

# Sepsou asociovaná diseminovaná intravaskulárna koagulácia – stály problém súčasnosti

Jaromír Tupý

Klinika hematológie a transfúziológie, ÚVN SNP Ružomberok – FN

Fakulta zdravotníctva, Katolícka univerzita v Ružomberku

Diseminovaná intravaskulárna koagulácia (DIC) je častou a život ohrozujúcou komplikáciou sepsy. Sepsa asociovaná s DIC je charakterizovaná ako systémová aktivácia pri koagulácii s potlačenou fibrinolýzou, ktorá vedie k dysfunkcii orgánov v kombinácii so systémovým intravaskulárnym zápalom. V tomto procese zohrávajú kľúčovú úlohu trombín, neutrofily, trombocyty, endotel a molekulárne vzorce spojené s poškodením ako súčasť imunotrombózy. Nedávne pokroky v chápaní patofyziológie umožnili diagnostikovať DIC spojenú so sepsou v skoršom načasovaní a s lepšou presnosťou. Pokrok v liečbe je však stále obmedzený a vyžaduje nové terapeutiká pre DIC spojenú so sepsou.

**Kľúčové slová:** sepsa, diseminovaná intravaskulárna koagulácia, imunotrombóza, sepsou indukovaná koagulácia

## Sepsis – associated disseminated intravascular coagulation – a constant problem of the present

Disseminated intravascular coagulation (DIC) is a common and life-threatening complication in sepsis. Sepsis-associated DIC is recognized as the systemic activation in coagulation with suppressed fibrinolysis that leads to organ dysfunction in combination with systemic intravascular inflammation. In this proces, thrombin, neutrophils, platelets, endothelium and damage-associated molecular patterns play a key role as part of immunothrombosis. Recent advances in the understanding of pathophysiology have made it possible to diagnose sepsis-associated DIC at earlier timing and with better accuracy. However, progress in the treatment is still limited, and requires new therapeutics for sepsis-associated DIC.

**Key words:** sepsis, disseminated intravascular coagulation, immunothrombosis, sepsis-induced coagulation

## Úvod

Sepsa je život ohrozujúca orgánová dysfunkcia spôsobená dysregulovanou odpoveďou hostiteľa na infekciu spojenú s významnou morbiditou a mortalitou (1). Len v Európe sa výskyt sepsy odhaduje na viac ako 3,4 milióna prípadov ročne – 700 000 z týchto pacientov neprežije hospitalizáciu a jedna tretina preživších zomiera počas prvého roka po hospitalizácii (2). Za významný prognostický faktor sa považuje závažnosť orgánovej dysfunkcie, ktorá sa zvyčajne hodnotí pomocou skóre Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) (3).

Imunitný systém a imunitná odpoveď sú fyziologicky prepojené so systémom koagulácie a nadmerná aktivácia alebo dysregulácia imunitnej reakcie môže prispievať k vytvoreniu výrazne prokoagulačného prostredia. Tento vzťah je charakterizovaný termínom imunotrombóza

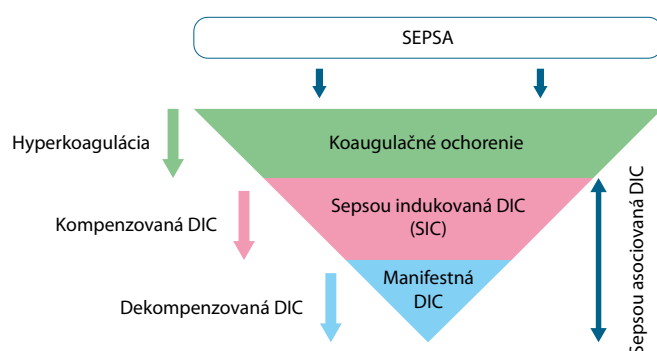
(Engelmann a Massberg) (4), pričom jeho predpokladaným „fyziologickým“ účelom je zrejme obrana hostiteľa hematogénnou cestou. Častým výsledkom ťažkej sepsy je neadekvátna aktivácia koagulačného systému, ktorej výsledkom môže byť diseminovaná intravaskulárna koagulácia (DIC), charakterizovaná dysfunkciou orgánov a/alebo krvácaním a vysokou mortalitou (5).

Medzinárodná spoločnosť pre trombózu a hemostázu (ISTH) v roku 2001 definovala DIC ako „získaný syndróm charakterizovaný intravaskulárnou aktiváciou koagulácie so stratou lokalizácie vyplývajúcou z rôznych príčin. Môže pochádzať z mikrovaskulatúry a spôsobiť jej poškodenie, ktoré, ak je dostatočne závažné, môže spôsobiť dysfunkciu orgánov“ a zároveň aj vydala diagnostické kritériá (7). Definícia syndrómu DIC a jeho diagnostika je však zložitá a nie celosvetovo zjednotená,

o čom svedčia aj rôzne skórovacie systémy. Jedným z posledných výstupov je aj návrh a klasifikácia ISTH novej kategórie identifikujúca skoršiu fázu DIC, nazvanú „sepsou indukovaná koagulopatia“ (SIC – sepsis-induced coagulopathy) (8).

Patofyziológia, fenotypová expresia a liečba DIC sa značne líšia v závislosti od základných prírodných ochorení. V spojitosti so sepsou sa prejavuje ako trombotický typ (menej často sa vyskytujúce hemoragické príhody), ktorý sa môže dynamicky meniť. Začína vystupňovanou koaguláciou – hyperkoaguláciou, poruchou cirkulácie a orgánovou dysfunkciou, ako reakcia hostiteľa na infekciu. Sepsou indukovaná koagulopatia (SIC) je skorá fáza DIC a potenciálny cieľ antikoagulačnej liečby. Pokročilé štádium je definované ako manifestná DIC s potenciálom suplementačnej terapie (Obr. 1) (6).

**Obr. 1.** Iniciácia a progresia imunotrombózy pri sepe



## Patogenéza sepsou asociovej DIC/SIC

V súčasnosti sa uznáva, že systémová aktivácia koagulácie a potlačené fibrinolytické dráhy sú hlavnými facilitátormi multiorgánovej dysfunkcie a smrti sepsou indukovanej DIC (9). Mechanizmy aktivácie koagulácie a inhibície fibrinolýzy sú multifaktoriálne, ale za hlavný iniciátor koagulačných kaskád sa považuje tkanivový faktor. Spomedzi koagulačných faktorov je kritickým mediátorom, ktorý reguluje zápal a koaguláciu, trombín (10).

Monocyty/makrofágy sú odpoveďou prvej línie na patogény a integrujú imunitný a koagulačný systém vyvolávajúci v reakcii na ich detekciu prozápalovú a prokoagulačnú odpoveď (11). Ako receptory exprimujú Toll-like receptory (TLR – Toll-like receptors), Fcy-receptory a receptory spojené s G-proteínom, ktoré detegujú molekulárne vzory spojené s patogénmi (PAMP – pathogen-associated molecular patterns) (12). TLR nielen reagujú na PAMP, ale tiež prenášajú väzbové signály stresových molekúl odvodených od hostiteľa, menovite molekulárne vzory spojené s poškodením (DAMP – damage-associated molecular patterns), čím spúšťajú začarovaný kruh zápalu a koagulácie (13). DAMP sú prozápalové látky uvoľňované hostiteľom, ktoré hrajú kľúčovú úlohu vo vrodennom imunitnom systéme, oprave tkaniva a tiež prispievajú k patogenéze zápalu a trombogenéze vedúcim k poruchám mikrocirkulácie a dysfunkcii orgánov. Príkladom DAMP, dôležitým iniciátorom koagulácie s potenciou indukovať DIC, sú históny, chromozomálna DNA, mitochondriálna DNA, nukleozómy, vysokomobilný proteín skupiny 1 (HMGB1 – high-mobility group box 1) a proteín tepelného šoku (14).

