

# Utjecaj različitih inhalacijskih terapija na pneumoniju povezanu s mehaničkom ventilacijom u bolesnika s COVIDom-19: randomizirano kontrolirano ispitivanje

---

**Delić, Nikola**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2024**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:259869>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-23**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**NIKOLA DELIĆ**

**UTJECAJ RAZLIČITIH INHALACIJSKIH TERAPIJA NA PNEUMONIJU  
POVEZANU S MEHANIČKOM VENTILACIJOM U BOLESNIKA S COVIDOM-19:  
RANDOMIZIRANO KONTROLIRANO ISPITIVANJE**

**DOKTORSKI RAD**

**SPLIT, 2024.**

Doktorska disertacija provedena je na Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje Kliničkog bolničkog centra u Split.

Voditelj rada: doc. dr. sc. Božidar Duplančić, dr. med.

## Zahvala

*Zahvaljujem prijatelju i mentoru doc. dr. sc. Božidaru Duplančiću na podršci i savjetima pri izradi ove disertacije.*

*Zahvaljujem svim prijateljima i kolegama, a osobito dr. sc. Andriji Matetiću i dr. sc. Sjetlani Došenović na stručnoj i moralnoj podršci pri izradi ove disertacije.*

*„Nijedno prijateljstvo nije slučajno.“ O. Henry*

*Zahvaljujem svim djelatnicima COVID Centra KBC-a Split.*

*Zahvaljujem svojoj obitelji na podršci.*

## SADRŽAJ

|                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. UVOD.....                                                             | 1  |
| 1.1. Bolest uzrokovana koronavirusom 2019 .....                          | 2  |
| 1.1.1. Etiologija .....                                                  | 2  |
| 1.1.2. Varijante SARS-CoV-2 virusa .....                                 | 3  |
| 1.1.3. Epidemiologija.....                                               | 3  |
| 1.1.4. Patofiziologija.....                                              | 4  |
| 1.1.5. Komplikacije bolesti .....                                        | 5  |
| 1.1.5.1. Kardijalne manifestacije .....                                  | 5  |
| 1.1.5.2. Hematološke manifestacije.....                                  | 6  |
| 1.1.5.3. Neurološke komplikacije .....                                   | 6  |
| 1.1.5.4. Gastrointestinalne komplikacije .....                           | 6  |
| 1.1.5.5. Bubrežne komplikacije .....                                     | 7  |
| 1.1.5.6. Endokrinološke komplikacije .....                               | 7  |
| 1.1.6. Kliničke manifestacije COVID-19 .....                             | 8  |
| 1.1.7. Dijagnostički pristup.....                                        | 9  |
| 1.1.7.1. Slikovne pretrage .....                                         | 10 |
| 1.2. Akutni respiratorni distresni sindrom.....                          | 10 |
| 1.2.1. Patofiziologija.....                                              | 13 |
| 1.2.2. Liječenje .....                                                   | 14 |
| 1.2.2.1. Pronacijski položaj .....                                       | 16 |
| 1.2.2.2. Ekstrakorporalna membranska oksigenacija .....                  | 16 |
| 1.2.2.3. Kortikosteroidi, antivirusni i imunomodulacijski lijekovi ..... | 16 |
| 1.3. Pneumonija povezana s mehaničkom ventilacijom .....                 | 17 |
| 1.3.1. Patogeneza .....                                                  | 20 |
| 1.3.2. Prevencija .....                                                  | 20 |
| 1.3.3. Liječenje .....                                                   | 20 |
| 1.3.4. Mukocilijarna disfunkcija.....                                    | 21 |
| 2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA.....                                  | 23 |
| 3. MATERIJALI I METODE.....                                              | 25 |
| 3.1. Etička načela .....                                                 | 26 |
| 3.2. Organizacija istraživanja .....                                     | 26 |
| 3.3. Ishodi istraživanja .....                                           | 27 |
| 3.4. Postupci .....                                                      | 28 |

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| 3.5. Intervencije.....                                             | 29 |
| 3.5.1. Inhalacija 5% hipertonične otopine natrijevog klorida.....  | 29 |
| 3.5.2. Inhalacija otopine N-acetilcisteina .....                   | 29 |
| 3.5.3. Inhalacija otopine 8,4% natrijevog bikarbonata .....        | 30 |
| 3.6. Proces randomizacije.....                                     | 30 |
| 3.7. Statistička analiza .....                                     | 30 |
| 4. REZULTATI .....                                                 | 31 |
| 4.1. Osnovna obilježja.....                                        | 32 |
| 4.2. Osnovna laboratorijska obilježja .....                        | 34 |
| 4.3. Incidencija bakterijske pneumonije.....                       | 37 |
| 4.4. Incidencija gljivične pneumonije .....                        | 40 |
| 4.5. Prediktori pneumonije povezane s mehaničkom ventilacijom..... | 41 |
| 4.6. Usporedba smrtnosti i neželjenih ishoda.....                  | 44 |
| 4.7. Analiza osjetljivosti ovisno o spolu .....                    | 44 |
| 4.8. Analiza osjetljivosti ovisno o statusu preživljenja .....     | 47 |
| 5. RASPRAVA.....                                                   | 48 |
| 6. ZAKLJUČCI .....                                                 | 54 |
| 7. SAŽETAK.....                                                    | 56 |
| 8. SUMMARY.....                                                    | 58 |
| 9. LITERATURA .....                                                | 60 |
| 11. ŽIVOTOPIS.....                                                 | 82 |

## **POPIS OZNAKA I KRATICA:**

ACE2 – angiotenzin konvertirajući enzim 2 (engl. *angiotensin-converting enzyme 2*)

ALT – alanin aminotransferaza

aOR – prilagođeni omjer izgleda (engl. *adjusted odds ratio*)

ARDS – akutni respiratorni distresni sindrom

ARMA – multicentrično, randomizirano istraživanje u bolesnika s ARDS-om (engl. *respiratory management in acute lung injury/ARDS*)

AST – aspartat aminotransferaza

ATCC – međunarodni centar za biomaterijale i standardizaciju (engl. *American Type Culture Collection*)

CARDS – akutni respiratorni distres sindrom povezan s COVID-19

CCI – Charlsonov indeks komorbiditeta (engl. *Charlson comorbidity index*)

CDC – Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (engl. *Centers for disease control and prevention*)

CFU – jedinica za stvaranje kolonija (engl. *colony-forming unit*)

CHROMagar – kromogena podloga za izolaciju bakterija

CI – interval pouzdanosti (engl. *confidence interval*)

CKD-EPI – formula za procjenu glomerularne filtracije iz serumskog kreatinina (engl. *chronic kidney disease epidemiology*)

COVID-19 – bolest uzrokovana novim SARS-CoV2 koronavirusom (engl. *Coronavirus disease 2019*)

CRP – C-reaktivni protein

CT – kompjuterizirana tomografija

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

ECMO – ekstrakorporalna membranska oksigenacija (engl. *extracorporeal membrane oxygenation*)

eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije (engl. *estimated glomerular filtration rate*)

E-protein – protein ovojnice (engl. *envelope*)

EUCAST – Europsko povjerenstvo za testiranje osjetljivosti na antimikrobne lijekove (engl. *European Committee on antimicrobial susceptibility testing*)

GGT – gama glutamil transferaza

H1N1 – hemaglutinin 1, neuraminidaza 1

HCO<sub>3</sub> – hidrogenkarbonat

HFNO – nosna kanila visokog protoka (engl. *high flow nasal oxygenation*)

hsTnT – troponin T visoke osjetljivosti (engl. *troponin T, high sensitivity*)

ICTV – međunarodni odbor za taksonomiju virusa (engl. *International Committee on taxonomy of viruses*)

IDSA – Američko društvo za infektivne bolesti (engl. *Infectious diseases Society of America*)

IgG – imunoglobulin klase G

IgM – imunoglobulin klase M

IgM/IgG – omjer imunoglobulina klase M i imunoglobulina klase G

IL-1 $\beta$  – interleukin 1 $\beta$

IL-6 – interleukin 6

IL-8 – interleukin 8

INR – internacionalni normalizirani omjer (engl. *international normalized ratio*)

JAK – Janus kinaza

JIL – jedinica intenzivnog liječenja

KBC – klinički bolnički centar

KKS – kompletna krvna slika



KOPB – kronična opstruktivna plućna bolest

LDH – laktat dehidrogenaza

MALDI-TOF MS – masena spektrometrija (engl. *matrix assisted laser desorption/ionization, time-of-flight, mass spectrometry*)

MCV – prosječni volumen eritrocita (engl. *mean corpuscular volume*)

MDR – višestruko rezistentan na lijekove (engl. *multiple drug resistance*)

MERS-CoV – Bliskoistočni respiratorni sindrom koronavirus (engl. *Middle East respiratory syndrome coronavirus*)

M-protein – membranski protein (engl. *membrane protein*)

MRSA – metilcilin-rezistentni *Staphylococcus aureus*

NAAT – test amplifikacije nukleinske kiseline (engl. *nucleic acid amplification test*)

NCTC – međunarodni centar za biomaterijale i standardizaciju (engl. *National Collection of Type Cultures*)

NIH – Američki Nacionalni institut za zdravlje (engl. *National Institutes of Health*)

NIV – neinvazivna ventilacija (engl. *noninvasive ventilation*)

N-protein – nukleokapsidni protein (engl. *nucleocapsid protein*)

NT-proBNP – N terminalni B-tip natrijuretički peptid (engl. *N-terminal pro-Brain natriuretic peptide*)

OR – omjer izgleda (engl. *odds ratio*)

ORF – dio genoma koronavirusa (engl. *open reading frame*)

P/F ili PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> – omjer parcijalnog tlaka kisika u arterijskoj krvi i inspiratorne frakcije kisika

PAWP – plućni okluzivni kapilarni tlak (engl. *pulmonary arterial wedge pressure*)

pCO<sub>2</sub> – parcijalni tlak ugljičnog dioksida

PCSK5 – proprotein konvertaza subtilisin/keksin 5 (engl. *proprotein convertase subtilisin/kexin 5*)

PCSK5 – proprotein konvertaza subtilisin/keksin 7 (engl. *proprotein convertase subtilisin/kexin 7*)

PEEP – pozitivni tlak na kraju izdisaja (engl. *positive end expiratory pressure*)

pH – negativni logaritam množinske koncentracije vodikovih iona u otopini (lat. *potentia hydrogenii*)

pO<sub>2</sub> – parcijalni tlak kisika

PROSEVA – istraživanje utjecaja pronacije na smrtnost u bolesnika s teškim oblikom ARDS-a (engl. *Proning Severe ARDS Patients*)

RdRp – RNA-ovisna RNA polimeraza (engl. *RNA-dependent RNA polymerasis*)

RDW – indeks distribucije veličine eritrocita (engl. *red blood cell distribution width*)

RNP – ribonukleoprotein

RT-qPCR – kvantitativna lančana reakcija polimeraze u stvarnom vremenu (engl. *quantitative reverse transcription polymerase chain reaction*)

S/F ili SpO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> – omjer periferne saturacije kisikom i inspiratorne frakcije kisika

SARS-CoV-2 – Teški akutni respiratorni sindrom koronavirus 2 (engl. *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*)

SIADH – sindrom neprimjerenog izlučivanja antidiuretskog hormona (engl. *syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion*)

SpO<sub>2</sub> – saturacija krvi kisikom

S-protein – protein šiljastih izdanaka (engl. *spike*)

SPSS – statistički software (engl. *statistical package for the social sciences*)

SZO – Svjetska zdravstvena organizacija

SŽS – središnji živčani sustav

T3 – trijodtironin

T4 – tiroksin

TMPRSS2 – transmembranska serinska proteaza 2 (engl. *transmembrane serine protease 2*)

TNF- $\alpha$  – čimbenik nekroze tumora alfa (engl. *tumor necrosis factor  $\alpha$* )

VAC – stanje povezano s mehaničkom ventilacijom (engl. *ventilator-associated condition*)

IVAC – komplikacija povezana s mehaničkom ventilacijom, a povezana s infekcijom (engl. *infection-related ventilator-associated complication*)

VAE – događaji povezani s ventilatorom (engl. *ventilator-associated event*)

VAP – pneumonija povezana s mehaničkom ventilacijom (engl. *ventilator-associated pneumonia*)

VOC – varijanta koja izaziva zabrinutost (engl. *variant of concern*)

VOI – varijanta od značaja (engl. *variant of interest*)

VOM – varijanta pod nadzorom (engl. *variant under monitoring*)

vWF – von Willebrandov faktor

## **1. UVOD**

## 1.1. Bolest uzrokovana koronavirusom 2019

Koronavirusna bolest 2019 (engl. *coronavirus disease 2019*, COVID-19) je zarazna bolest uzrokovana novim koronavirusom SARS-CoV-2 (engl. *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*). Prvi slučajevi zabilježeni su krajem prosinca 2019. u Wuhanu, gradu u kineskoj provinciji Hubei. Virus je ostvario brzo širenje zbog čega je Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) proglasila javnozdravstveno hitno stanje od međunarodnog značaja krajem siječnja 2020., a nedugo nakon u ožujku 2020. pandemiju (1). Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji do siječnja 2024. je zabilježeno 774.291.287 slučajeva COVID-19 u svijetu, te više od 7 milijuna smrtnih slučajeva (2). Uvažavajući sve navedeno, COVID-19 je prouzročio najveću globalnu zdravstvenu krizu od pandemije virusa gripe iz 1918. godine (3).

U Hrvatskoj je prvi slučaj zaraze potvrđen 25. veljače 2020. u mladića koji je prethodno boravio u Italiji. Bolesnik je istoga dana hospitaliziran u zagrebačkoj Klinici za zarazne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, a otpušten je 12. ožujka, što se ujedno smatra i prvim ozdravljenjem od koronavirusa u Hrvatskoj. Prvi smrtni slučaj posljedično komplikacijama COVID-19 u Hrvatskoj zabilježen je 25. ožujka. Prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, do veljače 2024. u Hrvatskoj je od COVID-19 oboljelo 1.309.728, a preminulo je 18.687 osoba (4).

### 1.1.1. Etiologija

Koronavirusi su virusi iz reda *Nidovirales*, obitelji *Coronaviridae* i podobitelji *Orthocoronavirinae*. Podobitelj *Orthocoronavirinae* uključuje četiri roda: alfakoronavirus, betakoronavirus, gamakoronavirus i deltakoronavirus (5). Genomske analize su pokazale da su šišmiši i glodavci vjerojatan izvor alfa i betakoronavirusa, dok su ptice izvori delta i gamakoronavirusa (6). Ovi virusi uobičajeno uzrokuju respiratorne, crijevne, jetrene i neurološke bolesti u različitim životinjskih vrsta, ali ponekad prijelaze barijeru vrste i uzrokuju infekcije u ljudi (3). Do sada je poznato 7 humanih koronavirusa, uključujući Humani koronavirus 229E, Humani koronavirus NL63, Humani koronavirus OC43, Humani koronavirus HKU1, Bliskoistočni respiratorni sindrom koronavirus (MERS-CoV), Teški akutni respiratorni sindrom koronavirus (SARS-CoV) i Teški akutni respiratorni sindrom koronavirus 2 (SARS-CoV-2) (7-9).

Koronavirusi su pleomorfne čestice veličine 80-120 nm. Virion sadrži ribonukleoprotein (RNP) građen od RNA i nukleokapsidnog (N) proteina. RNP je okružen lipidnom ovojnicom u kojoj su usidrena tri proteina: membranski (M) protein, protein ovojnice (E) i protein šiljastih izdanaka, „spike“ (S) (10). S-proteini su odgovorni za vezanje na receptor i fuziju membrana, a pod elektronskim mikroskopom daju karakteristični izgled sunčeve korone, po čemu su koronavirusi i dobili ime (11). Genomskim analizama koronavirus izoliran iz skupine bolesnika s atipičnom pneumonijom u Wuhanu podudara se 89% sa šišmišjim, a 82% s humanim SARS koronavirusom. Zbog toga ga je Međunarodni odbor za taksonomiju virusa (engl. *International Committee on Taxonomy of Viruses*, ICTV) nazvao SARS-CoV-2 (5). Smatra se da je SARS-CoV-2, slično kao i SARS i MERS, prešao sa šišmiša na intermedijarnog domaćina, primjerice pangolina, potom na ljude (12).

### **1.1.2. Varijante SARS-CoV-2 virusa**

Poznato je da se virusi mijenjaju i vremenom evoluiraju. Kada su te promjene takve da se virus značajno razlikuje od izvornog nazivamo ih varijante. Kada varijanta ima mutacije za koje se sumnja ili zna da uzrokuju značajne promjene i široko cirkuliraju u populaciji nazivamo je „varijanta od značaja“ (engl. *variant of interest*, VOI), kada se „varijanta od značaja“ počne lakše širiti, uzrokuje teže bolesti, izbjegava imunološki odgovor ili odgovor na javne mjere, dijagnostiku, terapiju i cjepivo nazivamo je „varijanta koja izaziva zabrinutost“ (engl. *variant of concern*, VOC) (13).

„Varijante po nadzorom“ (engl. *variant under monitoring*, VUM) su one za koje postoje naznake da se ponašaju kao VOC, ali još za to nema dovoljno dokaza. VOC u Europskoj uniji su Beta (detektirano u rujnu 2020.), Gama (detektirano u prosincu 2020.), Delta (detektirano u prosincu 2020.) i Omikron (detektirano u studenom 2021.) (14).

### **1.1.3. Epidemiologija**

Nakon prvih slučajeva u Wuhanu krajem 2019. virus se proširio po svim kontinentima, a do trenutka pisanja ove disertacije zabilježeno je više od 770 milijuna potvrđenih slučajeva COVID-19, uključujući više od 7 milijuna smrti (2). Jedna studija na temelju broja zaraženih, broja smrtnih slučajeva povezanih s COVID-19 i seroprevalencije procjenjuje da je do studenog 2022. godine 44% svjetske populacije bar jednom bilo zaraženo SARS-CoV-2 (15).

Najčešći način prijenosa SARS-CoV-2 je izravnim kontaktom od osobe do osobe (16). Virus se oslobađa u respiratornom sekretu, a osoba se može zaraziti inhalacijom ili kontaktom čestica s mukoznom membranom, preko ruku zaražene osobe, a rjeđe preko kontaminiranih površina. Nekoliko studija pokazalo je da se živi virus može pronaći u fecesu oboljelih iako je feko-oralni način prijenosa malo vjerojatan (17). Vertikalni prijenos s majke na dijete je također moguć, ali u zanemarivom broju slučajeva (18).

Razina virusne RNK u uzorcima gornjeg respiratornog sustava je najveća u prvih sedam do deset dana od infekcije i tada je najveća vjerojatnost da su zaraženi pojedinci infektivni (19).

Bolesnici stariji od 60 godina i bolesnici s komorbiditetima imaju veću vjerojatnost za razvijanje teškog oblika bolesti. Rizik od hospitalizacije je 6 puta veći, a rizik od smrti 12 puta veći u bolesnika s komorbiditetima (20). Također, veći rizik za razvoj teškog oblika bolesti i veći mortalitet imaju muškarci u odnosu na žene (21).

#### **1.1.4. Patofiziologija**

Protein šiljka potreban je za ulazak SARS-CoV-2 u stanicu, a sastoji se od dvije podjedinice, S1 i S2. S1 podjedinica veže angiotenzin konvertirajući enzim 2 (engl. *angiotensin-converting enzyme 2*, ACE2) receptor, dok S2 podjedinicu razgrađuje transmembranska serinska proteaza 2 (engl. *transmembrane serine protease 2*, TMPRSS2) i tako omogućuje fuziju virusa sa staničnom membranom (22). Najveće viralno opterećenje je u tkivima koji ekspimiraju ACE2 i TMPRSS2 kao što su epitelne stanice traheobronhalnog stabla, pneumociti tipa 2, endotelne stanice, kardiomiociti i epitelne stanice crijeva. Osim ACE2 i TMPRSS2, još neki proteini mogu olakšati ulazak virusa u stanicu. Katepsini pokreću upalnu kaskadu koja dovodi do apoptoze i piroptoze, te imaju važnu ulogu u remodeliranju matriksa, privlačenju neutrofila i mijeloproteinaze (23). Heparan sulfat olakšava vezanje za stanicu, dok dijelovi na S-proteinu nalik na furin ubrzavaju replikaciju virusa u plućima (23). Neuropilin-1 olakšava vezanje virusa za stanice nosa (24). ACE2 mogu biti izraženi uz proinflamatorne proteaze kao što su furin, proprotein konvertaza subtilisin/keksin 5 (engl. *proprotein convertase subtilisin/kexin 5*, PCSK5), PCSK7, koje su izražene u većim količinama u muškaraca, a ekspresija se povećava s dobi (25).

Većina kliničkih manifestacija SARS-CoV-2 povezana je virusom uzrokovanim promjenama imunološkog sustava i posljedične ozljede tkiva. Najvažnije promjene su

humoralna imunodeficijencija s B-staničnim defektom, hiperinflamatorno stanje s gubitkom T-staničnih linija i visokom razinom citokina (osobito IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ), te ozljeda aktivirana komplementom (26). Interferoni su važni u obrani od virusnih infekcija, a razina interferona je smanjena u bolesnika s teškim oblikom COVID-19 (27). Razina interferona je različita u različitim tkivima i direktno korelira s težinom bolesti. Tip I interferona važan je u ranom tijeku infekcije i u bolesnika s održanom replikacijom virusa. Razina interferona tipa II povećana je u svim tkivima u teškom obliku bolesti, a interferon tipa III se uglavnom nalazi u gornjem dišnom sustavu u blagom obliku bolesti i visokih razina virusa. Podaci iz animalnih modela potvrđuju ideju da teški oblik COVID-19 nastaje zbog zakazivanja interferonom upravljane antivirusne aktivnosti (28).

Patogenezu COVID-19 pneumonije možemo podijeliti u dvije faze. U ranoj fazi ozljeda tkiva nastaje direktno zbog replikacije virusa. U kasnoj fazi zaražene stanice pokreću imunološki odgovor s aktivacijom T-limfocita, monocita i neutrofila s otpuštanjem proinflammatoryh citokina. Teški oblik COVID-19 nastaje prekomjernom aktivacijom imunološkog sustava s takozvanom citokinskom olujom, povećanom razinom citokina (osobito IL-6 i TNF- $\alpha$ ) s lokalnim i sistemskim upalnim odgovorom (29). Više je mehanizama nastanka povećane vaskularne permeabilnosti i rezultirajućeg plućnog edema (endotelitis, disregulacija renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava zbog vezanja virusa na ACE2 receptore, aktivacija kalikrein-bradikininskog puta, edem epitelnih stanica i poremećaj međustaničnih spojeva) (30-32).

### **1.1.5. Komplikacije bolesti**

#### **1.1.5.1. Kardijalne manifestacije**

Budući da su ACE2 receptori izraženi i na miocitima, moguć je direktni citotoksični učinak virusa te posljedični miokarditis (33). Isto tako, proinflammatory citokini uzrokuju vaskulitis, miokarditis i kardijalne aritmije (34). Također, COVID-19 bolesnici koji imaju akutni koronarni sindrom imaju veću smrtnost, veću učestalost tromboze stenta i srčanog zatajenja od bolesnika koji nemaju COVID-19 (35, 36). Akutni koronarni sindrom povezan s COVID-19 može nastati iz više razloga. Endotelna disfunkcija u COVID-19 može uzrokovati progresiju aterosklerotske bolesti (37). Poznato je da infekcija dovodi do protrombotskog stanja i ozljede endotela aktivacijom von Willebrandovog faktora (vWF), tromboksana i aktivatora



plazminogena (38). Nadalje, pretjerani imunوسي odgovor uzrokuje kemotaksiju i daljnje stvaranje imunosi stanica (39). Sve ovo može dovesti do nestabilnosti aterosklerotskog plaka (40).

#### **1.1.5.2. Hematološke manifestacije**

Tijekom inkubacije i u ranoj fazi bolesti razina leukocita i limfocita je normalna ili blago snižena, a tijekom viremije nastaje značajna limfopenija (41). Mogući mehanizmi nastanka limfopenije su razaranje limfocita posredovano ACE2 receptorima (42), citokinima uzrokovana apoptoza limfocita (43) te inhibicija proliferacije limfocita zbog laktoacidoze (44). Trombocitopenija i neutrofilija su česte u teškim oblicima bolesti. Poznato je da je COVID-19 povezan s hiperkoagulabilnosti koja nastaje direktnim oštećenjem virusom ili oštećenjem vaskularnog endotela citokinima, što dovodi do aktivacije trombocita, monocita, makrofaga, povećane ekspresije tkivnog faktora, von Willebrandovog faktora i faktora VIII, te stvaranja trombina i fibrinskog ugruška (45).

#### **1.1.5.3. Neurološke komplikacije**

Više od 90% oboljelih od COVID-19 bolesti ima neurološke simptome (46). Težina neuroloških simptoma u rasponu je od lakših, kao što su glavobolja, vrtoglavica, poremećaji okusa i mirisa, do ozbiljnijih, kao što su inzult, cerebralna venska tromboza, sindrom Guillain-Barre, meningitis, akutni mijelitis (46, 47). Nije u potpunosti razjašnjeno kako virus prodire u središnji živčani sustav (SŽS) s obzirom da periciti, mikroglia i neuroni nemaju izražene ACE2 receptore (47). Pretpostavlja se da SARS-CoV-2 može invadirati SŽS retrogradno preko olfaktornog živca, infekcijom vaskularnog endotela, migracijom leukocita preko krvno-moždane barijere, a moguće je da za vezanje na stanicu SARS-CoV-2 može koristiti i neke druge proteine, kao što su basigin i neuropilin-1 (48-50). Većina neuroloških manifestacija ipak ne nastaje zbog direktne invazije virusa u mozak, nego nastaje kao reakcija domaćina na infekciju, koja dovodi do poremećaja mikrocirkulacije, potom hipoksije i smrti neurona (46).

#### **1.1.5.4. Gastrointestinalne komplikacije**

Razina ACE2 receptora je 4 puta veća na enterocitima nego u ostalim tkivima (51). SARS-CoV-2 uzrokuje malapsorpciju triptofana, što rezultira poremećajem crijevne flore i upalom (52). Patogeneza gastrointestinalnih manifestacija je također multifaktorijalna; direktna citotoksičnost virusa, upala uzrokovana citokinima, poremećaj crijevne flore i vaskularni poremećaji (53).

Hepatociti i bilijarne epitelne stanice također imaju visoku razinu ACE2 receptora (54). Slijedom toga, uobičajene su u SARS-CoV-2 infekciji povišene razine jetrenih enzima (AST, ALT), a razina ovih enzima je viša što je teži oblik bolesti (52, 55). COVID-19 bolesnici s postojećom bolesti jetre imaju lošiju prognozu (52). Ozljeda jetre u COVID-19 infekciji vjerojatno nastaje citokinima i hipoksijom, a ozljedu mogu pogoršati hepatotoksični lijekovi kao što su remdesivir i tocilizumab (52, 54).

#### **1.1.5.5. Bubrežne komplikacije**

Akutna ozljeda bubrega je najčešća izvanplućna manifestacija COVID-19 i povezana je s većim mortalitetom (56). Bolesnici oboljeli od teškog oblika COVID-19 imaju povećani rizik za razvijanje ozljede bubrega (57). Prema jednoj velikoj multicentričnoj studiji 36,6% hospitaliziranih bolesnika s COVID-19 razvije akutnu ozljedu bubrega, od čega 14,3% bolesnika zahtijeva bubrežnu nadomjesnu terapiju (57).

