

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



Mírná léčebná hypotermie a oxidativní stres po srdeční zástavě

Mild therapeutical hypothermia and oxidative stress after cardiac arrest

MUDr. Andreas Krüger

Praha 2016

Doktorské studijní programy v biomedicině

Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

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

Školící pracoviště: Nemocnice Na Homolce, Roentgenova 3, Praha 5, 150 30

Školitel: Doc. MUDr. Petr Ošťádal Ph.D.

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

1. ÚVOD.....	7
2. HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE.....	9
2.1. Experimentální část.....	9
2.2. Klinická část.....	9
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST DISERTAČNÍ PRÁCE	
3.1. Srovnání vlivu mírné hypotermie a řízené normotermie na udržení krevního tlaku, mozkovou oxymetrii, prevenci orgánového poškození a oxidativní stres po srdeční zástavě na prasečím modelu	
3.1.1. Úvod.....	10
3.1.2. Metody a protokol.....	10
3.1.3. Výsledky.....	12
3.1.4. Diskuse.....	13
3.1.5. Závěr.....	15
3.2. Účinky ischemického postconditioningu a podání oxidu dusnatého na zvířecím modelu extrakorporální kardiopulmonální resuscitace	
3.2.1. Úvod.....	16
3.2.2. Metody a protokol.....	17
3.2.3. Výsledky.....	18
3.2.4. Diskuse.....	19
3.2.5. Závěr.....	21
4. KLINICKÁ ČÁST DISERTAČNÍ PRÁCE	
4.1. Stanovení hodnot nitrotyrosinu a nitritů/nitrátů u nemocných po oběhové zástavě, léčených mírnou terapeutickou hypotermií	
4.1.1. Úvod.....	22
4.1.2. Metody a protokol.....	22
4.1.3. Výsledky.....	23
4.1.4. Diskuse.....	24
4.1.5. Závěr.....	25
5. SOUHRN VÝSLEDKŮ PRÁCE.....	26

6. LITERATURA.....	27
7. PUBLIKACE AUTORA	
7.1. Publikace in extenso, které jsou podkladem disertace s IF.....	34
7.2. Publikace in extenso bez vztahu k tématu disertace s IF.....	34
7.3. Publikace in extenso bez vztahu k tématu disertace bez IF.....	35

ABSTRAKT

Úspěšná kardiopulmonální resuscitace a obnovení spontánní cirkulace po srdeční zástavě je zcela nezbytným krokem k záchraně života; povšechná ischemie během oběhové zástavy však vede k aktivaci celé řady procesů, které mohou způsobit další poškození. Jedním z klíčových patogenetických pochodů, odpovědných za ischemicko-reperfuze poškození, je oxidativní stres. Současná evidence o možné účasti oxidativního stresu v patogeneze poresuscitačního syndromu je však zcela nedostatečná.

V naší práci jsme testovali následující hypotézy: (i) ischemicko-reperfuze poškození při srdeční zástavě je provázáno oxidativním stresem a (ii) mírná léčebná hypotermie snižuje oxidativní stres.

V experimentální části na zvířecím modelu oběhové zástavy jsme posuzovali účinky hypotermie a normotermie na hemodynamické parametry, na známky orgánového poškození a na ovlivnění oxidativního stresu. Dále jsme srovnávali účinky hypotermie, ischemického postconditioningu a podání oxidu dusnatého při extrakorporální kardiopulmonální resuscitaci. Zjistili jsme, že mírná hypotermie působí protektivně na sledované parametry a snižuje oxidativní stres jak ve srovnání s normotermií, tak alespoň v některých hodnotách i ve srovnání s ischemickým postconditioningem a oxidem dusnatým.

V klinické části byl hodnocen oxidativní stres a produkce oxidu dusnatého u pacientů po oběhové zástavě na umělé plicní ventilaci, kteří byli léčeni endovaskulárně řízenou mírnou hypotermií. Hypotermie v této studii snižovala hladinu produktů oxidativního stresu a tvorbu oxidu dusnatého.

Naše práce potvrzuje hypotézy, že poresuscitační syndrom je provázán oxidativním stresem a že mírná léčebná hypotermie zmenšuje oxidativní stres po srdeční zástavě.

Klíčová slova: oběhová zástava, poresuscitační syndrom, mírná hypotermie, oxidativní stres

ABSTRACT

Successful cardiopulmonary resuscitation is an essential life-saving tool; nevertheless, general ischemia during cardiac arrest may trigger different pathways that could turn even into a fatal damage; this condition is called post-cardiac arrest syndrome. It has been repeatedly shown that oxidative stress (OS) plays one of the key roles in the development of ischemia-reperfusion injury. However, current evidence on the possible participation of OS in the pathogenesis of post-cardiac arrest syndrome is insufficient.

We tested following hypotheses: (i) ischaemia-reperfusion injury after cardiac arrest is accompanied by OS and (ii) mild therapeutical hypothermia decreases OS cardiac arrest.

In the experimental part of our work we studied the effects of hypothermia and normothermia on hemodynamic parameters, markers of organ damage and on the OS burden in porcine model of cardiac arrest. Furthermore, we compared the effects of hypothermia with ischaemic postconditioning and nitric oxide administration in the porcine model of extracorporeal cardiopulmonary resuscitation. We found protective effects of hypothermia on all major endpoints including OS in comparison with normothermia; moreover, hypothermia improved also selected variables compared to ischemic postconditioning and nitric oxide.

In the clinical part we evaluated OS burden and nitric oxide production in patients after cardiac arrest treated by endovascular mild hypothermia. During hypothermia we observed lower levels of OS metabolites and decreased nitric oxide production.

Our results revealed that post-cardiac arrest syndrome is accompanied by OS and that mild therapeutic hypothermia decreases OS burden.

Keywords: Cardiac arrest, Post-cardiac arrest syndrom, Mild therapeutical hypotermia, Oxidative stress.

1. ÚVOD

K srdeční zástavě mimo nemocnici dochází u 35-90 jedinců na 100 000 obyvatel za rok, srdeční zástava v nemocnici nastane ročně v 1-5 z 1000 hospitalizací. Zcela nezbytným krokem k záchraně života po srdeční zástavě je úspěšná kardiopulmonální resuscitace a obnovení spontánní cirkulace. Vysoká úmrtnost pacientů, ke které, bohužel, po obnovení cirkulace dochází, je způsobena zvláštním patofyziologickým procesem, který vede k poškození mnoha orgánů, tzv. ischemicko-reperfusním poškozením. Tento stav bývá v klinické praxi označován jako „poresuscitační syndrom“ nebo též jako „post-cardiac arrest syndrome (PCAS)“. Patofyziologické pochody, podílející se na PCAS, zahrnují 4 klíčové komponenty: (i) poškození mozku, (ii) dysfunkci myokardu, (iii) systémovou ischemicko-reperfusní reakci a (iv) persistující základní onemocnění. Závažnost těchto stavů po obnovení cirkulace se u jednotlivých nemocných liší a závisí na intenzitě ischemického poškození, na příčině srdeční zástavy a předchozím stavu pacienta. V posledních letech bylo vyvinuto značné úsilí na zlepšení výsledků léčby nemocných po srdeční zástavě, většina testovaných terapeutických intervencí však nebyla doprovázena zlepšením výsledků léčby. Jeden z mála postupů, u kterých bylo prokázáno, že zlepšují prognózu pacientů po srdeční zástavě, je mírná hypotermie.

Jak již bylo uvedeno, obnovení cirkulace je neúčinnější a v současné době základní přístup v léčbě ischemických stavů. Není pochyb o tom, že úspěšná reperfuze je v rukou kardiologů či kardiochirurgů často život zachraňujícím nástrojem. Experimentální i klinické studie však prokázaly, že obnovení cirkulace může prohloubit orgánové poškození, které vzniká v důsledku ischémie. Tuto skutečnost poprvé popsali Jennings a kol. již v roce 1960. Koncepce reperfuzního poškození pak byla vytvořena v roce 1983, kdy Rosenkranz a Buckberg definovali tento fenomén jako „...ty metabolické, funkční a strukturální důsledky obnovení krevního průtoku, kterým může být zabráněno modifikací podmínek reperfuze“. Park a Lucchesi označili tento proces jako „odumření buněk, přeživších období ischémie, jako důsledek více dějů iniciovaných reperfuzí“; to vedlo ke dnes všeobecně přijímanému označení tohoto

fenoménu jako „ischemicko-reperfuzní poškození“. Obnovení průtoku totiž nepřináší jenom kyslík a živiny, nutné pro přežití buněk, nýbrž také faktory, které mohou ischemické buňky dále poškodit. Tento proces zahrnuje vznik arytmií, uvolnění enzymů, závažné hemorrhagie a konečně i buněčnou smrt. Rozsah reperfuzního poškození koreluje s dobou trvání ischemie. Potencionálně nebezpečné faktory mohou být rozděleny do tří, úzce souvisejících skupin: (i) faktory, které jsou užitečné či dokonce esenciální pro zdravé buňky, ale mohou poškodit buňky alterované ischemií (re-energizace, prudká normalizace pH, prudká normalizace osmolality); (ii) faktory, škodlivé v přebytku nebo při defektu buněčných obranných systémů (volné radikály, proteázy); (iii) faktory, aktivované změnami vyvolanými ischemií, a tedy působící selektivně v poškozené tkáni (zánětlivé mechanizmy). Příznivé ovlivnění ischemicko-reperfuzního poškození je rozhodující pro další osud pacienta..