Po následnej viacstupňovej signálnej transdukcii monocytu/makrofágy produkujú prozápalové cytokíny (najmä interleukín (IL) 6, IL1 $\beta$  a faktor nekrotizujúci nádory  $\alpha$  (TNF) a chemokíny, ktoré aktivujú neutrofile a upregulujú expresiu tkanivového faktora (TF), fosfatidylserínu (PS) a inhibitor aktivátora plazminogénu 1 (PAI-1 – plasminogen activator inhibitor 1), čo spúšťa koagulačnú kaskádu a posilňuje prokoagulačný stav. Navyše makrofágy prostredníctvom inflamazómu produkujú IL1 a IL18, ktoré napomáhajú aktivovať endotelové bunky, čo ďalej potencie protrombotické prostredie (15).

Aktivované neutrofile usmrcujú patogény pomocou proteáz, reaktívnych foriem kyslíka a uvoľňovaním špecifických sietí, tzv. neutrofilných extracelulárnych pascí (NET – neutrophil extracellular traps). Tie zachytávajú peptidy s antimikrobiálnymi vlastnosťami (napr. myeloperoxidáza, defenzíny, neutrofilná elastáza), čím vychytávajú patogény a napomáhajú tak v ich likvidácii (16). Zároveň NETs obsahujú históny, ktoré sa podieľajú na aktivácii trombocytov a zodpovedajú za zhromažďovanie prokoagulačných komponentov, ako sú doštičky a koagulačné faktory (napr. vWF, TF a fibrín). Neutrofile ďalej produkujú rad cytokínov (napr. IL1 $\beta$ , IL1Ra, IL6 alebo TNF $\alpha$ ), ktoré ďalej môžu potencovať imunitnú odpoveď (17). Na vytvorení prokoagulačného prostredia sa podieľajú viacerými mechanizmami. Jednak produkujú serínové proteázy (ako je katepsín G a neutrofilová elastáza), ktoré aktivujú faktor X, a tak aktivujú koagulačnú kaskádu, a na druhej strane štiepia inhibitor TF (TFPI – Tissue Factor Pathway Inhibitor), čím potencujú prokoagulačný stav. Ďalej produkujú TF, k čomu sú stimulované aj C5a zložkou komplementu a sú tak súčasťou osi komplement/neutrofile/TF uplatňujúcej sa pri imunotrombóze (18).

Popri participácii na tvorbe koagula môžu mať trombocyty aj iné úlohy a podporovať nielen prokoagulačné prostredie, ale aj zápalovú odpoveď uvoľňovaním prozápalových cytokínov. Na obrane hostiteľa sa krvné doštičky podieľajú rozvojom tvorby trombu prostredníctvom expisie adhézných molekúl, uvoľňovaním zložiek granúl, ako je doštičkový faktor 4 (PF4 – platelet factor 4), von Willebrandov faktor (vWF) a prokoagulačné mikrovezikuly. Tieto reakcie vedú k intravaskulárnej tvorbe mikrotrombov (imunotrombóza) na ochranu hostiteľa pred infekciou (19).

Trombín, ako ústredný faktor, upreguluje prozápalové a prokoagulačné reakcie väzbou na proteázou aktivovaný receptor-1 (PAR-1 – protease-activated receptor-1) exprimovaný na monocytoch, neutrofiloch, krvných doštičkách a endotelových bunkách (20). Zároveň indukuje exocytózu Weibel-Paladeho teliesok, ktorá uvoľňuje vWF z endotelových buniek a deštruuje ich štiepením komplementov a tvorbou komplexov atakujúcich membránu (MAC – membrane attack complexes) (8).

Aktivácia, porucha funkcie a prípadná deštrukcia endotelálnych buniek (EB) s odhalením subendotelálneho protrombogénneho povrchu sa na patofyziológii imunotrombózy podieľa veľmi významným spôsobom. Aktivované polymorfonukleárne neutrofile uvoľňujú NET, reaktívne formy kyslíka a prozápalové mediátory (interleukíny a tumor nekrotizujúce faktory  $\alpha$  a  $\beta$ ), v dôsledku čoho strácajú vaskulárne EB svoje antitrombotické vlastnosti zníženou produkciou oxidu dusnatého/prostaglandínu I<sub>2</sub>, inhibítora dráhy tkanivového faktora (TAFI – tissue factor pathway inhibitor) a narušením glykokalyxu. Poškodené EB

uvolňujú trombogénne molekuly vrátane TF, vWF a adhézných molekúl a stimulujú adhéziu, agregáciu krvných doštičiek a koaguláciu (21). Endotelové bunky, cestou produkcie PAI-1, sú zodpovedné za supresiu fibrinolýzy (tzv. fibrinolytické vypnutie), ktorá je kritickým znakom poruchy koagulácie pri sepe. Zároveň sa z povrchu endotelu proteolyticky štiepi trombomodulín, čo spolu so zvýšenou vaskulárnou permeabilitou fyziologických antikoagulačných faktorov, ako sú antitrombín a proteín C, taktiež napomáha rozsiahlej tvorbe mikrotrombov počas sepsy (22) – obrázok 2.

Pri sepe indukovanej DIC dochádza k aktivácii komplementu, čoho výsledkom je vytváranie komplexu atakujúceho membránu (MAC – Membrane Attack Complex). Ten je schopný štiepiť protrombín s ďalším prepojením s koagulačnou kaskádou. Okrem toho, zložky komplementu interagujú s hemostázou aj schopnosťou produkcie TF (C5a zložka) a aktivácie trombocytov (C3a zložka a MAC) (23).

