MASARYKOVA UNIVERZITA

LÉKAŘSKÁ FAKULTA

KLINIKA POPÁLENIN A REKONSTRUKČNÍ CHIRURGIE FN BRNO

TOXICKÁ EPIDERMÁLNÍ NEKROLÝZA

Současný pohled na problematiku a zhodnocení efektivity vlastního konceptu použitého při selhání primární léčby

Habilitační práce

MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D.

Brno 2017

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně a uvedl v ní všechny použité literární a jiné odborné zdroje.

V Brně, září 2017 odb. as. MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D.

Poděkování

Na tomto místě bych velmi rád poděkoval prof. MUDr. Pavlu Brychtovi, CSc., přednostovi Kliniky popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno za příležitost, kterou mi po ukončení lékařské fakulty dal. Dále mu děkuji za podporu a cenné komentáře během sepisování této habilitační práce.

MUDr. Haně Řihové za její ochotu předávat zásadní klinické zkušenosti a usměrňovat mé, mnohdy mladicky nerozvážné nápady.

MUDr. Ivanu Suchánkovi, primáři Kliniky popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno za často až otcovskou starostlivost a trpělivost během mého medicínského růstu.

Všem spolupracovníkům napříč různými odbornostmi za příkladný přístup k mnohdy komplikované terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. Zejména si považuji vysoce nadstandardní spolupráci s prim. MUDr. Markétou Hanslianovou z Oddělení klinické mikrobiologie FN Brno, MUDr. Dagmar Štikarovskou z Ústavu klinické alergologie a imunologie FNUSA a Mgr. Milenou Matejovičovou, Ph.D., z Biochemického ústavu LF MU, bez nichž by nebylo možné vymyslet a realizovat inovativní postupy v terapii takto postižených pacientů.

V neposlední řadě bych chtěl také poděkovat RNDr. Jiřímu Jarkovskému, Ph.D., a RNDr. Michaele Cvanové za pomoc při statistickém zpracování dat.

Největší dík patří ovšem mé rodině, dětem Vojtíškovi, Elišce a Klárce a mé manželce Petře za trpělivost, oporu a toleranci během mé klinické praxe a při sepisování habilitační práce.

„Téměř všichni lidé umírají na svoje léky, nikoli na svoje choroby.“

Moliére

OBSAH

Předmluva ……. 6

Cíle habilitační práce ……. 7

1 Kapitola I - Teoretický úvod

1.1 Úvod ……. 9

1.2 Historie závažných bulózních onemocnění …….. 10

1.3 Postavení TEN v různých klasifikačních schématech ……. 12

1.4 Role genetiky v rozvoji TEN …….. 15

1.5 Epidemiologie a prognóza pacientů s TEN …….. 16

1.6 Současné patofyziologické poznatky ve vztahu k rozvoji TEN …..…… 22

1.7 Klinická manifestace TEN ……. 37

1.8 Histopatologický obraz u pacientů s TEN ..…….. 47

1.9 Diferenciální diagnostika TEN …… 50

1.10 Terapie ……... 59

1.11 Dlouhodobé následky pacientů s TEN ……. 92

2 Kapitola II – Vlastní soubor pacientů – zhodnocení efektivity inovativního přístupu k pacientům, u nichž selhala primární terapie

2.1 Úvod ……. 95

2.2 Materiál a metodika ……. 96

2.3 Výsledky ……. 105

2.4 Diskuze …… 144

2.5 Závěr …… 167

3 Souhrn …… 168

4 Summary …… 170

5 Přínos habilitační práce pro rozvoj oboru …… 172

6 Seznam použitých zkratek a anglických ekvivalentů ……. 175

7 Seznam obrázků ……. 180

8 Seznam tabulek ……. 183

9 Seznam grafů ……. 185

10 Seznam autorovy literatury se vztahem k tématu habilitační práce ... 186

11 Literatura ……. 191

12 Seznam příloh ……... 218

Předmluva

Tato habilitační práce shrnuje mé více než osmileté úsilí optimalizovat diagnostiku a terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou (TEN).

Jedná se o velmi vzácné onemocnění s vysokou letalitou, jehož diagnostika před transferem do popáleninového centra je v současné době v České republice naprosto nedostatečná, nebál bych se použít výrazu alarmující. Velmi malá povědomost o tomto syndromu spolu s jistou dávkou bojácnosti z neznámého a ne vždy přítomnost zkušeného dermatologa a histopatologa způsobují časté zmatky kolem správně provedené diagnostiky a následného směřování pacienta. Reálným dopadem této situace je transfer pacienta do popáleninového centra, který ani zdaleka nesplňuje kritéria pro diagnózu TEN, nebo naopak zbytečně prodlužovaná hospitalizace pacienta s TEN na periferii, která má za následek oddálení adekvátní terapie. Tato skutečnost vede ke zhoršení prognózy takto postižených pacientů a dramatickému nárůstu ekonomických nákladů následné terapie.

Předkládaná habilitační práce může usnadnit orientaci ve velmi složité problematice kolem skupiny závažných bulózních onemocnění. Základním cílem tohoto projektu je zlepšení dostupnosti adekvátní péče pro pacienty, kteří ji skutečně potřebují.

Vlastní habilitační práce se skládá ze dvou kapitol. První kapitola je věnována úvodu do problematiky, epidemiologii, klinickému obrazu, současným možnostem diagnostiky a terapie pacientů s TEN. Přestože jsem se v této části snažil maximálně reflektovat aktuální poznatky k danému tématu, je možné, ba dokonce pravděpodobné, že uvedená data budou postupem času modifikována dalšími poznatky v oblasti diagnostiky a terapie TEN. Ve druhé kapitole prezentuji výsledky léčby pacientů s TEN na Klinice popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno. V této kapitole popisuji také jednotlivá možná terapeutická schémata, která jsme spolu s kolegy v průběhu několika let optimalizovali. Výsledkem je vysoce kultivovaný a celosvětově unikátní přístup k pacientům s TEN, který může pomoci zvýšit jejich šanci na přežití. Byl použit pouze u pacientů, u nichž došlo k progresi základního onemocnění, a byly vyčerpány současné terapeutické možnosti.

Habilitační práce je doplněna také mými nejdůležitějšími publikacemi na dané téma.

Cíle habilitační práce

Předkládaná habilitační práce má snahu komplexně obsáhnout současné poznání v problematice patofyziologie, diagnostiky a terapie pacientů s TEN. Zpracování tohoto tématu bylo voleno také s ohledem na každodenní medicínskou praxi, protože jsem sám dotazován řadou lékařů nejen z České republiky, ale i z jiných zemí na optimální postup v terapii pacientů s TEN.

Dalším důležitým motivem byla naprosto insuficientní dostupnost relevantních informací v naší odborné literatuře. Pokud se ojedinělá publikace objeví, obsahuje většinou řadu větších nebo menších nepřesností formálního nebo medicínského charakteru. Podobně jako v řadě jiných zemí, tak i v České republice neexistuje jednoznačné doporučení týkající se diagnosticko-terapeutického přístupu k pacientům s TEN. Proto pevně věřím, že tato práce může být pro řadu kliniků, kteří se setkají s pacientem s TEN, velmi nápomocná. Jestliže zpracování této problematiky pomůže třeba jen jednomu pacientovi a zlepší jeho šance na přežití, čas strávený sepsáním této práce nebyl marný.

Jednotlivé dílčí cíle této habilitační práce jsou následující:

1) Podat ucelený přehled o aktuálních poznatcích v diagnostice a terapii pacientů s TEN a zlepšit tak informovanost odborné veřejnosti při primární diagnostice a kontaktu s popáleninovým centrem.
2) Definovat základní epidermiologické ukazatele u pacientů s TEN v České republice.
3) Popsat unikátnost metodiky nově navrženého konceptu „rescue" terapie.
4) Analyzovat dosažené výsledky u vlastního souboru pacientů a provést zhodnocení efektivity nově navrženého konceptu v terapii TEN.
5) Definovat nejdůležitější potenciálně patogenní mikroorganismy, se kterými jsou konfrontováni pacienti s TEN.
6) Harmonizovat postup před samotným transferem a v průběhu transferu pacientů s TEN do popáleninového centra.