Z analýzy dostupné literatury vyplývá, že na vzniku ischemicko-reperfuzního poškození se podílejí kyslíkové radikály, vznikající na začátku reperfuze. Na různých zvířecích modelech se opakovaně ukázalo, že hypotermie inhibuje tvorbu volných radikálů, snižuje peroxidaci lipidů a ochraňuje jadernou DNA před přímým poškozením reaktivními formami kyslíku a fragmentací. Jak jsme se však také opakovaně přesvědčili, přenos poznatků o oxidativním stresu a možnostech jeho ovlivnění ze zvířecích modelů na člověka byl téměř vždy z klinického hlediska zklamáním. Doposud máme k dispozici pouze velmi omezené literární údaje o ovlivnění oxidativního stresu hypotermií v klinických studiích a zatím nebyla publikovaná žádná práce, zabývající se vlivem mírné hypotermie na oxidativní stres u nemocných po srdeční zástavě, přestože tato metoda je indikovaná a široce používaná právě u úspěšně resuscitovaných nemocných.

2. HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE

Testovali jsme následující hypotézy:

1. Ischemicko-reperfuzní poškození při srdeční zástavě je provázáno oxidativním stresem.
2. Mírná léčebná hypotermie po srdeční zástavě snižuje oxidativní stres.

2.1. Experimentální část

Na experimentálním modelu (prase, *Sus scrofa domestica*) byly posuzovány protektivní účinky hypotermie (33° C). Hodnoceny byly hemodynamické parametry (krevní tlak, mozková oxymetrie), hodnoty kreatinfosfokinázy, troponinu I, myoglobinu, neuronspecifické enolázy, reaktivních metabolitů kyslíku a biologického antioxidačního potenciálu.

2.2. Klinická část

U nemocných po oběhové zástavě mimo nemocnici byl hodnocen oxidativní stres a produkce NO. Nemocným na umělé plicní ventilaci v hluboké analgosedaci byla v souladu s doporučenými postupy nastolena řízená hypotermie (33° C) pomocí endovaskulárního chladicího katetru Thermogard XP (Alsius, USA). Hypotermie byla udržována po dobu 24 hod., poté proběhl řízený ohřev o 0,15 °C/hod na cílovou teplotu 36,8 °C. Hodnoceny byly hladiny nitrotyrosinu a nitrátů/nitritů v pravidelných časových intervalech.

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST DISERTAČNÍ PRÁCE

3.1. Srovnání vlivu mírné hypotermie a řízené normotermie na udržení krevního tlaku, mozkovou oxymetrii, prevenci orgánového poškození a oxidativní stres po srdeční zástavě na prasečím modelu

3.1.1. Úvod

Přestože oxidativní stres hraje pravděpodobně jednu z klíčových rolí v patogeneze ischemicko-reperfuzního poškození a lze předpokládat jeho účast v rozvoji poresuscitačního syndromu, doposud bylo publikováno jen velmi málo prací, které se touto problematikou zabývaly. Stejně tak není jasné, zda příznivé účinky hypotermie, která představuje standardní léčebnou strategii po srdeční zástavě, jsou spojeny také s ovlivněním oxidativního stresu.

Cílem této práce bylo porovnat účinky mírné terapeutické hypotermie a kontrolované normotermie na zvířecím modelu. Na prasečím modelu oběhové zástavy jsme testovali hypotézu, že hypotermie je účinnější než kontrolovaná normotermie v udržení krevního tlaku, mozkového okysličení, resuscitability, prevenci poškození orgánů a v potlačení oxidativního stresu.

3.1.2. Metody a protokol

Do naší studie jsme zařadili 8 prasečích samic (*Sus scrofa domestica*), tělesné hmotnosti 45kg, stáří 4-5 měsíců. Zvířata byla náhodně rozdělena do skupiny hypotermie (HT) a normotermie (NT), v každé skupině byla 4 zvířata.

Arteriální tlak byl měřen invazivně pomocí pigtail katetru, umístěného v oblouku aorty. Swan-Ganzův katetr byl zaveden přes femorální žílu do plicnicové tepny. Kontinuálně bylo u všech zvířat monitorováno EKG, invazivně tlaky v oblouku aorty a v jugulární žíle, pulzní oxymetrie, kapnometrie, teplota tělesného jádra (plicní tepna) a invazivně saturace kyslíku v plicnicové tepn. Saturace hemoglobinu

v kapilární krvi mozkové kůry byla měřena na principu NIRS (near-infrared spectroscopy).

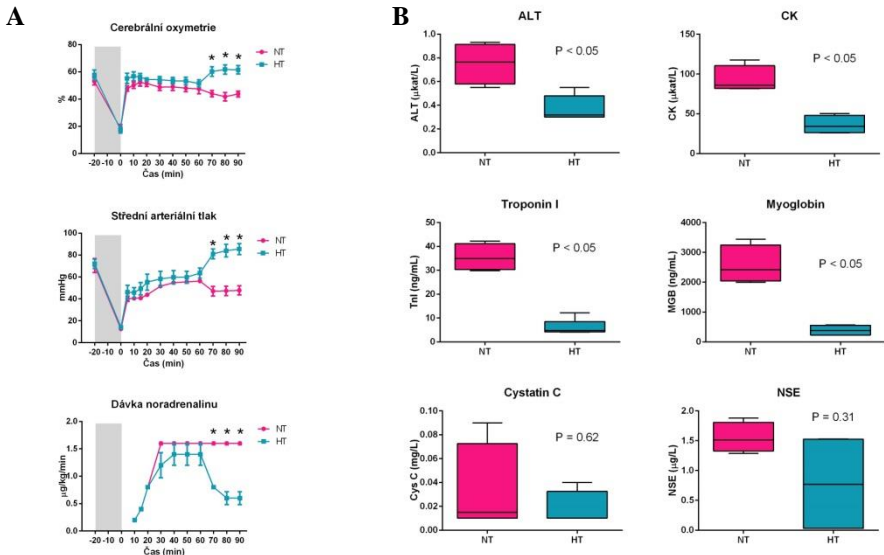
Systém extrakorporální membránové oxygenace (ECMO) byl složen z centrifugální pumpy a oxygenátoru. Vlastní kanyly systému pro mimotělní oběh jsme zavedli perkutánně Seldingerovskou technikou po dilatacích ve veno-arteriální konfiguraci cestou femorálních cév. Žilní nasávací kanyla byla zavedena přes femorální žílu a dolní dutou žílu až do pravé síně (správná pozice byla dokumentována fluoroskopicky). Arteriální kanyla byla zavedena cestou femorální tepny. Teplotu tělesného jádra jsme regulovali pomocí tepelného výměníku, připojeného na oxygenátor. Během fáze neléčené srdeční zástavy jsme rychlost krevní pumpy nastavili na 0.5 l/min a průtok plynů v oxygenátoru byl zastaven. Během reperfuze po ukončení srdeční zástavy byla krevní pumpa nastavena na 4.5 l/min a průtok plynů byl nastaven a upravován s cílem udržet cílovou hodnotu pO_2 10-15 kPa a pCO_2 4.0-6.5 kPa.

Po zavedení všech katetrů a spuštění ECMO byla zvířata stabilizována po dobu 10 min. Následně jsme navodili oběhovou zástavu – fibrilaci komor. Oběhovou zástavu jsme udržovali po dobu 20 min, než došlo k obnovení oběhu zvýšením průtoku ECMO na 4.5 l/min. Po 60 min reperfuze následovaly až tři pokusy o defibrilaci (300–360–360 J) a zvířata byla sledována po dobu dalších 30 min. Zvířata byla randomizována do dvou skupin hypotermie (HT) nebo normotermie (NT); teplota jádra byla ve skupině HT udržována na úrovni 33°C a ve skupině NT na 36.8°C.

Vzorky krve byly odebírány po 90 min reperfuze a okamžitě centrifugovány. Sérum se uchovávalo zchladené při teplotě -70°C až do doby měření troponinu I (TnI), myoglobinu (MGB), kreatinkinázy (CK), alanin-aminotransferázy (ALT), neuron-spezifické enolázy (NSE) a cystatinu C (CysC). Před oběhovou zástavou byly stanovovány hladiny reaktivních metabolitů kyslíku (ROM) a biologický antioxygenační potenciál (BAP). Tato měření byla opakována 1 min po obnově cirkulace a dále po 30, 60 a 90 min od reperfuze. ROM a BAP test byl bezprostředně zpracován a vyhodnocen.

3.1.3. Výsledky

Vstupní hodnoty krevního tlaku a mozkové oxymetrie se nelišily a sledované parametry byly srovnatelné také po dobu prvních 60 min reperfuze. V 70., 80. a 90. min byly střední arteriální tlak a hodnota mozkové saturace významně vyšší a zároveň dávky noradrenalinu nižší ve skupině HT ($P < 0.05$). Defibrilace byla úspěšná u všech zvířat ve skupině HT, ale pouze u jednoho ve skupině NT ($P > 0.05$).

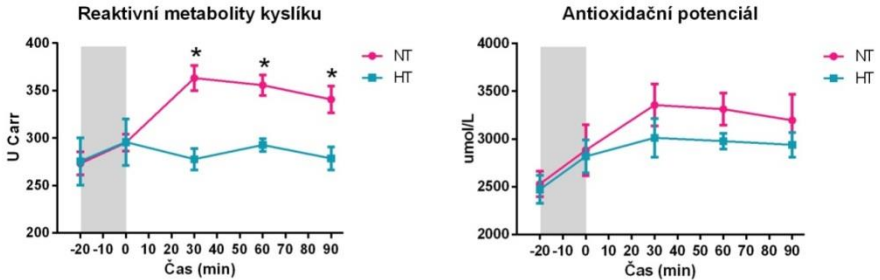


Obrázek 1. A Hodnoty cerebrální oxymetrie, středního arteriálního tlaku a dávky noradrenalinu, vyjádřené jako medián (min; max). *NT* - normotermie; *HT* - hypotermie.

B Hladiny biochemických parametrů orgánového poškození. Hodnoty vyjádřené jako medián (min; max). *NT* - normotermie; *HT* - hypotermie; *ALT* - alanin-aminotransferáza, *CK* - kreatininkáza, *NSE* - neuron-specifická enoláza.