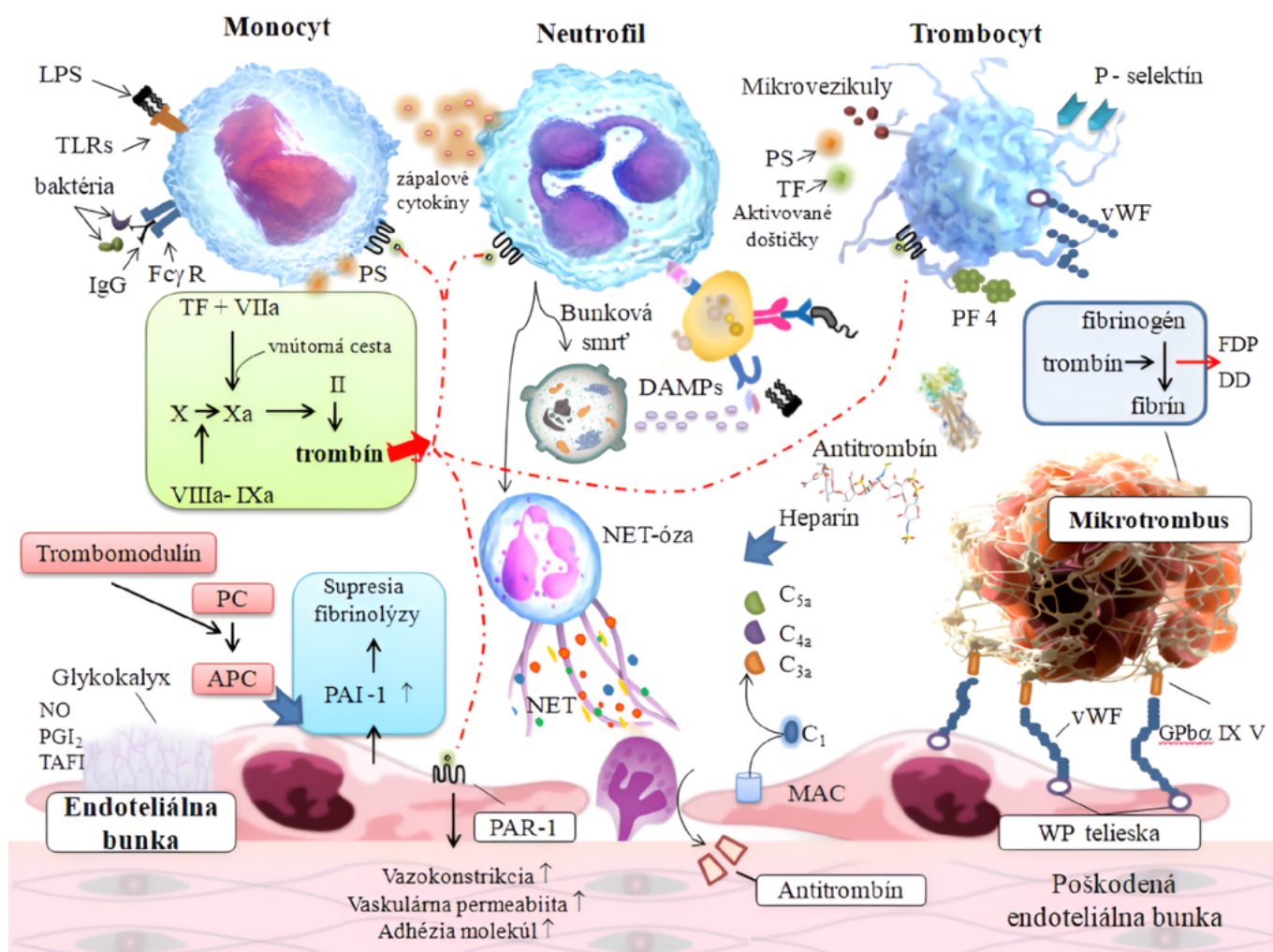
Nedávno bol pri sepe indukovanej DIC rozpoznávaný aj znížený antitrombotický efekt vplyvom zvýšenej hladiny angiotenzínu II a zníženej aktivity angiotenzín-konvertujúceho enzýmu 2 (ACE2 – angiotensin-converting enzyme 2) (24). Pozornosť priťahujú aj endotelové

odpovede prostredníctvom narušenia systému angiotenzín/Tie2, pri ktorom sa vplyvom na apoptózu endotelových buniek, vaskulárnu endotelovú permeabilitu a adhéziu leukocytov mení jeho pôvodný efekt na protrombotický účinok (25).

## Diagnostika a skórovacie systémy DIC/SIC

V diagnostike je nutné si uvedomiť, že žiadny jednotlivý laboratórny test nie je pre DIC špecifický, vždy treba hodnotiť zároveň komplexne kliniku a sledovať dynamiku vývoja vykonávaných vyšetrení. Najväčší význam má prítomnosť základného ochorenia (DIC je syndróm), hodnotenie zmien krvného obrazu (vrátane počtu trombocytov), základnej koagulácie (aPTT – aktivovaný parciálny tromboplastínový čas, PT – protrombínový čas, FBG – fibrinogén, TT – trombínový čas), aktivity antitrombínu a dynamiky koagulačných zmien, vrátane zmien koncentrácie molekulárnych markerov koagulácie (najdostupnejšie D-diméry). Stojí za zmienku, že globálne koagulačné testy sú v tomto ohľade najmenej spoľahlivé a napriek množstvu potenciálnych biomarkerov, stavia na nich väčšina skórovacích schém (26).

**Obr. 2.** Patofyziológia poruchy koagulácie spojenej so sepsou



APC – aktivovaný proteín C; C – komplement; DAMPs – molekulárne vzory spojené s poškodením; DD – D-diméry, FcγR – Fcγ receptor; FDP – fibrín/fibrinogén degradačné produkty; GP – glykoproteín; LPS – lyposacharid; MAC – komplex atakujúci membránu; NETs – neutrofilné extracelulárne pasce; NO – oxid dusnatý; PAI-1 – inhibitor aktivátora plazminogénu-1; PAR-1 – proteázou aktivovaný receptor; PC – proteín C; PF 4 – doštičkový faktor 4; PGI2 – prostacyklín I2; PS – fosfatidylserín; TAFI – Inhibitor fibrinolýzy aktivovaný trombínom; TF – tkanivový faktor; TLRs – Toll-like receptor; vWF – vonWillebrandov faktor; WP telieska – Weibel-Paladeho telieska

## Manifestná DIC

V praxi najrozšírenejším skórovacím systémom je schéma schválená vedeckým a normalizačným výborom ISTH pre DIC. Ten odporučil kritériá pre manifestnú „overt“ DIC, ktoré zdôrazňovali laboratórne parametre vrátane počtu krvných doštičiek, pomeru protrombínového času, fibrinogénu a D-diméru ako ďalšieho markera súvisiaceho s fibrínom (27) – tabuľka 1.

Špeciálne navrhnuté pre DIC pri sepsu a traume sú kritériá Japonskej asociácie pre akútnu medicínu (JAAM – Japanese Association for Acute Medicine), kde bolo eliminované skóre pre fibrinogén, ale pridané skóre pre syndróm systémovej zápalovej odpovede (SIRS) (28) – tabuľka 1. Po aktualizácii definície sepsy na Sepsu-3 (1) sa však kritériá JAAM DIC pre SIRS stali zastaranými.

## Sepsou indukovaná koagulopatia

Jedným z charakteristických znakov DIC spojenej so sepsou (na rozdiel od DIC súvisiacej s malignitou) je nadmerné potlačenie fibrinolýzy spôsobenej nadprodukciou PAI-1, s potenciálom pre súvisiace protrombotické účinky (29). Výsledkom je, že pri DIC spojenom so sepsou sa často vyvinie orgánová dysfunkcia v dôsledku zníženej perfúzie tkaniva, zatiaľ čo systémové krvácanie je častejším znakom pri nonsepsu – fibrinolytickom fenotype DIC. V dôsledku toho nie je hypofibrinogénia pri sepsu bežná a zvýšenie na fibrínové súvisiace markery nesúvisí so závažnosťou sepsy. Naopak, pokles počtu krvných doštičiek a predĺženie PT koreluje so zvýšenou mortalitou pri sepsu (30).

Na základe týchto úvah vyvinul SSC ISTH pre DIC v roku 2017 kritériá SIC na kategorizáciu pacientov so „sepsou a poruchami koagulácie“ (31). Tieto kritériá boli tiež navrhnuté tak, aby boli relevantné pre aktualizované kritériá sepsy-3, ktoré definovali sepsu ako „život ohrozujúca orgánová dysfunkcia spôsobená dysregulovanou reakciou hostiteľa na infekciu“ (1). V tomto prostredí sa skóre SOFA používa na diagnostiku

orgánovej dysfunkcie, a preto by sa SIC mala definovať ako „infekciou indukovaná orgánová dysfunkcia a koagulopatia“ (32). Diagnostické kritériá SIC sú jednoduché a zahŕňajú iba tri položky: počet krvných doštičiek, PT – medzinárodný normalizovaný pomer (INR – international normalized ratio) a skóre SOFA – tabuľka 1.

V súlade s tým bol autormi Iba et al. navrhnutý zjednodušený „dvojkrokový“ sekvenčný skórovací systém na včasnú detekciu DIC, pozostávajúci z prvého skríningu so skóre SIC a u pacientov, ktorí spĺňajú kritériá pre SIC, výpočet skóre manifestného DIC ako druhý krok (33). Systém vychádza z primárneho cieľa diagnostiky SIC, a to neidentifikovať septických pacientov s vysokým rizikom úmrtia, ale pacientov, ktorí môžu mať prospech z antikoagulačnej liečby (34).

