účinnou alternativu u pacientů s vyjádřenou SMD a nedostatečnou účinností dobutaminu. Jeho podání je však podmíněno předchozí korekcí těžké hypotenze pomocí volumoterapie a vazopresorů na hodnoty systolic-

kého tlaku 90–100 mmHg a vynecháním úvodní bolusové dávky. Nesmíme rovněž zapomenout, že z hlediska EBM (Evidence-based medicine) se stále jedná o off-label indikaci.

Experimentální možnosti terapie

S vědomím klíčové role NO v rozvoji septické kardiomyopatie se objevují první humánní lékové studie s neselektivním blokátorem inducibilní NO syntázy – tilarginin acetátem – a zatím nepřinesly očekávaný benefit, první z citovaných byla dokonce předčasně ukončena pro vysoký výskyt nežádoucích účinků (plicní hypertenze, srdeční selhání) [42,43]. Na zvířecím modelu sepse s nízkým srdečním výdejem byla zkoumána i možnost podpory oběhu intraaortální balónkovou kontrastulací, výsledkem bylo delší přežití a nižší spotřeba vazopresorů [44]. Jsou popsány i jednotlivé kazuistiky úspěšné aplikace této metody v humánní medicíně.

Závěr

Součástí generalizované inflamatorní reakce organismu na přítomnost infekčního agens je syntéza a uvolnění excesivního množství cirkulujících faktorů – TNF, IL-1 a následně oxidu dusnatého, které mají klíčovou roli v rozvoji septické dysfunkce myokardu. Do tohoto procesu však vstupuje i řada dalších mechanismů – porucha signalizace β -receptorů, změny mikrocirkulace s následnou mitochondriální dysfunkcí, degradace kontraktálního aparátu kardiomyocytů. Přítomnost a dynamika myokardiální dysfunkce je významným prognostickým ukazatelem průběhu těžké sepse a septického šoku. Reverzibilita adaptivní odpovědi, normalizace kontraktility a ejekční frakce během 7.–10. dne je příznivou známkou. Terapeutické experimenty s monoklonálními protilátkami proti jednotlivým cytokinům (např. anti-TNF), inhibitory NOS, nepřinesly zatím benefit a potvrzují multifaktoriální patogenezi sepse a myokardiální deprese. V současné době jsou

proto diskutovány nové terapeutické přístupy k pacientům se septickou myokardiální dysfunkcí. Jedná se zejména o použití levosimendanu, který představuje slibnou alternativu, a to nejen kvůli svému pozitivně inotropnímu účinku.

Práce byla podpořena grantem IGA MZČR NR9297-3.

Literatura

- Clec'h C, Ferriere F, Karoubi P et al. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32: 1166–1169.
- Charpentier J, Luyt CE, Fulla Y et al. Brain natriuretic peptide: A marker of myocardial dysfunction and prognosis during severe sepsis. *Crit Care Med* 2004; 32: 660–665.
- Presnell JJ, Waring PM, Layton JE et al. Plasma granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor levels in critical illness including sepsis and septic shock: relation to disease severity, multiple organ dysfunction, and mortality. *Crit Care Med* 2000; 28: 2344–2354.
- Mehta NJ, Khan IA, Gupta V et al. Cardiac troponin I predicts myocardial dysfunction and adverse outcome in septic shock. *Int J Cardiol* 2004; 95: 13–17.
- King DA, Codish S, Novack V et al. The role of cardiac troponin I as a prognosticator in critically ill medical patients: a prospective observational cohort study. *Crit Care* 2005; 9: R390–R395.
- ver Elst KM, Spapen HD, Nguyen DN et al. Cardiac troponins I and T are biological markers of left ventricular dysfunction in septic shock. *Clin Chem* 2000; 46: 650–657.
- Parker MM. Myocardial dysfunction in sepsis: injury or depression? *Crit Care Med* 1999; 27: 2035–2036.
- Turner A, Tsamitros M, Bellomo R. Myocardial cell injury in septic shock. *Crit Care Med* 1999; 27: 1775–1780.
- Soriano FG, Nogueira AC, Caldini EG et al. Potential role of poly (adenosine 5'-diphosphate-ribose) polymerase activation in the pathogenesis of myocardial contractile dysfunction associated with human septic shock. *Crit Care Med* 2006; 34: 1073–1079.
- Maeder M, Fehr T, Rickli H et al. Sepsis-associated myocardial dysfunction: diagnostic and prognostic impact of cardiac troponins and natriuretic peptides. *Chest* 2006; 129: 1349–1366.
- Singh S, Evans TW. Organ dysfunction during sepsis. *Intensive Care Med* 2006; 32: 349–360.
- Witthaut R, Busch C, Fraunberger P et al. Plasma atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide are increased in septic shock: impact of interleukin-6 and sepsis-associated left ventricular dysfunction. *Intensive Care Med* 2003; 29: 1696–1702.
- Cuthbertson BH, Patel RR, Croal BL et al. B-type natriuretic peptide and the prediction of outcome in patients admitted to intensive care. *Anaesthesia* 2005; 60: 16–21.
- Forfia PR, Watkins SP, Rame JE et al. Relationship between B-type natriuretic peptides and pulmonary capillary wedge pressure in the intensive care unit. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1667–1671.
- Jelic D, Lee JW, Savoy-Moore RT et al. Utility of B-type natriuretic peptide and N-terminal pro B-type natriuretic peptide in evaluation of respiratory failure in critically ill patients. *Chest* 2005; 128: 288–295.
- Lubien E, DeMaria A, Krishnaswamy P et al. Utility of B-natriuretic peptide in detecting diastolic dysfunction: comparison with Doppler velocity recordings. *Circulation* 2002; 105: 595–601.
- Poelaert J, Declerck C, Vogelaers D et al. Left ventricular systolic and diastolic function in septic shock. *Intensive Care Med* 1997; 23: 553–560.
- Hartemink KJ, Groeneveld AB, de Groot MC et al. Alpha-atrial natriuretic peptide, cyclic guanosine monophosphate, and endothelin in plasma as markers of myocardial depression in human septic shock. *Crit Care Med* 2001; 29: 80–87.
- Roch A, Allardet-Servent J, Michelet P et al. NH2 terminal pro-brain natriuretic peptide plasma level as an early marker of prognosis and cardiac dysfunction in septic shock patients. *Crit Care Med* 2005; 33: 1001–1007.
- Mitaka C, Hirata Y, Makita K et al. Endothelin-1 and atrial natriuretic peptide in septic shock. *Am Heart J* 1993; 126: 466–468.
- Morgenthaler NG, Struck J, Christ-Crain M et al. Pro-atrial natriuretic peptide is a prognostic marker in sepsis, similar to the APACHE II score: an observational study. *Crit Care* 2005; 9: R37–R45.
- Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Intensive Care Med* 2008; 34: 17–60.
- Parker MM, Shelhamer JH, Bacharach SL et al. Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med* 1984; 100: 483–490.
- Singer M. Catecholamine treatment for shock - equally good or bad? *Lancet* 2007; 370: 636–637.
- Duranteau J, Sitbon P, Teboul JL et al. Effects of epinephrine, norepinephrine, or the combination of norepinephrine and dobutamine on gastric mucosa in septic shock. *Crit Care Med* 1999; 27: 893–900.
- Krejci V, Hildebrand LB, Sigurdsson GH. Effects of epinephrine, norepinephrine, and phenylephrine on microcirculatory blood flow in the gastrointestinal tract in sepsis. *Crit Care Med* 2006; 34: 1456–1463.
- Pullamsetti SS, Maring D, Ghofrani HA et al. Effect of nitric oxide synthase (NOS) inhibition on macro- and microcirculation in a model of rat endotoxemic shock. *Thromb Haemost* 2006; 95: 720–727.
- Landry DW, Levin HR, Gallant EM et al. Vasopressin deficiency contributes to the vasodilation of septic shock. *Circulation* 1997; 95: 1122–1125.
- Barrett LK, Orié NN, Taylor V et al. Differential effects of vasopressin and norepinephrine on vascular reactivity in a long-term rodent model of sepsis. *Crit Care Med* 2007; 35: 2337–2343.
- Russell JA. Vasopressin in vasodilatory and septic shock. *Curr Opin Crit Care* 2007; 13: 383–391.
- Takeuchi K, del Nido PJ, Ibrahim AE et al. Increased myocardial calcium cycling and reduced myofilament calcium sensitivity in early endotoxemia. *Surgery* 1999; 126: 231–238.
- Dong LW, Wu LL, Ji Y et al. Impairment of the ryanodine-sensitive calcium release channels in the cardiac sarcoplasmic reticulum and its underlying mechanism during the hypodynamic phase of sepsis. *Shock* 2001; 16: 33–39.
- Cariello C, Guarracino F, Giannecchini L et al. Hemodynamic and cardiac peptide in septic myocardial depression: the effects of calcium sensitizer. *Critical Care* 2007; 11 (Suppl 2): P39.
- Faivre V, Kaskos H, Callebort J et al. Cardiac and renal effects of levosimendan, arginine vasopressin, and norepinephrine in lipopolysaccharide-treated rabbits. *Anesthesiology* 2005; 103: 514–521.
- Kevelaitis E, Peynet J, Mouas C et al. Opening of potassium channels: the common cardioprotective link between preconditioning and natural hibernation? *Circulation* 1999; 99: 3079–3085.
- Dubin A, Murias G, Sottile JP et al. Effects of levosimendan and dobutamine in experimental acute endotoxemia: a preliminary controlled study. *Intensive Care Med* 2007; 33: 485–494.
- Matejovic M, Krouzecky A, Radej J et al. Successful reversal of resistant hypodyna-

mic septic shock with levosimendan. Acta Anaesthesiol Scand 2005; 49: 127–128.

38. Noto A, Giacomini M, Palandi A et al. Levosimendan in septic cardiac failure. Intensive Care Med 2005; 31: 164–165.

39. Powell BP, De Keulenaer BL. Levosimendan in septic shock: a case series. Br J Anaesth 2007; 99: 447–448.

40. Morelli A, De Castro S, Teboul JL et al. Effects of levosimendan on systemic and regional hemodynamics in septic myocardial depression. Intensive Care Med 2005; 31: 638–644.

41. Morelli A, Teboul JL, Maggiore SM et al. Effects of levosimendan on right ventri-

cular afterload in patients with acute respiratory distress syndrome: a pilot study. Crit Care Med 2006; 34: 2287–2293.

42. Bakker J, Grover R, McLuckie A et al. Administration of the nitric oxide synthase inhibitor NG-methyl-L-arginine hydrochloride (546C88) by intravenous infusion for up to 72 hours can promote the resolution of shock in patients with severe sepsis: Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study (study no. 144-002)*. Crit Care Med 2004; 32: 1–12.

43. Lopez A, Lorente JA, Steingrub J et al. Multiple-center, randomized, placebo-controlled, double-blind study of the nitric

oxide synthase inhibitor 546C88: effect on survival in patients with septic shock. Crit Care Med 2004; 32: 21–30.

44. Solomon SB, Minneci PC, Deans KJ et al. Effects of intra-aortic balloon counterpulsation in a model of septic shock. Crit Care Med 2009; 37: 7–18.

MUDr. Jan Maláška, Ph.D.

www.fnbrno.cz

e-mail: jmalaska@fnbrno.cz, jan@malaska.cz

Doručeno do redakce: 21. 10. 2009

Přijato po recenzi: 25. 1. 2010

Pozvánka na 12. interdisciplinární diabetologické sympozium

Diabetes a gastroenterologie

Zaměření: postgraduální (1 certifikát)

Konání: 4.–5. června 2009, Nové Adalbertinum Hradec Králové

Odborný pořadatel: doc. MUDr. Alena Šmahelová, Ph.D.

Kontaktní adresa: Marta Vtípilová, Diabetologické centrum, Interní pavilon Fakultní nemocnice Sokolská 408, 500 05 Hradec Králové

Tel.: 495 832 363, fax: 495 833 023, GSM: 721 569 556, e-mail: marta.vtipilova@seznam.cz

www.diahk.cz

b. Dynamika hladiny interleukinu 6 u pacientů v septickém a kardiogenním šoku a u pacientů s akutním infarktem myokardu s elevacemi ST, Vnitřní Lékařství, 2014

Akutní infarkt myokardu (AIM) s dysfunkcí levé komory (LK) je nejčastější příčinou kardiogenního šoku. [167] Jeho mortalita je vysoká a i přes pokrok v oblasti revaskularizační terapie a v závislosti na regionálních podmínkách může dosahovat až 51%. [5] U části pacientů, v registru SHOCK až 1/3, není typický obraz nízkého CO a vysoké SVR (tzv. cold and wet), ale naopak dochází k vazodilataci, tedy ke snížení SVR (tzv. wet and warm). V tomto případě dochází k aktivaci systémové inflamace a je s tímto klinickým fenotypem spojená vyšší mortalita a riziko infekce. V této souvislosti byly testovány inflamatorní markery jako je např. interleukin 6 (IL6) a C-reaktivní protein (CRP) a byl zjištěn vzestup u pacientů s AIM. [183, 184] Navíc hladiny IL6 byly asociovány v některých souborech pacientů s nepříznivou prognózou a rozvojem SIRS. [163, 185] Pozorování ostatních výzkumných skupin nás vedlo k vytvoření protokolu studie, která měla za cíl porovnat rozvoj SIRS na třech skupinách pacientů:

- a. Pacienti s AIM s rozvojem KŠ
- b. Kontrolní skupina pacientů s AIM bez rozvoje KŠ
- c. Kontrolní skupina pacientů se SŠ

Studie a její protokol byla schválen Multicentrickou etickou komisí (MEK) FN Brno a od pacientů byl získán informovaný souhlas (IS), pokud nebylo možné získat, tak od nejbližšího příbuzného. Následně byli do studie zařazeni pacienti, kteří splnili kritéria pro akutní infarkt myokardu s elevacemi ST (STEMI) bez projevů KŠ, pacienti se STEMI s projevem KŠ a pacienti splňující kritéria pro SŠ. Vylučovacím kritériem byl nesouhlas s účastí ve studii, hematologická či jiná malignita, známé systémové autoimunitní onemocnění, trauma nebo popáleniny vedoucí k rozvoji septického šoku, a těhotenství. Do studie bylo ve sledovaném období leden 2008 do června 2010 zařazeno celkem 71 pacientů - 30 pacientů v kardiogenním

šoku, 21 pacientů v septickém šoku a 20 pacientů s nekomplikovaným průběhem STEMI. Medián maximální hodnoty C-reaktivního proteinu byl nejvyšší u pacientů v SŠ (310 mg/l), u pacientů v KŠ byl výrazně vyšší ve srovnání s kontrolní skupinou pacientů se STEMI (166 vs 23 mg/l). Hodnoty IL6 byly ve skupině pacientů v SŠ v průběhu prvních 4 dní významně vyšší v porovnání s pacienty v KŠ. Pacienti v SŠ měli nejvyšší hodnoty při přijetí s poklesem v prvních 24 hodinách a následným vzestupem 3. den. Pacienti v KŠ dosáhli maximálních hodnot za 12 hodin od přijetí (tedy asi 16 hodin od vzniku infarktu myokardu), a pak postupně docházelo k poklesu hodnot na úroveň srovnatelnou s hodnotami IL6 v kontrolní skupině pacientů. Podle výsledků provedené analýzy křivek pomocí tzv. ROC analýzy (Receiver Operating Characteristic) jsou hodnoty $IL6 > 1\,237$ pg/ml při přijetí, resp. hodnoty $IL6 > 1\,071$ pg/ml za 24 hodin od přijetí typické spíše pro pacienty v SŠ v porovnání s pacienty v KŠ. Vysoké hodnoty $IL6 > 1\,854$ pg/ml u pacientů v KŠ jsou spojeny s nepříznivou prognózou, ale k časnému úmrtí došlo i u pacientů s hodnotami IL6 kolem 400 pg/ml. Přestože byly vysoké hodnoty $IL6 > 1\,854$ pg/ml i v naší práci spojeny se zvýšenou mortalitou, vzhledem k menšímu počtu pacientů a vysokému rozptylu hodnot nebyl výsledek analýzy ROC statisticky významný. V porovnání s ostatními pracemi jsme neprokázali na našem souboru pacientů statisticky signifikantní prediktivní schopnost IL6 stran diskriminace mortality u pacientů se STEMI komplikovaným KŠ. Významem naší práce je potvrzení, že zánětlivá reakce není typickým rysem pouze pacientů v septickém šoku, ale hraje významnou roli i v průběhu akutního infarktu myokardu komplikovaného KŠ. Rozvoj zánětlivé reakce je heterogenní jak mezi sledovanými skupinami, tak mezi jednotlivými pacienty v kardiogenním a septickém šoku. Výsledky studie potvrdily podobné práce zkoumající na obdobně početném souboru pacientů vztah IL-6 k rozvoji SIRS. Práce byla citována v systematickém přehledu ze skupiny Cochrane Library v roce 2019. [139]

Dynamika hladiny interleukinu 6 u pacientů v septickém a kardiogenním šoku a u pacientů s akutním infarktem myokardu s elevacemi ST

Jiří Pařenica^{1,3}, Jan Maláska⁴, Jiří Jarkovský⁵, Kateřina Helánová³, Petr Jabandžiev², Jaroslav Michálek², Zuzana Veselková², Simona Littnerová⁵, Lenka Kubková^{1,3}, Roman Gál⁴, Pavel Ševčík⁶, Monika Pávková Goldbergová⁷, Jiří Litzman⁸, Zdena Čermáková^{9,10}, Jindřich Špinar^{1,3}

¹ Interní kardiologická klinika LF MU a FN Brno, pracoviště Bohunice, přednosta prof. MUDr. Jindřich Špinar, CSc., FESC

² Lékařská fakulta MU, Brno, děkan prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc.

³ Mezinárodní centrum klinického výzkumu FN u sv. Anny, Brno, ředitel Gorazd B. Stokin, M.D., MSc., Ph.D.

⁴ Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny LF MU a FN Brno, pracoviště Bohunice, přednosta prof. MUDr. Roman Gál, Ph.D.

⁵ Institut biostatistiky a analýz LF MU, Brno, ředitel doc. RNDr. Ladislav Dušek, Ph.D.

⁶ Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny FN Ostrava, přednosta prof. MUDr. Pavel Ševčík, CSc.

⁷ Ústav patologické fyziologie LF MU, Brno, přednosta prof. MUDr. Anna Vašků, CSc.

⁸ Ústav klinické imunologie a alergologie LF MU a FN u sv. Anny, Brno, přednosta prof. MUDr. Jiří Litzman, CSc.

⁹ Oddělení klinické biochemie FN Brno, pracoviště Bohunice, přednosta doc. MUDr. Milan Dastych, CSc., MBA

¹⁰ Katedra laboratorních metod LF MU, Brno, přednosta doc. MUDr. Milan Dastych, CSc., MBA

Souhrn

Úvod: Kardiogenní šok (KŠ) je hlavní příčinou úmrtí pacientů hospitalizovaných pro akutní infarkt myokardu. V rámci akutního infarktu myokardu a kardiogenního šoku byl pozorován rozvoj zánětlivé odpovědi. Cílem naší práce bylo popsat dynamiku interleukinu 6 (IL6) u pacientů v kardiogenním šoku a porovnat ji s dynamikou interleukinu 6 u pacientů v septickém šoku (SŠ) a kontrolní skupinou pacientů s nekomplikovaným akutním infarktem myokardu s elevacemi ST (STEMI) a vyhodnotit jeho diagnostické a prognostické možnosti. **Metodika a pacienti:** V prospektivní observační studii bylo zařazeno celkem 71 pacientů, kteří splnili zařazovací kritéria: 30 pacientů v kardiogenním šoku, 21 pacientů v septickém šoku a 20 pacientů se STEMI. Hladiny IL6 byly stanoveny celkem 8krát po dobu 3 měsíců. Hlavním sledovaným parametrem byla 3měsíční mortalita. **Výsledky:** Nejvyšší hodnoty IL6 byly detekovány v průběhu 1. týdne u pacientů v septickém šoku s maximální hodnotou při přijetí. U pacientů v KŠ dosáhly hladiny IL6 maxima za 12–24 hodin od vzniku infarktu. Podle ROC analýzy byly zvýšené hodnoty IL6 > 357 pg/ml při přijetí (AUC 0,730; p = 0,031) typické pro KŠ v porovnání s kontrolní skupinou pacientů se STEMI. Hodnoty IL6 > 1 237 pg/ml při přijetí, resp. hodnoty IL6 > 1 071 pg/ml po 24 hodinách byly dle ROC analýzy charakteristické pro pacienty v SŠ v porovnání s pacienty v KŠ. Zjistili jsme pouze statisticky nesignifikantní trend pro IL6 v predikci mortality u pacientů v kardiogenním šoku pro hodnoty $\geq 1 854$ pg/ml (AUC 0,769, p = 0,066) stanovené 12 hodin od přijetí. Nezjistili jsme žádný význam IL6 v predikci 3měsíční mortality u pacientů v septickém šoku. **Závěr:** Pacienti v kardiogenním šoku produkují vyšší hladinu prozánětlivého IL6 ve srovnání s pacienty se STEMI. Maximálních hodnot IL6 dosahují pacienti v septickém šoku při přijetí na anesteziologické oddělení, pacienti v kardiogenním šoku za 12–24 hodin od přijetí. Vzhledem k výrazné interindividuální variabilitě hladiny IL6 jak u pacientů v kardiogenním, tak i septickém šoku se rutinní použití IL6 v klinické praxi nejeví jako přínosné pro predikci prognózy pacientů v kardiogenním či septickém šoku.

Klíčová slova: infarkt myokardu – interleukin 6 – kardiogenní šok – prognóza – septický šok

Dynamics of interleukin 6 levels in the patients with cardiogenic and septic shock and in a control group of patients with uncomplicated AMI

Summary

Introduction: Cardiogenic shock (CS) is the leading cause of mortality in patients with acute myocardial infarction (AMI). Inflammatory response seems to be common response in patients with AMI, especially those with CS. We have therefore conducted a study to determine diagnostic and prognostic utility of interleukin 6 (IL6) levels in the

cohort of patients with cardiogenic and septic shock (SS) and in a control group of patients with uncomplicated AMI. **Methods:** In this prospective study 71 patients fulfilled the inclusion criteria: 30 patients with cardiogenic shock, 21 patients with septic shock and 20 patients with ST elevation myocardial infarction (STEMI). Plasma levels of IL6 were measured at 8 time points. The main endpoint was 3 month mortality. **Results:** We have shown that the highest IL6 levels during the first week were recorded in patients with septic shock with peak value at admission. The maximum level of IL6 was detected between 12 to 24 hours after the onset of MI among patients with cardiogenic shock. According to Receiver operating characteristic (ROC) statistics levels of IL6 > 357 pg/ml at admission (AUC 0.730, $p = 0.031$) were typical for patients with CS in comparison with control group of STEMI patients. Values of IL6 > 1 237 pg/ml at admission and > 1 071 pg/ml at 24 hours (after admission?) were typical for those in septic shock in comparison with CS patients. We found only a non-significant trend of IL6 for the prediction of mortality in the cohort of CS patients for levels $\geq 1 854$ pg/ml (AUC 0.769, $p = 0.066$) sampled 12 hours after admission. There was no association of plasma levels of IL6 with mortality in septic shock patients. **Conclusions:** Patients with cardiogenic shock demonstrated more pronounced cytokine response as evidenced by increased levels of IL6 compared to patients with uncomplicated STEMI. Levels of IL6 peaked in SS patients at admission, in CS patients 12–24 hours after admission. In daily clinical practice routine measurement of IL6 levels for prediction of prognosis both in cardiogenic and septic shock are of little value mainly due to significant interindividual variability of IL6 values.

Keywords: cardiogenic shock – interleukin 6 – myocardial infarction – predictor – prognostic – septic shock

Úvod

Pacienti s akutním infarktem myokardu (AIM) komplikovaným kardiogenním šokem (KŠ) mají špatnou prognózu s vysokou hospitalizační mortalitou 50–60 % navzdory moderní intenzivní péči [1,2] a revaskularizační léčbě [3]. U části pacientů v KŠ se nesetkáme s typickým obrazem daným kombinací těžké systolické dysfunkce levé komory doprovázeným výrazným zvýšením periferní vaskulární rezistence (systemic vascular resistance – SVR) vedoucím k obrazu studené periferie a mramorované kůže. Výsledky rozsáhlé prospektivní studie SHOCK trial provedené u pacientů s AIM komplikovaným KŠ ukázaly, že minimálně 20 % pacientů má projevy systémové zánětlivé reakce (systemic inflammatory response syndrome – SIRS) provázené normální nebo sníženou periferní vaskulární rezistencí, přičemž u 1/3 z těchto pacientů byla vyloučena přítomnost infekce [4]. Řada prací jednoznačně prokázala, že v průběhu AIM dochází ke zvýšení zánětlivých markerů, jako je C-reaktivní protein (CRP) [5,6] nebo interleukin 6 (IL6) [7]. Zvýšená plazmatická hladina IL6 byla ve skupině pacientů s AIM komplikovaným KŠ signifikantním prediktorem 30denní mortality, a to u pacientů s úspěšnou revaskularizací i bez ní [8]. V další práci Geppert et al srovnávali hodnoty IL6 mezi pacienty v kardiogenním a septickém šoku. Pacienti v SŠ měli vyšší hodnoty IL6 ve srovnání s pacienty v KŠ. Hodnota IL6 ve skupině pacientů v KŠ významně závisela na celkové tíži stavu daném rozvojem multiorganového selhání (multiple organ failure – MOF). Hodnoty IL6 ve skupině pacientů v KŠ s MOF byli signifikantně vyšší ve srovnání s hladinami IL6 u pacientů v KŠ bez MOF a srovnatelné s hladinami IL6 u pacientů v SŠ [9]. Ve skupině pacientů v septickém šoku spíše než maximální hladiny IL6 byly s nepříznivou prognózou spojeny přetrvávající vysoké hladiny IL6 [10]. Při interpretaci těchto výsledků je nutné si uvědomit, že hladiny IL6 u pacientů v SŠ výrazně kolísají [11–13] a tvorba cytokinů

jako odezva organismu na sepsi je významně ovlivněna etiologickým agens septického stavu a původem infekce [14]. Cílem naší práce je popsat rozvoj zánětlivé reakce pomocí IL6 u pacientů s AIM komplikovaným kardiogenním šokem a porovnat ho jednak s kontrolní skupinou pacientů s nekomplikovaným akutním infarktem myokardu s elevací ST a zároveň ho porovnat se skupinou pacientů v SŠ, u kterých předpokládáme vysoce vypuštěnou zánětlivou reakci.

Pacienti a metodika

Protokol studie byl schválen Etickou komisí FN Brno a je v souladu s etickými principy Helsinské deklarace. Účastníci studie podepsali informovaný souhlas s účastí ve sledování při vstupu do studie nebo po nabytí plného vědomí, a v případě, že pacient vědomí nenabyl, byl souhlas získán od nejbližšího příbuzného.

Populace

Soubor představuje pacienty v kardiogenním šoku, septickém šoku a pacienty s akutním infarktem myokardu s elevací ST (STEMI) bez KŠ zařazené v období od ledna roku 2008 do června roku 2010. Pacienti v septickém šoku přijatí na pracoviště anesteziologické a resuscitační medicíny byli zařazení do studie co nejdříve od okamžiku, kdy splnili kritéria pro septický šok, pacienti v KŠ a pacienti se STEMI byli zařazení do studie při přijetí na koronární jednotku. Kritéria pro septický šok odpovídají kritériím International Sepsis Definitions Conference, ACCP/SCCM, konkrétně kritériím sepse s trvalou hypotenzí (systolický krevní tlak ≤ 90 mm Hg) přes adekvátní nálož tekutin (> 30 ml/kg) [15]. SIRS byla definována podle publikovaných kritérií [16]. Sepsis indukovaná jakéhokoliv orgánu nesmělo při vstupu do studie trvat déle než 24 hodin.

Kardiogenní šok byl definován jako setrvalá hypotenze trvající minimálně 30 min se systolickým tlakem

≤ 90 mm Hg přes adekvátní plnění levé komory (tlak v zaklínění v plicnici – PCWP nebo enddiastolický tlak levé komory – LVEDP musel být > 15 mm Hg) nebo pacient se srdečním selháním vyžadoval podání vazopresorů (dopamin ≥ 7 µg/kg/min nebo noradrenalin ≥ 0,15 µg/kg/min) po dobu minimálně 30 min k udržení systolického krevního tlaku > 90 mm Hg a zabránění orgánové hypoperfuzi (oligurii < 20 ml/hod, encefalopatii) a periferní hypoperfuzi (studené končetiny, periferní cyanóza a mramorovaná kůže, laktátová acidóza) [17].

Diagnóza STEMI byla založena na symptomech odpovídajících myokardiální ischemii s odpovídajícími EKG známkami akutní ischemie (elevace úseku ST nebo nový blok levého Tawarova raménka) a elevací markerů myokardiální nekrózy (troponin T) [18].

Vylučovacími kritérii byl nesouhlas s účastí ve studii, hematologická či jiná malignita, známé systémové autoimunitní onemocnění, trauma nebo popáleniny vedoucí k rozvoji septického šoku, a těhotenství.

Odběr krevních vzorků

Krevní vzorky byly odebrány ihned při zařazení pacientů do studie (vzorek č. 1), po 12 hodinách (vzorek č. 2), po 24 hodinách (vzorek č. 3) a dále v následujících dnech vždy v 6 hodin ráno: 3. den (přibližně 36–48 hodin od přijetí – vzorek č. 4), 4. den (vzorek č. 5), 5. den (vzorek č. 6), 7. den nebo při propuštění (vzorek č. 7) a po 3 měsících (vzorek č. 8). Vzorky byly ihned centrifugovány v chlazené centrifuze a vzorky séra a plazmy byly uchovávány až do zpracování při -80 °C. Centrifuga i hlubokomrazicí boxy byly umístěny přímo na koronární jednotce, kde probíhalo zpracování vzorků. Rutinní biochemické a hematologické vyšetření bylo prováděno při přijetí. Hodnota hs-troponinu T byla u pacientů s akutním infarktem myokardu stanovena vždy 24 hodin od vzniku symptomů. U všech pacientů v septickém šoku bylo při přijetí stanoveno APACHE II skóre (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) [19]. Tříměsíční sledování bylo prováděno v rámci ambulantní kontroly.

Laboratorní metody

Ve vzorcích plazmy získaných zpracováním periferní krve pacientů byly měřeny hladiny IL6 pomocí kitu Th1/Th2 11-plex (Bender Medsystems GmbH, Vídeň, Rakousko) metodikou založenou na detekci analytu pomocí kuliček potažených monoklonální protilátkou. Vzorky byly ředěny 10krát puřem a analyzovány podle pokynů výrobce na 96jamkové destičce včetně 2 stripů pro 8 hodnot standardní křivky a blanku. Koncentrace analytů přímo úměrná intenzitě fluorescence byla měřena pomocí průtokové cytometrie na systému FACSArray (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) a byla vyjádřena v pg/ml. Data získaná z BD FACSArray software verze 1.0.4 (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) byla analyzována pomocí softwaru FlowCytomix™ Pro 2.4 (BD Biosciences, San Jose, CA, USA).

Troponin T byl stanoven pomocí elektrochemiluminiscence na analyzátoru Cobas® 8000 (Roche Diagnostics), rozsah měření 0,005–10 pg/ml, detekční limit 0,005 pg/ml. C-reaktivní protein (CRP) byl stanoven imunoturbidimetricky na analyzátoru Cobas® 8000 (Roche Diagnostics), rozsah měření 1,0–350 mg/l, detekční limit 0,3 mg/l.

Statistická analýza

Koncentrace markerů byly popsány mediánem a 5.–95. percentilovým rozsahem. Analýza rozptylu byla využita pro srovnání hodnot markerů mezi skupinami pacientů; analýza byla z důvodu porušení předpokladu normality dat provedena na logaritmičtě transformovaných hodnotách. ROC (receiver operating characteristic) analýza byla využita pro definici cut-off markerů odlišující pacienty se septickým a kardiogenním šokem a cut-off pro mortalitu pacientů; definované cut-off byly popsány pomocí senzitivity a specifity.

Výsledky

Charakteristika populace

Do analýzy bylo zařazeno celkem 30 pacientů v kardiogenním šoku, 21 pacientů v septickém šoku a 20 pacientů s nekomplikovaným průběhem STEMI. Základní charakteristika pacientů je uvedena v tab. 1. Všechny 3 skupiny pacientů byly srovnatelné v základních demografických parametrech (věk, BMI a pohlaví). Pacienti v septickém šoku měli vstupně nejvyšší tepovou frekvenci, intraortální balónková kontrapulzace byla zavedena u 40 % pacientů v KŠ a kontinuální podpora funkce ledvin vyžadovalo 13 % pacientů v KŠ a 57 % pacientů v SŠ. Umělou plicní ventilaci vyžadovalo 93 % pacientů v KŠ, všichni pacienti v SŠ a přechodně 1 pacient v kontrolní skupině po resuscitaci pro fibrilaci komor v úvodu akutního STEMI. Medián maximální hodnoty C-reaktivního proteinu byl nejvyšší u pacientů v SŠ (310 mg/l), u pacientů v KŠ byl výrazně vyšší ve srovnání s kontrolní skupinou pacientů se STEMI (166 vs 23 mg/l).

Dynamika hodnot interleukinu 6 ve sledovaných skupinách

Jak dokládají hodnoty plazmatických hladin IL6 (tab. 2 a graf 1), existuje především u pacientů v septickém šoku výrazný interindividuální rozptyl hodnot, hodnoty 5.–95. percentilu IL6 při přijetí se pohybují v rozmezí 386–189 316 pg/ml. Pacienti v septickém a kardiogenním šoku mají při přijetí v porovnání s kontrolní skupinou pacientů se STEMI statisticky významně vyšší hodnoty IL6. Hodnoty IL6 byly ve skupině pacientů v SŠ v průběhu prvních 4 dní významně vyšší v porovnání s pacienty v KŠ. Pacienti v SŠ měli nejvyšší hodnoty při přijetí s poklesem v prvních 24 hodinách a následným vzestupem 3. den (graf 1, s. 118). Pacienti v KŠ dosáhli maximálních hodnot za 12 hodin od přijetí (tedy asi 16 hodin od vzniku infarktu myokardu), a pak postupně docházelo k poklesu hodnot na úroveň srovnatelnou s hodnotami IL6 v kontrolní skupině pacientů

Tab. 1. Základní charakteristika souboru pacientů v kardiogenním šoku, septickém šoku a kontrolní skupiny se STEMI

parametr	kardiogenní šok (N = 30)	septický šok (N = 21)	STEMI (N = 20)	p
výška (cm)	170 (160; 185)	176 (158; 185)	172 (157; 186)	0,280
váha (kg)	80 (62; 110)	85 (75; 115)	90 (78; 120)	0,014*
BMI	26 (21; 34)	29 (23; 36)	28 (25; 37)	0,067
věk (roky)	60 (50; 83)	65 (33; 75)	54 (39; 77)	0,685
muži	N = 21 (70 %)	N = 15 (71 %)	N = 8 (80 %)	0,818
systolický TK při přijetí (mm Hg)	90 (50; 135)	100 (70; 120)	120 (100; 210)	0,009*
diastolický TK při přijetí (mm Hg)	60 (30; 90)	50 (40; 70)	75 (60; 110)	< 0,001*
tepová frekvence (min ⁻¹)	87 (45; 122)	111 (68; 149)	71 (67; 120)	0,002*
invazivní ventilace	N = 28 (93 %)	N = 21 (100 %)	N = 1 (10 %)	< 0,001*
IABP	N = 12 (40 %)	N = 0 (0 %)	N = 0 (0 %)	< 0,001*
CRRT	N = 4 (13 %)	N = 12 (57 %)	N = 0 (0 %)	< 0,001*
Apache II skóre	-	30 (22; 37)	-	-
kreatinin při přijetí (μmol/l)	113 (65; 239)	153 (52; 391)	91 (55; 113)	0,004*
CRP maximální (mg/l)	166 (1; 321)	310 (140; 386)	23 (5; 287)	< 0,001*
kreatinin při přijetí (μmol/l)	113 (65; 239)	153 (52; 391)	91 (55; 113)	0,004*
CRP maximální (mg/l)	166 (1; 321)	310 (140; 386)	23 (5; 287)	< 0,001*

Hodnoty kontinuálních proměnných jsou uvedeny jako medián (5.–95. percentil), p (Kruskal-Wallis test nebo ML χ^2) TK – krevní tlak

APACHE II – Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II BMI – Body Mass Index CRRT – kontinuální podpora renálních funkcí IABP – intraaortální balónková kontrapulzace

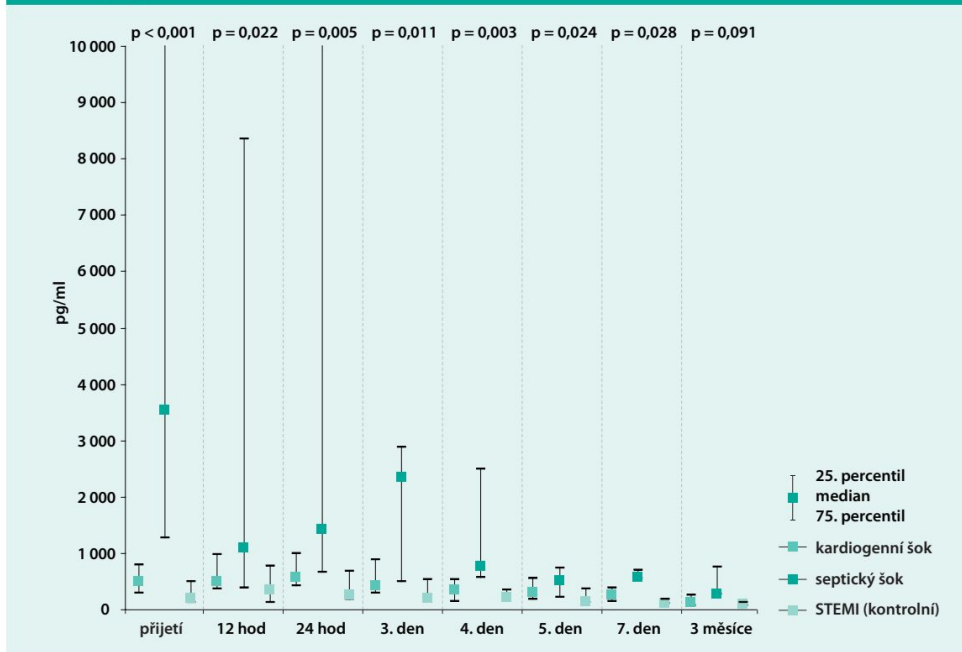
Tab. 2. Hodnoty plazmatických hladin IL6 během prvních 24 hodin od přijetí v jednotlivých sledovaných skupinách

čas stanovení	skupina	medián (5.–95. percentil) (pg/ml)	p (KŠ vs SŠ)	p (KŠ vs STEMI)	p (SŠ vs STEMI)
IL6 (přijetí)	KŠ	497 (154; 15 633)	< 0,001*	0,031*	< 0,001*
	SŠ	3 551 (386; 189 316)			
	STEMI	204 (92; 840)			
IL6 (12 hod od přijetí)	KŠ	497 (162; 3 811)	0,063	0,151	0,012*
	SŠ	1 089 (189; 196 654)			
	STEMI	349 (20; 978)			
IL6 (24 hod od přijetí)	KŠ	569 (123; 3 849)	0,020*	0,121	0,002*
	SŠ	1 415 (344; 59 565)			
	STEMI	256 (100; 697)			

*signifikantní rozdíl, p (Kruskal-Wallis test)

se STEMI. U většiny pacientů v KŠ byl zaznamenán přechodný mírný vzestup hodnot IL6 (3.–5. den od přijetí), který však není v [grafu 1](#) (s. 118) jednoznačně patrný vzhledem ke značnému rozptylu hodnot mezi jednotlivými pacienty. Toto přechodné zvýšení hodnot IL6 u pacientů v KŠ nelze vysvětlit jednoznačně

přítomností klinických známek systémové zánětlivé reakce (SIRS), která byla diagnostikována u 66 % pacientů v KŠ ([graf 2](#), s. 120), ani rozvojem infekce, která byla diagnostikována u 33 % pacientů v KŠ (většinou se jednalo o pneumonie u pacientů na ventilátorech a o infekce močových cest, [graf 3](#), s. 121).

Graf 1. Srovnání hodnot interleukinu 6 v čase u pacientů v septickém šoku, kardiogenním šoku a u kontrolní skupiny pacientů se STEMI

Pro srovnání hodnot IL6 mezi skupinami byla použita analýza rozptylu (ANOVA).

Rozdíly mezi hodnotami interleukinu 6 ve sledovaných skupinách

Byla provedena analýza ROC ke stanovení cut-off hodnot, které by dovolily rozlišení hodnot IL6 typických pro KŠ, SŠ a nekomplikovaný AIM. Hodnoty IL6 > 357 pg/ml při přijetí byly typické pro pacienty v kardiogenním šoku v porovnání s pacienty s nekomplikovaným STEMI (tab. 3a). Hodnoty IL6 > 1 237 pg/ml při přijetí, resp. hodnoty IL6 > 1 071 pg/ml po 24 hodinách byly charakteristické pro pacienty v SŠ v porovnání s pacienty v KŠ.

Interleukin 6 jako prediktor mortality

Mortalita byla během 3měsíčního sledování ve skupině pacientů v KŠ 42,8 %, ve skupině pacientů v SŠ 31,8 %. Přestože byl medián hodnot IL6 v prvních 24 hodinách ve skupině zemřelých pacientů v KŠ i SŠ vyšší v porovnání s pacienty přežívajícími (tab. 4), rozdíl nebyl statisticky významný a podle provedené analýzy ROC byl pouze u pacientů v KŠ po 12 hodinách při hodnotě IL6 > 1 854 pg/ml trend k predikci nepříznivé prognózy (při senzitivitě 0,5 a specifitě 1,0). Ve skupině pacientů v KŠ mělo vstupně 5 pacientů hodnoty IL6 nad 1 854 pg/ml (2 287 98 pg/ml, 15 633 pg/ml, 8 787 pg/ml, 4 047 pg/ml a 2 356 pg/ml) a všichni tito pacienti zemřeli do 48 hodin.

Vnitř Lék 2014; 60(2): 114–122

Diskuse

Hlavní výsledky naší práce lze shrnout do následujících bodů:

- při hodnocení hladin IL6 existuje výrazný interindividuální rozdíl mezi pacienty se stejnou základní diagnózou
- pacienti v septickém šoku mají v průběhu prvních 4 dní významně vyšší hodnoty IL6 ve srovnání s pacienty v KŠ a pacienty s nekomplikovaným STEMI; u pacientů v SŠ dosahují hodnoty IL6 maxima nejčastěji při přijetí, u pacientů v kardiogenním šoku hodnoty IL6 dosahují maxima za 12 hodin od přijetí; v obou skupinách dochází k dalšímu mírnému přechodnému vzestupu hodnoty IL6 mezi 3.–5. dnem od přijetí
- podle výsledků provedené analýzy ROC jsou hodnoty IL6 > 1 237 pg/ml při přijetí, resp. hodnoty IL6 > 1 071 pg/ml za 24 hodin od přijetí typické spíše pro pacienty v SŠ v porovnání s pacienty v KŠ
- vysoké hodnoty IL6 > 1 854 pg/ml u pacientů v KŠ jsou spojeny s nepříznivou prognózou, ale k časnému úmrtí došlo i u pacientů s hodnotami IL6 kolem 400 pg/ml

V současné době existuje pouze limitované množství literárních informací, které by srovnávaly pacienty v KŠ

Tab. 3a. Analýza ROC pro stanovení cut-off hodnoty IL6 rozlišující pacienty v kardiogenním šoku a pacienty s nekomplikovaným STEMI

čas stanovení	skupina	cut-off (pg/ml)	medián IL6 (pg/ml)	AUC	p	senzitivita	specifická
IL6 (přijeti)	STEMI	357	204	0,730	0,031*	0,700	0,700
	KŠ		497				
IL6 (12 hod od přijeti)	STEMI	-	349	0,661	0,149	0,773	0,600
	KŠ		497				
IL6 (24 hod od přijeti)	STEMI	-	256	0,681	0,119	0,778	0,500
	KŠ		569				

*signifikantní AUC

Tab. 3b. Analýza ROC pro stanovení cut-off hodnoty IL6 rozlišující pacienty v kardiogenním a septickém šoku

čas stanovení	skupina	cut-off (pg/ml)	medián IL6 (pg/ml)	AUC	p	senzitivita	specifická
IL6 (přijeti)	KŠ	1 237	497	0,790	< 0,001*	0,762	0,833
	SŠ		3 551				
IL6 (12 hod od přijeti)	KŠ	-	497	0,670	0,063	0,737	0,636
	SŠ		1 089				
IL6 (24 hod od přijeti)	KŠ	1 071	569	0,748	0,020*	0,615	0,833
	SŠ		1 415				

*signifikantní AUC

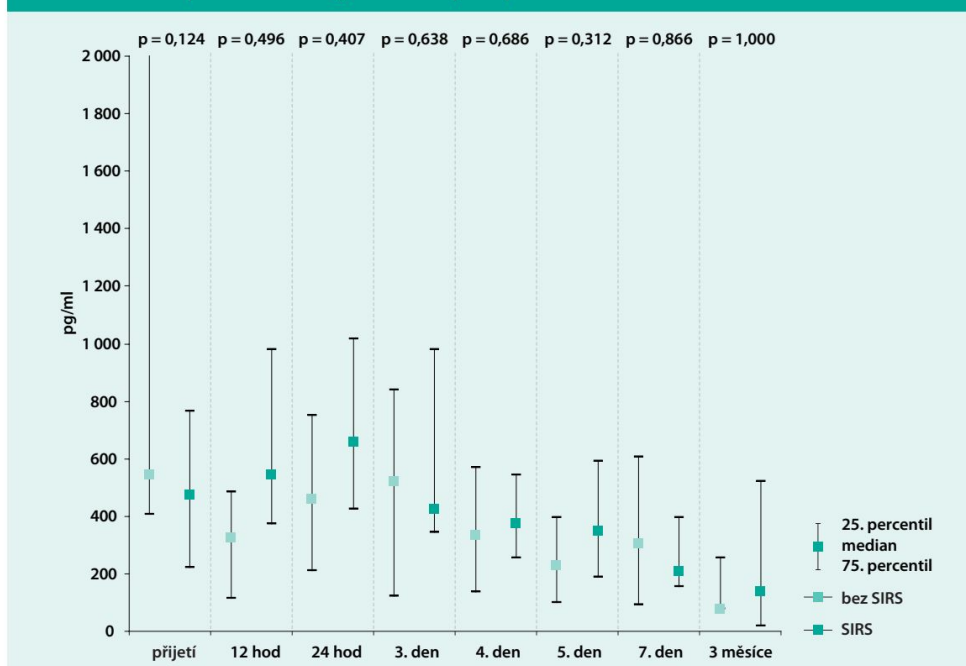
Tab. 4. Analýza ROC k predikci mortality pomocí IL6 u pacientů v septickém a kardiogenním šoku

čas stanovení	skupina	stav	medián IL6 (pg/ml)	AUC	p
IL6 (přijeti)	SŠ	přeživající	2 445	0,565	0,619
		zemřelí	7 617		
IL6 (12 hod od přijeti)	SŠ	přeživající	733	0,619	0,398
		zemřelí	3 515		
IL6 (24 hod od přijeti)	SŠ	přeživající	664	0,714	0,199
		zemřelí	6 536		
IL6 (přijeti)	KŠ	přeživající	486	0,651	0,178
		zemřelí	673		
IL6 (12 hod od přijeti)	KŠ	přeživající	436	0,735	0,066
		zemřelí	1 529		
IL6 (24 hod od přijeti)	KŠ	přeživající	569	0,769	0,085
		zemřelí	1 742		

a SŠ. Geppert et al vyhodnotili hladiny IL6 u 51 pacientů v KŠ a 26 pacientů v SŠ, kontrolní skupinu tvořilo 11 pacientů hospitalizovaných na jednotce intenzivní péče, kteří nebyli v kritickém stavu [9]. Absolutní hodnoty IL6 této a naší práce nelze zcela porovnat, protože laboratorní metodika stanovení byla odlišná (Geppert et al použili metodu ELISA, R&D system, Wiesbaden, Německo), medián hodnot IL6 byl u pacientů v KŠ 112 pg/ml (95% CI 1–156), u pacientů v SŠ 250 pg/ml (95% CI 196–319).

Nicméně byl prezentován obdobný trend jako v naší práci: pacienti v kardiogenním šoku měli významně vyšší hodnoty IL6 než kontrolní skupina pacientů v nekritickém stavu, ale nižší hodnoty IL6 než pacienti v SŠ. Výše hodnot IL6 u pacientů v KŠ korelovala s přítomností multiorgánového selhání a pacienti v KŠ s multiorgánovým selháním měli hodnoty IL6 srovnatelné s pacienty v SŠ.

Brunkhorst et al sledovali rozvoj zánětlivé reakce u 29 pacientů v KŠ, u kterých nebyla zjištěna žádná

Graf 2. Průběh IL6 u pacientů v kardiogenním šoku podle přítomnosti SIRS

infekce a srovnávali ji se zánětlivou reakcí u 26 pacientů v septickém šoku [20]. IL6 byl stanoven opět jinou metodikou (EASIA – enzyme amplified sensitivity immunoassay, Medgenix Diagnostics, Fleurus, Belgie). Pacienti v SŠ měli rovněž v porovnání s pacienty v KŠ vyšší vstupní (1 640 vs 500 pg/ml) a maximální hodnoty IL6 (1 616 vs 629 pg/ml). Podobně jako v naší práci měli pacienti v SŠ maximální hodnoty IL6 při přijetí a poté došlo k jejich poklesu, pacienti v KŠ dosáhli maximálních hodnot IL6 za 24 hodin.

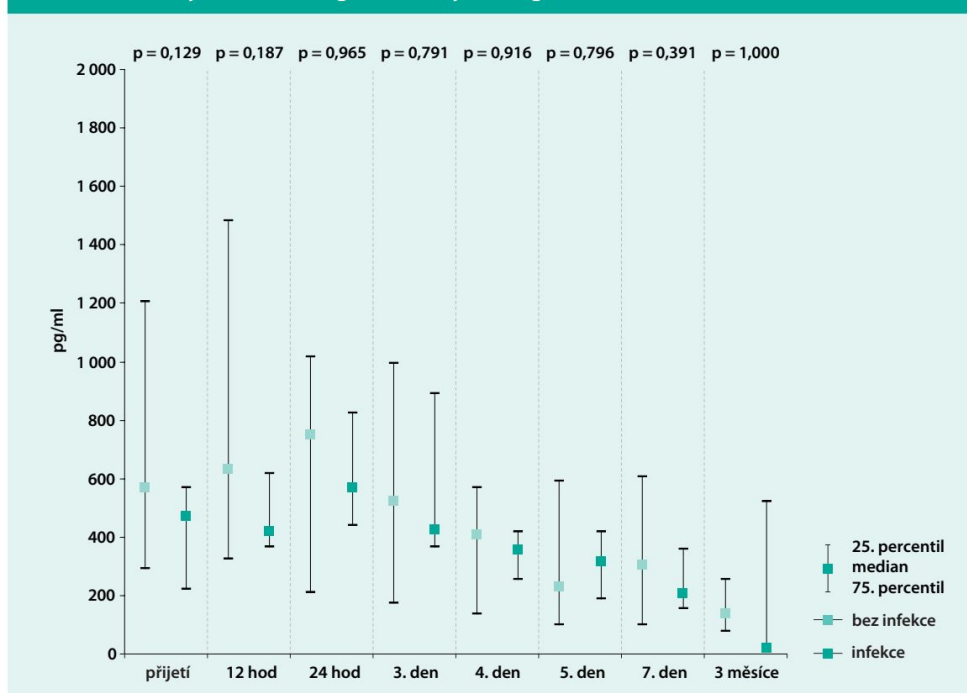
V práci Pudila et al byla demonstrována kinetika IL6 u pacienta se STEMI komplikovaným kardiogenním šokem. Byla pozorována 2 signifikantní maxima, první peak po 9 hodinách (362 pg/ml), poté došlo k poklesu a následnému vzestupu IL6 až na hodnotu 859 pg/ml [21]. Podobný průběh byl zaznamenán i u větší části pacientů v KŠ v naší práci. Vzhledem k velké interindividuální variabilitě hodnot IL6 a skutečnosti, že doba 2. maxima IL6 byla v závislosti na jednotlivých pacientech 3.–5. den, a vyhodnocení byli i pacienti zemřelí před rozvojem 2. maxima, není druhý peak z grafu 1 (s. 118) zřetelně patrný. Zvažovali jsme, zda 2. maximum nesouvisí s rozvojem zánětlivé reakce nebo rozvojem infekce, ale podobný průběh hodnot IL6 s dvěma maximy měli i pacienti bez prokázané infekce nebo bez klinických projevů SIRS (graf 2 a graf 3).