Tijekom aktivne infekcije bubrezi filtriraju citokine i faktore virulencije iz krvi, a dendritičke stanice prezentiraju antigene T stanicama u bubrežnim limfnim čvorovima (58, 59). Samim time, bubrezi su izloženi ozljedi bilo direktnom invazijom SARS-CoV-2 virionima, bilo reaktivnim kisikovim vrstama i aktivacijom stvaranja komplementa (58-61). Infiltracijom bubrežnih tubula virusom mogu nastati nefropatije kao što su bolest anti-glomerularne bazalne membrane i membranski glomerulonefritis (58, 59). Ponavljanom ozljedom bubrežnog epitela i intersticija nastaje fibroza što kasnije dovodi do akutnog bubrežnog zatajenja (58, 59). Ostale nefropatije u sklopu SARS-CoV-2 infekcije uključuju ishemijsko-reperfuzijsku ozljedu, s rabdomiolizom povezanu tubularnu toksičnost, kardio-renalni sindrom i nefrotoksičnost lijekova (58, 62).

#### **1.1.5.6. Endokrinološke komplikacije**

Nekoliko prikaza slučajeva pokazalo je da SARS-CoV-2 može oštetiti hipotalamus i hipofizu s različitim kliničkim ishodima. Najčešće se radi o poremećajima elektrolita, ali zabilježeni su slučajevi hemoragijskog inzulta hipofize, centralnog dijabetesa insipidusa i sindroma neprimjerenog izlučivanja antidiuretskog hormona (SIADH) (63-66).

Poremećaji funkcije štitnjače česti su tijekom SARS-CoV-2 infekcije. Prema jednoj studiji 20% bolesnika hospitaliziranih zbog COVID-19 imalo je tireotoksikozu, a bolesnici s tireotoksikozom imaju povišen rizik za atrijsku fibrilaciju, tromboembolijske događaje, veću smrtnost i dulje vrijeme hospitalizacije (67). Isto tako, zabilježeni su i slučajevi

hipotireoidizma, koji su također povezani s lošijim ishodom (68). Na funkciju štitne žlijezde osim COVID-19 infekcije može utjecati i poremećaj osi hipotalamus-hipofiza-štitnjača, neki lijekovi, a niska razina trijodtironina (T3) i tiroksina (T4) uobičajene su u bolesnika u jedinici intenzivnog liječenja (69-71).

Neka istraživanja su pokazala povezanost COVID-19 i akutnog pankreatitisa, a to se objašnjava direktnom ozljedom virusom, sistemskim upalnim odgovorom, virusom induciranom lipotoksičnošću te oštećenjem lijekovima (72). Prema jednom istraživanju učestalost hiperglikemije u COVID-19 bolesnika je i do 50% (73). Hiperglikemija je povezana s produljenim boravkom u jedinici intenzivnog liječenja, duljim trajanjem mehaničke ventilacije i višom smrtnosti (74). Smatra se da hiperglikemija u kritično oboljelih može nastati zbog inzulinske rezistencije, ali i zbog manjka inzulina uslijed razaranja stanica Langerhansovih otočića virusom (74).

Sepsa, hipotenzija i hipoksija uzrokuju aktivaciju osi hipotalamus-hipofiza-nadbubreg (75). To potiče oslobađanje kortikosteroida koji moduliraju upalni odgovor (75). Izlučivanje kortizola je poremećeno tijekom kritične bolesti te u nekim slučajevima nastaje neosjetljivost na kortizol (75). Slično tome, dokazano je da kritično oboljeli COVID-19 bolesnici imaju nižu razinu kortizola od bolesnika koji nemaju COVID-19 (76).

#### **1.1.6. Kliničke manifestacije COVID-19**

Medijan inkubacijskog razdoblja za Delta soj je 4 dana, a za Omikron 3 dana (77). Prema američkom Nacionalnom Institutu za zdravlje (NIH), težinu kliničke slike COVID-19 možemo podijeliti na pet podtipova: asimptomatska infekcija, blaga bolest, umjerena bolest, teška bolest i kritična bolest (78). Asimptomatski ili presimptomatski su pojedinci s pozitivnim testom na SARS-CoV-2, ali bez kliničkih simptoma (78). Blaga bolest uključuje simptome kao što su vrućica, kašalj, grlobolja, malaksalost, mialgija, mučnina, povraćanje, proljev, anosmija ili dizgeuzija, ali bez osjećaja kratkoće daha ili nalaza na slikovnim pretragama pluća (78). Umjerenu bolest imaju oni bolesnici koji imaju kliničke simptome ili nalaz koji sugerira bolest donjeg dišnog sustava na slikovnim pretragama pluća i koji imaju saturaciju kisikom (SpO<sub>2</sub>)  $\geq 94\%$  na sobnom zraku (78).

Znakovi teške bolesti su saturacija kisikom  $< 94\%$  na sobnom zraku, omjer parcijalnog tlaka kisika u arterijskoj krvi i inspiratorne frakcije kisika (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>)  $< 300$  mmHg uz značajnu tahipneju ( $> 30$  u minuti) ili više od 50% infiltrata na slikovnim pretragama pluća (78).

Bolesnici koji razviju akutno respiratorno zatajenje, septički šok i/ili multiorgansko zatajenje su kritično oboljeli (78).

### 1.1.7. Dijagnostički pristup

Za detekciju SARS-CoV-2 virusa koriste se serološki testovi ili testovi antitijela te molekularni testovi (78).

Serološki testovi detektiraju specifična antitijela koja tijelo proizvodi u odgovoru na infekciju, a ona ne moraju biti detektibilna i do 3 tjedna nakon infekcije (79). Prema tome, ovi testovi nisu indicirani za dokazivanje akutne infekcije, nego služe kao dokaz nedavne ili prijašnje infekcije, te se mogu koristiti za određivanje adekvatnog donora konvalescentne plazme, za dokazivanje multisistemskog upalnog odgovora ili za procjenu udjela populacije koja je bila izložena virusu (80). Američko društvo za infektivne bolesti (engl. *Infectious Diseases Society of America*, IDSA) zbog veće točnosti preporuča koristiti testove koji detektiraju IgG antitijela, uključujući neutralizirajuća antitijela, radije nego IgM, IgA ili omjer IgM/IgG antitijela (81).

Za dokazivanje akutne infekcije koriste se molekularni testovi, koji uključuju testove amplifikacije nukleinske kiseline (engl. *nucleic acid amplification test*, NAATs) i antigenske testove (80). Preporučeni uzorak je nazofaringealni bris, rjeđe se uzimaju uzorci iz donjeg dišnog sustava zbog opasnosti od aerosolizacije virusa tijekom izvođenja procedure (80). Od testova amplifikacije nukleinske kiseline zlatni standard je kvantitativna lančana reakcija polimeraze u stvarnom vremenu (engl. *quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction*, RT-qPCR) (80). Ovi testovi koriste specifične primere za amplifikaciju i identifikaciju tragova virusnog genetskog materijala (82). Najčešće se ciljaju geni za proteine E, N, S i ORF1ab (engl. *open reading frame*), te RdRp (engl. *RNA-dependent RNA polymerase*) (82). Smatraju se zlatnim standardom zbog brzine, visoke specifičnosti i osjetljivosti (83).

Antigenski testovi detektiraju virusne antigene i manje su osjetljivi od laboratorijskih testova amplifikacije, ali imaju sličnu specifičnost (84). Ovi testovi su najmjerodavniji u ranoj fazi simptomatske bolesti pri visokoj razini virusa, a glavna prednost im je jednostavnost izvođenja i brzina (85). Većina antigenskih testova cilja N protein, tako da mutacija na proteinu šiljka neće utjecati na točnost testa (86). Iako Omikron varijanta ima četiri mutacije na N proteinu smatra se da većina antigenskih testova može detektirati Omikron i njegove podvarijante (86).

### **1.1.7.1. Slikovne pretrage**

S obzirom da se COVID-19 često manifestira kao pneumonija, slikovne pretrage pluća su od velike važnosti za dijagnostiku ove bolesti (87). Sumacijska snimka prsnog koša ima malu osjetljivost u ranim stadijima bolesti kada može biti u potpunosti normalna (87). U naprednijim stadijima bolesti pokazuje obostrane multifokalne, konfluirajuće promjene (87). Može biti prisutan i pleuralni izljev (87).

Kompjuterizirana tomografija (CT) ne preporuča se kao inicijalna slikovna metoda niti kao probir, ali može biti od velike važnosti za procjenu progresije bolesti (87). Najčešći nalaz su područja konsolidacija koja nalikuju na mliječno staklo, tipično su periferno i više zahvaćaju stražnje dijelove donjih režnjeva pluća (87).

Ultrazvuk pluća korisna je metoda u procjeni progresije bolesti, a tipične promjene su nepravilne, često zadebljale pleuralne linije, subpleuralne konsolidacije, te povećanje broja B linija (88).

## **1.2. Akutni respiratorni distresni sindrom**

Akutni respiratorni distresni sindrom (ARDS) je akutno hipoksično respiratorno zatajenje s bilateralnim infiltratima na slikovnim pretragama pluća koje se ne mogu objasniti srčanim zatajenjem niti volumnim opterećenjem (89). ARDS obuhvaća stanja s različitom etiologijom uz zajednička obilježja koja uključuju: 1) povećanu permeabilnost alveolo-kapilarne membrane koja rezultira upalnim edemom, 2) povećan neventilirani dio pluća koji rezultira povećanom plućnom elastičnošću, odnosno smanjenom popustljivošću i 3) povećan mimotok i mrtvi prostor koji rezultiraju hipoksemijom i hiperkapnijom (90). ARDS može nastati direktnom ozljedom pluća (pneumonija, aspiracija) te indirektno, odnosno izvanplućnim uzrocima od kojih su najčešći sepsa, pankreatitis i trauma (90). Također, postoji mogućnost genetske sklonosti, kao u ljudi s određenom varijantom gena za haptoglobin (91). Virusna pneumonija jedan je od prvih prepoznatih uzroka ARDS-a (92), a sojevi koji češće uzrokuju ARDS pojavljuju se periodično. To su mahom sojevi koji su uzrokovali epidemije 2003. (SARS-CoV), 2009. (H1N1 influenza), 2012. (MERS-CoV) te 2019. godine (SARS-CoV-2) (93).

ARDS je prvi put opisan 1967. godine (92), ali prvi univerzalno prihvaćeni kriteriji za dijagnozu ARDS-a su doneseni na Američko-Europskoj Konsenzus Konferenciji 1994. (94).

Ovi kriteriji revidirani su 2012., što danas nazivamo „Berlinska definicija“ (95). Nedavno su donesene nove smjernice Europskog društva za Intenzivnu medicinu u kojima se razmatra proširivanje trenutne definicije (**Tablica 1**) (96). Primjerice, upotreba nosne kanile visokog protoka kisika (engl. *high flow nasal oxygenation*, HFNO) u akutnom hipoksemičnom zatajenju disanja je u porastu od 2015., a osobito tijekom COVID-19 pandemije (97). Upotreba HFNO-a kod teškog oblika COVID-19 u nekim istraživanjima bila je povezana s manjom potrebom za mehaničkom ventilacijom, iako bez utjecaja na smrtnost (98). S obzirom na to, neki stručnjaci zagovaraju da se u definiciju ARDS-a uključe bolesnici na HFNO-u, uz protok barem 30 L/min, koji zadovoljavaju ostale kriterije za ARDS (99). Nedostatak ovog pristupa je što bi nova definicija obuhvatila bolesnike s boljom prognozom i utjecala na usporedbe između grupa (100). Slično tome, u posljednje vrijeme predlaže se korištenje omjera periferne saturacije kisikom i FiO<sub>2</sub> (S/F omjer) umjesto P/F omjera kao mjere stupnja hipoksemije (101). Prednost je ove metode što je manje invazivna i dostupnija, a nedostatak je manja točnost, osobito u stanjima loše periferne perfuzije te u osoba tamnije kože (102).

**Tablica 1.** Kronologija kriterija za akutni respiratorni distresni sindrom.

|                               | Američko-Europska konferencija 1994.                                                                                                                  | Berlinska definicija 2012.                                                                                                                                                                | Predložene izmjene od 2022.        |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| <b>Nastup</b>                 | Akutno, nespecificirano                                                                                                                               | Unutar 7 dana                                                                                                                                                                             |                                    |
| <b>Bilateralni infiltrati</b> | Rentgen                                                                                                                                               | Rentgen ili CT                                                                                                                                                                            | Ultrazvuk                          |
| <b>Uzrok edema</b>            | PAWP ≤17 mmHg                                                                                                                                         | Ne može se drugačije objasniti                                                                                                                                                            |                                    |
| <b>Oksigenacija</b>           | PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> <ul style="list-style-type: none"> <li>• akutna ozljeda pluća &lt;300 mmHg</li> <li>• ARDS &lt;200 mmHg</li> </ul> | PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> <ul style="list-style-type: none"> <li>• blagi &gt;200 mmHg ≤300 mmHg</li> <li>• umjereni &gt;100 mmHg ≤200 mmHg</li> <li>• teški ≤100 mmHg</li> </ul> | SpO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> |
| <b>PEEP</b>                   | Nije specificirano                                                                                                                                    | ≥ 5 cm H <sub>2</sub> O                                                                                                                                                                   | HFNO, bez minimalnog PEEP-a        |

**Kratice:** PAWP – plućni okluzivni kapilarni tlak (engl. *pulmonary arterial wedge pressure*); PEEP – pozitivni tlak na kraju izdisaja (engl. *positive end-expiratory pressure*), HFNO – nosna kanila visokog protoka (engl. *high flow nasal oxygenation*).

Zbog svoje heterogenosti smatra se da postoji nekoliko različitih fenotipova ARDS-a s obzirom na kliničke i biološke osobitosti (103), uključujući fenotip prema uzroku, biološki fenotip, radiološki fenotip i fiziološki fenotip.

Fenotip prema uzroku podrazumijeva razlikovanje uzroka ARDS-a. Uzrok ARDS-a može biti plućni, kao što su pneumonija, kontuzija pluća, aspiracija želučanog sadržaja, inhalacijska ozljeda i utapanje, te izvanplućni, kao što su sepsa, pankreatitis, trauma, transfuzija i toksičnost lijekova (103). ARDS plućnog uzroka ima značajke alveolarne, a ARDS izvanplućnog uzroka značajke endotelne ozljede (104). Kod ARDS-a povezanog s COVID-19 (engl. *COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome*, CARDS) važnu ulogu ima imunološka disfunkcija. Na to nam ukazuje činjenica da bolesnici s CARDS-om pokazuju dobar odgovor na kortikosteroidnu terapiju (105), a COVID-19 bolesnici koji zahtijevaju neinvazivnu respiratornu potporu imaju dobiti od ranog davanja inhibitora IL-6 i inhibitora Janus kinaze, za razliku od bolesnika s ARDS-om drugog uzroka (106).

Biološki fenotip uvažava razliku u upalnom odgovoru. Još 2014. otkrivena su dva fenotipa s obzirom na biomarkere upalnog odgovora (107). Tako možemo razlikovati hiperinflamatorni i hipoinflamatorni fenotip (107). Hiperinflamatorni fenotip ima više koncentracije IL-6, IL-8 i TNF- $\alpha$ , niže koncentracije bikarbonata i proteina C, te često sepsu kao rizični čimbenik nastanka ARDS-a (107). Najveće razlike su pronađene u terapijskom pristupu kod hiperinflamatornog u odnosu na hipoinflamatorni fenotip. Tako primjerice, hiperinflamatorni fenotip ima koristi od većeg PEEP-a (108) i liberalnog pristupa nadoknade tekućinom (109).

Radiološki fenotip podrazumijeva analizu radioloških pretraga. ARDS obilježavaju difuzni bilateralni infiltrati na sumacijskoj snimci prsnog koša, ali na temelju CT snimaka identificirana su dva različita fenotipa (110). Prvi je takozvani ne-fokalni fenotip s difuznim i krpčastim gubitkom prozračnosti pluća (111). Ovaj fenotip dobro odgovara na PEEP i manevre regrutiranja pluća (engl. *recruitment*) (111). Drugi je fokalni fenotip s pretežno dorzalno-inferiornim konsolidacijama koji bolje odgovara na pronacijski položaj (111). S obzirom na nepraktičnost CT-a, neki autori su pokazali da se ultrazvukom pluća može razlikovati fokalni od ne-fokalnog fenotipa (112).

Fiziološki fenotip se zasniva na analizi CT snimki i fizioloških obilježja, kao što su udio mimotoka i ventilacije mrtvog prostora, a identificirana su dva fenotipa s različitim odgovorom na regrutiranje pluća (113). Prvi fenotip pokazivao je slabiji odgovor na manevre regrutiranja

pluća, a bolesnici s drugim fenotipom, koji su imali više mrtvog prostora, nižu plućnu popustljivost i niži P/F omjer, imali su bolji odgovor na manevre regrutiranja, ali i višu smrtnost (113).

Ostaje za vidjeti kolika je stabilnost podfenotipova tijekom vremena (od početnog ARDS-a do oporavka), kolika je točnost i reproducibilnost podfenotipova u različitim populacijama, koji su patofiziološki putovi razvoja različitih podfenotipova, postoji li razlika u smrtnosti među skupinama i može li terapijska strategija temeljena na podfenotipovima poboljšati ishode nakon otpusta iz jedinica intenzivnog liječenja (JIL-a) (96).

### **1.2.1. Patofiziologija**

Patofiziologija ARDS-a je još nedovoljno razjašnjena, ali smatra se da ga uzrokuje aktivacija i disregulacija upalnog i koagulacijskog sustava, kako u plućima, tako i sistemski (114). Tipični patološki nalaz uključuje obostranu pneumoniju, difuznu alveolarnu ozljedu uz neutrofilni pneumonitis i odlaganje hijalinih membrana (115). Ozljeda alveolarnog epitela i kapilarnog endotela, dakle alveolo-kapilarne membrane je tipično za ARDS (114). Plućni epitel se sastoji od tankog sloja stanica tipa I između kojih su stanice tipa II. Ozljedom stanica tipa I dolazi do poremećenog transporta tekućine i naplavlivanja alveola (116), a ozljedom stanica tipa II poremećena je proizvodnja surfaktanta (117). Površinu alveola oblaže sloj glikozaminoglikana i proteoglikana koji još nazivamo glikokaliks (118). Ozljedom glikokaliksa dolazi do otpuštanja tkivnog faktora i antikoagulantnih molekula (119). Sve ove promjene potiču stvaranje fibrina koji dovodi do stvaranja hijalinih membrana (115). Alveolarni epitel stvara antibakterijske proteine kao što su surfaktantski protein A i D, tako da ozljeda epitela može povećati sklonost sekundarnim infekcijama (120). Plućni kapilarni endotel je barijera između cirkulirajuće plazme i krvnih stanica te plućnog parenhima. Ozljeda plućnog endotela je ključno obilježje ARDS-a, a karakterizirana je pojačanom ekspresijom adhezijskih molekula (P-selektin, E-selektin) i medijatora ozljede endotela (angiopoetin-2) (110). Endotel je, kao i epitel, prekriven glikokaliksom, čijim oštećenjem se olakšava nastanak edema (121). Ozljedom endotela dolazi do otpuštanja antikoagulantnih molekula, kao što su trombomodulin i endotelni receptor za protein C, te povećane ekspresije prokoagulantnih molekula koje uzrokuju stvaranje mikrovaskularne tromboze (122). Oštećenju alveolo-kapilarne membrane doprinosi lokalna i sistemska upala s migracijom neutrofila u zračni prostor koji otpuštaju reaktivne kisikove vrste, proteaze i proinflamatorne medijatore kao što su prostaglandini i leukotrieni (123). Upalni



proces pojačava i pojava takozvanih neutrofilnih ekstracelularnih zamki građenih od DNA, histona i proteaza (124). U cijelom procesu intraalveolarne upale važnu ulogu imaju makrofagi (125) te limfociti i dendritičke stanice (126).

Mehanička ventilacija je spasonosna terapija za bolesnike s respiratornim zatajenjem, ali isto tako ventilacija visokim volumenima i tlakovima može uzrokovati ozljedu pluća koja po patofiziologiji nalikuje ARDS-u (127). Smanjena homogenost plućnog parenhima zbog konsolidacija dovodi do smanjene plućne popustljivosti, te posljedično do volutraume, odnosno barotraume (127). Ovaj koncept, da u izmjeni plinova sudjeluje samo manji dio plućnog parenhima, naziva se tzv. *baby-lung* koncept (128). Na staničnoj razini ponavljano rastezanje epitela aktivira proizvodnju citokina i kemokina (110). Također, rastezanjem se epitelne stanice odvajaju od bazalne membrane, što rezultira staničnom smrću i poremećajem transporta tekućine (110). Zbog gubitka funkcije surfaktanta dolazi do ponavljano kolapsa alveola na kraju izdaha. Ovaj tip ventilatorom inducirane ozljede pluća nazivamo atelektrauma (110).

### 1.2.2. Liječenje

Cilj mehaničke ventilacije u ARDS-u je smanjiti rad disanja, poboljšati izmjenu plinova te izbjeći pogoršanje postojeće ozljede (129). Za liječenje COVID-19 bolesnika s hipoksijom uz očuvanu popustljivost dišnog sustava ( $>50$  ml/mbar) može se koristiti HFNO i neinvazivna ventilacija (NIV) (130, 131).

Učinkovitost konvencionalne terapije kisikom je ograničena zbog protoka do 15 L/min i nemogućnosti ovlaživanja, što može dovesti do slabog podnošenja (96). HFNO može isporučiti grijani i ovlaženi kisik uz protoke do 60 L/min (132). Pri višim protocima, HFNO može postići PEEP 3-5 cmH<sub>2</sub>O, ovisno o protoku i mehanici disanja (133). Prema jednom istraživanju na COVID-19 bolesnicima, 93% bolesnika koji su intubirani nakon pokušaja HFNO-a imali su kriterije za ARDS (100). Nepoznato je kod HFNO-a kakav je utjecaj na funkcionalne ishode i koje su mjere neuspješnog pokušaja i potrebe za intubacijom (134). Prema nekim istraživanjima, bolesnici s neuspješnim pokušajem HFNO-a imali su veću smrtnost od bolesnika liječenih konvencionalnim kisikom (98, 135). Nejasno je je li to zbog odgađanja intubacije ili zbog težine bolesti, te su potrebna daljnja istraživanja.

Neinvazivna ventilacija preporučena je u bolesnika s hiperkapnijskim zatajenjem disanja kod egzacerbacije kronične opstruktivne plućne bolesti (KOPB-a) ili kod kardiogenog

plućnog edema (136). U početnoj fazi COVID-19 pandemije NIV se koristio relativno često, i to u 47% bolesnika u JIL-u u Wuhanu (137). Prema trenutnim preporukama NIV se može koristiti umjesto HFNO-a za smanjenje rizika od intubacije, ali visoka je razina dokaza da nema utjecaja na smrtnost (96).

U bolesnika sa slikom „klasičnog“ ARDS-a uz narušenu mehaniku disanja i popustljivosti dišnog sustava <40 ml/mbar terapija izbora je endotrahealna intubacija i mehanička ventilacija (138).

Prijelomna točka u liječenju ARDS-a bilo je ARMA istraživanje 2000. godine koje je uspoređivalo mehaničku ventilaciju s dišnim volumenima ( $V_t$ ) od 12 ml/kg i 6 ml/kg idealne tjelesne mase uz tlak platoa manji od 30 cmH<sub>2</sub>O (139). Istraživanje je završeno ranije zbog značajnog smanjenja smrtnosti u skupini u kojoj su korišteni manji volumeni ventilacije (139). Trenutne su preporuke ograničavanje  $V_t$  na 4-8 ml/kg uz tlak platoa manji od 30 cmH<sub>2</sub>O (96).

Ventilacijom inducirana ozljeda pluća može nastati zbog prekomjerne distenzije (volutrauma/barotrauma) te zbog opetovanog kolapsa i otvaranja alveola (atelektrauma) (140). Ideja protektivne ventilacije je smanjiti stres (tlak primijenjen na pluća) i naprezanje (deformacija iz stanja mirovanja) (140).

Pozitivni tlak na kraju izdisaja drži alveole otvorenima, smanjuje intrapulmonalni mimotok i omogućuje adekvatnu oksigenaciju (141). S druge strane, PEEP povećava volumen na kraju udisaja, a time i rizik od volutraume (142). Osim toga, više razine PEEP-a smanjuju srčani izbačaj zbog porasta pleuralnog tlaka i povećanja plućnog vaskularnog otpora (143). Iako je određena razina PEEP-a potrebna da bi se spriječilo zatvaranje alveola, dosadašnja istraživanja nisu jednoznačno pokazala koja je idealna vrijednost PEEP-a u bolesnika s ARDS-om (96).

Za otvaranje kolabiranih dijelova pluća predloženi su tzv. *recruitment* manevri koji se većinom sastoje od prolaznog povećavanja dišnog i transpulmonalnog tlaka (144). Rutinsko izvođenje ovih manevara se trenutno ne preporučuje, osim u određenim situacijama, na primjer, kod hipoksemije nastale nakon odvajanja od respiratora zbog aspiracije, bronhoskopije ili premještanja bolesnika (96).

„Driving“ tlak ( $\Delta P$ ) je razlika tlaka platoa i PEEP-a, a vrijednosti iznad 15 cm H<sub>2</sub>O povezivane su s višom smrtnosti (145). Značaj praćenja ovog parametra nije potvrđen i potrebna su daljnja istraživanja (96).

### **1.2.2.1. Pronacijski položaj**

Pronacijski položaj u bolesnika s ARDS-om poboljšava oksigenaciju i omogućava homogeniju raspodjelu dišnog volumena (146). Prema PROSEVA istraživanju, bolesnici koji uz FiO<sub>2</sub> 0,6 i PEEP 5 cm H<sub>2</sub>O nakon razdoblja stabilizacije (prvih 12 sati) imaju P/F <150 mmHg, trebali bi biti mehanički ventilirani u pronacijskom položaju barem 16 sati dnevno do kliničkog poboljšanja (147).

Uz dokazane prednosti pronacijskog položaja postoje i neki nedostaci. Da bi se bolesnika postavilo u pronacijski položaj potrebno je minimalno pet osoba što je ponekad izazovno, osobito u razdoblju pandemije i manjka zdravstvenog osoblja. Uz to, mogući su i neželjeni događaji kao što su edem lica i dišnog puta, mogućnost slučajne ekstubacije ili presavijanja endotrahealne cijevi, presavijanje drenova, središnjih venskih katetera, urinskog katetera, nazogastrične sonde te nastanak dekubitusa lica, prsišta i trbuha (148).

Tijekom COVID-19 pandemije pronacijski položaj je u budnih bolesnika na terapiji visokim protocima kisika ili neinvazivnoj ventilaciji smanjio potrebu za endotrahealnom intubacijom, ali bez značajnog utjecaja na smrtnost (149).