KAPITOLA I

Teoretický úvod

1.1 Úvod

Problematika samotných „dermatologických katastrof“ neboli závažných bulózních onemocnění se dnes stává stále aktuálnějším tématem. Při zvyšujícím se počtu medikamentů, které jsou dnes zaváděny do klinické praxe, narůstá také pravděpodobnost rozvoje polékových dermatologických reakcí nejrůznějšího charakteru. Nejzávažnějším stavem z této poměrně heterogenní skupiny onemocnění je toxická epidermální nekrolýza (dále jen TEN) (1).

Jedná se o velmi vzácné onemocnění, které se manifestuje různě rozsáhlou kožní exfoliací (minimální rozsah kožní exfoliace je 30 % TBSA – total body surface area) (2). Velmi často jsou postiženy také sliznice (3). I přestože od prvního popisu tohoto syndromu uplynulo již šest dekád, stále není kompletně objasněna jeho patofyziologická podstata. Tato skutečnost se následně odráží na mnohdy marné terapii, která se projevuje velmi vysokou letalitou oscilující v rozmezí 30–80 % (4).

Zejména v posledních dvaceti letech jsou zaznamenávány dílčí úspěchy na poli lokální i systémové terapie pacientů s TEN. Přes tuto nespornou progresi bohužel nedochází k výraznému ovlivnění letality. S trochou nadsázky se dá říci, že čím více o TEN víme, tím složitější se pro nás tento syndrom zdá být. Dodnes nebyl v klinické praxi pevně etablován spolehlivý terapeutický koncept, který by prokázal svou výraznou efektivitu vůči základnímu onemocnění, tedy v zastavení propagace lokálních a systémových změn, a zároveň by minimálně kompromitoval funkci imunitního systému v redukci výskytu infekčních komplikací.

Za úspěšnou léčbou pacientů s TEN dnes stojí optimální souhra mnoha různých odborností (dermatolog, mikrobiolog, chirurg, imunolog, anesteziolog, intenzivista, biochemik, oftalmolog aj.). Zejména na dermatology je v tomto ohledu kladen velký důraz, protože včasné rozpoznání tohoto syndromu vede rovněž ke správné triáži pacientů s možností okamžitého transportu do popáleninového centra. A jsou to právě tato centra, která se celosvětově jeví jako nejoptimálnější místa pro vedení celkové i lokální terapie (5).

1.2 Historie závažných bulózních onemocnění

Když v roce 1866 popsal Ferdinand von Hebra poprvé erythema multiforme jako onemocnění, které je charakterizováno výraznými kožními erupcemi vzhledem nápadně připomínající duhovku, odstartoval tak postupné poznávání velmi komplikované kapitoly závažných bulózních onemocnění (6).

Historie těchto onemocnění je také velmi úzce spjata s českými zeměmi. V roce 1878 baron Gottfried Ritter von Rittershain popsal podobné kožní projevy pozorované během deseti let u 297 dětí z dětského domova (7). Sám toto onemocnění pojmenoval jako „dermatitis exfoliativa“ nebo také „pemphigus neonatorum“. Etiologie mu nebyla známa, osobně se domníval, že toto onemocnění není nakažlivé. Teprve až v roce 1891 izoloval Almquist u pacienta s tímto onemocněním *Staphylococcus aureus* (8). Trvalo téměř 80 let, než v roce 1970 Melish a Glasgow objevili, že za tímto onemocněním stojí „jakýsi“ toxin produkovaný kmenem koaguláza pozitivního stafylokoka (9). Pojmenovali ho exfoliativní toxin (ET). V roce 2000 popsal Amagai se svými kolegy mechanizmus působení ET na dermoglein-1 lokalizovaný ve stratum granulosum (10). V roce 2002 byly objeveny čtyři odlišné sérotypy ET, ET-A, ET-B, ET-C, ET-D (11). Dnes je toto onemocnění známé jako stafylokokový syndrom opařené kůže (SSSS).

Stevens-Johnsonův syndrom (SJS) a TEN neboli Lyellův syndrom byly objeveny až ve 20. století. V roce 1922 popsali američtí pediatři Albert Mason Stevens a Frank Chambliss Johnson u dvou dětí kombinaci nových projevů u horečnatého onemocnění. Stav byl charakterizován závažnou purulentní konjuktivitidou, stomatitidou, rozsáhlými nekrózami v oblasti sliznic a kožními lézemi, které označili jako „EM-like“ (12). Vzhledem ke kožním projevům pojmenoval potom v roce 1950 toto onemocnění Bernard Thomas jako EM major (13). V roce 1967 byl popsán tzv. atypický SJS, který se manifestoval pouze v oblasti sliznic bez postižení kůže (14). Toto onemocnění má daleko lepší prognózu než SJS, bývá to typické onemocnění dětského věku a vyvolávajícím faktorem je infekce *Mycoplasma pneumoniae*. V literatuře se popisuje jako tzv. Fuchsův syndrom (15).

První zmínka o syndromu, který mohl odpovídat TEN, se objevila již v roce 1939. Tehdy francouzský dermatolog Debre spolu s kolegy popsal onemocnění „l'erythrodermie bulleuses avec epidermolyse“ (16). Teprve v roce 1956 popsal skotský dermatolog Alan Lyell poprvé diseminované bulózní onemocnění u čtyř dospělých pacientů (17). V témže roce popsali Lang a Walker v Kapském městě identické případy pacientů s TEN (18). Termín „toxická“ byl používán v souvislosti s tímto onemocněním proto, že Lyell sám předpokládal přítomnost jakéhosi toxinu v krevním oběhu, který je zodpovědný za klinické projevy, tedy

epidermolýzu. Původce samotného toxinu tehdy nebyl znám, Lyell se domníval, že jím mohou být medikamenty (sulfonamidy a butazon) nebo infekce určitými kmeny stafylokoka. Proto používal také termíny „staphyloccocal-induced toxic epidermal necrolysis“ nebo „drug-induced scalded skin syndrome“. Tehdejší medicína se svými limity neumožnila potvrdit, nebo vyvrátit jeho tvrzení, proto začal převládat názor, že za rozvojem TEN stojí mnohočetné stimuly (19). Lyell poté v roce 1979 připustil, že se u dvou pacientů z roku 1956 s diagnózou mýlil a překlasifikoval TEN na SSSS, u zbylých dvou pacientů se skutečně jednalo o TEN (20).

Po mnoho let byl SJS hodnocen jako závažná forma EM (EM major). Teprve v roce 1993 byl ustanoven mezinárodně uznávaný konsenzus, který jasně definoval jednotlivé stavy (SJS, TEN, EM), a to zejména díky odlišné klinické manifestaci. Toto dělení je platné dodnes (21).