Laboratorní parametry byly analyzovány ze vzorků krve, získaných v 90. min reperfuze. Hodnoty ALT, CK, MGB a TnI byly významně nižší ve skupině HT ve srovnání s NT skupinou (ALT: 0.36 (0.30; 0.55) vs. 0.79 (0.65; 1.27) $\mu\text{kat/L}$, $P < 0.05$; CK: 34.2 (26.0; 50.29) vs. 86.0 (81.6; 117.8) $\mu\text{kat/L}$, $P < 0.05$; MGB: 379.8 (225.3; 566.0) vs. 2423.0 (1995.0; 3442.0) ng/L, $P < 0.05$; TnI: 4.8 (4.0; 12.2) vs. 35.0 (29.8;

42.2) ng/L, $P < 0.05$). Hladiny CysC a NSE se významně nelišily (Cys C: 0.01 (0.01; 0.04) vs. 0.02 (0.01; 0.09) ng/L, $P = 0.62$; NSE: 0.77 (0.03; 1.53) vs. 1.52 (1.29; 1.88) ng/L, $P = 0.31$) (obr. 1).



Obrázek 2. Hladiny parametrů oxidativního stresu. Hodnoty vyjádřené jako medián (min; max). NT - normotermie; HT - hypotermie.

Hodnoty ROM testu odebrané před a bezprostředně po oběhové zástavě byly srovnatelné ve skupině HT a NT, ale ve 30., 60. a 90. min reperfuze byly ve skupině HT významně nižší. Hladiny BAP byly srovnatelné ve skupině HT a NT ve všech měřeních (obr. 2).

3.1.4. Diskuse

Hlavním originálním výsledkem této studie je zjištění, že mírná terapeutická HT (33°C) je ve srovnání s kontrolovanou NT (36.8°C) významně účinnější v udržení hodnoty krevního tlaku, mozkové oxygenace, v protekci orgánového poškození a v potlačení oxidativního stresu po oběhové zástavě.

Údaje o příznivém účinku mírné terapeutické hypotermie v léčbě nemocných po oběhové zástavě jsou zatím stále nedostatečné. V kontrolních skupinách klinických studií, které testovaly účinnost hypotermie, často docházelo ke spontánní hypertermii, která se považuje za prokázaný významný rizikový faktor. K dnešnímu dni bylo publikováno jen několik málo prací, které srovnávaly mírnou terapeutickou hypotermii s kontrolovanou normotermií po srdeční zástavě. Jia a kol. na modelu resuscitované

zástavy u laboratorního potkana zjistili častější výboje, následované dřívějším obnovením kontinuální aktivity na EEG a menší neurologický deficit u potkanů, léčených mírnou terapeutickou hypotermií ve srovnání s normotermií či hypertermií. Hörburger a kol. v retrospektivním pozorování popsali, že terapeutická hypotermie je spojena s významným zlepšením neurologického výsledku a s lepším 180 denním přežitím ve srovnání se spontánní normotermií u pacientů po oběhové zástavě mimo nemocnici.

Tyto práce jsou v souladu s výsledky naší studie. Zjistili jsme, že zvířata v HT měla vyšší hodnoty krevního tlaku, lepší oxygenaci mozku a nižší spotřebou noradrenalinu. Tyto rozdíly však dosáhly statistické významnosti pouze během posledních 30 min reperfuze po úspěšné defibrilaci u všech zvířat ve skupině HT. Hemodynamicky účinný srdeční rytmus byl však obnoven pouze u jednoho ze čtyř normotermických prasat. Přestože výsledky úspěšné defibrilace se významně nelišily, je možné, že vyšší hodnoty krevního tlaku a mozkové saturace v hypotermické skupině byly ovlivněny častější úspěšnou resuscitací. Navíc rozdíly krevního tlaku mezi HT a NT zvířaty mohly být ovlivněny také pokračováním kontinuální ECMO podpory, bez ohledu na výsledek defibrilace. Na druhé straně krevní tlak, tkáňová saturace, spotřeba vazopresorů a srdeční rytmus jsou závislé parametry. Proto je z klinického hlediska obtížné spekulovat, který z těchto faktorů hraje větší roli. Za zmínku stojí, že číselná hodnota krevního tlaku na jediném NT zvířeti po úspěšné defibrilaci byla o 10 mmHg nižší i přes vyšší dávku noradrenalinu než odpovídající hodnoty u všech hypotermických prasat.

Pozorovali jsme také nižší hladiny TnI, CK, MBG a ALT ve skupině HT, což ukazuje na protektivní účinek hypotermie na myokard, kosterní sval a jaterní buňky. Hladiny CysC a NSE, ukazatelé poškození ledvin a mozku, byly srovnatelné v hypotermické a normotermické skupině zvířat. Nicméně tyto parametry se blížily spodní hranici detekce v obou skupinách. Můžeme předpokládat, že 90 min reperfuze je příliš krátká doba k uvolnění těchto molekul do krevního oběhu.

Nižší hladiny ROM v průběhu reperfuze ve skupině HT, společně se srovnatelnými hladinami BAP mezi skupinami, ukazují, že tvorba reaktivních forem kyslíku je hypotermií potlačena a oxidativní stres je proto při hypotermii menší ve srovnání s normotermií. Tyto výsledky jsou v souladu s naším předchozím pozorováním v klinické studii, kde aplikace mírné hypotermie u nemocných po oběhové zástavě byla spojena se sníženou tvorbou nitrotyrosinu a oxidu dusnatého.

Až po publikaci naší studie byly prezentovány výsledky klinické studie Target Temperature Management (TTM, Nielsen a kol.), ve který nebyl pozorován rozdíl v přežívání s dobrým neurologickým výsledkem mezi mírnou hypotermií a kontrolovanou normotermií u jedinců po srdeční zástavě. Tyto výsledky jsou tedy v přímém rozporu s naším pozorováním. Je však třeba zmínit, že výsledky TTM nejsou všeobecně přijímány, především vzhledem k ne zcela běžné a pravděpodobně výrazně selektované populaci či suboptimálně prováděné hypotermii, zahajované s velkým odstupem od obnovení oběhu.

Naše studie má několik omezení. Do každé skupiny jsme zařadili pouze čtyři zvířata, která byla sledována jen devadesát minut po srdeční zástavě. Také obnovení průtoku krve za použití V-A ECMO v klinických podmínkách není zcela běžným postupem, i když se stále častěji používá u refrakterní srdeční zástavy v rámci tzv. extrakorporální kardiopulmonální resuscitace. Nicméně s použitím ECMO jsme minimalizovali variabilitu krevního průtoku po resuscitaci, a zajistili "úspěšnou" obnovu oběhu u všech zvířat.

3.1.5. Závěr

Výsledky této studie ukazují, že mírná hypotermie (33°C) je účinnější než kontrolovaná normotermie (36.8°C) v udržení hladiny krevního tlaku a mozkové saturace, v prevenci orgánového poškození a potlačení oxidativního stresu po oběhové zástavě.

3.2. Účinky ischemického postconditioningu a podání oxidu dusnatého na zvířecím modelu extrakorporální kardiopulmonální resuscitace

3.2.1. Úvod

Extrakorporální kardiopulmonální resuscitace (ECPR) představuje terapeutickou možnost řešení tak závažného stavu jakým je refrakterní oběhová zástava. Přeživší nemocní mají i po obnově cirkulace špatnou prognózu. Globální ischemie během zástavy oběhu spouští závažné patologické cesty, které mohou dále zhoršovat ischemické postižení především po reperfuzi. Ischemicko-reperfuzní postižení vede k rozvoji poresuscitačního syndromu, který je zodpovědný za další poškození tkání, často s fatálním koncem. K dnešnímu dni je prokázáno, že pouze protektivní intervence v podobě cílené terapeutické hypotermie či kontrolované normotermie může redukovat poresuscitační poškození. Během posledních let bylo navrženo několik dalších intervencí k ovlivnění ischemicko-reperfuzního postižení, které zahrnují ischemický postconditioning (IPC) a podání oxidu dusnatého (NO).

IPC zahrnuje několik krátkých epizod ischemie během reperfuze, následující prolongovaný ischemický infarkt. Pilotní studie Staata a kol. prokázala, že IPC efektivně snižuje poškození myokardu a zlepšuje prognózu pacientů s akutním infarktem myokardu. Rovněž bylo prokázáno, že IPC může na zvířecím modelu zvrátit fibrilaci komor na sinusový rytmus.

NO je molekula, která se účastní mnoha fyziologických signálních cest, které zodpovídají mimo jiné za vazodilataci. NO je in vivo produkován NO syntázami (NOS1, NOS2 a NOS3). Bylo prokázáno, že NO snižuje ischemicko-reperfuzní poškození orgánů. Nadprodukce NOS3 v endoteliálních buňkách nebo kardiomyocytech snižuje ischemicko-reperfuzní poškození srdce, zatímco deficit NOS3 zhoršuje stunning myokardu, který byl ischemicko-reperfuzním poškozením vyvolán.

Na základě příznivého vlivu IPC i NO na ischemicko-reperfuzní poškození, který byl potvrzen experimentálními studiemi, byly tyto intervence navrženy jako

možné protektivní metody léčby poresuscitačního syndromu. Doposud však schází data, která by se týkala účinku ICP a NO na výsledky ECPR.

Cílem naší studie bylo srovnání efektu IPC a podání NO s mírnou hypotermií na zvířecím modelu.