Upotreba mišićnih relaksansa prethodno se preporučivala u prvih 48 sati mehaničke ventilacije i tijekom pronacijskog položaja jer se smatralo da poboljšava oksigenaciju i smanjuje transpulmonalne tlakove, a time i učestalost volotraume, barotraume i pneumotoraksa (150). Posljednja velika studija nije pokazala prednosti, te se više ne preporučuje korištenje relaksansa kod ARDS-a, osim u odabranim slučajevima sa značajnom neusklađenošću bolesnika i ventilatora (151).

### **1.2.2.2. Ekstrakorporalna membranska oksigenacija**

Veno-venska ekstrakorporalna membranska oksigenacija (engl. *extracorporeal membrane oxygenation*, ECMO) preporuča se u bolesnika s refrakternom hipoksemijom (P/F <50 mmHg >3 sata ili P/F <80 mmHg >6 sati) ili kod teškog hiperkapnijskog respiratornog zatajenja (PaCO<sub>2</sub> >60 mmHg >6 sati ili pH <7,25) unatoč mjerama protektivne ventilacije (96). S obzirom na složenost, ova metoda se preporuča samo u centrima koji za to imaju dovoljno iskustva i kapaciteta (96).

### **1.2.2.3. Kortikosteroidi, antivirusni i imunomodulacijski lijekovi**

Primjena kortikosteroida u ARDS-u bila je kontroverzna, ali dosadašnja istraživanja su bila heterogena u smislu uzroka i težine ARDS-a, te vremenu primjene i doziranja

kortikosteroida (152). Trenutni dokazi govore u prilog primjeni kortikosteroida u ARDS-u (153).

Nešto je manja razina dokaza za primjenu drugog imunomodulatora uz deksametazon. Ipak, u bolesnika na mehaničkoj ventilaciji ili ECMO-u preporuča se dati baricitinib ili tocilizumab, ukoliko nisu bili prethodno dati (154). Tocilizumab je monoklonsko protutijelo koje se veže za IL-6 receptor i na taj način sprječava propagaciju upalne kaskade (155).

Baricitinib je inhibitor Janus kinaze (JAK). JAK su molekule koje prenose signale od raznih kompleksa ligand-receptor, kao što su citokini, interferon i hormon rasta, do jezgre te imaju važnu ulogu u funkcioniranju imunskog sustava (156). Prema jednom sustavnom pregledu baricitinib je efikasan u hospitaliziranih bolesnika koji zahtijevaju potporu kisikom, a u bolesnika na mehaničkoj ventilaciji manja je snaga dokaza (154).

Paxlovid je kombinacija antivirusika nirmatrelvira i ritonavira, a primjena ovog lijeka preporučena je u bolesnika s čimbenicima rizika za progresiju u teški oblik COVID-19 (154).

Remdesivir je također antivirusni lijek. Veže se za RNA-ovisnu RNA polimerazu i inhibira replikaciju virusa. Najučinkovitiji je u ranom tijeku COVID-19 bolesti i u bolesnika koji ne zahtijevaju mehaničku ventilaciju, odnosno, indiciran je u bolesnika s blagom do umjerenom bolesti koji su u riziku razvijanja teškog oblika bolesti ili su imunokompromitirani (154). Još uvijek je nedovoljno dokaza za primjenu remdesivira u bolesnika na mehaničkoj ventilaciji (157).

### **1.3. Pneumonija povezana s mehaničkom ventilacijom**

Ventilator je naprava za potporu ili kontrolu disanja primjenom pozitivnog tlaka preko umjetnog dišnog puta kao što je endotrahealna ili traheostomijska cijev (158). Pneumonija povezana s mehaničkom ventilacijom (engl. *ventilator-associated pneumonia*, VAP) je bolnička pneumonija koja nastaje nakon više od 48 sati mehaničke ventilacije (159).

VAP je jedna od najčešćih infekcija u jedinicama intenzivnog liječenja, a značajno utječe na smrtnost i morbiditet (160). Incidencija VAP-a je od 5-40%, a ovaj raspon ovisi o zemlji, vrsti jedinice intenzivnog liječenja i kriterijima za dijagnozu (161). VAP produljuje trajanje intubacije i hospitalizacije, upotrebu antibiotika, pogoršava prognozu kritičnih bolesnika i povećava troškove liječenja (162-164).

VAP je klinička dijagnoza u bolesnika na mehaničkoj ventilaciji duljoj od 48 sati koji razviju novi ili progresivni infiltrat na rentgenu pluća uz kliničke znakove da je infiltrat infektivnog porijekla, te je izoliran patogen iz mikrobiološkog uzorka (165, 166). U bolesnika s normalnim rentgenom pluća i pozitivnim mikrobiološkim uzorkom, postavlja se sumnja na traheobronhitis (167).

Trenutno ne postoji pouzdana definicija VAP-a. Čak i široko korišteni kriteriji i definicije nemaju dovoljnu osjetljivost ni specifičnost za VAP (168). Većina definicija traži radiološki nalaz novog ili progresivnog infiltrata iako je subjektivnost i varijabilnost u interpretaciji rentgena pluća dobro poznata (169). Nadalje, izvještavanje o kliničkim znakovima i simptomima je također subjektivno i nezadovoljavajuće dokumentirano (170). Radna skupina američkog Centra za kontrolu i prevenciju bolesti (engl. *Centers for Disease Control and Prevention*, CDC) je 2013. donijela definicije tzv. događaja povezanih s ventilatorom (engl. *ventilator-associated events*, VAE) u svrhu boljeg nadzora i prijavljivanja komplikacija povezanih s ventilatorom (170). VAE se dijele u 3 razine (**Tablica 2**), a utjecaj ovih kriterija na kliničke ishode je nepoznat (171).

**Tablica 2.** Definicije događaja povezanih s ventilatorom prema američkom Centru za kontrolu i prevenciju bolesti.

| Događaj        | Definicija                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| VAC            | Respiratorno pogoršanje tijekom 2 dana: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Povećanje PEEP-a za <math>\geq 3</math> cm H<sub>2</sub>O ili</li> <li>• FiO<sub>2</sub> za <math>\geq 0,2</math></li> </ul> nakon čega slijedi razdoblje stabilnosti ili poboljšanja $\geq 2$ dana |
| IVAC           | VAC plus: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Temperatura <math>&gt;36^{\circ}\text{C}</math> ili <math>&lt;38^{\circ}\text{C}</math></li> <li>• Leukociti <math>\leq 4000</math> ili <math>\geq 12,000</math></li> <li>• Dodan 1 ili više antibiotika</li> </ul>               |
| VAP moguć      | IVAC plus: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pozitivno bojanje po Gramu ili dokaz patogena u kulturi gnojnog uzorka</li> </ul>                                                                                                                                                |
| VAP vjerojatan | IVAC plus: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pozitivno bojanje po Gramu</li> <li>• Kvantitativni ili semikvantitativni porast patogenog mikroorganizma preko predefiniranog praga</li> </ul>                                                                                  |

**Kratice:** VAC – stanje povezano s mehaničkom ventilacijom (engl. *ventilator-associated condition*); IVAC – komplikacija povezana s mehaničkom ventilacijom, a povezana s infekcijom (engl. *infection-related ventilator-associated complication*); VAP – pneumonija povezana s mehaničkom ventilacijom (engl. *ventilator-associated pneumonia*).

Preporuke o načinu uzimanja uzoraka se razlikuju među stručnim društvima. Jedni preporučuju invazivno uzimanje uzoraka (bronho-alveolarni lavat, aspiracija četkicom) i kvantitativne kulture (165, 166). Prednost invazivno uzetog uzorka je minimalna kontaminacija, odnosno veća točnost, te posljedično smanjena potrošnja antibiotika, a nedostatak je složenost postupka koja zahtijeva kvalificirano osoblje (172). Nasuprot tome, drugi daju prednost neinvazivnom uzimanju uzoraka (aspirat traheje) i semikvantitativnim metodama, a preporuku temelje na dokazima da nema razlike u smrtnosti i duljini boravka između ove dvije metode (173).

Prokalcitonin je važan biomarker, osobito je koristan u razgraničavanju bakterijske od ne-bakterijske izvanbolničke upale pluća. Za primjenu prokalcitonina u dijagnostici VAP-a nema dovoljno dokaza (174). Dosadašnja istraživanja su pokazala da prokalcitonin može biti

koristan prognostički marker (175) te da može pomoći u odluci kada prekinuti antibiotsku terapiju kod dokazanog VAP-a (176).

### **1.3.1. Patogeneza**

Pojava VAP-a ovisi o broju i virulenciji mikroorganizama koje ulaze u donji dišni sustav te o odgovoru domaćina na njih. Najčešći način infekcije pluća je mikroaspiracija organizama iz gornjeg dišnog sustava (177). Prisutnost endotrahealne cijevi olakšava aspiraciju bakterija iz gornjeg dišnog sustava ili gastrointestinalnog sustava (178). Hospitalizirani bolesnici se koloniziraju mikroorganizmima iz okoliša bilo direktnim kontaktom s kontaminiranom opremom i vodenim rezervoarima ili preko ruku bolničkog osoblja (179).

Etiologija VAP-a uvelike ovisi o rizičnim čimbenicima za patogene višestruko rezistentne na lijekove (engl. *multiple drug resistant*, MDR) (166). Rizični čimbenici za antibiotsku rezistenciju kod VAP-a su: primjena antibiotika unazad 90 dana, septički šok u vrijeme VAP-a, ARDS prethodi VAP-u, više od 5 dana hospitalizacije i prethodno akutno bubrežno nadomjesno liječenje (166).

### **1.3.2. Prevencija**

Iako se razne strategije provode za prevenciju VAP-a, nije do kraja jasno koliko one doprinose poboljšanju ishoda. Neke od tih mjera, kao što je njega usne šupljine klorheksidinom i profilaksa stres ulkusa, pokazale su se potencijalno škodljivima (180). Skupine mjera koje se učestalo koriste su izbjegavanje intubacije, prevencija ponovne intubacije, podizanje uzglavlja, minimiziranje sedacije, protokoli odvajanja, izbjegavanje učestalog mijenjanja ventilatorskih cijevi, ovlaživača i endotrahealne cijevi, njega usne šupljine, ali bez klorheksidina, i rana enteralna prehrana (180).

### **1.3.3. Liječenje**

Kod sumnje na VAP, nakon uzimanja mikrobioloških uzoraka započinje se empirijska antibiotska terapija (166). Izbor empirijske terapije ovisi o rizičnim čimbenicima za rezistentne organizme, postojanju rezistentnih organizama u anamnezi, nedavnom izlaganju antibiotskoj terapiji, težini bolesti i lokalnoj osjetljivosti patogena (181). Obično se empirijski daju

antibiotici s aktivnošću za *Staphylococcus aureus* i gram-negativne organizme kao što su *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* (166). Nakon prispjeća mikrobioloških kultura radi se deeskalacija antibiotske terapije, odnosno stavlja se antibiotik užeg spektra djelovanja ili se prelazi iz terapije kombinacijom antibiotika na monoterapiju (166).

Bakterijske superinfekcije u COVID-19 bolesnika dodatno pogoršavaju težinu bolesti i povećavaju mortalitet, osobito kada se razvije septički šok (182). Nije do kraja razjašnjeno koja je uloga SARS-CoV-2 u nastanku bakterijskih superinfekcija. Jedan od mogućih mehanizama je direktno oštećenje epitelnih stanica donjeg dišnog sustava s poremećenim mukocilijarnim čišćenjem i inhibicijom mehanizama regeneracije epitelnih stanica (183). Također, mogući su i drugi mehanizmi, kao što je tzv. *up-regulacija* receptora, slabljenje imunološkog odgovora i neprimjereno otpuštanje medijatora upale (184). Primjena inhibitora protonske pumpe povezana je s porastom bakterijskih infekcija supresijom proizvodnje želučane kiseline, što može dovesti do porasta želučane flore i porasta bakterija u tankom crijevu (185). Zabilježeno je također, da SARS-CoV-2 inficira i oštećuje enterocite, te na taj način olakšava translokaciju bakterija u krvotok (186).

Kritično oboljeli imaju veći rizik od razvijanja sekundarnih infekcija i zbog invazivnih naprava kao što su središnji venski kateteri i endotrahealna cijev (187). Prava incidencija bolničkih infekcija, osobito u kritično bolesnih COVID-19 bolesnika vjerojatno je podcijenjena zbog visokog rizika od smrti, koja često nastaje prije razvoja sekundarne infekcije (182). Pretjerana upotreba antibiotika širokog spektra tijekom COVID-19 pandemije možda je pridonijela selekcioniranju rezistentnih patogena (182). MDR infekcije su infekcije koje ne reagiraju na bar jednu od tri ili više antibiotskih skupina (188). Incidencija MDR infekcija u kritično oboljelih od COVID-19 je prema nekim istraživanjima između 32% i 50% (187). Širenje MDR bakterija moguće je bilo olakšano zbog prezaposlenosti zdravstvenog osoblja, prekomjernog broja bolesnika, uključivanja manje iskusnog zdravstvenog osoblja i manjka zaštitne opreme (189).

#### **1.3.4. Mukocilijarna disfunkcija**

Mukocilijarni sustav i refleks kašlja omogućavaju odstranjivanje stranih čestica i bakterija iz pluća. Sekretorne i trepetljikaste stanice nalaze se u većem dijelu provodnog dišnog sustava (190). Sekretorne stanice, osim mucina, otpuštaju i različite čestice s antimikrobnim i imunomodulirajućim osobinama kao što su lizozim, laktoferin, proteaze i dušični oksid (191).



Glavne makromolekule koje čine sluz su glikoproteini poznati kao mucini, a ti se proteini izlučuju kao odgovor na upalu (192). Mucini (MUC5AC, MUC5B) su velike molekule koje vežu vodu te formiraju sluz (193). Sluz oblaže dišni put i veže čestice i bakterije koje cilije zatim guraju prema orofarinksu (194, 195). Respiratorni sekret tvori viskoelastički gel koji se sastoji od sluzi, surfaktanta i pericilijarne tekućine (196). Ove odvojene komponente izrađene su od ugljikohidrata, proteina, lipida i izvanstanične vode (196). Sputum je kombinacija izlučevina gornjeg i donjeg dišnog puta zajedno s mikroorganizmima i staničnim ostacima koji se nalaze u respiratornom stablu (196).

Hiperplazija stanica i hipersekrecija sluzi nastaje kao odgovor dišnog puta na upalu i infekciju. Respiratorna sekrecija i uklanjanje putem mukocilijarnog mehanizma ključan je plućni obrambeni mehanizam (197). Upotreba mukoaktivnih lijekova ili olakšava iskašljavanje sluzi ili smanjuje hipersekreciju (198).

Iako je hipersekrecija sluzi prikladan odgovor na nadražujuće tvari i infekcije dišnog puta, neregulirana upalna kaskada unutar dišnih puteva može dovesti do patoloških količina sluzi i na kraju opstrukcije dišnog puta (197).

Mukocilijarna disfunkcija javlja se u mehanički ventiliranih bolesnika iz mnoštva razloga. Izravne učinke definiramo kao one koji proizlaze izravno iz mehaničkog ventilacijskog kruga (uključujući epitelna oštećenja od endotrahealne cijevi i balona, anestetika, nedostatka ovlaživanja, nemogućnost iskašljavanja) u odnosu na neizravne učinke koji proizlaze iz kritične bolesti (upala, nepokretnost, atelektaza) (199, 200). Rutinska upotreba sedativa suprimira kašalj, što uz povećanu količinu sekreta smanjuje šansu za odvajanje od ventilatora (201). Deksmetomidin i ketamin, u in vitro modelima, slabe mukocilijarnu funkciju (202). Poznato je da visoki FiO<sub>2</sub> smanjuje brzinu trahealne sluzi, vjerojatno zbog oslabljene cilijarne funkcije (200). Balon endotrahealne cijevi, izravnim oštećenjem epitela, narušava cilijarnu funkciju (200). Iskašljavanje je također narušeno zbog sprječavanja zatvaranja glotisa endotrahealnom cijevi (203). Štoviše, iskašljavanje je narušeno relativnom nepokretnošću i slabošću bolesnika, što dovodi do atelektaza i zadržavanja sekreta (204, 205).

Mukocilijarna disfunkcija dovodi do kroničnih infekcija, a to se u cističnoj fibrozi i bronhiektazijama naziva „začaranim krugom“. Dodatno dolazi do neravnoteže u oštećenjima i popravku, a to je proces koji se vjerojatno javlja i u mehanički ventiliranih bolesnika (206). Važan uzrok neuspješne ekstubacije ili dekanilacije traheostomije u većine bolesnika je prekomjerna traheobronhalna sekrecija s neučinkovitim ili slabim iskašljavanjem (207, 208).

## **2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA**

Ciljevi ovog istraživanja su:

1. Utvrditi postoji li razlika između kontrolne skupine i bolesnika liječenih preventivnom inhalacijskom mukoaktivnom terapijom u učestalosti bakterijskog i gljivičnog VAP-a u bolesnika s CARDS-om koji su na mehaničkoj ventilaciji;
2. Utvrditi postoji li razlika između kontrolne skupine i bolesnika liječenih preventivnom inhalacijskom mukoaktivnom terapijom u broju dana provedenih na mehaničkoj ventilaciji u bolesnika s CARDS-om koji su na mehaničkoj ventilaciji;
3. Utvrditi postoji li razlika između kontrolne skupine i bolesnika liječenih preventivnom inhalacijskom mukoaktivnom terapijom u 28-dnevnoj smrtnosti bolesnika s CARDS-om koji su na mehaničkoj ventilaciji.

Hipoteza ovog istraživanja je:

Bolesnici na mehaničkoj ventilaciji zbog CARDS-a koji preventivno primaju inhalacijsku mukoaktivnu terapiju imat će manju incidenciju VAP pneumonije, kraće trajanje strojne ventilacije i manju 28-dnevnu smrtnost od bolesnika u kontrolnoj skupini koji rutinski ne primaju inhalacijsku mukoaktivnu terapiju.

### **3. MATERIJALI I METODE**

### **3.1. Etička načela**

Svi postupci i klinička istraživanja provedeni su u skladu s etičkim standardima i amandmanima Helsinške deklaracije. Protokol studije odobrilo je Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Split, Hrvatska (br. 2181-147-01/06/M.S.-20-02). Pristup projektnoj dokumentaciji i identitetu bolesnika dopušten je samo glavnim istraživačima. Prikupljeni podaci korišteni su isključivo za ovo istraživanje. Relevantni podaci obrađeni su elektronički, a glavni istraživači pridržavali su se protokola za zaštitu podataka.

Uključeni bolesnici nisu mogli dati informirani pristanak za sudjelovanje u studiji zbog smanjene razine svijesti tijekom mehaničke ventilacije, ali je isti prikupljen od njihovih rođaka/članova obitelji u skladu s lokalnim protokolima. To je odobrilo nadležno Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Split (br. 2181-147-01/06/M.S.-20-02).

### **3.2. Organizacija istraživanja**

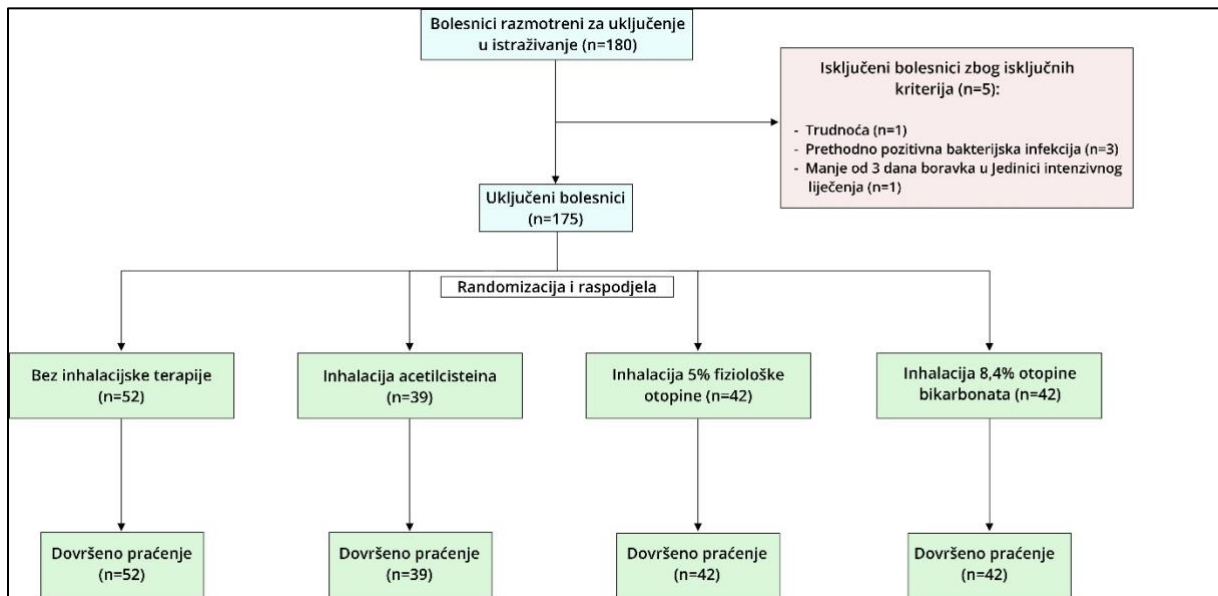
Ovo randomizirano kontrolirano ispitivanje provedeno je u Jedinici Intenzivnog liječenja Klinike za anesteziologiju i intenzivno liječenje Kliničkog bolničkog centra Split. Uključeno je ukupno 175 odraslih bolesnika s COVID-19 koji su bili liječeni mehaničkom ventilacijom zbog respiratorne insuficijencije između listopada 2020. i lipnja 2021. Svi uključeni bolesnici patili su od teškog ARDS-a kako je definirano Berlinskim kriterijima ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  je  $\leq 100$  mmHg na postavkama ventilatora koje uključuju  $\text{PEEP} \geq 5$  cm  $\text{H}_2\text{O}$ ) (95). Aktivni COVID-19 dijagnosticiran je i potvrđen u svih bolesnika specifičnim testom 3 sekvence (E-gen; ORF 1ab-gen; N-gen) testom lančane reakcije polimeraze (RT-PCR) (Liferiver Novel Coronavirus RT-PCR Kit/MIC qPCR cikler).

Bolesnici su randomizirani i raspoređeni u kontrolnu skupinu (bez rutinske inhalacije) ili jednu od skupina liječenja (inhalacija N-acetilcisteina; hipertonične 5% otopina natrijeva klorida; ili 8,4% natrijevog bikarbonata). Sve inhalacijske terapije davane su dva puta dnevno u intervalima od 12 sati. Prva inhalacija primijenjena je unutar 12 sati od prijema bolesnika u JIL. Ne postoje preporuke za rutinsku profilaktičku primjenu mukolitičke inhalacijske terapije u mehanički ventiliranih bolesnika (nema „zlatnog standarda“), stoga nismo primjenjivali nikakvu rutinsku inhalacijsku terapiju bolesnicima u kontrolnoj skupini. Međutim, slično postojećim studijama, nije bilo zabranjeno davati nerutinske, nebulizirane otopine od slučaja do slučaja, po liječničkom nahođenju, ako je postojala jaka indikacija (jaki gusti i žilavi sekret

ili bronhospazam) (209). U našoj kontrolnoj skupini je u 4 bolesnika jednokratno primijenjena inhalacija N-acetilcisteina zbog pojave gustog sekreta.

Kriteriji isključenja bili su: nedavna politrauma; trudnoća; teška hemodinamska nestabilnost definirana kao potreba za vazopresorskom/inotropnom terapijom ili mehaničkom potporom cirkulacije; kardiogeni plućni edem ili edem zbog preopterećenja tekućinom; duljina boravka u JIL-u kraća od 3 dana i prethodno potvrđena bakterijska pneumonija prije prijema u JIL.

Ovo je znanstveno istraživanje registrirano na internetskom izvoru [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) (pristupljeno 7. travnja 2022., Bethesda, MD, SAD) s registracijskim brojem NCT 04755972. Dijagram toka znanstvenog istraživanja prikazan je na **Slici 1**. Za ovu studiju nije bilo vanjskog financiranja.



**Slika 1.** Dijagram toka istraživanja.

Relevantni medicinski podaci dobiveni su iz elektroničke medicinske dokumentacije bolnice, terapijskih lista i papirnate dokumentacije.

### 3.3. Ishodi istraživanja

Primarni ishod ove studije bila je incidencija VAP-a. Sekundarni ishod bila je smrtnost od svih uzroka unutar vremenskog razdoblja od 28 dana. VAP je definiran kao mikrobiološki potvrđen respiratorni izolat popraćen jednim od sljedećeg: novim infiltratom pluća na radiografiji prsnog koša; novonastala vrućica u JIL-u (>38,3 °C); novonastala neutrofilija

(>85% ili pomak ulijevo); gnojni traheobronhalni sekret. Radiološku procjenu izvršili su iskusni radiolozi s posebnim fokusom na patologiju povezanu s COVID-19. Radiolog je bio zaslijepljen u svojoj interpretaciji radiografija prsnog koša.

U hrvatskom zdravstvenom sustavu bolesnici koji primaju mehaničku ventilaciju duže od 96 sati imaju jednake zdravstvene troškove (~16 000 €), pa autori nisu bili u mogućnosti istražiti ekonomske aspekte ispitivane terapije.

### 3.4. Postupci

Prikupljene su detaljne karakteristike pacijenata, uključujući antropometrijske podatke (dob, spol), komorbiditet, laboratorijski parametri kod prijema: kompletna krvna slika (KKS), C-reaktivni protein (CRP), ureja, kreatinin, LDH, troponin T visoke osjetljivosti (hsTnT), NT-proBNP, jetreni enzimi, parametri koagulacije, elektroliti, albumin, glukoza, plinska analiza arterijske krvi, te čimbenici povezani s hospitalizacijom (duljina boravka, trajanje mehaničke ventilacije). Procijenjena brzina glomerularne filtracije (eGFR) izračunata je pomoću CKD-EPI formule (210). Teret komorbiditeta procijenjen je pomoću Charlsonovog indeksa komorbiditeta (CCI), kao što je prethodno opisano (211).

Mikrobiološka analiza obavljena je prema medicinskim standardima. Uzorci za mikrobiološku analizu pažljivo su aspirirani sterilnim kateterom kroz endotrahealne cjevčice i zatim pravilno pohranjeni u sterilnu posudu. Primijenjene su stroge mjere kako bi se spriječila kontaminacija uzoraka. Uzorkovanje je izvršila iskusna medicinska sestra/tehničar iz tima JIL-a. Mikrobiološku analizu endotrahealnog aspirata proveo je iskusni doktor medicine specijalist medicinske mikrobiologije na Zavodu za mikrobiologiju KBC-a Split. Mikrobiološka uzorkovanja rađena su rutinski svakih 5 dana ili dodatno u slučaju kliničke indikacije, prema procjeni liječnika.

Endotrahealni aspirati uzgajani su na krvnom agaru i CHROMagar Orientation mediju (CHROMagar, Pariz, Francuska). Ploče su provjerene na rast bakterija nakon 24-48 h, a kvantitativne kulture su interpretirane korištenjem praga od  $>10^5$  jedinica koje stvaraju kolonije (CFU)/mL kako bi se odredio klinički značaj. Konačna identifikacija bakterijskih i gljivičnih vrsta provedena je pomoću MALDI-TOF MS (Bruker biotyper).