1.3 Postavení TEN v různých klasifikačních schématech

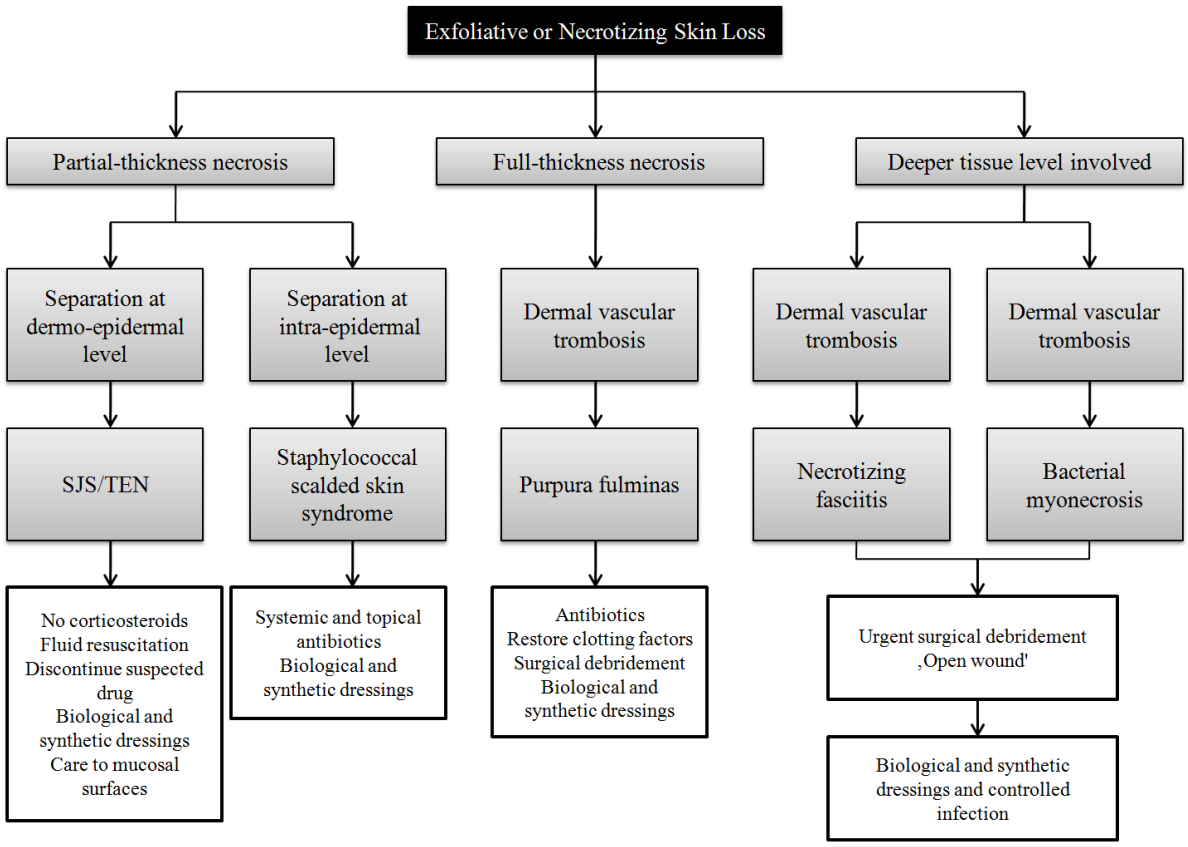
Pro závažné bulózní onemocnění dnes existuje celá řada klasifikačních schémat, která v této problematice způsobují značnou nepřehlednost. Pro zjednodušení rozdělení pacientů s jednotlivými bulózními stavy uvádím dvě klasifikace (první, nejrozšířenější mezi odborníky pečujícími o popálené pacienty, druhá klasifikace je spíše dermatologická vycházející z doporučení RegiSCAR) (22).

1.3.1 Dělení jednotlivých netermálních kožních ztrát dle úrovně, v níž dochází k rozvolnění či separaci

Nejdůležitější závažné bulózní stavy řešené v popáleninových centrech jsou pemphigus vulgaris (PV), bulózní pemphigoid (BP), SJS, TEN, overlap TEN a SSSS. K těmto stavům se přidávají také stavy jako dermální vaskulární trombóza (např. u meningokokové sepse) s následnými kožními projevy a nekrotizující fascitiida či myositida (23). Dohromady jde o skupinu stavů, které se označují jako tzv. Burn-like syndromy (24). Dle názvu se jedná o stavy, které svým klinickým projevem mohou imitovat popáleniny, ale chybí u nich úrazový mechanizmus.

Následné dělení mezi jednotlivými Burn-like syndromy nebo také netermálními ztrátami kožního krytu je dáno zejména vlastním klinickým projevem a úrovní, v níž ke ztrátě kožního krytu dochází. Toto rozdělení je v praxi velmi důležité a využívané, protože dokáže podle jednotlivého onemocnění identifikovat kožní defekt, který má potenciál ke spontánní reepitelizaci, nebo naopak kožní defekt, který se bude muset řešit chirurgickou cestou, tedy nekrektomií avitálních tkání a následným definitivním uzávěrem – dermo-epidermální štěp.

Dělení jednotlivých netermálních ztrát kožního krytu podle místa primárního postižení je znázorněno na obrázku č. 1.



Obr. č. 1 Jednotlivé stavy spadající do skupiny netermálních ztrát kožního krytu s doporučením lokální a systémové terapie. Dělení dle místa primárního postižení. Adaptováno dle Herndon et al. (25).

Jak z obrázku č. 1 vyplývá, je TEN řazený do skupiny společně se SJS a overlap TEN. Do této skupiny dále patří i BP. Jedná se o nejhlubší vrstvu poškození, kdy můžeme vhodně vedenou lokální péčí dosáhnout konzervativního uzávěru rány. Pochopitelně fázový posun v hojení rány bude pomalejší a celkový čas nutný k definitivnímu uzávěru bude delší, než by tomu bylo v případě např. SSSS (26).

Znalost úrovně separace jednotlivých vrstev kůže u různých Burn-like syndromů je také velmi důležitá zvláště pro pochopení podstaty pozitivity, nebo negativity nejrůznějších klinických znamení. Výčet těchto znamení je uveden v kapitole 1.6 (klinická manifestace).

1.3.2 Dělení závažných bulózních onemocnění dle RegiSCAR

V tomto případě se jedná spíše o klasifikaci dermatologickou. Polékové nežádoucí reakce postihující kůži jsou relativně časté. V literatuře se můžeme setkat s jejich označením jako CADRs (Cutaneous Adverse Drug Reactions) (27). Ovšem jejich závažné formy jsou vzácné a způsobují zhruba 5 % všech reakcí v oblasti kůže (28). Právě pro skupinu závažných

nežádoucích kožních reakcí byl formulován název SCARs (Severe Cutaneous Adverse Reactions) (29). Do skupiny SCARs patří spolu s TEN a SJS také DRESS (Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms) /DIHS (Drug induced hypersenzitivity syndrome) a AGEP (acute generalized exanthematous pustulosis) (30).

Pro studium jednotlivých forem SCARs byl ustanoven mezinárodní výzkumný tým již v roce 1988. Postupným vývojem poznávání jednotlivých syndromů ze skupiny SCARs přibývali také specialisté z různých oborů. Mimo dermatology a epidemiology šlo zejména o genetiky a imunology. Původní pojmenování skupiny se změnilo na EuroSCAR, která ovšem při další participaci států jako Jihoafrická republika nebo Taiwan musela projít přejmenováním na tzv. RegiSCAR, což je název platný dodnes (31).

Pro skupinu SCARs je typické:

1) Závažnost (syndromy z této skupiny jsou často zatíženy signifikantní letalitou, jejich projev téměř vždy vyžaduje hospitalizaci).
2) Velmi obtížná predikovatelnost.
3) Velmi často jsou asociovány s užíváním léků.

Základním úkolem RegiSCAR je v současné době zabezpečovat registr epidemiologických dat a klinických vzorků tří nejdůležitějších variant SCARs:

1) SJS a TEN.
2) Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS)/ Drug induced hypersensitivity syndrome (DIHS).
3) Acute generalized exanthematous pustulosis (AGEP).

1.4 Role genetiky v rozvoji TEN

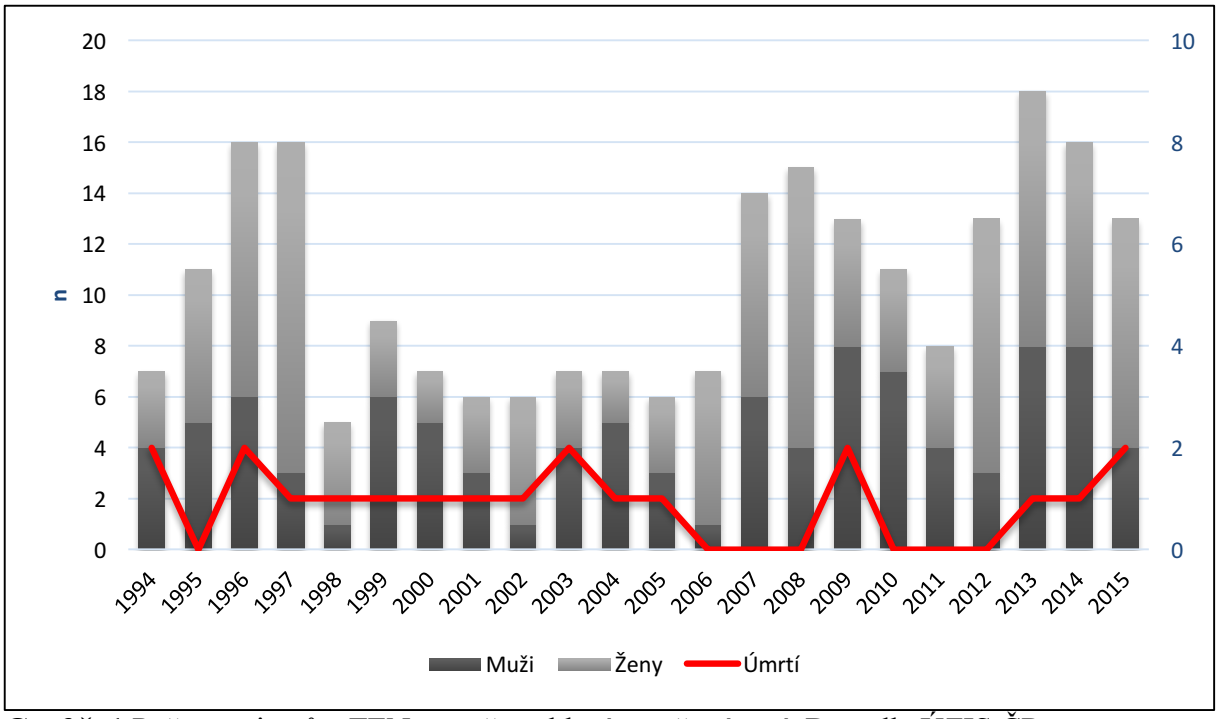
Od počátku 21. století se postupně začínají objevovat publikace, které potvrzují, že existuje jistá genetická predispozice pro rozvoj závažných bulózních onemocnění. Přestože drtivá většina těchto publikací pochází zejména z oblasti jihovýchodní Asie, existují již i data, která se týkají také evropské populace (32). Zejména v oblasti asijské populace je rozvoj TEN nebo SJS po karbamazepinu velmi silně asociován s přítomností antigenu HLA-B*15:02 (33). Byl to právě objev této asociace, který odstartoval nový pohled na možnosti předpovědi rozvoje SJS nebo TEN u specifických skupin pacientů.