3.2.2. Metody a protokol

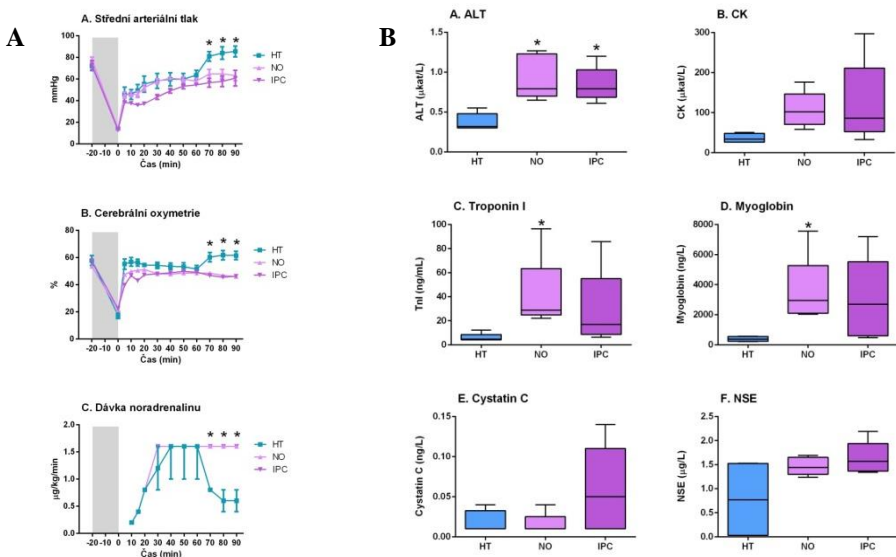
Do této studie jsme zařadili 15 prasat samic (*Sus scrofa domestica*), tělesné hmotnosti 45kg, stáří 4-5 měsíců. Zvířata byla náhodně rozdělena do třech skupin, v každé skupině bylo 5 zvířat.

Po zavedení všech katetrů a spuštění ECMO byla zvířata stabilizována po dobu 10 min. Následně jsme navodili oběhovou zástavu - fibrilaci komor. Oběhovou zástavu jsme udržovali po dobu 20 min, než došlo k obnovení oběhu zvýšením průtoku ECMO na 4.5 l/min. Po 60 min reperfuze následovaly až tři pokusy o defibrilaci (300–360–360 J) a zvířata byla sledována po dobu dalších 30 min. Zvířata byla randomizována do třech skupin: hypotermie (HT), oxid dusnatý (NO) a ischemický postconditioning (IPC). Ve skupině HT byla zvířata ihned po obnovení krevního oběhu ochlazována na cílovou teplotu tělesného jádra 33°C; cílové teploty bylo dosaženo do 5 min. u všech zvířat a tato teplota byla dále udržována až do ukončení pokusu pomocí teplotního výměníku, napojeného na oxygenátor. V NO skupině byl přidáván oxid dusnatý v koncentraci 80 ppm do směsi plynů, přiváděné do oxygenátoru po celou dobu reperfuze. Ve skupině IPC zvířata podstoupila tři cykly třiminutové globální ischemie, následované třiminutovou reperfuzí okamžitě po obnovení oběhu

Vzorky krve byly odebírány po 90 min reperfuze a okamžitě centrifugovány. Sérum se uchovávalo zchladené při teplotě -70°C až do doby měření troponinu I (TnI), myoglobinu (MGB), kreatinkinázy (CK), alanin-aminotransferázy (ALT), neuron-specifické enolázy (NSE) a cystatinu C (CysC). Před oběhovou zástavou byly stanovovány hladiny reaktivních metabolitů kyslíku (ROM). Tato měření byla opakována 1 min po obnově cirkulace a dále po 30, 60 a 90 min. od reperfuze.

3.2.3. Výsledky

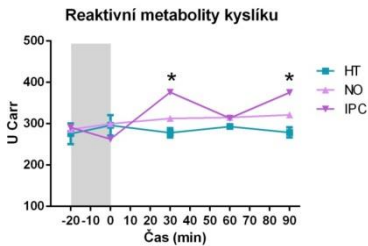
Vstupní hodnoty všech monitorovaných parametrů se u jednotlivých skupin nelišily. Střední hodnota arteriálního tlaku, mozková oxymetrie a dávky noradrenalinu byly srovnatelné mezi skupinami HT, NO a IPC i v průběhu prvních 60 min reperfuze. V 70., 80. a 90. min byly střední arteriální tlak a mozková saturace významně vyšší ve skupině HT, zatímco dávky noradrenalinu byly ve skupině HT nižší ve srovnání se skupinami NO a IPC. Defibrilace byla úspěšná u všech zvířat ve skupině HT, ale pouze u jednoho z pěti zvířat ve skupinách NO a IPC ($P=0.01$).



Obrázek 3. A Hodnoty cerebrální oxymetrie, středního arteriálního tlaku a dávky noradrenalinu, vyjádřené jako medián (min; max). HT - hypotermie, NO - oxid dusnatý, IPC - ischemický postconditioning. B Hladiny ukazatelů orgánového poškození 90 minut po obnovení krevního oběhu po srdeční zástavě. HT - hypotermie; NO - oxid dusnatý; IPC - ischemický postconditioning, ALT - alanin-aminotransferáza, CK - kreatinínáza, NSE - neuron-specifická enoláza.

Nalezli jsme významné rozdíly v hodnotách ALT, CK, MGB a TnI. Hladiny ALT byly signifikantně nižší ve skupině HT ve srovnání s ostatními skupinami; hodnoty CK, MGB a TnI byly významně nižší ve skupině HT ve srovnání se skupinou

NO, zatímco rozdíl mezi skupinou HT a IPC nedosáhl statistické významnosti; skupiny NO a IPC skupiny byly srovnatelné ve všech měřených parametrech. Hodnoty CysC, NSE a ROM se ve všech skupinách významně nelišily (obr.3, 4).



Obrázek 4. Hladiny metabolitů reaktivního kyslíku. HT – hypotermie; NO – oxid dusnatý; IPC – ischemický preconditioning.

3.2.4. Diskuse

Hlavním výsledkem této studie je originální pozorování, že ischemický preconditioning ani podání oxidu dusnatého neměly větší protektivní účinek na poresuscitační syndrom než hypotermie na zvířecím modelu oběhové zástavy a ECPR.

Prokázali jsme, že ve skupině HT byly vyšší hodnoty krevního tlaku a vyšší mozková oxymetrie s nižšími dávkami noradrenalinu ve srovnání se skupinami IPC a NO. Tyto rozdíly však dosáhly statistické významnosti až v 70., 80. a 90. min reperfuze, po úspěšné defibrilaci u všech zvířat ve skupině HT, zatímco účinný rytmus byl nastolen pouze u jednoho z pěti zvířat ve skupině NO a IPC. Vyšší arteriální tlak a vyšší hodnoty mozkové oxygenace ve skupině HT mohou zvyšovat šanci na úspěšnou defibrilaci. Krevní tlak, tkáňová saturace, spotřeba vazopresorů a srdeční rytmus jsou však závislé parametry; je obtížné spekulovat, který z těchto faktorů hraje důležitější roli. Nicméně úspěch defibrilace u zvířat ve skupině HT (100% vs. 20% v ostatních skupinách) ukazuje, že mírná terapeutická hypotermie může být spojená s větším kardioprotektivním potenciálem. Všechny měřené parametry orgánového poškození byly srovnatelné či vyšší ve skupinách IPC a NO než ve skupině HT, nebyl zjištěn žádný rozdíl mezi skupinami IPC a NO a neprokázali jsme tedy protektivní účinek

ischemického postconditioningu a podání oxidu dusnatého ve srovnání s hypotermií v prevenci orgánového poškození.

Nepodařilo se nám prokázat ani protektivní účinek podávání NO po srdeční zástavě. Naše pozorování je v rozporu s pozorováním Nishidy a kol., kteří zjistili, že srdeční NOS3 zmenšuje srdeční a neurologickou dysfunkci a inhibuje zánětlivou reakci u potkanů po srdeční zástavě. Minamishima a kol. pozorovali vyšší přežívání myši, kterým byl podán hydrogen sulfid, stimulační NOS, 24 hodin po resuscitaci. Tyto rozdíly mohou být částečně vysvětleny rozdílným experimentálním uspořádáním, zvláště pak použitím exogenního NO v naší studii. Naše výsledky se však také liší od publikovaných prací, kde byl NO po srdeční zástavě podáván inhalačně. Kida a spol. pozorovali nižší mortalitu u myši, které byly po oběhové zástavě léčeny kombinací hypotermie a inhalace NO. Také tento rozpor s našimi výsledky může být vysvětlen nejen rozdílnými experimentálními modely, ale i aplikací NO prostřednictvím oxygenátoru v naší studii.

V naší práci jsme navíc testovali ischemický postconditioning a podání NO odděleně, přestože tyto mechanismy spolu mohou úzce souviset. Yang a spol. popsali významně zvýšenou expresi indukibilní NOS u kosterních svalů potkanů jako výsledek ischemického postconditioningu. Nemůžeme tedy vyloučit, že protektivního účinku bychom mohli dosáhnout současnou aplikací NO a ischemického postconditioningu, nebo dokonce jejich kombinací s hypotermií. Samotná hypotermie totiž může ovlivnit produkci NO, jak ukázali Zorner a kol. na prasečím modelu resuscitace při srdeční zástavě.

V této studii jsme demonstrovali, že hladiny ROM byly srovnatelné mezi skupinami NO, IPC a HT. Naše předchozí práce ukázaly, že mírná hypotermie po srdeční zástavě oxidativní stres tlumí. Výsledky této práce tedy nepřímou naznačují, že jak ischemický postconditioning tak podání NO mohou zmenšit oxidativní stres podobně jako hypotermie.

Naše studie má několik omezení. V prvé řadě jsme použili jenom pět zvířat do každé skupiny a sledování bylo pouze 90 min po srdeční zástavě. Nemůžeme

vyločit, že protektivní efekt ve skupinách IPC a NO by se mohl projevit později. V naší práci jsme sledovali účinky uvedených intervencí na modelu ECPR; nelze vyločit, že při konvenční resuscitaci by byly výsledky jiné. Nicméně tento model ECPR zajišťuje úspěšné obnovení cirkulace u všech zvířat a eliminuje potenciální individuální variabilitu v obnově cirkulace při použití standardních resuscitačních technik.