U ovoj studiji konačno su izolirane sljedeće bakterije: *Staphylococcus aureus* otporan na meticilin (MRSA); *Streptococcus pneumoniae*; *Corynebacterium* vrste; vrste *Acinetobacter*;

vrste *Pseudomonas*; vrste *Klebsiella*; *Enterobacter* vrste; vrste *Proteus*; vrste *Stenotrophomonas*; *Morganella* vrsta; vrsta *Elizabethkingia*; *Escherichia coli*; *Achromobacter xylosoxidans*; i vrste *Serratia*. Bakterije koje mogu rasti u nedostatku kisika smatraju se anaerobnim, uključujući fakultativne i obligatne anaerobne bakterije. Sljedeće bakterije smatrane su anaerobnim: vrsta *Klebsiella*; *Streptococcus pneumoniae*; *Enterobacter* vrste; vrste *Proteus*; *Morganella* vrsta; *Escherichia coli*; vrsta *Serratia*. Izolati koji su pokazali otpornost na  $\geq 2$  antibiotika tijekom testiranja osjetljivosti na antibiotike smatrani su bakterijama otpornim na više lijekova (MDR). Tumačenje MRSA fenotipa provedeno je pomoću EUCAST kliničkih prijelomnih točaka, dok je MRSA fenotip detektiran prema rezistenciji na cefoksitin u *Staphylococcus aureus*. Za kontrolu kvalitete korištena su oba referentna soja *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 i *Staphylococcus aureus* NCTC 12493 (mec A-pozitivan).

U ovoj studiji su izolirane sljedeće gljive: *Candida albicans*; *Candida glabrata*; *Candida parapsilosis* i vrste *Aspergillus*.

### **3.5. Intervencije**

#### **3.5.1. Inhalacija 5% hipertonične otopine natrijevog klorida**

5% otopina natrijevog klorida je hipertonična otopina, a njezina je sigurnost dosljedno dokazana u različitim studijama. Nekoliko korisnih učinaka ove otopine uključuje osmotski gradijent na površini bronha (212-214), smanjenu viskoznost (215, 216), protuupalno djelovanje (215, 216) i moguće antimikrobno djelovanje (217, 218). Većina nuspojava je blaga i spontano nestaje, poput kašlja, dispneje, iritacije grla i slanog okusa nakon udisanja (219). Everard i sur. prijavili su samo jednu ozbiljnu nuspojavu (bradikardiju i desaturaciju) tijekom primjene 5% otopine natrijevog klorida, koja je spontano nestala u sljedećim satima (220).

#### **3.5.2. Inhalacija otopine N-acetilcisteina**

Nebulizirani N-acetilcistein jedan je od najčešće korištenih lijekova za smanjenje viskoznosti sputuma i poticanje iskašljavanja (221). Sigurnost otopine N-acetilcisteina već je dokazana. N-acetilcistein može uzrokovati povremenu, lokaliziranu iritaciju, blagi bronhospazam, osjećaj pečenja u nosnoj sluznici, rinoreju, mučninu i povraćanje (222). Međutim, ove potencijalne nuspojave nisu u velikoj mjeri relevantne za ispitivanu populaciju zbog aktivne sedacije i mehaničke ventilacije.



### **3.5.3. Inhalacija otopine 8,4% natrijevog bikarbonata**

Bikarbonat je važan za stvaranje sluzi i njenu viskoznost (223). Nekoliko istraživanja proučavalo je inhalacijsku primjenu otopine natrijevog bikarbonata i pokazalo izvedivost ovog tretmana. Korišten je na bolesnicima s cističnom fibrozom (224), zdravoj populaciji nepušača i mehanički ventiliranim COVID-19 bolesnicima (225). U dostupnoj literaturi nisu prijavljene nikakve nuspojave povezane s primjenom inhalacije 8,4% bikarbonata (224).

### **3.6. Proces randomizacije**

Bolesnici su randomizirani pomoću internetske platforme za randomizaciju [www.random.org](http://www.random.org) (pristupljeno 7. travnja 2022., Randomness and Integrity Services Ltd., Dublin, Irska). Bolesnici su raspoređeni u skupine koristeći randomizacijski algoritam s podjednakom raspodjelom uz nasumični odabir u kontrolnu skupinu ili jednu od skupina liječenja.

### **3.7. Statistička analiza**

Statistička analiza provedena je prema standardnim statističkim metodama. Kategorijske varijable izražene su brojevima (postotcima) i analizirane hi-kvadrat testom, dok su kontinuirani podatci izraženi medijanom (interkvartilni raspon (IQR)) i analizirani Kruskal-Wallisovim testom. Kako bi se procijenili prediktori bilo koje bakterijske ili gljivične infekcije, provedene su univarijatne i multivarijatne binominalne logističke regresijske analize koje su opisane kao omjer izgleda (OR) odnosno prilagođeni omjeri izgleda (aOR), s 95% intervalima pouzdanosti (95% CI). Dvostrana *P*-vrijednost od  $<0,05$  smatrana je značajnom. Kako bi se uzele u obzir pogreške tipa 1 s višestrukim usporedbama, Bonferronijeva korekcija korištena je za sekundarne istraživačke nalaze i označena je ispod odgovarajuće tablice gdje je to prikladno. Statistička analiza podataka provedena je korištenjem softvera *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) (IBM Corp, New York, NY, SAD; verzija 20).

#### **4. RESULTATI**

#### 4.1. Osnovna obilježja

Nije bilo statistički značajne razlike u osnovnim obilježjima bolesnika između ispitivanih skupina, osim u udjelu bolesnika, koji je bio najveći u skupini liječenoj s 5% otopinom natrijevog klorida (42,9% naspram 16,7–23,1% u ostalim skupinama,  $P=0,047$ ), učestalosti prethodnog pušenja, koja je bila najveća u skupini liječenoj s 8,4% bikarbonatom (52,0% naspram 8,3–31,4% u ostalim skupinama,  $P=0,012$ ), i učestalosti prethodne perkutane koronarne intervencije, koja je bila najveća u skupini liječenoj s 5% otopinom natrijevog klorida (11,9% naspram 0,0–5,1% u drugim skupinama,  $P=0,048$ ) (Tablica 3).

**Tablica 3.** Usporedba osnovnih obilježja između ispitivanih skupina.

| Varijable                                    | Vrsta inhalacijskog liječenja                      |                                    |                                                 |                                            | P-vrijednost |
|----------------------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------|
|                                              | Kontrolna skupina – bez rutinske inhalacije (n=52) | Inhalacija N-acetilcisteina (n=39) | Inhalacija 5% otopine natrijevog klorida (n=42) | Inhalacija otopine 8,4% bikarbonata (n=42) |              |
| <b>Dob (godine)</b>                          | 68,0 (62,0-74,5)                                   | 68,5 (60,0-73,0)                   | 63,0 (53,3-68,8)                                | 63,5 (57,8-71,3)                           | 0,134†       |
| <b>Ženski spol</b>                           | 12 (23,1%)                                         | 11 (28,2%)                         | 18 (42,9%)                                      | 7 (16,7%)                                  | 0,047*       |
| <b>Sistolički tlak (mmHg)</b>                | 124,0 (112,5-147,0)                                | 129,5 (117,5-145,0)                | 140,0 (126,3-157,5)                             | 140,0 (133,5-151,5)                        | 0,773†       |
| <b>Dijastolički tlak (mmHg)</b>              | 71,0 (65,0-80,0)                                   | 72,5 (70,0-80,5)                   | 80,0 (70,8-88,8)                                | 76,0 (73,8-90,0)                           | 0,934†       |
| <b>Puls (/min)</b>                           | 97,0 (80,0-110,5)                                  | 80,0 (76,0-91,8)                   | 87,5 (80,5-93,8)                                | 89,0 (77,0-104,3)                          | 0,388†       |
| <b>Trajanje bolesti do intubacije (dana)</b> | 12,0 (9,0-17,0)                                    | 11,0 (9,8-14,3)                    | 10,5 (9,0-14,0)                                 | 11,0 (8,8-15,0)                            | 0,479†       |
| <b>Aktivno pušenje</b>                       | 1 (2,3%)                                           | 3 (9,7%)                           | 3 (7,9%)                                        | 1 (2,9%)                                   | 0,425*       |
| <b>Prijašnje pušenje</b>                     | 11 (31,4%)                                         | 2 (8,3%)                           | 9 (30,0%)                                       | 13 (52,0%)                                 | 0,012*       |
| <b>Arterijska hipertenzija</b>               | 32 (64,0%)                                         | 24 (61,5%)                         | 25 (59,5%)                                      | 22 (53,7%)                                 | 0,787*       |

|                                                |                 |                |                 |                 |        |
|------------------------------------------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|--------|
| <b>Dijabetes melitus</b>                       | 19 (38,0%)      | 6 (15,4%)      | 10 (23,8%)      | 12 (29,3%)      | 0,111* |
| <b>Dislipidemija</b>                           | 10 (20,0%)      | 5 (12,8%)      | 5 (11,9%)       | 8 (20,0%)       | 0,607* |
| <b>Kronično zatajenje srca</b>                 | 5 (10,0%)       | 2 (5,1%)       | 2 (4,8%)        | 0 (0,0%)        | 0,206* |
| <b>Atrijska fibrilacija</b>                    | 7 (14,0%)       | 5 (12,8%)      | 5 (11,9%)       | 5 (12,2%)       | 0,991* |
| <b>Prijašnji akutni infarkt miokarda</b>       | 3 (6,0%)        | 2 (5,1%)       | 6 (14,3%)       | 4 (9,8%)        | 0,426* |
| <b>Prijašnja akutna koronarna intervencija</b> | 0 (0,0%)        | 2 (5,1%)       | 5 (11,9%)       | 1 (2,4%)        | 0,048* |
| <b>Prijašnje aortokoronarno premoštenje</b>    | 2 (4,0%)        | 1 (2,6%)       | 2 (4,8%)        | 3 (7,3%)        | 0,780* |
| <b>Prijašnji cerebrovaskularni incident</b>    | 2 (4,1%)        | 2 (5,1%)       | 0 (0,0%)        | 3 (7,3%)        | 0,394* |
| <b>Periferna arterijska bolešt</b>             | 1 (2,0%)        | 1 (2,6%)       | 1 (2,4%)        | 3 (7,3%)        | 0,500* |
| <b>KOPB/astma</b>                              | 9 (18,0%)       | 1 (2,6%)       | 4 (9,5%)        | 5 (12,2%)       | 0,140* |
| <b>Charlsonov indeks komorbiditeta</b>         | 4,0 (2,0-5,0)   | 3,0 (2,0-3,3)  | 2,0 (2,0-3,8)   | 3,0 (2,0-4,0)   | 0,147† |
| <b>Duboka venska tromboza</b>                  | 0 (0,0%)        | 0 (0,0%)       | 0 (0,0%)        | 0 (0,0%)        | /      |
| <b>Plućna embolija</b>                         | 2 (3,9%)        | 1 (2,6%)       | 2 (4,8%)        | 0 (0,0%)        | 0,574* |
| <b>Pleuralna efuzija</b>                       | 22 (42,3%)      | 12 (30,8%)     | 17 (40,5%)      | 17 (40,5%)      | 0,699* |
| <b>Trajanje mehaničke ventilacije (dana)</b>   | 13,0 (8,0-21,0) | 8,5 (6,0-18,3) | 12,5 (5,0-19,0) | 10,5 (5,0-22,0) | 0,364† |

|                                        |                  |                  |                  |                  |        |
|----------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------|
| <b>Trajanje hospitalizacije (dana)</b> | 25,0 (17,5-34,0) | 25,0 (16,8-35,0) | 25,0 (18,0-31,8) | 30,5 (19,8-54,5) | 0,949† |
|----------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------|

Podatci su izraženi kao broj (postotak) ili medijan (interkvartilni raspon).

\*Hi-kvadrat test; †Kruskal Wallis test.

**Kratice:** KOBP – kronična opstruktivna bolest pluća.

## 4.2. Osnovna laboratorijska obilježja

Gledajući laboratorijske parametre, nije bilo statistički značajne razlike između ispitivanih skupina (**Tablica 4**).

**Tablica 4.** Usporedba laboratorijskih parametara među skupinama.

| Varijable                       | Vrsta inhalacije                                   |                                    |                                                 |                                            | P-vrijednost* |
|---------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------|
|                                 | Kontrolna skupina – bez rutinske inhalacije (n=52) | Inhalacija N-acetilcisteina (n=39) | Inhalacija 5% otopine natrijevog klorida (n=42) | Inhalacija otopine 8,4% bikarbonata (n=42) |               |
| <b>pH</b>                       | 7,45 (7,44-7,50)                                   | 7,46 (7,42-7,52)                   | 7,45 (7,43-7,49)                                | 7,48 (7,45-7,50)                           | 0,622         |
| <b>PaCO<sub>2</sub> (kPa)</b>   | 4,5 (4,1-5,6)                                      | 4,6 (4,1-5,8)                      | 4,7 (4,2-5,1)                                   | 4,4 (4,3-4,8)                              | 0,344         |
| <b>PaO<sub>2</sub> (kPa)</b>    | 5,9 (5,5-6,8)                                      | 6,7 (5,9-7,6)                      | 6,4 (5,1-7,9)                                   | 6,5 (5,9-7,5)                              | 0,486         |
| <b>SpO<sub>2</sub> (%)</b>      | 82,8 (78,2-88,7)                                   | 82,9 (79,9-89,4)                   | 86,5 (75,7-89,5)                                | 86,1 (81,5-90,4)                           | 0,583         |
| <b>HCO<sub>3</sub> (mmol/l)</b> | 25,3 (23,7-27,6)                                   | 24,6 (22,0-28,6)                   | 24,5 (22,0-26,0)                                | 25,8 (23,1-27,8)                           | 0,316         |
| <b>Višak baze</b>               | 1,0 (-0,9-5,0)                                     | 1,3 (-1,7-5,9)                     | -0,5 (-2,2-3,8)                                 | 3,4 (-1,8-4,3)                             | 0,546         |
| <b>hsTnT (ng/l; najveći)</b>    | 20,4 (14,5-39,4)                                   | 14,5 (9,8-66,1)                    | 17,4 (11,8-25,6)                                | 18,5 (10,8-38,6)                           | 0,555         |

|                                        |                             |                           |                             |                          |       |
|----------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|--------------------------|-------|
| <b>NTproBNP (pg/ml;<br/>najveći)</b>   | 848,0<br>(399,0-<br>2003,5) | 1142,0 (353,0-<br>1726,5) | 567,0<br>(251,3-<br>1254,8) | 633,5 (281,0-<br>4490,0) | 0,406 |
| <b>Eritrociti (x10<sup>12</sup>/l)</b> | 4,5 (4,2-4,8)               | 4,0 (3,8-4,5)             | 4,6 (4,3-<br>4,9)           | 4,5 (4,1-5,3)            | 0,288 |
| <b>Hemoglobin (g/l)</b>                | 136,0<br>(121,5-<br>148,5)  | 116,5 (108,3-<br>132,3)   | 131,0<br>(124,5-<br>149,8)  | 130,5 (122,5-<br>153,5)  | 0,099 |
| <b>MCV (fl)</b>                        | 90,3 (87,7-<br>92,3)        | 89,5 (84,4-<br>91,3)      | 87,1 (84,5-<br>91,2)        | 90,6 (86,6-<br>94,4)     | 0,652 |
| <b>RDW (%)</b>                         | 13,9 (13,2-<br>14,5)        | 13,7 (13,4-<br>14,6)      | 13,5 (12,9-<br>13,8)        | 13,7 (13,0-<br>14,2)     | 0,537 |
| <b>Trombociti (x10<sup>9</sup>/l)</b>  | 214,0<br>(165,5-<br>286,0)  | 331,0 (143,3-<br>456,3)   | 275,5<br>(202,5-<br>339,3)  | 262,5 (222,3-<br>323,3)  | 0,201 |
| <b>Leukociti (x10<sup>9</sup>/l)</b>   | 9,3 (7,1-<br>13,0)          | 8,3 (5,3-13,9)            | 9,3 (6,9-<br>11,8)          | 9,1 (7,3-14,2)           | 0,188 |
| <b>Neutrofili (x10<sup>9</sup>/l)</b>  | 8,0 (5,9-<br>11,4)          | 6,8 (4,5-12,8)            | 7,5 (5,3-<br>10,5)          | 7,8 (5,1-16,0)           | 0,372 |
| <b>Limfociti (x10<sup>9</sup>/l)</b>   | 0,6 (0,3-0,8)               | 0,6 (0,4-0,9)             | 0,6 (0,4-<br>1,1)           | 0,5 (0,4-0,9)            | 0,763 |
| <b>CRP (mg/l;<br/>početni)</b>         | 93,4 (47,6-<br>116,0)       | 99,3 (53,3-<br>156,3)     | 78,9 (60,4-<br>127,0)       | 77,2 (50,2-<br>135,51)   | 0,080 |
| <b>CRP (mg/l;<br/>najveći)</b>         | 222,5<br>(137,2-<br>330,3)  | 228,0 (153,5-<br>288,8)   | 160,9<br>(98,5-<br>260,6)   | 183,1 (151,6-<br>257,4)  | 0,666 |
| <b>Ureja (mmol/l)</b>                  | 9,6 (7,3-<br>12,7)          | 9,3 (5,4-14,8)            | 8,4 (7,6-<br>10,3)          | 9,1 (6,7-13,8)           | 0,768 |
| <b>Kreatinin (µmol/l)</b>              | 90,0 (76,5-<br>112,0)       | 66,5 (46,8-<br>107,0)     | 79,0 (71,0-<br>91,8)        | 82,0 (62,3-<br>151,3)    | 0,593 |

|                                         |                     |                     |                     |                     |       |
|-----------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|
| <b>eGFR (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>)</b> | 73,9 (52,1-87,0)    | 79,1 (58,2-101,4)   | 86,6 (70,2-91,6)    | 84,0 (41,7-98,1)    | 0,723 |
| <b>AST (U/l)</b>                        | 53,0 (38,5-92,0)    | 43,0 (35,3-60,3)    | 40,0 (32,3-70,3)    | 56,5 (37,3-75,3)    | 0,318 |
| <b>ALT (U/l)</b>                        | 52,0 (31,0-72,5)    | 42,5 (23,8-52,0)    | 37,0 (24,3-55,0)    | 43,5 (23,8-61,3)    | 0,318 |
| <b>GGT (U/l)</b>                        | 64,0 (36,0-113,0)   | 55,0 (31,0-100,0)   | 66,5 (29,5-82,8)    | 41,0 (24,3-75,3)    | 0,190 |
| <b>LDH (U/l)</b>                        | 548,0 (374,5-648,5) | 528,0 (431,5-718,3) | 486,0 (415,3-634,0) | 589,0 (447,5-713,0) | 0,580 |
| <b>D-dimeri (mg/l)</b>                  | 1,4 (0,8-5,0)       | 1,6 (0,7-10,4)      | 1,3 (0,8-5,7)       | 7,7 (2,1-16,6)      | 0,223 |
| <b>INR</b>                              | 1,0 (0,9-1,1)       | 1,0 (0,9-1,1)       | 1,0 (0,9-1,1)       | 1,0 (1,0-1,2)       | 0,390 |
| <b>Natrij (mmol/l)</b>                  | 138,0 (134,0-140,5) | 139,5 (137,0-142,3) | 137,5 (133,0-141,8) | 139,0 (137,8-141,8) | 0,773 |
| <b>Klorid (mmol/l)</b>                  | 100,0 (92,5-104,0)  | 104,5 (99,8-106,0)  | 100,5 (95,5-103,8)  | 102,0 (98,8-105,0)  | 0,728 |
| <b>Kalij (mmol/l)</b>                   | 4,3 (3,9-4,8)       | 4,1 (3,6-4,5)       | 4,4 (3,9-4,6)       | 4,1 (3,8-4,7)       | 0,852 |
| <b>Kalcij (mmol/l)</b>                  | 2,0 (1,9-2,1)       | 2,0 (1,7-2,0)       | 1,9 (1,9-2,0)       | 1,9 (1,9-2,0)       | 0,797 |
| <b>Fosfati (mmol/l)</b>                 | 1,0 (0,8-1,3)       | 1,1 (0,7-1,3)       | 1,0 (0,9-1,2)       | 1,3 (0,8-1,5)       | 0,712 |
| <b>Proteini (g/l)</b>                   | 57,0 (53,0-63,0)    | 54,5 (51,5-58,3)    | 58,5 (54,0-62,3)    | 57,5 (53,8-63,0)    | 0,182 |
| <b>Albumin (g/l)</b>                    | 29,2 (28,1-32,0)    | 27,5 (25,1-32,1)    | 30,2 (29,9-32,9)    | 29,9 (27,1-32,4)    | 0,154 |

|                         |                 |                |                |                |       |
|-------------------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|-------|
| <b>Glukoza (mmol/l)</b> | 10,4 (7,2-13,3) | 8,1 (6,4-12,2) | 9,8 (7,2-13,9) | 7,9 (7,5-10,9) | 0,483 |
|-------------------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|-------|

Podatci su izraženi kao broj (postotak) ili medijan (interkvartilni raspon).

\*Kruskal Wallis test.

**Kratice:** ALT – alanin aminotransferaza; AST – aspartat aminotransferaza; CRP – C-reaktivni protein; eGFR – procijenjena stopa glomerularne filtracije; LDH – laktat dehidrogenaza; GGT – gama glutamil transferaza; HCO<sub>3</sub> – bikarbonat; INR – internacionalni normalizirani omjer; hsTnT – visoko-osjetljivi troponin; MCV – prosječni volumen eritrocita; pO<sub>2</sub> – parcijalni tlak kisika; pCO<sub>2</sub> – parcijalni tlak ugljičnog dioksida; SpO<sub>2</sub> – saturacija kisikom; RDW – indeks distribucije veličine eritrocita.

### 4.3. Incidencija bakterijske pneumonije

Kada se uspoređuje incidencija bakterijske upale pluća među ispitivanim skupinama, nije bilo razlike u incidenciji ukupnih bakterijskih upala pluća (86,5% u kontrolnoj skupini naspram 89,7% u skupini inhalacije N-acetilcisteina naspram 88,1% u skupini inhalacije 5% natrijevog klorida naspram 76,2% u skupini inhalacije bikarbonata,  $P=0,298$ ), MDR bakterijske pneumonije (84,6% u kontrolnoj skupini naspram 87,2% u skupini liječenoj s inhalacijom N-acetilcisteina naspram 88,1% u skupini liječenoj s 5% natrijevim kloridom naspram 73,8% u skupini liječenoj s inhalacijom bikarbonata,  $P=0,270$ ), gram-negativne bakterijske pneumonije (76,9% u kontrolnoj skupini naspram 87,2% u skupini inhalacije N-acetilcisteina naspram 78,6% u skupini s 5% natrijevim kloridom naspram 73,8% u skupini skupina inhalacije bikarbonata,  $P=0,497$ ), aerobne bakterijske pneumonije (86,5% u kontrolnoj skupini naspram 74,4% u skupini inhalacije N-acetilcisteina naspram 85,7% u skupini inhalacije 5% natrijevog klorida naspram 69,0% u skupini inhalacije bikarbonata,  $P=0,111$ ) i anaerobne bakterijske pneumonije (28,8% u kontrolnoj skupini u odnosu na 33,3% u skupini koja je primala inhalaciju N-acetilcisteina u odnosu na 19,0% u skupini koja je primala 5% natrijev klorid u odnosu na 23,8% u skupini koja je primala inhalaciju bikarbonata,  $P=0,485$ ) (**Tablica 5**).



**Tablica 5.** Usporedba bakterijskih izolata između ispitivanih skupina.

| Varijable                                      | Vrsta inhalacije                                   |                                    |                                                 | P-vrijednost* |                                            |
|------------------------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------|---------------|--------------------------------------------|
|                                                | Kontrolna skupina – bez rutinske inhalacije (n=52) | Inhalacija N-acetilcisteina (n=39) | Inhalacija 5% otopine natrijevog klorida (n=42) |               | Inhalacija otopine 8,4% bikarbonata (n=42) |
| <b>Bakterijska pnemonija bilo kojeg uzroka</b> | 45 (86,5%)                                         | 35 (89,7%)                         | 37 (88,1%)                                      | 32 (76,2%)    | 0,298                                      |
| <b>MDR</b>                                     | 44 (84,6%)                                         | 34 (87,2%)                         | 37 (88,1%)                                      | 31 (73,8%)    | 0,270                                      |
| <b>Gram + bakterije</b>                        | 18 (34,6%)                                         | 4 (10,3%)                          | 8 (19,0%)                                       | 2 (4,8%)      | 0,001                                      |
| <b>Gram – bakterije</b>                        | 40 (76,9%)                                         | 34 (87,2%)                         | 33 (78,6%)                                      | 31 (73,8%)    | 0,497                                      |
| <b>Aerobne bakterije</b>                       | 45 (86,5%)                                         | 29 (74,4%)                         | 36 (85,7%)                                      | 29 (69,0%)    | 0,111                                      |
| <b>Anaerobne bakterije</b>                     | 15 (28,8%)                                         | 13 (33,3%)                         | 8 (19,0%)                                       | 10 (23,8%)    | 0,485                                      |
| <b>Izolirane bakterije:</b>                    |                                                    |                                    |                                                 |               |                                            |
| <i>Acinetobacter</i>                           | 32 (61,5%)                                         | 20 (51,3%)                         | 29 (69,0%)                                      | 23 (54,8%)    | 0,368                                      |
| <i>Pseudomonas</i>                             | 4 (7,7%)                                           | 4 (10,3%)                          | 5 (11,9%)                                       | 3 (7,1%)      | 0,855                                      |
| <i>Klebsiella</i>                              | 2 (3,8%)                                           | 3 (7,7%)                           | 1 (2,4%)                                        | 3 (7,1%)      | 0,637                                      |
| <b>MRSA</b>                                    | 18 (34,6%)                                         | 3 (7,7%)                           | 6 (14,3%)                                       | 1 (2,4%)      | <0,001                                     |
| <i>Enterobacter</i> vrsta                      | 1 (1,9%)                                           | 1 (2,6%)                           | 1 (2,4%)                                        | 2 (4,8%)      | 0,859                                      |
| <i>Proteus</i> vrsta                           | 7 (13,5%)                                          | 2 (5,1%)                           | 2 (4,8%)                                        | 1 (2,4%)      | 0,149                                      |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>                | 1 (1,9%)                                           | 1 (2,6%)                           | 2 (4,8%)                                        | 1 (2,4%)      | 0,859                                      |
| <i>Stenotrophomonas</i> vrsta                  | 0 (0,0%)                                           | 2 (5,1%)                           | 1 (2,4%)                                        | 1 (2,4%)      | 0,452                                      |
| <i>Morganella</i> vrsta                        | 1 (1,9%)                                           | 2 (5,1%)                           | 1 (2,4%)                                        | 0 (0,0%)      | 0,489                                      |

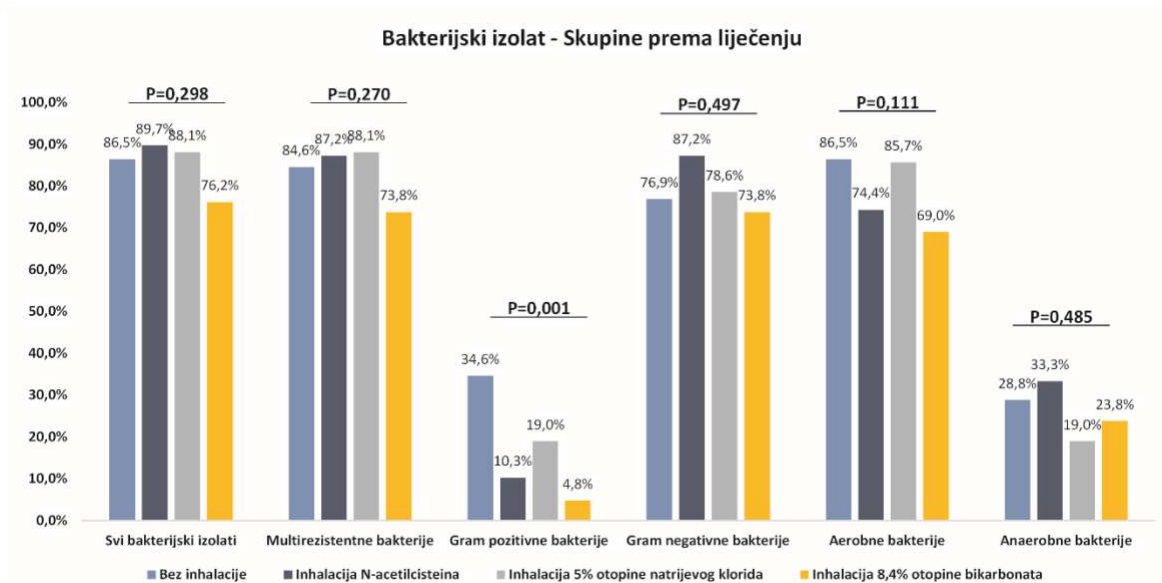
|                                            |          |          |          |          |       |
|--------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|-------|
| <i>Elizabethkingia</i><br>vrsta            | 3 (5,8%) | 2 (5,1%) | 1 (2,4%) | 1 (2,4%) | 0,771 |
| <i>Corynebacterium</i><br>vrsta            | 1 (1,9%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) | 0,498 |
| <i>Escherichia coli</i>                    | 0 (0,0%) | 1 (2,6%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) | 0,320 |
| <i>Achromobacter</i><br><i>xylooxidans</i> | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) | 1 (2,4%) | 0,364 |
| <i>Serratia</i> vrsta                      | 0 (0,0%) | 1 (2,6%) | 0 (0,0%) | 2 (4,8%) | 0,249 |

Podatci su izraženi kao broj (postotak).