V klinické praxi se setkáváme s pacienty v kardiogenním šoku, u kterých se časné do 24–48 hodin rozvinou

známky zánětlivé reakce s febriliemi a vysokými hodnotami C-reaktivního proteinu, aniž by byly přítomny zjevné známky infektu (např. dýchacích cest provázené odsáváním hnisavého sputa, močová infekce a jiné) a výsledky kultivace hemokultur k vyloučení sepse nejsou ihned k dispozici. Naše výsledky srovnání pacientů v kardiogenním a septickém šoku naznačují, že hodnoty IL6 > 1 237 pg/ml při přijetí, resp. hodnoty IL6 > 1 071 pg/ml za 24 hodin jsou spíše typické pro septický šok a mohly by napomoci časné identifikovat sepsi u pacientů v KŠ, nicméně srovnáme-li hodnoty IL6 u pacientů v KŠ s prokázanou infekcí a bez infekce (graf 3), nezdá se IL6 dostatečně specifický k časné diagnostice infekce u pacientů v KŠ.

V rozsáhlé studii COMMA u pacientů se STEMI léčebných primární PCI (percutaneous coronary intervention), která sledovala vliv podání monoklonální protilátky proti C5 složce komplementu na mortalitu a rozvoj kardiogenního šoku, byly vysoké hodnoty IL6, C-reaktivního proteinu a TNF α stanovené při přijetí, za 24 a 72 hodin prediktorem zvýšené mortality a rozvoje kardiogenního šoku. Tato práce jednoznačně potvrdila, že v patofyziologii akutního infarktu myokardu hraje rozvoj zánětlivé reakce důležitou roli [7]. Přestože byly vysoké hodnoty IL6 > 1 854 pg/ml i v naší práci spojeny se zvýšenou mortalitou, vzhledem k menšímu počtu pacientů a vysokému rozptylu hodnot nebyl výsledek analýzy ROC statisticky významný.

Graf 3. Průběh IL6 u pacientů v kardiogenním šoku podle diagnostikované infekce



Důležitou otázkou v hodnocení hodnot IL6 jsou absolutní hodnoty IL6 u zdravých osob (kontrolní skupina). V rámci naší práce jsme stanovili hodnoty IL6 ve skupině 11 zdravých osob, hodnota mediánu IL6 byla 149 pg/ml (78–244 pg/ml, 5.–95. percentil). Vzhledem k tomu, že hodnoty IL6 významně závisí na metodice stanovení, je problematické srovnání s jinými pracemi, které stanovily IL6 u zdravých osob [22]. Naše výsledky dokumentují výraznou variabilitu hodnot IL6 i u zdravých osob.

Výsledky této práce dokládají velmi časnou produkci IL6: hodnota IL6 je zvýšená u pacientů s AIM již při přijetí ve srovnání se zdravými kontrolami a maxima dosahuje asi po 16 hodinách od vzniku infarktu myokardu. Hodnota IL6 souvisela s tíží stavu; pacienti v kardiogenním šoku měli významně vyšší hodnoty v porovnání s pacienty se STEMI a hodnoty IL6 > 1 854 pg/ml byly spojeny se zvýšenou mortalitou. Na druhé straně řada pacientů v KŠ zemřela navzdory relativně nízké hladině IL6, a proto se nám stanovení IL6 nejvíce jako ideální biomarker k predikci mortality u pacientů v KŠ. U pacientů v septickém šoku je situace ještě komplikovanější z důvodu různých etiologických patogenů, původu infekce a tíže onemocnění. Přestože je dnes význam stanovení hladin cytokinů u pacientů v sepsi ve srovnání s minulostí hodnocen strážlivěji, některá pracoviště mají velmi dobré zkušenosti s využitím IL6 v klinické praxi

[23] a jeho dynamika může jako relativně nespecifický zánětlivý marker odrážet aktuální stav pacienta.

Limitace

Naše práce má řadu limitací. Nejzávažnější limitací je relativně nízký počet vyhodnocených pacientů, přestože ve srovnání s obdobnými publikovanými pracemi je počet sledovaných pacientů srovnatelný [9,20].

Přestože byly základní demografické charakteristiky jednotlivých skupin srovnatelné, hladiny IL6 mohly být ovlivněny dalšími komorbidity a rovněž průběh onemocnění mohl být u jednotlivých pacientů rozdílný.

Navzdory maximálnímu úsilí o standardizované provádění odběrů a jejich okamžité zpracování a zamrazení, by mohly preanalytické chyby ovlivnit výsledky naší práce. Tento aspekt by měl být zvažován zejména u markerů s krátkým poločasem a nízkou stabilitou [24].

Závěr

Zánětlivá reakce není typickým rysem pouze pacientů v septickém šoku, ale hraje významnou roli i v průběhu akutního infarktu myokardu komplikovaného kardiogenním šokem. Rozvoj zánětlivé reakce je heterogenní jak mezi sledovanými skupinami, tak mezi jednotlivými pacienty v kardiogenním a septickém šoku. Pacienti v SŠ mají v porovnání s pacienty v KŠ v průběhu 1. týdne významně vyšší hodnoty IL6. Pacienti v KŠ dosahují

maximální hodnoty IL6 asi za 16 hodin od vzniku infarktu. Stanovení IL6 má malý prognostický význam u pacientů v kardiogenním šoku a nezjistili jsme ani žádný vztah k prognóze pacientů v septickém šoku.

Podpořeno grantem Masarykovy univerzity MUNI/A/0914/2012, projektem MZ ČR pro koncepční rozvoj výzkumné organizace 65269705 (FN Brno) a projektem European Regional Development Fund – projekt FN u sv. Anny v Brně a ICRC (No. CZ.1.05/1.1.00/02.0123).

Literatura

- Hochman JS, Buller CE, Sleeper LA et al. Cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction—etiologies, management and outcome: a report from the SHOCK Trial Registry. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(3 Suppl A): 1063–1070.
- Spinar J, Pařenica J, Vitovec J et al. Baseline characteristics and hospital mortality in the Acute Heart Failure Database (AHEAD) Main registry. *Critical Care* 2011; 15(6): R291.
- Kala P, Miklik R. Pharmacomechanical Antithrombotic Strategies to Reperfusion of the Infarct-Related Artery in Patients with ST-Elevation Acute Myocardial Infarctions. *J Cardiovasc Transl Res* 2013; 6(3): 378–387.
- Kohsaka S, Menon V, Lowe AM et al. Systemic Inflammatory Response Syndrome After Acute Myocardial Infarction Complicated by Cardiogenic Shock. *Arch Intern Med* 2005; 165(4): 1643–1650.
- Griselli M, Herbert J, Hutchinson WL et al. C-Reactive Protein and Complement Are Important Mediators of Tissue Damage in Acute Myocardial Infarction. *J Exp Med* 1999; 190(12): 1733–1740.
- Pietilä KO, Harmoinen AP, Jokiniitty J et al. Serum C-reactive protein concentration in acute myocardial infarction and its relationship to mortality during 24 months of follow-up in patients under thrombolytic treatment. *Eur Heart J* 1996; 17(9): 1345–1349.
- Theroux P, Armstrong PW, Mahaffey KW et al. Prognostic significance of blood markers of inflammation in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary angioplasty and effects of pexelizumab, a C5 inhibitor: a substudy of the COMPELL trial. *Eur Heart J* 2005; 26(19): 1964–1970.
- Geppert A, Dorninger A, Delle-Karh G et al. Plasma concentrations of interleukin-6, organ failure, vasopressor support, and successful coronary revascularization in predicting 30-day mortality of patients with cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction. *Crit Care Med* 2006; 34(8): 2035–2042.
- Geppert A, Steiner A, Zorn G et al. Multiple organ failure in patients with cardiogenic shock is associated with high plasma levels of interleukin-6. *Crit Care Med* 2002; 30(9): 1987–1994.
- Pinsky MR, Vincent JL, Deviere J et al. Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality. *Chest* 1993; 103(2): 565–575.
- Wu HP, Chen CK, Chung K et al. Serial cytokine levels in patients with severe sepsis. *Inflamm Res* 2009; 58(7): 385–393.
- Mera S, Tatulescu D, Cismaru C et al. Multiplex cytokine profiling in patients with sepsis. *APMIS* 2011; 119(2): 155–163.
- Bozza F, Salluh J, Japiassu A et al. Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis. *Crit Care* 2007; 11(2): R49.
- Kellum JA, Kong L, Fink MP et al. Understanding the inflammatory cytokine response in pneumonia and sepsis: results of the Genetic and Inflammatory Markers of Sepsis (GenIMS) Study. *Arch Intern Med* 2007; 167(15): 1655–1663.
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATLS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med* 2003; 29(4): 530–538.
- Bone RC, Sibbald WJ, Sprung CL. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest* 1992; 101(6): 1481–1483.
- Alexander JH, Reynolds HR, Stebbins AL et al. Effect of tilarginine acetate in patients with acute myocardial infarction and cardiogenic shock: the TRIUMPH randomized controlled trial. *JAMA* 2007; 297(15): 1657–1666.
- Steg P, James SK, Atar D et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2012; 33(20): 2569–2619.
- Knaus WA, Draper EA, Wagner DP et al. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13(10): 818–829.
- Brunkhorst F, Clark A, Forycki Z et al. Pyrexia, procalcitonin, immune activation and survival in cardiogenic shock: the potential importance of bacterial translocation. *Int J Cardiol* 1999; 72(1): 3–10.
- Pudil R, Krejssek J, Pidrman V et al. Inflammatory response to acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2001; 44(4): 149–151.
- Matejovic M, Chvojka J, Sykora R et al. A 24-h work shift in intensive care personnel: biological pathways between work stress and ill health. *J Int Med Res* 2011; 39(2): 629–636.
- Kula R, Chýlek V, Sklienka P et al. Bálíčky péče pro těžkou sepsi. *Postgraduální medicína* 2001; 12: 1048–1051.
- Hosnjeh FS, Krop EJ, Portengen L et al. Stability and reproducibility of simultaneously detected plasma and serum cytokine levels in asymptomatic subjects. *Biomarkers* 2010; 15(2): 140–148.

MUDr. Jan Maláška, Ph.D.

✉ jmalaska@fnbrno.cz

Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny LF MU a FN Brno, pracoviště Bohunice, Brno
www.fnbrno.cz

Doručeno do redakce: 24. 5. 2012

Přijato po recenzi: 17. 10. 2013

c. *Infectious Complications and Immune/Inflammatory Response in Cardiogenic Shock Patients: A Prospective Observational Study. Shock. 2017*

Vysoká mortalita pacientů s oběhovým selháním, tedy STEMI komplikovaný KŠ a sepse, která progreduje do SŠ je dobře dokumentovaná. V případě, že trajektorie těchto kriticky nemocných pacientů je dále komplikovaná infekcí, vede tato dále ke zvýšení již tak vysokého rizika mortality. [167, 186] Na druhou stranu časně rozpoznání, diagnostika a léčba infekce/sepse je spojená se zlepšením prognózy pacientů. [172, 187] S tím souvisí potřeba ideálního biomarkeru, který by rychle, levně a relativně spolehlivě souvisel u diskutovaného souboru pacientů s rozvojem infekce a ideálně jeho hladiny ukazovaly její rozvoj ještě v časně fázi rozvoje infekce. Časná a adekvátní antibiotická léčba je opakovaně prokázána u pacientů v šokovém stavu se zlepšením jejich prognózy. Jak bylo prokázáno nejen naší výzkumnou skupinou, u STEMI, který je komplikován kardiogenním šokem dochází k aktivaci inflamatorní odpovědi se zvýšenými hladinami inflamatorních markerů a zde je tedy výzvou jak rozlišit rozvoj KŠ nekomplikovaný infekcí od KŠ s rozvojem konkomitantní infekce. Tedy na práci s popisem inflamatorní odpovědi u pacientů s nekomplikovaný STEMI, STEMI plus KŠ a SŠ navázala rozsáhlejší studie ve spolupráci s francouzskou výzkumnou skupinou vedenou Alexandrem Mebazzou. [62, 138] Primární cílem práce bylo popsat infekční komplikace u pacientů v KŠ a související inflamatorní odpověď pomocí čtyř biomarkerů a jejich vztah ke krátkodobé prognóze těchto pacientů. Kontrolními skupinami byly opět jednak pacienti s nekomplikovaný STEMI a dále pacienti se SŠ. Studie a její protokol byla schválen Multicentrickou etickou komisí (MEK) FN Brno a od pacientů byl získán informovaný souhlas (IS), pokud nebylo možné získat, tak od nejbližšího příbuzného. Do studie byly poté zařazeni pacienti, kteří splnili kritéria STEMI, buď s rozvinutým KŠ nebo bez přítomnosti KŠ a pacienti s diagnostikovaným SŠ. Vyřazovacími kritérii bylo kardiopulmonální resuscitace (KPR) od přijetí bez návratu spontánního oběhu (ROSC),

nepřítomnost AIM jako příčiny KŠ, nemožnost získání IS, nádorové onemocnění a systémové autoimunitní onemocnění. Do studie bylo mezi roky 2006 a 2011 zařazeno celkem 102 pacientů – 80 pacientů s KŠ a 22 pacientů se SŠ. Infekce byla prokázána u 46,3% pacientů. U skupiny pacientů, která měla v průběhu hospitalizace prokázanou infekci a kteří byli 3 měsíce po zařazení do studie naživu, byl trend k delší době na UPV. V mortalitě hodnocené v 3 měsících mezi těmito skupinami ale statisticky signifikantní rozdíl nalezen nebyl. Dále jsme studovali vztah ke čtyřem sledovaným biomarkerům (CRP, prokalcitonin (PCT), presepsin (PSP) a pentraxin 3 (PTX3)) v průběhu prvních sedmi dní od zařazení do studie. Časový průběh dynamiky hladin jednotlivých biomarkerů byl různý s různou dobou dosažení maxima, která ukazuje na významnou úlohu inflamatorní odpovědi u pacientů s KŠ. Vztah konkrétního biomarkeru k prokázané infekci se ale nepodařilo ani v jednom případě prokázat. Predikce 3 měsíční mortality u pacientů s KŠ byla naopak významně signifikantní, zejména hodnoty odebrané do 12 hodin od přijetí pacienta na ICU. Zde byl ROC pro CRP, PCT, PSP a PTX3 mezi 0,683 až 0,875. Práce prokázala přítomnost infekce u pacientů v KŠ ve významném procentu pacientů, dále prokázala významně aktivovanou inflamatorní odpověď u pacientů v KŠ (v porovnání s kontrolní skupinou pacientů s nekomplikovaným STEMI), která ale nedosahovala hodnot u kontrolní skupiny pacientů v SŠ. Práce poprvé popsala přesný časový průběh hodnot presepsinu na kohortě pacientů s KŠ a dvou kontrolních kohortách pacientů. Dále jsme prokázali, že kombinace biomarkerů a zejména jejich sériové měření může být pomocné pro rozpoznání vznikající infekce. A že extenzivní inflamatorní odpověď u pacientů s KŠ je spojena se špatnou prognózou. Význam práce je možné dokladovat počtem citací (celkem 29x) a také tím, že byla citována jako součást doporučení pro epidemiologii, patofyziologii a současný management kardiogenního šoku vytvořené v rámci Evropské asociace srdečního selhání Evropské kardiologické společnosti v roce 2020.

[169]



INFECTIOUS COMPLICATIONS AND IMMUNE/INFLAMMATORY RESPONSE IN CARDIOGENIC SHOCK PATIENTS: A PROSPECTIVE OBSERVATIONAL STUDY

Jiri Parenica,^{*†} Jiri Jarkovsky,[‡] Jan Malaska,^{§†} Alexandre Mebazaa,^{¶||#}
Jana Gottwaldova,^{**††} Katerina Helanova,^{*} Jiri Litzman,^{†††} Milan Dastych,^{**††}
Josef Tomandl,^{§§} Jindrich Spinar,^{*†} Ludmila Dostalova,^{*†} Petr Lokaj,^{*†}
Marie Tomandlova,^{§§} Monika Goldergova Pavkova,^{¶||} Pavel Sevcik,^{¶||}
and Matthieu Legrand^{¶||#}, on behalf of the GREAT Network

^{*}Department of Internal Medicine and Cardiology, University Hospital Brno, Brno, Czech Republic; [†]Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic; [‡]Institute of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic; [§]Department of Anaesthesiology and Intensive Care, University Hospital Brno, Brno, Czech Republic; [¶]Université Paris Diderot, PRES Sorbonne Paris Cité, France; ^{||}Department of Anaesthesiology and Critical Care and Burn unit, APHP, Saint Louis Lariboisière University Hospitals, Paris, France; [#]U 942 INSERM, Paris, France; ^{**}Department of Biochemistry, University Hospital Brno, Brno, Czech Republic; ^{††}Department of Laboratory Methods, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic; ^{†††}Department of Clinical Immunology and Allergology, St Anne's University Hospital in Brno, Brno, Czech Republic; ^{§§}Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic; ^{¶¶}Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic; and ^{|||}Department of Anaesthesiology and Intensive Care, University Hospital Ostrava, Ostrava-Poruba, Czech Republic

Received 3 Jun 2016; first review completed 22 Jun 2016; accepted in final form 12 Sep 2016

ABSTRACT—Introduction: Patients with cardiogenic shock (CS) are at a high risk of developing infectious complications; however, their early detection is difficult, mainly due to a frequently occurring noninfectious inflammatory response, which accompanies an extensive myocardial infarction (MI) or a postcardiac arrest syndrome. The goal of our prospective study was to describe infectious complications in CS and the immune/inflammatory response based on a serial measurement of several blood-based inflammatory biomarkers. **Methods:** Eighty patients with CS were evaluated and their infections were monitored. Inflammatory markers (C-reactive protein, procalcitonin, pentraxin 3, presepsin) were measured seven times per week. The control groups consisted of 11 patients with ST segment elevation myocardial infarction without CS and without infection, and 22 patients in septic shock. **Results:** Infection was diagnosed in 46.3% of patients with CS; 16 patients developed an infection within 48 h. Respiratory infection was most common, occurring in 33 out of 37 patients. Infection was a significant or even the main reason of death only in 3.8% of all patients with CS, and we did not find statistically significant difference in 3-month mortality between group of patients with CS with and without infection. There was no statistically significant prolongation of the duration of mechanical ventilation associated with infection. Strong inflammatory response is often in patients with CS due to MI, but we found no significant difference in the course of the inflammatory response expressed by evaluated biomarkers in patients with CS with and without infection. We found a strong relationship between the elevated inflammatory markers (sampled at 12 h) and the 3-month mortality: the area under the curve of receiver operating characteristic ranged between 0.683 and 0.875. **Conclusion:** The prevalence of infection in patients with CS was 46.3%, and respiratory tract infections were the most common type. Infections did not prolong statistically significantly the duration of mechanical ventilation and did not increase the prevalence of hospital mortality in this high-risk CS population. CS due to acute myocardial infarction was accompanied by a strong and highly variable inflammatory response, but it did not reach the intensity of the inflammatory response observed in patients with septic shock. An extensive immune/inflammatory response in patients with CS is linked to a poor prognosis.

KEYWORDS—Cardiogenic shock, C-reactive protein, infection, inflammatory response, pentraxin 3, presepsin, procalcitonin

INTRODUCTION

The in-hospital mortality of patients with cardiogenic shock (CS) remains high (between 54% and 63%), though routine

revascularization by primary percutaneous coronary intervention (PCI) led to a slight but significant decrease in mortality (1–3). In general, infectious complications raise the hospital mortality of

Address reprint requests to Jiri Jarkovsky, MSc, PhD, Institute of Biostatistics and Analyses, Masaryk University, Kamenice 126/3, Brno 625 00, Czech Republic. E-mail: jarkovsky@iba.muni.cz

All authors take responsibility for all aspects of reliability and freedom from bias of the data presented and their discussed interpretation.

Funding: This study was supported by a grant number CZ.1.05/1.1.00/02.0123, by the Ministry of Health of the Czech Republic—conceptual development of research organization (FNBr, 65269705), and by project MUNIA/1362/2015 of the Masaryk University (Brno, Czech Republic).

Competing interest: Authors declare no competing interests. All authors have approved the final version of the manuscript.

The author reports no conflicts of interest.

Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citation appears in the printed text and is provided in the HTML and PDF versions of this article on the journal's Web site (www.shockjournal.com).

DOI: 10.1097/SHK.0000000000000756

Copyright © 2016 The Author(s). Published by Wolters Kluwer Health, Inc. on behalf of the Shock Society. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial-No Derivatives License 4.0 (CCBY-NC-ND), where it is permissible to download and share the work provided it is properly cited. The work cannot be changed in any way or used commercially without permission from the journal.

critically ill patients (4). Patients with CS are at a particularly high risk of developing infection: according to recent publications dealing with CS, as much as 45% of patients with CS have undergone cardiopulmonary resuscitation (CPR) (5), and the risk of bronchoaspiration and the subsequent development of aspiration pneumonia is estimated at up to one-third of these patients (6); patients who have undergone CPR are treated with hypothermia, which increases the risk of respiratory infection and sepsis (6); 90% of patients with CS are treated with mechanical ventilation, which increases the risk of ventilator-associated respiratory infection (7); multiple invasive access sites increase the risk of infection in patients with CS (8); and severe congestive heart failure in patients with CS facilitates the development of respiratory infection (9). A recently published study of patients with acute heart failure suggested that an adequate and timely initiated antibiotic therapy of infection can improve the patients' prognosis (10). In clinical practice, inflammatory markers such as C-reactive protein (CRP), procalcitonin or newly identified presepsin (soluble CD14 subtype) (11), and pentraxin 3 (PTX3) (12) contribute to an early suspicion of infection. A single determination of inflammatory markers in patients with CS with acute myocardial infarction (MI) is of limited significance with respect to suspicion of infection because these patients develop an aseptic inflammatory response either as part of their immune response (in reaction to an extensive tissue damage in MI) (13), or as part of the postcardiac arrest syndrome after CPR (14).

The primary outcome of the present study was to describe infectious complications in patients with CS, and to describe the immune/inflammatory response and its influence on the short-term prognosis using four different inflammatory biomarkers depending on the development of infection. Patients hospitalized with septic shock (patients with an extreme inflammatory response and with a confirmed severe infection) and patients with ST segment elevation myocardial infarction (STEMI) without CS and without infection were evaluated as control groups for the description of the immune response using the time course of inflammatory biomarkers in comparison with patients with CS.

METHODS

The study protocol complied with the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of the University Hospital Brno (Czech Republic). Written informed consent forms were obtained from the patients either before their participation in the study, or after regaining consciousness. For patients who failed to regain consciousness, anonymous data were processed with the consent of a relative.

The study cohort involved patients with CS and acute coronary syndrome hospitalized in the Coronary Care Unit at the Department of Cardiology of the University Hospital Brno, whereas patients with septic shock were hospitalized in the Intensive Care Unit of the University Hospital Brno.

Patients with CS were included in the study between January 2006 and June 2011. A total of 131 patients were screened; the exclusion criteria were as follows: ongoing resuscitation since the time of admission without return of spontaneous circulation (15 patients), nonconfirmation of acute MI as the cause of the state of shock (22 patients), nonacquisition of the study consent form (3 patients), malignancy (8 patients), and inflammatory disease or connective tissue disease (3 patients).

The diagnosis of acute MI (type I according to the Third Universal Definition of Myocardial Infarction (15)) was based on the rise or fall of markers of myocardial necrosis (high-sensitive cardiac troponin T), with at least one of the following: symptoms consistent with MI; ECG changes (new or presumably new significant ST-T wave abnormalities, new left bundle branch

block, or a newly developed pathological Q wave); imaging evidence of a new loss of viable myocardium or a new regional wall motion abnormality; and identification of an intracoronary thrombus. The diagnosis of acute heart failure was assessed according to clinical signs upon hospital admission and/or during hospitalization (Killip class I–IV). CS was defined as hypotension with systolic blood pressure (SBP) at most 90 mmHg lasting at least 30 min despite adequate left ventricular filling (pulmonary capillary wedge pressure or left ventricle end-diastolic pressure >15 mmHg) or if the patient required vasopressor therapy (dopamine $\geq 7 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ or norepinephrine $\geq 0.15 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) more than 30 min to keep SBP at least 90 mmHg due to heart failure confirmed by a low cardiac index less than $2 \text{L}/\text{min}/\text{m}^2$ or by echocardiography (left ventricular dysfunction with ejection fraction <40%, acute mitral regurgitation or acute septal defect); or if patients had signs of tissue hypoperfusion (oliguria <20 mL/h; mottled and cold skin; signs of encephalopathy; acidosis or blood lactate >2.2 mmol/L) (16, 17). Septic shock was defined as hypotension with SBP at most 90 mmHg despite adequate volume resuscitation (intravenous crystalloids $\geq 30 \text{mL}/\text{kg}$) in patients with confirmed sepsis and after exclusion of other reasons for hypotension (18).

The final diagnosis of infection was established in accordance with CDC criteria for infections (19) based on the consensus of two independent physicians who had all patients' medical records, results of cultivation tests, and standard laboratory tests, including the blood count and the levels of CRP and procalcitonin (if these were performed as part of standard care, not results of series measurements performed as part of the study).

A prospective follow-up to screen for symptoms and signs of infections during hospitalization was based on the following protocol: collection of tracheal aspirates, swab samples from the nose and throat, and urine samples for microbiological testing were done routinely on the first day of mechanical ventilation in all patients and then regularly twice a week. If an infection was suspected, repeated collections and cultivations of samples were undertaken (tracheal aspirates, bronchoalveolar lavage fluid [BALF], urine, blood cultures—three samples taken within 1.5 h) to identify microorganisms and the source of infection. An infection of the respiratory tract (pneumonia or infection of the lower respiratory tract) was suspected in the presence of fever, expectoration or aspiration of purulent sputum, wheezing or rales upon physical examination, and new radiographic pulmonary infiltrates (chest x-ray was performed when lung infection was suspected). An infection of urinary tract was suspected in the presence of fever with dysuria together with bacteriuria and leukocyturia. Sepsis and bloodstream infection were suspected in the presence of shivers, fever, hemodynamic deterioration, and progression of hypotension with oliguria. If a primary infection of the bloodstream was suspected, the intravenous cannula/central venous catheter was removed and the tip was cultivated. Similarly, tips of urine catheters and urine samples were tested if a urinary infection was suspected. Samples for microbiological testing were collected before the initiation of antibiotic therapy (20).

Standardized prophylactic antibiotic regimens were not used. Antibiotic therapy was initiated according to decision of the treating physician if there was a high clinical suspicion of infection accompanied by an inflammatory response (temperature $>38^\circ\text{C}$).

In all patients, the onset of systemic inflammatory response syndrome (SIRS) was evaluated according to temperature more than 38°C and white blood cell count more than $12,000/\mu\text{L}$. Other criteria (heart rate $>90/\text{min}$ and respiratory rate $>20/\text{min}$) used in SIRS in patients with CS and on mechanical ventilation were not appropriate; this methodology was previously published by SHOCK Investigators (13).

Laboratory methods

Samples of venous blood for the determination of inflammatory biomarkers were drawn at seven time points: sample 1 (upon hospital admission), sample 2 (12 h after hospital admission), sample 3 (24 h after hospital admission), sample 4 (morning of the third day; ≈ 48 h after hospital admission), sample 5 (morning of the fourth day; ≈ 72 h after hospital admission), sample 6 (morning of the fifth day; ≈ 96 h after hospital admission), and sample 7 (morning of the seventh day).

Samples were centrifuged within less than 10 min in a refrigerated centrifuge. Plasma and serum were stored at -80°C . The refrigerated centrifuge and freezer were located in the Intensive/Coronary Care Unit. Standard biochemical and hematological blood tests were performed immediately upon hospital admission, and then each day in the morning, or depending on the patient's condition.

All laboratory methods were undertaken according to the manufacturer's instructions of the assay kits. Cardiac troponin T levels (Roche Diagnostics, Indianapolis, Ind) were assessed 24 h after the onset of chest pain. CRP levels were analyzed by a commercial immunoturbidimetric method using the CRP3 kit (Roche, Basel, Switzerland) on a Cobas 8000 system. Procalcitonin levels were analyzed using the commercial kit Elecsys BRAHMS PCT (Roche) on a Cobas 8000 system. Plasma concentrations of PTX3 were measured using a

commercially available sandwich enzyme-linked immunosorbent assay kit (R&D Systems, Minneapolis, Minn). Preproin levels were measured using the commercial kit Pathfast (Mitsubishi Chemical Europe, Dusseldorf, Germany).

Statistical analyses

Standard descriptive statistics were used for the analyses. Continuous variables were described by the median value as well as by the 5th and 95th percentiles. Categorical variables were described by counts and percentages. The significance of differences between the two groups was assessed using the Mann-Whitney test for continuous variables and the chi-squared test for categorical variables. The statistical significance of differences between the three groups was assessed using the Kruskal-Wallis test for continuous variables.

Receiver operating characteristic (ROC) curves and the area under the curve (AUC) were used to determine if the inflammatory biomarkers were good predictors of the 3-month mortality. The level of significance was set at $\alpha = 0.05$. The software SPSS 22.0.0.1 (IBM, Armonk, NY) was used for data analyses.

The peak value of a biomarker means the value at the time of peak according to time-dependent curve of biomarker for all patients.

RESULTS

Baseline characteristics

All patients were Caucasian. The baseline characteristics of 80 patients with CS according to the presence of infection are shown in Table 1. Infection was diagnosed in 37 patients

(46.3%). Upon hospital admission, patients with CS with infection had a higher SBP upon admission (100 vs. 90 mmHg; $P=0.003$) when compared with patients with CS without infection. In the CS group, 87.5% of patients had STEMI, and 12.5% of them had non-STEMI. Patients with CS had often comorbidities such as hypertension (55.0%), diabetes mellitus (43.8%), and/or chronic obstructive pulmonary disease (7.5%). Median value of the left ventricle ejection fraction was 36%, renal replacement therapy was used in 8.8% of patients, therapeutic hypothermia was used in 37.5% of patients, and intra-aortic balloon counterpulsation was used in 48.8% of patients.

Median time between the hospital admission and the onset of infection was 48 h. Three-month mortality was 51.3% (41 out of 80 patients). Kaplan-Meier survival curves (Fig. 1A) showed that a significant number of patients without infection died within the first 24 h, i.e., before the potential onset of infection (15 out of 29 patients who died); Figure 1B shows the prognosis of patients who survived the first 24 h after admission, and in which infection might theoretically develop; no statistically significant differences in survival were found between CS groups with and without infection ($P=0.557$). Median

TABLE 1. Baseline demographic and laboratory characteristics of cardiogenic shock patients according to onset of infection

Variable	CS without infection (n = 43)	CS with infection (n = 37)	P
Age	64 (47; 81)	66 (42; 83)	0.839
Women	19 (44.2%)	10 (27.0%)	0.162
BMI, kg/m ²	27.5 (22.0; 32.9)	27.3 (21.7; 37.3)	0.802
Systolic BP upon admission, mmHg	90 (50; 160)	100 (80; 175)	0.003
Diastolic BP upon admission, mmHg	60 (30; 85)	70 (50; 100)	0.001
HR upon admission, /min	87 (40; 113)	98 (44; 142)	0.107
Systolic BP, minimum, mmHg	65 (40; 90)	75 (50; 85)	0.061
Diastolic BP, minimum, mmHg	40 (20; 60)	40 (30; 55)	0.053
Hypertension	25 (58.1%)	19 (51.4%)	0.653
Diabetes mellitus	21 (48.8%)	14 (37.8%)	0.371
History of MI/PCI/CABG	12 (27.9%)	10 (27.0%)	1.000
COPD	4 (9.3%)	2 (5.4%)	0.681
ACEI/ARBs upon admission	19 (44.2%)	14 (37.8%)	0.655
Beta-blockers upon admission	15 (34.9%)	12 (32.4%)	1.000
CPR before admission	22 (51.2%)	13 (35.1%)	0.179
Time from diagnosis to admission, h	3 (1; 25)	5 (1; 26)	0.148
Time from diagnosis to infection, h	—	48 (10; 247)	—
LVEF, %	35 (16; 66)	34 (15; 61)	0.362
Creatinine, μ mol/L	116 (66; 239)	109 (65; 204)	0.172
Sodium, mmol/L	139 (133; 145)	138 (128; 143)	0.246
Potassium, mmol/L	4.1 (2.5; 6.0)	4.0 (2.8; 6.9)	0.949
Troponin T/I peak (relative value)	220.0 (0.0; 1,142.9)	327.4 (3.0; 2,482.1)	0.067
Glycemia, mmol/L	13.0 (5.5; 34.3)	12.4 (5.3; 25.4)	0.189
Hemoglobin, g/L	137 (111; 157)	144 (102; 166)	0.110
Hemoglobin, minimum, g/L	110 (63; 157)	104 (65; 141)	0.256
Leukocytes	16.1 (8.7; 30.3)	15.3 (7.6; 27.9)	0.327
Leukocytes, maximum	20.2 (7.8; 33.8)	18.9 (10.1; 34.7)	0.923
Antibiotics	15 (34.9%)	36 (97.3%)	0.001
Mechanical ventilation	37 (86.0%)	34 (91.9%)	0.494
Intra-aortic balloon counterpulsation	21 (48.8%)	18 (48.6%)	1.000
Renal replacement therapy	3 (7.0%)	4 (10.8%)	0.698
Therapeutic hypothermia	19 (44.2%)	11 (29.7%)	0.184
Duration of stay, d	2 (0; 19)	13 (3; 27)	0.001

ACEI indicates angiotensin-converting enzyme inhibitor; ARBs, antagonist for the type-2 receptor of angiotensin II; BMI, body mass index; BP, blood pressure; CABG, coronary artery bypass grafting; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; CPR, cardiopulmonary resuscitation; LVEDP, left ventricular end-diastolic pressure; LVEF, left-ventricular ejection fraction; MI, myocardial infarction; PCI, percutaneous coronary intervention.

Categorical variables represented as n (%) and continuous variables as median (5th; 95th percentile).

P values from the Kruskal-Wallis test or chi-squared maximum-likelihood test (categorical variables).

Bold values express statistically significant results.

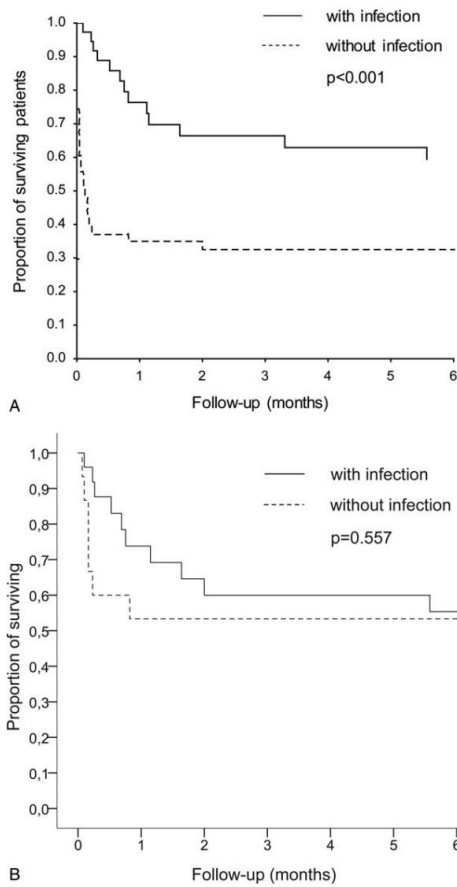


FIG. 1. Survival of patients with CS according to the diagnosed infection: (A) from admission, and (B) from 24 h after admission.

duration of hospitalization of patients without infection was shorter (2 days, range 0–19 days) in comparison with those with infection (13 days, range 3–27 days). The observation was done (at least in part) due to a high mortality during the first 24 h. When we compared only patients surviving after 3 months, those with infection tended to have a longer duration of mechanical ventilation (76 h, range 10–245 h) compared with those without infection (48 h, range 5–192 h); nevertheless, the difference was not statistically significant ($P = 0.441$). Thirty-seven patients with CS had an identified infection: 25 patients were diagnosed with a respiratory tract infection (RTI), 6 patients with an RTI and urinary tract infection (UTI), 4 patients with a UTI, and 2 patients with a bloodstream infection and RTI. In six patients, at least two microorganisms were detected.

Out of 37 patients with infection, 16 patients had a diagnosis of infection within 48 h after hospital admission (RTI: 12 cases; UTI: 2 cases; RTI and UTI: 2 cases), 21 patients had a diagnosis of infection after 48 h (RTI: 13 cases; UTI: 2 cases; RTI and UTI: 4 cases; bloodstream infection and RTI: 2 cases). Microorganisms associated with infections in patients with CS according to source are shown in Table 2. Eight patients had ventilator-associated pneumonia (VAP) according to radiographic pulmonary infiltrates accompanied with new massive purulent secretions, fever and leukocyte count more than $12 \times 10^9/L$, but did not have positive results of microbiologic testing (cultivation was either not done, or the result was negative due to a previously initiated antibiotic therapy).

According to revision of two independent physicians, infection was a significant or even the main reason of death in three patients (3.8% of all patients with CS). Clinical signs of SIRS were found in 53.8% of all patients, and in 50% of patients without confirmed infection. When we evaluated only patients surviving at least 24 h (i.e., those in which SIRS could have theoretically developed as a consequence of reaction to acute MI with CS), SIRS was reported in 68.8% of all patients with CS.

Time course of biomarkers in CS with respect to infection

Time courses of four inflammatory biomarkers (CRP, procalcitonin, presepsin, and PTX3) in CS according to infection

TABLE 2. Microorganisms associated with infections in patients with cardiogenic shock according to the primary source of infection

Respiratory tract	n	Urinary tract	n	Bloodstream	n
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	<i>Escherichia coli</i>	6	Coagulase-negative staphylococci	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	<i>Candida albicans</i>	1		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	<i>Proteus mirabilis</i>	1		
<i>Candida albicans</i>	3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1		
Alpha-hemolytic streptococci	2				
Coagulase-negative staphylococci	2				
<i>Escherichia coli</i>	1				
<i>Haemophilus influenzae</i>	1				
Group C beta-hemolytic streptococci	1				
Unidentified	8				

Eight other patients had ventilator-associated pneumonia according to radiographic infiltrates accompanied with new massive purulent secretions, fever and leukocyte count more than $12 \times 10^9/L$, but did not have positive results of microbiologic testing (cultivation was not done or the result was negative due to a previously initiated antibiotic therapy).

Infection was identified in 37 patients with CS: 25 patients with a respiratory tract infection (RTI), 6 patients with an RTI and urinary tract infection (UTI), 4 patients with a UTI, and 2 patients with a bloodstream infection and RTI. In six patients, at least two microorganisms were detected.

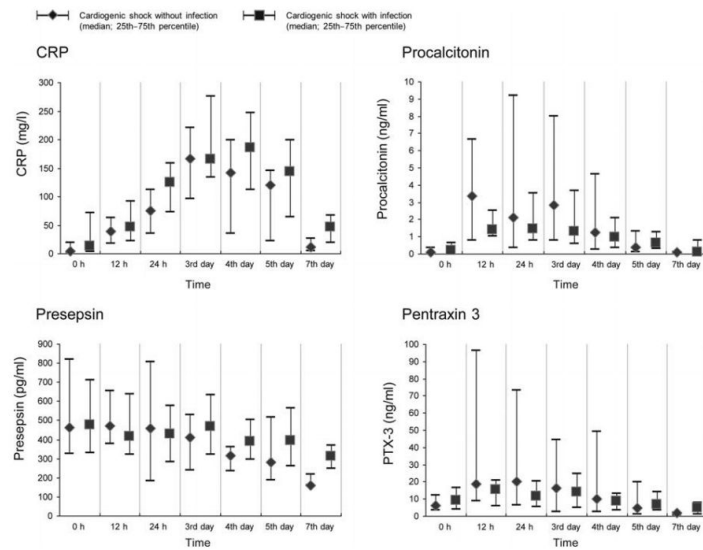


FIG. 2. Time course of expression of C-reactive protein, procalcitonin, presepsin, and pentraxin 3 in patients with CS according to the presence of infection.

are shown in Figure 2 and in Supplemental Table 1, <http://links.lww.com/SHK/A484>.

Peak values of CRP in patients with CS were reached between the mornings of the third and fourth day (≈ 48 –72 h after the onset of MI). In patients with infection, there was a nonsignificant trend toward a faster elevation of CRP at 24 h after admission (65 vs. 120 mg/L; $P = 0.074$), higher and longer sustained values on the fifth day (73 vs. 127; $P = 0.108$) and on the seventh day (12 vs. 48; $P = 0.088$), and later peaks depending on the onset of infection. Patients with infection did not have significantly higher peak values (166 vs. 182 mg/L; $P = 0.124$).

Peak values of procalcitonin were detected earlier (between 12 and 48 h after hospital admission), and there was no significant difference between patients with CS without and with infection (2.1 vs 1.4 ng/mL; $P = 0.325$).

Presepsin reached peak values in both groups of patients with CS irrespective of infection 12 h after admission (429 vs. 527 pg/mL; $P = 0.168$), and decreased after the third day. A nonsignificant trend toward a gradual decrease of presepsin levels was apparent in the group of patients without infection, in contrast to the group of patients with infection.

Peak values of PTX3 in patients with CS were detected 12 to 48 h after hospital admission irrespective of infection (18.9 vs. 14.1 ng/mL; $P = 0.354$).

The results show that a large dispersion of values of inflammatory biomarkers in patients with CS does not make it possible to demonstrate significant differences in their values depending on the development of infection. Inflammatory response in patients with CS can be significantly influenced by an out-of-hospital cardiac arrest and a subsequent development of the postcardiac arrest syndrome; we evaluated the

inflammatory response by measuring CRP levels in patients with CS depending on the performed CPR before hospital admission and the presence on infection. Again, due to a large variability in the immune/inflammatory response, we did not detect a significant difference in the time course of CRP in the period of seven days (Fig. 3).

We therefore evaluated separately two patients with CS, with and without infection. Figure 4 clearly demonstrates how important it is to measure inflammatory markers repeatedly, and to know the time of a supposed peak to reveal a potential infection. Two types of kinetics are demonstrated: CRP and procalcitonin had low values upon hospital admission, with a subsequent early increase; in the infected patient, there was a clear increase after the time of the supposed peak at 48 h. A slight and continuous decrease in presepsin levels after 12 h was observed in the patient without infection, whereas the maximum value for presepsin was observed at 48 h in the infected patient. A significant difference in regards to infection was not observed in time courses of PTX3 levels.

Prognostic value of inflammatory biomarkers in CS

Previous results demonstrated a frequent elevation of inflammatory markers in patients with CS irrespective of infections. Using the c-statistic, we tested the prognostic value of inflammatory biomarkers to predict the 3-month mortality; we evaluated biomarkers that were measured during the first 24 h (samples 1–3). We found a strong relationship between the elevated inflammatory markers and the prognosis: we identified the best prognostic value for levels evaluated 12 h after hospital admission: the AUC of ROC for CRP, procalcitonin, presepsin, and PTX3 ranged between 0.683 and 0.875 (Table 3).

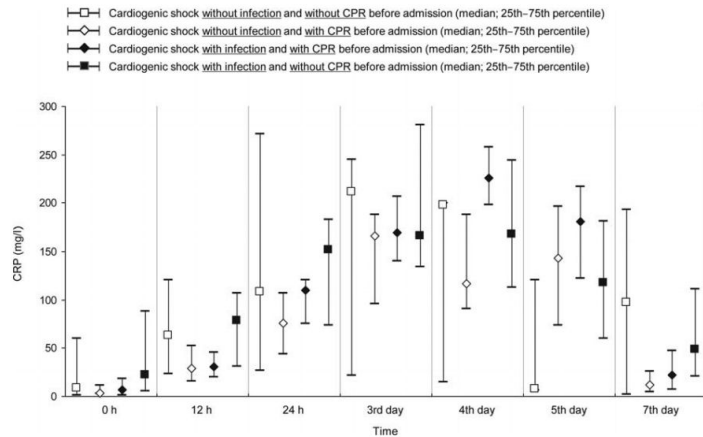


FIG. 3. Time course of expression of C-reactive protein in groups of all patients with CS according to presence of infection and out-of-hospital cardiac arrest with cardiopulmonary resuscitation (CPR) before hospital admission.

Comparison of immune/inflammatory response expressed by inflammatory biomarkers in patients with CS and patients with septic shock and patients with STEMI (without shock and infection)

The baseline characteristics of all patients with CS (irrespective to infection) in comparison with patients with septic shock and patients with STEMI are shown in Supplemental Table 2, <http://links.lww.com/SHK/A484>.

The time course of biomarkers in patients with septic shock demonstrates an extreme inflammatory response, which significantly exceeds the inflammatory response of patients with

CS regardless of infection; on the contrary, the inflammatory response of STEMI patients without CS and without infection is significantly less intense, demonstrating a “normal-average” inflammatory response within MI treated by primary PCI without CS (Fig. 5).

DISCUSSION

The present study highlights two extremely important points in the care of patients with CS: infection is a frequent complication, which partially increases the hospital mortality of

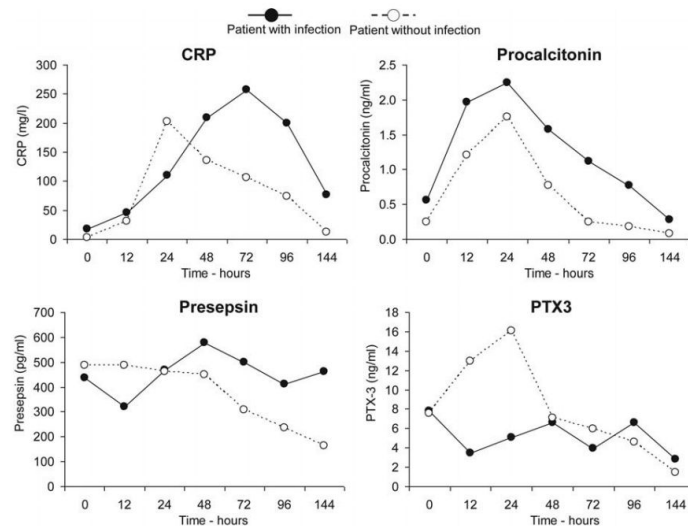


FIG. 4. Time-related profiles of inflammatory parameters (C-reactive protein, procalcitonin, pentraxin 3, and presepsin) of two patients with CS with and without infection.

Copyright © 2016 by the Shock Society. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

TABLE 3. Prognostic value of inflammatory biomarkers for the prediction of 3-month mortality in cardiogenic shock patients irrespective of infection

	Survival		Death		AUC	P	Cutoff	Sensitivity	Specificity
	n	Median (5th–95th percentile)	n	Median (5th–95th percentile)					
CRP/2	26	30.5 (8.5; 202.1)	16	63 (15.5; 238.6)	0.683	0.049	≥45.6	0.750	0.250
Proc./2	26	1.3 (0.2; 9.8)	16	3.4 (0.4; 557.5)	0.761	0.005	≥2.0	0.813	0.188
Pres./2	24	410 (239; 789)	11	655 (234; 2,587)	0.716	0.043	≥1,035	0.455	0.545
PTX3/2	24	10.5 (1.2; 58.0)	10	50.7 (11.4; 1,200)	0.875	0.001	≥26.5	0.800	0.200

AUC indicates area under the curve; CRP, C-reactive protein; Pres., presepsin; Proc., procalcitonin; PTX3, pentraxin 3. Only biomarkers at 12 h (sample 2) are shown.

patients, and extends the time of mechanical ventilation; the immune/inflammatory response of patients with CS with acute myocardial infarction (AMI) is strong (expressed biochemically by levels of inflammatory biomarkers, and clinically by the development of SIRS) and very variable. This high variability makes it impossible to determine the cutoff value of inflammatory biomarkers for the suspicion of development of infection. Regardless of infection, an extensive immune/inflammatory response is linked to a poor prognosis.

Frequent infections in CS and especially RTIs (67.5% of all infections) were found. As mentioned in the “Introduction,” there is a number of reasons for the high incidence of infections, particularly the pulmonary ones: pulmonary congestion (9), mechanical ventilation (7), cardiac arrest with prehospital CPR (6), treatment by therapeutic hypothermia (21), and multiple invasive access sites.

According to randomized studies on the prevention of VAP, mortality attributable to VAP is ≈9% (22). In our study, infections led to an increase in mortality by only 3.8%: this might be due to a high mortality of the CS itself. In the literature, there is lack of information about infective complications in patients with CS. In the SHOCK trial, sepsis with positive culture results was reported in 13.3% of patients, with the predominant pathogen being *Staphylococcus aureus*, followed by *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*; independent predictors of sepsis were duration of use of intraaortic balloon pump and multiple central catheters (8). Nosocomial infections developed in 64% of a total of 220 patients with CS supported by venoarterial extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). VAP (55%), bloodstream infection (18%), cannula infections (10%), and mediastinitis were identified (23). A high prevalence of infection (65%) has

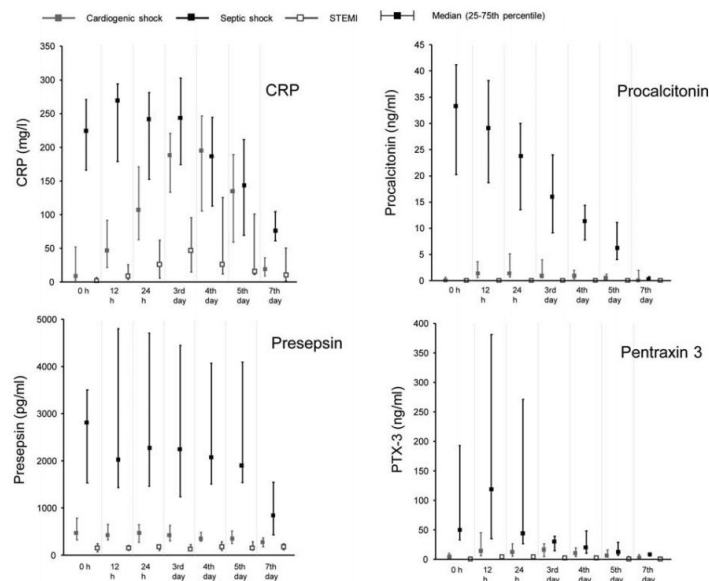


FIG. 5. Time course of expression of C-reactive protein, procalcitonin, presepsin, and pentraxin 3 in patients with CS in comparison with control groups of patients with septic shock and patients with STEMI (without shock and without infection).

Copyright © 2016 by the Shock Society. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

also been reported in patients after cardiac arrest treated by hypothermia (6).

We did not find any clinical effect of fixed cultivation of bronchial aspirates and BALF samples on the first day of mechanical ventilation. However, respiratory infections were the most common infections in patients with CS, and half of them were presented within 48 h upon hospital admission; therefore, for patients undergoing mechanical ventilation, we suggest that bronchial samples are cultivated on the morning of the third day, and then regularly twice a week; in addition, if there is suspicion of an RTI, rules for the prevention of VAP should be followed immediately.

Immune/inflammatory response and the time course of presepsin and other inflammatory biomarkers in patients with CS

The immune/inflammatory response is very strong in patients with CS with AMI when compared with a control group of patients with STEMI without shock; nevertheless, it does not reach the extreme values of response seen in patients with septic shock. SIRS was clinically found in 68.8% of patients who survived the first 24 h, regardless of the development of infection.

For the first time, we showed a detailed time course of presepsin in a cohort of patients with AMI complicated by CS. In comparison with CRP and procalcitonin, presepsin had a slightly different course, with an earlier onset of the peak. For all markers, we demonstrated a significantly higher inflammatory response in patients with CS in comparison with the control STEMI group, but a significantly lower inflammatory response in comparison with patients with septic shock. This high variability of the inflammatory response in patients with CS makes it impossible to determine cutoff values for the detection of infection. Probably the main reason for this observation is that the inflammatory response due to these infections as expressed by the evaluated biomarkers is similar or lower in comparison with the inflammatory response due to myocardial necrosis in CS or postcardiac arrest syndrome. In this project, we analyzed other inflammatory markers as well (interleukin-6, soluble L-selectin, soluble P-selectin, soluble V-CAM-1, soluble ICAM-1, and complement activation product C5a); none of these markers have brought information making it possible to distinguish between infection and inflammatory aseptic reaction as part of CS during an acute MI, and these data are therefore not presented. The knowledge of time course of inflammatory biomarkers in patients with CS might be useful in the everyday clinical practice: an unexpected increase or maintenance of high values of inflammatory biomarkers after their supposed peak can support a diagnosis of infection and can help to decide about an early initiation of antibiotic therapy before a definitive result of microbiological cultivation. As shown in Figure 3, a combination of two biomarkers with different time courses (CRP with a peak at 48 h and presepsin with an early-onset peak after 12–24 h) and serial measurements might be helpful.

From the point of view of short-term prognosis, high levels of inflammatory markers during the first 24 h identify very well the group of highest-risk patients in CS who might benefit most

from further intensive treatments such as mechanical circulatory support or ECMO. Inflammatory response in critically ill patients is generally a predictor of poor prognosis (24).