3.2.5. Závěr

Výsledky této studie ukázaly, že po srdeční zástavě mají ischemický postconditioning a podání oxidu dusnatého menší protektivní účinek na udržení krevního tlaku, mozkovou oxygenaci a orgánové poškození než mírná léčebná hypotermie.

4. KLINICKÁ ČÁST DISERTAČNÍ PRÁCE

4.1. Stanovení hodnot nitrotyrosinu a nitritů/nitrátů u nemocných po oběhové zástavě, léčených mírnou terapeutickou hypotermií

4.1.1. Úvod

Globální ischemie během oběhové zástavy aktivuje celou řadu patogenetických mechanismů, které mohou následně způsobovat závažné poškození organismu - jedná se o tzv. ischemicko-reperfuzní poškození. Řada autorů prokázala, že jedním z klíčových patogenetických pochodů, odpovědných za ischemicko-reperfuzní poškození, je oxidativní stres. Cílem této studie bylo proto stanovit ukazatele oxidativního stresu u nemocných po srdeční zástavě, léčených endovaskulární hypotermií.

4.1.2. Metody a protokol

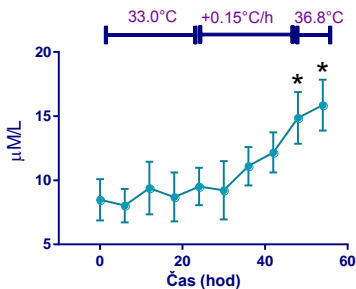
Do studie byli zařazováni nemocní po oběhové zástavě mimo nemocnici, kteří byli indikováni k mírné terapeutické hypotermii. Nemocným po oběhové zástavě byla aplikována již během transportu do nemocnice infuze chladného fyziologického roztoku rychlostí 30 ml/kg/hod. U všech nemocných byla dále použita endovaskulárně řízená hypotermie s použitím systému Thermogard XP (Alsius, USA). Cestou femorální žíly byl do 30 min od přijetí k hospitalizaci zaveden trojcestný chladicí katetr. Cílová teplota 33.0 °C byla udržována po dobu 24 hodin a následně probíhal řízený ohřev o 0.15 °C/hod. až do dosažení normotermie 36.8 °C. Normotermie byla dále udržována až do návratu vědomí. Vzorky krve ke stanovení ukazatelů oxidativního stresu byly měřeny každých 6 hodin po dobu 54 hodin od oběhové zástavy. Stanovovali jsme hladiny 3-nitrotyrosinu (nitrotyrosin), jako ukazatele produkce peroxynitritu, vznikajícího reakcí NO a superoxidu. Nitráty spolu s nitrity jako nepřímé ukazatele produkce NO byly měřeny v séru za použití Siversova chemoluminiscenčního analyzátoru.

4.1.3. Výsledky

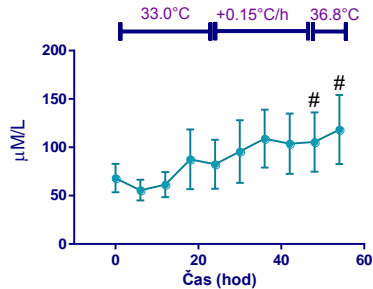
Kritéria studie splňovalo celkem 14 nemocných, z nichž byl 1 vyřazen pro technický problém zpracování vzorků, další 2 byli vyřazeni pro nemožnost podepsání informovaného souhlasu. Do studie bylo tedy celkem zahrnuto 11 pacientů (průměrný věk 58 let), většinou se jednalo o muže (10 z 11). Všichni nemocní dosáhli cílové teploty 33 °C do 1 hodiny od příjetí. Střední arteriální tlak byl udržován v rozmezí 65-90 mmHg na vazopresorické či inotropní podpoře (noradrenalin, dobutamin), nikdo ze souboru nepotřeboval mechanickou podporu oběhu. Všichni nemocní s akutním koronárním syndromem podstoupili selektivní angiografii věnčitých tepen, popřípadě spolu s perkutánní koronární intervencí.

Vysoce významné rozdíly jsme našli v hodnotách hladiny nitrotyrosinu ($P<0.001$). Během normotermické periody (48. a 54. hodina), byly hladiny nitrotyrosinu výrazně vyšší ($P<0.05$) ve srovnání s jejich hodnotou v průběhu hypotermického období (0., 6., 12., 18. a 24. hodina). Signifikantní rozdíly byly také pozorovány v hladinách nitritů/nitrátů ($P<0.05$); během normotermie (48. a 54. hodina) byly hladiny nitritů/nitrátů významně vyšší nežli hodnoty získané v hypotermické periodě (6. a 12. hodina) ($P<0.05$) (obr. 5).

A. Nitrotyrosin



B. Nitráty/Nitrity



Obrázek 5. Hodnoty hladiny nitrotyrosinu (A) a hladiny nitrátů/nitritů (B) u přeživších nemocných po oběhové zástavě, kteří byli ošetřeni endovaskulární hypotermií. Cílová teplota jádra byla udržována na 33.0°C po dobu 24 hodin. Následný řízený ohřev o 0.15°C/hod. na teplotu 36.8°C. Normotermie byla kontrolována až do probuzení nemocného. Hodnoty jsou ukázány jako průměr ± SEM. * $P<0.05$ v porovnání s hodnotou v 0, 6, 12, 18 a 24 hodině; # $P<0.05$ v porovnání s hodnotou v 6 a 12 hodině.

4.1.4. Diskuse

Originálním výsledkem této studie bylo pozorování snížených hladin nitrotyrosinu a nitrátů/nitritů během mírné terapeutické hypotermie ve srovnání s hladinami, měřenými při normotermii u nemocných, kteří přežili oběhovou zástavu.

Je známo, že oxidativní stres hraje jednu z hlavních rolí v patogeneze ischemicko-reperfuzního poškození. Rychlý nárůst markerů oxidativního stresu a produkce NO může být detekován u různých akutních klinických situací jako je trauma, cévní mozková příhoda, selhání jater nebo infekce. Po publikaci dvou klinických studií, které dokumentují pozitivní vliv hypotermie na neurologickou prognózu, se mírná terapeutická hypotermie stala nedílnou součástí péče o pacienty po oběhové zástavě. Snížení oxidativního stresu a produkce NO za použití hypotermie bylo popsáno u zvířecích modelů. V naší práci jsme však poprvé i v klinické studii prokázali, že hypotermie po srdeční zástavě může příznivě ovlivňovat také oxidativní stres.

Naše výsledky jsou v souladu s doposud publikovanými experimentálními studii. Jiang a kol. popsali normalizaci hladin nitrátů/nitritů a signifikantní ovlivnění exprese NO syntasy v mozku za použití hypotermie na modelu akutního ischemického jaterního selhání u potkanů. Stefanutti a kol. pozorovali, že hypotermie u potkanů snižuje oxidativní stres u ischemicko-reperfuzního poškození střeva. Scumpia a kol. pozorovali při hypotermii inhibici produkce NO a myeloperoksidase zprostředkované poškození srdce po podání endotoxinu u potkanů. Han a kol. zjistili, že hypotermie inhibuje tvorbu NO na experimentálním modelu cévní mozkové příhody a zánětu. Hypotermií zprostředkované ovlivnění exprese isoformy NO-syntasy po lokální mozkové ischemii u potkanů popsali Karabiyikoglu a kol. Lei a kol. pozorovali snížení peroxidace lipidů se zachovalou antioxidační obranou účinkem hypotermie na modelu oběhové zástavy u psa.

Naše studie má celou řadu omezení, vyplývající především z malé velikosti sledovaného souboru a z absence kontrolní skupiny. Z etického hlediska by však bylo neobhajitelné neposkytnout u nemocných po srdeční zástavě léčbu mírnou

terapeutickou hypotermií. Z dnešního pohledu by se jistě nabízela možnost srovnání účinků kontroly tělesné teploty na úrovni 33°C a 36°C. V době provádění a publikace naší studie však byla tělesná teplota 33°C jedinou doporučenou cílovou teplotou v léčbě poresuscitačního syndromu. Oxidativní stres a produkce NO může být také ovlivněna iontovou nerovnováhou (např. dysbalancí hladin draslíku nebo vápníku) či laktátovou acidózou. V souladu se současnou klinickou prací byly však u všech nemocných, zařazených do studie, tyto poruchy korigovány v prvních hodinách od přijetí.

4.1.5. Závěr

Tato studie ukázala redukcí oxidativního stresu a nižší produkci NO během mírné terapeutické hypotermie u nemocných, kteří přežili oběhovou zástavu. Tyto výsledky tedy přinášejí nepřímou evidenci, že hypotermie může ovlivnit oxidativní stres a produkci NO u těchto nemocných. Lze se proto domnívat, že právě ovlivnění oxidativního stresu a produkce NO se může podílet na příznivém vlivu hypotermie na klinické výsledky u nemocných po oběhové zástavě.

5. SOUHRN VÝSLEDKŮ PRÁCE

- Na experimentálním modelu oběhové zástavy jsme ukázali, že mírná hypotermie po obnovení krevního oběhu je účinnější než kontrolovaná normotermie v udržení hladiny krevního tlaku a mozkové saturace, zmenšuje známky orgánového poškození a potlačuje oxidativní stres.
- Na experimentálním modelu srdeční zástavy jsme demonstrovali, že po srdeční zástavě má mírná léčebná hypotermie větší protektivní účinek na udržení krevního tlaku, mozkovou oxygenaci a orgánové poškození než ischemický postconditioning a podání oxidu dusnatého, přičemž oxidativní stres tyto metody ovlivňují srovnatelně.
- V klinické studii jsme pozorovali potlačení oxidativního stresu a produkce oxidu dusnatého během mírné terapeutické hypotermie u nemocných po srdeční zástavě.