\*Chi-square test.

**Kratice:** MRSA – meticilin-rezistentni *Staphylococcus aureus*, MDR – engl. *multiple drug resistance*.

Međutim, kontrolna skupina imala je statistički značajno višu učestalost gram-pozitivne bakterijske pneumonije (34,6%), zatim skupina s 5% natrijevim kloridom (19,0%), skupina s N-acetilcisteinom (10,3%) i skupina s natrijevim bikarbonatom (4,8%;  $P=0,001$ ) (Slika 2).



**Slika 2.** Usporedba bakterijskih izolata između ispitivanih skupina.

Kada se pogledaju specifične izolirane bakterije, razlika u učestalosti MRSA bila je glavni pokretač razlika između skupina sa statistički značajno višom učestalošću u kontrolnoj skupini (34,6%), a zatim u skupini koja je primala 5% natrijev klorid (14,3%), N -

acetilcisteinsku skupinu (7,7%) i bikarbonatnu skupinu (2,4%;  $P < 0,001$ ). Nije bilo značajne razlike između skupina u izolaciji bilo koje druge specifične bakterije (**Tablica 5**).

#### 4.4. Incidencija gljivične pneumonije

Kada se uspoređuje incidencija gljivične upale pluća u ispitivanim skupinama, nije bilo razlike u incidenciji bilo koje gljivične upale pluća (32,7% u kontrolnoj skupini naspram 23,1% u skupini inhalacije N-acetilcisteina naspram 33,3% u skupini 5% natrijevog klorida naspram 26,2% u skupini inhalacije bikarbonata,  $P = 0,672$ ) (**Tablica 6**).

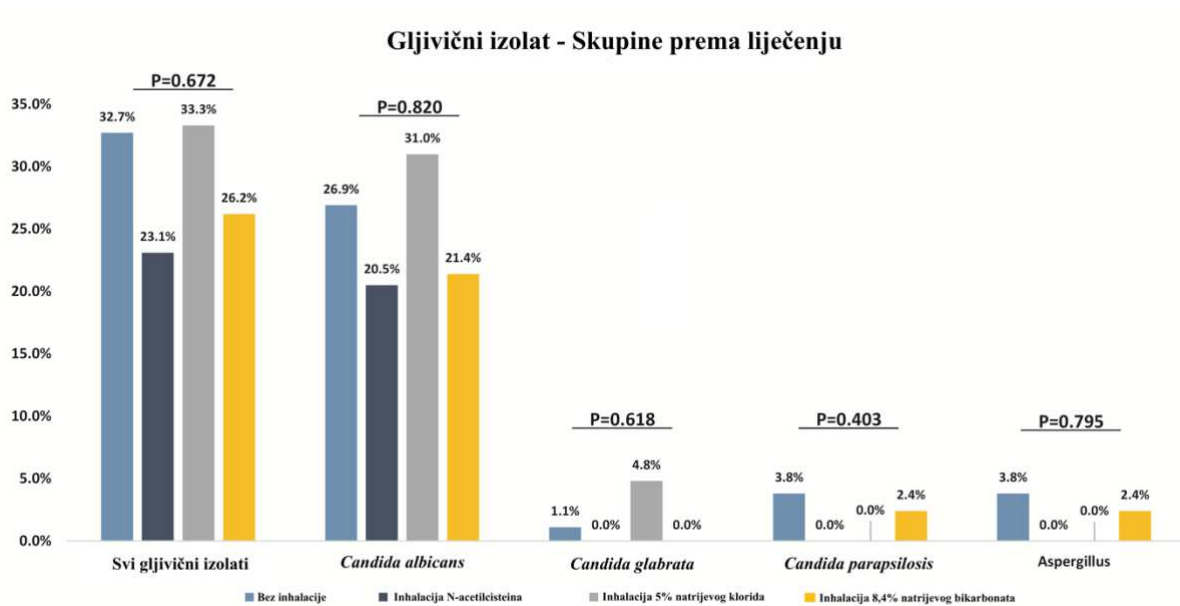
**Tablica 6.** Usporedba gljivičnih izolata i ukupne smrtnosti između ispitivanih skupina.

| Varijable                             | Vrsta inhalacije                                   |                                    |                                                 |                                            | P-vrijednost* |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------|
|                                       | Kontrolna skupina – bez rutinske inhalacije (n=52) | Inhalacija N-acetilcisteina (n=39) | Inhalacija 5% otopine natrijevog klorida (n=42) | Inhalacija otopine 8,4% bikarbonata (n=42) |               |
| <b>Izolirane gljive</b>               | 17 (32,7%)                                         | 9 (23,1%)                          | 14 (33,3%)                                      | 11 (26,2%)                                 | 0,672         |
| <b>Specifične vrste gljiva:</b>       |                                                    |                                    |                                                 |                                            |               |
| <i>Candida albicans</i>               | 13 (26,9%)                                         | 8 (20,5%)                          | 12 (31,0%)                                      | 9 (21,4%)                                  | 0,820         |
| <i>Candida glabrata</i>               | 1 (1,9%)                                           | 0 (0,0%)                           | 1 (4,8%)                                        | 0 (0,0%)                                   | 0,618         |
| <i>Candida parapsilosis</i>           | 2 (3,8%)                                           | 0 (0,0%)                           | 0 (0,0%)                                        | 1 (2,4%)                                   | 0,403         |
| <i>Aspergillus</i>                    | 1 (3,8%)                                           | 0 (0,0%)                           | 0 (0,0%)                                        | 1 (2,4%)                                   | 0,795         |
| <b>Smrtnost svih uzroka (28-dana)</b> | 31 (59,6%)                                         | 21 (53,8%)                         | 17 (40,5%)                                      | 20 (47,6%)                                 | 0,293         |

Podatci su izraženi kao broj (postotak).

\*Hi-kvadrat test.

Navedeni obrazac se zadržao i pri procjeni specifičnih vrsta gljiva ( $P>0,05$ ) (Slika 4).



**Slika 3.** Usporedba gljivičnih izolata između ispitivanih skupina.

#### 4.5. Prediktori pneumonije povezane s mehaničkom ventilacijom

Dulje trajanje respiratorne terapije bilo je značajno povezano s bilo kojom bakterijskom upalom pluća u univarijantnoj (OR 1,20, 95% CI 1,09-1,32,  $P<0,001$ ) i multivarijantnoj analizi (aOR 1,14, 95% CI 1,01-1,29,  $P=0,038$ ), dulje trajanje hospitalizacije značajno je povezano s bilo kojom bakterijskom upalom pluća samo u univarijantnoj analizi (OR 1,07, 95% CI 1,02-1,12,  $P=0,004$ ), dok nije bilo značajne povezanosti između dobi, spola, duljeg trajanja hospitalizacije, Charlsonovog indeksa komorbiditeta, prethodnog pušenja, albumina ili glukoze i bakterijskog VAP-a (Tablica 7).

**Tablica 7.** Prediktori razvoja bakterijske pneumonije.

| Varijable                                    | Univarijatna analiza |              | Multivarijatna analiza |              |
|----------------------------------------------|----------------------|--------------|------------------------|--------------|
|                                              | OR (95% CI)          | P-vrijednost | aOR (95% CI)           | P-vrijednost |
| <b>Dob</b>                                   | 1,01 (0,98-1,06)     | 0,484        | 1,02 (0,96-1,08)       | 0,617        |
| <b>Ženski spol</b>                           | 0,45 (0,19-1,07)     | 0,070        | 0,30 (0,07-1,33)       | 0,113        |
| <b>Trajanje mehaničke ventilacije (dani)</b> | 1,20 (1,09-1,32)     | <0,001       | 1,14 (1,01-1,29)       | 0,038        |
| <b>Trajanje hospitalizacije (dani)</b>       | 1,07 (1,02-1,12)     | 0,004        | 1,03 (0,98-1,08)       | 0,191        |
| <b>Charlsonov indeks komorbiditeta</b>       | 1,01 (0,78-1,29)     | 0,968        | 0,92 (0,58-1,46)       | 0,724        |
| <b>Prijašnje pušenje</b>                     | 0,87 (0,30-2,53)     | 0,792        | 0,60 (0,13-2,84)       | 0,520        |
| <b>Albumin (g/l)</b>                         | 0,99 (0,88-1,12)     | 0,917        | 0,94 (0,80-1,10)       | 0,408        |
| <b>Glukoza (mmol/l)</b>                      | 0,98 (0,91-1,06)     | 0,616        | 0,93 (0,83-1,04)       | 0,220        |

**Kratice:** OR – omjeri izgleda; aOR – prilagođeni omjeri izgleda.

Slično, dulje trajanje mehaničke ventilacije bilo je značajno povezano s bilo kojim gljivičnim VAP-om u univarijatnoj (OR 1,04, 95% CI 1,01-1,07,  $P=0,015$ ) i multivarijatnoj analizi (aOR 1,05, 95% CI 1,01-1,10,  $P=0,028$ ), dok nije bilo značajne povezanosti između dobi, spola, duljeg trajanja hospitalizacije, Charlsonovog indeksa komorbiditeta, prethodnog pušenja, albumina ili glukoze i gljivičnog VAP-a (**Tablica 8**).

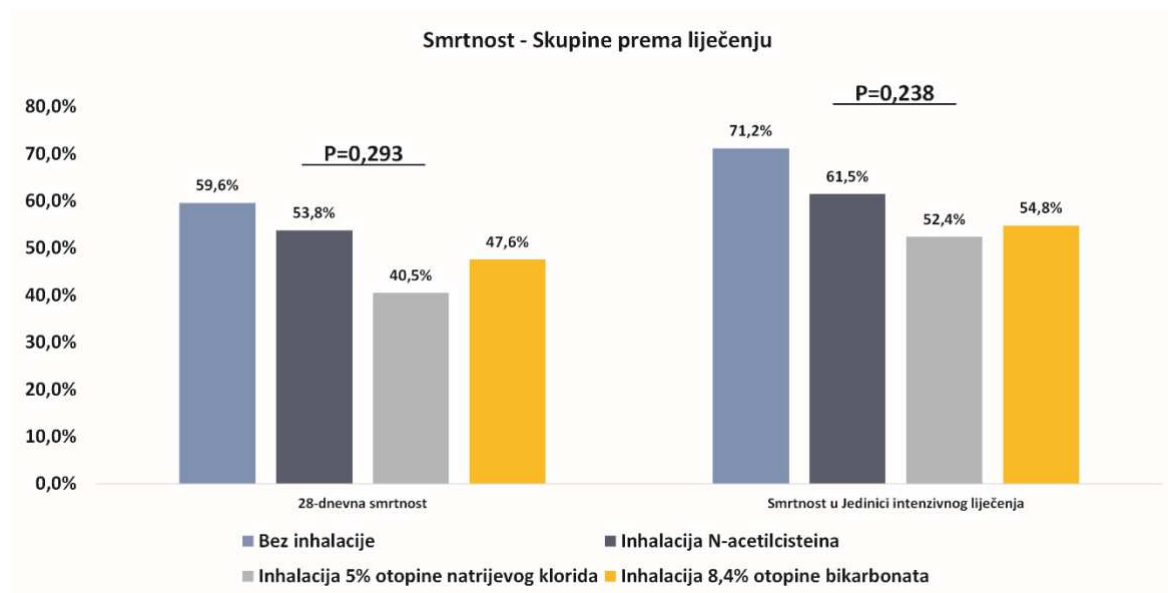
**Tablica 8.** Prediktori razvoja gljivične pneumonije.

| Varijable                             | Univarijatna analiza |         | Multivarijatna analiza |              |
|---------------------------------------|----------------------|---------|------------------------|--------------|
|                                       | OR (95% CI)          | P-value | aOR (95% CI)           | P-vrijednost |
| Dob                                   | 1,03 (0,99-1,06)     | 0,122   | 1,02 (0,97-1,07)       | 0,489        |
| Ženski spol                           | 1,95 (0,96-3,93)     | 0,064   | 2,29 (0,87-6,04)       | 0,093        |
| Trajanje mehaničke ventilacije (dani) | 1,04 (1,01-1,07)     | 0,015   | 1,05 (1,01-1,10)       | 0,028        |
| Trajanje hospitalizacije (dani)       | 1,02 (1,00-1,04)     | 0,063   | 0,99 (0,97-1,02)       | 0,413        |
| Charlsonov indeks komorbiditeta       | 1,11 (0,92-1,35)     | 0,290   | 0,92 (0,67-1,28)       | 0,628        |
| Prijašnje pušenje                     | 0,62 (0,26-1,47)     | 0,276   | 0,92 (0,33-2,57)       | 0,877        |
| Albumin (g/l)                         | 1,02 (0,93-1,12)     | 0,655   | 0,98 (0,88-1,10)       | 0,78         |
| Glukoza (mmol/l)                      | 1,01 (0,95-1,08)     | 0,663   | 1,03 (0,94-1,12)       | 0,565        |

Kratice: OR – omjeri izgleda; aOR – prilagođeni omjeri izgleda.

#### 4.6. Usporedba smrtnosti i neželjenih ishoda

Nije bilo statistički značajne razlike u 28-dnevnoj smrtnosti od svih uzroka između ispitivanih skupina (**Slika 4**).

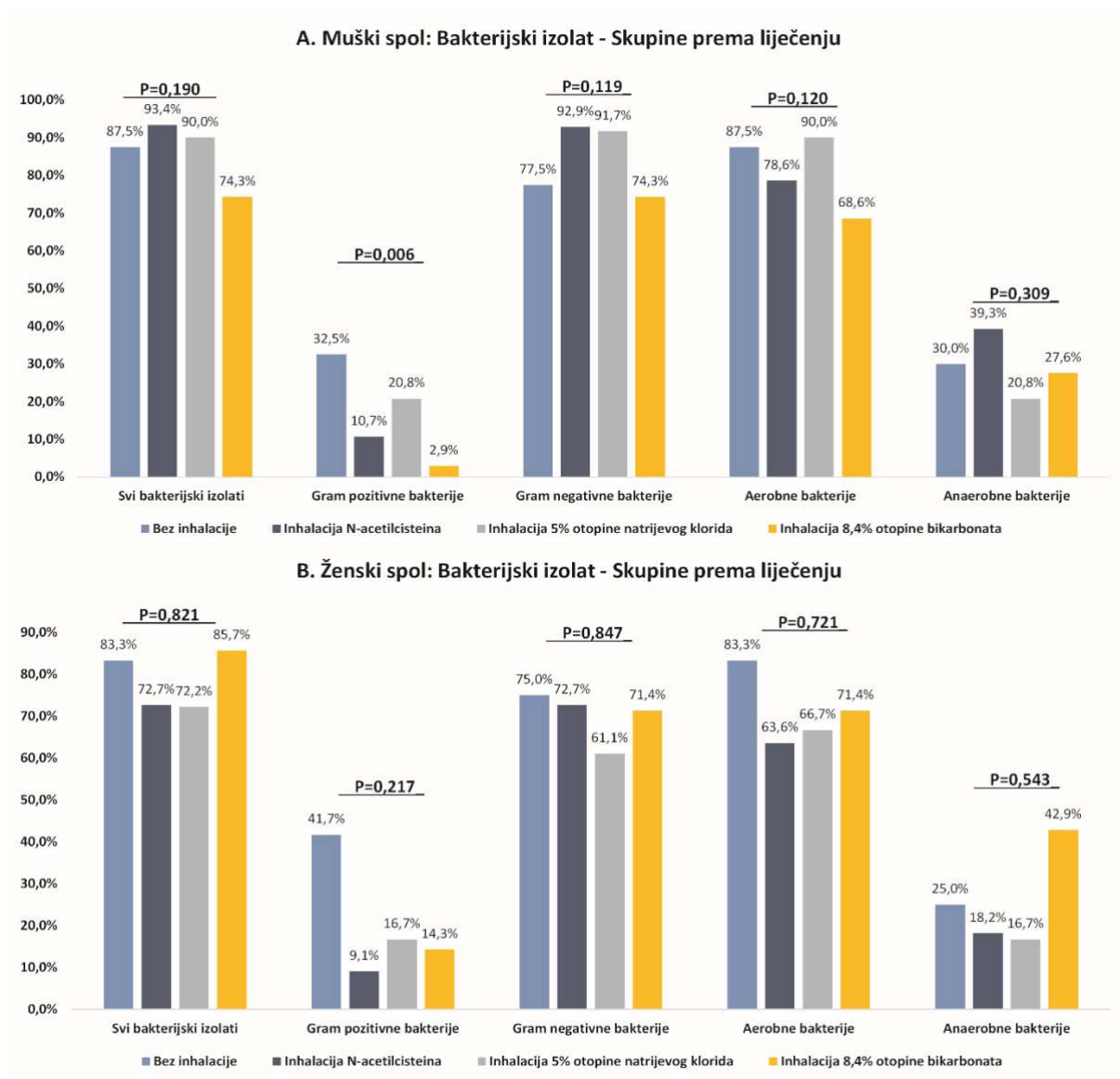


**Slika 4.** Usporedba smrtnosti između ispitivanih skupina

Nije bilo značajnih nuspojava povezanih s primjenom inhalacijskih terapija, osim bronhospazma, koji se razvio u bolesnika iz skupine liječenja N-acetilcisteinom (N=1, 2,4%) i bolesnika iz skupine liječenja 8,4% bikarbonata (N=1, 2,6%). Oba događaja imala su blag klinički tijek, a bolesnici su se potpuno oporavili spontano ili ubrzo nakon primjene bronhodilatatorske inhalacijske terapije.

#### 4.7. Analiza osjetljivosti ovisno o spolu

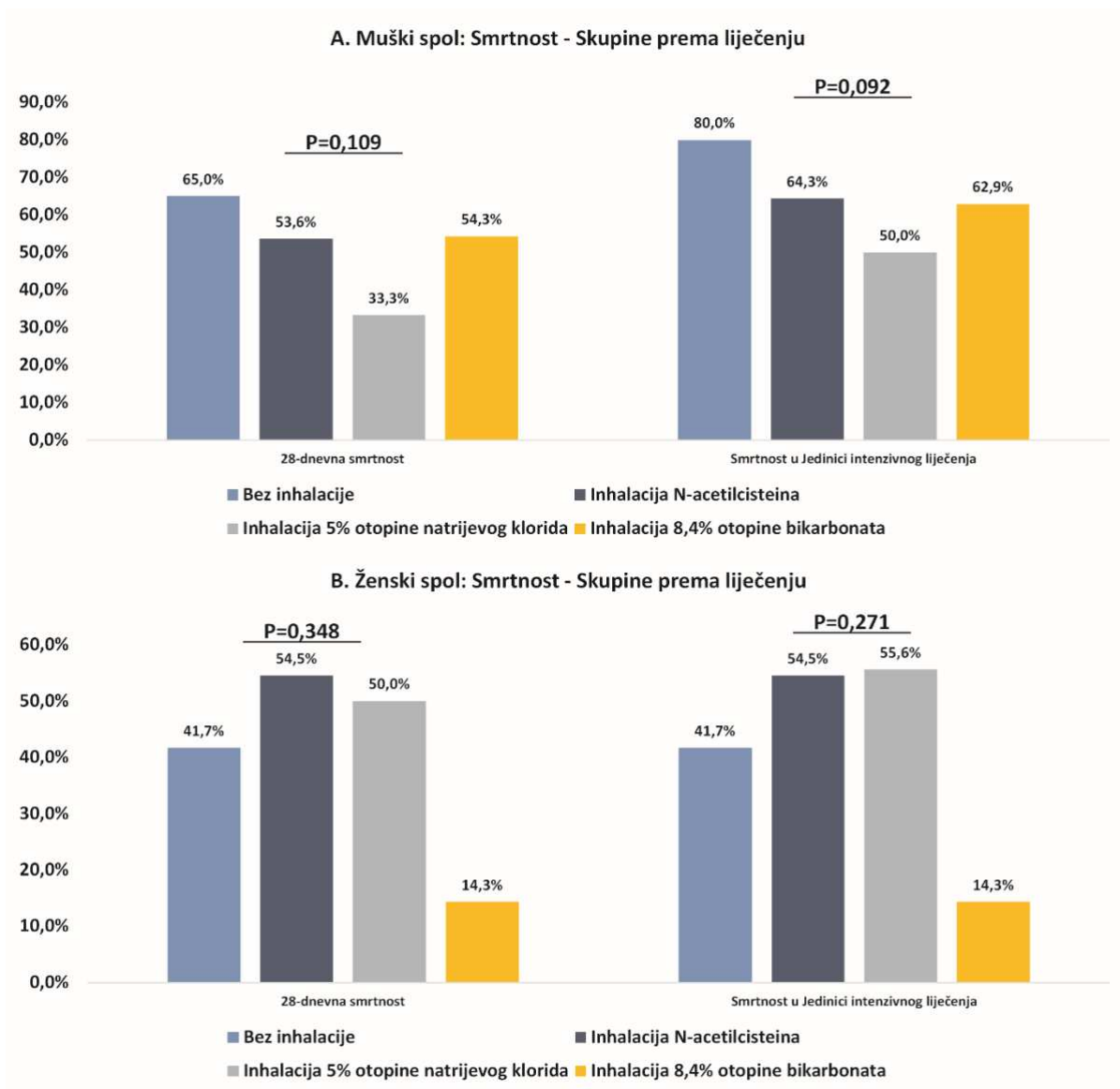
Analiza osjetljivosti ovisno o spolu je pokazala određene različitosti. Točnije, analiza bolesnika muškog spola pokazala je statistički značajnu razliku u incidenciji gram pozitivnih pneumonija povezanih s mehaničkom ventilacijom, dok nije bilo statistički značajne razlike u incidenciji pneumonija ostalih uzročnika. S druge strane, analiza bolesnika ženskog spola nije pokazala statistički značajne razlike u incidenciji pneumonija povezanih s mehaničkom ventilacijom, neovisno o uzročniku (**Slika 5**).



**Slika 5.** Usporedba bakterijskih izolata između ispitivanih skupina, ovisno o spolu: **A.** Bolesnici muškog spola; **B.** Bolesnici ženskog spola.

Nadalje, nije utvrđena statistički značajna razlika u 28-dnevnoj smrtnosti, kao ni smrtnosti u Jedinici intenzivnog liječenja, neovisno o spolu (**Slika 6**).

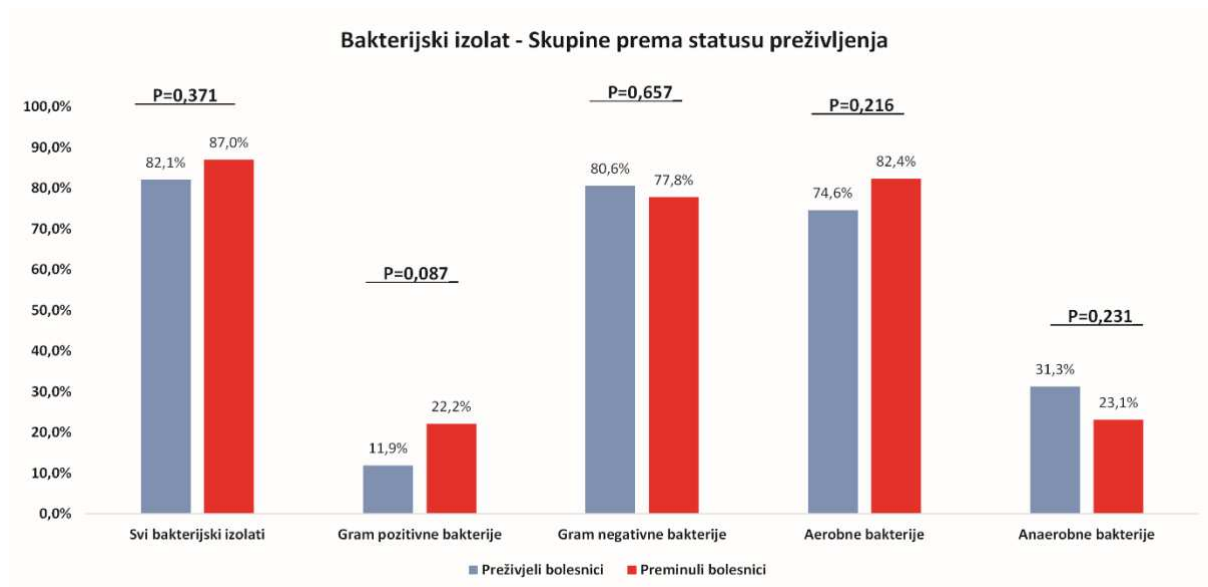




**Slika 6.** Usporedba smrtnosti između ispitivanih skupina, ovisno o spolu: **A.** Bolesnici muškog spola; **B.** Bolesnici ženskog spola.

#### 4.8. Analiza osjetljivosti ovisno o statusu preživljenja

Usporedba incidencije bakterijskih pneumonija povezanih s mehaničkom ventilacijom između preživjelih i preminulih bolesnika nije pokazala statistički značajnu razliku, što upućuje na važnost drugih čimbenika u prognozi ovih visokorizičnih bolesnika (**Slika 7**).