Současné pojednání o roli imunogenetiky a jejího vlivu na problematiku jednotlivých závažných bulózních onemocnění je znázorněn v příloze č. 1.

1.5 Epidemiologie a prognóza pacientů s TEN

Jak již bylo zmíněno výše, je TEN raritní onemocnění, jehož incidence v populaci osciluje kolem 1 případu na 1 milión obyvatel a rok. Publikovaná data z Francie a Německa ukazují, že incidence tohoto onemocnění se za posledních 30 let nijak zásadně nemění (34,35). Přesto se dají mezi některými epidemiologickými studiemi nalézt výrazné rozdíly v incidenci TEN. Ventura et al. ve své epidemiologické studii popisuje incidenci TEN od 1,17 do 1,89 případů na 1 milión obyvatel a rok (36). Naopak ve studii Li et al. byla zjištěna incidence TEN pouze 0,05 případů na 1 milión obyvatel a rok (37). Jednoznačné vysvětlení těchto rozdílů není možné pouze samotnou geografickou odlišností, ale zejména problémy s adekvátní diagnostikou. Podobně se s tímto problémem potýkáme také v České republice. Dle dat získaných z Ústavu zdravotnických informací a statistiky (ÚZIS ČR) bylo v České republice hospitalizováno v letech 1994–2015 s diagnózou L512 dle MKN-10, tedy TEN, celkem 231 pacientů. Průměrná incidence TEN v tomto období byla 1,01 případů na 1 milión obyvatel a rok. Přesto jsem při osobní revizi několika desítek případů TEN hospitalizovaných v České republice zjistil, že řada z nich nesplňuje ani základní diagnostická kritéria. Proto reálná incidence TEN v České republice bude pravděpodobně daleko nižší. Tomuto tvrzení odpovídá také letalita pacientů s TEN v České republice. Z celkového počtu 231 pacientů zemřelo pouze 20 pacientů (8,66 %). Vzhledem k tomu, že ve většině publikací se průměrná letalita pohybuje okolo 30–50 % (i 80 %), jde tedy o extrémně nízkou až nereálnou hodnotu. Nicméně letalita je velmi závislá na vyspělosti země, ze které příslušná data přichází. Pochopitelně v zemích s nižší ekonomickou výkonností je letalita vyšší. Např. Ugburo et al. popisuje letalitu v souvislostí s TEN 60 % (38). Moniz et al. ve své studii udává také vysokou letalitu, a to 50 % z celkových 20 pacientů s diagnózou TEN (39).

Ze zatím ne úplně objasněných důvodů jsou častěji postiženy ženy. Dle dat ÚZIS bylo z celkového počtu 231 pacientů 132 žen (M: F ratio 1:1,75) (40). V práci Khoo et al. bylo z celkového počtu 23 pacientů s TEN 16 žen (M: F ratio 1:2,29). Brand et al. zaznamenal u 12 pacientů s TEN M: F ratio 1:2 (41). V grafu č. 1 je znázorněn počet pacientů s TEN hospitalizovaných v České republice v jednotlivých letech sledovaného období. Zde je také zaznamenán poměr mužů a žen spolu s absolutním počtem úmrtí.



Graf č. 1 Počet pacientů s TEN, poměr pohlaví a počet úmrtí. Data dle ÚZIS ČR.

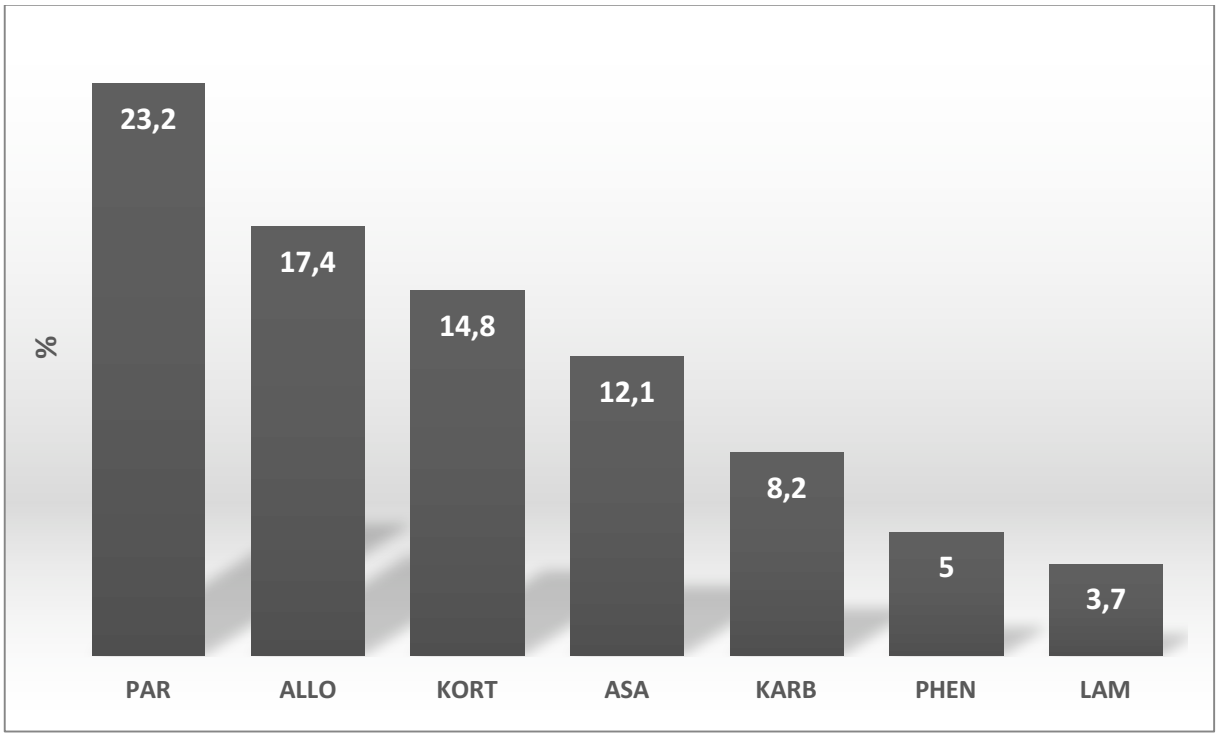
TEN byla popsána u všech věkových kategorií a u všech ras. Pravděpodobnost rozvoje tohoto onemocnění se ovšem zvyšuje s věkem (42). Tato skutečnost je dána nárůstem potřeb chronické medikace u starších osob. Typickým případem v této souvislosti je např. užívání antihypertenziv nebo také allopurinolu, který je relativně častým preparátem v rozvoji TEN.