## Diferenciálna diagnostika sepsou asociovej DIC/SIC

Včasná diagnostika DIC vyvolanej sepsou je dôležitá pre manažment a môže potenciálne zlepšiť výsledky (35). Medzi dôležité diferenciálno-diagnostické príklady súčasnosti patria stavy spojené s trombózou a trombocytopéniou ako sú Covid-19, homofagocytárny syndróm (HPS – hemophagocytic syndrome), antifosfolipidový syndróm (APS – antiphospholipid syndrome) alebo jednotky trombotickej mikroangiopatie (TMA) ako sú atypický hemolytický uremický syndróm (aHUS) alebo trombotická trombocytopenická purpura (TTP) (36). Ich podobnosti a rozdiely prináša tabuľka 2.

V prípade diferenciálnej diagnostiky trombocytopénie u pacientov so suspektou sepsou (Obr. 3) môže byť algoritmus vyšetrení podmienený vstupným pomerom protrombínového času (PT) alebo hladinou produktov degradácie fibrínu/fibrinogénu (37). V prípade zvýšenia je predpoklad sepsou asociovej DIC (nutné vylúčiť ochorenie pečene). V opačnom prípade možno predpokladať iné ochorenia. Širokú skupinu tvoria klinické jednotky v spojitosti s mikroangiopatickou hemolytickou

**Tab. 1.** Skórovací systém ISTH SIC a DIC, JAAM DIC – upravené podľa Taylor et al., 2001; Gando et al., 2006; Iba et al., 2017 (8, 28, 31)

	Body	SIC (ISTH)	Manifestná DIC (ISTH)	DIC (JAAM – 2016)
Počet krvných doštičiek ( $\times 10^9/l$ )	3			< 80 resp. $\geq 50$ % pokles v priebehu 24 hodín
	2	< 100	< 50	—
	1	$\geq 100$ – < 150	$\geq 50$ – < 100	$\geq 80$ – < 120 alebo $\geq 30$ % pokles v priebehu 24 hodín
FDP alebo DD (vzostup)	3	—	vysoký	> 25 $\mu g/ml$
	2	—	stredne zvýšený	—
	1	—	v norme	$\geq 10$ – $\leq 25$ $\mu g/ml$
Protrombínový čas (PT) – INR	2	> 1,4	dlhší o $\geq 6$ s	
	1	> 1,2 – $\leq 1,4$ (PT-INR)	dlhší o $\geq 3$ – < 6 s	$\geq 1,2$ (PT pomer)
Fibrinogén (g/l)	1	—	< 1	
Celkové skóre SOFA	$\geq 2$	2	—	
	1	1	—	
SIRS skóre	1			$\geq 3$
Celkové skóre pre SIC/DIC	$\geq 4$	$\geq 5$	$\geq 4$	

Celkové skóre SOFA je súčtom 4 položiek (respiračná, kardiovaskulárna, pečenná a renálna SOFA).

SIRS skóre: teplota < 36 °C alebo > 38 °C, srdcová frekvencia > 90 úderov/min, frekvencia dýchania > 20 dychov/min alebo  $PaCO_2$  < 4,3 kPa, WBC >  $12 \times 10^9/l$ , <  $4 \times 10^9/l$  alebo 10 % prítomných nezrelých foriem.

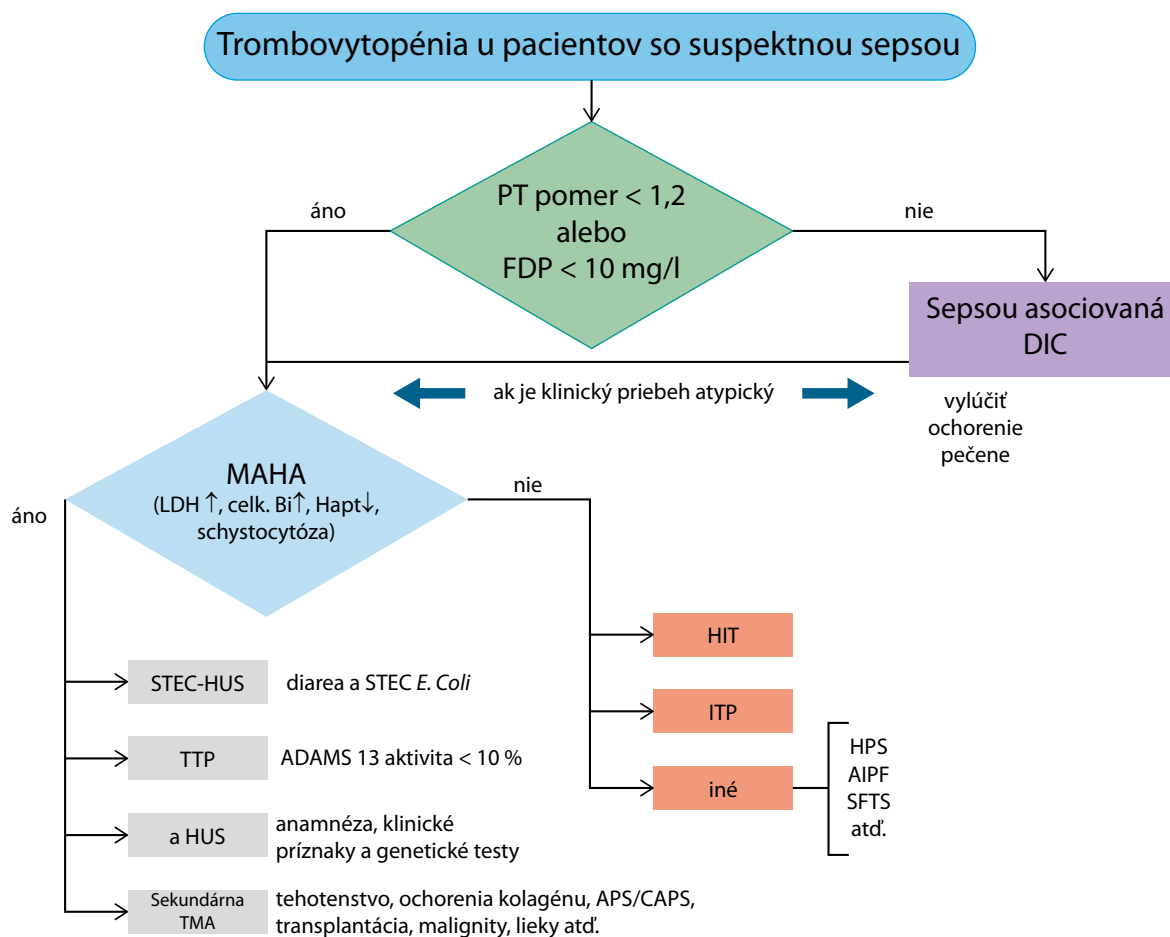
DIC – diseminovaná intravaskulárna koagulácia; FDP – produkty degradácie fibrínu; INR – medzinárodný normalizovaný pomer; ISTH – Medzinárodná spoločnosť pre trombózu a hemostázu; JAAM – Japonská spoločnosť pre akútnu medicínu; SIC – sepsou indukovaná koagulopatia; SIRS – syndróm systémovej zápalovej odpovede; SOFA – hodnotenie sekvenčného zlyhania orgánov, WBC – leukocyty



**Tab. 2.** Podobnosti a rozdiely v trombóze a laboratórnych údajoch medzi DIC/SIC a diferenciálnymi ochoreniami – upravené podľa Iba et al., 2020 (36).