**Slika 7.** Usporedba bakterijskih izolata između preživjelih i preminulih bolesnika.

## **5. RASPRAVA**

Ovo randomizirano kontrolirano ispitivanje procijenilo je učinke inhalacijske terapije na učestalost bakterijskog i gljivičnog VAP-a u mehanički ventiliranih bolesnika s COVID-19. To je prva studija koja sustavno istražuje sve gore navedene inhalacijske agense u odjelima intenzivnog liječenja za COVID-19. Postoji nekoliko važnih rezultata ovog ispitivanja. Prvo, mehanički ventilirani bolesnici s COVID-19 imaju visoku incidenciju bakterijskog i gljivičnog VAP-a. Drugo, učestalost VAP-a bila je snažno i neovisno povezana s trajanjem mehaničke ventilacije. Treće, inhalacijska terapija nije imala utjecaja na ukupnu učestalost bakterijskog ili gljivičnog VAP-a. Ipak, istraživačke analize sugeriraju potencijalne, korisne učinke inhalacijske terapije na učestalost VAP-a gram-pozitivnih bakterija. Ovi rezultati su posebno potaknuti smanjenom učestalošću upale pluća uzrokovane MRSA-om, dok je najjači učinak primijećen kod inhalacije 8,4% natrijevog bikarbonata. Stoga inhalacijska terapija ne daje nikakav povoljan učinak na ukupnu incidenciju VAP-a, ali se smatraju potrebnim daljnje, adekvatno osnažene studije za istraživanje bilo kakvih učinaka na gram-pozitivne bakterije i druge specifične VAP-ove. Ova terapija je izvediva, jednostavna za korištenje i ekonomična opcija liječenja tijekom mehaničke ventilacije pacijenata s COVID-19.

VAP predstavlja razornu komplikaciju u mehanički ventiliranih bolesnika. Osim što zahtijeva složeno liječenje, njegova dijagnoza u bolesnika s ARDS-om obično je izazovna. Teško razlikovanje novih plućnih infiltracija povezanih s VAP-om od drugih uzroka, kao što je progresija ARDS-a, plućni edem ili atelektaza, predstavlja klinički izazov. Nadalje, diferencijacija traheobronhitisa i pneumonije također predstavlja golem zadatak. Konačno, kortikosteroidna terapija potiskuje imunološki odgovor i prigušuje povećanje laboratorijskih parametara, otežavajući dijagnozu (226). Nedvojbeno, VAP predstavlja značajan, globalni zdravstveni problem s visokom bolničkom smrtnošću i značajnim, ekonomskim teretom za zdravstvo (227).

Prethodne studije pokazale su pojavu VAP-a u okruženju s COVID-19, u rasponu od 48% do 79% (227-230). Čini se da je incidencija VAP-a u bolesnika s COVID-19 čak i veća u usporedbi s bolesnicima koji nemaju COVID-19 i koji se liječe na intenzivnoj njezi (231). Nekoliko patofizioloških mehanizama može posredovati u ovim nalazima u bolesnika s COVID-19, uključujući duboku hipoksemiju i oštećenje pluća (231), produljeno trajanje mehaničke ventilacije i ležeći položaj (231, 232), veća incidencija plućne embolije/infarkta i superponirane bakterijske infekcije (233, 234). Korištenje imunomodulatorne terapije, kao što su kortikosteroidi u visokim dozama ili antagonisti interleukina (npr. tocilizumab), također može potisnuti imunološki odgovor i ubrzati razvoj VAP-a u bolesnika s COVID-19 (235, 236).

Ova je studija otkrila još veću učestalost bakterijskog VAP-a u svim ispitivanim skupinama, u rasponu od 76% do 90%. Jedan od mogućih uzroka tako visoke učestalosti VAP-a u ovoj studiji moglo bi biti češće uzimanje uzoraka za potrebe studije i povećana dijagnostička svijest. Međutim, ovo bi također moglo doprinijeti drugim novim aspektima studije, uključujući procjenu prirodnog tijeka pneumonije stečene na intenzivnoj njezi, kao i procjenu čimbenika rizika za VAP.

Virusne infekcije suzbijaju imunitet domaćina i olakšavaju ulazak bakterijskih patogena (237), posredovano morfo-funkcionalnim oštećenjem dišnih putova kao što je inducirana stanična apoptoza, hiperplazija, smanjeno stanično disanje i oštećena funkcija surfaktanta (238, 239). Međutim, jedan od najvažnijih čimbenika za razvoj VAP-a je trajanje mehaničke ventilacije (231, 234, 236, 240). Povezanost produžene mehaničke ventilacije s bakterijskim i gljivičnim VAP-om potvrđena je u ovoj studiji. Što je duže vrijeme provedeno na invazivnoj ventilaciji, mikroorganizmi imaju više mogućnosti za koloniziranje, što dovodi do veće upotrebe antibiotika širokog spektra i povećane pojave gljiva. Također je vjerojatnije da će kritično bolesni bolesnici primiti invazivno liječenje vaskularnim ili urinarnim kateterima, što rezultira povećanom osjetljivošću na bakterijsku superinfekciju s MDR patogenima (241). To bi trebalo potaknuti liječnike u jedinicama intenzivnog liječenja da rutinski ponovno procjenjuju potrebu za mehaničkom ventilacijom i nastoje odvojiti bolesnike od mehaničke ventilacije.

Međutim, neki bolesnici u potpunosti ovise o mehaničkoj ventilaciji, a inhalacijska terapija predstavlja obećavajuću terapijsku opciju za smanjenje VAP-a u ovoj populaciji. Hipertonična 5% otopina natrijevog klorida ima nekoliko farmakodinamičkih učinaka na površinu bronha, uključujući osmotski gradijent (212-214) i smanjenu viskoznost (215, 216). Neki su autori čak nagađali da bi 5% natrijev klorid mogao imati protuupalno djelovanje (215, 216) ili antimikrobno djelovanje inhibicijom rasta *Pseudomonas aeruginosa* (217, 218). Cochraneov pregled o korištenju 5% otopine natrijevog klorida sugerira potencijalne dobrobiti u starije djece i odraslih s cističnom fibrozom (242). Sličan Cochraneov pregled ukazuje na korisne učinke nebulizirane hipertonične otopine natrijevog klorida u dojenčadi s akutnim bronhiolitisom (243).

Drugi agensi za inhalaciju također su pokazali obećavajuća mukolitička svojstva. N-acetilcistein je smanjio bakterijsko stvaranje biofilma među intubiranim bolesnicima u studiji Qu et al. (244). Međutim, velika studija NEBULAE nije otkrila nikakav učinak rutinske preventivne uporabe N-acetilcisteina (u kombinaciji sa salbutamolom) na incidenciju VAP-a

(209). Ipak, ograničenja te studije zahtijevaju oprez zbog visoke heterogenosti uzorka, tj. studija je uključila sve bolesnike na mehaničkoj ventilaciji dulje od 24 sata, ali je samo nekoliko njih imalo ARDS prema međunarodnim kriterijima (209). Udisanje bikarbonata bilo je povezano sa značajnim kliničkim poboljšanjem u bolesnika s CARDS-om, kako su u nizu slučajeva izvijestili Wardeh i sur. (225). Pregled literature od strane Icarda i Rubia nije pronašao nijedan izvještaj o značajnim nuspojavama inhalacije bikarbonata (197). Inhalacija bikarbonata pokazala se sigurnom i dobro podnošljivom u bolesnika s cističnom fibrozom i opstruktivnim plućnim bolestima (224). *In vitro* i *in vivo* studije na životinjama pokazale su da bikarbonat smanjuje viskoznost sputuma (197, 223, 245, 246), vjerojatno širenjem granula mucina (197). Drugi mogući mehanizmi djelovanja inhalacije bikarbonata mogu uključivati lokalno povećanje pH, stvarajući nepovoljno okruženje za rast bakterija kao što je vrsta *Acinetobacter*.

Na temelju naših otkrića i postojeće literature, trenutačno nema dovoljno dokaza koji podupiru rutinsku upotrebu preventivne inhalacijske terapije s N-acetilcisteinom, 5% otopinom natrijevog klorida ili 8,4% natrijevim bikarbonatom za smanjenje incidencije VAP-a u mehanički ventiliranih bolesnika s COVID-19. Međutim, dokazi iz ovog ispitivanja sugeriraju potencijalne korisne učinke inhalacijske terapije na učestalost VAP-a gram-pozitivnih bakterija, nalaz koji bi trebao biti potvrđen u daljnjim studijama. Iako su najčešći uzročnici VAP-a gram-negativne bakterije, MRSA uzrokuje približno 7% VAP-a (247-249). Ova studija je otkrila još veću incidenciju MRSA VAP-a u kontrolnoj skupini (do 35%), naglašavajući važnost ovog patogena u kritično bolesnih bolesnika s COVID-19. Svaki napor da se smanji ova komplikacija je opravdan. Sva tri inhalacijska tretmana imaju dobar sigurnosni profil i jeftini su, a najviša je cijena za nebulizirani N-acetilcistein (cijena po dozi od približno 2,4 EUR). S obzirom na moguće korisne učinke, dobar sigurnosni profil i nisku cijenu, bilo koji od ispitivanih tretmana može se uzeti u obzir za prevenciju VAP-a u mehanički ventiliranih bolesnika s COVID-19, prema odluci liječnika. Ovo bi moglo biti još važnije u odjelima intenzivne njege s visokom učestalošću gram-pozitivnog VAP-a. Međutim, treba naglasiti nedostatak visokokvalitetnih podataka o ovoj temi, što zahtijeva daljnja istraživanja.

Neka istraživanja identificirala su muški spol kao rizični čimbenik za razvoj VAP-a (250). U našem istraživanju bolesnici muškog spola inhalirani otopinom 8,4% natrijevog bikarbonata imali su najmanju incidenciju gram-pozitivnog VAP-a, potom bolesnici inhalirani N-acetilcisteinom, zatim bolesnici inhalirani otopinom 5% natrijevog klorida, dok u bolesnika ženskog spola nije bilo razlike u incidenciji VAP-a, neovisno o uzročniku.

Naše istraživanje nije uspjelo detektirati razliku prema spolu u 28-dnevnoj smrtnosti i smrtnosti u JIL-u. Jedno veliko prospektivno istraživanje koje je proučavalo utjecaj nozokomijalnih infekcija na smrtnost identificiralo je ženski spol kao nezavisni čimbenik rizika smrtnosti u JIL-u (251), iako je do sada poznato da muškarci imaju veći rizik za lošiji ishod i smrt, neovisno o dobi (252). Muškarci također imaju teži tijek bolesti, veći rizik za neželjene ishode u bolnici kao što su prijem u JIL, potreba za respiratornom potporom i veće izgleda za akutnu ozljedu bubrega i srca (253). Mogući razlozi su rizično ponašanje, imunološki odgovor, biološke razlike i kardiovaskularni rizični čimbenici koji su češći u muškaraca (254). Neki autori smatraju da razlika smrtnosti muškaraca i žena tijekom pandemije odražava generalnu razliku u smrtnosti među spolovima (255). Naime, u normalnim uvjetima smrtnost žena je manja nego muškaraca (256). U razdobljima viška smrtnosti, primjerice zimi zbog cirkulacije respiratornih patogena, višak smrtnosti raste više za muškarce nego na žene, neovisno o tome koji je patogen uzrok viška smrtnosti (255).

U našem istraživanju nismo detektirali značajnu razliku incidencije VAP-a između preživjelih i preminulih bolesnika. Do sada je poznato da je VAP učestaliji u bolesnika s COVID-19 (257) te da povećava smrtnost (258). Nasuprot tome, neki autori smatraju da je uloga VAP-a u smrtnosti precijenjena zbog metodoloških nedostataka (259).

Multivarijabilna prilagodba nije provedena u ovoj studiji zbog dobro uravnoteženih osnovnih karakteristika u ispitivanim skupinama, osim većeg udjela bolesnika ženskog spola i prethodne perkutane koronarne intervencije u skupini liječenoj s 5% natrijevim kloridom, te većeg udjela prethodnog pušenja u bolesnika liječenih 8,4% bikarbonatom. Osim toga, nije bilo potrebno prilagoditi osnovno imunosupresivno ili antibiotsko liječenje jer su svi uključeni bolesnici primili standardnu dozu intravenskog deksametazona (8 mg) tijekom prvih 10 dana, zajedno s istim empirijskim antibiotikom širokog spektra, prema lokalnom protokolu JIL-a, dok se ne dobiju mikrobiološki izolati.

Ova studija je imala nekoliko ograničenja. Ograničena veličina uzorka mogla je smanjiti statističku snagu studije i otkrivanje razlika između skupina u manje prevalentnim infekcijama. Studija nije bila sposobna donositi zaključke o sekundarnim nalazima; oni su predstavljeni samo kao istraživački nalazi koji generiraju hipoteze. Nadalje, zbog rutinskog mikrobiološkog uzorkovanja i ograničenja dijagnostičkih kriterija VAP-a, moguće je da su stope incidencije povećane hvatanjem subkliničkih infekcija. Upitna je klinička važnost pojedinih, izoliranih bakterija, kao što je vrsta *Corynebacterium*, koja se obično smatra kontaminantom u respiratornim uzorcima. Kako bi se to objasnilo, kulture su kvantitativno interpretirane

korištenjem praga od  $>10^5$  CFU/mL kako bi se odredio klinički značaj. Isto vrijedi i za izolirane gljivične vrste. Dijagnoza VAP-a je izazovna u bolesnika s ARDS-om, a mikrobiološka potvrda ne bi trebala smanjiti dijagnostičku specifičnost.

Nadalje, pristranost odabira nije se mogla u potpunosti eliminirati ovom studijom zbog specifičnih karakteristika populacije. Osim toga, potencijalni utjecaj neizmjenjenih varijabli na ishode nije se mogao u potpunosti ukloniti. Iako su autori koristili Bonferronijevu korekciju za sekundarne analize, nije bilo moguće u potpunosti eliminirati mogućnost pogreške tipa 1. Naposljetku, ovo ispitivanje predstavlja negativno kliničko ispitivanje budući da intervencija nije promijenila ishod primarnog ispitivanja, ali ipak može dati klinički relevantne nalaze.

Zaključno, preventivna inhalacijska terapija s N-acetilcisteinom, 5% natrijevim kloridom ili 8,4% natrijevim bikarbonatom nije imala učinka na ukupnu incidenciju VAP-a ili mortalitet u mehanički ventiliranih COVID-19 bolesnika. Daljnje studije trebale bi istražiti sekundarne nalaze ove studije kao što je smanjenje VAP-a uzrokovanog gram-pozitivnim bakterijama i MRSA-om u pacijenata koji su podvrgnuti inhalacijskom liječenju.



## **6. ZAKLJUČCI**

1. Preventivna inhalacijska terapija s N-acetilcisteinom, 5% otopinom natrijevog klorida ili 8,4% natrijevim bikarbonatom nije imala učinak na ukupnu incidenciju pneumonije povezane s mehaničkom ventilacijom u mehanički ventiliranih bolesnika s COVID-19.
2. Preventivna inhalacijska terapija s N-acetilcisteinom, 5% otopinom natrijevog klorida ili 8,4% natrijevim bikarbonatom nije imala učinak na smrtnost u Jedinici intenzivnog liječenja u mehanički ventiliranih bolesnika s COVID-19.
3. Preventivna inhalacijska terapija s N-acetilcisteinom, 5% otopinom natrijevog klorida ili 8,4% natrijevim bikarbonatom nije imala učinak na ukupnu 28-dnevnu smrtnost u mehanički ventiliranih bolesnika s COVID-19.
4. Preventivna inhalacijska terapija s N-acetilcisteinom, 5% otopinom natrijevog klorida ili 8,4% natrijevim bikarbonatom smanjila je incidenciju pneumonije povezane s mehaničkom ventilacijom uzrokovane gram-pozitivnim bakterijama u mehanički ventiliranih bolesnika s COVID-19.
5. Preventivna inhalacijska terapija s N-acetilcisteinom, 5% otopinom natrijevog klorida ili 8,4% natrijevim bikarbonatom smanjila je incidenciju pneumonije povezane s mehaničkom ventilacijom uzrokovane meticilin-rezistentnom bakterijom *Staphylococcus aureus*.
6. Ograničeni uzorak znanstvenog istraživanja sprječava širu kliničku primjenu ovih rezultata zbog čega su potrebna daljnja istraživanja.

## **7. SAŽETAK**

**Cilj istraživanja:** Ova studija imala je za cilj istražiti učinke rutinske inhalacijske terapije na pneumoniju povezanu s ventilatorom (VAP) u mehanički ventiliranih bolesnika s koronavirusnom bolešću (COVID-19) uzrokovanog akutnog respiratornog distres sindroma (ARDS-a).

**Materijali i metode:** Ovo randomizirano kontrolirano ispitivanje uključivalo je 175 odraslih bolesnika s COVID-19 koji su bili liječeni mehaničkom ventilacijom u KBC-u Split između listopada 2020. i lipnja 2021. Bolesnici su randomizirani i raspoređeni u kontrolnu skupinu (bez rutinske inhalacije) ili jednu od 3 intervencijske skupine (inhalacija N-acetilcisteina; 5% otopine natrijevog klorida; ili 8,4% natrijevog bikarbonata). Primarni ishod bila je incidencija VAP-a, dok su sekundarni ishodi uključivali smrtnost od svih uzroka.

**Rezultati:** Rutinska inhalacijska terapija nije imala utjecaja na incidenciju bakterijskog ili gljivičnog VAP-a niti na smrtnost od svih uzroka ( $P > 0,05$ ). Sekundarne analize otkrile su značajno smanjenje gram-pozitivnog i meticilin-rezistentnog *Staphylococcus aureus* (MRSA) VAP-a u terapijskim skupinama. Konkretno, skupina koja je primala bikarbonat imala je statistički značajno nižu incidenciju VAP-a gram-pozitivnih bakterija (4,8%), zatim skupina koja je primala N-acetilcistein (10,3%), skupina koja je primala 5% natrijev klorid (19,0%) i kontrolna skupina (34,6%;  $P = 0,001$ ). Ta je razlika bila uzrokovana nižom učestalošću MRSA VAP u skupini koja je primala bikarbonat (2,4%), zatim skupini koja je primala N-acetilcistein (7,7%), skupini koja je primala 5% natrijev klorid (14,3%) i kontrolnoj skupini (34,6%;  $P < 0,001$ ). Dulje trajanje mehaničke ventilacije bilo je jedini značajan, neovisni prediktor bilo kojeg bakterijskog ili gljivičnog VAP-a u multivarijatnoj analizi (aOR 1,14, 95% CI 1,01-1,29,  $p = 0,038$  i aOR 1,05, 95% CI 1,01-1,10,  $p = 0,028$ ).

**Zaključci:** Inhalacijska terapija nije imala utjecaja na ukupnu incidenciju VAP-a ili smrtnost od svih uzroka u bolesnika liječenih mehaničkom ventilacijom zbog COVID-19 ARDS-a. Daljnje studije trebale bi istražiti sekundarne nalaze ove studije kao što je smanjenje VAP-a uzrokovanog gram-pozitivnim bakterijama ili MRSA-om u liječenih bolesnika.

## **8. SUMMARY**

**Doctoral dissertation title:** The effect of different inhalation therapies on mechanical ventilation-associated pneumonia in patients with COVID-19: a randomized controlled trial.

**Objectives:** This study aimed to investigate the effects of routine inhalation therapy on ventilator-associated pneumonia (VAP) in mechanically ventilated patients with the coronavirus disease (COVID-19).

**Materials and methods:** This randomized controlled trial included 175 eligible adult patients with COVID-19 who were treated with mechanical ventilation at the University Hospital of Split between October 2020 and June 2021. Patients were randomized and allocated to a control group (no routine inhalation) or one of the treatment arms (inhalation of N-acetylcysteine; 5% saline solution; or 8.4% sodium bicarbonate). The primary outcome was the incidence of VAP, while secondary outcomes included all-cause mortality.

**Results:** Routine inhalation therapy had no effect on the incidence of bacterial or fungal VAP nor on all-cause mortality ( $p > 0.05$ ). Secondary analyses revealed a significant reduction of Gram-positive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) VAP in the treatment groups. Specifically, the bicarbonate group had a statistically significantly lower incidence of Gram-positive bacterial VAP (4.8%), followed by the N-acetylcysteine group (10.3%), 5% saline group (19.0%), and control group (34.6%;  $p = 0.001$ ). This difference was driven by a lower incidence of MRSA VAP in the bicarbonate group (2.4%), followed by the N-acetylcysteine group (7.7%), 5% saline group (14.3%), and control group (34.6%;  $p < 0.001$ ). Longer duration of ventilator therapy was the only significant, independent predictor of any bacterial or fungal VAP in the multivariate analysis (aOR 1.14, 95% CI 1.01–1.29,  $p = 0.038$  and aOR 1.05, 95% CI 1.01–1.10,  $p = 0.028$ , respectively).

**Conclusions:** In conclusion, inhalation therapy had no effect on the overall VAP incidence or all-cause mortality. Further studies should explore the secondary findings of this study such as the reduction of Gram-positive or MRSA-caused VAP in treated patients.

## **9. LITERATURA**

1. World Health Organisation. Timeline: WHO's COVID-19 response [Internet]. Ženeva CH: WHO; 2024 [citirano 14. siječnja 2024.]. Dostupno na: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/interactive-timeline#!>
2. World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. Ženeva CH: WHO; 2024 [citirano 14. siječnja 2024.]. Dostupno na: <https://covid19.who.int/>.
3. Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). StatPearls [Internet]. NIH; 2023 [citirano 14. siječnja 2024.]. Dostupno na <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>
4. Koronavirus.hr [Internet]. Zagreb HR: Vlada Republike Hrvatske; 2023. Dostupno na: <https://www.koronavirus.hr/podaci/489>.
5. Woo PCY, de Groot RJ, Haagmans B, Lau SKP, Neuman BW, Perlman S, i sur. ICTV Virus Taxonomy Profile: Coronaviridae 2023. J Gen Virol. 2023;104.
6. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat rev Microbiol. 2019;17:181-92.
7. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. Nat med. 2020;26:450-52.
8. Drosten C, Gunther S, Preiser W, van der Werf S, Brodt HR, Becker S, i sur. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. The N Engl J Med. 2003;348:1967-76.
9. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. Methods Mol Biol. 2015;1282:1-23.
10. Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, Nix WA, Campagnoli R, Icenogle JP, i sur. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. Science. 2003;300:1394-9.
11. Almeida JD, Berry DM, Cunningham CH, Hamre D, Hofstad MS, Mallucci L, i sur. Virology: Coronaviruses. Nature. 1968;220:650.
12. Zhang T, Wu Q, Zhang Z. Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. Curr Biol : CB. 2020;30:1346-51 e2.
13. World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Variants of SARS-COV-2 [Internet]. Ženeva CH: WHO; 2022 [citirano 25. travanj 2022.]. Dostupno na: [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/question-and-answers-hub/q-a-detail/coronavirus-disease-\(covid-19\)-variants-of-sars-cov-2](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/question-and-answers-hub/q-a-detail/coronavirus-disease-(covid-19)-variants-of-sars-cov-2).



14. Hrvatski Zavod za Javno Zdravstvo. Sekvenciranje SARS-CoV-2 [Internet]. Zagreb HR: HZJZ; 2022 [citirano 12. ožujak 2022.]. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/aktualnosti/sekvenciranje-sars-cov-2/>.
15. COVID-19 Cumulative Infection Collaborators. Estimating global, regional, and national daily and cumulative infections with SARS-CoV-2 through Nov 14, 2021: a statistical analysis. *Lancet*. 2022;399:2351-80.
16. Meyerowitz EA, Richterman A, Gandhi RT, Sax PE. Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. *Ann Inter Med*. 2021;174:69-79.
17. Yeo C, Kaushal S, Yeo D. Enteric involvement of coronaviruses: is faecal-oral transmission of SARS-CoV-2 possible? *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5:335-37.
18. Kotlyar AM, Grechukhina O, Chen A, Popkhadze S, Grimshaw A, Tal O, i sur. Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. *Am Journal Obstet Gynecol*. 2021;224:35-53 e3.
19. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, i sur. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*. 2020;26:672-75.
20. Stokes EK, Zambrano LD, Anderson KN, Marder EP, Raz KM, El Burai Felix S, i sur. Coronavirus Disease 2019 Case Surveillance - United States, January 22-May 30, 2020. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2020;69:759-65.
21. Chen J, Qi T, Liu L, Ling Y, Qian Z, Li T, i sur. Clinical progression of patients with COVID-19 in Shanghai, China. *J Infect*. 2020;80:e1-e6.
22. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, i sur. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*. 2020;581:215-20.
23. Chu H, Hu B, Huang X, Chai Y, Zhou D, Wang Y, i sur. Host and viral determinants for efficient SARS-CoV-2 infection of the human lung. *Nat Commun*. 2021;12:134.
24. Cantuti-Castelvetri L, Ojha R, Pedro LD, Djannatian M, Franz J, Kuivanen S, i sur. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. *Science*. 2020;370:856-60.
25. Muus C, Luecken MD, Eraslan G, Sikkema L, Waghray A, Heimberg G, i sur. Single-cell meta-analysis of SARS-CoV-2 entry genes across tissues and demographics. *Nat Med*. 2021;27:546-59.
26. Dupont T, Caillat-Zucman S, Fremeaux-Bacchi V, Morin F, Lengline E, Darmon M, i sur. Identification of Distinct Immunophenotypes in Critically Ill Coronavirus Disease 2019 Patients. *Chest*. 2021;159:1884-93.

27. Bergamaschi L, Mescia F, Turner L, Hanson AL, Kotagiri P, Dunmore BJ, i sur. Longitudinal analysis reveals that delayed bystander CD8+ T cell activation and early immune pathology distinguish severe COVID-19 from mild disease. *Immunity*. 2021;54:1257-75 e8.
28. Sposito B, Broggi A, Pandolfi L, Crotta S, Clementi N, Ferrarese R, i sur. The interferon landscape along the respiratory tract impacts the severity of COVID-19. *Cell*. 2021;184:4953-68 e16.
29. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Bruggen MC, i sur. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy*. 2020;75:1564-81.
30. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, i sur. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;383:120-28.
31. Conti P, Ronconi G, Caraffa A, Gallenga CE, Ross R, Frydas I, i sur. Induction of pro-inflammatory cytokines (IL-1 and IL-6) and lung inflammation by Coronavirus-19 (COVI-19 or SARS-CoV-2): anti-inflammatory strategies. *J Biol Regul and Homeost Agents*. 2020;34:327-31.
32. van de Veerdonk FL, Netea MG, van Deuren M, van der Meer JW, de Mast Q, Bruggemann RJ, i sur. Kallikrein-kinin blockade in patients with COVID-19 to prevent acute respiratory distress syndrome. *eLife*. 2020;9.
33. Guo J, Wei X, Li Q, Li L, Yang Z, Shi Y, i sur. Single-cell RNA analysis on ACE2 expression provides insights into SARS-CoV-2 potential entry into the bloodstream and heart injury. *J Cell Physiol*. 2020;235:9884-94.
34. Feng Y, Ye D, Wang Z, Pan H, Lu X, Wang M, i sur. The Role of Interleukin-6 Family Members in Cardiovascular Diseases. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:818890.
35. De Luca G, Debel N, Cercek M, Jensen LO, Vavlukis M, Calmac L, i sur. Impact of SARS-CoV-2 positivity on clinical outcome among STEMI patients undergoing mechanical reperfusion: Insights from the ISACS STEMI COVID 19 registry. *Atherosclerosis*. 2021;332:48-54.
36. Rashid M, Wu J, Timmis A, Curzen N, Clarke S, Zaman A, i sur. Outcomes of COVID-19-positive acute coronary syndrome patients: A multisource electronic healthcare records study from England. *J Int Med*. 2021;290:88-100.
37. Libby P, Luscher T. COVID-19 is, in the end, an endothelial disease. *Eur Heart J*. 2020;41:3038-44.