Dnes je podle aktuálních poznatků evidováno již přes 200 medikamentů, u kterých byla zjištěna souvislost s rozvojem TEN (43). Do tohoto seznamu každoročeně přibývají nové preparáty. Mezi nejrizikovější lékové skupiny z pohledu rozvoje TEN patří tradičně antikonvulziva (II. i III. generace), dále antimikrobiální léky. V grafu č. 2 jsou znázorněny nejrizikovější léky dle EuroSCAR studie (44). Paradoxem v tomto kontextu je skutečnost, že rozvoj TEN byl popsán také u řady preparátů, které se používají v terapii TEN. Zejména jde o kortikosteroidy nebo některá biologika (etanercept, adalimumab) (45, 46, 47).

V návaznosti na doposud největší publikovaný soubor pacientů s TEN (studie EuroSCAR) byl skupinou francouzských a německých expertů vytvořen algoritmus ke stanovení pravděpodobnosti rozvoje TEN u sledovaného preparátu (ALDEN – an Algorithm for Assessment of Drug Causality in Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis) (48). Výsledkem tohoto algoritmu je tabulka, která zahrnuje všechny podstatné aspekty ve vztahu mezi pacientem a potenciálně nebezpečným lékem. Číselným vyjádřením výsledku je poté možnost či pravděpodobnost, že konkrétní preparát se na rozvoji TEN podílel. Výsledné číslo může nabýt hodnoty v rozmezí od -12 do +10. Pokud je pro konkrétní

sledovaný preparát dosažena číselná hodnota menší než 0, je jeho podíl na rozvoji TEN velmi nepravděpodobný. Naopak pokud je číselná hodnota rovna nebo vyšší než 6, jde velmi pravděpodobně o preparát, který se podílel na rozvoji TEN. Tento algoritmus je důležitý z pohledu identifikace rizikového preparátu, jehož se musí pacienti do budoucna vyvarovat.

I když se v literatuře TEN popisuje jako typická poléková toxoalergická reakce a patří do skupiny SCARs, asi u 10 % případů se nedá identifikovat žádný preparát, který by TEN vyvolal (pravděpodobně hrají roli viry jako herpesviry, coxsackie viry ev. jiné či mykoplasmová infekce) (49, 50, 51). Riziko rozvoje TEN je také vyšší u skupiny imunokompromitovaných pacientů. Udává se, že v Evropě je asi 5 % všech pacientů s TEN HIV pozitivních nebo po transplantaci kostní dřeně (52, 53).



Graf č. 2 Procentuální zastoupení jednotlivých preparátů na rozvoji TEN dle studie EuroSCAR mimo antimikrobiální léky (44). (PAR – paracetamol, ALLO – allopurinol, KORT – kortikosteroidy, ASA – kyselina acetylsalicylová, KARB – karbamazepin, PHEN – phenytoin, LAM – lamotrigin).

Criterion	Values	Rules to apply	
Delay from initial drug component intake to onset of reaction (index day)	Suggestive +3	From 5 to 28 days	−3 to 3
	Compatible +2	From 29 to 56 days	
	Likely +1	From 1 to 4 days	
	Unlikely −1	>56 Days	
	Excluded −3	Drug started on or after the index day	
		In case of previous reaction to the same drug, only changes for: Suggestive: +3: from 1 to 4 days Likely: +1: from 5 to 56 days	
Drug present in the body on index day	Definite 0	Drug continued up to index day or stopped at a time point less than five times the elimination half-life[a] before the index day	−3 to 0
	Doubtful −1	Drug stopped at a time point prior to the index day by more than five times the elimination half-life[a] but liver or kidney function alterations or suspected drug interactions[b] are present	
	Excluded −3	Drug stopped at a time point prior to the index day by more than five times the elimination half-life[a], without liver or kidney function alterations or suspected drug interactions[b]	
Prechallenge/rechallenge	Positive specific for disease and drug: 4	SJS/TEN after use of same drug	−2 to 4
	Positive specific for disease or drug: 2	SJS/TEN after use of similar[c] drug or other reaction with same drug	
	Positive unspecific: 1	Other reaction after use of similar[c] drug	
	Not done/unknown: 0	No known previous exposure to this drug	
	Negative −2	Exposure to this drug without any reaction (before or after reaction)	
Dechallenge	Neutral 0	Drug stopped (or unknown)	−2 or 0
	Negative −2	Drug continued without harm	
Type of drug (notoriety)	Strongly associated 3	Drug of the "high-risk" list according to previous case–control studies[d]	−1 to 3
	Associated 2	Drug with definite but lower risk according to previous case–control studies[d]	
	Suspected 1	Several previous reports, ambiguous epidemiology results (drug "under surveillance")	
	Unknown 0	All other drugs including newly released ones	
	Not suspected −1	No evidence of association from previous epidemiology study[d] with sufficient number of exposed controls[c]	
		Intermediate score = total of all previous criteria	−11 to 10
Other cause	Possible −1	Rank all drugs from highest to lowest intermediate score	−1
		If at least one has an intermediate score >3, subtract 1 point from the score of each of the other drugs taken by the patient (another cause is more likely)	
Final score −12 to 10			

<0, Very unlikely; 0–1, unlikely; 2–3, possible; 4–5, probable; ≥6, very probable.

ATC, anatomical therapeutic chemical; SJS, Stevens–Johnson syndrome; TEN, toxic epidermal necrolysis.

[a]Drug (or active metabolite) elimination half-life from serum and/or tissues (according to pharmacology textbooks, tentative list available in complementary table), taking into account kidney function for drugs predominantly cleared by kidney and liver function for those with high hepatic clearance. [b]Suspected interaction was considered when more than five drugs were present in a patient's body at the same time. [c]Similar drug = same ATC code up to the fourth level (chemical subgroups), see Methods. [d]See definitions for "high risk," "lower risk," and "no evidence of association" in Methods, ref. 15 (detailed list available in complementary table).

Tab. č. 1 Sledované parametry u jednotlivých preparátů a jejich následná interpretace z pohledu rizikovosti rozvoje TEN. Adaptováno dle Sassolas et al. (48).

1.5.1 Současné a historické nástroje v předpovědi pravděpodobnosti úmrtí u pacientů s TEN

V předpovědi pravděpodobnosti úmrtí u pacientů s TEN se uplatňovala či uplatňuje celá řada skórovacích modelů. Část z nich je specifická pro pacienty s TEN, část platí obecně pro kriticky nemocné pacienty.

Specifické skórovací systémy

Podobně jako v případě termického traumatu, kde se jednotlivá schémata určující prognózu pacientů formovala již od poloviny minulého století, byla snaha vytvořit obdobný prediktivní model také v případě pacientů s TEN. Již v roce 1979 navrhl Zawacki et al. první koncept predikce úmrtí u pacientů s TEN, který zahrnoval prostý součet dvou hodnot (věk a rozsah kožní exfoliace) (54). Byla to jistá analogie s Baux skóre u popálených pacientů (55). V roce 1987 již k těmto parametrům dodal Revuz et al. také parametr biochemický, tedy plazmatickou koncentraci urey (56). Již tehdy se totiž vědělo, že právě ta může být velice snadným ukazatelem závažnosti stavu. Tento koncept vydržel navzdory své nedokonalosti přes 16 let. Nicméně požadavky kliniků na jeho „update" byly stále hlasitější. Proto v roce 2000 formulovala skupina kolem Silvie Bastui-Garin úplně nový a daleko detailnější koncept pro hodnocení pravděpodobnosti úmrtí v souvislosti s TEN, tedy SCORTEN (SCORe of Toxic Epidermal Necrosis) (57). Tento koncept zahrnuje 7 nezávislých faktorů a jejich součtem získáme numerickou hodnotu, jež je poté převedena na pravděpodobnost úmrtí. Jednotlivé parametry jsou znázorněny v tabulce č. 2.

SCORTEN	
Prognostické faktory	**Body**
Věk >40 let	1
Srdeční frekvence >120/min	1
Přítomnost malignity	1
Rozsah exfoliace >10 % TBSA	1
Urea/ koncentrace v séru >10 mmol/l	1
Bikarkonát/ koncentrace v séru <20 mmol/l	1
Glukóza/ koncentrace v séru >14 mmol/l	1
	Letalita (%)
0-1	3.2
2	12.1
3	35.8
4	58.3
≥5	90

Tab. č. 2 SCORTEN – sledované parametry a převedení bodového součtu na pravděpodobnost úmrtí (57).