	Primárna príčina a cieľ koagulopatie	Trombo-embolizmus	Počet Trc	D-dimer	PT/aPTT	FBG	AT	Aktivovaný komplement / vWF	Antifosfolipidové protilátky	Zápalové cytokíny (IL-1 $\beta$ , IL-6)
DIC/SIC	Makrofág/ endoteliálna bunka	Mikro-trombóza	↓	↑	↑	→ ↓	↓	-	-	↑
Covid-19	Makrofág/ endoteliálna bunka	Mikro-trombóza/ venózna trombóza	↑↓	↑	→↑	↑	→	+	+	↑
HPS	Zápalové cytokíny	Mikro-trombóza/ venózna trombóza	↓	→	→	→	→	-	-	↑
APS	Antifosfolipidové protilátky	Arteriálna/ venózna trombóza	↓	→	PT → aPTT ↑	→	→	-	+	-
TMA (aHUS/ TTP)	Komplement/ ADAMTS 13	Mikro-trombóza/ arteriálna/ venózna trombóza	↓	→↑	→	→	→	aHUS +/- TTP -/+	-	-

DIC – diseminovaná intravaskulárna koagulácia; SIC – sepsou indukovaná koagulopatia; HPS – hemofagocytový syndróm; APS – antifosfolipidový syndróm; TMA – trombotická mikroangiopatia; aHUS – atypický hemolytický uremický syndróm; TTP – trombotická trombocytopenická purpura; PT – protrombínový čas; aPTT – aktivovaný parciálny tromboplastínový čas; FBG – fibrinogén; AT – antitrombín; vWF – von Willebrandov faktor; IL – interleukín

**Obr. 3.** Algoritmus na odlíšenie DIC súvisiaceho so sepsou od iných ochorení s trombocytopéniou – upravené podľa Iba et. al. 2019 (37)

aHUS – atypický hemolytický uremický syndróm; AIPF – akútna infekčná purpura fulminans; CAPS – katastrofický antifosfolipidový syndróm; celk. Bi – celkový bilirubín; FDP – fibrín/fibrinogén degradačné produkty; Hapt. – haptoglobín; HIT – heparínom indukovaná trombocytopenia; HPS – hemofagocytový syndróm; ITP – imúnna trombocytopenia; LDH – laktát dehydrogenáza; MAHA – mikroangiopatická hemolytická anémia; PT – protrombínový čas; SFTS – syndróm ťažkej horúčky a trombocytopenie; STECHUS – HUS vyvolaný STEC (Shiga toxin-produkujúci Escherichia coli); TAFRO – syndróm trombocytopenie, anasarky, horúčky, retikulínová myelofibróza a organomegália; TMA – trombotická mikroangiopatia; TTP – trombotická trombocytopenická purpura

anémiou (MAHA), do ktorej môžeme zahrnúť: STECHUS - hemolytický uremický syndróm vyvolaný Escherichia coli produkujúcim Shiga toxínom, TTP alebo aHUS. Podobne je možnosť zvažovať sekundárne TMA

ako tehotenstvo, ochorenia kolagénu, antifosfolipidový syndróm, po-transplantačné stavy, malignity, lieky či iné. Ak prítomnosť MAHA nie je rozpoznaná, existuje možnosť iných chorôb, ako je napríklad heparínom

indukovaná trombocytopenia (HIT), imúnna trombocytopenia (ITP), hemofagocytový syndróm (HPS – hemophagocytic syndrome), akútna infekčná purpura fulminans (AIPF – acute infectious purpura fulminans), syndróm ťažkej horúčky a trombocytopenie (SFTS – severe fever and thrombocytopenia syndrome) alebo TAFRO syndróm (thrombocytopenia, anasarca, horúčka, retikulínová myelofibróza a organomegália).

## Prevalencia a mortalita DIC spojených so sepsou

Pri sepe sa prevalencia DIC líši v závislosti od cieľových skupín a diagnostických kritérií, ale mortalita je vždy vyššia u pacientov s DIC v porovnaní s pacientmi bez DIC (8). Gando a spol. (28) skúmali výskyt a mortalitu manifestnej DIC a JAAM DIC u septických pacientov (Sepsa-1) a uviedli, že výskyt bol 18,1 % vs. 46,8 % a mortalita 38,1 % oproti 38,4 %. Ďalšia retrospektívna kohortová štúdia, ktorá skúmala prevalenciu a mortalitu sepsou asociovej koagulopatie manifestnej u 1 892 pacientov so sepsou (Sepsa-1) uvádzala, že prevalencia a mortalita boli 29,3 % a 38,4 % pri manifestnej DIC; 61,4 % a 33,9 % pri JAAM DIC a 60,8 % resp. 32,5 % pri SIC (38). Údaje zo skupiny 296 subjektov so sepsou-3 uvádzali prevalenciu manifestnej DIC, modifikovaného JAAM DIC (skóre SIRS bolo nahradené aktivitou antitrombínu) a SIC 22,6 %, 43,2 % respektíve 56,1 % a 28-dňová úmrtnosť 5,2 %, 47,7 % a 44,0 % (39). Podobne Lu a spol. (40), v štúdiu u 9 432 pacientov so SIC, uviedli

že 28-dňová mortalita bola 34 % u pacientov so SIC v porovnaní s 25 % u pacientov bez SIC a zároveň prítomnosť SIC bola nezávislým rizikovým faktorom pre 28-dňovú mortalitu s pomerom pravdepodobnosti 1,52 (95 % interval spoľahlivosti [CI]: 1,39 až 1,67). Tieto údaje naznačujú, že prevalencia DIC sa líši na základe definícií, ale mortalita DIC spojených so sepsou presiahla 30 % bez ohľadu na diagnostické kritériá.