38. Esposito L, Cancro FP, Silverio A, Di Maio M, Iannece P, Damato A, i sur. COVID-19 and Acute Coronary Syndromes: From Pathophysiology to Clinical Perspectives. *Oxidative Med Cell Longev.* 2021;2021:4936571.
39. Evans PC, Rainger GE, Mason JC, Guzik TJ, Osto E, Stamataki Z, i sur. Endothelial dysfunction in COVID-19: a position paper of the ESC Working Group for Atherosclerosis and Vascular Biology, and the ESC Council of Basic Cardiovascular Science. *Cardiovasc Res.* 2020;116:2177-84.
40. Vosko I, Zirlik A, Bugger H. Impact of COVID-19 on Cardiovascular Disease. *Viruses.* 2023;15.
41. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, i sur. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020;395:507-13.
42. Welch JL, Xiang J, Chang Q, Houtman JCD, Stapleton JT. T-Cell Expression of Angiotensin-Converting Enzyme 2 and Binding of Severe Acute Respiratory Coronavirus 2. *J Infect Dis.* 2022;225:810-19.
43. Diao B, Wang C, Tan Y, Chen X, Liu Y, Ning L, i sur. Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Front Immunol.* 2020;11:827.
44. Fischer K, Hoffmann P, Voelkl S, Meidenbauer N, Ammer J, Edinger M, i sur. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood.* 2007;109:3812-9.
45. Abou-Ismaïl MY, Diamond A, Kapoor S, Arafah Y, Nayak L. The hypercoagulable state in COVID-19: Incidence, pathophysiology, and management. *Thromb Res.* 2020;194:101-15.
46. Harapan BN, Yoo HJ. Neurological symptoms, manifestations, and complications associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease 19 (COVID-19). *J Neurol.* 2021;268:3059-71.
47. Tsivgoulis G, Palaiodimou L, Katsanos AH, Caso V, Kohrmann M, Molina C, i sur. Neurological manifestations and implications of COVID-19 pandemic. *Ther Adv Neurol Disord.* 2020;13:1756286420932036.
48. Amirian ES. Potential fecal transmission of SARS-CoV-2: Current evidence and implications for public health. *Int Soc Infect Dis.* 2020;95:363-70.
49. Keyhanian K, Umeton RP, Mohit B, Davoudi V, Hajighasemi F, Ghasemi M. SARS-CoV-2 and nervous system: From pathogenesis to clinical manifestation. *J Neuroimmunol.* 2020;350:577436.

50. Zhou Z, Kang H, Li S, Zhao X. Understanding the neurotropic characteristics of SARS-CoV-2: from neurological manifestations of COVID-19 to potential neurotropic mechanisms. *J Neurol.* 2020;267:2179-84.
51. Du M, Cai G, Chen F, Christiani DC, Zhang Z, Wang M. Multiomics Evaluation of Gastrointestinal and Other Clinical Characteristics of COVID-19. *Gastroenterology.* 2020;158:2298-301 e7.
52. Ma C, Cong Y, Zhang H. COVID-19 and the Digestive System. *Am J Gastroenterol.* 2020;115:1003-06.
53. Zhang H, Shao B, Dang Q, Chen Z, Zhou Q, Luo H, i sur. Pathogenesis and Mechanism of Gastrointestinal Infection With COVID-19. *Front Immunol.* 2021;12:674074.
54. Leowattana W. Angiotensin-converting enzyme 2 receptors, chronic liver diseases, common medications, and clinical outcomes in coronavirus disease 2019 patients. *World J Virol.* 2021;10:86-96.
55. Wong SH, Lui RN, Sung JJ. Covid-19 and the digestive system. *J Gastroenterol Hepatol.* 2020;35:744-48.
56. Benedetti C, Waldman M, Zaza G, Riella LV, Cravedi P. COVID-19 and the Kidneys: An Update. *Front Med.* 2020;7:423.
57. Hamilton P, Hanumapura P, Castelino L, Henney R, Parker K, Kumar M, i sur. Characteristics and outcomes of hospitalised patients with acute kidney injury and COVID-19. *PloS one.* 2020;15:e0241544.
58. Leshner AM, Song WC. Review: Complement and its regulatory proteins in kidney diseases. *Nephrology.* 2010;15:663-75.
59. Tecklenborg J, Clayton D, Siebert S, Coley SM. The role of the immune system in kidney disease. *Clin Exp Immunol.* 2018;192:142-50.
60. Lammerts RGM, Eisenga MF, Alyami M, Daha MR, Seelen MA, Pol RA, i sur. Urinary Properdin and sC5b-9 Are Independently Associated With Increased Risk for Graft Failure in Renal Transplant Recipients. *Front Immunol.* 2019;10:2511.
61. Nahhal S, Halawi A, Basma H, Sr., Jibai A, Ajami Z. Anti-Glomerular Basement Membrane Disease as a Potential Complication of COVID-19: A Case Report and Review of Literature. *Cureus.* 2020;12:e12089.
62. Izzedine H, Jhaveri KD. Acute kidney injury in patients with COVID-19: an update on the pathophysiology. *Nephrol Dial Transpl.* 2021;36:224-26.

63. Martinez-Perez R, Kortz MW, Carroll BW, Duran D, Neill JS, Luzardo GD, i sur. Coronavirus Disease 2019 and Pituitary Apoplexy: A Single-Center Case Series and Review of the Literature. *World Neurosurg.* 2021;152:e678-e87.
64. Sheikh AB, Javed N, Sheikh AAE, Upadhyay S, Shekhar R. Diabetes Insipidus and Concomitant Myocarditis: A Late Sequelae of COVID-19 Infection. *J Investig Med High Impact Case Rep.* 2021;9:2324709621999954.
65. Yousaf Z, Al-Shokri SD, Al-Soub H, Mohamed MFH. COVID-19-associated SIADH: a clue in the times of pandemic! *A J Physiol Endocrinol Metab.* 2020;318:E882-E85.
66. Zhang X, Cai H, Hu J, Lian J, Gu J, Zhang S, i sur. Epidemiological, clinical characteristics of cases of SARS-CoV-2 infection with abnormal imaging findings. *Int J Infect Dis:* 2020;94:81-87.
67. Lania A, Sandri MT, Cellini M, Mirani M, Lavezzi E, Mazziotti G. Thyrotoxicosis in patients with COVID-19: the THYRCOV study. *Eur J Endocrinol.* 2020;183:381-87.
68. Muller I, Cannavaro D, Dazzi D, Covelli D, Mantovani G, Muscatello A, i sur. SARS-CoV-2-related atypical thyroiditis. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2020;8:739-41.
69. Cippa PE, Cugnata F, Ferrari P, Brombin C, Ruinelli L, Bianchi G, i sur. A data-driven approach to identify risk profiles and protective drugs in COVID-19. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021;118.
70. Scappaticcio L, Pitoia F, Esposito K, Piccardo A, Trimboli P. Impact of COVID-19 on the thyroid gland: an update. *Rev Endocr Metab Disord.* 2021;22:803-15.
71. Trimboli P, Camponovo C, Scappaticcio L, Bellastella G, Piccardo A, Rotondi M. Thyroid sequelae of COVID-19: a systematic review of reviews. *Rev Endocr Metab Disord.* 2021;22:485-91.
72. Correia de Sa T, Soares C, Rocha M. Acute pancreatitis and COVID-19: A literature review. *World J Gastrointest Surg.* 2021;13:574-84.
73. Ceriello A. Hyperglycemia and COVID-19: What was known and what is really new? *Diabetes Re Clin Pract.* 2020;167:108383.
74. Saand AR, Flores M, Kewan T, Alqaisi S, Alwakeel M, Griffiths L, i sur. Does inpatient hyperglycemia predict a worse outcome in COVID-19 intensive care unit patients? *J Diabetes.* 2021;13:253-60.
75. Teblich A, Gunst J, Van den Berghe G. Critical Illness-induced Corticosteroid Insufficiency: What It Is Not and What It Could Be. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022;107:2057-64.

76. Mao Y, Xu B, Guan W, Xu D, Li F, Ren R, i sur. The Adrenal Cortex, an Underestimated Site of SARS-CoV-2 Infection. *Frontiers in endocrinology*. 2020;11:593179.
77. Zeng K, Santhya S, Soong A, Malhotra N, Pushparajah D, Thoon KC, i sur. Serial Intervals and Incubation Periods of SARS-CoV-2 Omicron and Delta Variants, Singapore. *Emerging infectious diseases*. 2023;29:814-17.
78. National Institutes of Health. COVID-19 Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines [Internet]. Bethesda US: NIH; 2023 [citirano 3. veljače 2023]. Dostupno na: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/overview/clinical-spectrum/>.
79. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, Wu GC, Deng K, Chen YK, i sur. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med*. 2020;26:845-48.
80. National Institutes of Health. COVID-19 Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines [Internet]. Bethesda US: NIH; 2023 [citirano 3. veljače 2023]. Dostupno na: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/overview/sars-cov-2-testing/>.
81. Hanson KE, Caliendo AM, Arias CA, Englund JA, Hayden MK, Lee MJ, i sur. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Serologic Testing. *Clin Infect Dis*. 2020.
82. van Kasteren PB, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, de Jonge J, van den Brandt A, i sur. Comparison of seven commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19. *J Clin Virol*. 2020;128:104412.
83. Jiang C, Li X, Ge C, Ding Y, Zhang T, Cao S, i sur. Molecular detection of SARS-CoV-2 being challenged by virus variation and asymptomatic infection. *J Pharm Anal*. 2021;11:257-64.
84. National Institutes of Health. COVID-19 Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines [Internet]. Bethesda US: NIH; 2023 [citirano 10. listopada 2023]. Dostupno na: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>.
85. Kyosei Y, Namba M, Yamura S, Takeuchi R, Aoki N, Nakaishi K, i sur. Proposal of De Novo Antigen Test for COVID-19: Ultrasensitive Detection of Spike Proteins of SARS-CoV-2. *Diagnostics*. 2020;10.
86. Drain PK, Bemer M, Morton JF, Dalmat R, Abdille H, Thomas KK, i sur. Accuracy of 2 Rapid Antigen Tests During 3 Phases of SARS-CoV-2 Variants. *JAMA Netw Open*. 2022;5:e2228143.

87. Wong HYF, Lam HYS, Fong AH, Leung ST, Chin TW, Lo CSY, i sur. Frequency and Distribution of Chest Radiographic Findings in Patients Positive for COVID-19. *Radiology*. 2020;296:E72-E78.
88. Gil-Rodriguez J, Perez de Rojas J, Aranda-Laserna P, Benavente-Fernandez A, Martos-Ruiz M, Peregrina-Rivas JA, i sur. Ultrasound findings of lung ultrasonography in COVID-19: A systematic review. *Eur J Radiol*. 2022;148:110156.
89. Definition A, Ranieri V, Rubenfeld G, Thompson B, Ferguson N, Caldwell E, i sur. Acute respiratory distress syndrome. *Jama*. 2012;307:2526-33.
90. Ferguson ND, Fan E, Camporota L, Antonelli M, Anzueto A, Beale R, i sur. The Berlin definition of ARDS: an expanded rationale, justification, and supplementary material. *Intensive care medicine*. 2012;38:1573-82.
91. Kerchberger VE, Bastarache JA, Shaver CM, Nagata H, McNeil JB, Landstreet SR, i sur. Haptoglobin-2 variant increases susceptibility to acute respiratory distress syndrome during sepsis. *JCI insight*. 2019;4.
92. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet*. 1967;2:319-23.
93. Martin TR, Zemans RL, Ware LB, Schmidt EP, Riches DWH, Bastarache L, i sur. New Insights into Clinical and Mechanistic Heterogeneity of the Acute Respiratory Distress Syndrome: Summary of the Aspen Lung Conference 2021. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2022;67:284-308.
94. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, i sur. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;149:818-24.
95. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, i sur. Ards Definition Task Force. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *Jama*. 2012;307:2526-33.
96. Grasselli G, Calfee CS, Camporota L, Poole D, Amato MBP, Antonelli M, i sur. ESICM guidelines on acute respiratory distress syndrome: definition, phenotyping and respiratory support strategies. *Intensive Care Med*. 2023;49:727-59.
97. Liufu R, Wang CY, Weng L, Du B. Newly Proposed Diagnostic Criteria for Acute Respiratory Distress Syndrome: Does Inclusion of High Flow Nasal Cannula Solve the Problem? *J Clinic Med*. 2023;12.
98. Frat JP, Quenot JP, Badie J, Coudroy R, Guitton C, Ehrmann S, i sur. Effect of High-Flow Nasal Cannula Oxygen vs Standard Oxygen Therapy on Mortality in Patients With

Respiratory Failure Due to COVID-19: The SOHO-COVID Randomized Clinical Trial. *Jama*. 2022;328:1212-22.

99. Matthay MA, Thompson BT, Ware LB. The Berlin definition of acute respiratory distress syndrome: should patients receiving high-flow nasal oxygen be included? *Lancet Respir Med*. 2021;9:933-36.

100. Ranieri VM, Tonetti T, Navalesi P, Nava S, Antonelli M, Pesenti A, *i sur*. High-Flow Nasal Oxygen for Severe Hypoxemia: Oxygenation Response and Outcome in Patients with COVID-19. *Am J Respir Crit Care Med*. 2022;205:431-39.

101. Rice TW, Wheeler AP, Bernard GR, Hayden DL, Schoenfeld DA, Ware LB, *i sur*. Comparison of the SpO<sub>2</sub>/FIO<sub>2</sub> ratio and the PaO<sub>2</sub>/FIO<sub>2</sub> ratio in patients with acute lung injury or ARDS. *Chest*. 2007;132:410-7.

102. Wick KD, Matthay MA, Ware LB. Pulse oximetry for the diagnosis and management of acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*. 2022;10:1086-98.

103. Wilson JG, Calfee CS. ARDS Subphenotypes: Understanding a Heterogeneous Syndrome. *Crit Care*. 2020;24:102.

104. Pelosi P, D'Onofrio D, Chiumello D, Paolo S, Chiara G, Capelozzi VL, *i sur*. Pulmonary and extrapulmonary acute respiratory distress syndrome are different. *Eur Respir J Suppl*. 2003;42:48s-56s.

105. Group RC, Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, Bell JL, *i sur*. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *New Engl J Med*. 2021;384:693-704.

106. Kalil AC, Patterson TF, Mehta AK, Tomashek KM, Wolfe CR, Ghazaryan V, *i sur*. Baricitinib plus Remdesivir for Hospitalized Adults with Covid-19. *New Engl J Med*. 2021;384:795-807.

107. Calfee CS, Delucchi K, Parsons PE, Thompson BT, Ware LB, Matthay MA, *i sur*. Subphenotypes in acute respiratory distress syndrome: latent class analysis of data from two randomised controlled trials. *Lancet Respir Med*. 2014;2:611-20.

108. Duggal A, Kast R, Van Ark E, Bulgarelli L, Siuba MT, Osborn J, *i sur*. Identification of acute respiratory distress syndrome subphenotypes de novo using routine clinical data: a retrospective analysis of ARDS clinical trials. *BMJ Open*. 2022;12:e053297.

109. Famous KR, Delucchi K, Ware LB, Kangelaris KN, Liu KD, Thompson BT, *i sur*. Acute Respiratory Distress Syndrome Subphenotypes Respond Differently to Randomized Fluid Management Strategy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;195:331-38.

110. Bos LDJ, Ware LB. Acute respiratory distress syndrome: causes, pathophysiology, and phenotypes. *Lancet*. 2022;400:1145-56.



111. Constantin JM, Jabaudon M, Lefrant JY, Jaber S, Quenot JP, Langeron O, i sur. Personalised mechanical ventilation tailored to lung morphology versus low positive end-expiratory pressure for patients with acute respiratory distress syndrome in France (the LIVE study): a multicentre, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2019;7:870-80.
112. Pierrakos C, Smit MR, Pisani L, Paulus F, Schultz MJ, Constantin JM, i sur. Lung Ultrasound Assessment of Focal and Non-focal Lung Morphology in Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome. *Front Physiol.* 2021;12:730857.
113. Wendel Garcia PD, Caccioppola A, Coppola S, Pozzi T, Ciabattoni A, Cenci S, i sur. Latent class analysis to predict intensive care outcomes in Acute Respiratory Distress Syndrome: a proposal of two pulmonary phenotypes. *Crit Care.* 2021;25:154.
114. Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, Arabi YM, Beitler JR, Mercat A, i sur. Acute respiratory distress syndrome. *Nat Rev Dis Primers.* 2019;5:18.
115. Thille AW, Esteban A, Fernandez-Segoviano P, Rodriguez JM, Aramburu JA, Penuelas O, i sur. Comparison of the Berlin definition for acute respiratory distress syndrome with autopsy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187:761-7.
116. Matthay MA, Folkesson HG, Clerici C. Lung epithelial fluid transport and the resolution of pulmonary edema. *Physiol Rev.* 2002;82:569-600.
117. Ikegami M, Falcone A, Whitsett JA. STAT-3 regulates surfactant phospholipid homeostasis in normal lung and during endotoxin-mediated lung injury. *J Appl Physiol.* 2008;104:1753-60.
118. Rizzo AN, Haeger SM, Oshima K, Yang Y, Wallbank AM, Jin Y, i sur. Alveolar epithelial glycocalyx degradation mediates surfactant dysfunction and contributes to acute respiratory distress syndrome. *JCI Insight.* 2022;7.
119. Wang L, Bastarache JA, Wickersham N, Fang X, Matthay MA, Ware LB. Novel role of the human alveolar epithelium in regulating intra-alveolar coagulation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2007;36:497-503.
120. Crouch E, Wright JR. Surfactant proteins a and d and pulmonary host defense. *Ann Rev Physiol.* 2001;63:521-54.
121. Schmidt EP, Yang Y, Janssen WJ, Gandjeva A, Perez MJ, Barthel L, i sur. The pulmonary endothelial glycocalyx regulates neutrophil adhesion and lung injury during experimental sepsis. *Nat Med.* 2012;18:1217-23.

122. Livingstone SA, Wildi KS, Dalton HJ, Usman A, Ki KK, Passmore MR, i sur. Coagulation Dysfunction in Acute Respiratory Distress Syndrome and Its Potential Impact in Inflammatory Subphenotypes. *Front Med.* 2021;8:723217.
123. Lin WC, Fessler MB. Regulatory mechanisms of neutrophil migration from the circulation to the airspace. *Cell Mol Life Sci.* 2021;78:4095-124.
124. Lefrancais E, Mallavia B, Zhuo H, Calfee CS, Looney MR. Maladaptive role of neutrophil extracellular traps in pathogen-induced lung injury. *JCI Insight.* 2018;3.
125. Aggarwal NR, King LS, D'Alessio FR. Diverse macrophage populations mediate acute lung inflammation and resolution. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2014;306:L709-25.
126. Perl M, Lomas-Neira J, Venet F, Chung CS, Ayala A. Pathogenesis of indirect (secondary) acute lung injury. *Expert Rev Respir Med.* 2011;5:115-26.
127. Beitler JR, Malhotra A, Thompson BT. Ventilator-induced Lung Injury. *Clin Chest Med.* 2016;37:633-46.
128. Gattinoni L, Pesenti A. The concept of "baby lung". *Intensive Care Med.* 2005;31:776-84.
129. Selickman J, Vrettou CS, Mentzelopoulos SD, Marini JJ. COVID-19-Related ARDS: Key Mechanistic Features and Treatments. *J Clin Med.* 2022;11.
130. Lyons C, Callaghan M. The use of high-flow nasal oxygen in COVID-19. *Anaesthesia.* 2020;75:843-47.
131. McEnery T, Gough C, Costello RW. COVID-19: Respiratory support outside the intensive care unit. *Lancet Respir Med.* 2020;8:538-39.
132. Nishimura M. High-flow nasal cannula oxygen therapy in adults. *J Inten Care.* 2015;3:15.
133. Parke R, McGuinness S, Eccleston M. Nasal high-flow therapy delivers low level positive airway pressure. *Br J Anaesth.* 2009;103:886-90.
134. Prakash J, Bhattacharya PK, Yadav AK, Kumar A, Tudu LC, Prasad K. ROX index as a good predictor of high flow nasal cannula failure in COVID-19 patients with acute hypoxemic respiratory failure: A systematic review and meta-analysis. *J Crit Care.* 2021;66:102-08.
135. Azoulay E, Pickkers P, Soares M, Perner A, Rello J, Bauer PR, i sur. Acute hypoxemic respiratory failure in immunocompromised patients: the Efrain multinational prospective cohort study. *Intensive Care Med.* 2017;43:1808-19.
136. Rochweg B, Brochard L, Elliott MW, Hess D, Hill NS, Nava S, i sur. Official ERS/ATS clinical practice guidelines: noninvasive ventilation for acute respiratory failure. *Eur Respir J.* 2017;50.

137. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, i sur. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *Jama*. 2020;323:1061-69.
138. Brewster DJ, Chrimes N, Do TB, Fraser K, Groombridge CJ, Higgs A, i sur. Consensus statement: Safe Airway Society principles of airway management and tracheal intubation specific to the COVID-19 adult patient group. *Med J Aust*. 2020;212:472-81.
139. Acute Respiratory Distress Syndrome N, Brower RG, Matthay MA, Morris A, Schoenfeld D, Thompson BT, i sur. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *New Engl J Med*. 2000;342:1301-8.
140. Goligher EC, Jonkman AH, Dianti J, Vaporidi K, Beitler JR, Patel BK, i sur. Clinical strategies for implementing lung and diaphragm-protective ventilation: avoiding insufficient and excessive effort. *Int Care Med*. 2020;46:2314-26.
141. Sahetya SK, Goligher EC, Brower RG. Fifty Years of Research in ARDS. Setting Positive End-Expiratory Pressure in Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;195:1429-38.
142. Slutsky AS, Ranieri VM. Ventilator-induced lung injury. *New Engl J Med*. 2013;369:2126-36.
143. Fougères E, Teboul JL, Richard C, Osman D, Chemla D, Monnet X. Hemodynamic impact of a positive end-expiratory pressure setting in acute respiratory distress syndrome: importance of the volume status. *Crit Care Med*. 2010;38:802-7.
144. Fan E, Wilcox ME, Brower RG, Stewart TE, Mehta S, Lapinsky SE, i sur. Recruitment maneuvers for acute lung injury: a systematic review. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178:1156-63.
145. Amato MB, Meade MO, Slutsky AS, Brochard L, Costa EL, Schoenfeld DA, i sur. Driving pressure and survival in the acute respiratory distress syndrome. *New Engl J Med*. 2015;372:747-55.
146. Guerin C, Albert RK, Beitler J, Gattinoni L, Jaber S, Marini JJ, i sur. Prone position in ARDS patients: why, when, how and for whom. *Intensive Care Med*. 2020;46:2385-96.
147. Guerin C, Reignier J, Richard JC, Beuret P, Gacouin A, Boulain T, i sur. Prone positioning in severe acute respiratory distress syndrome. *New Engl J Med*. 2013;368:2159-68.
148. Binda F, Galazzi A, Marelli F, Gambazza S, Villa L, Vinci E, i sur. Complications of prone positioning in patients with COVID-19: A cross-sectional study. *Intensive Crit Care Nurs*. 2021;67:103088.

149. Li J, Luo J, Pavlov I, Perez Y, Tan W, Roca O, i sur. Awake prone positioning for non-intubated patients with COVID-19-related acute hypoxaemic respiratory failure: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Respir Med.* 2022;10:573-83.
150. Papazian L, Forel JM, Gacouin A, Penot-Ragon C, Perrin G, Loundou A, i sur. Neuromuscular blockers in early acute respiratory distress syndrome. *New Engl J Med.* 2010;363:1107-16.
151. National Heart Lung, and Blood Institute PCTN, Moss M, Huang DT, Brower RG, Ferguson ND, i sur. Early Neuromuscular Blockade in the Acute Respiratory Distress Syndrome. *New Engl J Med.* 2019;380:1997-2008.
152. Fujishima S. Guideline-based management of acute respiratory failure and acute respiratory distress syndrome. *J Intensive Care.* 2023;11:10.
153. Chaudhuri D, Sasaki K, Karkar A, Sharif S, Lewis K, Mammen MJ, i sur. Corticosteroids in COVID-19 and non-COVID-19 ARDS: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2021;47:521-37.
154. National Institutes of Health. COVID-19 Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines [Internet]. Bethesda US: NIH; 2023 [citirano 10. listopad 2023.]. Dostupno na: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>.
155. Song SN, Yoshizaki K. Tocilizumab for treating rheumatoid arthritis: an evaluation of pharmacokinetics/pharmacodynamics and clinical efficacy. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2015;11:307-16.
156. Rawlings JS, Rosler KM, Harrison DA. The JAK/STAT signaling pathway. *J Cell Sci.* 2004;117:1281-3.
157. Amstutz A, Speich B, Mentre F, Rueegg CS, Belhadi D, Assoumou L, i sur. Effects of remdesivir in patients hospitalised with COVID-19: a systematic review and individual patient data meta-analysis of randomised controlled trials. *Lancet Respir Med.* 2023;11:453-64.
158. Centers for Disease Control and Prevention. Pneumonia (PNEU) Event – January 2023. [Internet]. Atlanta US: CDC; 2023 [citirano 20. svibanj 2023.]. Dostupno na: <https://www.cdc.gov/nhsn/psc/pneu/index.html>.
159. American Thoracic S, Infectious Diseases Society of A. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:388-416.
160. Sangale A, Vivek B, Kelkar R, Biswas S. Microbiology of Ventilator-associated Pneumonia in a Tertiary Care Cancer Hospital. *Indian J Crit Care Med.* 2021;25:421-28.