Nevertheless, inflammatory biomarkers have also their pathophysiological function in acute MI complicated with CS. An inflammatory response only partly corresponds with the size of the MI. CRP activates the complement system by the classic pathway, helping to lyse and to remove damaged myocardial cells (25). An inappropriately high inflammatory response with excessive production of CRP is accompanied by an increased infiltration of damaged tissue (as well as the surrounding myocardium) by macrophages, increased activity of metalloproteinases (MMP9) and activation of the complement system, and increased expression of chemotactic molecules such as monocyte chemoattractant protein (MCP)-1, all of which lead to an extension of myocardial damage and left ventricular remodeling (26, 27). An excessive production of CRP can stimulate cardiomyocytes as well as peripheral blood cells to increase the output of inducible nitric oxide synthase with an overproduction of nitric oxide (NO) (28) and, whereas physiological levels of NO have a cardioprotective effect, high NO concentrations have negative inotropic and cytotoxic effects on cardiomyocytes and participate in vasodilatation that may further lead to the development and progression of CS (29). Procalcitonin is a peptide precursor of the hormone calcitonin, but its physiological role during the inflammatory response is not clear. Its role in the metabolism of calcium, cytokine networks, modulation of NO synthesis, and pain-relieving effects has been considered (30). PTX3 seems to have (in comparison with CRP) a cardioprotective effect. PTX3 binds to component C1q and prevents unwanted and excessive activation of complement (31). Binding to P-selectin reduces further neutrophil infiltration into the site of myocardial injury (32), and binding to activated platelets reduces proinflammatory and prothrombotic effects in MI patients (33). In our work, high values of PTX3 associated with a poor prognosis are probably the result of an excessive inflammatory response, than PTX3 alone would actively contribute to a negative outcome. Presepsin is a soluble CD14 subtype, and its biological role has not been elucidated; it is a regulatory factor capable of modulating cellular and humoral immune responses by interacting directly with T and B cells (34). Unfortunately, recent studies leading to the suppression of inflammatory reactions in an unselected group of patients with acute MI have not proved any positive therapeutic effect yet (35).

Limitations—First, the study cohort was relatively small. Second, the study was carried out at a single center. Third, infectious complications are more difficult to recognize in patients with CS due to an aseptic inflammatory response: we cannot rule out that despite every effort, we did not manage to diagnose this infection in several patients, particularly in those who died early. On the contrary, if there is a suspicion of infection that might be linked to death, microbiological cultivation was performed in these deceased patients, from samples available from the dissection. Fourth, a large proportion of patients with CS underwent CPR and treatment with therapeutic hypothermia before hospital admission, which makes the interpretation of results even more difficult: the inflammatory response is not only

part of the immune response to an extensive myocardial necrosis, but also part of the postcardiac arrest syndrome with additional pathophysiological changes caused by therapeutic hypothermia. A high proportion of patients with CS who survive out-of-hospital cardiac arrest and resuscitation are currently an indispensable part of all large cohorts of patients with CS, and cannot be separated from the study (5, 36), but according to our subanalysis of time course of biomarkers in patients with CS depending on the presence of infection and CPR, no significant difference was shown between these groups. And fifthly, a high proportion of early deaths in patients with CS makes it significantly more difficult to evaluate the influence of infectious complications on the duration of hospitalization and on the duration of mechanical ventilation.

CONCLUSION

The prevalence of infection in patients with acute MI complicated by CS was 46.3%, and RTIs were the most common type. Infections did not prolong statistically significantly the duration of mechanical ventilation and did not increase the prevalence of hospital mortality in this high-risk CS population. CS due to AMI was accompanied by a strong and highly variable inflammatory response, but it did not reach the intensity of the inflammatory response observed in patients with septic shock. An extensive immune/inflammatory response in patients with CS is linked to a poor prognosis. Our results might lay the groundwork for a prospective study which would evaluate the use of repeated determination of levels of inflammatory biomarkers or their combinations, potentially contributing to an early decision about the initiation of antibiotic therapy in patients with CS with a suspicion of infection.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank all local physicians and nursing staff at the University Hospital Brno, and especially Katarina Marcincichova, Jitka Bilkova, Jana Polaskova, Hana Senkova, and Hana Kourilova.

REFERENCES

- Awad HH, Anderson FA, Gore JM, Goodman SG, Goldberg RJ: Cardiogenic shock complicating acute coronary syndromes: insights from the Global Registry of Acute Coronary Events. *Am Heart J* 163:963–971, 2012.
- Spinar J, Parenica J, Vitovec J, Widimsky P, Linhart A, Fedorco M, Malek F, Cihalik C, Spinarová L, Miklik R, et al.: Baseline characteristics and hospital mortality in the Acute Heart Failure Database (AHEAD) Main registry. *Crit Care* 15:R291, 2011.
- Babaev A, Frederick PD, Pasta DJ, Every N, Sichrovsky T, Hochman JS, NRMI Investigators. Trends in management and outcomes of patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *JAMA* 294:448–454, 2005.
- Osmon S, Warren D, Seiler SM, Shannon W, Fraser VJ, Kollef MH: The influence of infection on hospital mortality for patients requiring >48 h of intensive care. *Chest* 124:1021–1029, 2003.
- Thiele H, Zeymer U, Neumann FJ, Ferenc M, Olbrich HG, Hausleiter J, Richardt G, Hennemerdorf M, Empen K, Fuernau G, et al.: Intraaortic balloon support for myocardial infarction with cardiogenic shock. *N Engl J Med* 367:1287–1296, 2012.
- Perbet S, Mongardon N, Dumas F, Bruel C, Lemiale V, Mourvillier B, Carli P, Varenne O, Mira JP, Wolff M, et al.: Early-onset pneumonia after cardiac arrest: characteristics, risk factors and influence on prognosis. *Am J Respir Crit Care Med* 184:1048–1054, 2011.
- Kouraki K, Schneider S, Uebis R, Tebbe U, Klein HH, Janssens U, Zahn R, Senges J, Zeymer U: Characteristics and clinical outcome of 458 patients with acute myocardial infarction requiring mechanical ventilation. Results of the BEAT registry of the ALKK-study group. *Clin Res Cardiol* 100:235–239, 2011.
- Kohsaka S, Menon V, Iwata K, Lowe A, Sleeper LA, Hochman JS, SHOCK Investigators. Microbiological profile of septic complication in patients with cardiogenic shock following acute myocardial infarction (from the SHOCK study). *Am J Cardiol* 99:802–804, 2007.
- Alon D, Stein GY, Korenfeld R, Fuchs S: Predictors and outcomes of infection-related hospital admissions of heart failure patients. *PLoS One* 8:e72476, 2013.
- Maisel A, Neath SX, Landsberg J, Mueller C, Nowak RM, Peacock WF, Ponikowski P, Möckel M, Hogan C, Wu AHB, et al.: Use of procalcitonin for the diagnosis of pneumonia in patients presenting with a chief complaint of dyspnoea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial. *Eur J Heart Fail* 14:278–286, 2012.
- Behnes M, Bertsch T, Lepiorz D, Lang S, Trinkmann F, Brueckmann M, Borggrefe M, Hoffmann U: Diagnostic and prognostic utility of soluble CD 14 subtype (presepsin) for severe sepsis and septic shock during the first week of intensive care treatment. *Crit Care* 18:507, 2014.
- Muller B, Peri G, Doni A, Torri V, Landmann R, Bottazzi B, Mantovani A: Circulating levels of the long pentraxin PTX3 correlate with severity of infection in critically ill patients. *Crit Care Med* 29:1404–1407, 2001.
- Kohsaka S, Menon V, Lowe AM, Lange M, Dzavik V, Sleeper LA, Hochman JS, SHOCK Investigators. Systemic inflammatory response syndrome after acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Arch Intern Med* 165:1643–1650, 2005.
- Peberdy MA, Andersen LW, Abbate A, Thacker LR, Gaieski D, Abella B, Rittenberger JC, Clore J, Ornato J, Cocchi MN, et al.: Inflammatory markers following resuscitation from out-of-hospital cardiac arrest—a prospective multi-center observational study. *Resuscitation* 103:117–124, 2016.
- Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, Writing Group on the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction, Thygesen K, Alpert JS, White HD, et al.: ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 33:2551–2567, 2012.
- TRIUMPH Investigators, Alexander JH, Reynolds HR, Stebbins AL, Dzavik V, Harrington RA, Van de Werf F, Hochman JS: Effect of tilarginine acetate in patients with acute myocardial infarction and cardiogenic shock: the TRIUMPH randomized controlled trial. *JAMA* 297:1657–1666, 2007.
- Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, Bax J, Boersma B, Bueno H, Caso P, Dudek P, Gien S, Huber K, et al.: ESC Committee for Practice Guidelines, ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: the Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 32:2999–3054, 2011.
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G: SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS, 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 31:1250–1256, 2003.
- Horan TC, Andrus M, Dudeck MA: CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control* 36:309–332, 2008.
- Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM: CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 16:128–140, 1988.
- Geurts M, Macleod MR, Kollmar R, Kremer PHC, van der Worp HB: Therapeutic hypothermia and the risk of infection: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 42:231–242, 2014.
- Melsen F, Rovers MM, Koeman M, Bonten MJM: Estimating the attributable mortality of ventilator-associated pneumonia from randomized prevention studies. *Crit Care Med* 39:2736–2742, 2011.
- Schmidt M, Bréchet N, Hariri S, Guiguet M, Luyt CE, Makri R, Leprince P, Trouillet L, Pavie A, Chastre J, et al.: Nosocomial infections in adult cardiogenic shock patients supported by venoarterial extracorporeal membrane oxygenation. *Clin Infect Dis* 55:1633–1641, 2012.
- Fraunberger P, Wang Y, Holler E, Parhofer KG, Nagel D, Walli AK, Seidel D: Prognostic value of interleukin 6, procalcitonin, and C-reactive protein levels in intensive care unit patients during first increase of fever. *Shock* 26:10–12, 2006.
- Lagrand WK, Niessen HW, Wolbink GJ, Jaspars LH, Visser CA, Verheugt FW, Meijer CJ, Hack CE: C-reactive protein localizes with complement in human hearts during acute myocardial infarction. *Circulation* 95:97–103, 1997.
- Griselli M, Herbert J, Hutchinson WL, Taylor KM, Sohal M, Krausz T, Pepys MB: C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. *J Exp Med* 190:1733–1740, 1999.
- Takahashi T, Anzai T, Kaneko H, Mano Y, Anzai A, Nagai T, Kohno T, Maekawa Y, Yoshikawa T, Fukuda K, et al.: Increased C-reactive protein expression

- exacerbates left ventricular dysfunction and remodeling after myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 299:H1795–H1804, 2010.
28. Ikeda U, Maeda Y, Yamamoto K, Shimada K: C-Reactive protein augments inducible nitric oxide synthase expression in cytokine-stimulated cardiac myocytes. *Cardiovasc Res* 56:86–92, 2002.
 29. Hochman JS: Cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction: expanding the paradigm. *Circulation* 107:2998–3002, 2003.
 30. Maruna P, Nedelnikova K, Gürlich R: Physiology and genetics of procalcitonin. *Physiol Res* 49(suppl 1):S57–S61, 2000.
 31. Nauta AJ, Bottazzi B, Mantovani A, Salvatori G, Kishore U, Schwaeble WJ, Gingras AR, Tzima S, Vivanco F, Egidio J, et al.: Biochemical and functional characterization of the interaction between pentraxin 3 and C1q. *Eur J Immunol* 33:465–473, 2003.
 32. Deban L, Russo RC, Sironi M, Moalli F, Scanziani M, Zambelli V, Cuccovillo I, Bastone A, Gobbi M, Valentino S, et al.: Regulation of leukocyte recruitment by the long pentraxin PTX3. *Nat Immunol* 11:328–334, 2010.
 33. Maugeri N, Rovere-Querini P, Slavich M, Coppi G, Doni A, Bottazzi B, Garlanda C, Cianflone D, Maseri A, Mantovani A, et al.: Early and transient release of leukocyte pentraxin 3 during acute myocardial infarction. *J Immunol* 187:970–979, 2011.
 34. Rey Nores JE, Bensussan A, Vita N, Stelter F, Arias MA, Jones M, Lefort S, Borysiewicz LK, Ferrara P, Labéta MO: Soluble CD14 acts as a negative regulator of human T cell activation and function. *Eur J Immunol* 29:265–276, 1999.
 35. O'Donoghue ML, Glaser R, Cavender MA, Aylward PE, Bonaca MP, Budaj A, Davies RY, Dellborg M, Fox KAA, Gutierrez JAT, et al.: Effect of losmapimod on cardiovascular outcomes in patients hospitalized with acute myocardial infarction: a randomized clinical trial. *JAMA* 315:1591–1599, 2016.
 36. Harjola VP, Lassus J, Sionis A, Køber L, Tarvasmäki T, Spinar J, Parissis J, Banaszewski M, Silva-Cardoso J, Carubelli V, et al.: Clinical picture and risk prediction of short-term mortality in cardiogenic shock. *Eur J Heart Fail* 17:501–509, 2015.



Copyright © 2016 by the Shock Society. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

d. Soluble ST2 levels in patients with cardiogenic and septic shock are not predictors of mortality. Exp Clin Cardiol. 2012

V rámci možnosti prognostikovat a predikovat průběh onemocnění pacientů s KŠ a SŠ a rozlišit systémovou inflamatorní odpověď od již rozvinuté sepse/septického šoku u pacientů s KŠ jsme v rámci výzkumné skupiny vyšetřovali hladiny solubilního ST2 (serum stimulation 2). ST2 má dvě základní varianty na základě aktivace dvou různých promotorů: sST2 je solubilní ligand, který slouží jako receptor pro interleukin 33 (IL33), vycytává jej a tím končí signální dráhu a druhá varianta je transmembránová forma ST2, která potencuje inflamatorní odpověď zprostředkovanou skrze NF- κ B (Nuclear Factor κ B). [188, 189]

Eleované hodnoty solubilního ST2, včetně jejich prediktivní role byly prokázány u pacientů s AIM, v těžké sepsi a v dalších zánětlivých onemocněních. [190, 191] Do doby publikace naší práce nebyly popsány hodnoty solubilního ST2 u pacientů v KŠ a SŠ ani jejich diskriminativní role stran prognózy. Naše hypotéza byla, že hladiny solubilního ST2 (sST2) jsou u pacientů v KŠ a SŠ zvýšené oproti kontrolní skupině pacientů s nekomplikovaným STEMI, navíc, že tyto hodnoty mají prediktivní schopnost diskriminace krátkodobé mortality. Studie a její protokol byla schválena MEK FN Brno a od pacientů byl získán IS, pokud nebylo možné získat, tak od nejbližšího příbuzného. Do studie byli zařazeni pacienti, kteří splnili kritéria septického šoku nebo kardiogenního šoku nebo STEMI. Vyřazovacími kritérii byla malignita, zánětlivé onemocnění, leukopenie (počet leukocytů $< 2,0 \times 10^9/l$), trauma, popáleniny nebo těhotenství v předchozích třech měsících. Vzorky krve byly odebírány v osmi časových bodech, první při příjmu, dále 12 hodin po příjmu, v průběhu 24 od příjmu, ráno 3. den od zařazení do studie a dále 4., 5., 7. den hospitalizace a konečně poslední byl odebírán 3 měsíce od začátku studie. V průběhu studie jsme zařadili celkem 32 pacientů s KŠ, 17 pacientů se SŠ a 61 pacientů se STEMI (kontrolní skupina). Hladiny sST2 byly nejvyšší od příjmu u pacientů se SŠ v porovnání s pacienty s KŠ a STEMI. Cutt-off hodnota sST2 při

příjmu $\geq 210,4$ pg/ml byla dle ROC analýzy schopna rozlišit pacienty se SŠ a KŠ se senzitivitou 82,4% a specificitou 84,4%. Rozlišení mezi skupinou pacientů s KŠ a STEMI bylo statisticky signifikantní na cutt-off hodnotě $>22,2$ pg/ml se senzitivitou 87,5% ale s nízkou specificitou 54,1%. V našem souboru pacientů s KŠ a SŠ jsme nenašli statisticky signifikantní asociaci mezi 3 měsíční mortalitou a hladinami sST2. Statisticky signifikantní vztah jsme prokázali mezi hodnotou BNP a hladinami sST2 u celé kohorty pacientů, ale pouze u příjmových hodnot.

Význam práce je možné dokumentovat tím, že se jednalo o první kohortu pacientů s KŠ a SŠ u kterých byly dokumentovány hodnoty sST2 v průběhu prvního týdne hospitalizace a v horizontu 3 měsíců. V této návaznosti byla práce dosud 19 krát citovaná, včetně několika významných originálních prací a přehledových prací zabývajících se biomarkery u kardiogenního šoku a sepse.

Soluble ST2 levels in patients with cardiogenic and septic shock are not predictors of mortality

Jiri Parenica MD MSc PhD^{1,2,3}, Jan Malaska MD PhD^{2,4}, Jiri Jarkovsky MSc PhD⁵, Jolana Lipkova MSc⁶, Milan Dastych MD PhD^{7,8}, Katerina Helanova MD^{1,2}, Jiri Litzman MD PhD^{9,2}, Josef Tomandl MD PhD¹⁰, Simona Littnerova MSc⁵, Jana Sevcikova MSc⁶, Roman Gal MD PhD^{2,4}, Pavel Sevcik MD PhD^{2,4}, Jindrich Spinar MD PhD^{1,2,3}, Monika Pavkova Goldbergova DSc PhD⁶

J Parenica, J Malaska, J Jarkovsky, et al. Soluble ST2 levels in patients with cardiogenic and septic shock are not predictors of mortality. *Exp Clin Cardiol* 2012;17(4):205-209.

BACKGROUND: Soluble ST2 (sST2) is an interleukin-33 receptor. sST2 was found to be an independent prognostic factor in patients with myocardial infarction, sepsis and heart failure.

OBJECTIVES: To assess sST2 levels in patients with cardiogenic shock (CS) and septic shock (SS), and to evaluate the prognostic value of sST2 for short-term mortality.

METHODS: The present prospective observational study evaluated 32 patients with CS, 17 patients with SS and 61 patients with ST segment elevation myocardial infarction (STEMI) (control group). Samples of serum were collected eight times and the follow-up time was three months.

RESULTS: sST2 levels were elevated from admission in SS patients relative to patients with CS and STEMI, who exhibited peak sST2 levels 24 h after admission. On admission, CS patients had a median (5th percentile; 95th percentile) sST2 level of 62.5 pg/mL (8.3 pg/mL;

315.8 pg/mL) and SS patients had a median sST2 level of 216.4 pg/mL (46.8 pg/mL; 364.4 pg/mL). ROC analysis found sST2 to be a biomarker that could distinguish between CS and SS at admission (area under the curve [AUC] 0.813; $P < 0.01$) with a cut-off value of 210.4 pg/mL. Patients with STEMI had significantly lower sST2 levels at admission (20.3 pg/mL (4.2 pg/mL; 339.8 pg/mL) compared with CS patients. The AUC of the ROC analysis was 0.671 ($P = 0.007$) for the detection of CS in patients with STEMI. Only a weak correlation was observed between sST2 and B-type natriuretic peptide ($r = 0.376$, $P = 0.05$) and sST2 and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide ($r = 0.496$, $P = 0.019$). No statistically significant differences were observed in sST2 levels in patients with CS and SS relative to three-month mortality.

CONCLUSION: Levels of sST2 at admission are significantly higher in patients with SS compared with CS. sST2 could be a diagnostic marker to distinguish SS and CS as well as CS and STEMI at the time of admission. Levels of sST2 are related to levels of natriuretic peptides in CS but not in SS. sST2 levels are not a suitable prognostic marker for patients with CS and SS.

Key Words: *Cardiogenic shock; Circulating levels; Septic shock; ST2*

ST2 is an interleukin (IL)-1 receptor family member with a functionally active transmembrane isoform (ST2L) and a soluble isoform (sST2) that can be detected in human plasma. ST2 is a receptor for IL-33. IL-33 is a potential mediator of several inflammatory diseases through the ST2L signalling pathway (1). IL-33 may also act as a fibroblast-cardiomyocyte signalling system and is upregulated in cardiomyocytes and fibroblasts subjected to biomechanical strain. Increasing IL-33/ST2 signalling can invoke a cardioprotective effect (2). sST2 appears to be a decoy receptor that binds IL-33 and inhibits the membrane ST2 signalling pathway.

In vivo, the cardiac ST2 transcript and serum sST2 protein levels were increased following the induction of myocardial infarction, and serum sST2 levels were inversely correlated with left ventricular function (3). The prognostic value of sST2 levels has been demonstrated in patients with heart failure (4), acute dyspnea (5) and myocardial infarction (6-9). Elevated levels of sST2 were also identified in patients with sepsis, and sST2 levels correlated with disease severity and in-hospital mortality (10).

To date, there is no information regarding sST2 levels and their prognostic value in patients with cardiogenic shock (CS) and septic shock (SS). It has been demonstrated that inflammatory responses play an important role, both in SS and in patients with CS after myocardial infarction (11,12); left ventricular dysfunction is also common in patients with SS (13). CS is complicated in some patients by the development of sepsis, which requires a different treatment strategy. It is difficult to distinguish between an aseptic severe inflammatory response and sepsis in clinical practice. New biomarkers may help to differentiate between these two states.

Based on previous data, we hypothesized that sST2 levels would be elevated in patients with CS and SS compared with a control group of patients with acute ST segment elevation myocardial infarction (STEMI). In addition, we hypothesized that sST2 levels would be prognostic of short-term mortality in shock patients. The aims of the present study were: to measure the levels of sST2 in patients with CS and SS compared with patients with STEMI; to evaluate sST2 as a biomarker for differentiating CS, SS and patients with STEMI with and without shock; and to evaluate sST2 as a prognostic marker in patients with CS and SS.

METHODS

Patients

The present study included patients with CS and STEMI who were hospitalized in the coronary intensive care unit of the internal cardiology department, and patients with SS who were hospitalized in the intensive care unit of the Brno Faculty Hospital (Brno, Czech Republic). Exclusion criteria were malignancy, inflammatory disease, connective tissue disease, leukopenia (white blood cell count $< 2 \times 10^9/L$), trauma, burns or pregnancy during the previous three months. The diagnosis of STEMI was based on the presence of symptoms consistent with a myocardial infarction, in conjunction with appropriate changes observed during electrocardiography (ST segment elevation or new left bundle branch block) and elevation in the levels of markers of myocardial necrosis (troponin T). The diagnosis of acute heart failure was based on clinical signs on hospital admission and/or during hospitalization (Killip class I to IV). CS was defined as

¹Department of Internal Cardiology Medicine, University Hospital Brno; ²Faculty of Medicine, Masaryk University; ³International Clinical Research Centre, Department of Cardiovascular Disease, University Hospital St Anne's; ⁴Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Brno; ⁵Institute of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine; ⁶Institute of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University; ⁷Department of Biochemistry, University Hospital Brno; ⁸Department of Laboratory Methods, Faculty of Medicine, Masaryk University; ⁹Department of Clinical Immunology and Allergology, St Anne's University Hospital; ¹⁰Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Correspondence: Monika Pavkova Goldbergova, Institute of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Kamenice 753/5, Brno 625 00, Czech Republic. Telephone 42-0-54-949-3859, fax 4-20-54-949-4340, e-mail goldberg@med.muni.cz

TABLE 1
Baseline characteristics

Variable	Cardiogenic shock	Septic shock	STEMI	P
Body surface area	32, 1.9 (1.6; 2.3)	17, 2.1 (1.7; 2.3)	61, 2.0 (1.7; 2.3)	0.172
Age, years	32, 60 (41; 83)	17, 65 (26; 73)	61, 61 (48; 78)	0.980
Systolic blood pressure on admission, mmHg	32, 95 (60; 180)	17, 100 (70; 150)	61, 130 (100; 180)	<0.001
Diastolic blood pressure on admission, mmHg	32, 60 (40; 90)	17, 60 (5; 80)	61, 75 (60; 100)	<0.001
Heart rate, beats/min	32, 94 (40; 122)	17, 120 (75; 156)	61, 72 (56; 102)	<0.001
Smoker, n (%)	12 (37.5)	6 (35.3)	22 (36.1)	0.585
Male, n (%)	19 (59.4)	12 (70.6)	45 (73.8)	0.366
Hypertension, n (%)	19 (59.4)	9 (52.9)	35 (57.4)	0.910
Diabetes mellitus, n (%)	15 (46.9)	2 (11.8)	16 (26.2)	0.022
Dyslipidemia, n (%)	20 (62.5)	2 (11.8)	43 (70.5)	<0.001
Chronic obstructive pulmonary disease, n (%)	1 (3.1)	3 (17.6)	0 (0.0)	0.008
Atrial fibrillation, n (%)	2 (6.3)	1 (5.9)	1 (1.6)	0.451
Angiotensin-converting enzyme inhibitor, n (%)	7 (21.9)	2 (11.8)	15 (24.6)	0.490
Beta blockers, n (%)	8 (25.0)	1 (5.9)	12 (19.7)	0.205
Angiotensin II receptor blocker, n (%)	4 (12.5)	2 (11.8)	8 (13.1)	0.988
Diuretics, n (%)	7 (21.9)	2 (11.8)	11 (18.0)	0.669
Invasive ventilation, n (%)	28 (87.5)	17 (100.0)	9 (14.8)	<0.001
Intra-aortic balloon pump, n (%)	13 (40.6)	0 (0)	1 (1.6)	<0.001
Continuous renal replacement therapy, n (%)	2 (6.3)	12 (70.6)	0 (0.0)	<0.001
Left ventricle ejection fraction, %	30; 36 (10; 60)	11; 60 (20; 78)	61; 51 (35; 68)	<0.001
Time from diagnosis to admission, h, median (5th percentile; 95th percentile)	3.2 (0.6; 49.8)	11.8 (1.3; 69.0)	3.3 (1.0; 13.5)	<0.001

Data presented as n, median (5th percentile; 95th percentile) unless otherwise indicated. P values were calculated using the Kruskal-Wallis test or maximum likelihood χ^2 test. STEMI ST segment elevation myocardial infarction

hypotension with systolic blood pressure ≤ 90 mmHg lasting ≥ 30 min despite adequate left ventricular filling (pulmonary capillary wedge pressure or left ventricle end-diastolic pressure >15 mmHg) or if the patient required vasopressor therapy (dopamine ≥ 7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ or norepinephrine ≥ 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) for longer than 30 min to maintain systolic blood pressure ≥ 90 mmHg, due to heart failure confirmed by a low cardiac index (<1.8 L/min/m² to 2 L/min/m²) or using echocardiography (severe left ventricle dysfunction with EF $<40\%$, acute mitral regurgitation or acute septal defect); additionally, patients had signs of tissue hypoperfusion (oliguria <20 mL/h, mottled and cold skin), signs of encephalopathy and acidosis or blood lactate >2 mmol/L (14,15). SS was defined as hypotension with systolic blood pressure ≤ 90 mmHg despite adequate volume resuscitation (intravenous crystalloids at least 30 mL/kg) in patients with proven sepsis and after exclusion of other causes of hypotension (16). The study protocol complied with the Declaration of Helsinki and was approved by the local ethics committee of the Faculty Hospital (Brno, Czech Republic). Written informed consent was obtained from subjects before participation in the study or after regaining consciousness; for patients who failed to regain consciousness, anonymous data were processed with the consent of a relative.

Laboratory methods

Samples of venous blood were obtained at eight time points: sample 1 on hospital admission; sample 2 12 h after hospital admission; sample 3 24 h after hospital admission; sample 4 on the morning of the third day of hospitalization (approximately 48 h after hospital admission); sample 5 on the morning of the fourth day of hospitalization; sample 6 on the morning of the fifth day of hospitalization; sample 7 on the morning of the seventh day of hospitalization; and sample 8 three months after admission. Samples were centrifuged within 5 min to 15 min in a refrigerated centrifuge, and the plasma and serum were stored at -80°C . Both the refrigerated centrifuge and freezer were located in the intensive/coronary care unit. Standard biochemical and hematological blood tests were performed immediately on hospital admission; troponin T (Roche Diagnostics, USA) was assessed 24 h after the onset of chest pain. B-type natriuretic peptide (BNP) levels were analyzed using an AxSYM BNP-microparticle enzyme immunoassay (Abbott Laboratories, USA),

N-terminal proBNP was analyzed using a Cobas E411 NT-proBNP immunoassay kit (Roche Diagnostics, USA) and sST2 was analyzed using a Quantikine Human ST2/IL-1 R4 Kit (R&D Systems, USA). In patients with STEMI, levels of sST2 were analyzed only in samples 1, 2, 3 and 4.

Statistical analysis

Standard descriptive statistics were used for analysis. Continuous parameters were described using the median and 5th and 95th percentile, and the occurrence of categorical parameters were described using n and percentage. Differences between two groups were assessed for statistical significance using the Mann-Whitney test for continuous parameters and the maximum likelihood χ^2 test for categorical parameters. Differences among the three groups were assessed for statistical significance using the Kruskal-Wallis test for continuous parameters.

ROC curves and the area under the curve (AUC) were used to determine whether the parameters were suitable predictors of selected endpoints. The level of statistical significance was set at $\alpha=0.05$. SPSS version 19 (IBM Corporation, USA) for Windows (Microsoft Corporation, USA) was used for data analysis.

RESULTS

Baseline characteristics

All patients were Caucasian. The clinical background and demographic characteristics of the patients are summarized in Table 1. A total of 87.5% patients in the CS group had STEMI and 12.5% of patients had non-STEMI. Baseline laboratory results are presented in Table 2. Compared with CS patients, SS patients had higher levels of creatinine, C-reactive protein (CRP) and procalcitonin. The time from diagnosis to admission was comparable in patients with STEMI and CS, but was significantly longer in SS patients (Table 1).

sST2 levels during hospitalization in patients with CS, SS and STEMI

The peak level of sST2 in CS patients occurred 24 h after admission. Patients with SS had high sST2 levels at admission, and the levels were elevated during the first week. Control patients with STEMI had lower levels of sST2 on admission compared with CS patients; at 12 h and 24 h, sST2 levels were comparable with those of CS patients

TABLE 2
Biochemical characteristics

Variable	Cardiogenic shock	Septic shock	STEMI	P
Creatinine, on admission, $\mu\text{mol/L}$	32, 109 (65; 187)	17, 237 (139; 336)	61, 89 (57; 119)	<0.001
Creatinine, maximum, $\mu\text{mol/L}$	32, 141 (81; 464)	17, 272 (153; 511)	61, 92 (68; 134)	<0.001
Uric acid, $\mu\text{mol/L}$	27, 413 (269; 939)	2, 186 (118; 254)	59, 305 (164; 492)	<0.001
Troponin T, maximum, $\mu\text{g/L}$	20, 3.7 (0.1; 22.0)	7, 0.0 (0.0; 2.0)	22, 2.5 (0.0; 9.1)	0.003
Glycemia on admission, mmol/L	32, 12.0 (6.0; 36.0)	17, 8.0 (3.0; 22.9)	61, 9.0 (6.0; 18.0)	0.002
CRP, maximum, mg/L	26, 175 (19; 321)	17, 325 (164; 480)	44, 37 (4; 287)	<0.001
Hemoglobin, on admission, g/L	32, 143 (108; 163)	17, 96 (71; 155)	61, 144 (109; 164)	<0.001
Leukocytes, on admission	32, 17.0 (6.3; 27.0)	17, 18.0 (1.0; 46.0)	61, 13.0 (8.0; 25.0)	0.019
Lactate, on admission, mmol/L	17, 3.0 (1.0; 20.0)	17, 2.8 (0.9; 20.0)	18, 2.5 (1.0; 6.0)	0.774
Procalcitonin, maximum, $\mu\text{g/L}$	13, 2.0 (1.0; 21.0)	14, 30.5 (2.0; 180)	11, 1.0 (0.0; 34.0)	<0.001
BNP, on admission, pg/mL	27, 221 (26; 1342)	10, 1100 (87; 2030)	55, 59 (15; 343)	<0.001
NT-proBNP, on admission, pg/mL	22, 1340 (44; 16,658)	4, 15,806 (1028; 57,544)	43, 205 (48; 807)	<0.001

Data presented as n, median (5th percentile, 95th percentile), unless otherwise indicated. CRP C-reactive protein; BNP B-type natriuretic peptide; NT-proBNP N-Terminal proBNP; STEMI ST segment elevation myocardial infarction

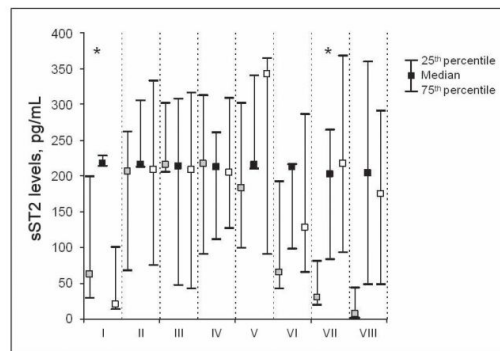


Figure 1 Soluble ST2 (sST2) levels during hospitalization in patients with cardiogenic shock (grey box), septic shock (black box) and ST segment elevation myocardial infarction (white box)

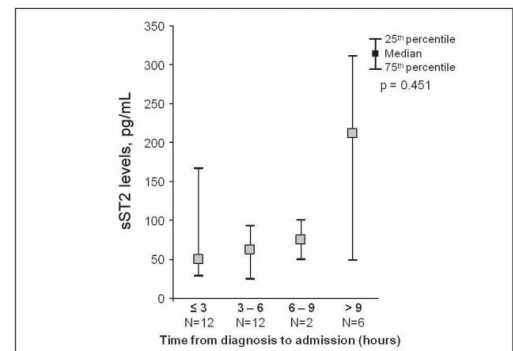


Figure 2 Dependence of soluble ST2 (sST2) levels on time from the onset of myocardial infarction to admission

TABLE 3
ROC analysis to distinguish between cardiogenic shock (CS) and septic shock (SS)

Marker	AUC	P	95% CI	Sensitivity, %	Specificity, %	Positive if		Percentile				
						≤	≥	Group	n	Median	5th	95th
sST2/1, pg/mL	0.813	<0.001	0.688–0.937	82.4	84.4	210.4	≥	CS	32	62.5	8.3	315.8
								SS	17	216.4	46.8	364.4
sST2/2, pg/mL	0.642	0.157	0.453–0.831	87.5	50.0	204.0	≥	CS	18	206.6	8.8	481.9
								SS	16	215.1	55.7	426.3
sST2/3, pg/mL	0.580	0.439	0.377–0.784	66.7	58.8	215.7	≥	CS	17	216.1	29.1	522.2
								SS	15	213.0	22.7	445.3

AUC Area under the curve; sST2/1 Level of sST2 at admission; sST2/2 Level of sST2 12 h after admission; sST2/3 Level of sST2 24 h after admission

(Figure 1). The level of sST2 on admission depended on the amount of time that had passed from the onset of the myocardial infarction to admission (the time of first sampling), as demonstrated in Figure 2.

Differences in sST2 levels between patients with CS and SS

ROC analysis was performed to distinguish CS from SS at 24 h after admission using sST2 levels. Patients with SS had significantly higher levels at admission, and a cut-off value of ≥ 210.4 pg/mL at admission was sufficient to distinguish SS from CS with a sensitivity of 82.4% and a specificity of 84.4% (Table 3).

Differences in sST2 levels between patients with CS and STEMI without shock

Patients with CS had significantly higher levels of sST2 compared with the control STEMI group; however, this was true only at

admission. ROC analysis revealed a statistically significant result for the detection of CS, with a sensitivity 87.5% but with a low specificity of 54.1% for a cut-off of >22.2 pg/mL (Table 4).

sST2 levels and mortality

No statistically significant differences in sST2 levels in patients with CS and SS according to three month mortality rate were observed (Table 5).

Correlation of sST2 levels with other biochemical parameters

A significant correlation between natriuretic peptide levels and sST2 levels was found, but only at admission, in the entire cohort of patients ($r_s=0.411$; $P<0.001$ for BNP, and $r_s=0.441$; $P<0.001$ for NT-proBNP). The only significant correlation observed was for CS patients at admission, between sST2 levels and BNP ($r_s=0.376$; $P=0.05$) and sST2 levels and NT-proBNP ($r_s=0.496$; $P=0.019$). No significant correlations were

TABLE 4
ROC analysis to distinguish cardiogenic shock (CS) in patients with ST segment elevation myocardial infarction (STEMI)

Marker	AUC	P	95% CI	Sensitivity, Specificity,		Positive if		Group	n	Median	Percentile	
				%	%	≤	≥				5th	95th
sST2/1, pg/mL	0.671	0.007	0.558–0.783	87.5	54.1			STEMI	61	20.3	4.2	339.8
								CS	32	62.5	8.3	315.8
sST2/2, pg/mL	0.556	0.569	0.365–0.746	44.4	66.7	137.2		STEMI	18	208.5	14.0	791.7
								CS	18	206.6	8.9	481.9
sST2/3, pg/mL	0.535	0.760	0.301–0.768	70.6	54.5			STEMI	11	208.5	21.9	369.2
								CS	17	216.1	29.1	522.2

AUC Area under the curve; sST2/1 Level of sST2 on admission; sST2/2 Level of sST2 12 h after admission; sST2/3 Level of sST2 24 h after admission

TABLE 5
Soluble ST2 (sST2) levels in patients with cardiogenic shock (CS) and septic shock (SS) according to survival

Marker	n	Median	Percentile		P, alive versus deceased	
			5th	95th	CS	SS
sST2/1, pg/mL						
CS alive	20	49.5	6.2	278.9	0.228	0.336
CS deceased	12	116.2	22.9	320.6		
SS alive	8	214.1	46.8	352.1		
SS deceased	9	217.8	97.9	364.4		
STEMI	61	20.3	4.2	339.8		
sST2/2, pg/mL						
CS alive	12	214.0	12.8	481.9	0.851	0.674
CS deceased	6	165.3	8.9	315.0		
SS alive	8	214.5	118.1	358.4		
SS deceased	8	215.9	55.7	426.3		
STEMI	18	208.5	14.0	791.7		
sST2/3, pg/mL						
CS alive	11	215.8	29.8	522.2	0.688	0.083
CS deceased	6	247.8	29.1	312.0		
SS alive	8	248.8	28.1	445.3		
SS deceased	7	212.2	22.7	307.8		
STEMI	11	208.5	21.9	369.2		

sST2/1 Level of sST2 on admission; sST2/2 Level of sST2 12 h after admission; sST2/3 Level of sST2 24 h after admission; STEMI ST segment elevation myocardial infarction

found between sST2 levels and other biochemical parameters including troponin T, creatinine, CRP, procalcitonin and glycemia.

DISCUSSION

To the best of our knowledge, the present study was the first to evaluate sST2 levels in a cohort of patients with CS and SS. The main findings of our study can be summarized as follows: Levels of sST2 are significantly higher in patients with SS compared with patients with CS, but only on admission; sST2 could be used as a laboratory diagnostic marker to distinguish between SS and CS on admission; Although the results of a ROC analysis evaluating CS in patients with STEMI on hospital admission were statistically significant, it is not likely to be useful in clinical practice because of its low specificity (54.1%), despite a sensitivity of 87.5%.

We consider it very important to note that the control group consisted of patients with acute myocardial infarction without severe heart failure. We demonstrated that sST2 levels in this group were similar to levels in patients with CS or in patients with severe inflammatory disease.

Previous studies have demonstrated that the production of ST2 is induced by mechanical strain in cardiac myocytes (3), in a state of systolic failure of the left ventricle (17) and in patients with an inflammatory disease such as asthma (18), systemic lupus erythematosus (19), rheumatoid arthritis (20), pneumonia or sepsis (10,17). Elevated sST2 levels were also observed during myocardial infarction and its levels

predicted short- and long-term prognosis (7-9). Interaction of IL-33 with the transmembrane ST2 receptor induces the production of inflammatory mediators. IL-33 has also been shown to be a biomechanically induced protein in the heart that is synthesized by cardiac fibroblasts and antagonizes angiotensin II- and phenylephrine-induced hypertrophy. sST2 blocked the antihypertrophic effects of IL-33, indicating that sST2 functions as a soluble decoy receptor in the myocardium (21). Therefore, elevated levels of sST2 after myocardial infarction can serve as a simple negative prognostic factor and, in addition, the substance that can produce negative effects by binding to IL-33 and blocking the positive effects of the IL-33/LST2 signalling pathway, which prevents cardiomyocyte apoptosis and improves cardiac function and survival after myocardial infarction (21,22).

In the present study, we found a significant but weak correlation between sST2 and other biomarkers associated with left ventricle overload (ie, BNP and NT-proBNP) in patients with CS. We did not observe a similar correlation in patients with SS. This may be due to the limited number of SS patients or due to a different mechanism by which BNP increases in SS. High initial levels of BNP, which are routinely observed, may be related not only to left ventricular dysfunction occurring in patients with SS, but also to changes in BNP clearance (23).

The relatively small number of patients in the STEMI group and/or ischemia-related release of BNP may be reasons for why no correlation between sST2 and BNP was observed in the STEMI group. Similar results have been observed by other researchers. Weir et al (24) reported a correlation between sST2 and norepinephrine and aldosterone, but no correlation with NT-proBNP; similarly, Shimpo et al (9) did not observe a correlation between sST2 and BNP in patients after STEMI. These results suggest that biomechanical stress linked to the left ventricle during STEMI or CS is not the leading inducer of sST2 production. This is also supported by our findings of similar levels of sST2 in patients with CS and with STEMI at 12 h and 24 h after admission (Table 4). In patients with CS, the level of sST2 at admission likely depends on the amount of time between the onset of myocardial infarction and the first sST2 sampling, as shown in Figure 2.

High levels of sST2 in patients with CS and SS may be related to stimulation by IL-1 beta (IL-1β), IL-6 or tumor necrosis factor-alpha (25). IL-1β has been demonstrated to be a strong inducer of sST2 production (3), and the proinflammatory cytokine IL-1β is increased during both CS and SS (26,27). The induction of sST2 production by IL-6 is supported by observations made by Brunkhorst et al (28) that baseline levels of IL-6 were highest in SS patients while peak levels of IL-6 in CS patients appeared at 24 h (29).

Elevated levels of ST2 have been found in several inflammatory diseases, and we believe that there is an association between sST2 and CRP or procalcitonin. While such an association was not revealed in our study, it is possible that it was masked by the limited number of patients evaluated, or perhaps there is only a weak correlation between sST2 and CRP (r=0.10, P=0.007) as reported in a previous study in patients after STEMI (9).

The literature contains only limited data regarding the relationship between sepsis and sST2 levels. Hoogerwerf et al (10) evaluated

a cohort of patients with sepsis, but not with SS. Correlations between sST2 levels and disease severity and mortality were found. However, no differences were found regarding infectious sources. Peak levels were observed on the second day. Nonsurvivors exhibited elevated sST2 levels compared with survivors. We believe that our patients in SS were in a more prognostically serious condition compared with patients with sepsis without shock, and the prognostic values of sST2 were overshadowed and affected by other conditions such as acute kidney injury, multiorgan failure or continuous renal replacement therapy. Higher sST2 levels in patients with SS compared with CS or STEMI patients may have been caused by a longer time between diagnosis of SS and the first blood sample (11.8 h compared with 3.2 h in CS patients or 3.3 h in STEMI patients) (Table 1).

The present study had several important limitations, primarily the limited number of patients. Patients with STEMI were used as a control cohort; however, having a healthy control group would have been useful. Finally, longer times between the onset of SS and the first samples, taken at admission to ICU, compared with CS or STEMI patients, is a limitation that affects a direct comparison of results.

REFERENCES

- Dinarello CA. An IL-1 Family member requires caspase-1 processing and signals through the ST2 receptor. *Immunity* 2005;23:461-2.
- Kakkar R, Lee RT. The IL-33/ST2 pathway: Therapeutic target and novel biomarker. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7:827-40.
- Weinberg EO, Shimpo M, De Keulenaer GW et al. Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction. *Circulation* 2002;106:2961-6.
- Weinberg EO, Shimpo M, Hurwitz S, Tominaga Si, Rouleau JL, Lee RT. Identification of serum soluble ST2 receptor as a novel heart failure biomarker. *Circulation* 2003;107:721-6.
- Januzzi Jr JL, Peacock WF, Maisel AS, et al. Measurement of the interleukin family member ST2 in patients with acute dyspnea: Results from the PRIDE (Pro-Brain Natriuretic Peptide Investigation of Dyspnea in the Emergency Department) Study. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:607-13.
- Dhillon OS, Narayan HK, Quinn PA, Squire IB, Davies JE, Ng LL. Interleukin 33 and ST2 in non-ST-elevation myocardial infarction: Comparison with Global Registry of Acute Coronary Events Risk Scoring and NT-proBNP. *Am Heart J* 2011;161:1163-70.
- Eggers KM, Armstrong PW, Califf RM, et al. ST2 and mortality in non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Am Heart J* 2010;159:788-94.
- Sabatine MS, Morrow DA, Higgins LJ, et al. Complementary roles for biomarkers of biomechanical strain ST2 and N-terminal prohomone B-type natriuretic peptide in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Circulation* 2008;117:1936-44.
- Shimpo M, Morrow DA, Weinberg EO, et al. Serum levels of the interleukin-1 receptor family member ST2 predict mortality and clinical outcome in acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;109:2186-90.
- Hoogerwerf J, Tanck M, van Zoelen M, Wittebole X, Laterre PF, van der Poll T. Soluble ST2 plasma concentrations predict mortality in severe sepsis. *Intensive Care Med* 2010;36:630-7.
- Kohsaka S, Menon V, Low AM, et al. Systemic inflammatory response syndrome after acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Arch Intern Med* 2005;165:1643-1.
- Reynolds HR, Hochman JS. Cardiogenic shock: Current concepts and improving outcomes. *Circulation* 2008;117:686-97.
- Bouhemad B, Nicolas-Robin A, Arbelot C, Arthaud M, Féger F, Rouby JJ. Acute left ventricular dilatation and shock-induced myocardial dysfunction. *Crit Care Med* 2009;37:441-7.
- Task FM, Van de Werf F, Bax J, et al. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2008;29:2909-45.
- Alexander JH, Reynolds HR, Stebbins AL, et al. Effect of tilarginine acetate in patients with acute myocardial infarction and cardiogenic shock. *JAMA* 2007;297:1657-66.
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003;31:1250-6.
- Manzano-Fernández S, Mueller T, Pascual-Figal D, Truong Q, Januzzi J. Usefulness of soluble concentrations of interleukin family member ST2 as predictor of mortality in patients with acutely decompensated heart failure relative to left ventricular ejection fraction. *Am J Cardiol* 2011;107:259-67.
- Oshikawa K, Kuroiwa K, Tago K, et al. Elevated soluble ST2 protein levels in sera of patients with asthma with an acute exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:277-81.
- Kuroiwa K, Arai T, Okazaki H, Minota S, Tominaga S. Identification of human ST2 protein in the sera of patients with autoimmune diseases. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;284:1104-8.
- Hong YS, Moon SJ, Joo YB, et al. Measurement of interleukin-33 (IL-33) and IL-33 receptors (sST2 and ST2L) in patients with rheumatoid arthritis. *J Korean Med Sci* 2011;26:1132-9.
- Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, Schreier ER, McKenzie AN, Lee RT. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *J Clin Invest* 2007;117:1538-49.
- Seki K, Sanada S, Kudinova AY, et al. Interleukin-33 prevents apoptosis and improves survival after experimental myocardial infarction through ST2 signaling. *Circ Heart Fail* 2009;2:684-91.
- Pirracchio R, Deye N, Lukaszewicz AC, et al. Impaired plasma B-type natriuretic peptide clearance in human septic shock. *Crit Care Med* 2008;36:2542-6.
- Weir RA, Miller AM, Murphy GE, et al. Serum soluble ST2: A potential novel mediator in left ventricular and infarct remodeling after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:243-250.
- Kumar S, Tzimas MN, Griswold DE, Young PR. Expression of ST2, an interleukin-1 receptor homologue, is induced by proinflammatory stimuli. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;235:474-8.
- de Pablo RI, Monserrat J, Reyes E, et al. Mortality in patients with septic shock correlates with anti-inflammatory but not proinflammatory immunomodulatory molecules. *J Intensive Care Med* 2011;26:125-32.
- Debrunner M, Schuiki E, Minder E. Proinflammatory cytokines in acute myocardial infarction with and without cardiogenic shock. *Clin Res Cardiol* 2008;97:298-305.
- Brunkhorst FM, Clark AL, Forycky ZF, Anker SD. Pyrexia, procalcitonin, immune activation and survival in cardiogenic shock: The potential importance of bacterial translocation. *Int J Cardiol* 1999;72:3-10.
- Pudil R, Krejsek J, Pidman V, Gregor J, Tichy M, Bures J. Inflammatory response to acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2001;44:149-151.

CONCLUSION

Levels of sST2 at admission were significantly higher in patients with SS compared with CS patients. sST2 can be used, at the time of admission, as a laboratory diagnostic marker for a laboratory distinction between SS and CS as well as CS and STEMI. Levels of sST2 are related to levels of natriuretic peptides in CS but not in SS. sST2 levels are not a suitable prognostic marker in patients with CS and SS.

ACKNOWLEDGEMENTS: This work was supported by the Internal Grant Agency of the Ministry of Health, IGA NS 9894-4. The authors are indebted to all local physicians and nursing staff, especially to Ludmila Dostalova, Katarina Marcinechova, Jitka Bilkova, Jana Polaskova, Hana Senkova, Hana Kourilova, Lucie Kostkova and Veronika Smekalova (University Hospital Brno), Jaroslav Michalek, and to patients who participated in this study.

COMPETING INTEREST: The authors have no competing interests to declare. All authors read and approved the final manuscript.

- e. *Prognostic value of oxidative stress in patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock: A prospective cohort study. Free Radic Biol Med. 2021*

V průběhu rozvoje šoku a oběhového selhání dochází nejen k aktivaci inflamatorních mediátorů, ale také ke zvýšenému oxidačnímu stresu. Tento mechanismus je významný zejména v důsledku poškození obecně při tzv. ischemii/reperfuzi (I/R poškození). U pacientů s AIM se konkrétně jedná o AIM a následné reperfuzi pomocí perkutánní koronární intervence (PCI). V důsledku tohoto vzniká významná produkce ROS, která je nejen produkována reperfundovaným myokardem, ale i ostatními orgány, které v průběhu rozvoje šoku mohly být hypoperfundované. [192] Dalším významným zdrojem produkce ROS bývá přímý vliv systémové inflamace, zejména v aktivovaném endotelu a v poškozených tkáních, stejně jako únik elektronů z transportního řetězce v mitochondriích způsobený významnou stimulací nikotinamidadeninukleotidfosfát (NADPH) oxidázami a xantin oxidázami. [193] ROS přímo poškozuje komponenty buněk, zejména proteiny, lipidy a nukleové kyseliny. Výsledkem na úrovni kardiomyocytů je nejen změna permeability a kontraktility, ale i aktivace apoptotických drah. [194] To dále přispívá ke snížení srdečního výdeje a zpětnovazebním mechanismem také k poškození dalších orgánů a v konečném důsledku k rozvoji syndromu multiorgánového selhání (MOF) a smrti. Detekce těchto reaktivních forem kyslíku, tedy např. superoxid, hydroxylový radikál a peroxid vodíku, není vzhledem k jejich nestabilitě v rutinní klinické praxi možná, proto se používají náhradní markery, které je možné detekovat a jsou pro použití vzhledem ke své stabilitě více vhodné, např. oxidised guanine species (OGS) a další. Cílem studie bylo zjistit rozsah a dynamiku průběhu oxidačního stresu u pacientů se STEMI komplikovaném KŠ a zhodnotit prognostický význam biomarkerů spojených s oxidačním stresem. Do studie byli zařazeni pacienti, kteří splnili daná kritéria STEMI a zároveň KŠ. Samozřejmostí bylo schválení MEK FN Brno a

podepsání IS pacientem nebo osobou blízkou, v případě nenabytí vědomí. Exclusion kritérii bylo známá nebo nově diagnostikovaná malignita, chronické zánětlivé onemocnění nebo onemocnění pojiva, onemocnění, které není kardiovaskulární, ale které limituje pacienta v prognóze v horizontu jednoho roku a pacienti, kteří nedodržovali léčbu. Vzorky krve byly odebírány v intervalech: ihned po přijetí před provedením PCI, 12 a 24 hodin po přijetí a ráno den 3., 4., 5., 7. Ve vzorcích byly stanovované přímo vybrané biomarkery oxidativního stresu – OGS (konkrétně malondialdehyd (MDA), 8-hydroxy-2'-deoxyguanosin (8-OHdG) a 8-hydroxyguanosine (8-OHG), které reflektují oxidativní poškození deoxyribonukleové kyseliny (DNA) a ribonukleové kyseliny (RNA). Dále byla vyšetřována celková aktivita antioxidantů v plazmě (TAC) pomocí tzv FRAP assay (Ferric ion Reducing Antioxidant Power), aktivita antioxidantních enzymů (Cu/Zn-superoxid dismutáza (SOD) a glutathion peroxidáza 3 (GPx3)) a antioxidant glutathion (GSH). Do studie bylo nakonec zařazeno 82 pacientů se STEMI komplikovaným KŠ a 3 měsíční mortalita v našem souboru byla 46% (38 pacientů). Nejvyšší hodnoty OGS byly hned při přijetí, které klesaly a nadir byl dosažen během prvních 48 hodin a další vrchol v den 7. Celková antioxidantní aktivita měřená pomocí FRAP dosahovala vrchol 12 hodin po příjmu, nadir den 5. a opět den 7. vzestup. Hladiny GSH u pacientů s KŠ klesaly k minimu 24 hodin po příjmu a byl pozorován návrat k normálu cca v den 4. Vrcholové hladiny GPX3 byly měřeny v den 4. A byly signifikantně vyšší než při příjmu. Ve vztahu k predikci 3 měsíční mortality byly v práci prokázány perzistující hladiny OGS, FRAP a SOD při příjmu a po dobu 12 hodin. Práce ukázala, že výše zmíněné hodnoty odebrané za 12 hodin po příjmu mohou u pacientů se STEMI sloužit jako časné prediktory rozvoje kardiogenního šoku.