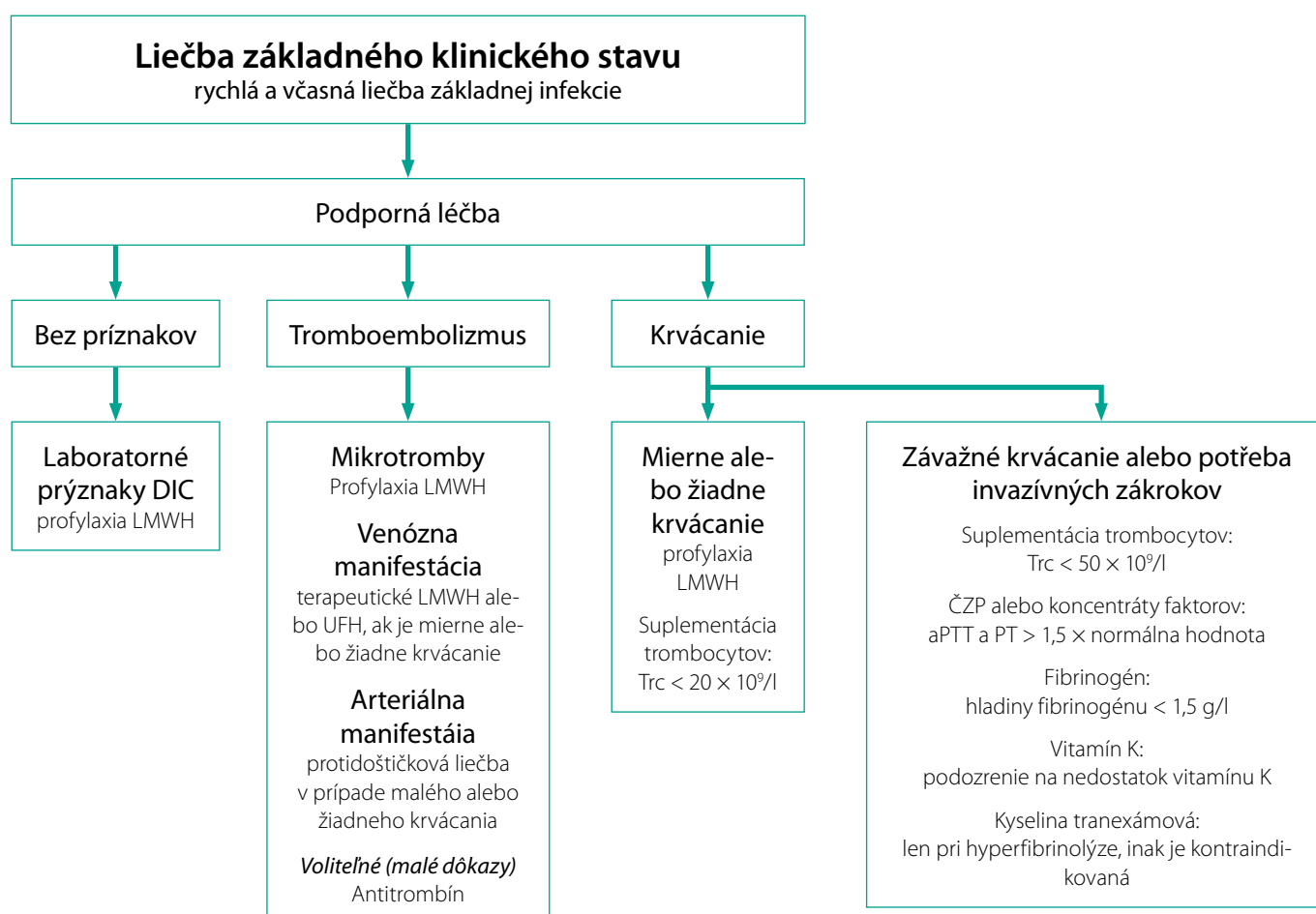
## Liečba sepsou asociovej DIC/SIC

Rozhodujúce pre manažment koagulopatie vyvolanej sepsou je rýchla a včasná liečba základnej infekcie. Vo všeobecnosti modalita podpornej liečby DIC/SIC sú v závislosti od klinických a laboratórnych ukazovateľov – obrázok 4. V prípade špecifickej, sepsou asociovej DIC, napriek celosvetovo množstvu odporúčaní, avšak neexistuje jednotný terapeutický konsenzus.

## Antitrombotická liečba

V súvislosti s DIC vyvolanou sepsou boli rozsiahlo študované ďalšie stratégie zamerané na potlačenie protrombotických účinkov. Ako najperspektívnejšie sa javili heparíny a prirodzené inhibítory, avšak takmer všetky randomizované kontrolované štúdie (RCT – randomized controlled trial), nepreukázali jednoznačný prínos pre prežitie. Nutné však dodať, že väčšina týchto štúdií zahŕňala pacientov so sepsou, ale

**Obr. 4.** Vývojový diagram sumarizujúci liečebné odporúčania v DIC na základe odborných odporúčaní a usmernení spoločností (41, 42, 43)



aPTT – aktivovaný parciálny tromboplastínový čas; DIC – diseminovaná intravaskulárna koagulácia; FFP – čerstvá mrazená plazma; LMWH – nízkomolekulový heparín; PT – protrombínový čas; VTE – venózna tromboembólia; UFH – nefrakcionovaný heparín

bez diseminovanej intravaskulárnej koagulácie, čím mohli byť zásadne ovplyvnené ich výsledky.

## Heparíny

Účelom antikoagulačnej liečby heparínov a heparinoidov je obnoviť perfúziu orgánov, a tým zabrániť následnej dysfunkcii orgánov spôsobenej mikrotrombami. Napriek tomu, že žiadna veľká randomizovaná kontrolovaná štúdia neskúmala samotný heparín na DIC spojenú so sepsou, sa heparíny u septických pacientov aj na základe dostupných metaanalýz a vplyvu na mieru 28-dňovej mortality bežne používajú (44, 45, 46).

Dávka heparínov je v závislosti od manifestácie ochorenia. Je nutné ju prerušiť u krvácajúcich pacientov, alebo v prípade poklesu krvných doštičiek pod  $20 \times 10^9/l$  (42).

## Prirodzené inhibítory

Antitrombín je jedným z najdôležitejších fyziologických antikoagulantov, o ktorom sa predpokladá, že potláča akútne zápalové reakcie pri sepe. Je však rýchlo spotrebovaný trombínom, štiepený neutrofilnou elastázou a bakteriálnym enzýmom termolizínom, čo vedie k jeho inaktivácii. V mechanizme účinku sa predpokladá aj schopnosť tlmieť poškodenie glykokalyx väzbou na heparan sulfát endotelových buniek (47), čím možno tiež vysvetliť, prečo boli priaznivé účinky antitrombínu zrušené súčasným užívaním heparínu.

Napriek predpokladom, bohužiaľ účinnosť suplementácie antitrombínu v rozsiahlej randomizovanej kontrolovanej štúdii známej ako KyberSept nebola potvrdená (48). Avšak Kienast a spol. (49) vykonali post hoc analýzu u 563 pacientov, ktorí mali DIC a nedostávali súbežne heparín a zaznamenali absolútne zníženie 28-dňovej mortality o 14,6 % v skupine s antitrombínom ( $P=0,02$ ) (33). Obdobné výsledky následne preukázal aj Tagami et al. (50), čo viedlo k zaradeniu antitrombínu do japonských odporúčaní pre klinickú prax na zvládanie sepsy a septického šoku pri sepe asociovannej DIC so zníženými aktivitami antitrombínu (6). Britský výbor pre štandardy v hematológii a ISTH však použitie antitrombínu neodporúča (42).

Trombomodulín je endotelálny antikoagulačný kofaktor, ktorý podporuje trombínom sprostredkovanú aktiváciu proteínu C. Okrem toho sa predpokladá, že jeho doména podobná lektínu potláča zápalové reakcie prostredníctvom inaktívacie DAMP (8). Keďže expresia trombomodulínu je počas sepsy znížená, možnosť terapeutickú modalitu viedla k analýzam (Aikawa et al., SCARLET ART-123 – rekombinantný trombomodulín alfa – Recomodulin), ktoré zaznamenali zlepšenie a nevýznamné zníženie mortality (51, 52).

Rekombinantný aktivovaný proteín C bol prvým antikoagulantom schváleným na liečbu sepsy po úspechu vo veľkej RCT s názvom PROWESS (Recombinant Human Activated Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis) (53). Na druhej strane štúdia RESOLVE vykonaná v pediatrickej populácii s ťažkou sepsou liečených rAPC – DDA (aktivovaný alfadrotrekogín) nepreukázala žiadny klinický prínos liečby pri 28-dňovej mortalite a zároveň bol pozorovaný zvýšený výskyt intrakraniálneho krvácania (54). Nedostatočný efekt a výsledky v spojení s krvácajúcimi komplikáciami zaznamenali aj nasledujúce

štúdie ADDRESS (55) a PROWESS-SHOCK (56), čo viedlo k stiahnutiu rekombinantného aktivovaného proteínu C.

Pokiaľ ide o použitie rekombinantného TFPI, vstupná RCT 2. fázy zameraná na sepsu zaznamenala trend k zníženiu 28-dňovej úmrtnosti. Následná štúdia 3. fázy (OPTIMIST) však takýto účinok nepreukázala (57). Po týchto dvoch štúdiách bola vykonaná tretia RCT (CAPTIVATE) u pacientov s pneumóniou (58). V liečenej skupine sa opäť nezistil žiadny prínos prežitia napriek zlepšeniu parametrov koagulácie, čo viedlo k odsunutiu záujmu o výskum rekombinantného TFPI.