Výsledky práce, prováděné jak na experimentálním modelu u prasat, tak na souboru nemocných po srdeční zástavě v prospektivní klinické studii, potvrzují stanovené hypotézy, že ischemicko-reperfuční poškození při srdeční zástavě je provázeno oxidativním stresem a mírná léčebná hypotermie oxidativní stres snižuje.

6. LITERATURA

1. Adrie C, Adib-Conquy M, Laurent I, Monchi M, Vinsonneau C, Fitting C, Fraisse F, Dinh-Xuan AT, Carli P, Spaulding C, Dhainaut JF, Cavaillon JM. Successful cardiopulmonary resuscitation after cardiac arrest as a "sepsis-like" syndrome. *Circulation*. 2002 Jul 30;106(5):562-8.
2. Adrie C, Monchi M, Laurent I, Um S, Yan SB, Thuong M, Cariou A, Charpentier J, Dhainaut JF. Coagulopathy after successful cardiopulmonary resuscitation following cardiac arrest: implication of the protein C anticoagulant pathway. *J Am Coll Cardiol*. 2005 Jul 5;46(1):21-8.
3. Aikens J, Dix TA. Peroxy radical (HOO*) initiated lipid-peroxidation - the role of fatty-acid hydroperoxides. *J Biol Chem*, 1991;266, p. 15
4. Arrich J, Holzer M, Herkner H, Mullner M. Hypothermia for neuroprotection in adults after cardiopulmonary resuscitation. *Cochrane Database Syst Rev* 2009:CD004128.
5. Badjatia N. Hyperthermia and fever control in brain injury. *Crit Care Med* 2009, 37:S250–S257.
6. Bayir H, Adelson PD, Wisniewski SR, Shore P, Lai Y, Brown D, Janesko-Feldman KL, Kahan VE, Kochanek PM. Therapeutic hypothermia preserves antioxidant defenses after severe traumatic brain injury in infants and children. *Crit Care Med* 37: 689-695, 2009.
7. Beckman JS. Oxidative damage and tyrosine nitration from peroxynitrite. *Chem Res Toxicol* 9: 836-844, 1996. 2012 *Oxidative Stress in Cardiac Arrest Survivors*
8. Bernard SA, Gray TW, Buist MD, Jones BM, Silvester W, Gutteridge G, Smith K. Treatment of comatose survivors of out-of-hospital cardiac arrest with induced hypothermia. *N Engl J Med*. 2002;11:557–563.
9. Busto R, Globus MY, Dietrich WD, et al. Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acid in rat brain. *Stroke* 1989;20(7):904-910.
10. Deakin CD, Nolan JP, Soar J, Sunde K, Koster RW, Smith GB, Perkins GD. European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2010 Section 4. Adult advanced life support. *Resuscitation* 2010, 81:1305–1352.
11. Deng H, Han HS, Cheng D, Sun GH, Yenari MA. Mild hypothermia inhibits inflammation after experimental stroke and brain inflammation. *Stroke* 2003;34:2495–501.
12. Deng WG, Wu KK. Regulation of inducible nitric oxide synthase expression by p300 and p50 acetylation. *J Immunol*. 2003 Dec 15;171(12):6581-8
13. Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 47: 446-456, 2000.
14. Dhalla NS, Temsah RM., Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens*, 2000;18:655-673.

15. Elrod JW, Greer JJ, Bryan NS, et al. Cardiomyocyte-specific overexpression of NO synthase-3 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1517–23.
16. Erecinska M, Thoresen M, Silver IA. Effects of hypothermia on energy metabolism in Mammalian central nervous system. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23(5):513-530.
17. Fagnoul D, Combes A, De Backer D. Extracorporeal cardiopulmonary resuscitation. *Curr Opin Crit Care* 2014;20:259–65.
18. Fisarkova B, Vytasek R, Mikova D, Vizek M. Hyperoxia attenuated nitrotyrosine concentration in the lung tissue of rats with experimental pneumonia. *Physiol. Res.* 2004;53:487-492
19. Galagudza M, Kurapeev D, Minasian S, Valen G, Vaage J. Ischemic postconditioning: brief ischemia during reperfusion converts persistent ventricular fibrillation into regular rhythm. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004;25:1006–10.
20. Gaut JP, Yeh GC, Tran HD, et al. Neutrophils employ the myeloperoxidase system to generate antimicrobial brominating and chlorinating oxidants during sepsis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001;98, p. 11 961-11 966.
21. Globus MY, Busto R, Lin B, et al. Detection of free radical activity during transient global ischemia and recirculation: effects of intranschemic brain temperature modulation. *J Neurochem* 1995;65(3):1250-1256.
22. Graham SH, Shiraishi K, Panter SS, et al. Changes of extracellular amino acid neurotransmitters produced by focal cerebral ischemia. *Neurosci Lett* 1990;110(1-2):124-130
23. HACA-Study-Group. Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest. *N Engl J Med* 2002;346:549–56.
24. Han et al. Influence of mild hypothermia on inducible nitric oxide synthase expression and reactive nitrogen production in experimental stroke and inflammation. *The Journal of Neuroscience*, 2002;22(10):3921-3928.
25. Haneya A, Philipp A, Diez C, et al. A 5-year experience with cardiopulmonary resuscitation using extracorporeal life support in non-postcardiotomy patients with cardiac arrest. *Resuscitation* 2012;83:1331–7.
26. Hannan RL, John MC, Kouretas PC, Hack BD, Matherne GP, Laubach VE. Deletion of endothelial nitric oxide synthase exacerbates myocardial stunning in an isolated mouse heart model. *J Surg Res* 2000;93:127–32.
27. Hayashi N, Utagawa A, Kinoshita K, Izumi T. Application of a novel technique for clinical evaluation of nitric oxide-induced free radical reactions in ICU patients. *Cell Mol Neurobiol* 19: 3-17, 1999.
28. Hollenberg J, Svensson L, Rosenqvist M. Out-of-hospital cardiac arrest: 10 years of progress in research and treatment. *Journal of internal medicine*. 2013;273(6):572-83.

29. Holzer M, Behringer W. Therapeutic hypothermia after cardiac arrest. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2005 Apr;18(2):163-8.
30. Holzer M, Bernard SA, Hachimi-Idrissi S, Roine RO, Sterz F, Mullner M. Hypothermia for neuroprotection after cardiac arrest: systematic review and individual patient data meta-analysis. *Crit Care Med* 2005, 33:414–418.
31. Horburger D, Testori C, Sterz F, Herkner H, Krizanac D, Uray T, Schober A, Stockl M, Stratil P, Weiser C. Mild therapeutic hypothermia improves outcomes compared with normothermia in cardiac-arrest patients—a retrospective chart review. *Crit Care Med*. 2012;40(8):2315-2319.
32. Chareonthaitawee P, Gersh BJ, Araoz PA, Gibbons RJ. Revascularization in severe left ventricular dysfunction: the role of viability testing. *J Am Coll Cardiol*. 2005 Aug 16;46(4):567-74.
33. Chen YS, Chao A, Yu HY, et al. Analysis and results of prolonged resuscitation in cardiac arrest patients rescued by extracorporeal membrane oxygenation. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:197–203.
34. Chi JS, Kloner RA. Stress and myocardial infarction. *Heart*. 2003 May;89(5):475-6.
35. Ichinose F. Improving outcomes after cardiac arrest using NO inhalation. *Trends Cardiovasc Med* 2013;23:52–8.
36. Jennings RB, Sommers HM, Smyth GA, Flack HA, Linn H. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. *Arch Pathol*. 1960;70:68-78.
37. Jia X, Koenig MA, Venkatraman A, Thakor NV, Geocadin RG. Post-cardiac arrest temperature manipulation alters early EEG bursting in rats. *Resuscitation*. 2008;11:367–373.
38. Jiang W, Desjardins P, Butterworth RF. Hypothermia attenuates oxidative/nitrosative stress, encephalopathy and brain edema in acute (ischemic) liver failure. *Neurochem Int* 55: 124-128, 2009.
39. Jones SP, Greer JJ, Kakkar AK, et al. Endothelial nitric oxide synthase overexpression attenuates myocardial reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286:H276–82.
40. Karabiyikoglu M, Han HS, Yenari MA, Steinberg GK. Attenuation of nitric oxide synthase isoform expression by mild hypothermia after focal cerebral ischemia: variations depending on timing of cooling. *J Neurosurg* 98: 1271-1276, 2003.
41. Kern KB, Hilwig RW, Berg RA, Rhee KH, Sanders AB, Otto CW, Ewy GA. Postresuscitation left ventricular systolic and diastolic dysfunction. Treatment with dobutamine. *Circulation*. 1997 Jun 17;95(12):2610-3.
42. Kida K, Shirozu K, Yu B, Mandeville JB, Bloch KD, Ichinose F. Beneficial effects of nitric oxide on outcomes after cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation in hypothermia-treated mice. *Anesthesiology* 2014;120:880–9.