Bohužel ani SCORTEN dnes nepředstavuje spolehlivý nástroj pro přesnou predikci úmrtí pacientů s TEN (58). Za posledních 16 let sice nedošlo k zásadním změnám v pravděpodobnosti úmrtí, nicméně dnes daleko intenzivněji čelíme v souvislosti s terapií těchto pacientů výzvám, které v roce 2001 nebyly natolik aktuální, aby byly zahrnuty do SCORTEN. Oněmi výzvami jsou jistě samotný věk pacientů, dále přítomnost slizničního postižení, mikrobiologická problematika apod. Tyto věci budou komentovány daleko detailněji v diskuzi ke kapitole II.

Nespecifické skórovací systémy

Tyto skórovací systémy se používají obecně pro kriticky nemocné pacienty v intenzivní péči. Mezi nejvýznamnější a dnes nejpoužívanější patří SAPS (Simplified Acute Physiology Score), APACHE (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) a MPM (Mortality Probability Model). První dva našly využití, byť jen omezené, také u pacientů s TEN. Nicméně dnes se v předpovědi úmrtí jednoznačně preferuje použití SCORTEN (57).

1.6 Současné patofyziologické poznatky ve vztahu k rozvoji TEN

Přestože od prvního popisu TEN uplynulo již více než 60 let a v posledních dvaceti letech byla učiněna řada zásadních zjištění, zůstává komplexní popis patofyziologických dějů rozvoje a progrese TEN stále nedostižitelnou metou. Tato skutečnost má zásadní vliv na prognózu pacientů s TEN, protože bez pochopení detailní patofyziologické podstaty není možno pacienty s tímto syndromem adekvátně léčit. Proto i přes zjevné pokroky stále nedochází ke kýženému snížení počtu úmrtí na zmiňované onemocnění.

Z patofyziologického hlediska je základním podkladem pro rozvoj TEN rozsáhlá apoptóza keratinocytů v oblasti dermo-epidermální junkce (25). Dnes je popsáno hned několik mechanizmů, jak k indukci apoptózy epidermálních buněk dochází, přesto jejich výčet nemusí být konečný.

Řecký termín „apoptóza“ poprvé použil v roce 1972 Kerr (59). Jedná se o programovanou smrt buňky. Na rozdíl od nekrózy buňky, což je termín, který je vyhrazen pro buněčnou smrt způsobenou traumatickými změnami, je apoptóza vysoce sofistikovaný proces, při němž hraje roli řada extracelulárních i intracelulárních mediátorů (60). Apoptóza se vyskytuje běžně během vývoje a stárnutí mnohobuněčného organismu jako součást mechanizmu regulujícího počet buněk v jednotlivých tkáních. Apoptóza představuje také obranný mechanizmus buňky v průběhu řady imunitních dějů a iniciuje se, pokud dojde k poškození buněk z jakékoliv příčiny natolik významným inzultem, že buňka sama není schopna vlastními reparativními silami toto poškození překonat (61).

V případě TEN se na rozvoji apoptózy epidermálních buněk uplatňují dva hlavní systémy – kaspázový a nekaspázový (62).

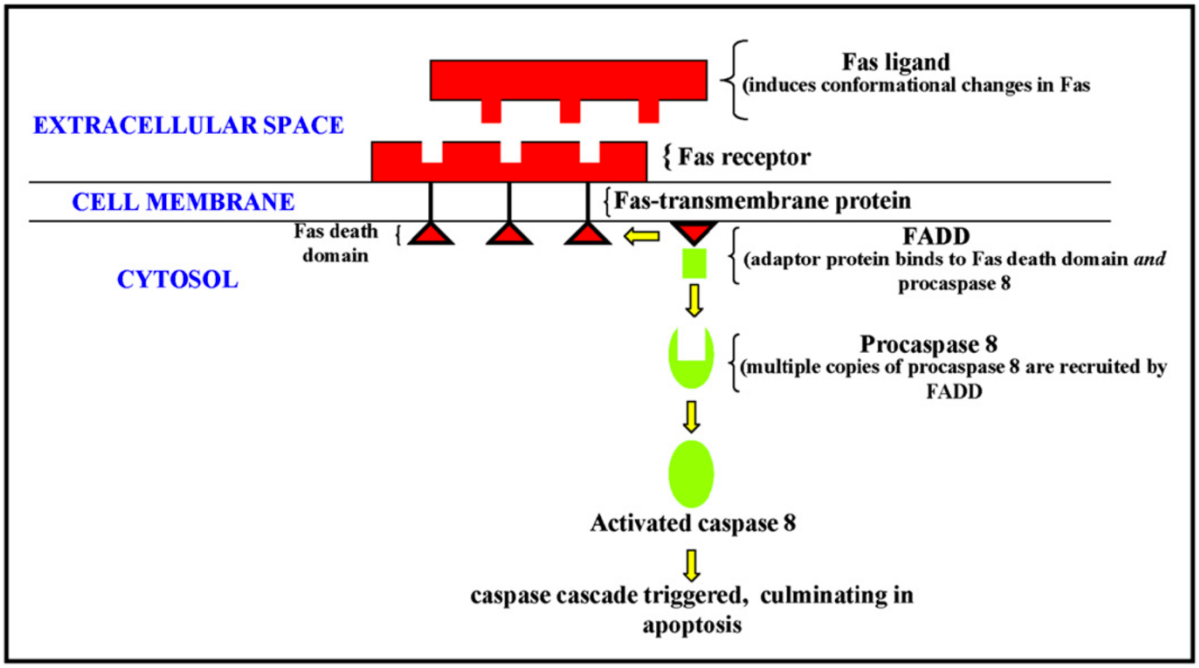
1.6.1 Kaspázový systém v rozvoji apoptózy epidermálních buněk

Kaspázy představují širokou rodinu cysteinových proteáz, které specificky štěpí peptidovou vazbu za aspartátem. Odtud je odvozen také jejich název CASPASE (Cysteine-dependent ASPartate-directed proteASE) (63). U člověka bylo doposud popsáno celkem 12 kaspáz (7 z nich se uplatňuje v případě apoptózy). Kaspázy se dále dělí na skupinu iniciačních kaspáz (kaspáza 2, 8, 9, 10), ve které jsou zástupci stojící na samotném začátku apoptotické dráhy, a skupinu kaspáz efektorových (kaspáza 3, 6, 7), které vykonávají vlastní apoptózu (64).

Všechny kaspázy jsou původně exprimovány v inaktivované formě jako tzv. prokaspázy. V této formě se většinu času v buňce také nachází. K jejich aktivaci následně

dochází dvěma hlavními mechanizmy. Jedná se o tzv. vnitřní a vnější aktivační dráhu (65, 66).

Vnější dráha aktivace kaspázového apoptotického mechanizmu je spuštěna vazbou specifického ligandu na receptor FasR (CD95R). U této dráhy nakonec dochází k aktivaci inciciační kaspázy-8 a efektorové kaspázy-3. Specifickým ligandem pro FasR, který se v rozvoji TEN uplatňuje velmi výrazně, může být např. FasL, který je v průběhu TEN masivně exprimován na povrchu T-lymfocytů, NK buněk, ale také na povrchu keratinocytů (67). Tento proces je schématicky znázorněn na obrázku č. 2.



Obr. č. 2 Schématické znázornění apoptózy prostřednictvím vazby FasL (CD95L) na FasR (CD95R). Adaptováno dle Pereira et al. (68).

Vnitřní dráha aktivace kaspázového apoptotického mechanizmu je iniciována dysregulací vnitřního prostředí buňky (v případě TEN keratinocytu). Nejdůležitějším mechanizmem je uvolnění cytochromu C z mitochondrií (65). Následně dochází již v cytosolu buňky k aktivaci adaptorního proteinu APAF1 (Apoptotic protease activating factor 1), který aktivuje prokaspázu-9 (iniciační kaspáza). Identicky jako u vnější dráhy je i zde výsledkem aktivace efektorové kaspázy-3 (69). Předpokládá se, že se vnitřní dráha aktivace kaspázového systému v patofyziologii pacientů s TEN uplatňuje minoritně.