Prognostic value of oxidative stress in patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock: A prospective cohort study

Marie Tomandlova^a, Jiri Parenica^{b,c}, Petr Lokaj^{b,c}, Tomas Ondrus^{b,c}, Petr Kala^{b,c}, Marie Miklikova^{b,c}, Katerina Helanova^{b,c}, Martin Helan^{c,d}, Jan Malaska^{c,e}, Klara Benesova^f, Jiri Jarkovsky^f, Monika Pavkova Goldbergova^g, Josef Tomandl^{a,*}

^a Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

^b Department of Cardiology, University Hospital Brno, Brno, Czech Republic

^c Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

^d Department of Anaesthesiology and Intensive Care, St. Anne's University Hospital, Czech Republic

^e Department of Anaesthesiology and Intensive Care, University Hospital Brno, Czech Republic

^f Institute of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

^g Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

ARTICLE INFO

Keywords:

Cardiogenic shock
Reactive oxygen species
Oxidised guanine species
8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine
Malondialdehyde
FRAP
Cu/Zn-superoxide dismutase
Glutathione peroxidase
Glutathione

ABSTRACT

Introduction: Cardiogenic shock is a frequent complication of acute myocardial infarction. Similar to ischemia/reperfusion injury, excessive production of reactive oxygen species can be expected in those who experience cardiogenic shock. The aims of this study were to describe the extent and time course of oxidative stress and evaluate the prognostic value of oxidative stress markers in patients who experienced ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) complicated by cardiogenic shock.

Methods: Plasma/serum levels of selected biomarkers of oxidative stress (oxidised guanine species (OGS), malondialdehyde, and glutathione peroxidase 3) and markers, which simultaneously reflect severe cellular damage (ferric ion reducing antioxidant power (FRAP), Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD), and glutathione) were measured seven times per week in a prospective cohort of 82 patients with STEMI complicated by cardiogenic shock.

Results: We found elevated OGS levels in patients who died during three months, which persisted significantly increased the next 12 h compared to surviving patients. A similar time course pattern also exhibited concentrations of FRAP and SOD. The other markers did not change significantly and did not show differences between surviving and non-surviving patients during the monitored period. In addition, a strong relationship between OGS, FRAP, and SOD levels (on admission and 12 h after admission) and 3-month mortality was found.

Conclusion: Levels of OGS, FRAP, and SOD within 12 h after hospital admission were revealed as early predictors of the adverse development of STEMI complicated by cardiogenic shock.

1. Introduction

Under physiological conditions, regulated production of reactive oxygen species (ROS) in the cardiovascular system is involved in redox communication among cardiomyocytes, fibroblasts, and endothelial cells [1]. Ischemia (myocardial infarction [MI]) and subsequent

reperfusion (via percutaneous coronary intervention [PCI]) lead to excessive production of ROS, which is the main contributor to cardiac reperfusion injury [2]. Cardiogenic shock (CS) is characterised by diminished cardiac output, end-organ hypoperfusion, and hypoxia. An important point of view is that haemodynamic derangements are not the sole factors in the pathophysiology of CS. Others, such as

Abbreviations: CS, cardiogenic shock; EF, ejection fraction; FRAP, ferric ion reducing antioxidant power; GPX3, glutathione peroxidase 3; GSH, glutathione; LVEF, left ventricular ejection fraction; LVEDP, left ventricular end-diastolic pressure; MDA, malondialdehyde; MI, myocardial infarction; OGS, oxidised guanine species; 8-OHdG, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; PCI, percutaneous coronary intervention; ROS, reactive oxygen species; SBP, systolic blood pressure; SOD, Cu/Zn-superoxide dismutase; STEMI, ST-segment elevation myocardial infarction; TAC, total antioxidant capacity.

* Corresponding author. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Masaryk University, Kamenice 753/5, Brno, 625 00, Czech Republic.

E-mail address: tomandl@med.muni.cz (J. Tomandl).

<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.07.040>

Received 26 April 2021; Received in revised form 14 July 2021; Accepted 30 July 2021

Available online 2 August 2021

0891-5849/© 2021 Elsevier Inc. All rights reserved.

neurohormonal (e.g., catecholamines, vasopressin, angiotensin II), inflammatory (e.g. interleukin IL-6, tumour necrosis factor- α , nitric oxide), and metabolic (e.g., lactate, uric acid) mediators also have crucial roles and should be considered [3]. Moreover, ROS overproduction can be expected in CS [4], and the myocardium and other organs may be undesirably affected by these species.

Overproduction of ROS (e.g., superoxide [O_2^-], hydroxyl radical [OH], and hydrogen peroxide [H_2O_2]) is the result of several different molecular mechanisms, including leakage of electrons from the electron transport chain, by significant stimulation of NADPH oxidases and xanthine oxidase, or inflammatory processes in damaged tissue [2,5]. The toxic effect of ROS leads to damage of cell components, including proteins, lipids, and nucleic acids. The consequences are not merely changes in the permeability of membranes and cardiomyocyte contractility, but also intracellular signalling, leading to necrotic or apoptotic cardiomyocyte death [2,6]. These pathophysiological mechanisms lead to a typical clinical picture with the progression of left ventricular dysfunction, progressive hypotension, and multi-organ failure [7].

ROS are very unstable molecules, and their determination is difficult in routine clinical practice; therefore, ROS levels are assessed using appropriate surrogate markers. In our study, we quantified several types of markers to describe oxidative stress, namely, molecules resulting from the modification of cell structures by ROS (oxidised guanine species [OGS] encompassing 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine [8-OHdG], 8-hydroxyguanosine, and 8-hydroxyguanine; malondialdehyde [MDA]), cumulative action of antioxidants present in plasma (total antioxidant capacity [TAC]), antioxidant enzymes (Cu/Zn-superoxide dismutase [SOD], glutathione peroxidase 3 [GPX3]), and antioxidant molecule (glutathione [GSH]).

OGS are a product of oxidatively damaged DNA (8-OHdG and 8-hydroxyguanine) or RNA (8-hydroxyguanosine and 8-hydroxyguanine) [8,9]. They are removed from DNA or RNA through specific repair mechanisms and released into the bloodstream [9,10]. 8-OHdG is the most studied OGS in patients with heart failure [11] or cardiovascular disease [12]. MDA is a product of polyunsaturated fatty acid peroxidation. This aldehyde can interact with proteins and nucleic acid bases to form various adducts; only low amounts of MDA are present in the free form [13,14]. TAC corresponds to the cumulative action of all the antioxidants in plasma, which contribute to ROS elimination. The ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay [15] has been used to evaluate TAC. Among antioxidant enzymes, SOD is involved in the primary mechanism for the clearance of superoxide anions, and GPX3 is a major antioxidant enzyme in the plasma involved in the elimination of extracellular H_2O_2 and lipid peroxides with the participation of GSH as a cofactor.

The aims of the present study were to assess the extent and time course of oxidative stress and evaluate the prognostic value of biomarkers associated with oxidative stress in patients with ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) complicated by CS.

2. Methods

2.1. Study population

The study cohort consisted of 82 patients with STEMI complicated by CS admitted to the Coronary Care Unit of the Cardiology Department of the University Hospital Brno (Brno, Czech Republic). Exclusion criteria were as follows: known or newly diagnosed malignancy; inflammatory or connective tissue disease; disease(s) other than a cardiovascular disease that would clearly limit the 1-year prognosis; and non-compliance with treatment. The study protocol complied with the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of the University Hospital Brno. Written informed consent was obtained from all subjects before participation in the trial or after regaining consciousness. For patients who failed to regain consciousness, anonymous data were

processed with the consent of a relative.

The diagnosis of STEMI was made based on MI symptoms, appropriate electrocardiographic changes, and elevated cardiac troponin levels. Only patients with time from onset of chest pain to primary PCI < 12 h were evaluated. Left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP) was measured before left ventricular angiography using a 5 Fr fluid-filled pigtail catheter. CS was defined as hypotension in those with systolic blood pressure (SBP) \leq 90 mmHg lasting \geq 30 min despite adequate left ventricular filling (pulmonary capillary wedge pressure or LVEDP > 15 mmHg), or if the patient required vasopressor therapy (dopamine \geq 7 μ g/kg/min or norepinephrine \geq 0.15 μ g/kg/min) > 30 min to maintain SBP \geq 90 mmHg due to heart failure confirmed by a low cardiac index (< 2 L/min/m²), or echocardiography (left ventricle dysfunction with ejection fraction [EF] < 40%, acute mitral regurgitation or acute septal defect), or if the patient exhibited signs of tissue hypoperfusion (oliguria < 20 mL/h; mottled and cold skin; signs of encephalopathy; acidosis or blood lactate > 2 mmol/L) [16,17].

Patients were monitored prospectively in the Cardiology Outpatient Department of the University Hospital Brno. Three-month mortality was assessed in all patients.

2.2. Laboratory methods

Venous blood samples were collected at seven-time points: immediately on hospital admission before coronary angiography and primary PCI (median 3 h from onset of chest pain); 12 h and 24 h after hospital admission; the morning of the third day, approximately 48 h after hospital admission; the morning of the fourth day, approximately 72 h after hospital admission; the morning of the fifth day, approximately 96 h after hospital admission; and the morning of the seventh day. After centrifugation, serum and EDTA-plasma samples were aliquoted and immediately stored at -80 °C until analysis. Standard biochemical blood tests were performed on hospital admission, while other tests were performed within one to four months.

Evaluation of cardiac troponin levels was part of routine clinical care; cardiac troponin I was measured in the first part of the study, and in the second part of the study high-sensitivity cardiac troponin T. Cardiac troponin I levels were analysed using a contemporary AxSYM Troponin-I ADV kit (Abbott Laboratories, Chicago, IL, USA), the limit of detection (LOD) was 0.02 ng/mL, and the inter-assay coefficient of variation (CV) was below 9%. Cardiac troponin T levels were analysed using a high-sensitivity assay (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland), the LOD 5 ng/L, the inter-assay CV < 10%. The cut-off value of troponin I and troponin T had been used 0.2 ng/mL and 14 ng/L, respectively.

Serum levels of OGS were measured using a competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Cayman Chemicals, Ann Arbor, MI, USA); the kit is highly specific for 8-OHdG, the LOD 33 pg/mL, the inter-assay CV < 11%. Serum levels of SOD were measured using a commercially available ELISA kit (Bender MedSystems, Wien, Austria), the LOD 0.04 ng/mL, the inter-assay CV < 8%. Serum GPX3 levels were determined using an ELISA kit (Adipogen, San Diego, CA, USA), the LOD 100 pg/mL, the inter-assay CV < 5%. Plasma levels of MDA were measured using reversed-phase high-performance liquid chromatography (HPLC) with fluorescent detection (Shimadzu 10A series HPLC System, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) after derivation by thio-barbituric acid [18]. The LOD was determined to be 0.01 μ mol/L, the inter-assay CV < 4.2%. Plasma levels of total GSH were measured using reversed-phase HPLC with fluorescent detection as described by Vester and Rasmussen [19]. The LOD was found to be 0.06 μ mol/L, the inter-assay CV < 3.2%. FRAP was measured using the colorimetric method described by Benzie and Strain [15] with modification of the assay in a 96-well format and using ascorbic acid as the standard. The LOD was determined to be 10 μ mol/L, and the inter-assay CV < 2.9%.

2.3. Statistical methods

Standard descriptive statistics were applied in the analysis – absolute and relative frequencies for categorical variables and median with interquartile range for quantitative variables. A non-parametric approach was chosen because the data were not normally distributed as tested by the Shapiro-Wilk test. Differences among the groups were analysed using the Fisher's exact test for categorical variables and the Mann-Whitney test for quantitative variables. The Wilcoxon paired test was applied to evaluate differences between time points. Receiver operating characteristic (ROC) curve analyses were used to describe the predictive power of the variables and the identification of optimal cut-off points using Youden's J statistic. Analyses were performed using SPSS version 22 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). The level of significance was set at $\alpha = 0.05$.

3. Results

3.1. Study population

A total of 82 patients with STEMI complicated by CS were evaluated. The baseline characteristics of the patients according to 3-month mortality are summarised in Table 1. Thirty-eight (46%) patients died during the three months after admission. On hospital admission, non-survivors were older, more often had diabetes mellitus, hypertension, lower SBP and left ventricular ejection fraction (LVEF), higher troponin I peak value or troponin T peak value (a maximum value of the ratio troponin level/troponin cut-off value), glycemia, and creatininemia. In addition, non-survivors were treated more frequently with invasive ventilation, intra-aortic balloon pump, and inotropic drugs than survivors.

3.2. Time course of biomarkers in the studied cohort of patients with STEMI complicated by CS

The time course of biomarkers changes in the total studied population of STEMI patients with CS is shown in Table 2 and Supplemental Table. Peak values of OGS were found on admission; during next 48 h OGS levels significantly were decreased to the minimum ($P < 0.001$) and then again followed their significant increase (the 7th day; $P < 0.01$). FRAP reached peak values 12 h after admission, minimum values were found on the fifth day ($P < 0.001$), and at the end of the monitored period followed a significant increase (the 7th day; $P < 0.01$). Peak values of SOD were on admission, then followed a gradual decrease to minimal values on the fourth day after admission ($P = 0.001$). Initial GSH levels in patients with CS fell to a minimum within 24 h after admission ($P < 0.01$) and returned to the initial levels after the 4th day after admission. Peak levels of GPX3 were reached on the fourth day, and they were significantly higher than levels upon admission ($P = 0.01$). MDA levels did not exhibit significant changes during hospitalisation.

3.3. Time course of biomarkers with regard to survival at three months since admission

The time course of biomarkers changes in patients with CS according to 3-month mortality are shown in Fig. 1, Table 2 and Supplemental Table.

Peak values of OGS in non-surviving patients were found on admission, while in surviving patients 24 h after admission. During three days after admission, OGS values significantly dropped in both surviving and non-surviving patients ($P < 0.02$ and $P < 0.01$, respectively). Non-surviving patients exhibited significantly higher OGS levels in the first 12 h compared with surviving patients (Fig. 1a, Table 2).

Both groups exhibited the highest FRAP values in the first 24 h and then were decreased in both groups during following five days.

Table 1
Baseline characteristics of STEMI-related cardiogenic shock patients according to 3-month mortality.

	Alive at 3 months (n = 44)	Deceased at 3 months (n = 38)	P
Male	28 (63.6)	26 (68.4)	0.816
Age, years	63 (56; 69)	69 (60; 76)	0.025
BMI, kg/m ²	27 (24; 28)	28 (24; 29)	0.907
Systolic BP upon admission, mmHg	108 (88; 145)	95 (80; 120)	0.049
Diastolic BP upon admission, mmHg	68 (50; 83)	60 (59; 80)	0.229
Heart rate upon admission, /min	92 (65; 105)	88 (70; 101)	0.773
CPR before admission [§]	15 (57.7)	16 (45.7)	0.440
Hypertension	19 (43.2)	25 (65.8)	0.048
Diabetes mellitus	14 (31.8)	22 (57.9)	0.026
History of IHD	11 (25.0)	8 (21.1)	0.795
History of stroke or TIA	4 (9.1)	5 (13.2)	0.726
COPD	2 (4.5)	2 (5.3)	0.999
ACEI/AT2 upon admission	18 (40.9)	16 (42.1)	0.999
Beta-blockers upon admission	14 (31.8)	13 (34.2)	0.999
Diuretics upon admission	7 (15.9)	11 (28.9)	0.187
Invasive ventilation	28 (63.6)	33 (86.8)	0.022
IABP	11 (25.0)	19 (50.0)	0.023
Inotropes	18 (40.9)	31 (81.6)	< 0.001
Vasopressors	43 (97.7)	37 (97.4)	0.999
IRA – LAD/left main [§]	24 (58.5)	13 (39.4)	0.160
PCI IRA	40 (90.9)	31 (81.6)	0.331
LVEDP max, mmHg	25 (18; 34)	29 (23; 36)	0.182
LVEF, %	38 (27; 51)	30 (23; 40)	0.024
Delay (chest pain – PCI), min	276 (199; 347)	259 (197; 468)	0.631
Troponin peak value	263 (114; 587)	681 (245; 1135)	0.035
Haemoglobin, g/L	141 (127; 151)	140 (127; 150)	0.863
Creatinine, μ mol/L	100 (81; 127)	124 (100; 170)	0.001
Glycaemia, mmol/L	10.5 (8.6; 13.2)	13.9 (10.6; 20.7)	0.003
Uric acid, μ mol/L	362 (305; 448)	439 (327; 538)	0.030

Categorical variables are presented as counts with percentages in brackets. For continuous variables, median is reported with the interquartile range in brackets. *P*-values of the Mann-Whitney *U* test or Fisher's exact test comparing alive and deceased patients are reported.

ACEI, angiotensin-converting enzyme inhibitors; AT2, angiotensin II inhibitors; BMI, body mass index; BP, blood pressure; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; CPR, cardiopulmonary resuscitation; IABP, intra-aortic balloon pump; IHD, ischaemic heart disease; IRA, infarct-related artery; LAD, left anterior descending artery; LVEDP, left ventricular end-diastolic pressure; LVEF, left ventricular ejection fraction; PCI, percutaneous coronary intervention; TIA, transient ischaemic attack. Troponin peak value means a maximum value of the ratio troponin I level/troponin I cut-off value or the ratio hs-troponin T level/hs-troponin T cut-off value.

Bold values express statistically significant results.

[§] Percentages are derived from available data excluding missing values.

However, FRAP values in non-surviving patients reached peak values 24 h after admission; minimal values were found on the fifth day ($P = 0.05$). In surviving patients, peak and minimal FRAP values were found earlier, that means peak value 12 h after admission and minimal value the fourth day ($P = 0.004$). Moreover, FRAP values in deceased patients were significantly elevated compared to survivors in the first 24 h of the monitored period (Fig. 1c, Table 2).

Peak levels of SOD in both groups were found on admission and then significantly decreased during 72 h in both groups ($P = 0.01$). SOD levels were significantly higher in non-survivors within the first 24 h of the monitored period (Fig. 1d, Table 2). Initial GSH levels had a trend to decrease in both groups during 24 h after admission; in survivors drop was significant after 24 h ($P = 0.01$) and in deceased patients after 12 h ($P = 0.01$). In addition, GSH levels were increased between the 4th and 7th day in survivors ($P = 0.01$). It has not been proven a significant

Table 2
Evolution of the biomarkers over time and comparison according to surviving at 3 months.

	Overall		Alive at 3 months		Deceased at 3 months		P
	n	Median (IQR)	n	Median (IQR)	n	Median (IQR)	
OGS/1	63	11.3 (7.0; 13.3)	31	7.0 (6.0; 11.7)	32	12.6 (10.4; 14.2)	< 0.001
OGS/2	42	10.3 (7.0; 13.0)	24	7.2 (6.8; 11.8)	18	12.1 (10.4; 13.6)	0.001
OGS/3	29	9.2 (5.6; 11.7)	17	8.2 (4.4; 9.6)	12	9.9 (7.9; 12.6)	0.059
OGS/4	26	5.4 (3.9; 8.7)	16	4.7 (3.5; 8.5)	10	6.1 (4.9; 9.8)	0.286
OGS/5	26	5.4 (3.7; 7.2)	16	5.1 (3.6; 6.9)	10	6.0 (4.6; 8.5)	0.336
OGS/6	21	5.2 (4.1; 6.7)	15	5.2 (3.4; 6.0)	6	5.8 (4.1; 7.4)	0.381
OGS/7	14	6.9 (5.8; 8.2)	12	7.3 (6.0; 8.4)	2	5.9 (5.0; 6.8)	0.440
MDA/1	60	0.47 (0.34; 0.66)	32	0.44 (0.34; 0.62)	28	0.50 (0.35; 0.72)	0.358
MDA/2	63	0.44 (0.34; 0.62)	39	0.44 (0.33; 0.62)	24	0.47 (0.35; 0.59)	0.713
MDA/3	29	0.44 (0.37; 0.50)	17	0.42 (0.35; 0.50)	12	0.47 (0.38; 0.53)	0.419
MDA/4	26	0.38 (0.35; 0.50)	16	0.39 (0.35; 0.46)	10	0.38 (0.35; 0.50)	0.897
MDA/5	26	0.40 (0.35; 0.50)	16	0.37 (0.35; 0.42)	10	0.47 (0.41; 0.53)	0.121
MDA/6	22	0.41 (0.34; 0.48)	15	0.35 (0.32; 0.45)	7	0.48 (0.41; 0.65)	0.056
MDA/7	15	0.43 (0.37; 0.48)	12	0.42 (0.36; 0.53)	3	0.45 (0.43; 0.48)	0.448
FRAP/1	59	1158 (888; 1497)	31	916 (814; 1304)	28	1264 (1148; 1765)	< 0.001
FRAP/2	53	1220 (915; 1508)	31	982 (797; 1309)	22	1419 (1167; 1698)	0.001
FRAP/3	26	1037 (911; 1435)	15	948 (703; 1126)	11	1435 (997; 1866)	0.009
FRAP/4	23	806 (670; 1078)	14	759 (572; 1043)	9	1020 (756; 1484)	0.224
FRAP/5	23	741 (614; 1040)	14	635 (614; 982)	9	935 (700; 1338)	0.159
FRAP/6	20	703 (547; 842)	14	699 (533; 813)	6	802 (561; 1002)	0.494
FRAP/7	13	832 (695; 946)	11	832 (695; 946)	2	1183 (569; 1797)	0.923
SOD/1	38	207.4 (122.8; 500.0)	16	134.5 (91.0; 207.4)	22	310.5 (167.1; 637.0)	0.006
SOD/2	62	111.3 (72.9; 200.0)	37	86.0 (64.0; 150.0)	25	160.0 (111.6; 256.0)	0.002
SOD/3	25	99.0 (88.0; 148.0)	15	94.0 (68.0; 106.0)	10	157.1 (101.0; 255.0)	0.007
SOD/4	23	96.0 (77.0; 149.0)	14	84.0 (74.0; 116.0)	9	108.0 (96.0; 153.0)	0.159
SOD/5	22	74.0 (61.0; 109.0)	14	66.0 (55.0; 96.0)	8	101.0 (73.0; 127.0)	0.050
SOD/6	18	79.0 (60.0; 114.0)	13	71.0 (58.0; 93.0)	5	93.0 (81.0; 115.0)	0.173
SOD/7	11	97.0 (71.0; 109.0)	10	93.5 (71.0; 104.0)	1	142.0 (142.0; 142.0)	0.364
GPX3/1	64	26.0 (20.2; 32.9)	38	29.7 (21.6; 35.0)	26	22.8 (17.8; 32.6)	0.086
GPX3/2	27	24.1 (16.2; 31.8)	15	24.1 (19.4; 31.4)	12	25.6 (11.9; 32.5)	0.608

Table 2 (continued)

	Overall		Alive at 3 months		Deceased at 3 months		P
	n	Median (IQR)	n	Median (IQR)	n	Median (IQR)	
GPX3/3	26	25.5 (15.6; 32.6)	15	25.8 (15.6; 35.3)	11	23.1 (14.6; 32.6)	0.540
GPX3/4	23	27.0 (23.0; 33.2)	14	28.1 (24.6; 38.1)	9	24.8 (12.8; 30.7)	0.124
GPX3/5	23	27.6 (22.0; 37.4)	14	27.0 (22.9; 39.6)	9	30.8 (15.8; 35.7)	0.877
GPX3/6	20	25.2 (21.7; 36.8)	14	25.2 (22.6; 39.7)	6	26.9 (16.2; 33.8)	0.602
GPX3/7	13	24.0 (19.3; 35.5)	11	23.8 (17.2; 35.5)	2	30.1 (24.0; 36.2)	0.513
GSH/1	48	1.6 (1.3; 2.2)	29	1.5 (1.3; 1.8)	19	1.8 (1.5; 2.6)	0.191
GSH/2	32	1.4 (0.8; 1.8)	18	1.4 (0.9; 1.8)	14	1.4 (0.8; 1.8)	0.750
GSH/3	28	1.2 (0.9; 1.7)	16	1.1 (0.8; 1.6)	12	1.3 (1.2; 2.0)	0.260
GSH/4	24	1.4 (1.2; 1.9)	14	1.4 (1.2; 1.5)	10	1.5 (1.3; 2.2)	0.472
GSH/5	26	1.6 (1.0; 2.0)	16	1.3 (1.0; 1.7)	10	1.9 (1.6; 2.3)	0.135
GSH/6	22	1.6 (1.0; 1.8)	15	1.6 (1.0; 1.8)	7	1.7 (1.6; 2.2)	0.368
GSH/7	14	2.0 (1.0; 2.0)	12	2.0 (1.5; 2.5)	2	1.5 (1.0; 2.0)	0.440

n, number of patients; P-values of the Mann-Whitney U test comparing alive and deceased patients; IQR, interquartile range; OGS, oxidised guanine species; MDA, malondialdehyde; FRAP, ferric reducing ability of plasma; SOD, Cu/Zn-superoxide dismutase; GPX3, glutathione peroxidase 3; GSH, glutathione. Biomarkers upon admission (1); 12 h (2), and 24 h (3) after hospital admission; the morning of the third (4), the fourth (5), the fifth (6), and the seventh day (7) following hospital admission are shown. Units of concentration: OGS, ng/mL; MDA, μmol/L; FRAP, μmol/L; SOD, ng/mL; GPX3, μg/mL; and GSH, μmol/L. Bold values express statistically significant results.

difference in GSH levels between both groups (Fig. 1f, Table 2). GPX3 levels were significantly decreased after the 3rd day after admission in survivors (P < 0.05) and did not exhibit significant differences between the survivor and non-survivor patients (Fig. 1e, Table 2). MDA levels did not exhibit a significant difference between the groups (Fig. 1b, Table 2).

3.4. Prognostic value of oxidative stress-related biomarkers in CS

The prognostic value of biomarkers of oxidative stress to predict 3-month mortality was tested. Biomarkers measured on admission and 12 h later were used for the test. A high predictive value of OGS, FRAP, and SOD values was found at both time points for predicting 3-month mortality, with an area under the ROC curve ranging from 0.732 to 0.807 (Table 3).

4. Discussion

Several significant findings were obtained in this study. First, oxidative stress reflected by indirect biochemical parameters developed most during the first 24 h; this was evidenced by the levels of OGS, which were already high on admission and persisted elevated for 24 h. Moreover, OGS levels in non-surviving patients during the initial 24 h seems higher comparing with expected values in healthy (4.5–7.1 ng/mL) [20]. From a pathophysiological point of view, nucleic acid damage, probably due to oxidative stress, appears to occur very early within the initial hours of MI and CS. Our results are consistent with some previous findings. Nagayoshi et al. [21] reported that reperfusion therapy in patients with MI was associated with increased urinary 8-OHdG levels, which peaked at 4 h after reperfusion therapy and then decreased 24 h after treatment. Previous studies have reported that

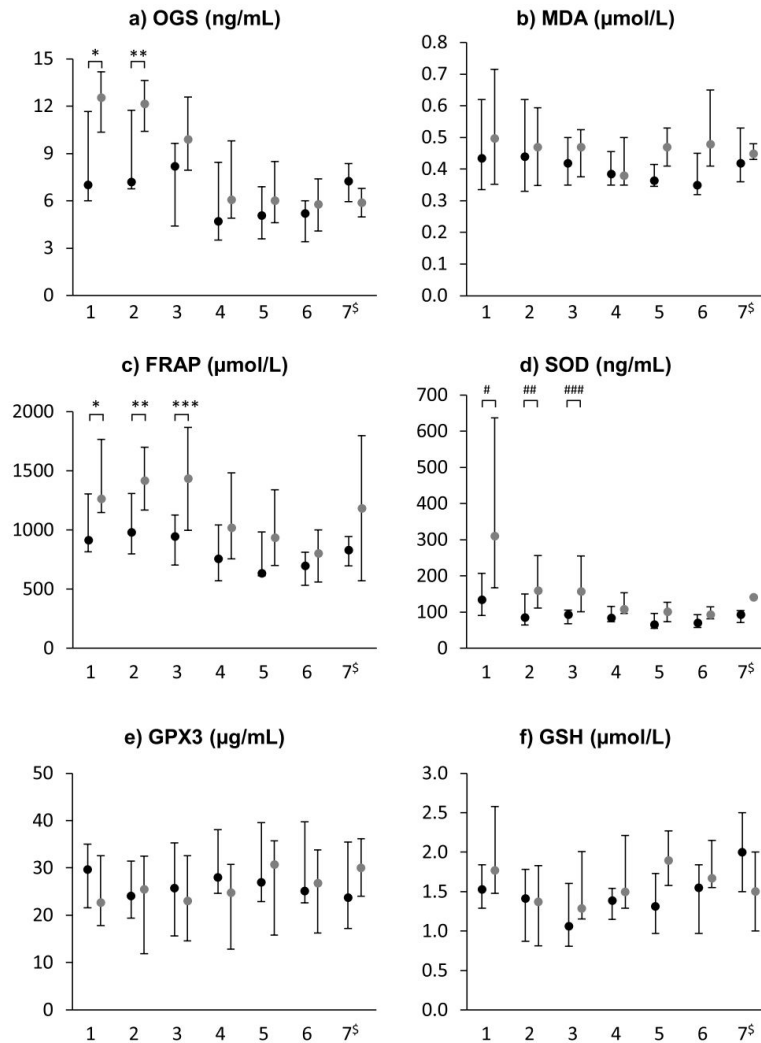


Fig. 1. Course of oxidative stress related biomarker changes in surviving (black) and deceased patients (gray). Timepoints on x-axis: 1 – on admission; 2–12 h, and 3–24 h after admission; 4 – the 3rd day, 5 – the 4th day, 6 – the 5th day, and 7 – the 7th day after admission. Median and interquartile range are presented for each timepoint. \$No. of samples in a group of deceased patients is lower than 5. * $P < 0.001$, ** $P = 0.001$, *** $P = 0.009$, # $P = 0.006$, ## $P = 0.002$, ### $P = 0.007$ compared surviving with deceased patients.

patients who experience acute MI exhibit higher blood or urinary levels of 8-OHdG than controls [21–24]. Furthermore, 8-OHdG levels may be closely associated with the severity of the injury [23].

Second, the total antioxidant capacity of plasma expressed as FRAP was very high on admission and following 24 h and was significantly higher in patients with more severe disease and an unfavourable prognosis. Moreover, FRAP values in non-surviving patients during the initial 24 h, similar to OGS values, were higher comparing with expected values in healthy subjects (820–1216 μmol/L) [15]. In addition, FRAP involves, among others, a considerable contribution from uric acid [15]. The baseline levels of uric acid were on the upper reference limit and significantly higher in deceased patients (Table 1). From this point of view, our results are consistent with previously published studies that have reported increased uric acid levels to identify a subgroup of high-risk patients with STEMI [25] and CS [26].

Third, SOD, similarly to OGS and FRAP, was highest at the beginning of the monitored period and declined during the first 24 h after admission. SOD levels were found above the upper limit for healthy (35.2 ng/mL) provided by the ELISA kit manufacturer in all patients during monitored period. The increase in plasma SOD activity may be caused by the release and washout of SOD from the ischemic myocardium [27] or by degranulation of activated neutrophils [28]. According to our result, we presume that significantly higher SOD levels in non-surviving patients were associated with extensive tissue damage and worse prognosis of patients with STEMI complicated by CS.

Fourth, high levels of OGS, FRAP, and SOD on admission and 12 h after admission were associated with poor prognosis in patients with STEMI complicated by CS. This finding could be helpful for early stratification of patients with STEMI and CS. Recently Parenica et al. revealed the prognostic significance of FRAP and SOD in patients with

Table 3
Predictive value of biomarkers for 3-month mortality in STEMI-related cardiogenic shock patients.

	n	AUC (95% CI)	P	Cut-off	Sensitivity (%)	Specificity (%)
OGS/1	31/32	0.791 (0.677; 0.905)	< 0.001	≥ 8.3	93.8	58.1
OGS/2	24/18	0.801 (0.667; 0.934)	< 0.001	≥ 8.7	94.4	66.7
MDA/1	32/28	0.569 (0.423; 0.715)	0.358	≥ 0.48	57.1	59.4
MDA/2	39/24	0.528 (0.383; 0.673)	0.713	≥ 0.49	50.0	64.1
FRAP/1	31/28	0.807 (0.694; 0.920)	< 0.001	≥ 1069	96.4	67.7
FRAP/2	31/22	0.773 (0.648; 0.897)	< 0.001	≥ 983	100.0	51.6
SOD/1	16/22	0.763 (0.606; 0.920)	0.006	≥ 222	68.2	81.3
SOD/2	37/25	0.732 (0.604; 0.859)	0.002	≥ 109	84.0	67.6
GPX3/1	38/26	0.627 (0.487; 0.767)	0.086	≤ 22.35	50.0	71.1
GPX3/2	15/12	0.558 (0.315; 0.801)	0.608	≤ 15.35	41.7	100.0
GSH/1	29/19	0.613 (0.446; 0.779)	0.191	≥ 1.55	68.4	55.2
GSH/2	18/14	0.534 (0.330; 0.738)	0.747	≤ 3.85	100.0	16.7

n, number of patients alive/deceased at 3 months since the admission; AUC, area under the curve; CI, confidence interval; OGS, oxidised guanine species; MDA, malondialdehyde; FRAP, ferric reducing ability of plasma; SOD, Cu/Zn-superoxide dismutase; GPX3, glutathione peroxidase 3; GSH, glutathione. Biomarkers upon admission (1) and 12 h after hospital admission (2) are shown. Bold values express statistically significant results.

STEMI [29].

In addition, GSH is one of the most important endogenous antioxidants and also a cofactor of GPX3. It has been shown that low levels of reduced GSH in plasma or erythrocytes are associated with CS and acute MI [4,23]. We found a decrease of GSH levels in the first 24 h after admission; however, we did not find differences between plasma total GSH levels in surviving and non-surviving patients. It should be noted that the use of the reduced/oxidised GSH index is ideal for assessing oxidative stress. However, to correctly determine the particular forms of GSH, strict conditions for sampling, storage, and processing of samples are necessary, which can be difficult to implement.

Not all markers of oxidative stress had the same course as OGS. In the case of GPX3, levels were decreased only in survivors after three days. On the other hand, as previously reported, intracellular GPX was found to play a crucial role in myocardial protection from ischemic reperfusion injury [30]. Decreased GPX activity in erythrocytes or whole blood has been reported in patients with acute MI [23,31] and CS [4]. In the case of MDA, a marker of lipid peroxidation, levels persisted unchanged during the monitored period, and no significant differences or changes in MDA level were observed between the surviving and non-surviving patients. According to our findings, it seems that the degree of lipid peroxidation is not affected by the severity of the conditions of patients with STEMI complicated by CS. Our findings are not in agreement with previously published results, where MDA levels were significantly

increased in individuals with more severe STEMI [23].

Although a decrease in antioxidants and antioxidant enzymes is used as an indirect biomarker of oxidative stress, we did not have those findings for FRAP and SOD in our work. Instead, we observed an initial increase for these markers, which could be explained by the massive myocardial necrosis occurring initially, which leads to a liberation of intracellular structures as nucleic acids (with consecutive production of uric acid) and enzymes as SOD into the bloodstream. For the case of GPX3, no variation was observed, and for GSH, there was a decrease in the first 24 h, which is coherent with the increase in oxidative stress reflected by OGS.

Finally, many current studies are exploring the effects of oxidative stress in acute MI. It appears that this could be one of the directions that will improve the prognosis of these patients in the future. It has been shown that early administration of a substance with an antioxidant effect in a model of myocardial ischemia and reperfusion injury can have a protective effect with a reduction in infarct foci and improved cardiac function [32,33].

Our study had several limitations, the first of which was the relatively small size of the cohort and its single-centre design. Second, not all biomarkers were determined in full scale in all patients. Moreover, a large proportion of patients underwent cardiopulmonary resuscitation, mechanical ventilation, and treatment with therapeutic hypothermia – all of these factors can significantly affect the evaluation of oxidative stress parameters. On the other hand, above mentioned treatment was comparable in both groups and reflected the actual clinical picture of patients with STEMI complicated by CS.

5. Conclusion

To our knowledge, the present study is the first to describe the time course of markers related to oxidative stress in patients who experienced STEMI complicated by CS and their prognostic power.

Our results suggest that oxidative stress expressed as OGS in a population of patients with STEMI complicated by CS was highest during the first 12 h after hospital admission. Similarly, TAC expressed as FRAP was highest during the first 24 h and persisted significantly higher in patients with more severe disease. Furthermore, SOD levels were highest at hospital admission and persisted higher in patients with more severe disease. Finally, the parameters mentioned above were revealed as early predictors of the adverse development of the disease.

Acknowledgements

This work has been supported by the Ministry of Health of the Czech Republic (Conceptual Development of Research Organisation (65269705)). The funder had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or manuscript preparation.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.07.040>.

References

- [1] M. Zhang, A.M. Shah, ROS signalling between endothelial cells and cardiac cells, *Cardiovasc. Res.* 102 (2014) 249–257.
- [2] V. Brauersreuther, V. Jaquet, Reactive oxygen species in myocardial reperfusion injury: from pathophysiology to therapeutic approaches, *Curr. Pharmaceut. Biotechnol.* 13 (2012) 97–114.
- [3] H.R. Reynolds, J.S. Hochman, Cardiogenic shock - current concepts and improving outcomes, *Circulation* 117 (2008) 686–697.
- [4] S.S. Senthil, R. Veerappan, M.R. Rao, K.V. Pugalendi, Oxidative stress and antioxidants in patients with cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction, *Clin. Chim. Acta* 348 (2004) 131–137.
- [5] K.M. Venardos, D.M. Kaye, Myocardial ischemia-reperfusion injury, antioxidant enzyme systems, and selenium: a review, *Curr. Med. Chem.* 14 (2007) 1539–1549.

- [6] D. Kumar, H.Q. Lou, P.K. Singal, Oxidative stress and apoptosis in heart dysfunction, *Herz* 27 (2002) 662–668.
- [7] J.R. Burgoyne, H. Mongue-Din, P. Eaton, A.M. Shah, Redox signaling in cardiac physiology and pathology, *Circ. Res.* 111 (2012) 1091–1106.
- [8] J. Cadet, S. Loft, R. Oliniski, M.D. Evans, K. Bialkowski, J.R. Wagner, P.C. Dedon, P. Moller, M.M. Greenberg, M.S. Cooke, Biologically relevant oxidants and terminology, classification and nomenclature of oxidatively generated damage to nucleobases and 2-deoxyribose in nucleic acids, *Free Radic. Res.* 46 (2012) 367–381.
- [9] Q.M. Kong, C.L.G. Lin, Oxidative damage to RNA: mechanisms, consequences, and diseases, *Cell. Mol. Life Sci.* 67 (2010) 1817–1829.
- [10] S.S. David, V.L. O'Shea, S. Kundu, Base-excision repair of oxidative DNA damage, *Nature* 447 (2007) 941–950.
- [11] A. Di Minno, L. Turmu, B. Porro, I. Squellerio, V. Cavalca, E. Tremoli, M.N.D. Di Minno, 8-Hydroxy-2-deoxyguanosine levels and heart failure: A systematic review and meta-analysis of the literature, *Nutr. Metabol. Cardiovasc. Dis.* 27 (2017) 201–208.
- [12] A. Di Minno, L. Turmu, B. Porro, I. Squellerio, V. Cavalca, E. Tremoli, M.N.D. Di Minno, 8-Hydroxy-2-deoxyguanosine levels and cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis of the literature, *Antioxidants Redox Signal.* 24 (2016) 548–555.
- [13] D. Del Rio, A.J. Stewart, N. Pellegrini, A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress, *Nutr. Metabol. Cardiovasc. Dis.* 15 (2005) 316–328.
- [14] J. Pilz, I. Meineke, C.H. Gleiter, Measurement of free and bound malondialdehyde in plasma by high-performance liquid chromatography as the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative, *J. Chromatogr. B* 742 (2000) 315–325.
- [15] I.F.F. Benzie, J.J. Strain, Ferric reducing antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration, *Methods Enzymol.* 299 (1999) 15–27.
- [16] J.S. Hochman, J.H. Alexander, H.R. Reynolds, A.L. Stebbins, V. Dzavik, R. A. Harrington, F.V. de Werf, T. Investigators, Effect of tilarginine acetate in patients with acute myocardial infarction and cardiogenic shock - the triumph randomized controlled trial, *JAMA* 297 (2007) 1657–1666.
- [17] C.W. Hamm, J.P. Bassand, S. Agewall, J. Bax, E. Boersma, H. Bueno, P. Caso, D. Dudek, S. Gielen, K. Huber, M. Ohman, M.C. Petrie, F. Sonntag, M.S. Uva, R. F. Storey, W. Wijns, D. Zahger, ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC), *Eur. Heart J.* 32 (2011) 2999–3054.
- [18] G.A. Khoschorur, B.M. Winklhofer-Roob, H. Rabl, T. Auer, Z. Peng, R.J. Schaur, Evaluation of a sensitive HPLC method for the determination of malondialdehyde, and application of the method to different biological materials, *Chromatographia* 52 (2000) 181–184.
- [19] B. Vester, K. Rasmussen, High-performance liquid-chromatography method for rapid and accurate determination of homocysteine in plasma and serum, *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 29 (1991) 549–554.
- [20] T.M.V. Iriyoda, N. Stadtlober, M.A.B. Lozovoy, F. Delongui, N.T. Costa, E.M. V. Reiche, I. Dichi, A.N.C. Simao, Reduction of nitric oxide and DNA/RNA oxidation products are associated with active disease in systemic lupus erythematosus patients, *Lupus* 26 (2017) 1106–1111.
- [21] Y. Nagayoshi, H. Kawano, J. Hokamaki, S. Miyamoto, S. Kojima, H. Shimomura, K. Tsujita, T. Sakamoto, M. Yoshimura, H. Ogawa, Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels increase after reperfusion in acute myocardial infarction and may predict subsequent cardiac events, *Am. J. Cardiol.* 95 (2005) 514–517.
- [22] R.A. Najar, S.M.H. Ghaderian, H. Vakilii, A.S.T. Panah, A.R. Farimani, G. Rezaie, A. B. Harchegani, The role of p53, bax, bcl2, and 8-OHdG in human acute myocardial infarction, *Cent. Eur. J. Biol.* 5 (2010) 439–445.
- [23] S. Shahzad, A. Hasan, A.F. Faizy, S. Mateen, N. Fatima, S. Moin, Elevated DNA damage, oxidative stress, and impaired response defense system inflicted in patients with myocardial infarction, *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 24 (2018) 780–789.
- [24] S. Himmetoglu, Y. Dincer, E. Bozcali, V.A. Vural, T. Akcay, Oxidative DNA damage and antioxidant defense after reperfusion in acute myocardial infarction, *J. Invest. Med.* 57 (2009) 595–599.
- [25] C. Lazzeri, S. Valente, M. Chiostrri, C. Picariello, G.F. Gensini, Uric acid in the early risk stratification of ST-elevation myocardial infarction, *Intern. Emerg. Med.* 7 (2012) 33–39.
- [26] S. Valente, C. Lazzeri, S. Vecchio, C. Giglioli, M. Margheri, P. Bernardo, M. Comeglio, S. Chiochini, G.F. Gensini, Predictors of in-hospital mortality after percutaneous coronary intervention for cardiogenic shock, *Int. J. Cardiol.* 114 (2007) 176–182.
- [27] H. Tomoda, K. Morimoto, N. Aoki, Superoxide dismutase activity as a predictor of myocardial reperfusion and salvage in acute myocardial infarction, *Am. Heart J.* 131 (1996) 849–856.
- [28] R.M. Borzi, B. Grigolo, R. Meliconi, L. Fasano, C. Sturani, M. Fabbri, T. Porstmann, A. Facchini, Elevated serum superoxide-dismutase levels correlate with disease severity and neutrophil degranulation in idiopathic pulmonary fibrosis, *Clin. Sci.* 85 (1993) 353–359.
- [29] J. Parenica, P. Kala, M.G. Pavkova, J. Tomandl, J. Spinar, S. Littnerova, J. Jarkovsky, A. Mebazaa, M. Tomandlova, M. Dastych, J. Gottwaldova, E. Gayat, Natriuretic peptides, nitrite/nitrate and superoxide dismutase have additional value on top of the GRACE score in prediction of one-year mortality and rehospitalisation for heart failure in STEMI patients - Multiple biomarkers prospective cohort study, *Int. J. Cardiol.* 211 (2016) 96–104.
- [30] T. Yoshida, N. Maulik, R.M. Engelman, Y.S. Ho, J.L. Magnenat, J.A. Rousou, J. E. Flack, D. Deaton, D.K. Das, Glutathione peroxidase knockout mice are susceptible to myocardial ischemia reperfusion injury, *Circulation* 96 (1997) 216–220.
- [31] V. Muzakova, R. Kandrar, P. Vojtisek, J. Skalicky, R. Vankova, A. Cegan, Z. Cervinkova, Antioxidant vitamin levels and glutathione peroxidase activity during ischemia/reperfusion in myocardial infarction, *Physiol. Res.* 50 (2001) 389–396.
- [32] B.F. Zhang, H. Jiang, J. Chen, X. Guo, Y. Li, Q. Hu, S. Yang, Nobiletin ameliorates myocardial ischemia and reperfusion injury by attenuating endoplasmic reticulum stress-associated apoptosis through regulation of the PI3K/AKT signal pathway, *Int. Immunopharm.* 73 (2019) 98–107.
- [33] X.M. Liu, Y.C. Jiang, W.W. Fu, X.F. Yu, D.Y. Sui, Combination of the ginsenosides Rb3 and Rb2 exerts protective effects against myocardial ischemia reperfusion injury in rats, *Int. J. Mol. Med.* 45 (2020) 519–531.

5. Možnosti ovlivnění inflamace na příkladu syndromu akutní respirační tísně

a. Systémové kortikoidy v terapii ARDS vyvolaného onemocněním COVID-19.

Anesteziologie a Intenzivní Medicína. 2021.

Syndrom akutní respirační tísně (ARDS, Acute Respiratory Distress Syndrome) je příkladem aktivace systémové inflamace, podobně jako klinické situace, které jsou příčinou tzv. neinfekčního SIRS a jsou shrnuty v tabulce 1. Na úrovni plic se patofyziologicky jedná o vystupňovanou inflamaci, která se projevuje akutním difuzním poškozením alveolů (DAD – Diffuse Alveolar Damage). ARDS může být z příčiny jak tzv. primární (plicní), např. pneumonie, tak z příčiny tzv. sekundární (mimoplicní), tedy všechny stavy u kterých dochází k aktivaci systémové inflamace. Tedy jak sepse, včetně septického šoku, tak z příčiny tzv. neinfekčního SIRS. Na buněčné úrovni dochází jak k poškození endotelu plicní mikrocirkulace, tak k poškození buněk, které tvoří alveolus. Výsledkem je extravazace tekutiny, která vyplňuje alveolus, tedy ke vzniku alveolárního edému, v tomto případě tzv. nekardiálního. Poškození endotelu a obnažení tkáňového faktoru vede ke vzniku mikrotrombů, které dále aktivují trombocyty, migraci neutrofilů, tvorbě ROS a další aktivaci inflamace přes např. aktivaci TREM-1. Výsledkem je začarovaný kruh, kdy aktivace zánětu na lokální úrovni, v tomto případě na úrovni plic, vede k vyplavování proinflammatorních cytokinů, ROS a dalších mediátorů, které ve výsledku lokální zánět dále zhoršují. Na exsudativní fázi navazuje fáze reparační, kdy dochází ke vstřebávání alveolární tekutiny a regeneraci alveolárního epitelu. V této fázi jsou klíčové alveolární makrofágy a z nich zejména fenotyp tzv. M2 makrofágy. Pod vlivem interleukinu 4 a 13 (IL) působí reparačně, inhibují tzv. iNOS (inducible NO synthase) a tím snižují tvorbu tzv. RNS (Reactive Nitrogen Species) a také ROS. Pokud přetrvává působení výše uvedených interleukinů, dochází k obávané fibrotizaci plic při perzistenci M2 makrofágů a excesivní fibroproliferaci.

Excesivní aktivace systémové a lokální inflamace je cílem a justifikací pro podání glukokortikoidů. Jejich genomické účinky jsou zprostředkované komplexem glukokortikoid-glukokortikoidový receptor, který se váže v jádře, kde reguluje a mění expresi genů ve smyslu potlačení inflamatorní cesty. Další účinky glukokortikoidů, tzv. negenomické se projevují teprve při podání vysokých dávek kortikoidů, mají rychlejší nástup a jejich mechanismem je např. snížená degranulaci neutrofilů a snížení produkce ROS.

Nástupem pandemie COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) způsobené novým typem koronaviru SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Synrome Coronavirus 2) došlo k náhlému zahlcení zdravotnických systémů po celém světě excesivním množstvím pacientů s postižením plic charakteru ARDS. Kromě vysoké mortality pacientů, kteří dospějí až do stádia kritického onemocnění s nutností umělé plicní ventilace (UPV), dochází k zahlcení kapacit ICU. V této souvislosti se také začalo opět diskutovat podání kortikoidů. Použití kortikoidů pro pacienty s ARDS bylo ještě před pandemií téma, které nebylo jednoznačně rozhodnuté pohledem EBM. Jedinou výjimkou v tomto ohledu byla studie Jesuse Villara a spoluautorů, kteří těsně v začátku pandemie shodou okolností publikovali rozsáhlý soubor pacientů v klinickém hodnocení, kdy podání dexamethasonu 20 mg (den 1.-5.) a 10 mg (den 6.-10.) bylo oproti placebo u pacientů spojené se snížením mortality a počtu dnů na ventilátoru (VFDs - Ventilator-free Days). [195]

Hlavní výhodou kortikoidů v období pandemie je jejich nízká cena a celosvětová dobrá dostupnost, což je činní potenciálně ideálním lékem. Doporučení pro aplikaci kortikoidů u těžkých případů COVID-19 bylo i přes relativní nedostatek důkazů publikováno jenom 17 dnů po vyhlášení celosvětové pandemie. [196] Benefit kortikoidní terapie byl následně potvrzen ve studii RECOVERY a je aktuálně indikovaná v případě absence závažných kontraindikací terapie kortikoidy (dexamethason 6 mg i. v. po dobu 10 dnů) u pacientů s těžkým průběhem COVID-19. [197, 198]

Článek shrnuje aktuální dostupné poznatky týkající se podávání kortikoidů u pacientů s COVID-19 a ARDS. Po krátkém úvodu se podrobně věnuje působení kortikoidů, zejména na celulární úrovni. Následuje část patofyziologická, která do hloubky rozebírá patofyziologii ARDS a v poslední části zejména ve vztahu k mechanismům, které vysvětlují použití kortikoidů v léčbě ARDS. Dále rozebíráme dostupná fakta a data, která se týkají použití kortikoidů u pacientů v terapii ARDS, které nesouvisí s onemocněním COVID-19 a následuje nejdůležitější část, která cílí na aktuálně známá a publikovaná data týkající se použití kortikoidů u pacientů s ARDS spojené s COVID-19. Článek je uzavřen diskuzí a doporučením pro klinickou praxi s použitím dat, která máme aktuálně k dispozici. Na tuto přehledovou práci, které je v češtině jediná, navázala dotazníková studie naší výzkumné skupiny, která zkoumala reálnou praxi použití kortikoidů u pacientů s COVID-19 v České republice (ASAP-C, *NCT04648410*) a v evropských odborných společnostech (ASAP-ESICM/ESAIC, *NCT04866082*) – konkrétně s Evropskou společností intenzivní medicíny (ESICM) a Evropskou společností anesteziologie a intenzivní péče (ESAIC).

Systémové kortikoidy v terapii ARDS vyvolaného onemocněním covid-19

Keller F., Kočí V., Řiháková K., Maláska J., Stašek J.

Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Lidský koronavirus SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Coronavirus 2) představuje, kvůli schopnosti způsobovat postižení plic u nezanedbatelného procenta postižených, zásadní zdravotnický a potažmo společenský problém. Od propuknutí pandemie koncem roku 2019 byla testována řada léčiv ovlivňujících průběh onemocnění. Až na několik případů však nebyl jejich pozitivní účinek prokázán, navíc v dostatečně kvalitních studiích. Jednou z takových výjimek jsou kortikoidy aplikované u nemocných s těžším stupněm oxypenační poruchy. Kortikoidy mají potenciál příznivě ovlivňovat plicní poškození a reparaci plicních funkcí díky modulaci zánětlivé odpovědi zprostředkované přes glukokortikoidní receptory. Jejich účinek byl potvrzen v několika velkých randomizovaných studiích a v současnosti jsou brány jako nedílná součást komplexní péče o pacienty s pneumonií vyvolanou virem SARS-CoV-2, kteří vyžadují oxypenační podporu či umělou plicní ventilaci. Existuje však značná nejistota ohledně optimální dávky kortikoidů napříč takto širokým spektrem pacientů. Data z dřívějších studií u pacientů se syndromem akutní respirační tísně (ARDS) nekoronavirové etiologie svědčí spíše pro vyšší dávky kortikoidů, než byly užity v pracích u pacientů s nemocí vyvolanou SARS-CoV-2 (covid-19, coronavirus disease 2019). Stejně tak není jasné optimální načasování a volba konkrétního přípravku. Na tyto otázky by mohla v dohledné budoucnosti pomoci odpovědět právě probíhající klinická hodnocení.

Klíčová slova: covid-19, ARDS, kortikoidy.

Systemic corticosteroids in the management of covid-19 ARDS

Human coronavirus SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory coronavirus 2), due to its ability to cause lung injury in significant percentage of patients, represents great medical and even social problem. Since the outbreak of the pandemic at the end of 2019, many new therapeutics have been tested. Unfortunately, real benefit in high quality studies was confirmed in just a few of them. One of these exceptions is represented by corticosteroids used in patients with advanced grade of oxygenation failure. Corticosteroids have favorable influence on lung injury and potentially facilitate reparation of pulmonary functions by modulating inflammatory response mediated through glucocorticoid receptors. Their benefit was confirmed in several randomized trials and they actually represent an integral part of complex care in those patients with pneumonia caused by SARS-CoV-2, who are in need of oxygenotherapy or mechanical ventilation. Nevertheless, uncertainty exists regarding their optimal dose in such a broad spectrum of patients. Data from former studies performed in non coronavirus patients with Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) favor rather larger doses of steroids than those tested in covid-19 patients. Also optimal timing and choice of specific corticosteroid remains unknown. Ongoing clinical trials could provide answers to these relevant questions.

Key words: covid-19, ARDS, corticosteroids.

Úvod

Současná pandemie infekce novým typem koronaviru SARS-CoV-2 (covid-19) postihla od prosince 2019 miliony lidí. U části pacientů dojde k poškození plic vyjádřenému jako syndrom akutní respirační tísně, který může vést k respirační insuficienci vyžadující vysokoprůtokovou

oxygoterapii (HFOT) či umělou plicní ventilaci (UPV) [1]. Mortalita pacientů s ARDS spojeným s covidem-19 je i nadále vysoká [2]. Již od počátku pandemie byla v terapii covidu-19 zkoušena řada léčiv. Některé z nich byly podávány na základě prací na menších souborech pacientů, nicméně následně randomizované multicentrické studie

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:
MUDr. Jan Stašek, janstasek@centrum.cz

Článek přijat redakcí: 27. 4. 2021; Článek přijat k tisku: 23. 6. 2021;
Cit. zkr: Anest intenziv Med. 2021; 32(3): 150–155

většinou reálný pozitivní efekt nepotvrdily [3]. Mezi několik výjimek, tedy léků s prokázanou efektivitou u pacientů s covidem-19 pohledem tzv. medicíny založené na důkazech (evidence based medicine, EBM), patří systémové kortikoidy. Aplikace dexamethasonu v dávce 6 mg po dobu 10 dnů je doporučena Světovou zdravotnickou organizací (WHO) a dalšími odbornými společnostmi (European Society of Intensive Care Medicine, Society of Critical Care Medicine) u pacientů s tíží infekce stupně 5–9 (WHO clinical progression scale) [4]. Tento přehledový článek má za cíl stručně seznámit s patofyziologickými předpoklady použití kortikoidů u pacientů s těžkou infekcí covidu-19, doposud provedenými hlavními studiemi na ARDS (jak spojených s covidem-19, tak tzv. non-covid-19 ARDS) a rozebrat nejistoty a případné další možnosti spojené s touto skupinou léků.

Patofyziologické předpoklady použití kortikoidů u ARDS

Působení kortikoidů na celulární úrovni

Glukokortikoidy (GC) a jejich syntetické analogy kortikoidy jsou molekuly schopné aktivovat glukokortikoidní receptory (GR) a vytvořit s nimi komplex (GC-GR). Tyto receptory jsou obsaženy téměř v každé lidské buňce, a to buď volně v cytoplasmě, nebo navázané na buněčnou membránu. Aktivovaný komplex GC-GR ovlivňuje buňky skrze dvě základní cesty. Cestou genomickou a nengenomickou [5].

Genomická cesta je typická pomalejším nástupem účinku (minimálně desítky minut) a pro její aktivaci stačí relativně nižší hladina glukokortikoidů. Pro plnou aktivaci stačí dávka ekvivalentní 80–100 mg metylprednisolonu. Komplex GC-GR vniká do jádra, kde mění expresi genů (stimulačně nebo inhibičně), a to buď přímo – skrze specifické vazebné místo pro kortikoidy (GRE), nebo nepřímo – interakcí s transkripčními faktory. Komplex GC-GR inhibuje například transkripční faktory nukleárního faktoru kappa B (NF- κ B) a aktivací protein 1 (AP-1), které potencují zánětlivou odpověď organismu aktivací imunitních buněk a tvorbou cytokinů, jako je interleukin-1 (IL-1) a tumor nekrotizující faktor alfa (TNF-alfa) [5].

Nengenomická cesta se vyznačuje rychlejším nástupem účinku (jednotky minut) a je aktivována až vyššími hladinami GC [5]. Touto cestou dokážou GC ovlivnit například intracelulární hladiny kalciových iontů, či aktivitu NO-syntázy (NOS) [6]. Mezi další procesy patří ovlivnění zánětlivé odpovědi organismu prostřednictvím inhibice degranulace neutrofilů a ovlivnění funkce makrofágů [5, 6]. Shrnutí genomických a nengenomických účinků kortikoidů viz **tabulka 1**.

Patofyziologie vzniku ARDS

Syndrom akutní dechové tísně je ve stručnosti definován jako akutně vzniklá oxygennační porucha následkem vyvolávající příčiny (plicní či mimoplicní) s charakteristickým obrazem bilaterální plicní infiltrace a s vyloučením kardiálního plicního edému [7]. Patofyziologicky je tato klinická jednotka charakterizovaná akutním difúzním poškozením plic na podkladě vystupňované zánětlivé reakce [7]. ARDS vzniká s časovým odstupem od primárního inzultu, který může být jak plicní etiologie (typicky pneumonie), tak mimoplicní etiologie (sepsis, trauma). V důsledku primárního onemocnění jsou do oběhu vyplavovány zánětlivé mediátory, které působí zánětlivou reakci plicních kapilár [7]. Při rozvoji ARDS dochází k současnému poškození endotelu plicní mikrocirkulace a epitelu plicních alveolů, což vede ke vzniku alveolárního edému (nekardiálního), typického znaku exsudativní fáze ARDS [8]. Pokud pacient přečká fázi exsudativní, onemocnění dále postupuje přes fázi reparační buďto do funkčního uzdravení, nebo do fáze fibrotické [9].

Plicní endotel je poškozován vícero mechanismy. Jedním z dobře popsanych je neutrofilní poškození, kdy dochází k akumulaci neutrofilů v plicní mikrocirkulaci. Jejich následná aktivace a degranulace uvolní do oběhu velké množství proinflamatorních cytokinů, kyslíkových radikálů (reactive oxygen species, ROS) a prokoagulačních látek (trombin), z nichž některé endotel přímo poškozují [10]. Zvýšená koncentrace trombinu, TNF-alfa, a dalších látek vede k destabilizaci vaskulárního endotelálního cadherinu (VE-cadherin), který je v plicní mikrocirkulaci zodpovědný za funkční integritu endotelu [11]. V poškozeném endotelu dochází k obnažení tkáňového faktoru (TF), iniciací koagulační kaskády, dalšímu uvolnění trombinu a tvorbě mikrotrombů. Trombin následně aktivuje trombocyty, které degranulují a uvolňují do krve řadu molekul. Mezi nimi například P-selectin, protein podporující migraci a aktivaci neutrofilů v plicním endotelu. Aktivované trombocyty taktéž podporují expresi intracelulární adhezivní molekuly (ICAM-1) na buňkách endotelu, která stimuluje adhezi neutrofilů. Zároveň dochází ke tvorbě trombocyt-neutrofilních komplexů, které na rozdíl od solitárních buněk vykazují vyšší fagocytární aktivitu a vyšší tendenci ke tvorbě ROS. Neutrofilní exprimují struktury známé jako triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1), které po rozeznání ligandu na povrchu trombocytů stimuluje zánětlivou odpověď produkcí proinflamatorních cytokinů. Synergií trombocytů a neutrofilů tak dochází k dalšímu endotelálnímu poškození [12]. Následkem všech těchto dějů se v alveolech akumuluje exsudát bohatý na proteiny, dochází k inaktivaci surfaktantu. ARDS se nachází v exsudativní fázi.

Tab. 1. Shrnutí genomických a nengenomických účinků kortikoidů [5, 6, 17]

	Genomické efekty GC	Non-genomické efekty GC
Nástup účinku	Desítky minut až hodiny	Jednotky minut
Aktivační dávka GC	Plná aktivace ekvivalentem 80–100 mg metylprednisolonu	Dávka vyšší než ekvivalent 80–100 mg metylprednisolonu
Místo účinku	Buněčné jádro	Typicky buněčná membrána
Ovlivněné struktury	GRE a transkripční faktory (NF- κ B, AP-1), etc.	MAPK, PI3K, eNOS etc.
Vybrané účinky	Inhibice tvorby prozánětlivých cytokinů (IL-1, IL-6, TNF- α)	Inhibice degranulace neutrofilů, ovlivnění bronchodilatace, potenciace vazoaktivního efektu katecholaminů

Vysvětlivky: GC – glucocorticoid, GRE – glucocorticoid response elements, NF- κ B – nuclear factor kappa B, AP-1 – activation protein 1, MAPK – mitogen-activated protein kinase, PI3K – phosphatidylinositol 3-kinase, eNOS – endothelial nitric oxide synthase, IL-1 – interleukin 1, IL-6 – interleukin 6, TNF- α – tumor necrosis factor alfa

Poškození alveolárního epitelu je také multifaktoriálního charakteru. Kromě působení primárního onemocnění (např. pneumonie), případně vlivu umělé plicní ventilace, dochází k poškození samotnou zánětlivou reakcí. V plicních alveolech se přirozeně vyskytují alveolární makrofágy (AM). V důsledku změn alveolárního mikroprostředí v rámci ARDS dochází k aktivaci tzv. toll-like receptorů AM (aktivací cesty mitogenem aktivované proteinkinázy (MAPK) a následně NF-κB). AM mění svůj fenotyp na inflamatorní M1 makrofágy a secernují inflamatorní cytokiny (IL-1beta, IL-6 a TNF-alfa), zvyšuje se aktivita inducibilní NO syntázy (iNOS). Pomocí těchto cytokinů jsou do alveolů rekrutovány neutrofilové z intravaskulárního prostoru (což je ještě zjednodušeno poruchou funkce endotelu), které následně poškozují alveoly zánětlivou reakcí [9].

Klinicky se výše zmíněné procesy projeví vzestupem ventilačně/perfuzečního (V/Q) nepoměru a rozvojem pravolevého plicního zkratu, vedoucích k arteriální hypoxemii. Také se snižuje schopnost plic eliminovat oxid uhličitý a vzniklá hyperkapnie stimuluje minutovou ventilaci. Tachypnoe vede ke zvýšení ventilace mrtvého prostoru. K průvodním jevům ARDS patří v neposlední řadě také snížení plicní poddajnosti [13]. V počátcích pandemie bylo navrženo dělení ARDS vyvolaného covidem-19 na fenotyp s vysokou poddajností (tzv. H-typ) a fenotyp s nízkou poddajností (L-typ) [14]. V současnosti se nicméně část autorů kloní k tomu, že dané fenotypy spíše reflektují různé fáze vývoje ARDS jako takového a tedy že ARDS způsobený onemocněním covid-19 se v zásadě neliší od ARDS jiné etiologie [15].

Reparační fáze je závislá na vstřebání alveolárního exsudátu. Toto může být efektivní pouze v případě, že došlo k dostatečné regeneraci alveolárního epitelu [10]. Na této regeneraci se znovu podílejí alveolární makrofágy. Po odstranění vyvolávajících faktorů a pod vlivem IL-4 a IL-13, mění AM svůj fenotyp na anti-inflamatorní M2 makrofágy. Následně fagocytují apoptotické neutrofilové, inhibují produkci proinflamatorních cytokinů a inhibují iNOS (čímž snižují hladinu reaktivních forem dusíku v alveolu) [9].

Obávanou pozdní komplikací ARDS je plicní fibróza. Stejně jako výše zmíněné patofyziologické mechanismy, je i fibrotická přestavba závislá na AM. Tradičně je profibroticky vnímán fenotyp M2. Protrahované působení IL-4 a IL-13 působí perzistenci M2 makrofágů a následnou excesivní fibrotizaci. Oproti tomu fenotyp M1, produkci matrixové metaloproteinázy (MMP) a antifibrotických cytokinů (např. CXCL10 – chemokinový (C-X-C-motiv) ligand 10)), fibrotické procesy narušuje. Některé nové studie však přisuzují protizánětlivou aktivitu nově i fenotypu M2. Na přesné vysvětlení těchto procesů zatím stále čekáme [9].

Mechanismus působení kortikoidů v léčbě ARDS

Role glukokortikoidů v léčbě ARDS se v teoretické rovině opírá o jejich schopnost redukovat systémovou zánětlivou odpověď, která je vedoucím patofyziologickým mechanismem plicního poškození [5]. Výsledky ex-vivo studie naznačují, že snížená aktivita GRa u pacientů s ARDS vede ke zvýšení aktivity NF-κB [16]. Zvýšená aktivita NF-κB stimuluje rozvoj zánětlivé odpovědi s negativním efektem na morbiditu a mortalitu [5]. Podávání adekvátních dávek exogenních GC vede ke zvýšení aktivity i absolutního množství GRa. Zvýšením aktivity GRa dochází k potlačení aktivity NF-κB a následnému snížení hladin cirkulujících prozánětlivých

cytokinů (TNF alfa, IL-1, IL-6), čímž GC zasahují do klíčového patofyziologického mechanismu ARDS [5]. Za předpokladu použití dostatečně vysokých dávek dochází k aktivaci nengenomických mechanismů. Snížením tvorby superoxidových aniontů makrofágy a inhibicí degranulace neutrofilů snižují GC úroveň zánětlivé odpovědi [5, 17].

Nicméně lze shrnout, že v terapii ARDS cílíme primárně na účinky genomické (inhibice NF-κB, inhibice tvorby inflamatorních cytokinů), od čehož se také odvíjí dávkování GC. Dávkovací schémata se pohybují na rozhraní nižších až středních dávek. Za toto rozhraní můžeme považovat ekvivalent denní dávky 400–500 mg hydrokortizonu (15–18,8 mg dexamethasonu, 80–100 mg metylprednisolonu). Dávky ekvivalentní 1500 mg hydrokortizonu za den a vyšší lze považovat za dávky vysoké [5].

Ve volbě vhodné terapie hraje roli i farmakokinetický profil konkrétního GC. Genomické účinky jsou aktivovány při relativně nízkých koncentracích. Stropový efekt pro genomické účinky nastává při jednotlivé dávce ekvivalentní asi 80–100 mg metylprednisolonu [18]. Zvyšování koncentrace nad tuto hladinu nevede k další klinicky významné potenciaci genomických účinků a narůstá riziko účinků nežádoucích (např. hyperglykemie, superinfekce, trombotické komplikace) [18]. Je tedy vhodné vyvarovat se přílišnému kolísání plazmatické koncentrace GC, a to v obou směrech. Jedním z možných řešení je použití dávkovací schéma s iniciálním bolusem, následovaným kontinuálním podáním formou infuze. Takový postup je vhodný například u hydrokortizonu, jehož plazmatický poločas je relativně krátký. Pro udržení dostatečné koncentrace by tedy bylo nutné podávání frekventních bolusů. Oproti tomu plazmatický poločas dexamethasonu je výrazně delší. Proto by mohlo být možné i bolusové podání [5]. Systémová zánětlivá reakce provázející ARDS navíc snižuje jaterní metabolismus kortikoidů a tím umožňuje rychlejší dosažení koncentrací nutných k plné aktivaci genomických (a částečně i nengenomických) účinků [5].

Kortikoidy v terapii nekoronavirového ARDS

Vzhledem k výše popsaným účinkům byly kortikoidy zkoumány v terapii ARDS již prakticky od chvíle, kdy byl tento syndrom popsán. Byla provedena řada více či méně robustních a validních studií, z nichž vybíráme čtyři dle našeho názoru nejpodstatnější.

První z nich [19] je prospektivní randomizovaná studie zabývající se otázkou, zda dlouhodobé podávání metylprednisolonu v rámci terapie perzistujícího ARDS vede ke klinicky významnému benefitu. Do studie bylo zařazeno 24 pacientů, u kterých nedošlo po 7 dnech umělé plicní ventilace ke zlepšení plicních funkcí. Byli rozděleni do skupiny experimentální (n = 16) a kontrolní (n = 8). Pacienti v experimentální skupině dostávali metylprednisolon v iniciální dávce 2 mg/kg/den, poté byla dávka postupně snižována po dobu 32 dní, kontrolní skupina dostávala placebo. Jako primární cíl byla sledována mortalita a plicní funkce, sekundární cíl potom bylo zlepšení multiorgánové dysfunkce a přítomnost nozokomiální infekce. U pacientů léčených metylprednisolonem došlo k signifikantnímu poklesu mortality, zlepšení plicních funkcí (dle Lung Injury Score (LIS) a oxygenačního indexu) a zlepšení MODS score. Výsledky jsou nicméně limitovány malým počtem zařazených pacientů.

Následovala multicentrická randomizovaná studie [20], do níž bylo zahrnuto 180 pacientů s ARDS trvajícím 7 a více dní, kterým byl podáván metylprednisolon v dávce 2 mg/kg po dobu 14 dnů s následným snižováním dávky, anebo placebo. Sledována byla 60denní mortalita, dny bez UPV či orgánové dysfunkce, biochemické markery zánětu, fibroproliferace a infekční komplikace. Mortalita po 60 dnech se v kontrolní a v experimentální skupině nelišila, naopak byla vyšší v experimentální skupině u pacientů, u kterých byla kortikoterapie započata alespoň 14 a více dní po začátku ARDS. U pacientů léčených metylprednisolonom bylo dosaženo vyššího počtu dní bez UPV a šoku během prvních 28 dní, zlepšení oxygenace a snížení počtu dní na podpoře vazopresorů. Methylprednisolon nezvyšoval počet infekčních komplikací, ale byl spojen s horší svalovou slabostí. Uvedená studie byla následně kritizována mimo jiné pro příliš rychlé vysazování kortikoidu, což bylo provázeno často zhoršením plicních funkcí. Nicméně lze shrnout, že podávání metylprednisolonu více jak dva týdny od vzniku ARDS může zvyšovat riziko úmrtí.

Další Meduriho studie z roku 2007 [21] zkoumala efekt nízkodávkového metylprednisolonu na plicní funkci u pacientů s časným těžkým ARDS (do 72 hodin od zahájení umělé plicní ventilace). Do studie bylo zahrnuto 91 pacientů, kteří byli rozděleni do dvou skupin v poměru 2:1, tzn. 63 pacientů bylo v experimentální skupině a 28 v kontrolní. Délka léčby byla až 28 dní a primárním cílem bylo snížení LIS o jeden bod nebo úspěšná extubace do 7. dne. Pacienti v experimentální skupině dostávali metylprednisolon v nasycovací dávce 1 mg/kg, přičemž dávka byla poté postupně snižována. Pacientům, u kterých nedošlo ke zlepšení LIS mezi 7. a 9. dnem, byl podáván metylprednisolon v dávce 2 mg/kg/d. Pacienti v experimentální skupině dosáhli redukce v LIS o 1 bod v 69,8 %, zatímco v kontrolní skupině v 35,7 %, v experimentální skupině bylo 7. den 53,9 % pacientů bez ventilační podpory, zatímco v kontrolní skupině to bylo 25 %. U pacientů dostávajících metylprednisolon došlo během 7 dnů také k významnému poklesu hodnot C-reaktivního proteinu (CRP), MODS score a zlepšení poměru parciálního arteriálního tlaku kyslíku k inspirační frakci ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$). Výsledky studie podporují hypotézu, že metylprednisolonom indukovaná down-regulace systémové zánětlivé odpovědi byla spojena se signifikantním zlepšením pulmonálních a extrapulmonálních orgánových dysfunkcí, redukcí doby na UPV a délky pobytu na intenzivní péči. Limitací studie jsou opět zejména malý vzorek pacientů a nerovnoměrné rozdělení pacientů s katecholamin-dependentním šokem, kterých bylo více v kontrolní skupině.

Recentní multicentrická studie [22] se zabývala užitím dexamethasonu v léčbě ARDS s cílem redukovat počet dní na UPV a mortalitu u pacientů se středně těžkým až těžkým ARDS (P/F index ≤ 200 mmHg, pozitivní endexpirační tlak (PEEP) ≥ 10 cmH₂O a $\text{FiO}_2 \geq 50$ % 24 h po vzniku ARDS). 277 pacientů bylo náhodně rozděleno do dexamethasonové skupiny (n = 139) a kontrolní skupiny (n = 138). Pacienti v experimentální skupině dostávali dexametason v dávce 20 mg denně 1. až 5. den, 6. až 10. den byla dávka redukována na 10 mg denně. U experimentální skupiny byl počet dní bez UPV vyšší o 4,8 dne v porovnání s kontrolní skupinou. 60denní mortalita byla nižší v experimentální skupině o 15,3 %. Výskyt nežádoucích účinků, jako je hyperglykemie, infekce nebo barotrauma se v jednotlivých skupinách nelišil. Navzdory

značné heterogenitě příčin ARDS u pacientů ve studii (nejčastěji pneumonie a sepse) výsledky ukazují, že časné podávání dexamethasonu u pacientů se středně těžkým až těžkým ARDS může ovlivněním systémové odpovědi snížit dny na UPV a celkovou mortalitu.

Kortikoidy v terapii onemocnění covid-19

Od začátku pandemie SARS-CoV-2 v prosinci 2019, kdy nebyla známa žádná efektivní léčba, bylo provedeno několik velkých randomizovaných studií zkoumajících kortikoidy v terapii respirační insuficience způsobené tímto onemocněním.

V krátkosti rozebereme čtyři hlavní studie (REMAP-CAP, CoDEX, CAPE COVID, RECOVERY), k nimž pracovní skupina WHO (World Health Organisation) REACT (Rapid Evidence Appraisal for COVID-19 Therapies) koordinovala prospektivní metaanalýzu [23].

REMAP-CAP [24], multicentrická, randomizovaná open label studie nového typu „adaptive platform trial“, posuzovala efekt hydrokortizonu u covidu-19 pacientů přijatých na jednotku intenzivní péče (JIP) na potřebu podpory oběhu vasopresory nebo ventilační podpory. Sledoval se počet dnů, po které pacient zůstal bez orgánové podpory (ventilační a oběhové) v průběhu 21 dní. Bylo zařazeno 384 nemocných, kteří byli randomizováni do 3 skupin. První experimentální skupina (n = 137) dostávala hydrokortizon 50 mg à 6 h fixně po dobu 7 dní. Nemocní v druhé experimentální skupině (n = 146) měli rozvinutý šokový stav (nutnost podpory oběhu vasopresory nebo inotropiky) a dostávali 50 mg hydrokortizonu à 6 h po dobu trvání šokového stavu (až 28 dní). Kontrolní skupina (n = 101) dostávala běžnou léčbu bez hydrokortizonu. Předběžným závěrem je, že v experimentálních skupinách byla větší pravděpodobnost zvýšení počtu dnů bez orgánové podpory než v kontrolní skupině.

CAPE COVID [25] je multicentrická, randomizovaná a jediná dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie. Bylo zařazeno 149 nemocných přijatých na JIP pro akutní respirační selhání související s covidem-19. Randomizováni byli do dvou skupin. Experimentální skupina (n = 76) byla léčena středními dávkami hydrokortizonu (iniciálně 200 mg) v předem daném schématu, kontrolní skupina (n = 73) dostávala placebo. Sledovala se mortalita a nutnost UPV nebo HFOT v průběhu 21 dní. Předběžným závěrem studie je, že střední dávky hydrokortizonu výrazně nesnížily pravděpodobnost ventilační podpory do 21. dne (42,1 % v experimentální vs. 50,7 % v kontrolní skupině (rozdíl v proporcích -8,6, 95% konfidenční interval (95% CI) -24,9–7,7)).

CoDEX [26], multicentrická, randomizovaná open label studie, sledovala, zda podávání dexamethasonu zvýší počet dní bez nutnosti UPV v průběhu prvních 28 dní. Zařazeno bylo 299 nemocných s covidem-19 a středně těžkým až těžkým ARDS dle Berlínských kritérií. Nemocní byli randomizováni do dvou skupin. Experimentální skupina dostávala jednou denně 20 mg dexamethasonu prvních pět dní a následujících 5 dní 10 mg dexamethasonu. Druhá skupina měla pouze standardní péči. Výsledkem bylo průměrně 6,6 dní (95% CI 5,0–8,2) bez nutnosti UPV v experimentální skupině versus 4,0 dní (95% CI 2,9–5,4) ve skupině kontrolní.

RECOVERY [27], kontrolovaná nezáslepená studie, zkoumala vliv podávání dexamethasonu na 28denní mortalitu u pacientů s před-

pokládanou nebo laboratorně potvrzenou nákazou SARS-CoV-2. Bylo zařazeno 6425 nemocných, kteří byli randomizováni do dvou skupin. Experimentální skupina (n = 2104) dostávala dexamethason 6 mg jednou denně po dobu až 10 dní. Kontrolní skupina (n = 4321) měla běžnou péči. V průběhu 28denního sledování zemřelo 482 pacientů (22,9 %) v experimentální skupině vs. 1110 pacientů (25,7 %) ve skupině kontrolní. Počet zemřelých byl sledován také z pohledu úrovně ventilační podpory. V experimentální skupině byla mortalita nižší než ve skupině kontrolní u pacientů na UPV (29,3 % vs. 41,4 %, rate ratio 0,64, 95% CI 0,51–0,81), u pacientů vyžadujících oxygenoterapii v jakékoliv formě (23,3 % vs. 26,2 %, RR 0,82, 95% CI 0,72–0,94), avšak ne u těch, kteří neměli žádnou ventilační či oxygenační podporu (17,8 % vs. 14,0 %, RR 1,19, 95% CI 0,91–1,55). Z toho vyplývá, že bylo dosaženo signifikantně lepších výsledků u pacientů vyžadujících ventilační podporu či oxygenoterapii, naopak pacienti nevyžadující žádnou formu ventilační podpory z užití dexamethasonu neprofitovali. Bylo s výhodou, pokud se dexamethason začal podávat více než 7 dní po začátku klinických příznaků. V tomto období se totiž velmi pravděpodobně snižuje replikace viru a převažuje závažnější poškození plic.

Za zmínku stojí fakt, že po zveřejnění výsledků studie RECOVERY byly zbylé tři studie předčasně ukončeny. Všechny výše zmíněné studie mají také řadu nedostatků a faktorů, na které se při vyhodnocování nebere ohled a které mohou zvyšovat mortalitu. Jedná se například o etnikum pacienta, body mass index (BMI), nastavení UPV (PEEP, FiO₂, atd.), či užívání kortikosteroidů z jiných indikací v kontrolních skupinách. Dále se vedou diskuze, zda je uvedená 28denní mortalita optimální. Dle ukončené REMAP-CAP je medián pobytu na JIP 24 dní a až 30 % pacientů pobývá na JIP i 90. den. Dále je vysoká pravděpodobnost sekundárních virových, bakteriálních či mykotických infekcí, které se často projeví za delší dobu, než je 28 dní.

Diskuze

Zdravotnické systémy mnoha zemí jsou nebo byly v různé míře zahlceny pacienti s těžkým průběhem nemoci covid-19. Mortalita pacientů na invazivní UPV zůstává vysoká (34–43 %) [28, 29]. Je zcela logické, že jsou zkoumány léky, které by mohly mít potenciál tuto nepříznivou situaci zlepšit. Kortikoidy mají schopnost modulovat imunitní odpověď a v důsledku toho tlumit poškození plic [5]. U pacientů s ARDS nekoronavirové etiologie máme po publikaci studie Villar et al. [22] již poměrně seriózní data. Kortikoidy byly aplikovány buď časně (do 24–72 hodin), nebo při nelepším se stavu 7. den od rozvoje ARDS. Konzistentně napříč studii byl prokázán benefit v oxygenačních parametrech a zkrácení doby umělé plicní ventilace. Ve studii, v níž byly kortikoidy podány při nelepším se stavu po 7. dnu od rozvoje oxygenační poruchy,

nedošlo ke snížení 60denní mortality a naopak u pacientů zařazených po 14. dnu od rozvoje ARDS dokonce došlo k významnému nárůstu mortality [20]. To odpovídá patofyziologické představě již rozvinutého fibroproliferativního stadia poškození plicního parenchymu, čili budou převažovat nežádoucí účinky kortikoidů.

Co se volby konkrétního preparátu týče, nejčastěji používaným kortikoidem u nekoronavirového ARDS byl metylprednisolon [19, 21]. Má 5x větší glukokortikoidní aktivitu než hydrokortizon a minimální mineralokortikoidní účinky. Jako nejvhodnější dávkovací schéma s ohledem na relativně kratší biologický poločas (12–36 hodin) se jeví iniciální bolus následovaný kontinuální infuzí. Po stabilizaci stavu by měla přijít fáze pomalého vysazování, umožňující postupnou restituci hypotalamo-hypofyzární osy [5] při přetrvávání klinického účinku.

Dexamethason má 5x větší glukokortikoidní účinek než metylprednisolon a zanedbatelnou mineralokortikoidní aktivitu. Vzhledem k delšímu biologickému poločasu (36–72 hodin) [30] jde aplikovat v jedné denní dávce a lze předpokládat, že po jeho vysazení se bude účinek vytrácet postupně a je proto možné vynechat fázi postupného snižování dávky. Byl úspěšně použit v terapii nekoronavirového ARDS [22] i ARDS vyvolaného covidem-19 [26, 27]. Je však nutné připomenout, že hlavní studie podporující užití dexamethasonu [27] vykazuje určité metodologické nedostatky, jako například absence stratifikace mezi centry a pouze krátkodobý outcome (28denní mortalita) [31].

Světová zdravotnická organizace a odborné společnosti [32, 33] doporučují podání dexamethasonu v dávce 6 mg u nemocných s tíží onemocnění 5–9 dle WHO, tzn. od pacientů vyžadujících malou dávku oxygenoterapie až po pacienty na agresivní umělé plicní ventilaci či mimotělní oxygenaci. Je vysoce pravděpodobné, že pacienti s takto různou tíží onemocnění budou profitovat z různých dávek kortikoidů, čili že „one size fit all“ nebude zcela optimální strategií. Například pacienti s tzv. hyperinflačním fenotypem [34] by naopak velmi pravděpodobně mohli profitovat z vyšších dávek kortikoidů, např. ve schématu již dříve použitým u nekoronavirového ARDS [22].

Závěrem lze shrnout, že systémové kortikoidy mají potenciál příznivě ovlivňovat klinický výsledek pacientů s těžkou pneumonií vyvolanou covidem-19. Zůstává ovšem několik nezodpovězených otázek. Zejména není známo optimální dávkovací schéma u různých skupin pacientů s ohledem na tíži respiračního selhání, dále volba a dávka konkrétního kortikosteroidu (metylprednisolon či dexamethason) a také možnost individualizovat podání kortikoidu u konkrétního pacienta. Na tyto a další otázky by měly odpovědět randomizované, kontrolované studie na porovnání různých dávek kortikoidů, např. dexamethasonu, které jsou nyní velice intenzivně prováděny [35, 36].

PROHLÁŠENÍ AUTORŮ: Prohlášení o původnosti: Práce je původní a nebyla publikována ani není zaslána k recenznímu řízení do jiného média. **Střet zájmů:** Jan Maláška je národní koordinátor studie REMED – EudraCT No.:2020-005887-70, ClinicalTrials.gov (Title: Effect of Two Different Doses of Dexamethasone in Patients With ARDS and COVID-19 (REMED) Identifier: NCT04663555. Jan Stašek je hlavní zkoušející centra ve FN Brno. **Podíl autorů:** Všichni autoři rukopis četli, souhlasí s jeho zněním a zasláním do redakce časopisu Anesteziologie a intenzivní medicína. JS, JM – koncept publikace, psaní manuskriptu, finální editorství, JS, FK, VK, KŘ – rešeršní činnost, psaní manuskriptu. **Financování:** Podpořeno ze státního rozpočtu prostřednictvím MŠMT projektem VI CZECRIN (LM2018128), z Evropského fondu pro regionální rozvoj – projekt CZECRIN_4PATIENTS (CZ.02. 1.01/0.0/0.0/16_013/0001826) a MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705). **Poděkování:** Klára Fabiánková.

LITERATURA

1. Berlin DA, Gulick RM, Martinez FJ. Severe Covid-19. *N Engl J Med.* 2020 Dec 17; 383(25): 2451–2460. doi: 10.1056/NEJMc2009575. Epub 2020 May 15. PMID: 32412710.
2. Domecq JR, Lal A, Sheldrick CR, Vishakha KK, Boman K, Bolesta S, et al. COVID-19 Registry Investigator Group. Outcomes of Patients With Coronavirus Disease 2019 Receiving Organ Support Therapies: The International Viral Infection and Respiratory Illness Universal Study Registry. *Crit Care Med.* 2021 Mar 1; 49(3): 437–448. doi: 10.1097/CCM.0000000000004879. Erratum in: *Crit Care Med.* 2021 May 1; 49(5): e562. PMID: 33555777.
3. Sanders JM, Monogue ML, Jodkowski TZ, Cutrell JB. Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA.* 2020 May 12; 323(18): 1824–1836. doi: 10.1001/jama.2020.6019.PMID: 32282022
4. Marshall JC, Murthy S, Diaz J, Adhikari NK, Angus DC, Arabi YM, et al. A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. *The Lancet Infectious Diseases.* 2020; 20(8): e192–e197. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30483-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30483-7)
5. Meduri GU, Annane D, Confalonieri M, Chrousos GP, Rochweg B, Busby A, et al. Pharmacological principles guiding prolonged glucocorticoid treatment in ARDS. *Intensive Care Medicine [online].* 2020; 46(12): 2284–2296 [cit. 2020-12-14]. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-020-06289-8
6. Panettieri RA, Schaafsma D, Amrani Y, Kozioł-White C, Ostrom R, Tilba O. Non-genomic Effects of Glucocorticoids: An Updated View. *Trends in Pharmacological Sciences [online].* 2019; 40(1): 3–49 [cit. 2020-12-14]. Dostupné z: doi:10.1016/j.tips.2018.11.002
7. The ARDS Definition Task Force. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin definition. *JAMA* 2012; 307: 2526–2533. doi:10.1001/jama.2012.5669
8. Pierrakos. Acute Respiratory Distress Syndrome: Pathophysiology and Therapeutic Options. *Journal of Clinical Medicine Research [online].* 2012 [cit. 2021-01-15]. Dostupné z: doi:10.4021/jocmr761w
9. Huang X, Xiu H, Zhang S, Zhang G. The Role of Macrophages in the Pathogenesis of ALI/ARDS. *Mediators of Inflammation [online].* 2018; 2018: 1–8 [cit. 2021-01-15]. Dostupné z: doi:10.1155/2018/1264913
10. Matthay MA, Zemans RL. The Acute Respiratory Distress Syndrome: Pathogenesis and Treatment. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease [online].* 2011; 6(1): 147–163 [cit. 2021-01-15]. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-pathol-011110-130158
11. Huppert L, Matthay MA, Ware L. Pathogenesis of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine [online].* 2019; 40(01): 031–039 [cit. 2021-01-15]. Dostupné z: doi:10.1055/s-0039-1683996
12. Frantzeskaki F, Armaganidis A, Orfanos SE. Immunothrombosis in Acute Respiratory Distress Syndrome: Cross Talks between Inflammation and Coagulation. *Respiration [online].* 2017; 93(3): 212–225 [cit. 2021-01-16]. Dostupné z: doi:10.1159/000453002
13. Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, Arabi YM, Beitler JR, Mercat A, et al. Acute respiratory distress syndrome. *Nature Reviews Disease Primers [online].* 2019; 5(1): [cit. 2020-12-17]. Dostupné z: doi: 10.1038/s41572-019-0069-0
14. Gattinoni L, Chiumello D, Caironi P, Busana M, Romitti F, Brazzi L, et al. COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes? *Intensive Care Med* 2020; published online April 14. doi: 10.1007/s00134-020-06033-2.
15. Fan E, Beitler JR, Brochard L, Calfee CS, Ferguson ND, Slutsky AS, et al. COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome: is a different approach to management warranted? *Lancet Respir Med.* 2020; 8(8): 816–821. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30304-0
16. Meduri GU, Muthiah MP, Carratù P, Eltorok M, Chrousos GP. Nuclear Factor- κ B- and Glucocorticoid Receptor α -Mediated Mechanisms in the Regulation of Systemic and Pulmonary Inflammation during Sepsis and Acute Respiratory Distress Syndrome. *Neuroimmunomodulation [online].* 2006; 12(6): 321–338 [cit. 2020-12-19]. Dostupné z: doi:10.1159/000091126
17. Jiang CL, Liu L, Tasker JG. Why do we need nongenomic glucocorticoid mechanisms? *Frontiers in Neuroendocrinology [online].* 2014; 35(1): 72–75 [cit. 2020-12-19]. Dostupné z: doi: 10.1016/j.yfrne.2013.09.005
18. Buttgerit F, da Silva JA, Boers M, Cutolo M, Jacobs J, Kirwan J, et al. Standardised nomenclature for glucocorticoid dosages and glucocorticoid treatment regimens: current questions and tentative answers in rheumatology. *Ann Rheum Dis.* 2002; 61: 718–722.
19. Meduri GU, Headley AS, Golden E, Carson SJ, Umberger RA, Kelso T, et al. Effect of prolonged methylprednisolone therapy in unresolving acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA.* 1998 Jul 8; 280(2): 159–165. doi: 10.1001/jama.280.2.159
20. Steinberg KP, Hudson LD, Goodman RB, Hough CL, Lanken PN, Hyzy R, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) Clinical Trials Network. Efficacy and safety of corticosteroids for persistent acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2006 Apr 20; 354(16): 1671–1684. doi: 10.1056/NEJMoa051693
21. Meduri GU, Golden E, Freire AX, Taylor E, Zaman M, Carson SJ, et al. Methylprednisolone infusion in early severe ARDS: results of a randomized controlled trial. *Chest.* 2007 Apr; 131(4): 954–963. doi: 10.1378/ chest.06-2100.
22. Villar J, Ferrando C, Martínez D, Ambrós A, Munoz T, Soler JA, et al. Dexamethasone treatment for the acute respiratory distress syndrome: a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2020 Mar; 8(3): 267–276. doi: 10.1016/S2213-2600(19)30417-5. Epub 2020 Feb 7.
23. WHO Rapid Evidence Appraisal for COVID-19 Therapies (REACT) Working Group, Sterne JAC, Murthy S, Diaz JV, et al. Association Between Administration of Systemic Corticosteroids and Mortality Among Critically Ill Patients With COVID-19: A Meta-analysis. *JAMA.* 2020 Oct 6; 324(13): 1330–1341. doi: 10.1001/jama.2020.17023. PMID: 32876694; PMCID: PMC7489434.
24. Angus DC, Derde L, Al-Beidh F, Annane D, Arabi Y, Beane A, et al. Effect of Hydrocortisone on Mortality and Organ Support in Patients With Severe COVID-19: The REMAP-CAP COVID-19 Corticosteroid Domain Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2020 Oct 6; 324(13): 1317–1329. doi: 10.1001/jama.2020.17022.PMID: 32876697 Clinical Trial.
25. Dequin PF, Heming N, Meziani F, Plantefève G, Voirot G, Badié J, et al. Effect of Hydrocortisone on 21-Day Mortality or Respiratory Support Among Critically Ill Patients With COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2020 Oct 6; 324(13): 1298–1306. doi: 10.1001/jama.2020.16761.
26. Tomazini BM, Maia IS, Cavalcanti AB, Berwanger O, Rosa R, Veiga VC, et al. Effect of Dexamethasone on Days Alive and Ventilator-Free in Patients With Moderate or Severe Acute Respiratory Distress Syndrome and COVID-19: The CoDEX Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2020 Oct 6; 324(13): 1307–1316. doi: 10.1001/jama.2020.17021.
27. Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, Bell JL, Linsell L, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *RECOVERY Collaborative Group, N Engl J Med.* 2021 Feb 25; 384(8): 693–704. doi: 10.1056/NEJMoa2021436. Epub 2020 Jul 17. PMID: 32678530
28. Nicholson JN, Wooster L, Sigurslid HH, Li RH, Jiang W, Tian W, et al. Estimating risk of mechanical ventilation and in-hospital mortality among adult COVID-19 patients admitted to Mass General Brigham: The VICE and DICE scores. *E Clinical Medicine.* Mar 2021; 33: 100765. doi: 10.1016/j.eclinm.2021.100765
29. King CS, Sahjwani D, Brown AW, Feroz S, Cameron P, Osborn E, et al. Outcomes of mechanically ventilated patients with COVID-19 associated respiratory failure. *PLoS ONE.* 2020; 15(11): e0242651. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242651>
30. Liu D, Ahmet A, Ward L, Krishnamoorthy P, Mandelcorn ED, Leigh R, et al. A practical guide to the monitoring and management of the complications of systemic corticosteroid therapy. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2013 Aug 15; 9(1): 30. doi: 10.1186/1710-1492-9-30.
31. De Backer D, Azoulay E, Vincent JL. Corticosteroids in severe COVID-19: a critical view of the evidence. *Crit Care.* 2020 Oct 29; 24(1): 627. doi: 10.1186/s13054-020-03360-0. PMID: 33121512; PMCID: PMC7595567.
32. Corticosteroids for COVID-19 [online]. Dostupné ke stažení na adrese: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Corticosteroids-2020.1>
33. Kumpel P, Holub M, Roháčová H, Plíšek S. Doporučený postup Společnosti infekčního lékařství ČLS JEP pro léčbu pacientů s onemocněním covid-19. Dostupné z: <https://www.infekce.cz/Covid2019/DP-SIL-covid29p.pdf>
34. Manson JJ, Crooks C, Naja M, Ledlie A, Goulden B, Liddle T, et al. COVID-19-associated hyperinflammation and escalation of patient care: a retrospective longitudinal cohort study. *Lancet Rheumatol.* 2020 Oct; 2(10): e594–e602. doi: 10.1016/S2665-9913(20)30275-7. Epub 2020 Aug 21.
35. Munch MW, Granholm A, Myatra SN, Vijayaraghavan B, Cronhjort M, Wahlin RR, et al. Higher vs lower doses of dexamethasone in patients with COVID-19 and severe hypoxia (COVID STEROID 2) trial: Protocol and statistical analysis plan. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2021; 00: 1–12.
36. Malásková J, Stašek J, Duška F, Balík M, Máca J, Hrudá J, et al. Effect of dexamethasone in patients with ARDS and COVID-19 – prospective, multi-centre, open-label, parallel-group, randomised controlled trial (REMED trial): A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* (2021); 22: 172. <https://doi.org/10.1186/s13063-021-05116-9>

Copyright of Anaesthesiology & Intensive Medicine / Anesteziologie a Intenzivni Medicina is the property of Czech Medical Association of JE Purkyne and its content may not be copied or emailed to multiple sites or posted to a listserv without the copyright holder's express written permission. However, users may print, download, or email articles for individual use.

- b. Effect of dexamethasone in patients with ARDS and COVID-19 (REMED trial)-study protocol for a prospective, multi-centre, open-label, parallel-group, randomized controlled trial. Trials. 2022.*

ARDS je příklad vystupňované lokální inflamace iniciované buď primárním poškozením plic nebo systémovou inflamatorní odpovědí (sekundární inzult). Onemocnění, která jej vyvolávají, jsou heterogenní skupinou, nicméně výsledek, tj. orgánová hyperinflamace plic je do určité míry shodný, nicméně zatím nemáme k dispozici prokázanou specifickou léčbu. Jedinou skupinou léků, které mají potenciál nespecificky utlumit tuto zánětlivou odpověď a event. zabránit vzniku fibrotizace plic jsou kortikoidy. Již před pandemií COVID-19 byly u pacientů s ARDS prováděny studie s jejich aplikací. Dřívější data ze skupiny Umberta Meduriho byly sice povzbudivá, ale nebyla obecně akceptovaná pro malý počet pacientů a metodické námitky. [199, 200] Randomizovaná, kontrolovaná studie (RCT) skupiny ARDS network také mortalitní benefit podání kortikoidů neprokázala. [201] Na druhou stranu máme data, která podání kortikoidů prokázala jako prospěšné u pacientů s těžkou komunitní pneumonií a dokonce i u pacientů v septickém šoku. [202-204] Přesto kortikoidy pro rutinní použití v klinické praxi u pacientů s ARDS doporučovány nebyly. Zlom nastal po publikaci práce (výše zmiňované), která prokázala mortalitní benefit podávání dexamethasonu po dobu 10 dnů. [195]

Pandemie onemocnění COVID-19 znovu otevřela debatu o použití systémových kortikoidů v léčbě pacientů s ARDS. Následně v situaci rychlého, celosvětového hledání léku, který by byl efektivní v boji proti COVID-19 byl prokázán v extrémně rychlém čase efekt na mortalitu systémových kortikoidů, konkrétně dexamethasonu 6 mg po dobu 10 dnů, v léčbě pacientů s těžkým průběhem onemocnění COVID-19 studií RECOVERY, naopak u pacientů s lehkým průběhem benefit prokázán nebyl. [205] Na základě výsledků této studie následně Světová zdravotnická organizace (WHO) doporučila terapii systémovými kortikoidy u pacientů s těžkým průběhem (od zahájení oxygenoterapie). [198] Optimální strategie pro podávání

kortikosteroidů je stále předmětem debat a probíhajících studií. Hledá se optimální účinná látka, forma podání i konkrétní dávkování. Vzhledem k příznivému farmakodynamickému (vyšší potence s minimálním mineralokortikoidním účinkem) a farmakokinetickému profilu (dávkování jednou denně, bez nutnosti pomalého vysazování) dexamethasonu se na začátku pandemie zkoumal většinou dexamethason 6 mg. a v návaznosti na uvedenou studii Villar a spol a vzhledem k tomu, že denní dávka 6 mg dexamethasonu i. v. nekoresponduje s ekvivalentním dávkováním metylprednisolonu (např. Meduri et al. Používá 80 mg metylprednisolonu = 1 mg/kg pro 80 kg pacienta představuje ekvivalent 15 mg dexamethasonu), nás vedlo k myšlence vyššího dávkování a potenciálně dalšího zlepšení výsledků léčby. [143, 206] Již nyní jsou k dispozici výsledky studie COVID STEROID 2, která porovnávala podávání dexamethasonu 12 mg vs. 6 mg i.v. u pacientů s COVID-19 ARDS od stádia nutnosti podávání oxygenoterapie. Výsledky nedosáhly statistické signifikance, nicméně ve skupině vyšší dávky byl trend ke zlepšení kompozitního primárního cíle studie, tedy počet dnů přežití bez orgánové podpory (invazivní ventilace, oběhová podpora a renální eliminační techniky) v průběhu 28 dnů. [207] Plánovaná sekundární bayesiánská analýza výše uvedené studie COVID STEROID 2 v návaznosti signifikantně prokázala zlepšení kompozitního primárního cíle studie u skupiny pacientů s 12 mg dexamethasonu i.v. [208] Skupina REMED, v které jsem v roli národního koordinátor, je součástí plánované prospektivní metaanalýzy s předem publikovaným protokolem. [209] Vytvořený protokol klinického hodnocení (KH) REMED (EudraCT No.:2020-005887-70, NCT04663555), který zkoumá podávání dvou různých dávek dexamethasonu u pacientů s COVID-19 ARDS byla v době pandemie publikována plná verze protokolu v časopise Trials, která navázala na strukturované shrnutí formou letter. [143, 206] Tento protokol a klinické hodnocení je svým způsobem unikátní, jelikož zahrnuje 10 pracovišť intenzivní péče v České republice. Vzhledem k tomu, že studie COVID STEROID 2 neprokázala v primární

analýze statisticky signifikantní benefit podávání vyšších dávek kortikoidů (dexamethasonu 12 mg), se na výsledky studie REMED čeká, jak je zmiňováno například v editoriale Stevena Webba v časopise JAMA. [210]

UPDATE

Open Access

Effect of dexamethasone in patients with ARDS and COVID-19 (REMED trial)—study protocol for a prospective, multi-centre, open-label, parallel-group, randomized controlled trial



Jan Maláška¹, Jan Stašek^{1*}, František Duška², Martin Balík³, Jan Máca⁴, Jan Hruša⁵, Tomáš Vymazal⁶, Olga Klementová⁷, Jan Zatloukal⁸, Tomáš Gabrhelík⁹, Pavel Novotný¹⁰, Regina Demlová¹¹, Jana Kubátová¹¹, Jana Vinklerová¹¹, Adam Svobodník¹¹, Milan Kratochvíl¹², Jozef Klučka¹², Roman Gál¹, Mervyn Singer¹³ and on behalf of the REMED Study Group

Abstract

Background: Since December 2019, SARS-CoV-2 virus has infected millions of people worldwide. In patients with COVID-19 pneumonia in need of oxygen therapy or mechanical ventilation, dexamethasone 6 mg per day is currently recommended. However, the dose of 6 mg of dexamethasone is currently being reappraised and may miss important therapeutic potential or may prevent potential deleterious effects of higher doses of corticosteroids.

Methods: REMED is a prospective, open-label, randomised controlled trial testing the superiority of dexamethasone 20 mg (dexamethasone 20 mg on days 1–5, followed by dexamethasone 10 mg on days 6–10) vs 6 mg administered once daily intravenously for 10 days in adult patients with moderate or severe ARDS due to confirmed COVID-19. Three hundred participants will be enrolled and followed up for 360 days after randomization. Patients will be randomised in a 1:1 ratio into one of the two treatment arms. The following stratification factors will be applied: age, Charlson Comorbidity Index, CRP levels and trial centre. The primary endpoint is the number of ventilator-free days (VFDs) at 28 days after randomisation. The secondary endpoints are mortality from any cause at 60 days after randomisation; dynamics of the inflammatory marker, change in WHO Clinical Progression Scale at day 14; and adverse events related to corticosteroids and independence at 90 days after randomisation assessed by the Barthel Index. The long-term outcomes of this study are to assess long-term consequences on mortality and quality of life at 180 and 360 days. The study will be conducted in the intensive care units (ICUs) of ten university hospitals in the Czech Republic.

Discussion: We aim to compare two different doses of dexamethasone in patients with moderate to severe ARDS undergoing mechanical ventilation regarding efficacy and safety.

* Correspondence: stasekjan@fnbrno.cz

¹Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine, University Hospital Brno and Masaryk University, Jihlavská 20, 625 00 Brno, Czech Republic

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2021 **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

Trial registration: EudraCT No. 2020-005887-70. [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov) NCT04663555. Registered on December 11, 2020

Keywords: COVID-19, Randomised controlled trial, Protocol, ARDS, Dexamethasone, Ventilator-free days

Administrative information

Note: the numbers in curly brackets in this protocol refer to SPIRIT checklist item numbers. The order of the items has been modified to group similar items (see <http://www.equator-network.org/reporting-guidelines/spirit-2013-statement-defining-standard-protocol-items-for-clinical-trials/>).