## Podporná liečba krvácajúcich komplikácií

Liečba krvácajúcich komplikácií pri sepsou asociovannej DIC je predovšetkým založená na substitúcii krvných doštičiek a koagulačných faktorov. Ich účinnosť nebola hodnotená v RCT, ktoré skúmali výlučne pacienta s DIC, a preto odporúčania uvedené nižšie a na obrázku 4 sú založené na súhrne odborných stanovísk a medzinárodných usmernení (42).

### Koncentrát krvných doštičiek

Na základe odborného konsenzu sa odporúča podávanie trombocytových koncentrátov pri hodnotách trombocytov pod  $50 \times 10^9/l$  u pacientov s DIC s veľkým krvácaním alebo pacientov s vysokým rizikom krvácania (59). U pacientov s DIC a miernym alebo žiadnym krvácaním je akceptovaná hranica  $20 \times 10^9/l$  (43).

### Koagulačné faktory

Podľa odborného konsenzu je substitúcia koagulačnými faktormi indikovaná u pacientov s veľkým krvácaním a aPTT a/alebo PT viac ako 1,5-násobkom normálnej hodnoty (43, 60).

Prvou voľbou na substitúciu koagulačných faktorov je čerstvá zmrazená plazma s iniciálnou dávkou  $15 - 30 \text{ ml/kg}$  (42,60).

Pri riziku objemového preťaženia plazmou sa môže uprednostniť koncentrát aktivovaného protrombínového komplexu (aPCC), ktorý najčastejšie obsahuje vitamín K-dependentné faktory FII, FVII, FIX a FX a prirodzené antikoagulanty, ako proteín C (60). V súvislosti s použitím aPCC boli hlásené arteriálne a venózne tromboembolické komplikácie.

Vitamín K je užitočnou alternatívou korekcie koagulačných faktorov závislých od vitamínu K, ale nebude mať podstatný účinok skôr ako po 6 hodinách (59).

Špecifický deficit fibrinogénu možno nahradiť formou koncentráta fibrinogénu alebo kryoprecipitátom. U krvácajúcich pacientov je cieľom udržať fibrinogén nad  $1,5 \text{ g/l}$ . Podanie  $30 \text{ mg/kg}$  koncentráta fibrinogénu zvýši jeho hladinu o  $1 \text{ g/l}$ . Pre kryoprecipitát sa na zvýšenie hladín fibrinogénu odporúčajú dva pooly. Limitom medikácie fibrinogénu je zvýšené riziko vzniku tromboembolických komplikácií (42, 60).

Aktivovaný rekombinantný faktor VII (rVIIa) je určený na "liečbu" akútneho, život ohrozujúceho krvácania, ktoré nie je zvládnuteľné inými liečebnými prípravkami, a to ako ultimatum refugium s cieľom dosiahnuť účinnú hemostázu a vznik definitívnej hemostatickej zátky. Odporúčaná počiatočná dávka je  $90 \mu\text{g/kg}$ , trvanie liečby a interval medzi aplikáciami závisí od závažnosti krvácania (59).

## Antifibrinolytiká

Keďže supresia endogénnej fibrinolýzy je najčastejšou zmenou fibrinolýzy pri DIC vyvolanom sepsou, použitie antifibrinolytík (kyselina tranexamová) sa u týchto pacientov vo všeobecnosti neodporúča (42, 60).

## Záver

Diseminovaná intravaskulárna koagulácia je život ohrozujúca komplikácia charakterizovaná systémovou aktiváciou koagulácie vznikajú

úca ako častá komplikácia sepsy. Je spojená s potlačením fibrinolýzy, ktorá môže ľahko progredovať do dysfunkcie a zlyhania viacerých orgánov, čo vyvoláva potrebu včasnej diagnostiky a intervencie. Na tento účel bolo navrhnutých niekoľko súborov kritérií, z ktorých v súčasnosti dominuje sekvenčná diagnostika pomocou kritérií SIC a manifestnej DIC. Táto stratégia umožňuje posúdenie závažnosti stavu každého pacienta, od ktorého sa odvíja charakter liečby. Tá je však napriek pokrokom vo výskume patofyziológie rozporuplná a vyžaduje ďalšie štúdie.