1.6.2 Nekaspázové proteázy v rozvoji apoptózy epidermálních buněk

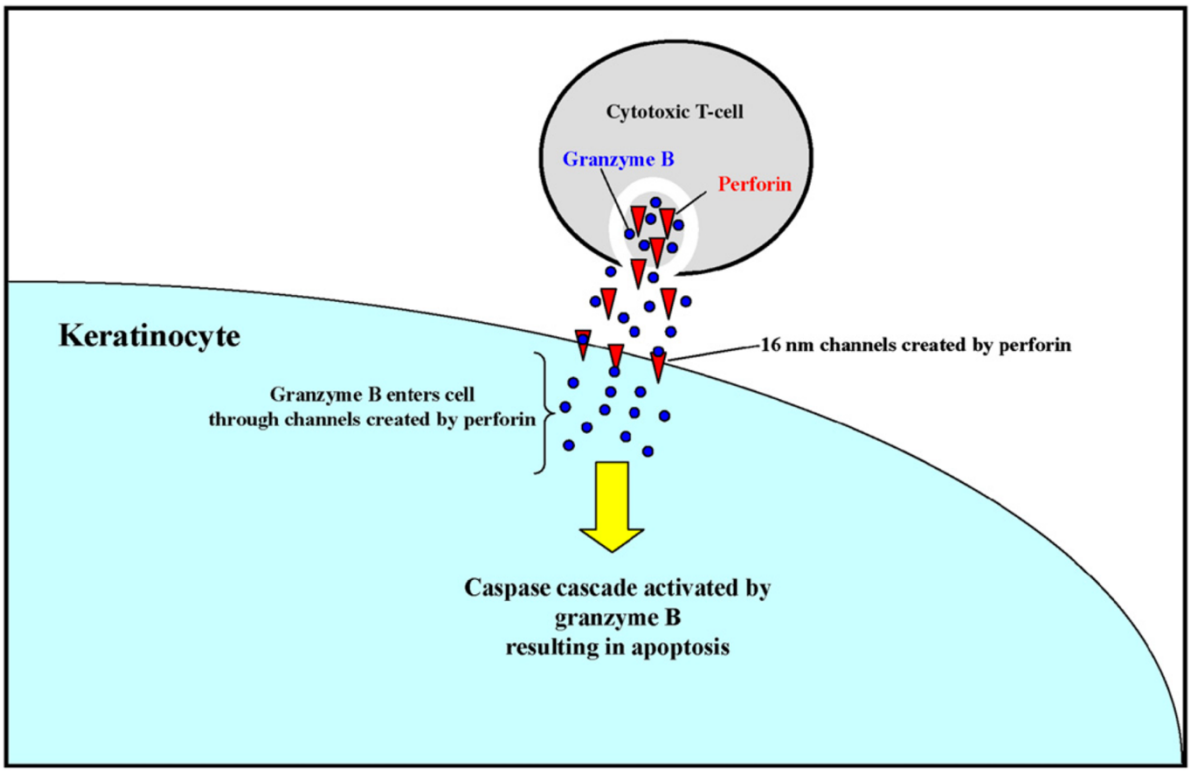
Kaspázy nejsou jediné proteázy, které se uplatňují v případě rozvoje apoptózy (70). I u několika dalších nekaspázových proteáz byla prokázaná jejich důležitost v případě rozvoje

apoptózy. Právě v průběhu samotné apoptózy mohou nekaspázové proteázy s těmi kaspázovými spolupracovat, nebo řídit průběh apoptózy nezávisle na nich. Do skupiny nekaspázových proteáz patří granzym B, calpainy a cathepsiny.

Granzym B

Jedná se o serinovou proteázu, která je produkována cytotoxickými T-lymfocyty (CD8+ T lymfocyty, Tc lymfocyty) a také NK buňkami (71). Je také někdy označovaná jako CTLA-1 (cytotoxic T lymfocyte-associated serine esterase 1). Hlavní funkcí granzymu B je vyvolání apoptózy u buněk obsahujících viriony a u nádorových buněk (72). Do buňky se granzym B dostane pouze za pomoci dalšího proteinu, který nese označení perforin. I perforin je produkován NK buňkami a Tc lymfocyty, jeho název je odvozen od hlavní funkce, kterou má, tedy perforace cílové membrány (73). Interakce perforinu a cílové buňky je dvojí. V prvním případě může vlivem četných defektů v cytoplazmatické membráně způsobit poruchu osmolarity buňky a její následnou lýzu. V případě druhém spolupracuje právě s granzymem B, jehož následná interakce vede ke kaspázami iniciované apoptóze. V inracelulárním prostoru se granzym B podílí na aktivaci celé řady iniciačních i efektorových kaspáz (zejména kaspázy-8 a kaspázy-3) (74). Mimo tuto aktivaci je granzym B schopný také přímého štěpení proteinů BID (proapoptotický mediátor) a ICAD (Inhibitor of Caspase Activated DNase). BID patří do rodiny Bcl-2 proteinů, ve které jsou také i antiapoptotické proteiny (75, 76). Má aktivní formu tBID, která vzniká proteolytickým štěpením nejčastěji kaspázou-8, ale právě také granzymem B, který štěpí také ICAD. Toto je mechanizmus, kterým dochází k uvolnění, a tedy i aktivaci endogenní endonukleázy CAD (Caspase Activated DNase). Za normálních okolností jsou v cytosolu CAD-ICAD navázány na sebe v podobě heterodimeru. Působením granzymu B nebo opět také kaspáz dojde ke štěpení vazby a aktivaci CAD, který dle názvu způsobuje fragmentaci DNA. I tento proces může vést k apoptóze buňky (77).

Role granzymu B v rozvoji TEN je v poslední době velmi intenzivně diskutována. Řada autorů považuje tuto proteázu dokonce za klíčový parametr, který může určovat prognózu pacientů s TEN (78, 79). Na obrázku č. 3 je schematicky znázorněna indukce apoptózy prostřednictvím granzymu B.



Obr. č. 3 Schématické znázornění apoptózy prostřednictvím granzymu B a perforinu CD8+ T lymfocytů. Adaptováno dle Pereira et al. (68).

Calpainy

Calpainy jsou intracelulární Ca^{2+}- dependentní cysteinové proteázy (80). Calpainy se většinou dále dělí na tkáňově specifické a volně se vyskytující. Všechny jsou v cytosolu zastoupeny ve fromě neaktivních proenzymů. K jejich aktivaci je nutné zvýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+}. Následně aktivované calpainy narušují zejména buněčný cytoskelet (81).

Cathepsiny

Jedná se o rodinu 12 proteáz. Jejich vzájemné odlišnosti jsou nejen strukturální, ale také funkční, týkají se tedy vlastního katalytického mechanizmu a výběru specifického substrátu. Jsou většinou aktivovány snížením pH v lysozomech (82). Pro jejich vlastní aktivitu je pochopitelně nutná translokace z lysozomu do cytosolu. Na apoptóze se podílejí zejména cathepsiny B a D (83, 84). Podobně jako calpainy nepatří pravděpodobně ani cathepsiny k podstatným proapoptotickým mediátorům v případě rozvoje TEN.

Pro další snazší pochopení velmi složitých a komplexních patofyziologických pochodů rozděluji text do následujících kapitol, i přestože jsem si plně vědom jejich vzájemné provázanosti v rozvoji TEN:

1) Role lymfocytů v patofyziologii TEN.
2) Role cytokinů v patofyziologii TEN.
3) Role nitrosativního a oxidativního stresu v patofyziologii TEN.

1.6.3 Role lymfocytů v patofyziologii TEN

Současná úroveň patofyziologického poznání a poměrně robustní publikovaná data potvrzují důležitost T lymfocytů v rozvoji TEN. Většina prací se týká zejména cytotoxických T lymfocytů (Tc lymfocytů) (78, 85). Co se týká problematiky pomocných T lymfocytů (CD4+ T lymfocytů, Th lymfocytů), jejich podíl na rozvoji TEN je velmi intenzivně studován zejména u HIV pozitivních pacientů. Právě u těchto pacientů je mnohonásobně vyšší riziko rozvoje tohoto syndromu, což je způsobeno snížením počtu Th lymfocytů (53).