Title {1}	Effect of dexamethasone in patients with ARDS and COVID-19 (REMED trial)—study protocol for a prospective, multi-centre, open-label, parallel-group, randomized controlled trial
Trial registration {2a and 2b}	EudraCT No.:2020-005887-70 and ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04663555 on December 11, 2020, on ClinicalTrials.gov
Protocol version {3}	1.2 22.03.2021
Funding {4}	REMED is an investigator-initiated clinical trial. Funding will be granted from the project research infrastructure Czech Clinical Research Infrastructure Network CZECRIN (LM 2018128) and University Hospital Brno.
Author details {5a}	Jan Maláska ^{1*} , Jan Stašek ¹ , František Duška ² , Martin Balík ³ , Jan Máca ⁴ , Jan Hruďa ⁵ , Tomáš Vymazal ⁶ , Olga Klementová ⁷ , Jan Zatloukal ⁸ , Tomáš Gabrhelík ⁹ , Pavel Novotný ¹⁰ , Regina Demlová ¹¹ , Jana Kubátová ¹¹ , Jana Vinklerová ¹¹ , Adam Svobodník ¹¹ , Milan Kratochvíl ¹² , Jozef Klučka ¹² , Roman Gál ¹ , Mervyn Singer ¹³ on behalf of the REMED Study Group. ¹ Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Brno and Masaryk University, Faculty of Medicine, Jihlavská 20, 625 00 Brno, Czech Republic, Jan Maláska: malaska.jan@fnbrno.cz , Jan Stašek: stasekjan@fnbrno.cz , Roman Gál: gal.roman@fnbrno.cz ² Department of Anaesthesia and Intensive Care, University Hospital Královské Vinohrady and Charles University, 3rd Faculty of Medicine, Šrobárova 1150 100 34 Praha, Czech Republic, frantisek.duska@f3.cuni.cz ³ Department of Anaesthesia and Intensive Care, General University Hospital in Prague and Charles University, 1st Faculty of Medicine, U Nemocnice 499/2 128 08 Praha, Czech Republic, martin.balik@vfn.cz ⁴ Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Ostrava and University Ostrava, Faculty of Medicine, 17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava-Poruba, Czech Republic,

Administrative information (Continued)

Title {1}	Effect of dexamethasone in patients with ARDS and COVID-19 (REMED trial)—study protocol for a prospective, multi-centre, open-label, parallel-group, randomized controlled trial
	jan.maca@fnoc.cz ⁵ Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, St. Anne's University Hospital and Masaryk University, Faculty of Medicine, Pekařská 664/53, 656 91 Brno, Czech Republic, jan.hruda@fnusa.cz ⁶ Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Motol and Charles University, 2nd Faculty of Medicine, V Úvalu 84/1, 150 06 Praha 5, Czech Republic, tomas.vymazal@fnmotol.cz ⁷ Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Olomouc and Palacky University, Faculty of Medicine, I. P. Pavlova 185/6, 779 00 Olomouc, Czech Republic, Olga.Klementova@fnol.cz ⁸ Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Plzeň and Charles University, Faculty of Medicine in Pilsen, ajeř Svobody 80, 304 60 Plzeň-Lochotin, Czech Republic, ZATLOUKALJ@fnplzen.cz ⁹ Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Tomáš Bafa Regional Hospital, Havlíčkovo nábřeží 600, 762 75 Zlín, Czech Republic, Tomas.Gabrhelik@bnzlin.cz ¹⁰ Department of Anaesthesiology and Intensive Care, Military University Hospital Praha and Charles University, 1st Faculty of Medicine, U Vojenské nemocnice 1200, 169 02 Praha, Czech Republic, Pavel.Novotny@uvn.cz ¹¹ Department of Pharmacology/CZECRIN, Masaryk University, Faculty of Medicine, Kamenice 5, Brno, 62500 Czech Republic, Regina Demlová: demlova@med.muni.cz , Jana Kubátová: jana.kubatova@med.muni.cz , Jana Vinklerová: jvinkler@med.muni.cz , Adam Svobodník: svobodnika@gmail.com ¹² Department of Paediatric Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Brno and Masaryk University, Faculty of Medicine, Jihlavská 20, 625 00 Brno, Czech Republic, Milan Kratochvíl: kratochvil.milan@fnbrno.cz , Jozef Klučka: jozef@fnbrno.cz ¹³ Bloomsbury Institute of Intensive Care Medicine, Division of Medicine, University College London, Gower Street, London, WC1E 6BT, United

Administrative information (Continued)

Title {1}	Effect of dexamethasone in patients with ARDS and COVID-19 (REMED trial)—study protocol for a prospective, multi-centre, open-label, parallel-group, randomized controlled trial
Name and contact information for the trial sponsor {5b}	Kingdom, m.singer@ucl.ac.uk *corresponding author University Hospital Brno Jihlavská 20 625 00 Brno, Czech Republic
Role of sponsor {5c}	Trial funders have no role in the study design, collection, analysis and interpretation of the data. Investigators declare no financial or non-financial competing interest regarding the focus of this trial.

Clinical trial background**Introduction**

Since December 2019, SARS-CoV-2 virus has infected millions of people worldwide. A significant number of patients develop a hyperinflammatory state affecting the lungs, which may lead to the need for oxygen therapy. In most severe cases, acute respiratory distress syndrome (ARDS) develops, and high flow oxygen therapy or invasive mechanical ventilation is necessary [1]. Therapeutic options in coronavirus disease 2019 (COVID-19)-associated ARDS patients remain limited, and mortality is still excessive.

Rationale and up-to-date evidence

Systemic corticosteroids have the potential to limit hyperinflammatory response by modulating the immune system. This effect is mediated mainly by binding to the glucocorticoid receptor (GR) α [2]. Their effectiveness was proved in heterogeneous ARDS patients recently [3].

In patients with COVID-19 pneumonia in need of oxygen therapy or mechanical ventilation, dexamethasone 6 mg per day is currently recommended. This therapy is mandated by the results of the RECOVERY trial [4]. After this trial was published, three randomized trials comparing hydrocortisone [5, 6] or dexamethasone [7] against placebo were stopped prematurely. All these studies were included in the subsequent individual patients' data (IPD) meta-analysis [8]. However, the dose of 6 mg of dexamethasone is currently being reappraised.

The aforementioned study in non-COVID-19 ARDS patients [3] used 20 mg of dexamethasone per day, which is roughly equivalent to the methylprednisolone regimen (1 mg/kg/day) studied in early severe ARDS patients [9]. Only these moderate doses (80–100 mg of

methylprednisolone, equivalent to 15–19 mg of dexamethasone) have the full potential to modulate the immune response by saturating GR α receptors [2]. Importantly, prematurely stopped CoDEX trial [7] comparing dexamethasone against placebo in COVID-19 ARDS patients used an initial daily dose of 20 mg of dexamethasone vs placebo.

In light of these facts, 6 mg of dexamethasone given to COVID-19 patients with different severities of illness (WHO classification groups 5–10) may miss important therapeutic potential or may prevent potential deleterious effects of a full-dose therapeutic corticosteroid. The authors hypothesize that the patients with moderate to severe ARDS undergoing mechanical ventilation may benefit from higher doses of dexamethasone [3, 7, 9].

Anticipated risks and benefits

There may or may be no benefit from a higher dose of dexamethasone in the improvement of the clinical outcomes of an individual participant. However, there is a potential benefit to the society from the participation in this study resulting from insights gained about the dexamethasone use and posology. The potential risks of participating in this study are those associated with dexamethasone use, i.e. known adverse effects of potent glucocorticoids.

Trial objectives and endpoints**Primary objective(s) and endpoint(s)**

The primary objective of this study is to test the hypothesis that administration of dexamethasone 20 mg is superior over 6 mg in adult patients with moderate or severe ARDS due to confirmed COVID-19.

The primary endpoint is the number of ventilator-free days (VFDs) at 28 days after randomization.

VFDs are defined as being alive and free from mechanical ventilation (more than 48 h):

- Day 0 is the day of randomization.
- The time frame is 28 days.
- Free from mechanical ventilation means extubation for > 48 h without reintubation in a 28-day survivor or disconnection from the ventilator in patients with tracheostomy (irrespective of PEEP valve) for > 48 h without reconnection to the ventilator in a 28-day survivor.
- VFDs are counted from the last successful extubation or disconnection from the ventilator.
- If death occurs before day 28, VFD = 0 (to penalize non-survival, regardless of intubation status).

- If death occurs after day 28, 28-day ventilation and survival status is used for calculating VFDs (censor after 28 days).

Secondary objective(s) and endpoint(s)

The secondary objective is to investigate the efficacy and safety of dexamethasone 20 mg vs dexamethasone 6 mg.

The following are the secondary endpoints:

- Mortality from any cause at 60 days after randomization
- Dynamics of inflammatory marker (CRP) change from day 1 to day 14
- WHO Clinical Progression Scale at day 14 (range 0–10; 0 = no illness, 1–9 = increasing level of care and 10 = death) [11]
- Adverse events related to corticosteroids (new infections, new thrombotic complications) until day 28 or hospital discharge
- Independence at 90 days after randomization assessed by the Barthel Index

Exploratory objective(s) and endpoint(s)

The exploratory objective of this study is to assess the long-term consequences on mortality and quality of life at 180 and 360 days.

Trial design

REMED is a prospective phase II open-label randomized controlled trial testing the superiority of dexamethasone 20 mg vs 6 mg. The study is multi-centre and will be conducted in intensive care units (ICUs) of university hospitals in the Czech Republic. The trial aims to be pragmatic, i.e. designed to evaluate the effectiveness of the intervention in conditions that are very close to the real-life routine clinical practice. Dexamethasone will be administered once daily intravenously for 10 days. Three hundred participants will be enrolled and followed up for 360 days after randomization.

Trial population

Inclusion criteria

Subjects will be eligible for the trial if they meet all of the following criteria:

- Adult (≥ 18 years of age) at time of enrolment
- Present COVID-19 (infection confirmed by RT-PCR or antigen testing)
- Intubation/mechanical ventilation or ongoing high-flow nasal cannula (HFNC) oxygen therapy
- Moderate or severe ARDS according to the Berlin criteria:

- Moderate— $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 100–200 mmHg
- Severe— $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 100$ mmHg

- Admission to ICU in the last 24 h

Exclusion criteria

Subjects will not be eligible for the trial if they meet any of the following criteria:

- Known allergy/hypersensitivity to dexamethasone or excipients of the investigational medicinal product (e.g. parabens, benzyl alcohol)
- Fulfilled criteria for ARDS for ≥ 14 days at enrolment
- Pregnancy or breastfeeding
- Unwillingness to comply with contraception measurements from the enrolment to at least 1 week after the last dose of dexamethasone (sexual abstinence is considered as the adequate contraception method)
- End-of-life decision or patient is expected to die within next 24 h
- Decision not to intubate or ceilings of treatment in place
- Immunosuppression and/or immunosuppressive drugs in medical history:

- Systemic immunosuppressive drugs or chemotherapy in the past 30 days
- Systemic corticosteroids use before hospitalization
- Corticosteroid administration (dexamethasone equal or less than 8 mg per day or other corticosteroids in equivalent dose) during the present hospital stay for COVID-19 for more than last 5 days before enrolment
- Systemic corticosteroids during the present hospital stay for other conditions than COVID-19 (e.g. septic shock)
- Dexamethasone more than 8 mg per day or other corticosteroids in equivalent dose during the present hospital stay for COVID-19 for more than one single dose

- Present haematological or generalized solid malignancy

9. Any of the following contraindications of corticosteroids:

- Intractable hyperglycaemia
- Active gastrointestinal bleeding
- Adrenal gland disorders
- The presence of superinfection diagnosed with locally established clinical and laboratory criteria without adequate antimicrobial treatment

10. Cardiac arrest before ICU admission

11. Participation in another interventional trial in the last 30 days

Randomization and stratification

Randomization will be carried out within the electronic case report form (eCRF) by the stratified permuted block randomization method. The allocation sequences will be prepared by a statistician independent of the study team. Allocation to the treatment arm of an individual patient will not be available to the investigators before the completion of the whole randomization process. Following stratification factors will be applied:

- Age < 65 and ≥ 65 [12]
- Charlson Comorbidity Index (CCI) < 3 and ≥ 3
- CRP < 150 mg/L and ≥ 150 mg/L
- Trial centre

Patients will be randomized in a 1:1 ratio in one of the two treatment arms. Randomization through eCRF will be available 24 h every day.

Blinding

This is an open-label trial, in which the participants and the study staff will learn about the allocated intervention. Blinded pre-planned statistical analysis will be performed [13] according to the “Statistics” section.

Enrolment stopping rules

Enrolment of new subjects into the trial will be stopped if any of the following is encountered until the sponsor determines if it is safe for the trial to continue enrolment:

1. Death that is related to dexamethasone.
2. SAE or SUSAR that is related to dexamethasone during 28 days post-administration.
3. Emergence of new data that may lead to the trial becoming unethical. This may be merely due to

safety concerns of the interventional group (e.g. if harm is reported by other trials).

4. After the interim analysis, the steering committee will review the primary outcomes and the summary of adverse events in both arms whilst still blinded to the treatment allocation. The enrolment can be stopped if the following criteria are fulfilled:
 - (a) There is a significant difference in the primary outcome at $p < 0.01$ between the arms.
 - (b) Futility: the futility criterion is not binding for the steering committee. Based on available data, the study statistician calculates the probability of being able to reject the null hypothesis by achieving the target number of subjects and the probability of type II error made by stopping the trial prematurely.

Premature termination of participation in the trial

Reasons for the early termination of a patient's participation include the following:

- Withdrawal of informed consent (subject's decision to withdraw for any reason)
- Important deviation in the process of informed consent
- Life-threatening adverse reaction to dexamethasone at the discretion of the investigator
- Newly emerged pregnancy of a participant after the enrolment

Subjects can terminate their participation prematurely at any time at their request for any reason, but they must notify the investigator. The investigator must contact the sponsor to report the premature discontinuation.

The investigator must:

- Instruct the participant about the right on early termination of participation
- Assure him/her that the end of participation will not affect the attitude of the physician or further treatment and its quality
- Ask for discussing this decision with the investigator in advance
- Make a note in the patient's medical records and eCRF about the date of early termination of participation

The sponsor reserves the right to discontinue the study at any time if there is a significant safety concern (e.g. grade 4 adverse reactions to dexamethasone) or insufficient recruitment despite intensified efforts to enrol patients or if repeated poor study documentation occurs at a site. The trial can be discontinued by the

decision of the regulatory authority or ethics committee, as well.

Study treatment

Dexamethasone (ATC code: H02AB02)

Dexamethasone solution for injection/infusion is the investigational medicinal product as well as the comparator. The trial will assess two doses, 20 mg (investigational) vs 6 mg (comparator).

All authorized medicinal products containing dexamethasone in the form of solution for i.v. injection/infusion can be used.

Qualitative and quantitative composition

The active pharmaceutical ingredient is dexamethasone sodium phosphate (4 mg/mL).

The excipients differ in various dexamethasone solutions for inj./inf. Please see the SmPC of the medicinal product you are using. Several excipients have known biological effects (e.g. allergic reactions): methylparaben, propylparaben and benzyl alcohol. Allergy or hypersensitivity to dexamethasone or excipients is an exclusion criterion.

Pharmaceutical form and route of administration

Solution for injection/infusion; intravenous administration

Other information

Detailed pharmacological profile of the drug, including information on the mechanism of action, contraindications, drug interactions, adverse effects and others, can be found in the Summary of Product Characteristics (SmPC).

Packaging and labelling

The medicinal product will be labelled in accordance with applicable legislation.

Delivery and storage

The medicinal product containing dexamethasone will be ordered regularly by the trial sites' hospital pharmacies and taken from the Czech market. It will be stored up to 30 °C in the secondary package to keep it from the light according to the SmPC recommendations.

Dosing schedule

Patients in the intervention group will receive dexamethasone 20 mg intravenously once daily on days 1–5, followed by dexamethasone 10 mg intravenously once daily on days 6–10. Patients in the control group will receive dexamethasone 6 mg days 1–10.

Dose modification and delays

For this study, no dose modification or delays are possible, except for stopping dexamethasone administration if the patient is being discharged from the hospital due to clinical improvement before day 10.

Previous treatment with dexamethasone more than 8 mg per day or other corticosteroids in an equivalent dose during the present hospital stay for COVID-19 for more than one single dose is an exclusion criterion. If the study subject is treated with dexamethasone 8 mg or less per day or other corticosteroids in an equivalent dose less than 5 days before the enrolment, he/she can be enrolled, and there will be no changes in the duration of study drug administration.

Permitted concomitant medication

Study participants will receive the best standard of care according to the local protocols and national guidelines, including the state-of-the-art anti-infective and adjunctive treatment of COVID-19, sedation and delirium management, physiotherapy, ventilator and haemodynamic management.

Currently, the standard of care for hospitalized patients with COVID-19 that require oxygen support [14] can consist of the following:

- Remdesivir (at the discretion of the investigator)
- Prevention of thromboembolic disease (anticoagulants)
- Gastric ulcer prophylaxis for patients on dexamethasone
- Nutrition, hydration, electrolytes, vitamins and glucose administration
- Antipyretics (paracetamol, metamizole)
- Antibiotics
- Bronchodilators

All chronic medication prescribed to the patient before the enrolment is permitted to continue with the exceptions defined in the "Exclusion criteria" and "Restricted concomitant medication" sections. All necessary medication needed during the trial is allowed with exceptions defined in the "Restricted concomitant medication" section.

Restricted concomitant medication

Systemic corticosteroids other than dexamethasone are restricted, as well as other investigational medicinal products currently tested for the treatment of COVID-19 (e.g. investigational antivirals or monoclonal antibodies). Remdesivir is not considered as an investigational drug, as it has already been authorized.

Concomitant treatment with potent inhibitors of CYP3A increases the risk of systemic adverse effects of

dexamethasone. In cases where the benefits of such treatment do not outweigh this increased risk, combination with strong inhibitors of CYP3A is considered restricted.

Potent inhibitors of CYP3A include, e.g., systemic azole antimicrobials, clarithromycin, erythromycin, telithromycin, diltiazem and verapamil.

Concomitant use of potent inducers of CYP3A decreases the effect of dexamethasone, which may then bias the results. In cases where benefits of such treatment do not outweigh this risk of bias, combination with potent inducers of CYP3A is considered restricted.

Potent inducers of CYP3A include, e.g., phenytoin, rifampicin, phenobarbital and carbamazepine.

Detailed information on drug interactions could be found in SmPC.

Course of the trial

Screening of eligible patients

Patients admitted to the ICU of each centre will be screened daily for eligibility, and all the patients will be recorded in the screening log of eCRF. For patients with the completion of consent, appropriate enrolment information will be recorded to eCRF and only after all required information are provided the randomization and allocation will proceed.

For details on obtaining the informed consent, see The “Informed consent procedure” section.

Overview of medical care about the study participant

Patients in both arms will receive the best standard of care. General supportive care guided by the official recommendations and local protocols will be given, as described in the “Permitted concomitant medication” section.

The centres are encouraged to follow appropriate antibiotic stewardship practices, e.g. guidelines for hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia (VAP/HAP) management [15]. As for ventilation strategies, the centres are encouraged to comply with the best evidence of ventilator settings for ARDS patients, i.e. tidal volume approx. 6 mL/kg of predicted body weight, driving pressure (ΔP) < 15 cm of water, plateau pressure (Ppl) < 30 cm of water, setting inspiratory fraction of oxygen (FiO₂) and positive end-expiratory pressure (PEEP) to keep SaO₂ ≥ 90% or PaO₂ ≥ 8 kPa and set respiratory rate (RR) to maintain pH ≥ 7.20. Besides ventilator settings, other measures are left to the local protocols and at the discretion of each centre, e.g. prone

positioning, neuromuscular blocking agents, lung recruitment manoeuvres and extracorporeal membrane oxygenation (ECMO).

Weaning from mechanical ventilation is performed by the daily screening of readiness through using the spontaneous breathing trial (SBT). If SBT is successful and no other significant reason against extubation is present, the patient is extubated. Patients allowed spontaneous ventilation while on ECMO are classified as support dependent until ECMO is weaned off.

Clinical examinations and assessments

During the trial course, subjects will be monitored during hospitalization and after discharge. A summary of scheduled procedures is outlined in the “Study procedures” section. For a graphic summary, see Table 1.

Study procedures

At enrolment:

- Eligibility screen—inclusion and exclusion criteria
- Informed consent procedure
- Pregnancy testing (hCG) in women with childbearing potential—preferentially from a blood sample, if statim hCG is not available at the time of enrolment and urine pregnancy testing is necessary
- Demographic data (age, sex, race or ethnic group, BMI)
- Medical history (allergies, comorbidities and CCI, chronic medication)
- Vital signs (temperature, blood pressure, heart rate, respiratory rate)
 - Day 1:
 - Vital signs (temperature, blood pressure, heart rate, respiratory rate)
 - Administration of dexamethasone according to the allocation to treatment arms
 - Blood count and routine biochemistry [RBC, WBC, haematocrit, lymphocyte count, platelets, coagulation profile, renal and liver functions (BUN, creatinine, AST, ALT, bilirubin), D-dimer, LDH, troponin, pH, blood gases, sodium, potassium, chloride, glycaemia]
 - Inflammatory markers (CRP; other markers, e.g. procalcitonine, presepsin, interleukin-6 at the discretion of each centre)
 - COV-HI assessment—based on day 1 CRP or ferritin level
 - APACHE II score counted using the worst values in the first 24 h of ICU stay (the score is determined based on specific parameters from medical history, vital signs, blood count and biochemistry, and other examinations)

Table 1 Clinical trial schedule

TIMEPOINT	STUDY PERIOD														
	Enrolment	Allocation	Post-allocation						Prim. endpoint	Follow-up				Premature termination	
	0–24h		D ₁	D ₂	D ₃	D ₅	D ₁₀	D ₁₄	D ₂₈	D ₆₀	D ₉₀	D ₁₈₀	D ₃₆₀ ^f	Anytime	
ENROLMENT:															
Inclusion/Exclusion criteria	X														
Informed consent	X														
Pregnancy testing ¹	X														
Randomization		X													
INTERVENTIONS:															
Dexamethasone 20 mg			←————→												
Dexamethasone 6 mg			←————→												
ASSESSMENTS:															
Demographic data ²		X													
Medical history ³		X													
Vital signs ⁴		X	X												
Blood count and routine biochemistry ⁵			X												
APACHE II ⁶			X												
Ventilatory status			X	X	X	X	X	X	X					X	
COV-HI ⁷			X	X											
Adverse events			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Inflammatory markers ⁸			X	X	X	X	X	X							
WHO CPS								X							
Hospitalization status			X	X	X	X	X	X	X					X	
Vital status			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Barthel index											X	X	X		
Reason for premature termination														X	

¹hCG from a peripheral blood sample in women of childbearing potential; if statim hCG is not available, perform urine pregnancy testing
²Age, sex, race or ethnic group and BMI
³Allergies, comorbidities, and Charlson Comorbidity Index (CCI) and chronic medication
⁴Temperature, blood pressure, heart rate and respiratory rate
⁵Blood count (RBC, WBC, haematocrit, lymphocyte count, platelets), coagulation profile, renal and liver functions (BUN, creatinine, bilirubin, AST, ALT), D-dimer, LDH, troponin, pH, blood gases, sodium, potassium, chloride and glycaemia (other laboratory tests and imaging methods are left at the discretion of each centre)
⁶Counted using the worst values in the first 24 h of ICU stay
⁷D₁, CRP, ferritin; D₂, CRP; COV-HI is defined as CRP ≥ 150 mg/L or doubling within 24 h from greater than 50 mg/L, or ferritin ≥ 1500 µg/L [11, 15, 16]
⁸CRP (other markers, e.g. procalcitonine, presepsin, interleukin-6 at the discretion of each centre)
^fEnd of trial visit (or phone call)

- Day 2:
 - Administration of dexamethasone according to the allocation to treatment arms
 - Inflammatory markers (CRP; other markers, e.g. procalcitonine, presepsin, interleukin-6 at the discretion of each centre)
 - COV-HI assessment—based on day 2 CRP level
- Day 3 to day 10:
 - Administration of dexamethasone according to the allocation to treatment arms
 - Inflammatory markers (CRP; other markers, e.g. procalcitonine, presepsin, interleukin-6 at the discretion of each centre)
- Day 14:
 - World Health Organization Clinical Progression Scale
- Inflammatory markers (CRP; other markers, e.g. procalcitonine, presepsin, interleukin-6 at the discretion of each centre)
 - Day 1 to day 28/ICU discharge (whichever comes first):
 - Checking adverse events and adverse reactions (with a special interest in newly emerged infections and new thrombotic complications)
 - Ventilatory status, i.e. use of a mechanical ventilator or other ventilation/oxygen support
 - Vital status
 - Discharge from ICU and hospital
- Days 60, 90, 180 and 360:
 - Out-patient visits (if possible) or structured phone call interviews led by study nurse with the patient or his/her family member or caregiver

- Vital status
- Quality of life by the assessment of daily life activities and functional independence (Barthel Index)
- Checking adverse events and reactions

Biological samples

Blood samples will be taken following local practice and analysed in the respective clinical laboratory facility of the trial centre. No other biological specimens will be obtained or stored in this trial.

Assessment tools, scores and scales

The following tools will be used during the trial:

- APACHE II
- Barthel Index
- Charlson Comorbidity Index
- COV-HI
- Glasgow Coma Scale
- Spontaneous breathing trial
- WHO CPS

Safety assessments

Before the start of the clinical trial, all investigators will undergo training in pharmacovigilance requirements and obtain detailed written instructions for recording and reporting of AEs. These instructions for pharmacovigilance will be part of the investigator's site file.

Definitions (according to the Directive 2001/20/EG)

For clinical trials, effective legislation has introduced the following definitions, see Table 2.

AE surveillance, recording and documentation

AE could be diseases or symptoms which occur or worsen after the enrolment of a patient in the clinical

trial. All AEs need to be documented, no matter if the investigator suspects a causal connection to the study medication. AE will be monitored and documented from the day of giving informed consent until the end of participation in the study (i.e. day 360).

Subjects will be instructed to report any AEs that they experience to the investigator. The investigator should actively ask about AEs.

Each AE should be described, documented in the eCRF and evaluated to determine the following:

- Seriousness
- Severity
- Causality, i.e. relation to the study medication
- Duration (start and end dates or whether it continues)
- Action taken (no action taken, study medication discontinued, prolongation of the ongoing hospitalization, administration of a drug, etc.)

AE needs to be followed until its resolution, i.e. until it subsides, stabilizes and becomes chronic or the subject dies.

If AE fulfils the criteria of SAE, a separate form must be completed besides the standard eCRF record.

AEs will be recorded according to the Medical Dictionary for Regulatory Activities (MedDRA). The most recent MedDRA version at the start of the study will be used.

Treatment of AE

A patient with an AE must receive appropriate therapy. The investigator may decide to discontinue the study medication. The patient will remain under medical supervision until the investigator believes that the AE has been resolved.

Table 2 Definitions of safety signals in clinical trials

Adverse event	AE	Any untoward medical occurrence in a patient or clinical trial subject administered a medicinal product and which does not necessarily have a causal relationship with this treatment
Adverse drug reaction	ADR	All untoward and unintended responses to an investigational medicinal product related to any dose administered
Serious adverse event	SAE	A serious adverse event/reaction is any untoward medical occurrence or effect that at any dose:
Serious adverse reaction	SADR	<ul style="list-style-type: none"> • Results in death • Is life-threatening • Requires hospitalization or extension of existing hospitalization • Results in persistent or significant disability or incapacity • Is a congenital anomaly or birth defect
Unexpected adverse reaction	UADR	Adverse reaction, the nature, severity or outcome of which is not consistent with the product information (SmPC)
Suspected unexpected serious adverse reaction	SUSAR	Any suspected adverse reaction related to the study treatment that is both serious and unexpected

Assessment of seriousness

AE is considered serious if it fulfils the definition in the “Definitions (according to the Directive 2001/20/EG)” section.

Some situations can be considered as SAE even if they do not fulfil the criteria of the definition. These are important medical events that may not be immediately life-threatening, or result in death, or hospitalization but may jeopardize the subject, or may require intervention to prevent one of the other outcomes listed in the definition above. These should also be considered SAE—e.g. allergic bronchospasm, convulsions or other states requiring treatment.

If AE fulfils the criteria of SAE, a separate serious adverse event form must be completed and sent to the sponsor. For the procedure, see the “Reporting of SAE and SUSAR” section.

In this clinical trial, the following SAEs are excluded from the notification requirement:

- SAE which occurs after enrolment (i.e. after giving informed consent), but before the study medication was initiated
- Hospitalization(s) planned before the enrolment
- Death not related to the dexamethasone use¹

Assessment of intensity (severity)

The intensity (severity) of an AE should be evaluated according to these 5 categories:

Grade 1	AE is asymptomatic or mildly symptomatic and requires only observation, no medical intervention.
Grade 2	AE with medium intensity, requires local, non-invasive or small-scale treatment.
Grade 3	AE is medically significant and requires hospitalization or extension of ongoing hospitalization, but it is not directly life-threatening.
Grade 4	AE is life-threatening and requires urgent significant medical intervention.
Grade 5	AE leads to death.

¹The sponsor expects a high mortality rate due to the natural course of the disease in patients that need ICU care. Relatedness of death to dexamethasone use will be assessed by the trial investigator. Cases considered “not related” will not be separately reported by the sponsor to the RA/EC. The sponsor will be notified of them through eCRF records, and RA/EC will be informed by the sponsor through periodical Annual Reports and final CSR. Cases of death considered “related” will be handled as SAE at the trial site and reported separately and immediately by the sponsor to the RA/EC.

Assessments of causality

To assess the relation between administration of the study medication and the AE, the following definitions apply:

- **Related**—The event is known to occur with the study medication, there is a reasonable possibility that the study medication caused the AE, or there is a temporal relationship between the study medication and AE. Reasonable possibility means that there is evidence to suggest a causal relationship between the study medication and the AE.
- **Not related**—There is no reasonable possibility that the administration of the study medication caused the AE, there is no temporal relationship between the study medication and AE onset, or an alternate aetiology has been established.

The investigator is obliged to report any SAE within 24 h after he/she learns about it to the sponsor using serious adverse event form (SAE form). The blank forms are stored in the investigator’s site file. The announcement will be done by e-mail: farmakovigilance@med.muni.cz

Reporting of SAE and SUSAR

If at that point all required information is not available, succeeding records will be sent by the investigator. The sponsor will check the notification completeness and formal plausibility. If required, queries will be made and followed up.

In the case of death, a copy of the autopsy record should be added. If the death of the subject complies with the definition of SUSAR (see the “Definitions (according to the Directive 2001/20/EG)” section), it will be reported as SUSAR (see below).

The sponsor has full responsibility for the safety of the clinical trial. Further reporting of AEs to the competent authorities according to the legal requirements is the responsibility of the sponsor.

Follow-up

All SAEs should be followed until their resolution, i.e. they subside, stabilize and become chronic, or the subject dies followed. In case of early termination because of SAE occurrence, the subject should be followed until SAE resolution. All necessary extra visits will be recorded in the eCRF as “unscheduled visits”.

Follow-up information is sent using a new SAE Form stating that this is a follow-up to the previously reported SAE and giving the date of the original report. Within 24 h of receipt of follow-up information, the investigator must update the SAE form and submit any supporting documentation (e.g. laboratory test reports, subject discharge summary, autopsy report) The follow-up

information should describe whether the event has resolved or continues, if and how it was treated and whether the patient continued or withdrew from trial participation.

Reporting of SUSAR

SAE related to the study medication fulfilling the criterion of unexpectedness (i.e. SUSAR) must be reported by the sponsor to the Ethics Committee and the EudraVigilance database (module EVCTM), at the latest 15 days after it becomes known. The sponsor will also inform all investigators involved in the trial. Reporting to the EudraVigilance database will be performed via regulatory authority according to the agreement between the sponsor and the regulatory authority. In case of a fatal or life-threatening SUSAR, the sponsor will report all relevant information immediately, at the latest 7 days after the event becomes known. Any subsequent additional information is forwarded within the next 8 days if necessary.

Pregnancy

Pregnant or breastfeeding women cannot be included in the study. Pregnancy testing (hCG, blood sample) is obligatory at enrolment in women of childbearing potential (i.e. from menarche to the onset of postmenopausal state). In case the information regarding menstrual cycle cannot be obtained from the patient due to her health or consciousness status, pregnancy testing is also necessary independently of the patient's age. If statim hCG is not available at the moment of enrolment, investigators should perform urine pregnancy testing. Urine test strips will be supplied to the trial centres, where statim hCG is not available, e.g. on weekends or public holidays.

Participants, men and women, must comply with the required contraception measurements from the enrolment to at least 1 week after the last dose of dexamethasone. Sexual abstinence is considered as the adequate contraception method for this clinical trial. Newly emerged pregnancy in the hospitalization phase of the trial is highly unlikely. However, if it is diagnosed, dexamethasone treatment must be stopped. If a participant becomes pregnant during the follow-up phase, she must inform the investigator.

The investigator should report the pregnancy to the sponsor within 24 h of learning of its occurrence using pregnancy form. This announcement will be done by e mail: farmakovigilance@med.muni.cz.

Pregnancy should be followed by the investigator until completion. If it ends for any reason before the anticipated date, the investigator should notify the sponsor. At the completion of the pregnancy, the investigator will document

the outcome of the pregnancy. If the outcome of the pregnancy meets the criteria for classification as SAE (e.g. spontaneous abortion, stillbirth, neonatal death, postpartum complication or congenital anomaly), the investigator should follow the procedures for reporting an SAE.

Statistics

A separate statistical analysis plan (SAP) and statistical interim analysis plan (SIAP) will be prepared to provide details on the approach to analyses. The SIAP will be finalized before the interim database lock; the SAP will be finalized before the final database lock. All eventual deviations from the SAP will be described and justified in the relevant part of The Clinical Trial report.

Sample size determination

The sample size was calculated to detect the difference of 3 VFDs at 28 days (primary efficacy endpoint) between the two treatment arms at two-sided type I error of 0.05 and power of 80%. Based on the data from a multi-centre randomized controlled trial in COVID-19 ARDS patients in Brazil [7] and the multi-centre observational study from French and Belgian ICUs regarding moderate to severe ARDS related to COVID-19 [18], investigators assumed standard deviation of VFD at 28 days as $SD = 9$. Using these assumptions, a total of 142 patients per treatment arm would be needed; after adjustment for drop-out rate, 150 per treatment arm (300 patients per study) will be enrolled.

Analysis of efficacy

Primary efficacy endpoint (number of VFDs at day 28) will be calculated for both treatment arms separately with corresponding 95% confidence intervals. Comparison between arms will be based on parametric or non-parametric test (following the type of data distribution) and will be adjusted for relevant baseline covariates (stratification parameters).

Secondary and exploratory efficacy endpoints will be analysed following the type of data (chi-square test or Fisher's exact test for binary data and ANOVA or a non-parametric alternative tests for continuous and ordinal data, if appropriate).

The primary population for analysis of efficacy will be intention-to-treat population (ITT), and the results will be confirmed on the per-protocol population (PP).

Subgroup analysis

Pre-planned subgroup analysis will be performed regarding the primary outcome variable in the subgroups defined by the following criteria:

- Age
- Sex

- BMI
- Comorbidities
- P/F ratio
- Length of dexamethasone treatment before enrolment
- ECMO procedure
- Other corticosteroids than study medication administered (from day 11 to day 28)

No adjustments of p values due to multiplicity are planned.

Analysis of safety

The safety will be analysed in all patients who received any dose of study treatment and provided at least one post-dose safety assessment (safety population). All adverse events will be coded and tabulated by system organ class and preferred term for individual events within each system organ class and will be presented in descending frequency. Adverse events will also be tabulated by severity and relationship to the study medication. Serious adverse events will be summarized separately.

Planned interim analysis

One interim analysis is planned for the safety and efficacy evaluation after the primary outcome is known for the 150th subject (50% of planned sample size). To control the overall level of type I error, the p value of 0.01 for interim analysis and 0.04 for the final analysis will be applied. All the details on stopping rules for interim analysis will be described in SIAP.

The interim analysis will be evaluated, and the decision about continuation of the study will be done by DMC.

Missing data

No imputation techniques for missing data will be applied.

Data management and quality assurance

eCRF database

All participants will be assigned an identification code to ensure the pseudonymization of their data. The investigator will maintain a subject identification list for the trial centre (subject identification codes with the corresponding subject names) to enable records to be identified.

Trial data will be collected in eCRFs managed in electronic data capture system REDCap. Access to the database (username, password) will be granted by the study data manager, and the respective study staff will be trained for using it right and safely. The investigator is responsible for the data correctness, completeness,

and filling in time. eCRF will be designed to generate queries on missing data or unusual data entries, which will be fed back to the study site investigators in regular intervals.

Trial documents and medical records

The sponsor, the trial site and the study staff will handle the subject's personal and trial data according to the effective legislation regarding data protection. Any paper or electronic trial documents or data are confidential and must not be disclosed to the third persons. In the informed consent form, the participants are informed that their medical records can be provided only to the authorized monitors, auditors or inspectors.

Medical records of the subjects will be retained in the trial site for 15 years (from the end of the clinical trial), so will be the relevant trial administrative documents at the sponsor's side.

Monitoring and auditing

The trial centre will be monitored according to the monitoring plan. The objectives of the monitoring are to ensure that the trial participant's safety and rights are respected, that accurate, valid and complete data are collected and that the trial is conducted in accordance with the trial protocol, the principles of GCP and national legislation. The investigator agrees that the monitor will regularly visit the trial centre and will be given appropriate support (e.g. the access to all necessary documents including patient's medical records). A report on the progress, findings and resolution of any discrepancies will be prepared from each monitoring visit. The investigator undertakes to read the monitoring report and to ensure that any possible discrepancies are corrected. The sponsor, regulatory authority and ethics committees have the right to inspect/audit the trial site. The investigator undertakes to co-operate will be the inspectors/auditors.

Deviations and violations

The following issues are considered as violations to the trial protocol:

- Other corticosteroid than dexamethasone administered (from day 1 to day 10)
- Discrepancy in the informed consent procedure
- Assessment of inclusion/exclusion criteria ex post

The following issues are considered as deviations to the trial protocol:

- Different single dose of dexamethasone administered (from day 1 to day 10)

- Administration of dexamethasone shorter than 10 days (this does not apply for discharging the subject from hospital due to clinical improvement)
- Prolongation of dexamethasone treatment (i.e. number of days on treatment in both arms)
- Administration of other corticosteroids than study medication (from day 11 to day 28)

Steering committee

The steering committee is constituted by all study investigators of the REMED trial. It is responsible for the development of the study protocol, continuous and final result interpretations and manuscript preparation. The steering committee closely collaborates with independent data monitoring committee and the sponsor.

Data monitoring committee

Members of the data monitoring committee (DMC) are experts in intensive care medicine which are not involved in the REMED trial and an independent statistician. DMC is responsible for performing the interim analysis and for providing recommendations to the steering committee and the sponsor regarding the safety and continuation of the trial based on evidence of possible significant differences between intervention and control group. Members of DMC are listed in a separate document.

All the documents and additional information regarding data management procedures can be found on the official website of the REMED trial (<https://czecrin.cz/projekty/kh-remed/>) or can be requested on the following mail: ctc.czecrin@med.muni.cz

Ethical aspects

This trial will be conducted following the applicable legislation and requirements for good clinical practice according to the ICH E6(R2). Compliance with this standard provides public assurance that the rights, safety and well-being of trial participants are protected and that the clinical trial data are credible. All essential trial documents and their potential amendments will be submitted to the relevant ethics committee and regulatory authority for approval.

Informed consent procedure

The investigator assesses the patient's ability to decide and extent of potential consciousness impairment based on GCS and other appropriate clinical measures (at discretion of the trial centre).

Fully conscious and oriented patients (GCS 15)

Patient with decision-making capacity will go through the standard procedure (informative interview with the

investigator, written information for the patients, the possibility to ask questions and adequate time to discuss with family and decide). If the patient wishes to participate, he/she will provide written prospective informed consent.

Patients with limited ability to decide (GCS 14 or 13)

Some patients may be limited in their decisional capacity due to their acute health status, or medication. Generally, if a patient understands simplified information and can communicate verbally, the simplified procedure of obtaining informed consent will be applied. The shortened (one-page) information sheet and consent form for signature will be used.

As soon as the patient regains full decisional capacity, he/she will be approached to provide consent with the continuation of his/her participation in the trial. Patients will be informed about the option to withdraw from the trial. Patients who decide to terminate their involvement can permit the sponsor to use the data collected, or they can ask for deleting all data collected. Both options will be presented to them.

If the patient does not regain a decisional capacity, the initial consent will remain valid.

Patients lacking the capacity to decide (GCS 12 or less)

It is expected that a significant proportion of screened patients will lack the capacity to provide informed consent due to severely altered consciousness, severe respiratory distress or sedation necessary to facilitate mechanical ventilation. In this situation, the deferred consent policy will be applied. Such a patient will be enrolled after independent physician witnesses (in writing) that the patient cannot give his/her consent and fulfils eligibility criteria.

Patient's close person (spouse/partner, close relative, caregiver) will be informed about the patient's enrolment and the nature of the study. If possible and compliant with the epidemiological restrictions by the government, patient's close person will meet the investigator for an informative interview, to obtain the information leaflet, and to sign a confirmation that he/she was informed about the patient's participation in the trial.

As soon as the patient regains decisional capacity, he/she will be approached to provide consent with the continuation of his/her participation in the trial. Patients will be informed about the option to withdraw from the trial. Patients who decide to terminate their involvement can permit the sponsor to use the data collected, or they can ask for deleting all data collected. Both options will be presented to them.

If the patient does not regain a decisional capacity, the initial consent by an independent physician will remain valid.

Supervision of the informed consent procedure

The process of obtaining informed consent from a patient or an independent physician must always be appropriately documented by the investigator through valid forms and the patient's medical records, as well. The clinical trial monitor will check the process during the monitoring visits. Important deviations in the process will lead to the termination of the patient's participation in the trial.

Vulnerable population

Beside patients with diminished decision capacity, other specifically vulnerable participants (children, pregnant women, prisoners, refugees, institutionalized patients, patients with severe mental illnesses, etc.) will not be enrolled in this clinical trial.

Publication policy

The results of this clinical trial are planned to be published in the medical literature. Any publications must be approved by the sponsor and meet the quality requirements for current clinical research publications (SPIRIT reporting guidelines [18] and CONSORT statement). The collected data will be shared with other ongoing clinical trials on the same topic for individual patient's data (IPD) meta-analysis or shared upon relevant requests. Also, de-identified participant-level dataset will be made available 6 months after the publication of the results of the study at www.mendeley.com

Financing and insurance

REMED is an investigator-initiated clinical trial. Funding will be granted from the project research infrastructure Czech Clinical Research Infrastructure Network CZECRIN (LM 2018128) and University Hospital Brno. Trial funders have no role in the study design, collection, analysis and interpretation of the data. Investigators declare no financial or non-financial competing interests regarding the focus of this trial.

Mandatory insurance of the participants is arranged. The coverage for damages or harm emerging from the participation in the clinical trial will be provided according to the applicable legal requirements and from the arranged insurance of the participants.

Acknowledgements

The authors thank Dita Budňáková, Ľubica Horváthová, Karolína Grodová, Jarmila Havlová, Kristýna Horáková, Petra Jobánková and Iva Knápková for the help and wonderful assistance during preparation of the protocol and Lenka Dobrovolná for the administrative assistance. REMED Study Group:

University Hospital Brno: Helena Antoni, Petr Suk, Tomáš Korbíčka and Jan Hudec; University Hospital Královské Vinohrady: Michal Fric, Václav Zvoníček, Tomáš Tencer, Martin Kolář and Petr Kafka; General University Hospital in Prague: Michal Otáhal, Jan Rulíšek, Marek Flaks and Eva Svobodová; University Hospital Ostrava: Peter Sklienka, Filip Burša, Marcela Káňová, Jan Varady and Filip Haiduk; St. Anne's University Hospital: Vladimír Srámek, Pavel Suk, Marek Fenc, Ivan Čundrle, Pavel Štětka, Marek Lukeš and Miloš Chobola; University Hospital Motol: Jan Beroušek, Zuzana Přikrylová, Jiří Bureš, Jaromír Vajter, Vlasta Vlasáková and Michal Garaj; University Hospital Olomouc: Lenka Doubravská; University Hospital Plzeň: Jiří Pouska and Jakub Kletečka; Tomáš Baťa Regional Hospital: Tomáš Graus, Tereza Sobáňová and Radovan Turek; Military University Hospital Praha: Tomáš Tyll and Aleš Rára. Supported by the national budget through MEYS, RI CZECRIN (LM2018128) and from ERDF Project CZECRIN_4 PATIENTS (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_013/0001826) and by MH CZ - DRO (FNBr, 65269705) and Endowment fund Donatio Intensivistam (VAT No 0907206).

Authors' contributions

JM and JS conceived the study and wrote the original protocol draft. JM led the protocol and proposal development and selected and the contracted sites. RG selected and contracted the sites. FD, MB, JZ, MK, JK and MS contributed to the study design and to the development of the proposal. JMac, JH, TV, OK, TG and PN reviewed the original draft. RD, JK and JV are clinical research specialists. AS is the trial statistician and analyst. All authors read and approved the final manuscript.

Availability of data and materials

The sponsor, the trial site and the study staff will handle the subject's personal and trial data according to the effective legislation regarding data protection. Collected data will be shared with other ongoing clinical trials on the same topic for individual patient data (IPD) meta-analysis or shared upon relevant requests. A de-identified participant-level dataset will be made available 6 months after the publication of the results of the study at www.mendeley.com

Declarations

Consent for publication

Not applicable

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author details

¹Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine, University Hospital Brno and Masaryk University, Jihlavská 20, 625 00 Brno, Czech Republic. ²Department of Anaesthesia and Intensive Care, 3rd Faculty of Medicine, University Hospital Královské Vinohrady and Charles University, Šrobárova, 1150 100 34 Prague, Czech Republic. ³Department of Anaesthesia and Intensive Care, 1st Faculty of Medicine, General University Hospital in Prague and Charles University, U Nemocnice 499/2, 128 08 Prague, Czech Republic. ⁴Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine, University Hospital Ostrava and University Ostrava, 17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava-Poruba, Czech Republic. ⁵Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine, St. Anne's University Hospital and Masaryk University, Pekařská 664/53, 656 91 Brno, Czech Republic. ⁶Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, 2nd Faculty of Medicine, University Hospital Motol and Charles University, V Úvalu 84/1, 150 06 Prague, Czech Republic. ⁷Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine, University Hospital Olomouc and Palacky University, I. P. Pavlova 185/6, 779 00 Olomouc, Czech Republic. ⁸Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine in Pilsen, University Hospital Plzeň and Charles University, alej Svobody 80, 304 60 Plzeň-Lochotín, Czech Republic. ⁹Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Tomáš Baťa Regional Hospital, Havlíčkovo nábřeží 600, 762 75 Zlín, Czech Republic. ¹⁰Department of Anaesthesiology and Intensive Care, 1st Faculty of Medicine, Military University Hospital Praha and Charles University, U Vojenské nemocnice 1200, 169 02 Prague, Czech Republic. ¹¹Department of Pharmacology/CZECRIN, Faculty of Medicine, Masaryk University, Kamenice 5, 62500 Brno, Czech Republic. ¹²Department

of Paediatric Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Faculty of Medicine, University Hospital Brno and Masaryk University, Jihlavská 20, 625 00 Brno, Czech Republic. ¹³Bloomsbury Institute of Intensive Care Medicine, Division of Medicine, University College London, Gower Street, London WC1E 6BT, UK.