## LITERATÚRA

- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA*. 2016;315:801-810.
- The Brussels Sepsis Resolution. Global Sepsis Alliance, Brussels, March 20th, 2018.
- Howell MD, Davis AM. Management of sepsis and septic shock. *JAMA*. 2017;317:847-8.
- Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(01):34-45.
- Martinod K, Deppermann C. Immunothrombosis and thromboinflammation in host defense and disease. *Platelets*. 2021;32(3):314-324.
- Taylor FB, Toh CH, Hoots WK, Wada H, Levi M, et al. Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost*. 2001;86:1327-30.
- Iba T, Nisio MD, Levy JH, Kitamura N, Thachil J. New criteria for sepsis-induced coagulopathy (SIC) following the revised sepsis definition: a retrospective analysis of a nationwide survey. *BMJ Open*. 2017;7:e017046.
- Iba T, Helms J, Connors JM, Levy JH. The pathophysiology, diagnosis, and management of sepsis-associated disseminated intravascular coagulation. *J Intensive Care*. 2023; 11(1):24.
- Gando S, Fujishima S, Saitoh D, Shiraishi A, et al. The significance of disseminated intravascular coagulation on multiple organ dysfunction during the early stage of acute respiratory distress syndrome. *Thromb Res*. 2020;191:15-21.
- Iba T, Connors JM, Nagaoka I, Levy JH. Recent advances in the research and management of sepsis-associated DIC. *International Journal of Hematology*. 2021;113:24-33.
- Futosi K, Fodor S, Mócsai A. Neutrophil cell surface receptors and their intracellular signal transduction pathways. *Int Immunopharmacol*. 2013;17(3):638-50.
- Iba T, Levi M, Levy JH. Intracellular communication and immunothrombosis in sepsis. *J Thromb Haemost*. 2022;20(11):2475-84.
- Salomão R, Martins PS, Brunialti MK, et al. TLR signaling pathway in patients with sepsis. *Shock*. 2008;30(Suppl 1):73-7.
- Liaw PC, Ito T, Iba T, Thachil J, Zeerleder S. DAMP and DIC: the role of extracellular DNA and DNA-binding proteins in the pathogenesis of DIC. *Blood Rev*. 2016;30(04):257-261.
- Gould TJ, Lysov S, Zwystun LL, et al. Canadian Critical Care Translational Biology Group. Extracellular histones increase tissue factor activity and enhance thrombin generation by human blood monocytes. *Shock*. 2016;46(6):655-62.
- Pérez-Figueroa E, Álvarez-Carrasco P, Ortega E, Maldonado-Bernal C. Neutrophils: many ways to die. *Front Immunol*. 2021;12:631821.
- Bonaventura A, Liberale L, Carbone F, et al. The Pathophysiological Role of Neutrophil Extracellular Traps in Inflammatory Diseases. *Thromb Haemost*. 2018;118(1):6-27.
- Skendros P, Mitsios A, Chrysanthopoulou A, et al. Complement and tissue factor-enriched neutrophil extracellular traps are key drivers in COVID-19 immunothrombosis. *J Clin Invest*. 2020; 130(11):6151-6157.
- Assinger A, Schrottmaier WC, Salzmann M, Rayes J. Platelets in sepsis: an update on experimental models and clinical data. *Front Immunol*. 2019;10:1687.
- José RJ, Williams AE, Mercer PF, Sulikowski MG, Brown JS, Chambers RC. Regulation of neutrophilic inflammation by proteinase-activated receptor 1 during bacterial pulmonary infection. *J Immunol*. 2015;194(12):918-936.
- Joffe J, Hellman J, Ince C, Ait-Oufella H. Endothelial responses in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020;202(3):361-70.
- Ito T, Kakuuchi M, Maruyama I. Endotheliopathy in septic conditions: mechanistic insight into intravascular coagulation. *Crit Care*. 2021;25(1):95.
- Jamal M, Bangash HI, Habiba M et al. Immune dysregulation and system pathology in COVID-19. *Virulence*. 2021;12(1):918-936.
- Bitker L, Burrell LM. Classic and nonclassic renin-angiotensin systems in the critically ill. *Crit Care Clin*. 2019;35(2):213-27.
- Higgins SJ, De Ceunynck K, Kellum JA, et al. Tie2 protects the vasculature against thrombus formation in systemic inflammation. *J Clin Invest*. 2018;128(4):1471-84.
- Novotný J, Penka M. Poruchy hemostázy u sepsy. *Vnitř Lék*. 2012;58(6):439-447.
- Taylor FB, Toh CH, Hoots WK, et al. Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost*. 2001;86:1327-30.
- Gando S, Iba T, Eguchi Y, Ohtomo Y, et al. A multicenter, prospective validation of disseminated intravascular coagulation diagnostic criteria for critically ill patients: comparing current criteria. *Crit Care Med*. 2006;34:625-31.
- Singh RK, Baronia AK, Sahoo JN, et al. Prospective comparison of new Japanese Association for Acute Medicine (JAAM) DIC and International Society of Thrombosis and Hemostasis (ISTH) DIC score in critically ill septic patients. *Thromb Res*. 2012;129:e119-25.
- Schmitt FCF, Manolov V, Morgenstern J, et al. Acute fibrinolysis shutdown occurs early in septic shock and is associated with increased morbidity and mortality: results of an observational pilot study. *Ann Intensive Care*. 2019;9:19.
- Iba T, Di Nisio M, Thachil J, Wada H, Asakura H, Sato K, et al. A Proposal of the Modification of Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis (JSTH) Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) Diagnostic Criteria for Sepsis-Associated DIC. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2018;24:439-45.
- Iba T, Levy JH, Warkentin TE, et al. Diagnosis and management of sepsis-induced coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Haemost*. 2019;17:1989-1994.
- Iba T, Levy JH, Yamakawa K, et al. Proposal of a two-step process for the diagnosis of sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Haemost*. 2019;17:1265-68.
- Zou ZY, Huang JJ, Luan YY, et al. Early prophylactic anticoagulation with heparin alleviates mortality in critically ill patients with sepsis: a retrospective analysis from the MIMIC-IV database. *Burns Trauma*. 2022;10:029.
- Iba T, Levi M, Levy JH. Sepsis-Induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. *Semin Thromb Hemost*. 2020;46:89-95.
- Iba T, Levy JH, Connors JM, Warkentin TE, Thachil J, Levi M. The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy. *Crit Care*. 2020;24:360.
- Iba T, et al. Sepsis-associated disseminated intravascular coagulation and its differential diagnoses. *Journal of Intensive Care*. 2019;4:32.
- Yamakawa K, Yoshimura J, Ito T, et al. External validation of the two newly proposed criteria for assessing coagulopathy in sepsis. *Thromb Haemost*. 2019;119(2):203-12.
- Wang B, Zhang B, Shen Y, et al. Validation of two revised, simplified criteria for assessing sepsis-associated disseminated intravascular coagulation in ICU patients with sepsis-3: a retrospective study. *Lab Med*. 2022; 54(3):291-298.
- Lu Z, Zhang J, Hong J, Wu J, et al. Development of a nomogram to predict 28-day mortality of patients with sepsis-induced coagulopathy: an analysis of the MIMIC-III database. *Front Med*. 2021;8:661710.
- Rabinovich A, Abdul-Kadir R, Thachil J, et al. DIC in obstetrics: diagnostic score, highlights in management, and international registry-communication from the DIC and Women's Health SSCs of the International Society of Thrombosis and Hemostasis. *J Thromb Haemost*. 2019;17:1562-6.
- Adelborg K, Larsen JB, Hvas A-M. Disseminated intravascular coagulation: epidemiology, biomarkers, and management. *British Journal of Haematology*. 2021;9:803-818.
- Squizzato A, Hunt BJ, Kinasevitz GT, et al. Supportive management strategies for disseminated intravascular coagulation. An international consensus. *Thromb Haemost*. 2016;115:896-904.
- Fu S, Yu S, Wang L, Ma X, Li X. Unfractionated heparin improves the clinical efficacy in adult sepsis patients: a systematic review and metaanalysis. *Anesthesiol*. 2022;22(1):28.
- Omidkhoda N, Abedi F, Ghavami V, et al. The effect of heparin and its preparations on disseminated intravascular coagulation mortality and hospitalization: a systematic review. *Int J Clin Pract*. 2022; 2022:2226761.
- Fan Y, Jiang M, Gong D, Zou C. Efficacy and safety of low-molecularweight heparin in patients with sepsis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Sci Rep*. 2016;6:25984.
- Becker BF, Jacob M, Leipert S, Salmon AH, Chappell D. Degradation of the endothelial glycocalyx in clinical settings: searching for the sheddases. *Br J Clin Pharmacol*. 2015;80(03):389-402.



48. Warren BL, Eid A, Singer P, et al. KyberSept Trial Study Group. Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2001;286(15):1869-1878.
49. Kienast J, Juers M, Wiedermann CJ, et al. KyberSept investigators. Treatment effects of high-dose antithrombin without concomitant heparin in patients with severe sepsis with or without disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Haemost*. 2006;4(01):90-97.
50. Tagami T. Antithrombin concentrate use in sepsis-associated disseminated intravascular coagulation: reevaluation of a "pendulum effect" drug using a nationwide database. *J Thromb Haemost*. 2018;16(3):458-61.
51. Aikawa N, Shimazaki S, Yamamoto Y, et al. Thrombomodulin alfa in the treatment of infectious patients complicated by disseminated intravascular coagulation: subanalysis from the phase 3 trial. *Shock*. 2011;35(4):349-54.
52. Vincent JL, Francois B, Zabolotskikh I, et al. SCARLET Trial Group. Effect of a recombinant human soluble thrombomodulin on mortality in patients with sepsis-associated coagulopathy: the SCARLET Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2019;321(20):1993-2002.
53. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, et al. Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) study group. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med*. 2001;344(10):699-709.
54. Nadel S, Goldstein B, Williams MD, et al. REsearching Severe Sepsis and Organ Dysfunction in Children: A Global Perspective (RESOLVE) Study Group. Drotrecogin alfa (activated) in children with severe sepsis: a multicentre phase III randomised controlled trial. *Lancet*. 2007;369(9564):836-843.
55. Abraham E, Laterre PF, Garg R, et al. Administration of Drotrecogin Alfa (Activated) in Early Stage Severe Sepsis (address) Study Group. Drotrecogin alfa (activated) for adults with severe sepsis and low risk of death. *N Engl J Med*. 2005;353(13):1332-1341.
56. Ranieri VM, Thompson BT, Barie PS, et al. PROWESS-SHOCK Study Group. Drotrecogin alfa (activated) in adults with septic shock. *N Engl J Med*. 2012;366(22):2055-2064.
57. Abraham E, Reinhart K, Opal S, et al. OPTIMIST Trial Study Group. Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003;290(2):238-247.
58. Wunderink RG, Laterre PF, Francois B, et al. CAPTIVATE Trial Group. Recombinant tissue factor pathway inhibitor in severe community-acquired pneumonia: a randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(11):1561-1568.
59. Levi M, Scully M. How I treat disseminated intravascular coagulation. *Blood*. 2018;131:845-54.
60. Wada H, Matsumoto T, Yamashita Y. Diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation (DIC) according to four DIC guidelines. *J Intensive Care*. 2014;2:15.