43. Kolar F, Neckar J, Ostadal B, Maslov LN, Stakheev DL, Tayurskaya AS, Lishmanov YB. Role of ATP-sensitive K(+)-channels in antiarrhythmic and cardioprotective action of adaptation to intermittent hypobaric hypoxia. *Bull Exp Biol Med.* 2008;145(4):418-21.
44. Kruger A, Ostadal P, Vondrakova D, Janotka M, Herget J. Nitrotyrosine and nitrate/nitrite levels in cardiac arrest survivors treated with endovascular hypothermia. *Physiol Res.* 2012;61:425–430.
45. Kruzliak P, Pechanova O, Kara T. New perspectives of nitric oxide donors in cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation treatment. *Heart Fail Rev* 2014;19:383–90.
46. Lanier WL. Cerebral metabolic rate and hypothermia: their relationship with ischemic neurologic injury. *J Neurosurg anesthesiol* 1995;7(3):216-221.
47. Lavelle F, McAdam ME, Fielden EM, Roberts PB. A pulse radiolysis study of the catalytic mechanism of the iron containing superoxide dismutase from *Photobacterium leiognathi*. *Biochem J.* 1977; 161(1):3-11.
48. Le Guen M, Nicolas-Robin A, Carreira S, et al. Extracorporeal life support following out-of-hospital refractory cardiac arrest. *Crit Care* 2011;15:R29.
49. Lee JE, Yoon YJ, Moseley ME, Yenari MA. Reduction in levels of matrix metalloproteinases and increased expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in response to mild hypothermia therapy in experimental stroke. *J Neurosurg.* 2005 Aug;103(2):289-97.
50. Lei B et al. Effect of moderate hypothermia on lipid peroxidation in canine brain tissue after cardiac arrest and resuscitation. *Stroke*, 1994;25:147-152.
51. Lin JW, Wang MJ, Yu HY, et al. Comparing the survival between extracorporeal rescue and conventional resuscitation in adult in-hospital cardiac arrests: propensity analysis of three-year data. *Resuscitation* 2010;81:796–803.
52. Liu L, Yenari MA. Therapeutic hypothermia: neuroprotective mechanisms. *Front Biosci* 2007;12:816-825.
53. Mangus DB, Huang L, Applegate PM, Gatling JW, Zhang J, Applegate RL 2nd. A systematic review of neuroprotective strategies after cardiac arrest: from bench to bedside (Part I-Protection via specific pathways). *Med Gas Res* 2014;4:9.
54. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, et al. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem*, 2005;16, p. 577-586.
55. Megarbane B, Leprince P, Deye N, et al. Emergency feasibility in medical intensive care unit of extracorporeal life support for refractory cardiac arrest. *Intensive Care Med* 2007;33:758–64.
56. Meybohm P, Gruenewald M, Zacharowski KD, et al. Mild hypothermia alone or in combination with anesthetic postconditioning reduces expression of inflammatory cytokines in the cerebral cortex of pigs after cardiopulmonary resuscitation. *Crit Care* 2010;14:R21.

57. Minamishima S, Bougaki M, Sips PY, et al. Hydrogen sulfide improves survival after cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation via a nitric oxide synthase 3-dependent mechanism in mice. *Circulation* 2009;120:888–96.
58. Minamishima S, Kida K, Tokuda K, et al. Inhaled nitric oxide improves outcomes after successful cardiopulmonary resuscitation in mice. *Circulation* 2011;124:1645–53.
59. Mori K, Maeda M, Miyazaki M, Iwase H. Effects of mild (33 degrees C) and moderate (29 degrees C) hypothermia on cerebral blood flow and metabolism, lactate, and extracellular glutamate in experimental head injury. *Neurol Res.* 1998 Dec;20(8):719-26.
60. N. Nielsen, J. Wetterslev, T. Cronberg, et al. Target temperature management at 33 °C versus 36 °C after cardiac arrest. *N Engl J Med*, 369 (2013), pp. 2197–2206
61. Neumar RW. Molecular mechanisms of ischemic neuronal injury. *Ann Emerg Med.* 2000;36(5):483-506.
62. Nielsen N, Friberg H, Gluud C, Herlitz J, Wetterslev J. Hypothermia after cardiac arrest should be further evaluated—a systematic review of randomised trials with meta-analysis and trial sequential analysis. *Int J Cardiol.* 2011;151:333–341.
63. Nielsen N, Friberg H. Insights from the evidence evaluation process—do we have the answers for therapeutic hypothermia? *Resuscitation.* 2011;82:501–502.
64. Nishida T, Yu JD, Minamishima S, et al. Protective effects of nitric oxide synthase 3 and soluble guanylate cyclase on the outcome of cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation in mice. *Crit Care Med* 2009;37:256–62.
65. Nolan JP, Neumar RW, Adrie C, Aibiki M, Berg RA, Bottiger BW, et al. Post-cardiac arrest syndrome: epidemiology, pathophysiology, treatment, and prognostication. A Scientific Statement from the International Liaison Committee on Resuscitation; the American Heart Association Emergency Cardiovascular Care Committee; the Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; the Council on Cardiopulmonary, Perioperative, and Critical Care; the Council on Clinical Cardiology; the Council on Stroke. *Resuscitation.* 2008;79(3):350-79.
66. Ohta H, Adachi T, Hirano K. Internalization of human extracellular-superoxid dismutase by bovine aortic endothelial cells. *Radic Biol Med* 1994;16:501-507.
67. Opie LH. Reperfusion injury and its pharmacologic modification. *Circulation.* 1989;80(4):1049-62
68. Ostadal P, Elmoselhi AB, Zdobnicka I, Lukas A, Chapman D, Dhalla NS. Ischemia-reperfusion alters gene expression of Na⁺-K⁺ ATPase isoforms in rat heart. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003 Jun 27;306(2):457-62.
69. Ostadal P, Mlcek M, Kruger A, Horakova S, Skabradova M, Holy F, Svoboda T, Belohlavek J, Hrachovina V, Taborsky L, Dudkova V, Psotova H, Kittnar O, Neuzil P. Mild therapeutic hypothermia is superior to controlled normothermia for the maintenance of blood pressure and

- cerebral oxygenation, prevention of organ damage and suppression of oxidative stress after cardiac arrest in a porcine model. *J Transl Med* 2013;11:124.
70. Ostadal P. What is 'reperfusion injury'? *Eur Heart J*. 2005;26(1):99
 71. Park JL, Lucchesi BR. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*. 1999;68(5):1905-12.
 72. Peberdy MA, Callaway CW, Neumar RW, Geocadin RG, Zimmerman JL, Donnino M, Gabrielli A, Silvers SM, Zaritsky AL, Merchant R, et al. Part 9: post-cardiac arrest care: 2010 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Circulation* 2010, 122:S768–S786.
 73. Polderman KH, Varon J. Interpreting the results of the targeted temperature management trial in cardiac arrest. *Ther Hypothermia Temp Manag*. 2015 Jun;5(2):73-6.
 74. Pusswald G, Fertl E, Faltl M, Auff E. Neurological rehabilitation of severely disabled cardiac arrest survivors. Part II. Life situation of patients and families after treatment. *Resuscitation*. 2000 Nov;47(3):241-8.
 75. Riess ML, Matsuura TR, Bartos JA, Bienengraeber M, Aldakkak M, McKnite SH, Rees JN, Aufderheide TP, Sarraf M, Neumar RW, Yannopoulos D. Anaesthetic Postconditioning at the Initiation of CPR Improves Myocardial and Mitochondrial Function in a Pig Model of Prolonged Untreated Ventricular Fibrillation. *Resuscitation*. 2014;85(12):1745-51.
 76. Rosenkranz ER, Buckberg GD, Laks H, Mulder DG. Warm induction of cardioplegia with glutamate-enriched blood in coronary patients with cardiogenic shock who are dependent on inotropic drugs and intra-aortic balloon support. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1983;86(4):507-18.
 77. Scumpia PO, Sarcia PJ, Kelly KM, Demarco VG, Skimming JW. Hypothermia induces anti-inflammatory cytokines and inhibits nitric oxide and myeloperoxidase-mediated damage in the hearts of endotoxemic rats. *Chest* 125: 1483-1491, 2004.
 78. Segal N, Matsuura T, Caldwell E, et al. Ischemic postconditioning at the initiation of cardiopulmonary resuscitation facilitates functional cardiac and cerebral recovery after prolonged untreated ventricular fibrillation. *Resuscitation* 2012;83:1397–403.
 79. Shoemaker WC, Patil R, Appel PL, Kram HB. Hemodynamic and oxygen transport patterns for outcome prediction, therapeutic goals, and clinical algorithms to improve outcome. Feasibility of artificial intelligence to customize algorithms. *Chest*. 1992 Nov;102(5 Suppl 2):617S-625S.
 80. Skulec R, Kovarnik T, Dostalova G, Kolar J, Linhart A. Induction of mild hypothermia in cardiac arrest survivors presenting with cardiogenic shock syndrome. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2008 Feb;52(2):188-94. Epub 2007 Nov 13.
 81. Staat P, Rioufol G, Piot C, et al. Postconditioning the human heart. *Circulation* 2005;112:2143–8.

82. Stefanutti G, Perro A, Vinardi S, Sspitz L, Eaton S. Moderate hypothermia protects against systemic oxidative stress in a rat model of intestinal ischemia and reperfusion injury. *Shock* 24: 159-164, 2005.
83. Sunde K, Pytte M, Jacobsen D, et al. Implementation of a standardised treatment protocol for post resuscitation care after out-of-hospital cardiac arrest. *Resuscitation* 2007;73:29–39.
84. Takasu A, Saitoh D, Kaneko N, Sakamoto T, Okada Y. Hyperthermia: is it an ominous sign after cardiac arrest? *Resuscitation*. 2001;49:273–277.
85. Vereczki V, Martin E, Rosenthal RE, Hof PR, Hoffman GE, Fiskum G. Normoxic resuscitation after cardiac arrest protects against hippocampal oxidative stress, metabolic dysfunction, and neuronal death. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2006 Jun;26(6):821-35.
86. Wenisch C, Narzt E, Sessler DI, Parschalk B, Lenhardt R, Kurz A, Graninger W. Mild intraoperative hypothermia reduces production of reactive oxygen intermediates by polymorphonuclear leukocytes. *Anesth Analg* 82: 810-816, 1996.
87. Wolfson SK Jr, Safar P, Reich H, Clark JM, Gur D, Stezoski W, Cook EE, Krupper MA. Dynamic heterogeneity of cerebral hypoperfusion after prolonged cardiac arrest in dogs measured by the stable xenon/CT technique: a preliminary study. *Resuscitation*. 1992 Feb;23(1):1-20.
88. Yang M, Angel MF, Pang Y, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase in muscle flaps treated with ischemic postconditioning. *Hand (N Y)* 2012;7:297–302.
89. Yannopoulos D, Segal N, Matsuura T, et al. Ischemic postconditioning and vasodilator therapy during standard cardiopulmonary resuscitation to reduce cardiac and brain injury after prolonged untreated ventricular fibrillation. *Resuscitation* 2013;84:1143–9.
90. Younger JG, Schreiner RJ, Swaniker F, Hirschl RB, Chapman RA, Bartlett RH. Extracorporeal resuscitation of cardiac arrest. *Acad Emerg Med* 1999;6:700–7.
91. Zeiner A, Holzer M, Sterz F, Schorkhuber W, Eisenburger P, Havel C, Kliegel A, Laggner AN. Hyperthermia after cardiac arrest is associated with an unfavorable neurologic outcome. *Arch Intern Med*. 2001;161:2007–2012.
92. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H579–88.
93. Zoerner F, Wiklund L, Miculescu A, Martijn C. Therapeutic hypothermia activates the endothelin and nitric oxide systems after cardiac arrest in a pig model of cardiopulmonary resuscitation. *PLoS ONE* 2013;8:e64792.