Received: 23 August 2021 Accepted: 21 December 2021

Published online: 15 January 2022

References

- Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med.* 2020;180(7):934–43.
- Meduri GU, Annane D, Confalonieri M, Chrousos GP, Rochwerg B, Busby A, et al. Pharmacological principles guiding prolonged glucocorticoid treatment in ARDS. *Intensive Care Med.* 2020;46(12):2284–96. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06289-8>.
- Villar J, Ferrando C, Martínez D, Ambrós A, Muñoz T, Soler JA, et al. Dexamethasone treatment for the acute respiratory distress syndrome: a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2020;8(3):267–76. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(19\)30417-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30417-5).
- RECOVERY Collaborative Group, Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, Bell JL, et al. Dexamethasone in hospitalized patients with COVID-19. *N Engl J Med.* 2021;384(8):693–704.
- Angus DC, Derde L, Al-Beidh F, Annane D, Arabi Y, Beane A, et al. Effect of hydrocortisone on mortality and organ support in patients with severe COVID-19: the REMAP-CAP COVID-19 Corticosteroid Domain Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2020;324(13):1317–29.
- Dequin P-F, Heming N, Meziani F, Plantefève G, Voiriot G, Badié J, et al. Effect of hydrocortisone on 21-day mortality or respiratory support among critically ill patients with COVID-19: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2020;324(13):1298–306.
- Tomazini BM, Maia IS, Cavalcanti AB, Berwanger O, Rosa RG, Veiga VC, et al. Effect of dexamethasone on days alive and ventilator-free in patients with moderate or severe acute respiratory distress syndrome and COVID-19: the CoDEX Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2020;324(13):1307–16.
- WHO Rapid Evidence Appraisal for COVID-19 Therapies (REACT) Working Group, JAC S, Murthy S, Diaz JV, Slutsky AS, Villar J, et al. Association between administration of systemic corticosteroids and mortality among critically ill patients with COVID-19: a meta-analysis. *JAMA.* 2020;324(13):1330–41.
- Meduri GU, Golden E, Freire AX, Taylor E, Zaman M, Carson SJ, et al. Methylprednisolone infusion in early severe ARDS: results of a randomized controlled trial. *Chest.* 2007;131(4):954–63. <https://doi.org/10.1378/chest.06-2100>.
- WHO Working Group on the Clinical Characterisation and Management of COVID-19 infection. A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. *Lancet Infect Dis.* 2020;20(8):e192–7.
- Barda N, Riesel D, Akriv A, Levy J, Finkel U, Yona G, et al. Developing a COVID-19 mortality risk prediction model when individual-level data are not available. *Nat Commun.* 2020;11(1):4439.
- Harhay MO, Casey JD, Clement M, Collins SP, Gayat E, Gong MN, et al. Contemporary strategies to improve clinical trial design for critical care research: insights from the First Critical Care Clinical Trialists Workshop. *Intensive Care Med.* 2020;46(5):930–42. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05934-6>.
- Therapeutic Management. COVID-19 treatment guidelines (2021, December 1). Available from: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapeutic-management/>
- Torres A, Niederman MS, Chastre J, Ewig S, Fernandez-Vandellos P, Hanberger H, et al. International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia (HAP)/ventilator-associated pneumonia (VAP) of the European Respiratory Society (ERS), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and Asociación Latinoamericana del Tórax (ALAT). *Eur Respir J.* 2017;50(3):1700582.
- Keddie S, Ziff O, Chou MKL, Taylor RL, Heslegrave A, Garr E, et al. Laboratory biomarkers associated with COVID-19 severity and management. *Clin Immunol Orlando Fla.* 2020;221:108614. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108614>.
- Manson JJ, Crooks C, Naja M, Ledlie A, Goulden B, Liddle T, et al. COVID-19-associated hyperinflammation and escalation of patient care: a retrospective longitudinal cohort study. *Lancet Rheumatol.* 2020;2(10):e594–602. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30275-7](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30275-7).
- Grimaldi D, Aissaoui N, Blonz G, Carbutti G, Courcelle R, Gaudry S, et al. Characteristics and outcomes of acute respiratory distress syndrome related to COVID-19 in Belgian and French intensive care units according to antiviral strategies: the COVADIS multi-centre observational study. *Ann Intensive Care.* 2020;10(1):131. <https://doi.org/10.1186/s13613-020-00751-y>.
- Chan A-W, Tetzlaff JM, Gotzsche PC, Altman DG, Mann H, Berlin J, et al. SPIRIT 2013 Explanation and elaboration: guidance for protocols of clinical trials. *BMJ.* 2013;346(jan08 15):e7586. <https://doi.org/10.1136/bmj.e7586>.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



6. Popularizační aktivity tematicky se vztahující k habilitační práci

1. MALÁSKA, Jan. Léčba těžké sepse v roce 2013. Vnitř Lék 2014; 60(1): 22–24 - *editorial*
2. MALÁSKA, Jan. Dlouhodobé výstupy péče o pacienty se sepsí a kvalita života. In 16. PG kurz Sepse a MODS Ostrava, 21.- 24. leden 2014. 2014. - *vyzvaná přednáška, předsedající bloku*
3. MALÁSKA, Jan. Současná patofyziologie sepse a MODS - 10 novinek, o kterých bych měl vědět. In VIII. kongres ČSIM, 11. - 13. června 2014, Ostrava. 2014. - *vyzvaná přednáška*
4. MALÁSKA, Jan. Léčba těžké sepse v České republice v roce 2012. In 15. PG kurz Sepse a MODS Ostrava, 5. - 8. února 2013. 2013. - *vyzvaná přednáška*
5. MALÁSKA, Jan. Nové biomarkery v těžké sepsi. In VI. KONGRES ČESKÉ SPOLEČNOSTI INTENZIVNÍ MEDICÍNY 30. 5. – 1. 6. 2012, Parkhotel Plzeň. 2012. - *vyzvaná přednáška*
6. MALÁSKA, Jan. První rok EPOSS - jaké máme výsledky? In 14. PG kurz Sepse a MODS Ostrava, 24.-27. leden 2012. 2012. - *vyzvaná přednáška*
7. MALÁSKA, Jan. Bundled care u těžké sepse - co je opravdu přínosné? In 13. PG kurz Sepse a MODS Ostrava, 25.-28. leden 2011. 2011. - *vyzvaná přednáška*
8. MALÁSKA, Jan. Co se děje v buňkách v sepsi? In V. ČESKO-SLOVENSKÝ KONGRES INTENZIVNÍ MEDICÍNY. 2011. - *vyzvaná přednáška*
9. MALÁSKA, Jan. Nové poznatky v patofyziologii ARDS. In 6. celostátní konference Umělá plicní ventilace. 2010 – *vyzvaná přednáška*
10. MALÁSKA, Jan. Septická kardiomyopatie. In 10. PG kurz Sepse a MODS. 2008.
11. MALÁSKA, Jan, Filip OTEVŘEL, Marek OTEVŘEL, Jan MAŇOUŠEK, K. MÚRIOVÁ, Pavol ŠŮST, Jaroslav MICHÁLEK, Roman GÁL a Pavel ŠEVČÍK. Myokardiální dysfunkce v sepsi. Novinky v anesteziologii, intenzivní medicíně a léčbě bolesti. 2008, 138–142. – *vyzvaná přednáška*
12. MALÁSKA, Jan, Anežka FIŠEROVÁ, Zuzana KUNICKÁ, Marie SKLENIČKOVÁ, Lenka KOVÁŘOVÁ, Ludmila BOURKOVÁ, Romana MUSILOVÁ, Roman HÁJEK a Jiří FAJKUS. HODNOCENÍ TELOMERÁZOVÉ AKTIVITY A DÉLKY TELOMER U MNOHOČETNÉHO MYELOMU. In XV. OLOMOUCKÉ HEMATOLOGICKÉ DNY S MEZINÁRODNÍ ÚČASTÍ. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2001. s. 173. – *vyzvaná přednáška*

7. Seznam literatury se vztahem k tématu habilitační práce

Publikace in extenso v cizím jazyce v časopise s IF – první nebo korespondující autor

1. **MALASKA, Jan**, Jan STASEK, Frantisek DUSKA, Martin BALIK, Jan MACA, Jan HRUDA, Tomas VYMAZAL, Olga KLEMENTOVA, Jan ZATLOUKAL, Tomas GABRHELIK, Pavel NOVOTNY, Regina DEMLOVA, Jana KUBATOVA, Jana VINKLEROVA, Adam SVOBODNIK, Milan KRATOCHVIL, Jozef KLUCKA, Roman GAL a Mervyn SINGER. Effect of dexamethasone in patients with ARDS and COVID-19 (REMEDI trial)-study protocol for a prospective, multi-centre, open-label, parallel-group, randomized controlled trial. *Trials* [online]. 2022, **23**(1), 35. **IF = 2,279**
1. MALASKA, Jan, Jan STASEK, Frantisek DUSKA, Martin BALIK, Jan MACA, Jan HRUDA, Tomas VYMAZAL, Olga KLEMENTOVA, Jan ZATLOUKAL, Tomas GABRHELIK, Pavel NOVOTNY, Regina DEMLOVA, Jana KUBATOVA, Jana VINKLEROVA, Adam SVOBODNIK, Milan KRATOCHVIL, Jozef KLUCKA, Roman GAL a Mervyn SINGER. Effect of dexamethasone in patients with ARDS and COVID-19-prospective, multi-centre, open-label, parallel-group, randomised controlled trial (REMEDI trial): A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*. 2021, **22**(1), 172. **IF = 2,279**
2. UVIZL, Radovan, Milan ADAMUS, Vladimir CERNY, Ladislav DUSEK, Jiri JARKOVSKY, Vladimir SRAMEK, Martin MATEJOVIC, Petr STOURAC, Roman KULA, Jan MALASKA *(corresponding author)* a Pavel SEVCIK. Patient survival, predictive factors and disease course of severe sepsis in Czech intensive care units: A multicentre, retrospective, observational study. *Biomedical Papers-Olomouc*. 2016, **160**(2), 287–297. **IF = 0,894**
3. MALASKA, J., Z. KUNICKA, M. BORSKY, M. SKLENICKOVA, M. NOVOTNA, L. FAJKUSOVA, J. ZALOUDIK a J. FAJKUS. Telomerase as a diagnostic and predictive marker in colorectal carcinoma. *Neoplasma*. 2004, **51**(2), 90–96. ISSN 0028-2685. **IF = 0,822**
4. MALASKA, J., M. SKLENICKOVA, K. KREJCI, L. FAJKUSOVA, M. BAJER, H. HRSTKOVA a J. FAJKUS. Telomerase activity and expression and telomere analysis in situ in the course of treatment of childhood leukemias. *Blood Cells Molecules and Diseases*. 2000, **26**(5), 534–539. ISSN 1079-9796 **IF = 2,897**

Publikace in extenso v cizím jazyce v časopise s IF – spoluautor

1. TOMANDLOVA, Marie, Jiri PARENICA, Petr LOKAJ, Tomas ONDRUS, Petr KALA, Marie MIKLIKOVA, Katerina HELANOVA, Martin HELAN, Jan MALASKA, Klara BENESOVA, Jiri JARKOVSKY, Monika Pavkova GOLDBERGOVA a Josef TOMANDL. Prognostic value of oxidative stress in patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock: A prospective cohort study. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 2021, **174**, 66–72 **IF = 7,376**
2. PARENICA, Jiri, Jiri JARKOVSKY, Jan MALASKA, Alexandre MEBAZAA, Jana GOTTWALDOVA, Katerina HELANOVA, Jiri LITZMAN, Milan DASTYCH, Josef TOMANDL, Jindrich SPINAR, Ludmila DOSTALOVA, Petr LOKAJ, Marie TOMANDLOVA, Monika Goldergova PAVKOVA, Pavel SEVCIK a Matthieu LEGRAND. Infectious Complications and Immune/Inflammatory Response in Cardiogenic Shock Patients: A Prospective Observational Study. *Shock* [online]. 2017, **47**(2), 165–174. **IF = 3,005**
3. HERKEL, Tomas, Radovan UVIZL, Lenka DOUBRAVSKA, Milan ADAMUS, Tomas GABRHELIK, Miroslava Htoutou SEDLAKOVA, Milan KOLAR, Vojtech HANULIK, Vendula PUDOVA, Katerina LANGOVA, Roman ZAZULA, Tomas

REZAC, Michal MORAVEC, Pavel CERMAK, Pavel SEVCIK, Jan STASEK, Jan MALASKA, Alena SEVCIKOVA, Marketa HANSLIANOVA, Zdenek TUREK, Vladimir CERNY a Pavla PATEROVA. Epidemiology of hospital-acquired pneumonia: Results of a Central European multicenter, prospective, observational study compared with data from the European region. Biomedical Papers-Olomouc [online]. 2016, 160(3), 448–455. **IF = 0,894**

4. PARENICA, Jiri, Jan MALASKA, Jiri JARKOVSKY, Jolana LIPKOVA, Milan DASTYCH, Katerina HELANOVA, Jiri LITZMAN, Josef TOMANDL, Simona LITTNEROVA, Jana SEVCIKOVA, Roman GAL, Pavel SEVCIK, Jindrich SPINAR a Monika Pavkova GOLDBERGOVA. Soluble ST2 levels in patients with cardiogenic and septic shock are not predictors of mortality. Experimental & Clinical Cardiology. 2012, 17(4), 205–209 **IF = 1,100**

Publikace in extenso v českém jazyce recenzované – první nebo korespondující autor

1. PAŘENICA, J., J. MALÁSKA *(corresponding author)*, J. JARKOVSKÝ, K. HELÁNOVÁ, P. JABANDŽIEV, J. MICHÁLEK, Z. VESELKOVÁ, S. LITTNEROVÁ, L. KUBKOVÁ, R. GÁL, P. ŠEVČÍK, M.P. GOLDBERGOVÁ, J. LITZMAN, Z. ČERMÁKOVÁ a J. ŠPINAR. Dynamika hladiny interleukinu 6 u pacientů v septickém a kardiogenním šoku a u pacientů s akutním infarktem myokardu s elevacemi ST. Vnitřní Lékařství. 2014, 60(2), 114–122.
2. MALÁSKA, J., M. SLEZÁK, D. SCHWARZ, J. JARKOVSKÝ, M. ADAMUS, K. CVACHOVEC, V. ČERNÝ, P. DOSTÁL, M. FOŘTOVÁ, E. HAVEL, I. HEROLD, E. KASAL, R. KULA, J. MAŇÁK, M. MATĚJOVIČ, D. NALOS, R. PAŘÍZKOVÁ, A. ŠOBÁŇOVÁ, V. ŠRÁMEK, J. TICHÝ, R. TUREK, I. ZÝKOVÁ, L. DUŠEK, P. ŠEVČÍK, V. AGALAREV, P. BAKALÍK, V. BELANOVÁ, J. CERMAN, L. ČÍŽ, L. DADÁK, J. DUBA, J. FORTUNATO, T. GABRHELÍK, R. GÁL, R. HŮLEK, O. HRDÝ, M. HUCHÝ, I. CHYTRA, D. KLIMEŠ, J. KLUČKA, M. KRATOCHVÍL, L. KOSKOVÁ, J. MÁCA, O. MAŠLÍK, M. MATYSOVÁ, P. MINARČÍKOVÁ, J. MOLNÁROVÁ, H. ONDRÁŠKOVÁ, M. PELICHOVSKÁ, J. POLÁK, R. SCHWARZ, J. STAŠEK, E. STRAŽEVSKÁ, H. SUCHOMELOVÁ, P. SUK, P. ŠTOURAČ, J. TICHÝ, M. WOLFOVÁ, R. UVÍZL, H. ZAPLETALOVÁ, J. ZATLOUKAL a I. ZIMOVÁ. Léčba těžké sepsi na pracovištích intenzivní péče v České republice - pilotní výsledky projektu EPOSS. Vnitřní Lékařství. 2013, 59(11), 962–970.
3. MALÁSKA, J., M. SLEZÁK, K. MURIOVÁ, J. STAŠEK a P. ŠEVČÍK. Myokardiální dysfunkce v sepsi - diagnostika a terapie. Vnitřní Lékařství. 2010, 56(3), 226–232.
4. MALÁSKA, Jan a Milan KRATOCHVÍL. Multiorgánové selhání v sepsi. Postgraduální medicína: odborný časopis pro lékaře. 2010, 12(9), 1024–1030. ISSN: 1212-4184.

Publikace in extenso v českém jazyce recenzované – spoluautor

1. KELLER, F., V. KOCI, K. RIHAKPVA, J. MALASKA a J. STASEK. Systémové kortikoidy v terapii ARDS vyvolaného onemocněním covid-19. Anesteziologie a Intenzivní Medicína. 2021, 32(3), 150–155. ISSN 1214-2158.
2. HTOUTOU SEDLÁKOVÁ, M., V. PUDOVÁ, M. KOLÁŘ, V. HANULÍK, R. UVÍZL, T. HERKEL, T. GABRHELÍK, M. ADAMUS, P. ČERMÁK, R. ZAZULA, T. ŘEZÁČ, P. ŠTASTNÝ, A. RÁRA, P. PATEROVÁ, Z. TUREK, A. ŠEVČÍKOVÁ, M. HANSLIÁNOVÁ, J. STAŠEK, J. MALÁSKA a P. ŠEVČÍK. Bakteriální původci

nozokomiálních pneumonií - multicentrická studie v České republice. *Klinická Mikrobiologie a Infekční Lékařství*. 2015, 21(1), 10–14.

- SCHWARZ, D., M. ADAMUS, V. ČERNÝ, L. DUŠEK, J. MALÁSKA, M. MATĚJOVIČ, M. SLEZÁK, P. ŠEVČÍK a V. ŠRÁMEK. EPOSS & SEPSIS-Q: návrh a popis řešení projektů pro sledování léčby, morbidity a mortality pacientů s těžkou sepsí v České republice. *Anesteziologie a Intenzivní Medicína*. 2013, 24(4), 240–249.
- HELÁNOVÁ, K., J. PAŘENICA, J. JARKOVSKÝ, L. DOSTÁLOVÁ, S. LITTNEROVÁ, I. KLABENEŠOVÁ, Z. ČERMÁKOVÁ, P. LOKAJ, P. KALA, M. POLOCZEK, O. TOMAN, O. GIMUNOVÁ, J. MALÁSKA a J. ŠPINAR. Elevace proteinu S-100B u pacientů s akutním koronárním syndromem po resuscitaci je prediktorem nepříznivé neurologické prognózy. *Vnitřní Lékařství*. 2012, 58(4), 266–272.
- HUFOVÁ, I., J. MALÁSKA, B. LIPOVÝ, A. HOKYNKOVÁ, N. GREGOROVÁ, J. VOKURKOVÁ a I. ZIMOVÁ. Moderní přístup k léčbě meningokokové sepse *Interní Medicína pro Praxi*. 2011, 13(7), 310–311.
- MURIOVÁ, K., J. MALÁSKA, F. OTEVŘEL, M. SLEZÁK, M. KRATOCHVÍL a P. ŠEVČÍK. Myokardiální dysfunkce v sepsi - diagnostika a terapie. *Vnitřní Lékařství*. 2010, 56(3), 220–225.

Kapitoly v monografii v českém jazyce

- MALÁSKA, Jan. Sepse, septický šok. In Jan Maláška; Milan Kratochvíl; Jan Stašek; Václav Zvoníček. *Intenzivní medicína v praxi*. Praha: Maxdorf, 2020. s. 451-468. Medica. ISBN 978-80-7345-675-7.
- MALÁSKA, Jan. Úvod do intenzivní péče, organizace a struktura ICU, vzdělávání, komunikace a týmová práce. In Jan Maláška; Milan Kratochvíl; Jan Stašek; Václav Zvoníček. *Intenzivní medicína v praxi*. Praha: Maxdorf, 2020. s. 21-41. Medica. ISBN 978-80-7345-675-7.
- MALÁSKA, Jan. Přístup a denní zhodnocení pacienta, skórovací systémy a obecná podpurná terapie na ICU. In Jan Maláška; Milan Kratochvíl; Jan Stašek; Václav Zvoníček. *Intenzivní medicína v praxi*. Praha: Maxdorf, 2020. s. 71-91. Medica. ISBN 978-80-7345-675-7.
- MALÁSKA, Jan. Vyhledávání pacientů v riziku, kritéria a hlavní zásady příjmu na ICU, transport a předávání pacienta. In Jan Maláška; Milan Kratochvíl; Jan Stašek; Václav Zvoníček. *Intenzivní medicína v praxi*. Praha: Maxdorf, 2020. s. 42-70. Medica. ISBN 978-80-7345-675-7.
- PRŮCHA, Miroslav, Jan MALÁSKA a Roman ZAZULA. Patogeneze sepse. In: PRŮCHA, Miroslav, Michal FEDORA, Eva KIESLICOVÁ a Vladimír ŠRÁMEK. *Sepse*. Praha: Maxdorf, 2015. s. 25-49. Jessenius. ISBN 978-80-7345-448-7.
- MALÁSKA, Jan, Milan KRATOCHVÍL a Vladimír ČERNÝ. Syndrom multiorgánové dysfunkce. In: ŠEVČÍK, Pavel, ed. *Intenzivní medicína*. Třetí, přepracované a rozšířené vydání. Praha: Galén, 2014. s. 259-265. ISBN 978-80-7492-066-0.
- MALÁSKA, Jan, Jan STAŠEK a Milan KRATOCHVÍL. Syndrom akutní dechové tísně. In ŠEVČÍK, Pavel, ed. *Intenzivní medicína*. Třetí, přepracované a rozšířené vydání. Praha: Galén, 2014. s. 381-388. ISBN 978-80-7492-066-0.

Abstrakta ve sborníku v cizím jazyce

- SCHWARZ, Daniel, Jiří JARKOVSKÝ, Petr ŠTOURAČ, Hana HARAZIM, Jan MALÁSKA, Pavel ŠEVČÍK a Ladislav DUŠEK. Data-driven and problem-based

learning with the use of severe sepsis cases. 6th International Conference of Czech and Slovak Faculties of Medicine: focused on e-learning and informatics in medical education. 2012, 25–26.

2. MALASKA, J., M. KRATOCHVIL, M. KYR, P. JABANDZIEV, F. OTEVREL, K. MURIOVA, M. FEDORA, V. SRAMEK, J. MICHALEK a P. SEVCIK. Cytokine response in severe sepsis - Predicting and modelling the course of illness. International Journal of Infectious Diseases [online]. 2010, 14, E367–E367. ISSN 1201-9712.
IF = 2,529
3. MALASKA, Jan, M. KRATOCHVIL, M. KYR, P. JABANDZIEV, F. OTEVREL, K. MURIOVA, M. FEDORA, V. SRAMEK, J. MICHALEK a P. SEVCIK. Cytokine response in severe sepsis: predicting and modelling the course of illness. Inflammation Research. 2010, 59, S126–S126. ISSN 1023-3830.
IF = 2,004
4. MALASKA, J., M. KRATOCHVIL, M. KYR, P. JABANDZIEV, F. OTEVREL, K. MURIOVA, M. FEDORA, V. SRAMEK, P. SEVCIK a J. MICHALEK. Cytokine response in severe sepsis - predicting the course of illness in adult and paediatric patients. In: E. FAIST, ed. 8th World Congress on Trauma, Shock, Inflammation and Sepsis, (tsis 2010), Selected Papers [online]. Bologna: Monduzzi Editore S P A, 2010, s. 33-+ [vid. 2021-11-23]. ISBN 978-88-6521-024-6.
5. ŠIMÍČKOVÁ, Marta, Ludmila LAUEROVÁ, Miroslava NEKULOVÁ, Ladislav PECEN, Marcela VAGUNDOVÁ, Jan MALÁSKA, Radka OBERMANNOVÁ a Jan KOVARÍK. Telomerase activity in breast cancer tissue and circulating. In J. Tumor Marker Oncology 18, 2003. 2003. s. 202-203.
6. ŠIMÍČKOVÁ, Marta, Miroslava NEKULOVÁ, Ladislav PECEN, M. VAGUNDOVÁ, J. MALASKA, R. OBERMANNOVÁ, Ludmila LAUEROVÁ a Jan KOVARÍK. Telomerase activity in breast tumor tissues and its possible use for detection of circulating carcinoma cells: CECHTUMA 2003. 4th Central European Conference on Human Tumor Markers. Spa Hotel Thermal, Karlovy Vary, February 13-16, 2003. Abstracts. Biomarkers and environment: an interdisciplinary journal for use of in vitro diagnostics, in clinical diagnosis, treatment control and research: an interdisciplinary journal of the Charles University, Faculty of Medicine in Plzeň. 2002, 5(3/4), 98–98. ISSN: 1211-8869
7. MALÁSKA, Jan, Marie SKLENIČKOVÁ, Kateřina KREJČÍ, Milan BAJER, Hana HRSTKOVÁ, Lenka FAJKUSOVÁ a Jiří FAJKUS. Telomerase Activity, Expression and Telomere in situ Analysis in the Course of Treatment of Childhood Leukemias. J. Biomol. Struct. Dyn. USA: Adenine press, 2000, roč. 17, č. 6, s. 1152-1153. ISSN 0739-1102.
IF = 1,623
8. SKLENIČKOVÁ, Marie, Kateřina KREJČÍ, Jan MALÁSKA a Jiří FAJKUS. In Situ Analysis of Telomeres in Haematological Malignancies. In European Journal of Human Genetics. Vienna: nature publishing group, 2001. s. 135-136
IF = 3,173
9. FAJKUS, Jiří, Jan MALÁSKA, Marie SKLENIČKOVÁ, Rostislav VYZULA, Milan BAJER, Ivo HANKE a Lenka FAJKUSOVÁ. Using detection of telomerase activity and expression in oncology diagnostics. In The Wilhelm Bernhard's workshop 16th International Workshop on Cell Nucleus. Inst. of exp. medicine. Praha: Inst. of exp. medicine, 1999. s. 27.

Granty – hlavní řešitel

1. Projekt IGA MZČR NR 9297-3: Komplexní diagnostika a monitorování myokardiální dysfunkce v sepsi se zaměřením na včasnou diagnostiku, neinvazivní monitoraci a etiopatogenezu. Hlavní řešitel Maláška J. Doba řešení 2007-2009.

2. Projekt IGA MZČR NR 9894-4: Role SIRS, NO a oxidativního stresu v rozvoji šokového stavu a mitochondriální dysfunkce jako podklad multiorgánového selhání. Hlavní řešitel Maláska J. Doba řešení 2009-2011.

Granty – spoluřešitel

1. Grant GAČR 301/99/0045: Dynamika telomer u vybraných typů solidních maligních onemocnění. Doba řešení 2009-2011. (Ph.D. student)

8. Seznam zkratek (abecední)

ACCP	American College of Chest Physicians
ACS	Akutní koronární syndrom
AIM	Akutní infarkt myokardu
ALL	Akutní lymfoblastická leukémie
AM	Alveolární makrofágy
AML	Akutní myeloblastická leukémie
APACHE II	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II skóre
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome - Syndrom akutní respirační tísně
ATP	Adenosintrifosfát
BNP	Brain Natriuretic Peptide – mozkový natriuretický peptid
cHIS	COVID-19 Associated Hyperinflammatory Syndrome
CI	Cardiac Index
CO	Cardiac Output
COVID-19	Coronavirus Disease 2019
CRC	Colorectal Cancer - kolorektální karcinom
cTnI	Cardiac Troponin I
cTnT	Cardiac Troponin T
CVP	Central Venous Pressure – centrální žilní tlak
ČR	Česká republika
ČSARIM	Česká společnost anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny
ČSIM	Česká společnost intenzivní medicíny
ČSFS	Česko-Slovenské fórum pro sepsi
DAD	Diffuse Alveolar Damage - difuzní poškození alveolů
DAMPs	Damage-Associated Molecular Patterns

DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DO ₂	Celková dodávka kyslíku
EBM	Evidence Based Medicine – medicína založená na důkazech
EDN	Eosinophil-Derived Neurotoxin
EF	Ejekční frakce
EPIC II	Extended Prevalence of Infection in Intensive Care
EPOSS	Data-based Evaluation and Prediction of Outcome in Severe Sepsis
ESAIC	European Society of Anaesthesiology and Intensive Care
ESC	European Society of Cardiology
ESICM	European Society of Intensive Care Medicine
FN Brno	Fakultní nemocnice Brno
FRAP	Ferric Ion Reducing Antioxidant Power
GC	Glukokortikoidy
GCR	Glucocorticoid receptor
GPx3	Glutathion peroxidáza 3
GRACE	Global Registry of Acute Coronary Events
GSH	Glutathion
HMGB1	High Mobility Group Box 1
HSP	Heat Shock Protein
HPA	hypotalamo-pituitární-adrenální
hTERT	Human Telomerase Reverse Transcriptase – katalytická podjednotka enzymu telomerázy
IBA MU	Institut biostatistiky a analýz Masarykovy Univerzity
ICAM-1	Intracelulární adhezivní molekula-1
ICU	Intensive Care Unit – jednotka intenzivní péče

IF	Impact Faktor – impakt faktor
IL	Interleukin
iNOS	inducibilní NO syntáza
I/R	Ischemicko/reperfúzní (poškození)
IS	Informovaný souhlas
JAMA	Journal of American Medical Association
JIP	Jednotka intenzivní péče
KH	Klinické hodnocení
KŠ	Kardiogenní šok
KPR	Kardiopulmonální resuscitace
LK	Levá komora
LTL	Leukocyte Telomere Length
MAP	Mean Arterial Pressure – střední arteriální tlak
MDA	malondialdehyd
MEK	Multicentrická etická komise
m.j.	mimo jiné
MMP	Matrix mettaloproteinase
MODS	Multiple Organ Dysfunction Syndrome
MOF	Multiple Organ Failure
NADPH	Nikotinamidadeninukleotidfosfát
NE	Neutrophil Elastase
NF- κB	Nuclear Factor κB
NLRs	NOD-like receptors
NOD	Nucleotide-binding and Oligomerization Domain
MKN-10	Mezinárodní klasifikace nemocí

NO	Nitric Oxide – oxid dusný
NT-proBNP	N-terminal pro b-type natriuretic peptide
OGS	Oxidised Guanine Species
PAC	Pulmonary Artery Catheter
PAMPs	Pathogen-Associated Molecularr Patterns
PCI	Percutaneous Coronary Intervention – perkutánní koronární intervence
PCT	Prokalcitonin
PCWP	Pulmonary Capillary Wedge Pressure, tlak v zaklínění
PIRO systém	Predisposition, Insult, Response, Organ Dysfunction – klasifikační systém pro „staging“ sepse
PPPs	Acute Phase Proteins – proteiny akutní fáze
PSP	Presepsin
PSS	Post-sepsis syndrome
ptO ₂	Parciální tlaku kyslíku ve tkáních
PTX3	Pentraxin 3
8-OHG	8-hydroxyguanosin
8-OHdG	8-hydroxy-2'-deoxyguanosin
QoL	Quality of Life – kvalita života
RAGE	Receptors for Advanced Glycation Endproducts - receptory pro konečné produkty pokročilé glykace
RNA	Ribonukleová kyselina
RCT	Randomized controlled trial – randomizovaná, kontrolovaná studie
Resp.	Respektive
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROC	Receiver Operating Characteristic

ROS	Reactive Oxygen Species
ROSC	Return of Spontaneous Circulation - návrat spontánního oběhu
SAPS II	Simplified Acute Physiology Score II
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
SCCM	Society of Critical Care Medicine
SDF	Sidestream Dark Field (zobrazování)
SF-36	Short Form 36 – validovaný dotazník na zhodnocení kvality života
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome – Syndrom systémové zánětlivé odpovědi
SKMP	Septická kardiomyopatie
SMD	Septická myokardiální dysfunkce
SOAP	Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients Investigators
SOD	Superoxid dismutáza
SOFA score	Sequential (Sepsis related) Organ Failure Assessment score
SSC	Surviving Sepsis Campaign
SŠ	Septický šok
ST2	Serum Stimulation 2 protein
sST2	Solubilní ST2
STEMI	Akutní infarkt myokardu s elevací ST
SV	Stroke Volume – tepový objem
SVRI	Systemic Vascular Resistance Index - Index systémové vaskulární rezistence
TAC	Total Antioxidant Activity
TEE	Transezofageální echokardiografie
TIMI	Thrombolysis in Myocardial Infarction

TLRs	TOLL-like receptors
TNM	Klasifikační systém - staging nádorů (T-tumor, N-nodule, M-metastasis)
TNF	Tumor Necrosis Factor
TREM-1	Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells-1
TTE	Transtorakální echokardiografie
UPV	Umělá plicní ventilace
VFDs	Ventilator-free Days
VO ₂	Celková spotřeba kyslíku
WHO	World Health Organisation - Světová zdravotnická organizace
WOS	Web of Science – citační a bibliografická databáze

9. Literatura

- [1] RHODES, Andrew, Laura E. EVANS, Waleed ALHAZZANI, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock. *Intensive Care Medicine* [online]. **43**(3), 304-377 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-017-4683-6
- [2] RUDD, Kristina E, Sarah Charlotte JOHNSON, Kareha M AGESA, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *The Lancet* [online]. **395**(10219), 200-211 [cit. 2022-01-29]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(19)32989-7
- [3] VINCENT, Jean-Louis. International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. *JAMA* [online]. **302**(21) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2009.1754
- [4] SAKR, Yasser, Ulrich JASCHINSKI, Xavier WITTEBOLE, et al. Sepsis in Intensive Care Unit Patients: Worldwide Data From the Intensive Care over Nations Audit. *Open Forum Infectious Diseases* [online]. **5**(12) [cit. 2022-01-29]. ISSN 2328-8957. Dostupné z: doi:10.1093/ofid/ofy313
- [5] CECCONI, Maurizio, Daniel DE BACKER, Massimo ANTONELLI, et al. Consensus on circulatory shock and hemodynamic monitoring. Task force of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Medicine* [online]. **40**(12), 1795-1815 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-014-3525-z
- [6] AISSAOUI, N., E. PUYMIRAT, X. TABONE, et al. Improved outcome of cardiogenic shock at the acute stage of myocardial infarction: a report from the USIK 1995, USIC 2000, and FAST-MI French Nationwide Registries. *European Heart Journal* [online]. **33**(20), 2535-2543 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0195-668X. Dostupné z: doi:10.1093/eurheartj/ehs264

- [7] DOMEcq, Juan Pablo, Amos LAL, Christopher R. SHELDRICK, et al. Outcomes of Patients With Coronavirus Disease 2019 Receiving Organ Support Therapies: The International Viral Infection and Respiratory Illness Universal Study Registry. *Critical Care Medicine* [online]. **49**(3), 437-448 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/CCM.0000000000004879
- [8] GEROULANOS, Stefanos a Evangelia T. DOUKA. Historical perspective of the word “sepsis”. *Intensive Care Medicine* [online]. **32**(12), 2077-2077 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-006-0392-2
- [9] BONE, Roger C., Robert A. BALK, Frank B. CERRA, R. Phillip DELLINGER, Alan M. FEIN, William A. KNAUS, Roland M.H. SCHEIN a William J. SIBBALD. Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest* [online]. **101**(6), 1644-1655 [cit. 2022-01-29]. ISSN 00123692. Dostupné z: doi:10.1378/chest.101.6.1644
- [10] LEVY, Mitchell M., Mitchell P. FINK, John C. MARSHALL, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Critical Care Medicine* [online]. **31**(4), 1250-1256 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B
- [11] SACKETT, D. L, W. M C ROSENBERG, J A M. GRAY, R B. HAYNES a W S. RICHARDSON. Evidence based medicine: what it is and what it isn't. *BMJ* [online]. **312**(7023), 71-72 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0959-8138. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.312.7023.71
- [12] SOONG, John Tshon Yit a Neil SONI. Circulatory shock. *Medicine* [online]. **41**(2), 64-69 [cit. 2022-01-29]. ISSN 13573039. Dostupné z: doi:10.1016/j.mpmed.2012.11.012
- [13] SPRUNG, Charles L., Yasser SAKR, Jean-Louis VINCENT, et al. An evaluation of systemic inflammatory response syndrome signs in the Sepsis Occurrence in Acutely ill

- Patients (SOAP) study. *Intensive Care Medicine* [online]. **32**(3), 421-427 [cit. 2022-01-29].
ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-005-0039-8
- [14] DENOIX, P. *Enquete permanent dans les centres anticancereaux*. 1. Bull Inst Natl Hyg.:70–75
- [15] CARDOSO, T., P. P. RODRIGUES, C. NUNES, et al. Prospective international validation of the predisposition, infection, response and organ dysfunction (PIRO) clinical staging system among intensive care and general ward patients. *Annals of Intensive Care* [online]. **11**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 2110-5820. Dostupné z: doi:10.1186/s13613-021-00966-7
- [16] ANDERSSON, Ulf a Kevin J. TRACEY. HMGB1 Is a Therapeutic Target for Sterile Inflammation and Infection. *Annual Review of Immunology* [online]. **29**(1), 139-162 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0732-0582. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-immunol-030409-101323
- [17] NATHAN, Carl a Aihao DING. Nonresolving Inflammation. *Cell* [online]. **140**(6), 871-882 [cit. 2022-01-29]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2010.02.029
- [18] CZURA, Christopher J. “Merinoff Symposium 2010: Sepsis”—Speaking with One Voice. *Molecular Medicine* [online]. **17**(1-2), 2-3 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1076-1551. Dostupné z: doi:10.2119/molmed.2010.00001.commentary
- [19] SEYMOUR, Christopher W., Vincent X. LIU, Theodore J. IWASHYNA, et al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis. *JAMA* [online]. **315**(8) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2016.0288.
- [20] FREUND, Yonathan, Najla LEMACHATTI, Evguenia KRASTINOVA, et al. Prognostic Accuracy of Sepsis-3 Criteria for In-Hospital Mortality Among Patients With Suspected Infection Presenting to the Emergency Department. *JAMA* [online]. **317**(3) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2016.20329

- [21] FLEISCHMANN, Carolin, André SCHERAG, Neill K. J. ADHIKARI, Christiane S. HARTOG, Thomas TSAGANOS, Peter SCHLATTMANN, Derek C. ANGUS a Konrad REINHART. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [online]. **193**(3), 259-272 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1073-449X. Dostupné z: doi:10.1164/rccm.201504-0781OC
- [22] LIU, Vincent, Gabriel J. ESCOBAR, John D. GREENE, Jay SOULE, Alan WHIPPY, Derek C. ANGUS a Theodore J. IWASHYNA. Hospital Deaths in Patients With Sepsis From 2 Independent Cohorts. *JAMA* [online]. **312**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2014.5804
- [23] PECHHOLDTOVÁ, Markéta. Sepsis-related mortality in the Czech Republic: multiple causes of death analysis. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*. **66**(2), 73-79. PMID: 28691829.
- [24] VINCENT, Jean-Louis, Jean-Yves LEFRANT, Katarzyna KOTFIS, et al. Comparison of European ICU patients in 2012 (ICON) versus 2002 (SOAP). *Intensive Care Medicine* [online]. **44**(3), 337-344 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-017-5043-2
- [25] RAMAN, Vignesh a Kevin B. LAUPLAND. Challenges to Reporting the Global Trends in the Epidemiology of ICU-Treated Sepsis and Septic Shock. *Current Infectious Disease Reports* [online]. **23**(5) [cit. 2022-01-29]. ISSN 1523-3847. Dostupné z: doi:10.1007/s11908-021-00749-y
- [26] ČERNÝ, Vladimír, I. NOVÁK a Vladimír ŠRÁMEK. Prevalence těžké sepse v České republice -prospektivní multicentrická jednodenní studie. *Anesteziologie a intenzivní medicína*. **14**(5), 218-222.
- [27] VINCENT, Jean-Louis, Yasser SAKR, Charles L. SPRUNG, et al. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. *Critical Care Medicine* [online]. **34**(2), 344-

353 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0090-3493. Dostupné z:

doi:10.1097/01.CCM.0000194725.48928.3A

[28] MALÁSKA, Jan, Martin SLEZÁK, Daniel SCHWARZ, et al. Léčba těžké sepse na pracovištích intenzivní péče v České republice - pilotní výsledky projektu EPOSS. *Vnitr Lek*, 2013, **59**(11), p. 962-970.

[29] UVÍZL, Radovan, Milan ADAMUS, Vladimír ČERNÝ, et al. Patient survival, predictive factors and disease course of severe sepsis in Czech intensive care units: A multicentre, retrospective, observational study. *Biomedical Papers* [online]. **160**(2), 287-297 [cit. 2022-01-29]. ISSN 12138118. Dostupné z: doi:10.5507/bp.2015.052

[30] SCHWARZ, Daniel, Milan ADAMUS, Vladimír ČERNÝ, et al. EPOSS & SEPSIS-Q: návrh a popis řešení projektů pro sledování léčby, morbidity a mortality pacientů s těžkou sepsí v České republice. *Anesteziologie a intenzivní medicína*. **24**(4), 240-249.

[31] VINCENT, Jean-Louis, John C MARSHALL, Silvio A ŇAMENDYS-SILVA, et al. Assessment of the worldwide burden of critical illness: the Intensive Care Over Nations (ICON) audit. *The Lancet Respiratory Medicine* [online]. **2**(5), 380-386 [cit. 2022-01-29]. ISSN 22132600. Dostupné z: doi:10.1016/S2213-2600(14)70061-X

[32] ANGUS, Derek C., Walter T. LINDE-ZWIRBLE, Jeffrey LIDICKER, Gilles CLERMONT, Joseph CARCILLO a Michael R. PINSKY. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Critical Care Medicine* [online]. **29**(7), 1303-1310 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/00003246-200107000-00002

[33] MARTIN, Greg S., David M. MANNINO, Stephanie EATON a Marc MOSS. The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000. *New England Journal of Medicine* [online]. **348**(16), 1546-1554 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa022139

- [34] RANIERI, V. Marco, B. Taylor THOMPSON, Philip S. BARIE, et al. Drotrecogin Alfa (Activated) in Adults with Septic Shock. *New England Journal of Medicine* [online]. **366**(22), 2055-2064 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa1202290
- [35] LEVY, Mitchell M, Antonio ARTIGAS, Gary S PHILLIPS, et al. Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: a prospective cohort study. *The Lancet Infectious Diseases* [online]. **12**(12), 919-924 [cit. 2022-01-29]. ISSN 14733099. Dostupné z: doi:10.1016/S1473-3099(12)70239-6
- [36] OPAL, Steven M., Pierre-Francois LATERRE, Bruno FRANCOIS, et al. Effect of Eritoran, an Antagonist of MD2-TLR4, on Mortality in Patients With Severe Sepsis. *JAMA* [online]. **309**(11) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2013.2194
- [37] KAUKONEN, Kirsi-Maija, Michael BAILEY, Satoshi SUZUKI, David PILCHER a Rinaldo BELLOMO. Mortality Related to Severe Sepsis and Septic Shock Among Critically Ill Patients in Australia and New Zealand, 2000-2012. *JAMA* [online]. **311**(13) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2014.2637
- [38] STEVENSON, Elizabeth K., Amanda R. RUBENSTEIN, Gregory T. RADIN, Renda Soylemez WIENER a Allan J. WALKEY. Two Decades of Mortality Trends Among Patients With Severe Sepsis. *Critical Care Medicine* [online]. **42**(3), 625-631 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/CCM.0000000000000026
- [39] ESPER, Annette M., Marc MOSS, Charmaine A. LEWIS, Rachel NISBET, David M. MANNINO a Greg S. MARTIN. The role of infection and comorbidity: Factors that influence disparities in sepsis. *Critical Care Medicine* [online]. **34**(10), 2576-2582 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/01.CCM.0000239114.50519.0E
- [40] IWASHYNA, Theodore J., Giora NETZER, Kenneth M. LANGA a Christine CIGOLLE. Spurious Inferences about Long-Term Outcomes. *American Journal of*

Respiratory and Critical Care Medicine [online]. **185**(8), 835-841 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1073-449X. Dostupné z: doi:10.1164/rccm.201109-1660OC

[41] CHAPMAN, Stephen J. a Adrian V. S. HILL. Human genetic susceptibility to infectious disease. *Nature Reviews Genetics* [online]. **13**(3), 175-188 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1471-0056. Dostupné z: doi:10.1038/nrg3114

[42] PRESCOTT, Hallie C., Robert P. DICKSON, Mary A. M. ROGERS, Kenneth M. LANGA a Theodore J. IWASHYNA. Hospitalization Type and Subsequent Severe Sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [online]. **192**(5), 581-588 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1073-449X. Dostupné z: doi:10.1164/rccm.201503-0483OC

[43] SAKR, Yasser, Konrad REINHART, Jean-Louis VINCENT, Charles L. SPRUNG, Rui MORENO, V Marco RANIERI, Daniel DE BACKER a Didier PAYEN. Does dopamine administration in shock influence outcome? Results of the Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients (SOAP) Study. *Critical Care Medicine* [online]. **34**(3), 589-597 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/01.CCM.0000201896.45809.E3

[44] WIGGERS, CARL J. CIRCULATORY FAILURE. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* [online]. **70**(8) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.1918.02600080010003

[45] HARDAWAY, Robert M. Wound shock: a history of its study and treatment by military surgeons. *Mil Med* . **169**(4), 265-269. PMID: 15132226.

[46] LE DRAN, Henri-Francois. A treatise, or reflections, drawn from practice on gun-shot wounds. Wherein the Nature, Symptoms and Cure of Gun-Shot Disorders in general are explained, whether Contusions, Wounds, Fractures, &c. or Complications of these; as also, the Wounds from this Cause, of each particular Part, are methodically treated of, and their Peculiarities in Point of Cure, fully exhibited. By Henry Francis Ledran, Sworn Surgeon at Paris, and Senior Master of that Company; Senior Surgeon Major of the Hospital la Charite;

of the Royal Academy of Sciences, and of the Academy of Surgery; Consulting Surgeon to his Majesty's Camps and Armies. London: John Clarke, under the Royal Exchange Cornhill 1743

[47] GUTHRIE, George J. *On gun-shot wounds of the extremities, requiring the different operations of amputation, with their after-treatment*. London: Printed for Longman, Hurst, Rees, Orme, and Brown. 1815

[48] FINFER, Simon R., Jean-Louis VINCENT, Jean-Louis VINCENT a Daniel DE BACKER. Circulatory Shock. *New England Journal of Medicine* [online]. **369**(18), 1726-1734 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMra1208943

[49] VINCENT, Jean-Louis, Can INCE a Jan BAKKER. Clinical review: Circulatory shock - an update. *Critical Care* [online]. **16**(6) [cit. 2022-01-29]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/cc11510

[50] VAN DIEPEN, Sean, Jason N. KATZ, Nancy M. ALBERT, et al. Contemporary Management of Cardiogenic Shock: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* [online]. **136**(16) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0009-7322. Dostupné z: doi:10.1161/CIR.0000000000000525

[51] PONIKOWSKI, Piotr, Adriaan A. VOORS, Stefan D. ANKER, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Heart Journal* [online]. **37**(27), 2129-2200 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0195-668X. Dostupné z: doi:10.1093/eurheartj/ehw128

[52] WEIL, Max Harry a Herbert SHUBIN. Proposed Reclassification of Shock States with Special Reference to Distributive Defects. HINSHAW, Lerner B. a Barbara G. COX, ed. *The Fundamental Mechanisms of Shock* [online]. Boston, MA: Springer US, 1972, s. 13-23 [cit. 2022-01-29]. Advances in Experimental Medicine and Biology. ISBN 978-1-4615-9016-3. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4615-9014-9_3

- [53] DE BACKER, Daniel, Patrick BISTON, Jacques DEVRIENDT, et al. Comparison of Dopamine and Norepinephrine in the Treatment of Shock. *New England Journal of Medicine* [online]. **362**(9), 779-789 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa0907118
- [54] CAZALIS, Marie-Angélique, Alain LEPAPE, Fabienne VENET, et al. Early and dynamic changes in gene expression in septic shock patients: a genome-wide approach. *Intensive Care Medicine Experimental* [online]. **2**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 2197-425X. Dostupné z: doi:10.1186/s40635-014-0020-3
- [55] BAUZÁ-MARTINEZ, J., F. ALETTI, B.B. PINTO, et al. Proteolysis in septic shock patients: plasma peptidomic patterns are associated with mortality. *British Journal of Anaesthesia* [online]. **121**(5), 1065-1074 [cit. 2022-01-29]. ISSN 00070912. Dostupné z: doi:10.1016/j.bja.2018.05.072
- [56] BURNHAM, Katie L., Emma E. DAVENPORT, Jayachandran RADHAKRISHNAN, et al. Shared and Distinct Aspects of the Sepsis Transcriptomic Response to Fecal Peritonitis and Pneumonia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [online]. **196**(3), 328-339 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1073-449X. Dostupné z: doi:10.1164/rccm.201608-1685OC
- [57] KALENKA, Armin, Robert E. FELDMANN, Kevin OTERO, Martin H. MAURER, Klaus F. WASCHKE a Fritz FIEDLER. Changes in the Serum Proteome of Patients with Sepsis and Septic Shock. *Anesthesia & Analgesia* [online]. **103**(6), 1522-1526 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0003-2999. Dostupné z: doi:10.1213/01.ane.0000242533.59457.70
- [58] KADL, Alexandra, Poonam R. SHARMA, Wenshu CHEN, et al. Oxidized phospholipid-induced inflammation is mediated by Toll-like receptor 2. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. **51**(10), 1903-1909 [cit. 2022-01-29]. ISSN 08915849. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.026

- [59] KAWAI, Taro a Shizuo AKIRA. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature Immunology* [online]. **11**(5), 373-384 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1529-2908. Dostupné z: doi:10.1038/ni.1863
- [60] WIERSINGA, Willem Joost, Stije J LEOPOLD, Duncan R CRANENDONK a Tom VAN DER POLL. Host innate immune responses to sepsis. *Virulence* [online]. **5**(1), 36-44 [cit. 2022-01-29]. ISSN 2150-5594. Dostupné z: doi:10.4161/viru.25436
- [61] RUDIGER, Alain. Understanding cardiogenic shock. *European Journal of Heart Failure* [online]. **17**(5), 466-467 [cit. 2022-01-29]. ISSN 13889842. Dostupné z: doi:10.1002/ejhf.265
- [62] PARENICA, Jiri, Jiri JARKOVSKY, Jan MALASKA, et al. Infectious Complications and Immune/Inflammatory Response in Cardiogenic Shock Patients. *Shock* [online]. **47**(2), 165-174 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1073-2322. Dostupné z: doi:10.1097/SHK.0000000000000756
- [63] BRAGA, Daniele, Matteo BARCELLA, Antoine HERPAIN, Federico ALETTI, Erik B. KISTLER, Bernardo BOLLEN PINTO, Karim BENDJELID a Cristina BARLASSINA. A longitudinal study highlights shared aspects of the transcriptomic response to cardiogenic and septic shock. *Critical Care* [online]. **23**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-019-2670-8
- [64] REYNOLDS, Harmony R. a Judith S. HOCHMAN. Cardiogenic Shock. *Circulation* [online]. **117**(5), 686-697 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0009-7322. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.613596
- [65] BOYER, Norman H. Cardiogenic Shock. *New England Journal of Medicine* [online]. **230**(8), 226-229 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM194402242300804

- [66] STEWART, G. N. Researches on the Circulation Time and on the Influences which affect it. *The Journal of Physiology* [online]. **22**(3), 159-183 [cit. 2022-01-29]. ISSN 00223751. Dostupné z: doi:10.1113/jphysiol.1897.sp000684
- [67] MOORE, John Walker, J. M. KINSMAN, W. F. HAMILTON a R. G. SPURLING. STUDIES ON THE CIRCULATION. *American Journal of Physiology-Legacy Content* [online]. **89**(2), 331-339 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0002-9513. Dostupné z: doi:10.1152/ajplegacy.1929.89.2.331
- [68] FREIS, Edward D., Harold W. SCHNAPER, Robert L. JOHNSON a George E. SCHREINER. HEMODYNAMIC ALTERATIONS IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION. I. CARDIAC OUTPUT, MEAN ARTERIAL PRESSURE, TOTAL PERIPHERAL RESISTANCE, "CENTRAL" AND TOTAL BLOOD VOLUMES, VENOUS PRESSURE AND AVERAGE CIRCULATION TIME 12. *Journal of Clinical Investigation* [online]. **31**(2), 131-140 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0021-9738. Dostupné z: doi:10.1172/JCI102584
- [69] GILBERT, R.P., K.P. KONIG a B.H. ADELSON. Hemodynamics of shock due to infection. *J Lab Clin Med.* **13**(2), 801-814. PMID: 14386176.
- [70] HOCHMAN, Judith S., Lynn A. SLEEPER, John G. WEBB, et al. Early Revascularization in Acute Myocardial Infarction Complicated by Cardiogenic Shock. *New England Journal of Medicine* [online]. **341**(9), 625-634 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM199908263410901
- [71] HOLLENBERG, Steven M., Clifford J. KAVINSKY a Joseph E. PARRILLO. Cardiogenic Shock. *Annals of Internal Medicine* [online]. **131**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0003-4819. Dostupné z: doi:10.7326/0003-4819-131-1-199907060-00010
- [72] LIM, Noelle, Marc-Jacques DUBOIS, Daniel DE BACKER a Jean-Louis VINCENT. Do All Nonsurvivors of Cardiogenic Shock Die With a Low Cardiac Index?. *Chest* [online].

124(5), 1885-1891 [cit. 2022-01-29]. ISSN 00123692. Dostupné z:

doi:10.1378/chest.124.5.1885

[73] KOHSAKA, Shun. Systemic Inflammatory Response Syndrome After Acute Myocardial Infarction Complicated by Cardiogenic Shock. *Archives of Internal*

Medicine [online]. **165**(14) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0003-9926. Dostupné z:

doi:10.1001/archinte.165.14.1643

[74] LAWLER, Patrick R. a Mandeep R. MEHRA. Advancing from a “hemodynamic model” to a “mechanistic disease-modifying model” of cardiogenic shock. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* [online]. **37**(11), 1285-1288 [cit. 2022-01-29]. ISSN 10532498.

Dostupné z: doi:10.1016/j.healun.2018.07.009

[75] HOTCHKISS, Richard S., Lyle L. MOLDAWER, Steven M. OPAL, Konrad

REINHART, Isaiah R. TURNBULL a Jean-Louis VINCENT. Sepsis and septic

shock. *Nature Reviews Disease Primers* [online]. **2**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 2056-676X.