161. Seguin P, Laviolle B, Dahyot-Fizelier C, Dumont R, Veber B, Gergaud S, i sur. Effect of oropharyngeal povidone-iodine preventive oral care on ventilator-associated pneumonia in severely brain-injured or cerebral hemorrhage patients: a multicenter, randomized controlled trial. *Crit Care Med.* 2014;42:1-8.
162. Alvarez Lerma F, Sanchez Garcia M, Lorente L, Gordo F, Anon JM, Alvarez J, i sur. Guidelines for the prevention of ventilator-associated pneumonia and their implementation. The Spanish "Zero-VAP" bundle. *Med Intensiva.* 2014;38:226-36.
163. Kollef MH, Hamilton CW, Ernst FR. Economic impact of ventilator-associated pneumonia in a large matched cohort. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2012;33:250-6.
164. Papazian L, Klompas M, Luyt CE. Ventilator-associated pneumonia in adults: a narrative review. *Intensive Care Med.* 2020;46:888-906.
165. Erb CT, Patel B, Orr JE, Bice T, Richards JB, Metersky ML, i sur. Management of Adults with Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia. *Ann Am Thorac Soc.* 2016;13:2258-60.
166. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, i sur. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis.* 2016;63:e61-e111.
167. Martin-Loeches I, Povoja P, Rodriguez A, Curcio D, Suarez D, Mira JP, i sur. Incidence and prognosis of ventilator-associated tracheobronchitis (TAVeM): a multicentre, prospective, observational study. *Lancet Respir Med.* 2015;3:859-68.
168. Klompas M, Kulldorff M, Platt R. Risk of misleading ventilator-associated pneumonia rates with use of standard clinical and microbiological criteria. *Clin Infect Dis.* 2008;46:1443-6.
169. Miyashita N, Kawai Y, Tanaka T, Akaike H, Teranishi H, Wakabayashi T, i sur. Detection failure rate of chest radiography for the identification of nursing and healthcare-associated pneumonia. *J Infect Chemother.* 2015;21:492-6.
170. Centers for Disease Control and Prevention. Ventilator-associated Event (VAE) Protocol – January 2023. [Internet]. Atlanta US: CDC; 2023 [citirano 25. lipanj 2023.]. Dostupno na: <https://www.cdc.gov/nhsn/psc/vae/index.html>.
171. Boyer AF, Schoenberg N, Babcock H, McMullen KM, Micek ST, Kollef MH. A prospective evaluation of ventilator-associated conditions and infection-related ventilator-associated conditions. *Chest.* 2015;147:68-81.

172. Fagon JY, Chastre J, Wolff M, Gervais C, Parer-Aubas S, Stephan F, i sur. Invasive and noninvasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia. A randomized trial. *Ann Int Med.* 2000;132:621-30.
173. Berton DC, Kalil AC, Teixeira PJ. Quantitative versus qualitative cultures of respiratory secretions for clinical outcomes in patients with ventilator-associated pneumonia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014:CD006482.
174. Saura O, Luyt CE. Procalcitonin as a biomarker to guide treatments for patients with lower respiratory tract infections. *Exp Rev Respir Med.* 2023;17:651-61.
175. Luyt CE, Guerin V, Combes A, Trouillet JL, Ayed SB, Bernard M, i sur. Procalcitonin kinetics as a prognostic marker of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:48-53.
176. Stolz D, Smyrnios N, Eggimann P, Pargger H, Thakkar N, Siegemund M, i sur. Procalcitonin for reduced antibiotic exposure in ventilator-associated pneumonia: a randomised study. *Eur Respir J.* 2009;34:1364-75.
177. Garrouste-Orgeas M, Chevret S, Arlet G, Marie O, Rouveau M, Popoff N, i sur. Oropharyngeal or gastric colonization and nosocomial pneumonia in adult intensive care unit patients. A prospective study based on genomic DNA analysis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156:1647-55.
178. Jaillette E, Girault C, Brunin G, Zerimech F, Behal H, Chiche A, i sur. Impact of tapered-cuff tracheal tube on microaspiration of gastric contents in intubated critically ill patients: a multicenter cluster-randomized cross-over controlled trial. *Intensive Care Med.* 2017;43:1562-71.
179. Safdar N, Crnich CJ, Maki DG. The pathogenesis of ventilator-associated pneumonia: its relevance to developing effective strategies for prevention. *Respir Care.* 2005;50:725-39; discussion 39-41.
180. Klompas M, Branson R, Cawcutt K, Crist M, Eichenwald EC, Greene LR, i sur. Strategies to prevent ventilator-associated pneumonia, ventilator-associated events, and nonventilator hospital-acquired pneumonia in acute-care hospitals: 2022 Update. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2022;43:687-713.
181. Maruyama T, Fujisawa T, Okuno M, Toyoshima H, Tsutsui K, Maeda H, i sur. A new strategy for healthcare-associated pneumonia: a 2-year prospective multicenter cohort study using risk factors for multidrug-resistant pathogens to select initial empiric therapy. *Clin Infect Dis.* 2013;57:1373-83.

182. Grasselli G, Scaravilli V, Mangioni D, Scudeller L, Alagna L, Bartoletti M, i sur. Hospital-Acquired Infections in Critically Ill Patients With COVID-19. *Chest*. 2021;160:454-65.
183. Zhu N, Wang W, Liu Z, Liang C, Wang W, Ye F, i sur. Morphogenesis and cytopathic effect of SARS-CoV-2 infection in human airway epithelial cells. *Nat Commun*. 2020;11:3910.
184. Chertow DS, Memoli MJ. Bacterial coinfection in influenza: a grand rounds review. *Jama*. 2013;309:275-82.
185. Corsonello A, Lattanzio F, Bustacchini S, Garasto S, Cozza A, Schepisi R, i sur. Adverse Events of Proton Pump Inhibitors: Potential Mechanisms. *Curr Drug Metabol*. 2018;19:142-54.
186. Lamers MM, Beumer J, van der Vaart J, Knoops K, Puschhof J, Breugem TI, i sur. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science*. 2020;369:50-54.
187. Pasero D, Cossu AP, Terragni P. Multi-Drug Resistance Bacterial Infections in Critically Ill Patients Admitted with COVID-19. *Microorganisms*. 2021;9.
188. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, i sur. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:268-81.
189. Murray AK. The Novel Coronavirus COVID-19 Outbreak: Global Implications for Antimicrobial Resistance. *Front Microbiol*. 2020;11:1020.
190. Widdicombe JH, Wine JJ. Airway Gland Structure and Function. *Physiol Rev*. 2015;95:1241-319.
191. Ganesan S, Comstock AT, Sajjan US. Barrier function of airway tract epithelium. *Tissue barriers*. 2013;1:e24997.
192. Voynow JA, Rubin BK. Mucins, mucus, and sputum. *Chest*. 2009;135:505-12.
193. Zanin M, Baviskar P, Webster R, Webby R. The Interaction between Respiratory Pathogens and Mucus. *Cell Hos Microbe*. 2016;19:159-68.
194. Munkholm M, Mortensen J. Mucociliary clearance: pathophysiological aspects. *Clin Physiol Funct I*. 2014;34:171-7.
195. Wanner A, Salathe M, O'Riordan TG. Mucociliary clearance in the airways. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;154:1868-902.
196. Rubin BK. Physiology of airway mucus clearance. *Respir Care*. 2002;47:761-8.
197. Icard BL, Rubio E. The role of mucoactive agents in the mechanically ventilated patient: a review of the literature. *Exp Rev Respir Med*. 2017;11:807-14.

198. Rubin BK. The pharmacologic approach to airway clearance: mucoactive agents. *Respir Care*. 2002;47:818-22.
199. Konrad F, Schreiber T, Brecht-Kraus D, Georgieff M. Mucociliary transport in ICU patients. *Chest*. 1994;105:237-41.
200. Sackner MA, Landa J, Hirsch J, Zapata A. Pulmonary effects of oxygen breathing. A 6-hour study in normal men. *Ann Int Med*. 1975;82:40-3.
201. Thille AW, Boissier F, Ben Ghezala H, Razazi K, Mekontso-Dessap A, Brun-Buisson C. Risk factors for and prediction by caregivers of extubation failure in ICU patients: a prospective study. *Crit Care Med*. 2015;43:613-20.
202. Feldman KS, Kim E, Czachowski MJ, Wu Y, Lo CW, Zahid M. Differential effect of anesthetics on mucociliary clearance in vivo in mice. *Sci Rep*. 2021;11:4896.
203. Smina M, Salam A, Khamiees M, Gada P, Amoateng-Adjepong Y, Manthous CA. Cough peak flows and extubation outcomes. *Chest*. 2003;124:262-8.
204. Ray JF, 3rd, Yost L, Moallem S, Sanoudos GM, Villamena P, Paredes RM, i sur. Immobility, hypoxemia, and pulmonary arteriovenous shunting. *Arch Surg*. 1974;109:537-41.
205. Schweickert WD, Hall J. ICU-acquired weakness. *Chest*. 2007;131:1541-9.
206. Cole PJ. Inflammation: a two-edged sword--the model of bronchiectasis. *Eur J Respir Dis Suppl*. 1986;147:6-15.
207. Jaber S, Quintard H, Cinotti R, Asehnoune K, Arnal JM, Guitton C, i sur. Risk factors and outcomes for airway failure versus non-airway failure in the intensive care unit: a multicenter observational study of 1514 extubation procedures. *Crit Care*. 2018;22:236.
208. Maggiore SM, Battilana M, Serano L, Petrini F. Ventilatory support after extubation in critically ill patients. *Lancet Respir Med*. 2018;6:948-62.
209. van Meenen DMP, van der Hoeven SM, Binnekade JM, de Borgie C, Merkus MP, Bosch FH, i sur. Effect of On-Demand vs Routine Nebulization of Acetylcysteine With Salbutamol on Ventilator-Free Days in Intensive Care Unit Patients Receiving Invasive Ventilation: A Randomized Clinical Trial. *Jama*. 2018;319:993-1001.
210. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, 3rd, Feldman HI, i sur. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Int Med*. 2009;150:604-12.
211. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40:373-83.
212. Bennett WD, Henderson AG, Donaldson SH. Hydrator Therapies for Chronic Bronchitis. Lessons from Cystic Fibrosis. *Ann Am Thorac Soc*. 2016;13 Suppl 2:S186-90.



213. Donaldson SH, Bennett WD, Zeman KL, Knowles MR, Tarran R, Boucher RC. Mucus clearance and lung function in cystic fibrosis with hypertonic saline. *New Engl J Med.* 2006;354:241-50.
214. Robinson M, Hemming AL, Regnis JA, Wong AG, Bailey DL, Bautovich GJ, i sur. Effect of increasing doses of hypertonic saline on mucociliary clearance in patients with cystic fibrosis. *Thorax.* 1997;52:900-3.
215. King M, Dasgupta B, Tomkiewicz RP, Brown NE. Rheology of cystic fibrosis sputum after in vitro treatment with hypertonic saline alone and in combination with recombinant human deoxyribonuclease I. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156:173-7.
216. Wills PJ, Hall RL, Chan W, Cole PJ. Sodium chloride increases the ciliary transportability of cystic fibrosis and bronchiectasis sputum on the mucus-depleted bovine trachea. *J Clin Invest.* 1997;99:9-13.
217. Bergsson G, Reeves EP, McNally P, Chotirmall SH, Greene CM, Greally P, i sur. LL-37 complexation with glycosaminoglycans in cystic fibrosis lungs inhibits antimicrobial activity, which can be restored by hypertonic saline. *J Immunol.* 2009;183:543-51.
218. Michon AL, Jumas-Bilak E, Chiron R, Lamy B, Marchandin H. Advances toward the elucidation of hypertonic saline effects on *Pseudomonas aeruginosa* from cystic fibrosis patients. *PloS One.* 2014;9:e90164.
219. Maiz Carro L, Martinez-Garcia MA. Nebulized hypertonic saline in noncystic fibrosis bronchiectasis: a comprehensive review. *Ther Adv Respir Dis.* 2019;13:1753466619866102.
220. Everard ML, Hind D, Ugonna K, Freeman J, Bradburn M, Cooper CL, i sur. SABRE: a multicentre randomised control trial of nebulised hypertonic saline in infants hospitalised with acute bronchiolitis. *Thorax.* 2014;69:1105-12.
221. Masoompour SM, Anushiravani A, Tafaraj Norouz A. Evaluation of the Effect of Nebulized N-Acetylcysteine on Respiratory Secretions in Mechanically Ventilated Patients: Randomized Clinical Trial. *Iranian J Med Sci.* 2015;40:309-15.
222. Rogers DF. Mucoactive Agents for Airway Mucus Hypersecretory Diseases. *Respir Care.* 2007;52:1176-97.
223. Chen EY, Yang N, Quinton PM, Chin WC. A new role for bicarbonate in mucus formation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2010;299:L542-9.
224. Gomez CCS, Parazzi PLF, Clinckspoor KJ, Mauch RM, Pessine FBT, Levy CE, i sur. Safety, Tolerability, and Effects of Sodium Bicarbonate Inhalation in Cystic Fibrosis. *Clin Drug Investig.* 2020;40:105-17.

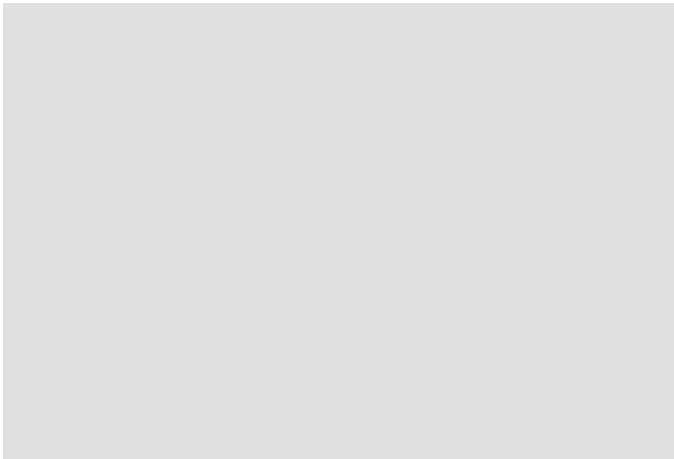
225. Wardeh A, Conklin J, Ko M. Case reports of observed significant improvement in patients with ARDS due to COVID-19 and maximum ventilatory support after inhalation of sodium bicarbonate. *J Clin Intensive Care Med*. 2020.
226. Fumagalli J, Panigada M, Klompas M, Berra L. Ventilator-associated pneumonia among SARS-CoV-2 acute respiratory distress syndrome patients. *Curr Opin Crit Care*. 2022;28:74-82.
227. Maes M, Higginson E, Pereira-Dias J, Curran MD, Parmar S, Khokhar F, i sur. Ventilator-associated pneumonia in critically ill patients with COVID-19. *Crit Care*. 2021;25:25.
228. Luyt CE, Bouadma L, Morris AC, Dhanani JA, Kollef M, Lipman J, i sur. Pulmonary infections complicating ARDS. *Intensive Care Med*. 2020;46:2168-83.
229. Razazi K, Arrestier R, Haudebourg AF, Benelli B, Carreaux G, Decousser JW, i sur. Correction to: Risks of ventilator-associated pneumonia and invasive pulmonary aspergillosis in patients with viral acute respiratory distress syndrome related or not to Coronavirus 19 disease. *Crit Care*. 2021;25:118.
230. Rouze A, Martin-Loeches I, Pova P, Makris D, Artigas A, Bouchereau M, i sur. Relationship between SARS-CoV-2 infection and the incidence of ventilator-associated lower respiratory tract infections: a European multicenter cohort study. *Intensive Care Med*. 2021;47:188-98.
231. Ippolito M, Misseri G, Catalisano G, Marino C, Ingoglia G, Alessi M, i sur. Ventilator-Associated Pneumonia in Patients with COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics*. 2021;10.
232. Chang R, Elhousseiny KM, Yeh YC, Sun WZ. COVID-19 ICU and mechanical ventilation patient characteristics and outcomes-A systematic review and meta-analysis. *PloS One*. 2021;16:e0246318.
233. Helms J, Tacquard C, Severac F, Leonard-Lorant I, Ohana M, Delabranche X, i sur. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med*. 2020;46:1089-98.
234. Wicky PH, Niedermann MS, Timsit JF. Ventilator-associated pneumonia in the era of COVID-19 pandemic: How common and what is the impact? *Crit Care*. 2021;25:153.
235. Giacobbe DR, Battaglini D, Enrile EM, Dentone C, Vena A, Robba C, i sur. Incidence and Prognosis of Ventilator-Associated Pneumonia in Critically Ill Patients with COVID-19: A Multicenter Study. *J Clin Med*. 2021;10.

236. Moretti M, Van Laethem J, Minini A, Pierard D, Malbrain M. Ventilator-associated bacterial pneumonia in coronavirus 2019 disease, a retrospective monocentric cohort study. *J Infect Chemother.* 2021;27:826-33.
237. Almand EA, Moore MD, Jaykus LA. Virus-Bacteria Interactions: An Emerging Topic in Human Infection. *Viruses.* 2017;9.
238. Bakaletz LO. Viral-bacterial co-infections in the respiratory tract. *Curr Opin Microbiol.* 2017;35:30-35.
239. McCullers JA. The co-pathogenesis of influenza viruses with bacteria in the lung. *Nat Rev Microbiol.* 2014;12:252-62.
240. Cox MJ, Loman N, Bogaert D, O'Grady J. Co-infections: potentially lethal and unexplored in COVID-19. *Lancet Microbe.* 2020;1:e11.
241. Rawson TM, Moore LSP, Zhu N, Ranganathan N, Skolimowska K, Gilchrist M, i sur. Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: A rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing. *Clin Infect Dis.* 2020.
242. Wark P, McDonald VM. Nebulised hypertonic saline for cystic fibrosis. *Cochrane database Syst Rev.* 2018;9:CD001506.
243. Zhang L, Mendoza-Sassi RA, Wainwright C, Klassen TP. Nebulised hypertonic saline solution for acute bronchiolitis in infants. *Cochrane database Syst Rev.* 2017;12:CD006458.
244. Qu D, Ren XX, Guo LY, Liang JX, Xu WJ, Han YH, i sur. [Effect of N-acetylcysteine inhalation on ventilator-associated pneumonia caused by biofilm in endotracheal tubes]. *Zhonghua er ke za zhi. Chinese.* 2016;54:278-82.
245. Cooper JL, Quinton PM, Ballard ST. Mucociliary transport in porcine trachea: differential effects of inhibiting chloride and bicarbonate secretion. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2013;304:L184-90.
246. Stigliani M, Manniello MD, Zegarra-Moran O, Galiotta L, Minicucci L, Casciaro R, i sur. Rheological Properties of Cystic Fibrosis Bronchial Secretion and in Vitro Drug Permeation Study: The Effect of Sodium Bicarbonate. *J Aerosol Med Pulm drug Deliv.* 2016;29:337-45.
247. Blonz G, Kouatchet A, Chudeau N, Pontis E, Lorber J, Lemeur A, i sur. Epidemiology and microbiology of ventilator-associated pneumonia in COVID-19 patients: a multicenter retrospective study in 188 patients in an un-inundated French region. *Crit Care.* 2021;25:72.
248. Pickens CO, Gao CA, Cuttica MJ, Smith SB, Pesce LL, Grant RA, i sur. Bacterial Superinfection Pneumonia in Patients Mechanically Ventilated for COVID-19 Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2021;204:921-32.

249. Rouyer M, Strazzulla A, Youbong T, Tarteret P, Pitsch A, de Pontfarcy A, i sur. Ventilator-Associated Pneumonia in COVID-19 Patients: A Retrospective Cohort Study. *Antibiotics*. 2021;10.
250. Rosenthal VD, Jin Z, Memish ZA, Rodrigues C, Myatra SN, Kharbanda M, i sur. Multinational prospective cohort study of rates and risk factors for ventilator-associated pneumonia over 24 years in 42 countries of Asia, Africa, Eastern Europe, Latin America, and the Middle East: Findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). *Antimicrob Steward Healthc Epidemiol*. 2023;3:e6.
251. Rosenthal VD, Yin R, Lu Y, Rodrigues C, Myatra SN, Kharbanda M, i sur. The impact of healthcare-associated infections on mortality in ICU: A prospective study in Asia, Africa, Eastern Europe, Latin America, and the Middle East. *Am J Infect Control*. 2023;51:675-82.
252. Ahrenfeldt LJ, Otavova M, Christensen K, Lindahl-Jacobsen R. Sex and age differences in COVID-19 mortality in Europe. *Wien Klin Wochenschr*. 2021;133:393-98.
253. Tejpal A, Gianos E, Cerise J, Hirsch JS, Rosen S, Kohn N, i sur. Sex-Based Differences in COVID-19 Outcomes. *J oWomen's Health*. 2021;30:492-501.
254. Sharma G, Volgman AS, Michos ED. Sex Differences in Mortality From COVID-19 Pandemic: Are Men Vulnerable and Women Protected? *JACC Case reports*. 2020;2:1407-10.
255. Nielsen J, Norgaard SK, Lanzieri G, Vestergaard LS, Moelbak K. Sex-differences in COVID-19 associated excess mortality is not exceptional for the COVID-19 pandemic. *Sci Rep*. 2021;11:20815.
256. Mauvais-Jarvis F, Bairey Merz N, Barnes PJ, Brinton RD, Carrero JJ, DeMeo DL, i sur. Sex and gender: modifiers of health, disease, and medicine. *Lancet*. 2020;396:565-82.
257. Vacheron CH, Lepape A, Savey A, Machut A, Timsit JF, Vanhems P, i sur. Increased Incidence of Ventilator-Acquired Pneumonia in Coronavirus Disease 2019 Patients: A Multicentric Cohort Study. *Crit Care Medicine*. 2022;50:449-59.
258. Vacheron CH, Lepape A, Savey A, Machut A, Timsit JF, Comparot S, i sur. Attributable Mortality of Ventilator-associated Pneumonia Among Patients with COVID-19. *Am J Respir Crit Care Med*. 2022;206:161-69.
259. Steen J, Vansteelandt S, De Bus L, Depuydt P, Gadeyne B, Benoit DD, i sur. Attributable Mortality of Ventilator-associated Pneumonia. Replicating Findings, Revisiting Methods. *Ann Am Thorac Soc*. 2021;18:830-37.

## **11. ŽIVOTOPIS**

## **OSOBNI PODATCI**



## **OBRAZOVANJE**

1989. – 1997. Osnovna škola „Dobri“, Split
1992. – 1997. Osnovna glazbena škola „Josip Hatze“, Split
1997. – 2001. V. Gimnazija „Vladimir Nazor“, Split
2001. – 2007. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu
2010. – 2013. Poslijediplomski doktorski studij „Biologija novotvorina“,  
Medicinski fakultet, Sveučilišta u Splitu

## **RADNO ISKUSTVO**

2007. – 2008. Pripravnički staž u KBC-u Split
2009. Liječnik u Domu Zdravlja Korčula, Ambulanta Trpanj
2009. – 2014. Specijalizacija iz anesteziologije, reanimatologije i intenzivnog liječenja u Kliničkom bolničkom centru Split
2014. – Specijalist anesteziologije, reanimatologije i intenzivnog liječenja u Kliničkom bolničkom centru Split
2017. – 2019. Uža specijalizacija iz intenzivne medicine u Kliničkom bolničkom centru Split
2018. – Algolog na Ambulanti za liječenje boli u Kliničkom bolničkom centru Split
2019. – Uži specijalist intenzivne medicine u Kliničkom bolničkom centru Split

## **DODATNA MEDICINSKA STRUČNA USAVRŠAVANJA**

2021. „Lung protective ventilation“, Heidelberg, Njemačka
2021. „Farmakologija boli“, Split
2020. „Racz Lab Interventional Pain Workshop“, online tečaj
2020. „Liječenje karcinomske boli“, online tečaj
2020. „Minimal invasive laser therapies in orthopedics“, Graz, Austrija
2019. „Akupunktura u liječenju boli“, Osijek
2019. „Križobolja – radionica na kadaverima“, Osijek
2019. „Akutna bol – nove spoznaje u patofiziologiji i liječenju“, Zagreb
2017. „Chronic pain – hands-on cadaver workshop“, Lugano, Švicarska

## **JEZICI**

Hrvatski jezik (materinski jezik)

Engleski jezik (aktivno korištenje u govoru i pisanju)

Talijanski jezik (osnovno korištenje u govoru i pisanju)

Njemački jezik (osnovno korištenje u govoru i pisanju)

## **ČLANSTVA**

Hrvatska liječnička komora

Hrvatsko društvo za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivnu medicinu (HDARIM)

Hrvatsko društvo za intenzivnu medicine (HDIM)

Hrvatsko društvo za liječenje boli

European Society of Anaesthesiology and Intensive Care (ESAIC)

European Society of Regional Anaesthesia and Pain Therapy (ESRA)

## **NASTAVNO ISKUSTVO**

2010. – Vanjski suradnik na Katedri anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

## **ORGANIZACIJA ZDRAVSTVENIH I STRUČNIH SKUPOVA**

2015. Predavač na međunarodnom tečaju I. kategorije „Ultrazvukom vođena regionalna anestezija“, Split.

2018. Voditelj međunarodnog tečaja I. kategorije „Ultrazvukom vođena regionalna anestezija“, Split.

2019. Predavač na poslijediplomskom tečaju I. kategorije „Središnji venski kateteri za dugotrajnu uporabu“, Split.

2021. Voditelj tečaja „Farmakologija boli“, Split.

## **POPIS PUBLIKACIJA**

1. Kljakovic Gaspic T, Pavicic Ivelja M, Kumric M, Matetic A, Delic N, Vrkic I, i sur. In-Hospital Mortality of COVID-19 Patients Treated with High-Flow Nasal Oxygen: Evaluation of Biomarkers and Development of the Novel Risk Score Model CROW-65. *Life* (Basel). 2021;11(8).

2. Delic N, Matetic A, Domjanovic J, Kljakovic-Gaspic T, Saric L, Ilic D, i sur. Effects of Different Inhalation Therapy on Ventilator-Associated Pneumonia in Ventilated COVID-19 Patients: A Randomized Controlled Trial. *Microorganisms*. 2022;10(6).

3. Domjanovic J, Matetic A, Bakovic Kramaric D, Domjanovic Skopinic T, Boric Skaro D, Delic N, i sur. Association of the novel CROW-65 risk score and mortality in hospitalized kidney transplant recipients with COVID-19 : A retrospective observational study. *Wien Klin Wochenschr*. 2022;134(23-24):842-49.

4. Kljakovic-Gaspic T, Tokic D, Martinovic D, Kumric M, Supe-Domic D, Stojanovic Stipic S, i sur. Prognostic Value of Catestatin in Severe COVID-19: An ICU-Based Study. *J Clin Med*. 2022;11(15).

5. Kovac R, Juginovic I, Delic N, Velat I, Vucemilovic H, Vukovic I, i sur. The Effect of Epidural Analgesia on Quality of Recovery (QoR) after Radical Prostatectomy. *J Pers Med*. 2022;13(1).



6. Bajto P, Saric I, Bugarin JD, Delic N, Dosenovic S, Ilic D, i sur. Barotrauma in patients with severe coronavirus disease 2019-retrospective observational study. *J Thorac Dis.* 2023;15(10):5297-306.
7. Domazet Bugarin J, Dosenovic S, Ilic D, Delic N, Saric I, Ugrina I, i sur. Vitamin D Supplementation and Clinical Outcomes in Severe COVID-19 Patients-Randomized Controlled Trial. *Nutrients.* 2023;15(5).
8. Domazet Bugarin J, Saric L, Delic N, Dosenovic S, Ilic D, Saric I, i sur. Health-Related Quality of Life of COVID-19 Survivors Treated in Intensive Care Unit-Pro prospective Observational Study. *J Intensive Care Med.* 2023;38(8):710-16.
9. Kovac R, Juginovic I, Delic N, Velat I, Vucemilovic H, Vukovic I, i sur. The Effect of Epidural Analgesia on Quality of Recovery (QoR) after Open Radical Nephrectomy: Randomized, Prospective, and Controlled Trial. *J Pers Med.* 2024;14.