7. PUBLIKACE AUTORA

7.1. Publikace in extenso, které jsou podkladem disertace s IF

1. Krüger A, Ošťádal P, Vondráková D, Janotka M, Herget J. Nitrotyrosine and nitrate/nitrite levels in cardiac arrest survivors treated with endovascular hypothermia. *Physiol Res* 2012;4(61): 425-430. IF: 1.531
2. Ošťádal P, Mlček M, Krüger A, Horáková S, Škabradová M, Holý F, Svoboda T, Bělohávek J, Hrachovina V, Táborský L, Dudková V, Psotová H, Kittnar O, Neužil P. Mild therapeutic hypothermia is superior to controlled normothermia for the maintenance of blood pressure and cerebral oxygenation, prevention of organ damage and suppression of oxidative stress after cardiac arrest in a porcine model. *J Transl Med* 2013 May 20;11:124. IF: 3.991
3. Psotova H, Ostadal P, Mlcek M, Kruger A, Janotka M, Vondrakova D, Svoboda T, Hrachovina M, Taborsky L, Dudkova V, Strunina S, Kittnar O, Neužil P. Ischemic Postconditioning and Nitric Oxide Administration Failed to Confer Protective Effects in a Porcine Model of Extracorporeal Cardiopulmonary Resuscitation. *Artif Organs*. 2016 Apr;40(4):353-9. IF: 2.050

7.2. Publikace in extenso bez vztahu k tématu disertace s IF

1. Ošťádal P, Krüger A, Vondráková D, Janotka M, Psotová H, Neužil P. Noninvasive assessment of hemodynamic variables using near-infrared spectroscopy in patients experiencing cardiogenic shock and individuals undergoing venoarterial extracorporeal membrane oxygenation. *J Crit Care* 2014 Aug;29(4):690. IF: 4.950
2. Ošťádal P, Mlček M, Krüger A, Hála P, Lacko S, Mates M, Vondráková D, Svoboda T, Hrachovina M, Janotka M, Mudrochová H, Strunina S, Kittnar O, Neužil P. Increasing venoarterial extracorporeal membrane oxygenation flow negatively affects left ventricular performance in a porcine model of cardiogenic shock. *Journal of Translational Medicine*, 2015, vol. 13, no. 1, s. 266-274. IF: 3.694
3. Vondráková D, Ošťádal P, Krüger A. Immediate effect of intensive atorvastatin therapy on lipid parameters in patients with acute coronary syndrome. *Lipids Health Dis* 2010 Jul 14;9:71. IF:2.239
4. Ošťádal P, Krüger A, Zdráhalová V, Janotka M, Vondraková D, Neužil P, Průcha M. Blood levels of copeptin on admission predict outcomes in out-of-hospital cardiac arrest survivors treated with therapeutic hypothermia. *Crit Care* 2012 Oct 4;16(5):R187. IF: 5.035
5. Hubáček JA, Staněk V, Gebauerová M, Pilipčincová A, Dlouhá D, Poledne R, Aschermann M, Skalická H, Matoušková J, Krüger A, Pěnička M, Hrabáková H, Veselka J, Hájek P, Lánská V,

- Adamková V, Piřha J. A FTO variant and risk of acute coronary syndrome. *Clin Chim Acta* 2010 Aug 5;411(15-16):1069-72. IF:2.748
6. Kutil B, Ořřadal P, Vejvoda J, Kukačka J, Cepová J, Alan D, Krüger A, Vondráková D. Alterations in serum selenium levels and their relation to troponin I in acute myocardial infarction. *Mol Cell Biochem* 2010 Dec;345(1-2):23-7. IF: 2.168
 7. Ořřadal P, Vondráková D, Krüger A, Janotka M, Psotová H, Průcha M. Alteration in lipoprotein-associated phospholipase A2 levels during acute coronary syndrome and its relationship to standard biomarkers. *Lipids Health Dis* 2012 Nov 10;11:153. IF: 2.015
 8. Ořřadal P, Mlček M, Holý F, Horáková S, Královec ř, řkoda J, Petrů J, Krüger A, Hrachovina V, Svoboda T, Kittnar O, Reddy VY, Neužil P. Direct comparison of percutaneous circulatory support systems in specific hemodynamic conditions in a porcine model. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012 Dec;5(6):1202-6. IF:5.947
 9. Málek F, Ořřadal P, Pařenica J, Jarkovský J, Vítovec J, Widimský P, Linhart A, Fedorco M, Couřali Z, Miklík R, Krüger A, Vondráková D, řpinar J. Uric acid, allopurinol therapy, and mortality in patients with acute heart failure--results of the Acute HEart FAilure Database registry. *J Crit Care* 2012 Dec;27(6):737.e11-24. IF:2.510

7.3. Publikace in extenso bez vztahu k tématu disertace bez IF

1. Krüger A. Epileptické paroxysmy jako ekvivalent synkopy u těžké aortální stenóze. *Praktický lékař* 2007;87(4):241-242.
2. Krüger A. Defekt komorového septa jako komplikace infarktu myokardu Kardiologie v primární péči, 2007;2(2):72-73.
3. Ořřadal P, Alan D, Vejvoda J, Segethová J, Krüger A. Anti-Xa activity of enoxaparin and nadroparin in patients with acute coronary syndrome. *Exp Clin Cardiol* 2008 Winter;13(4):175-8.
4. Krüger A, Ořřadal P, řerný ř, řtursa P, Táborský M. Parciální poinfarktová ruptura stěny levé komory. *Cor et Vasa* 2009;3(51):212-213.
5. Krüger A, Ořřadal P, Táborský M. Perkutánně zaváděné mechanické srdeční podpory. *Postgraduální medicína* 2009;11(9):1028-1030.
6. Krüger A, Ořřadal P, Kmoníček P, Doubek D, Marounek J, Horáková E, řkabradová M, Neužil P, Táborský M. Profylaktické použití mimotělní podpory oběhu s membránovým oxygenátorem u rizikové perkutanní koronární intervence. *Cor et Vasa* 2010;52:141-145.
7. Krüger A, Ořřadal P, Vondráková D. Akutní koronární syndrom způsobený embolizací myxomu. *Praktický lékař* 2011;91(4):222-224.
8. Krüger A, Ořřadal P, Neužil P. Mini-invasive mechanical cardiac support. *Cas Lek Cesk.* 2011;150(12):647-50.

9. Hubáček JA, Staněk V, Gebauerová M, Pilipčincová A, Poledne R, Aschermann M, Skalická H, Matoušková J, Krüger A, Pěnička M, Hrabáková H, Veselka J, Hájek P, Lánská V, Adamková V, Pířha J. Lack of an association between connexin-37, stromelysin-1, plasminogen activator-inhibitor type 1 and lymphotoxin-alpha genes and acute coronary syndrome in Czech Caucasians. *Exp Clin Cardiol* 2010 Fall;15(3):e52-6. (IF až od r. 2011)
10. Krüger A, Ošťádal P, Černožský S, Neužil P. Iatrogenní hemotorax jako komplikace punkce perikardiálního výpotku. *Intervenční a akutní kardiologie*, 2013;12(2):94-97.
11. Málek F, Ošťádal P, Krüger A, Vondráková D, Matoušková J, Neužil P. Levosimendan a renální funkce. *Kardiologická revue*, 2013;15(3):178-180.
12. Doškář P, Málek F, Dvořák J, Henyš P, Ošťádal P, Krüger A, Vondráková D, Janotks M, Řihová D, Neužil P. Vývoj renálních parametrů u pacientů s pokročilým srdečním selháním léčených levosimendanem – retrospektivní analýza. *Kardiologická revue - interní medicína*, 2014, roč. 16, č. 1, s. 31-33.
13. Ošťádal P, Krüger A, Vondráková D., Janotka M, Psotová H, Neužil P. Noninvasive assessment of hemodynamic variables using near-infrared spectroscopy in patients experiencing cardiogenic shock and individuals undergoing venoarterial extracorporeal membrane oxygenation. *Journal of Critical Care*, 2014, vol. 29, no. 4, s. 690.e11-690.e15.
14. Littnerová S, Pařenica J, Špinar J, Vítovec J, Linhart A, Widimský P, Jarkovský J, Miklík R, Špinarová L, Zeman K, Bělohávek J, Málek F, Felsoci M, Kettner J, Ošťádal P, Čihalík Č, Špác J, Al-Hiti H, Fedorco M, Fojt R, Krüger A, Málek J, Mikusová T, Monhart Z, Boháčová S, Pohludková L, Roháč F, Václavík J, Vondráková D, Vyskočilová K, Bambouch M, Dušek L. Positive Influence of Being Overweight/Obese on Long Term Survival in Patients Hospitalised Due to Acute Heart Failure. *PLoS ONE*, 2015, vol. 2, no. 10, s. 1-15.
15. Krüger A. Srdeční zástava a poresuscitační péče. *Kardiologická revue - interní medicína*, 2015, roč. 17, č. 3, s. 230-233.