Dostupné z: doi:10.1038/nrdp.2016.45

[76] GOTTS, Jeffrey E a Michael A MATTHAY. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *BMJ* [online]. [cit. 2022-01-29]. ISSN 1756-1833. Dostupné z:

doi:10.1136/bmj.i1585

[77] DELANO, Matthew J. a Peter A. WARD. Sepsis-induced immune dysfunction: can immune therapies reduce mortality?. *Journal of Clinical Investigation* [online]. **126**(1), 23-31

[cit. 2022-01-29]. ISSN 0021-9738. Dostupné z: doi:10.1172/JCI82224

[78] DENK, S., M. PERL a M. HUBER-LANG. Damage- and Pathogen-Associated

Molecular Patterns and Alarmins: Keys to Sepsis?. *European Surgical*

Research [online]. **48**(4), 171-179 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0014-312X. Dostupné z:

doi:10.1159/000338194

- [79] YANG, De, Zhen HAN a Joost J. OPPENHEIM. Alarmins and immunity. *Immunological Reviews* [online]. **280**(1), 41-56 [cit. 2022-01-29]. ISSN 01052896. Dostupné z: doi:10.1111/imr.12577
- [80] EL-ZAYAT, Salwa Refat, Hiba SIBAII a Fathia A. MANNAA. Toll-like receptors activation, signaling, and targeting: an overview. *Bulletin of the National Research Centre* [online]. **43**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 2522-8307. Dostupné z: doi:10.1186/s42269-019-0227-2
- [81] LIU, Ting, Lingyun ZHANG, Donghyun JOO a Shao-Cong SUN. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy* [online]. **2**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 2059-3635. Dostupné z: doi:10.1038/sigtrans.2017.23
- [82] KHALIL, Rafaat a Nabil AL-HUMADI. Types of acute phase reactants and their importance in vaccination (Review). *Biomedical Reports* [online]. [cit. 2022-01-29]. ISSN 2049-9434. Dostupné z: doi:10.3892/br.2020.1276
- [83] LEVI, Marcel a Tom VAN DER POLL. Coagulation and sepsis. *Thrombosis Research* [online]. **149**, 38-44 [cit. 2022-01-29]. ISSN 00493848. Dostupné z: doi:10.1016/j.thromres.2016.11.007
- [84] DENSTAEDT, Scott J., Benjamin H. SINGER a Theodore J. STANDIFORD. Sepsis and Nosocomial Infection: Patient Characteristics, Mechanisms, and Modulation. *Frontiers in Immunology* [online]. **9** [cit. 2022-01-29]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2018.02446
- [85] WARD, Nicholas S., Brian CASSERLY a Alfred AYALA. The Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome (CARS) in Critically Ill Patients. *Clinics in Chest Medicine* [online]. **29**(4), 617-625 [cit. 2022-01-29]. ISSN 02725231. Dostupné z: doi:10.1016/j.ccm.2008.06.010

- [86] JOFFRE, Jérémie, Judith HELLMAN, Can INCE a Hafid AIT-OUFELLA. Endothelial Responses in Sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [online]. **202**(3), 361-370 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1073-449X. Dostupné z: doi:10.1164/rccm.201910-1911TR
- [87] IBA, T. a J. H. LEVY. Derangement of the endothelial glycocalyx in sepsis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* [online]. **17**(2), 283-294 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1538-7933. Dostupné z: doi:10.1111/jth.14371
- [88] UCHIMIDO, Ryo, Eric P. SCHMIDT a Nathan I. SHAPIRO. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. *Critical Care* [online]. **23**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-018-2292-6
- [89] INCE, Can a Egbert G. MIK. Microcirculatory and mitochondrial hypoxia in sepsis, shock, and resuscitation. *Journal of Applied Physiology* [online]. **120**(2), 226-235 [cit. 2022-01-29]. ISSN 8750-7587. Dostupné z: doi:10.1152/jappphysiol.00298.2015
- [90] BAR-OR, David, Matthew M. CARRICK, Charles W. MAINS, Leonard T. RAEL, Denetta SLONE a Edward N. BRODY. Sepsis, oxidative stress, and hypoxia: Are there clues to better treatment?. *Redox Report* [online]. **20**(5), 193-197 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1351-0002. Dostupné z: doi:10.1179/1351000215Y.0000000005
- [91] SINGER M. The role of mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure. *Virulence*. 2014 Jan 1;5(1):66-72. Dostupné z: doi:10.4161/viru.26907
- [92] CHERTOFF, Jason, Michael CHISUM, Bryan GARCIA a Jorge LASCANO. Lactate kinetics in sepsis and septic shock: a review of the literature and rationale for further research. *Journal of Intensive Care* [online]. **3**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 2052-0492. Dostupné z: doi:10.1186/s40560-015-0105-4
- [93] VINCENT, Jean-Louis, Amanda QUINTAIROS E SILVA, Lúcio COUTO a Fabio S. TACCONE. The value of blood lactate kinetics in critically ill patients: a systematic

review. *Critical Care* [online]. **20**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-016-1403-5

[94] PENG, Jinmin a Bin DU. Sepsis-related stress response: known knowns, known unknowns, and unknown unknowns. *Critical Care* [online]. **14**(4) [cit. 2022-01-29]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/cc9103

[95] FILHO, Roberto Rabello, Leonardo Lima ROCHA, Thiago Domingos CORRÊA, Camila Menezes Souza PESSOA, Giancarlo COLOMBO a Murillo Santucci Cesar ASSUNCAO. Blood Lactate Levels Cutoff and Mortality Prediction in Sepsis—Time for a Reappraisal? a Retrospective Cohort Study. *Shock* [online]. **46**(5), 480-485 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1073-2322. Dostupné z: doi:10.1097/SHK.0000000000000667

[96] RYOO, Seung Mok, JungBok LEE, Yoon-Seon LEE, et al. Lactate Level Versus Lactate Clearance for Predicting Mortality in Patients With Septic Shock Defined by Sepsis-3. *Critical Care Medicine* [online]. **46**(6), e489-e495 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/CCM.00000000000003030

[97] INNOCENTI, Francesca, Federico MEO, Irene GIACOMELLI, et al. Prognostic value of serial lactate levels in septic patients with and without shock. *Internal and Emergency Medicine* [online]. **14**(8), 1321-1330 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1828-0447. Dostupné z: doi:10.1007/s11739-019-02196-z

[98] CHATHAM, John C. Lactate – the forgotten fuel!. *The Journal of Physiology* [online]. **542**(2), 333-333 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0022-3751. Dostupné z: doi:10.1113/jphysiol.2002.020974

[99] BROOKS, George A. Lactate as a fulcrum of metabolism. *Redox Biology* [online]. **35** [cit. 2022-01-29]. ISSN 22132317. Dostupné z: doi:10.1016/j.redox.2020.101454

[100] GOEDHART, P. T., M. KHALILZADA, R. BEZEMER, J. MERZA a C. INCE. Sidestream Dark Field (SDF) imaging: a novel stroboscopic LED ring-based imaging

modality for clinical assessment of the microcirculation. *Optics Express* [online]. **15**(23) [cit. 2022-01-29]. ISSN 1094-4087. Dostupné z: doi:10.1364/OE.15.015101

[101] MIRANDA, Marcos, Michelle BALARINI, Daniella CAIXETA a Eliete BOUSKELA. Microcirculatory dysfunction in sepsis: pathophysiology, clinical monitoring, and potential therapies. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* [online]. **311**(1), H24-H35 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0363-6135. Dostupné z: doi:10.1152/ajpheart.00034.2016

[102] LEGRAND, Matthieu, Daniel DE BACKER, François DÉPRET a Hafid AIT-OUFELLA. Recruiting the microcirculation in septic shock. *Annals of Intensive Care* [online]. **9**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 2110-5820. Dostupné z: doi:10.1186/s13613-019-0577-9

[103] WILSON, ROBERT F. Hemodynamic Measurements in Septic Shock. *Archives of Surgery* [online]. **91**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0004-0010. Dostupné z: doi:10.1001/archsurg.1965.01320130123014

[104] BAKKER, Jan, Eduardo KATTAN, Djillali ANNANE, et al. Current practice and evolving concepts in septic shock resuscitation. *Intensive Care Medicine* [online]. **48**(2), 148-163 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-021-06595-9

[105] PERNER, Anders, Maurizio CECCONI, Maria CRONHJORT, Michael DARMON, Stephan M. JAKOB, Ville PETTILÄ a Iwan C. C. VAN DER HORST. Expert statement for the management of hypovolemia in sepsis. *Intensive Care Medicine* [online]. **44**(6), 791-798 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-018-5177-x

[106] MALÁSKA, Jan, Martin SLEZÁK, Katarína MURIOVÁ, Jan STAŠEK a Pavel ŠEVČÍK. Myokardiální dysfunkce v sepsi - diagnostika a terapie. *Vnitřní Lékařství*. **56**(3), 226-232.

- [107] MURIOVÁ, Katarína, Jan MALÁSKA, Filip OTEVŘEL, Milan KRATOCHVÍL a Pavel ŠEVČÍK. Myokardiální dysfunkce v sepsi - charakteristika a patogenetické mechanismy. *Vnitřní Lékařství*. **56**(3), 220-225.
- [108] MEDZHITOV, Ruslan. Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. *Cell* [online]. **140**(6), 771-776 [cit. 2022-01-29]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2010.03.006
- [109] The ARDS Definition Task Force. Acute Respiratory Distress Syndrome. *JAMA* [online]. **307**(23) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2012.5669
- [110] FAN, Eddy, Daniel BRODIE a Arthur S. SLUTSKY. Acute Respiratory Distress Syndrome. *JAMA* [online]. **319**(7) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2017.21907
- [111] MATTHAY, Michael A., Rachel L. ZEMANS, Guy A. ZIMMERMAN, et al. Acute respiratory distress syndrome. *Nature Reviews Disease Primers* [online]. **5**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 2056-676X. Dostupné z: doi:10.1038/s41572-019-0069-0
- [112] HUANG, Xiaofang, Huiqing XIU, Shufang ZHANG a Gensheng ZHANG. The Role of Macrophages in the Pathogenesis of ALI/ARDS. *Mediators of Inflammation* [online]. **2018**, 1-8 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0962-9351. Dostupné z: doi:10.1155/2018/1264913
- [113] SPADARO, Savino, Alberto FOGAGNOLO, Gianluca CAMPO, et al. Markers of endothelial and epithelial pulmonary injury in mechanically ventilated COVID-19 ICU patients. *Critical Care* [online]. **25**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-021-03499-4
- [114] FRANTZESKAKI, Frantzeska, Apostolos ARMAGANIDIS a Stylianos E. ORFANOS. Immunothrombosis in Acute Respiratory Distress Syndrome: Cross Talks between

Inflammation and Coagulation. *Respiration* [online]. **93**(3), 212-225 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0025-7931. Dostupné z: doi:10.1159/000453002

[115] MATTHAY, Michael A. a Rachel L. ZEMANS. The Acute Respiratory Distress Syndrome: Pathogenesis and Treatment. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* [online]. **6**(1), 147-163 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1553-4006. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-pathol-011110-130158

[116] CHEN, Xuxin, Jian TANG, Weizheng SHUAI, Jiguang MENG, Jian FENG a Zhihai HAN. Macrophage polarization and its role in the pathogenesis of acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. *Inflammation Research* [online]. **69**(9), 883-895 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1023-3830. Dostupné z: doi:10.1007/s00011-020-01378-2

[117] BOYLE, Andrew James, Rob Mac SWEENEY a Daniel Francis MCAULEY. Pharmacological treatments in ARDS; a state-of-the-art update. *BMC Medicine* [online]. **11**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 1741-7015. Dostupné z: doi:10.1186/1741-7015-11-166

[118] ZEIHNER, Bernhardt G., Antonio ARTIGAS, Jean-Louis VINCENT, Alexei DMITRIENKO, Kimberley JACKSON, B Taylor THOMPSON a Gordon BERNARD. Neutrophil elastase inhibition in acute lung injury: Results of the STRIVE study. *Critical Care Medicine* [online]. **32**(8), 1695-1702 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/01.CCM.0000133332.48386.85

[119] MEDURI, Gianfranco Umberto, Djillali ANNANE, Marco CONFALONIERI, George P. CHROUSOS, Bram ROCHWERG, Amanda BUSBY, Barbara RUARO a Bernd MEIBOHM. Pharmacological principles guiding prolonged glucocorticoid treatment in ARDS. *Intensive Care Medicine* [online]. **46**(12), 2284-2296 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-020-06289-8

- [120] MEDURI, G. Umberto, Muthiah P. MUTHIAH, Pierluigi CARRATÙ, Mahmoud ELTORKY a George P. CHROUSOS. Nuclear Factor- κ B- and Glucocorticoid Receptor α -Mediated Mechanisms in the Regulation of Systemic and Pulmonary Inflammation during Sepsis and Acute Respiratory Distress Syndrome. *Neuroimmunomodulation* [online]. **12**(6), 321-338 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1021-7401. Dostupné z: doi:10.1159/000091126
- [121] JIANG, Chun-Lei, Lei LIU a Jeffrey G. TASKER. Why do we need nongenomic glucocorticoid mechanisms?. *Frontiers in Neuroendocrinology* [online]. **35**(1), 72-75 [cit. 2022-01-29]. ISSN 00913022. Dostupné z: doi:10.1016/j.yfrne.2013.09.005
- [122] PRESCOTT, Hallie C., Kenneth M. LANGA, Vincent LIU, Gabriel J. ESCOBAR a Theodore J. IWASHYNA. Increased 1-Year Healthcare Use in Survivors of Severe Sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [online]. **190**(1), 62-69 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1073-449X. Dostupné z: doi:10.1164/rccm.201403-0471OC
- [123] SHANKAR-HARI, Manu a Gordon D. RUBENFELD. Understanding Long-Term Outcomes Following Sepsis: Implications and Challenges. *Current Infectious Disease Reports* [online]. **18**(11) [cit. 2022-01-29]. ISSN 1523-3847. Dostupné z: doi:10.1007/s11908-016-0544-7
- [124] LINDER, Adam, Daphne GUH, John H. BOYD, Keith R. WALLEY, Aslam H. ANIS a James A. RUSSELL. Long-Term (10-Year) Mortality of Younger Previously Healthy Patients With Severe Sepsis/Septic Shock Is Worse Than That of Patients With Nonseptic Critical Illness and of the General Population. *Critical Care Medicine* [online]. **42**(10), 2211-2218 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/CCM.0000000000000503
- [125] PRESCOTT, Hallie C, John J OSTERHOLZER, Kenneth M LANGA, Derek C ANGUS a Theodore J IWASHYNA. Late mortality after sepsis: propensity matched cohort study. *BMJ* [online]. [cit. 2022-01-29]. ISSN 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.i2375

- [126] OU, Shuo-Ming, Hsi CHU, Pei-Wen CHAO, et al. Long-Term Mortality and Major Adverse Cardiovascular Events in Sepsis Survivors. A Nationwide Population-based Study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [online]. **194**(2), 209-217 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1073-449X. Dostupné z: doi:10.1164/rccm.201510-2023OC
- [127] EHLENBACH, William J. Association Between Acute Care and Critical Illness Hospitalization and Cognitive Function in Older Adults. *JAMA* [online]. **303**(8) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2010.167
- [128] DAVYDOW, Dimitry S., Catherine L. HOUGH, Kara ZIVIN, Kenneth M. LANGA a Wayne J. KATON. Depression and risk of hospitalization for pneumonia in a cohort study of older Americans. *Journal of Psychosomatic Research* [online]. **77**(6), 528-534 [cit. 2022-01-29]. ISSN 00223999. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpsychores.2014.08.002
- [129] WINTERS, Bradford D., Michael EBERLEIN, Janice LEUNG, Dale M. NEEDHAM, Peter J. PRONOVOST a Jonathan E. SEVRANSKY. Long-term mortality and quality of life in sepsis: A systematic review. *Critical Care Medicine* [online]. **38**(5), 1276-1283 [cit. 2022-01-29]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/CCM.0b013e3181d8cc1d
- [130] CORRALES-MEDINA, Vicente F., Karina N. ALVAREZ, Lisa A. WEISSFELD, et al. Association Between Hospitalization for Pneumonia and Subsequent Risk of Cardiovascular Disease. *JAMA* [online]. **313**(3) [cit. 2022-01-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2014.18229
- [131] DAL-PIZZOL, Felipe, Matheus PASQUALI, João QUEVEDO, Daniel Pens GELAIN a José Cláudio Fonseca MOREIRA. Is There a Role for High Mobility Group Box 1 and the Receptor for Advanced Glycation End Products in the Genesis of Long-term Cognitive Impairment in Sepsis Survivors?. *Molecular Medicine* [online]. **18**(10), 1357-1358 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1076-1551. Dostupné z: doi:10.2119/molmed.2012.00317

- [132] MERDJI, Hamid, Valérie SCHINI-KERTH, Ferhat MEZIANI a Florence TOTI. Long-term cardiovascular complications following sepsis: is senescence the missing link?. *Annals of Intensive Care* [online]. **11**(1) [cit. 2022-01-29]. ISSN 2110-5820. Dostupné z: doi:10.1186/s13613-021-00937-y
- [133] LÓPEZ-OTÍN, Carlos, Maria A. BLASCO, Linda PARTRIDGE, Manuel SERRANO a Guido KROEMER. The Hallmarks of Aging. *Cell* [online]. **153**(6), 1194-1217 [cit. 2022-01-29]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2013.05.039
- [134] MALÁSKA, Jan, Marie SKLENIČKOVÁ, Kateřina KREJČÍ, Lenka FAJKUSOVÁ, Milan BAJER, Hana HRSTKOVÁ a Jiří FAJKUS. Telomerase Activity and Expression and Telomere Analysis in Situ in the Course of Treatment of Childhood Leukemias. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* [online]. **26**(5), 534-539 [cit. 2022-01-30]. ISSN 10799796. Dostupné z: doi:10.1006/bcmd.2000.0332
- [135] MALÁSKA, Jan, Marie SKLENIČKOVÁ, Kateřina KREJČÍ, Lenka FAJKUSOVÁ, Milan BAJER, Hana HRSTKOVÁ a Jiří FAJKUS. Telomerase Activity and Expression and Telomere Analysis in Situ in the Course of Treatment of Childhood Leukemias. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* [online]. **26**(5), 534-539 [cit. 2022-01-31]. ISSN 10799796. Dostupné z: doi:10.1006/bcmd.2000.0332
- [136] AVIV, Abraham. Short telomeres and severe COVID-19: The connection conundrum. *EBioMedicine* [online]. **70** [cit. 2022-01-30]. ISSN 23523964. Dostupné z: doi:10.1016/j.ebiom.2021.103513
- [137] WANG, Qingning, Veryan CODD, Zahra RAISI-ESTABRAGH, et al. Shorter leukocyte telomere length is associated with adverse COVID-19 outcomes: A cohort study in UK Biobank. *EBioMedicine* [online]. **70** [cit. 2022-01-30]. ISSN 23523964. Dostupné z: doi:10.1016/j.ebiom.2021.103485

- [138] PAŘENICA, Jiří, Jan MALÁSKA, Jiří JARKOVSKÝ, Kateřina HELÁNOVÁ, Petr JABANDŽIEV a Jaroslav MICHÁLEK. Dynamika hladiny interleukinu 6 u pacientů v septicém a kardiogenním šoku a u pacientů s akutním infarktem myokardu s elevacemi ST. *Vnitřní Lékařství*. **60**(2), 114-122.
- [139] MOLANO FRANCO, Daniel, Ingrid AREVALO-RODRIGUEZ, Marta ROQUÉ I FIGULS, Nadia G MONTERO OLEAS, Xavier NUVALS a Javier ZAMORA. Plasma interleukin-6 concentration for the diagnosis of sepsis in critically ill adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [online]. [cit. 2022-01-30]. ISSN 14651858. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD011811.pub2
- [140] PARENICA, Jiri, Jan MALASKA, Jiri JARKOVSKY, Jolana LIPKOVA, Milan DASTYCH, Katerina HELANOVA, Jiri LITZMAN, Josef TOMANDL, Simona LITTNEROVA, Jana SEVCIKOVA, Roman GAL, Pavel SEVCIK, Jindrich SPINAR a Monika Pavkova GOLDBERGOVA. Soluble ST2 levels in patients with cardiogenic and septic shock are not predictors of mortality. *Experimental & Clinical Cardiology*. **17**(4), 205–209
- [141] TOMANDLOVA, Marie, Jiri PARENICA, Petr LOKAJ, et al. Prognostic value of oxidative stress in patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock: A prospective cohort study. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. **174**, 66-72 [cit. 2022-01-30]. ISSN 08915849. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2021.07.040
- [142] KELLER, F, V KOČÍ, K ŘIHÁKOVÁ, J MALÁSKA a J STAŠEK. Systemic corticosteroids in the management of covid-19 ARDS. *Anesteziologie a intenzivní medicína* [online]. **32**(3), 150-155 [cit. 2022-01-30]. ISSN 12142158. Dostupné z: doi:10.36290/aim.2021.036
- [143] MALÁSKA, Jan, Jan STAŠEK, František DUŠKA, et al. Effect of dexamethasone in patients with ARDS and COVID-19 – prospective, multi-centre, open-label, parallel-group,

randomised controlled trial (REMED trial): A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* [online]. **22**(1) [cit. 2022-01-30]. ISSN 1745-6215.

Dostupné z: doi:10.1186/s13063-021-05116-9

[144] REINHART, Konrad, Ron DANIELS, Niranjana KISSOON, Flavia R. MACHADO, Raymond D. SCHACHTER a Simon FINFER. Recognizing Sepsis as a Global Health Priority — A WHO Resolution. *New England Journal of Medicine* [online]. **377**(5), 414-417 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMp1707170

[145] VINCENT, Jean-Louis, Gabriel JONES, Sholto DAVID, Elena OLARIU a Kevin K. CADWELL. Frequency and mortality of septic shock in Europe and North America: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care* [online]. **23**(1) [cit. 2022-01-30]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-019-2478-6

[146] YENDE, Sachin, Theodore J. IWASHYNA a Derek C. ANGUS. Interplay between sepsis and chronic health. *Trends in Molecular Medicine* [online]. **20**(4), 234-238 [cit. 2022-01-30]. ISSN 14714914. Dostupné z: doi:10.1016/j.molmed.2014.02.005

[147] KOSYAKOVSKY, Leah B., Federico ANGRIMAN, Emma KATZ, et al. Association between sepsis survivorship and long-term cardiovascular outcomes in adults: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Medicine* [online]. **47**(9), 931-942 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-021-06479-y

[148] OLMOS, Gemma, Patricia MARTÍNEZ-MIGUEL, Elena ALCALDE-ESTEVEZ, et al. Hyperphosphatemia induces senescence in human endothelial cells by increasing endothelin-1 production. *Aging Cell* [online]. **16**(6), 1300-1312 [cit. 2022-01-30]. ISSN 1474-9718.

Dostupné z: doi:10.1111/accel.12664

[149] CHILDS, Bennett G., Hu LI a Jan M. VAN DEURSEN. Senescent cells: a therapeutic target for cardiovascular disease. *Journal of Clinical Investigation* [online]. **128**(4), 1217-1228 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0021-9738. Dostupné z: doi:10.1172/JCI95146

- [150] FAJKUS, J., M. SIMICKOVAL a J. MALASKA. Tiptoeing to chromosome tips: facts, promises and perils of today's human telomere biology. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* [online]. 2002, **357**(1420), 545–562. ISSN 0962-8436. Dostupné z: doi:10.1098/rstb.2001.1053
- [151] OLIVEIRA, Naara Mendes, Ester C S RIOS, Thais Martins DE LIMA, Vanessa Jacob VICTORINO, Hermes BARBEIRO, Fabiano Pinheiro DA SILVA, Csaba SZABO a Francisco Garcia SORIANO. Sepsis induces Telomere Shortening: a Potential Mechanism Responsible for Delayed Pathophysiological Events in Sepsis Survivors?. *Molecular Medicine* [online]. **22**(1), 886-891 [cit. 2022-01-30]. ISSN 1076-1551. Dostupné z: doi:10.2119/molmed.2016.00225
- [152] RAZAZI, Keyvan, Elisabeth MARCOS, Sophie HÜE, Laurent BOYER, Serge ADNOT a Armand MEKONTSO DESSAP. Telomere shortening during human septic shock: influence of sepsis mediators, role in organ failures, and septic myocardial dysfunction. *Critical Care* [online]. **25**(1) [cit. 2022-01-30]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-021-03818-9
- [153] LIU, Shuo, Chunxue WANG, Gary GREEN, et al. Peripheral blood leukocyte telomere length is associated with survival of sepsis patients. *European Respiratory Journal* [online]. **55**(1) [cit. 2022-01-30]. ISSN 0903-1936. Dostupné z: doi:10.1183/13993003.01044-2019
- [154] YI, Xiaoming, Dennis M. WHITE, Dara L. AISNER, Joseph A. BAUR, Woodring E. WRIGHT a Jerry W. SHAY. An Alternate Splicing Variant of the Human Telomerase Catalytic Subunit Inhibits Telomerase Activity. *Neoplasia* [online]. **2**(5), 433-440 [cit. 2022-01-30]. ISSN 14765586. Dostupné z: doi:10.1038/sj.neo.7900113
- [155] WONG, Mandy S., Ling CHEN, Christopher FOSTER, Radhika KAINTHLA, Jerry W. SHAY a Woodring E. WRIGHT. Regulation of Telomerase Alternative Splicing: A Target

for Chemotherapy. *Cell Reports* [online]. **3**(4), 1028-1035 [cit. 2022-01-30]. ISSN 22111247.

Dostupné z: doi:10.1016/j.celrep.2013.03.011

[156] LUDLOW, Andrew T., Aaron L. SLUSHER a Mohammed E. SAYED. Insights into Telomerase/hTERT Alternative Splicing Regulation Using Bioinformatics and Network Analysis in Cancer. *Cancers* [online]. **11**(5) [cit. 2022-01-30]. ISSN 2072-6694. Dostupné z: doi:10.3390/cancers11050666

[157] WEIL, Max H. a Robert J. HENNING. New concepts in the diagnosis and fluid treatment of circulatory shock. Thirteenth annual Becton, Dickinson and Company Oscar Schwidetsky Memorial Lecture. *Anesth Analg.* **58**(2), 124-132.

[158] KNAUS, William A., E.A. DRAPER, D.P. WAGNER a J.E. ZIMMERMAN. APACHE II: a severity of disease classification system. *Critical Care Medicine.* **13**(10), 818-829.

[159] LE GALL, J. R. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* [online]. **270**(24), 2957-2963 [cit. 2022-01-30]. ISSN 00987484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.270.24.2957

[160] GRANGER, Christopher B. Predictors of Hospital Mortality in the Global Registry of Acute Coronary Events. *Archives of Internal Medicine* [online]. **163**(19) [cit. 2022-01-30]. ISSN 0003-9926. Dostupné z: doi:10.1001/archinte.163.19.2345

[161] PÖSS, Janine, Jelena KÖSTER, Georg FUERNAU, et al. Risk Stratification for Patients in Cardiogenic Shock After Acute Myocardial Infarction. *Journal of the American College of Cardiology* [online]. **69**(15), 1913-1920 [cit. 2022-01-30]. ISSN 07351097. Dostupné z: doi:10.1016/j.jacc.2017.02.027

[162] ANDRIÉ, René P, Ulrich M BECHER, Ricarda FROMMOLD, Vedat TIYERILI, Jan W SCHRICKEL, Georg NICKENIG a Jörg O SCHWAB. Interleukin-6 is the strongest

predictor of 30-day mortality in patients with cardiogenic shock due to myocardial infarction. *Critical Care* [online]. **16**(4) [cit. 2022-01-30]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/cc11467

[163] PRONDZINSKY, Roland, Susanne UNVERZAGT, Henning LEMM, et al. Interleukin-6, -7, -8 and -10 predict outcome in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Clinical Research in Cardiology* [online]. **101**(5), 375-384 [cit. 2022-01-30]. ISSN 1861-0684. Dostupné z: doi:10.1007/s00392-011-0403-3

[164] NGUYEN, H Bryant, Emanuel P. RIVERS, Bernhard P. KNOBLICH, Gordon JACOBSEN, Alexandria MUZZIN, Julie A. RESSLER a Michael C. TOMLANOVICH. Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock. *Critical Care Medicine* [online]. **32**(8), 1637-1642 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/01.CCM.0000132904.35713.A7

[165] NGUYEN, H Bryant, Manisha LOOMBA, James J YANG, et al. Early lactate clearance is associated with biomarkers of inflammation, coagulation, apoptosis, organ dysfunction and mortality in severe sepsis and septic shock. *Journal of Inflammation* [online]. **7**(1) [cit. 2022-01-30]. ISSN 1476-9255. Dostupné z: doi:10.1186/1476-9255-7-6

[166] JARAI, Rudolf, Kurt HUBER, Kris BOGAERTS, et al. Prediction of cardiogenic shock using plasma B-type natriuretic peptide and the N-terminal fragment of its pro-hormone concentrations in ST elevation myocardial infarction: An analysis from the ASSENT-4 Percutaneous Coronary Intervention Trial. *Critical Care Medicine* [online]. **38**(9), 1793-1801 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/CCM.0b013e3181eaaf2a

[167] THIELE, Holger, Uwe ZEYMER, Franz-Josef NEUMANN, et al. Intraaortic Balloon Support for Myocardial Infarction with Cardiogenic Shock. *New England Journal of*

Medicine [online]. **367**(14), 1287-1296 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0028-4793. Dostupné z:
doi:10.1056/NEJMoa1208410

[168] PERBET, Sébastien, Nicolas MONGARDON, Florence DUMAS, et al. Early-Onset Pneumonia after Cardiac Arrest. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [online]. **184**(9), 1048-1054 [cit. 2022-01-30]. ISSN 1073-449X. Dostupné z:
doi:10.1164/rccm.201102-0331OC

[169] CHIONCEL, Ovidiu, John PARISSIS, Alexandre MEBAZAA, et al. Epidemiology, pathophysiology and contemporary management of cardiogenic shock – a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *European Journal of Heart Failure* [online]. **22**(8), 1315-1341 [cit. 2022-01-30]. ISSN 1388-9842. Dostupné z:
doi:10.1002/ejhf.1922

[170] DOLMATOVA, Elena V, Keke WANG, Rohan MANDAVILLI a Kathy K GRIENDLING. The effects of sepsis on endothelium and clinical implications. *Cardiovascular Research* [online]. **117**(1), 60-73 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0008-6363.
Dostupné z: doi:10.1093/cvr/cvaa070

[171] MANKOWSKI, R. T., S. YENDE a D. C. ANGUS. Long-term impact of sepsis on cardiovascular health. *Intensive Care Medicine* [online]. **45**(1), 78-81 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-018-5173-1

[172] EVANS, Laura, Andrew RHODES, Waleed ALHAZZANI, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Medicine* [online]. **47**(11), 1181-1247 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0342-4642. Dostupné z:
doi:10.1007/s00134-021-06506-y

[173] CHVOJKA, Jiří a Martin MATĚJOVIČ. Mezinárodní doporučení pro léčbu těžké sepse a septického šoku 2012 – komentovaný výběr. *Vnitřní Lékařství*. **60**(1), 59-67.

- [174] MALÁSKA, Jan. Terapie těžké sepse v roce 2013 – editorial. *Vnitřní Lékařství*. **60**(1), 22-24.
- [175] DELLINGER, R. P., Mitchell M. LEVY, Andrew RHODES, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock, 2012. *Intensive Care Medicine* [online]. **39**(2), 165-228 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-012-2769-8
- [176] RHODES, Andrew, Laura E. EVANS, Waleed ALHAZZANI, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock. *Intensive Care Medicine* [online]. **43**(3), 304-377 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-017-4683-6
- [177] PARKER, MARGARET M. Profound but Reversible Myocardial Depression in Patients with Septic Shock. *Annals of Internal Medicine* [online]. **100**(4) [cit. 2022-01-30]. ISSN 0003-4819. Dostupné z: doi:10.7326/0003-4819-100-4-483
- [178] POELAERT, J., C. DECLERCK, D. VOGELAERS, F. COLARDYN a C. A. VISSER. Left ventricular systolic and diastolic function in septic shock. *Intensive Care Medicine* [online]. **23**(5), 553-560 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s001340050372
- [179] VIEILLARD-BARON, Antoine, Vincent CAILLE, Cyril CHARRON, Guillaume BELLIARD, Bernard PAGE a François JARDIN. Actual incidence of global left ventricular hypokinesia in adult septic shock. *Critical Care Medicine* [online]. **36**(6), 1701-1706 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/CCM.0b013e318174db05
- [180] MEHTA, Nirav J, Ijaz A KHAN, Vipin GUPTA, Ketan JANI, Ramesh M GOWDA a Peter R SMITH. Cardiac troponin I predicts myocardial dysfunction and adverse outcome in septic shock. *International Journal of Cardiology* [online]. **95**(1), 13-17 [cit. 2022-01-30]. ISSN 01675273. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijcard.2003.02.005

- [181] KING, Daniel A, Shlomi CODISH, Victor NOVACK, Leonid BARSKI a Yaniv ALMOG. *Critical Care* [online]. **9**(4) [cit. 2022-01-30]. ISSN 13648535. Dostupné z: doi:10.1186/cc3731
- [182] ROCH, Antoine, Jérôme ALLARDET-SERVENT, Pierre MICHELET, et al. NH2 terminal pro-brain natriuretic peptide plasma level as an early marker of prognosis and cardiac dysfunction in septic shock patients. *Critical Care Medicine* [online]. **33**(5), 1001-1007 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/01.CCM.0000162561.82012.E9
- [183] PIETLLA, K. O., A. P. HARMOINEN, J. JOKINIITTY a A. I. PASTERNAK. Serum C-reactive protein concentration in acute myocardial infarction and its relationship to mortality during 24 months of follow-up in patients under thrombolytic treatment. *European Heart Journal* [online]. **17**(9), 1345-1349 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0195-668X. Dostupné z: doi:10.1093/oxfordjournals.eurheartj.a015068
- [184] THÉROUX, Pierre, Paul W. ARMSTRONG, Kenneth W. MAHAFFEY, et al. Prognostic significance of blood markers of inflammation in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary angioplasty and effects of pexelizumab, a C5 inhibitor: a substudy of the COMMA trial. *European Heart Journal* [online]. **26**(19), 1964-1970 [cit. 2022-01-30]. ISSN 1522-9645. Dostupné z: doi:10.1093/eurheartj/ehi292
- [185] GEPPERT, Alexander, Angela STEINER, Gerlinde ZORN, et al. Multiple organ failure in patients with cardiogenic shock is associated with high plasma levels of interleukin-6. *Critical Care Medicine* [online]. **30**(9), 1987-1994 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/00003246-200209000-00007
- [186] OSMON, Steven, David WARREN, Sondra M. SEILER, William SHANNON, Victoria J. FRASER a Marin H. KOLLEF. The Influence of Infection on Hospital Mortality

for Patients Requiring > 48 h of Intensive Care. *Chest* [online]. **124**(3), 1021-1029 [cit. 2022-01-30]. ISSN 00123692. Dostupné z: doi:10.1378/chest.124.3.1021

[187] MAISEL, Alan, Sean-Xavier NEATH, Judd LANDSBERG, et al. Use of procalcitonin for the diagnosis of pneumonia in patients presenting with a chief complaint of dyspnoea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial. *European Journal of Heart Failure* [online]. **14**(3), 278-286 [cit. 2022-01-30]. ISSN 13889842. Dostupné z: doi:10.1093/eurjhf/hfr177

[188] MEISEL, Christian, Kerstin BONHAGEN, Max LÖHNING, Anthony J. COYLE, Jose-Carlos GUTIERREZ-RAMOS, Andreas RADBRUCH a Thomas KAMRADT. Regulation and Function of T1/ST2 Expression on CD4 + T Cells: Induction of Type 2 Cytokine Production by T1/ST2 Cross-Linking. *The Journal of Immunology* [online]. **166**(5), 3143-3150 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0022-1767. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.166.5.3143

[189] GRIESENAUER, Brad a Sophie PACZESNY. The ST2/IL-33 Axis in Immune Cells during Inflammatory Diseases. *Frontiers in Immunology* [online]. **8** [cit. 2022-01-30]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2017.00475

[190] HOOGERWERF, Jacobien J., Michael W. T. TANCK, Marieke A. D. VAN ZOELLEN, Xavier WITTEBOLE, Pierre-François LATERRE a Tom VAN DER POLL. Soluble ST2 plasma concentrations predict mortality in severe sepsis. *Intensive Care Medicine* [online]. **36**(4), 630-637 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-010-1773-0

[191] DHILLON, Onkar S., Hafid K. NARAYAN, Paulene A. QUINN, Iain B. SQUIRE, Joan E. DAVIES a Leong L. NG. Interleukin 33 and ST2 in non-ST-elevation myocardial infarction: Comparison with Global Registry of Acute Coronary Events Risk Scoring and NT-proBNP. *American Heart Journal* [online]. **161**(6), 1163-1170 [cit. 2022-01-30]. ISSN 00028703. Dostupné z: doi:10.1016/j.ahj.2011.03.025

- [192] SENTHIL, S., RM. VEERAPPAN, M. RAMAKRISHNA RAO a K.V. PUGALENDI. Oxidative stress and antioxidants in patients with cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction. *Clinica Chimica Acta* [online]. **348**(1-2), 131-137 [cit. 2022-01-30]. ISSN 00098981. Dostupné z: doi:10.1016/j.cccn.2004.05.004
- [193] BRAUNERSREUTHER, Vincent a Vincent JAQUET. Reactive Oxygen Species in Myocardial Reperfusion Injury: From Physiopathology to Therapeutic Approaches. *Current Pharmaceutical Biotechnology* [online]. **13**(1), 97-114 [cit. 2022-01-30]. ISSN 13892010. Dostupné z: doi:10.2174/138920112798868782
- [194] BURGOYNE, Joseph R., Héloïse MONGUE-DIN, Philip EATON a Ajay M. SHAH. Redox Signaling in Cardiac Physiology and Pathology. *Circulation Research* [online]. **111**(8), 1091-1106 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0009-7330. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCRESAHA.111.255216
- [195] VILLAR, Jesús, Carlos FERRANDO, Domingo MARTÍNEZ, et al. Dexamethasone treatment for the acute respiratory distress syndrome: a multicentre, randomised controlled trial. *The Lancet Respiratory Medicine* [online]. **8**(3), 267-276 [cit. 2022-01-30]. ISSN 22132600. Dostupné z: doi:10.1016/S2213-2600(19)30417-5
- [196] ALHAZZANI, Waleed, Morten Hylander MØLLER, Yaseen M. ARABI, et al. Surviving Sepsis Campaign: guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Intensive Care Medicine* [online]. **46**(5), 854-887 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-020-06022-5
- [197] AGARWAL, Arnav, Bram ROCHWERG, François LAMONTAGNE, et al. A living WHO guideline on drugs for covid-19. *BMJ* [online]. [cit. 2022-01-30]. ISSN 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.m3379
- [198] STERNE, Jonathan A. C., Srinivas MURTHY, Janet V. DIAZ, et al. Association Between Administration of Systemic Corticosteroids and Mortality Among Critically Ill

Patients With COVID-19. *JAMA* [online]. **324**(13) [cit. 2022-01-30]. ISSN 0098-7484.

Dostupné z: doi:10.1001/jama.2020.17023

[199] MEDURI, G. Umberto, Emmel GOLDEN, Amado X. FREIRE, Edwin TAYLOR, Muhammad ZAMAN, Stephanie J. CARSON, Mary GIBSON a Reba UMBERGER.

Methylprednisolone Infusion in Early Severe ARDS. *Chest* [online]. **131**(4), 954-963 [cit. 2022-01-30]. ISSN 00123692. Dostupné z: doi:10.1378/chest.06-2100

[200] MEDURI, G. Umberto, A. Stacey HEADLEY, Emmel GOLDEN, Stephanie J. CARSON, Reba A. UMBERGER, Tiffany KELSO a Elizabeth A. TOLLEY. Effect of Prolonged Methylprednisolone Therapy in Unresolving Acute Respiratory Distress Syndrome. *JAMA* [online]. **280**(2) [cit. 2022-01-30]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.280.2.159

[201] Efficacy and Safety of Corticosteroids for Persistent Acute Respiratory Distress Syndrome. *New England Journal of Medicine* [online]. **354**(16), 1671-1684 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa051693

[202] MEIJVIS, Sabine CA, Hans HARDEMAN, Hilde HF REMMELTS, et al.

Dexamethasone and length of hospital stay in patients with community-acquired pneumonia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet* [online]. **377**(9782), 2023-2030 [cit. 2022-01-30]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(11)60607-7

[203] ANNANE, Djillali, Stephen M. PASTORES, Bram ROCHWERG, et al. Guidelines for the Diagnosis and Management of Critical Illness-Related Corticosteroid Insufficiency (CIRCI) in Critically Ill Patients (Part I). *Critical Care Medicine* [online]. **45**(12), 2078-2088 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/CCM.0000000000002737

[204] CECCATO, A., A. RUSSO, E. BARBETA, et al. Real-world corticosteroid use in severe pneumonia: a propensity-score-matched study. *Critical Care* [online]. **25**(1) [cit. 2022-01-30]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-021-03840-x

- [205] RECOVERY COLLABORATIVE GROUP, HORBY P, LIM WS, EMBERSON JR, MAFHAM M, BELL JL, LINSELL L, STAPLIN N, BRIGHTLING C, USTIANOWSKI A, ELMAHI E, PRUDON B, GREEN C, FELTON T, CHADWICK D, REGE K, FEGAN C, CHAPPELL LC, FAUST SN, JAKI T, JEFFERY K, MONTGOMERY A, ROWAN K, JUSZCZAK E, BAILLIE JK, HAYNES R, LANDRAY MJ. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *New England Journal of Medicine* [online]. **384**(8), 693-704 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa2021436
- [206] MALÁSKA, Jan, Jan STAŠEK, František DUŠKA, et al. Effect of dexamethasone in patients with ARDS and COVID-19 (REMED trial)-study protocol for a prospective, multi-centre, open-label, parallel-group, randomized controlled trial. *Trials* [online]. 2022, **23**(1), 35. Dostupné z: doi:10.1186/s13063-021-05963-6
- [207] RUSSELL, Lene, Kis Rønn UHRE, Ann Louise Syraach LINDGAARD, et al. Effect of 12 mg vs 6 mg of Dexamethasone on the Number of Days Alive Without Life Support in Adults With COVID-19 and Severe Hypoxemia. *JAMA* [online]. **326**(18) [cit. 2022-01-30]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2021.18295
- [208] GRANHOLM, Anders, Marie Warrer MUNCH, Sheila Nainan MYATRA, et al. Dexamethasone 12 mg versus 6 mg for patients with COVID-19 and severe hypoxaemia: a pre-planned, secondary Bayesian analysis of the COVID STEROID 2 trial. *Intensive Care Medicine* [online]. **48**(1), 45-55 [cit. 2022-01-30]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-021-06573-1
- [209] GRANHOLM, Anders, Marie Warrer MUNCH, Sheila Nainan MYATRA, et al. Higher vs Lower Doses of Dexamethasone in Patients with COVID-19 and Severe Hypoxia (COVID STEROID 2) trial: Protocol for a secondary Bayesian analysis. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* [online]. **65**(5), 702-710 [cit. 2022-01-31]. ISSN 0001-5172. Dostupné z: doi:10.1111/aas.13793

[210] WEBB, Steven A., Alisa M. HIGGINS a Colin J. MCARTHUR. Glucocorticoid Dose in COVID-19. *JAMA* [online]. **326**(18) [cit. 2022-01-30]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2021.16438

[211] MALÁSKA, Jan, Milan KRATOCHVÍL, Jan STAŠEK a Václav ZVONÍČEK. *Intenzivní medicína v praxi*. Praha: Maxdorf, [2020]. 711 s. Jessenius. ISBN 978-80-7345-675-7.

10. Komentář

Název práce: **Sepse, oběhové selhání a ARDS – epidemiologie, predikce a možnosti terapie.**

Habilitační práce je předkládána jako komentovaný soubor vybraných publikací.

Prvním tematickým okruhem této habilitační práce je epidemiologie sepse, tj. incidence a mortalita pacientů se sepsí a septický šokem v České republice, včetně deskripce reálného managementu. S cílem získání dat vznikla v roce 2011 výzkumná iniciativa EPOSS a tato unikátní data jsou prezentována, včetně popisu technického zajištění a metodologie získání dat.

Ve druhém tematickém okruhu věnuji pozornost dlouhodobým komplikacím pacientů, kteří přežijí ataku sepse nebo septického šoku. Speciálně se věnuji zrychlení vaskulární senescence a endoteliálního stárnutí se zaměřením na hypotézu týkající se zkrácení telomer. Zaměřuji se zejména na metodologické aspekty výzkumu telomer a telomerázy s použitím námi publikovaných prací se souborem dětských pacientů s leukemií a dospělých pacientů s kolorektálním karcinomem.

Třetí tematický okruh habilitační práce je věnován oběhovému selhání u septického a kardiogenního šoku. Myokardiální dysfunkce v sepsi do určité míry z hemodynamického pohledu spojuje septický a kardiogenní šok. Druhý společný rys a spojení je přítomnost syndromu systémové inflamatorní odpovědi u části pacientů v kardiogenním šoku. Na několika pracích je postupně představena role interleukinu-6, proinflamatorních cytokinů a markerů oxidativního stresu v patofyziologii a diskriminaci prognózy pacientů v kardiogenním a septickém šoku.

Čtvrtým a posledním tematickým okruhem habilitační práce je velice aktuální téma, které navazuje na výzkumné zaměření role inflamace u oběhového selhání, a to hyperinflamatorní

syndrom (cHIS, COVID-19 Associated Hyperinflammatory Syndrome) u onemocnění COVID-19 (Coronavirus Disease 2019), konkrétně ve formě orgánového postižení pod obrazem syndromu akutní respirační tísně (ARDS). Jsou zde představeny a komentovány data a patofyziologické předpoklady použití kortikosteroidů u pacientů s COVID-19 a rozvojem ARDS. V situaci nedostupných dat stran podávání vyšších dávek kortikosteroidů je v této indikaci představen protokol multicentrické, prospektivní, randomizované studie REMED, která zkoumá efektivitu podávání dvou různých dávek dexamethasonu.

11. Habilitation Thesis Abstract

Title: Sepsis, circulatory failure and ARDS – epidemiology, prediction and treatment options.

This habilitation thesis is a synthesis of previously published scholarly works and was divided into four separate parts.

The first part of habilitation thesis is dedicated to epidemiology of sepsis, e.g. to incidence and mortality of patients with sepsis and septic shock in Czech Republic including description of their real management. The research group EPOSS aiming to collect this data was initiated in 2011 and this unique data are presented including summary of technical and methodological issues.

The second part of the habilitation thesis is dedicated to long-term sequelae of patients surviving sepsis or septic shock with focus to the hypothesis of accelerated endothelial ageing and vascular senescence with special focus to the methodological issues regarding telomere and telomerase biology. The laboratory approaches are presented using our research data regarding telomere and telomerase research in the field of paediatric patients with leukaemia and adult patients with colorectal cancer.

The third part is devoted to circulatory failure in septic and cardiogenic shock. There is partial overlap of septic and cardiogenic shock through septic myocardial dysfunction. The second interconnection between septic and cardiogenic shock is development of systemic inflammatory response syndrome. The pathophysiological and prognostic roles of interleukin 6, proinflammatory cytokines and markers of oxidative stress in septic and cardiogenic shock are consecutively presented by using our published results.

The fourth and last part of this thesis is dedicated to very actual topic of hyperinflammatory syndrome (cHIS, COVID-19 Associated Hyperinflammatory Syndrome) in COVID-19

(Coronavirus Disease 2019). This syndrome is partially analogous to the inflammation within circulatory failure. Our research is now focused to the local organ inflammation of lungs, e.g. acute respiratory distress syndrome (ARDS). The data and pathophysiological premises for using of corticosteroids for COVID-19 patients with ARDS are discussed. The protocol for multicentre, prospective, randomized trial REMED that compares two different doses of dexamethasone is presented within the context of lacking data in the point of view of evidence-based medicine.

In total, 11 publications including research articles and reviews are listed. The applicant contribution to these publications is summarized in the following tables with special attention to the conceptualization of the study, project administration, data curation and manuscript preparation.

Please note: (-) means “not applicable” and concerns review articles.

[1]¹ UVIZL, Radovan, Milan ADAMUS, Vladimír CERNÝ, Ladislav DUSEK, Jiri JARKOVSKÝ, Vladimír SRAMEK, Martin MATEJOVIČ, Petr STOURAC, Roman KULA, **Jan MALÁSKA** **(corresponding author)** a Pavel SEVČÍK. Patient survival, predictive factors and disease course of severe sepsis in Czech intensive care units: A multicentre, retrospective, observational study. *Biomedical Papers-Olomouc* [online]. 2016, 160(2), 287–297. ISSN 1213-8118. Dostupné z: doi:[10.5507/bp.2015.052](https://doi.org/10.5507/bp.2015.052)
Document Type: Article, IF = 0,894; JCR Category + Category Quartile: MEDICINE, RESEARCH & EXPERIMENTAL Q4; AIS = 0,256

Conceptualization of the study (%)	Project administration (%)	Data curation (%)	Manuscript preparation (%)
70	70	50	30

[2] SCHWARZ, D., M. ADAMUS, V. ČERNÝ, L. DUŠEK, **J. MALÁSKA**, M. MATĚJOVIČ, M. SLEZÁK, P. ŠEVČÍK a V. ŠRÁMEK. EPOSS & sepsis-Q: Design and description of projects focused on monitoring of treatment, morbidity and mortality of patients with severe sepsis in the Czech Republic. *Anesteziologie a Intenzivní Medicina*. 2013, 24(4), 240–249.
Document Type: Article; SJR = 0,122; Category: ANESTHESIOLOGY Q4 + CRITICAL CARE Q4

¹ Bibliographic record of a published scientific result, which is part of the habilitation thesis.

Conceptualization of the study (%)	Project administration (%)	Data curation (%)	Manuscript preparation (%)
30	60	50	30

[3] **MALASKA, J.**, M. SKLENICKOVA, K. KREJCI, L. FAJKUSOVA, M. BAJER, H. HRSTKOVA a J. FAJKUS. Telomerase activity and expression and telomere analysis in situ in the course of treatment of childhood leukemias. *Blood Cells Molecules and Diseases* [online]. 2000, 26(5), 534–539. ISSN 1079-9796. Dostupné z: doi:[10.1006/bcmd.2000.0332](https://doi.org/10.1006/bcmd.2000.0332)
Document Type: Article, IF = 2,897; JCR Category + Category Quartile: HEMATOLOGY Q1, AIS = 0

Experimental work (%)	Project administration (%)	Data curation (%)	Manuscript preparation (%)
80	20	50	60

[4] **MALASKA, J.**, Z. KUNICKA, M. BORSKY, M. SKLENICKOVA, M. NOVOTNA, L. FAJKUSOVA, J. ZALOUDIK a J. FAJKUS. Telomerase as a diagnostic and predictive marker in colorectal carcinoma. *Neoplasma*. 2004, 51(2), 90–96. ISSN 0028-2685.
Document Type: Article, IF = 0,822; JCR Category + Category Quartile: ONCOLOGY Q4; AIS = 0

Experimental work (%)	Project administration (%)	Data curation (%)	Manuscript preparation (%)
50	40	50	50

[5] **MALÁSKA, J.**, M. SLEZÁK, K. MURIOVÁ, J. STAŠEK a P. ŠEVČÍK. Myocardial dysfunction in sepsis - Diagnostics and therapy. *Vnitřní Lekarství*. 2010, 56(3), 226–232.
Document Type: Review, SJR = 0,135; Category: MEDICINE Q3

Conceptualization of the study (%)	Project administration (%)	Data curation (%)	Manuscript preparation (%)
-	-	-	90

[6] **PAŘENICA, J., J. MALÁSKA *(corresponding author)***, J. JARKOVSKÝ, K. HELÁNOVÁ, P. JABANDŽIEV, J. MICHÁLEK, Z. VESELKOVÁ, S. LITTNEROVÁ, L. KUBKOVÁ, R. GÁL, P. ŠEVČÍK, M.P. GOLDBERGOVÁ, J. LITZMAN, Z. ČERMÁKOVÁ a J. ŠPINAR. Dynamics of interleukin 6 levels in the patients with cardiogenic and septic shock and in a control group of patients with uncomplicated AMI. *Vnitřní Lekarství*. 2014, 60(2), 114–122.
Document Type: Article; SJR = 0,138; Category: MEDICINE Q4

Conceptualization of the study (%)	Project administration (%)	Data curation (%)	Manuscript preparation (%)
40	30	30	30

[7] **PARENICA, Jiri, Jiri JARKOVSKY, Jan MALASKA, Alexandre MEBAZAA, Jana GOTTWALDOVA, Katerina HELANOVA, Jiri LITZMAN, Milan DASTYCH, Josef**

TOMANDL, Jindrich SPINAR, Ludmila DOSTALOVA, Petr LOKAJ, Marie TOMANDLOVA, Monika Goldergova PAVKOVA, Pavel SEVCIK a Matthieu LEGRAND. Infectious Complications and Immune/Inflammatory Response in Cardiogenic Shock Patients: A Prospective Observational Study. *Shock* [online]. 2017, **47**(2), 165–174. ISSN 1073-2322. Dostupné z: doi:[10.1097/SHK.0000000000000756](https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000756)

Document Type: Article, IF = 3,005; JCR Category + Category Quartile: CRITICAL CARE MEDICINE Q2 + HEMATOLOGY Q2 + PERIPHERAL VASCULAR DISEASE Q2 + SURGERY Q1; AIS = 0,968

Conceptualization of the study (%)	Project administration (%)	Data curation (%)	Manuscript preparation (%)
30	30	30	20

[8] PARENICA, Jiri, Jan MALASKA, Jiri JARKOVSKY, Jolana LIPKOVA, Milan DASTYCH, Katerina HELANOVA, Jiri LITZMAN, Josef TOMANDL, Simona LITTNEROVA, Jana SEVCIKOVA, Roman GAL, Pavel SEVCIK, Jindrich SPINAR a Monika Pavkova GOLDBERGOVA. Soluble ST2 levels in patients with cardiogenic and septic shock are not predictors of mortality. *Experimental & Clinical Cardiology*. 2012, **17**(4), 205–209.

Document Type: Article, IF = 1,100; JCR Category + Category Quartile: CARDIAC & CARDIOVASCULAR SYSTEMS Q4; AIS = 0

Conceptualization of the study (%)	Project administration (%)	Data curation (%)	Manuscript preparation (%)
40	30	30	20

[9] TOMANDLOVA, Marie, Jiri PARENICA, Petr LOKAJ, Tomas ONDRUS, Petr KALA, Marie MIKLIKOVA, Katerina HELANOVA, Martin HELAN, Jan MALASKA, Klara BENESOVA, Jiri JARKOVSKY, Monika Pavkova GOLDBERGOVA a Josef TOMANDL. Prognostic value of oxidative stress in patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock: A prospective cohort study. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 2021, **174**, 66–72. ISSN 0891-5849. Dostupné z: doi:[10.1016/j.freeradbiomed.2021.07.040](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.07.040)

Document Type: Article, IF = 7,376; JCR Category + Category Quartile: BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY Q1 + ENDOCRINOLOGY & METABOLISM Q1; AIS = 1,566 (data from 2020)

Conceptualization of the study (%)	Project administration (%)	Data curation (%)	Manuscript preparation (%)
10	10	20	10

[10] KELLER, F., V. KOCI, K. RIHAKOVA, J. MALASKA a J. STASEK. Systemic corticosteroids in the management of covid-19 ARDS. *Anesteziologie a Intenzivni Medicina*. 2021, **32**(3), 150–155. ISSN 1214-2158.

Document Type: Article, (data from 2020)

Conceptualization of the study (%)	Project administration (%)	Data curation (%)	Manuscript preparation (%)
-	-	-	30

[111] MALASKA, Jan, Jan STASEK, Frantisek DUSKA, Martin BALIK, Jan MACA, Jan HRUDA, Tomas VYMAZAL, Olga KLEMENTOVA, Jan ZATLOUKAL, Tomas GABRHELIK, Pavel NOVOTNY, Regina DEMLOVA, Jana KUBATOVA, Jana VINKLEROVA, Adam SVOBODNIK, Milan KRATOCHVIL, Jozef KLUCKA, Roman GAL a Mervyn SINGER. Effect of dexamethasone in patients with ARDS and COVID-19 (REMED trial)-study protocol for a prospective, multi-centre, open-label, parallel-group, randomized controlled trial. *Trials* [online]. 2022, **23**(1), 35. Dostupné z: doi:[10.1186/s13063-021-05963-6](https://doi.org/10.1186/s13063-021-05963-6)

Document Type: Article, IF = 2,279; Quartile by IF = MEDICINE, RESEARCH & EXPERIMENTAL Q4; Quartile by AIS = Q2 (data from 2020)

Conceptualization of the study (%)	Project administration (%)	Data curation (%)	Manuscript preparation (%)
70	80	-	90