O důležitosti T lymfocytů svědčí jejich nález jak v oblasti epidermis a v tekutině formované buly, tak také v oblasti dermis. V epidermis dominuje zastoupení Tc lymfocytů a NK buněk (Th lymfocyty jsou přítomny asi jen v 10 %). V oblasti dermis zase dominují podle výsledků imunohistochemických vyšetření Th lymfocyty (68, 86, 87).

Pro snazší pochopení role T lymfocytů v patogenezi TEN je důležité si uvědomit jejich samotnou interakci s molekulami HLA I. a II. třídy. HLA molekuly jsou velmi důležité z pohledu tzv. histokompatibility, resp. histoinkompatibility (zejména HLA molekuly I. a II. třídy). Molekuly HLA I. třídy jsou přítomny na všech jaderných buňkách, molekuly HLA II. třídy se vyskytují zejména na buňkách předkládajících antigen (APC – antigen presenting cells) – monocyty, makrofágy, B lymfocyty a také na aktivovaných T lymfocytech. Skladba HLA molekul je u každého jedince originální, a určuje tedy jistou imunologickou jedinečnost (88). Biologická funkce HLA molekul je velmi rozmanitá. Součástí domén molekul HLA I. nebo II. třídy je speciální místo, které je dedikováno pro fragment antigenu. Za pomocí HLA molekul I. třídy ukazuje buňka imunitnímu systému, jaké peptidy syntetizuje (jedná se tedy o jistou supervizi). Pomocí HLA molekul II. třídy jsou na APC vystaveny fragmenty antigenů, které buňky zachytily ve svém okolí (89).

V případě molekul HLA I. třídy jsou aktivovány Tc lymfocyty, které danou buňku zničí, pokud ukáže peptid, který imunitní systém nerozpozná. V případě HLA molekul II. třídy nejsou dané buňky (APC) zničeny, ale dochází k přímé interakci s Th lymfocyty,

které prostřednictvím svých cytokinů stimulují APC k další proliferaci. Z výše uvedeného je zřejmé, že molekuly HLA I. třídy vytváří funkční vazbu s Tc lymfocyty, zatímco HLA molekuly II. třídy interagují s Th lymfocyty.

Většina publikací zabývajících se problematikou lymfocytů u pacientů s TEN popisuje samotný rozvoj tohoto onemocnění jako imunitní reakci založenou na Tc lymfocytech (68). Dochází tedy k medikamentózně indukované aktivaci a následné klonální expanzi nejen Tc lymfocytů, ale také Th lymfocytů. Jinými slovy fragment medikamentu nebo jeho metabolitu je vystaven na specifickém místě HLA I. třídy a následně dochází k interakci s Tc lymfocyty. Cílová buňka je poté destruována Tc lymfocytem. Podkladem efektivity těchto lymfocytů je většinou jejich přímý kontakt s cílovou buňkou a následná indukce apoptózy.

Existují tři druhy cytotoxických mechanizmů (první dva mechanizmy jsou založeny na přímém kontaktu mezi Tc lymfocytem a cílovou buňkou (89). Třetí mechanizmus je realizován prostřednictvím lymfotoxinu. V tomto případě není nutný přímý kontakt mezi cytotoxickým T lymfocytem a buňkou). Cytotoxické mechanizmy Tc lymfocytů jsou následující:

1) Degranulace cytotoxických proteinů obsažených v cytoplazmě Tc lymfocytů (granzym B, granulysin, perforin aj.) (90).
2) Na povrchu Tc lymfocytů se nachází také FasL (91).
3) Dále jsou Tc lymfocyty také producenty tzv. lymfotoxinu (TNFß), což je cytokin, který působí podobně jako FasL (92).

Právě zde nastává zásadní problém, který dále neumožňuje omezit popis patofyziologie TEN pouze na aktivitu Tc lymfocytů. Pro rozsáhlé kožní a slizniční projevy vídané u pacientů s TEN by bylo zapotřebí obrovského množství Tc lymfocytů, protože pro jejich aktivitu je nutný přímý kontakt mezi lymfocytem a keratinocytem. Proto dnes převládá představa, že tyto lymfocyty jsou dominantním hráčem pouze v tzv. iniciační fázi tohoto onemocnění a zásadní podíl na apoptóze v rámci amplifikační fáze přechází na jiné patofyziologické dráhy (resp. Tc lymfocyty a jejich aktivita je v této fázi doplněna o další patofyziologické mechanizmy). Stále ovšem zůstává otázkou, který patofyziologický mechanizmus je u pacientů s TEN dominantní.

Role Th lymfocytů je dnes stále velmi opomíjená, přesto si myslím, že v některých aspektech patofyziologie TEN může být daleko důležitější nežli role samotných cytotoxických T lymfocytů. Jak již bylo zmíněno výše, po antigenní stimulaci dochází nejen k proliferaci a diferenciaci antigenně/lékově specifických Tc lymfocytárních klonů, ale také

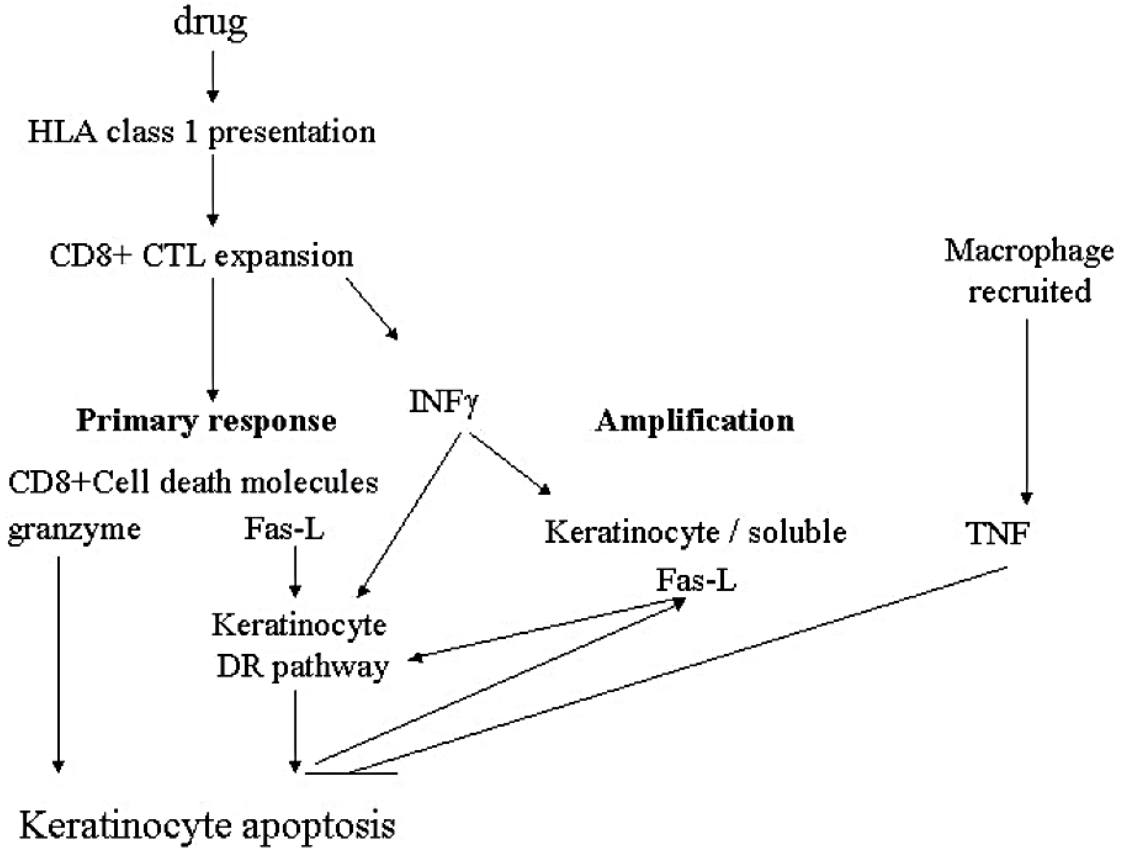
k proliferaci a diferenciaci Th lymfocytárních klonů (68). Základní funkce Th1 lymfocytů (subpopulace CD4+ T lymfocytů) je aktivace makrofágů prostřednictvím své vlastní cytokinové výbavy (Th lymfocyty dominantně produkují 2 cytokiny INFγ a IL-2) (93). Takto aktivované makrofágy mohou následně produkovat signifikantní množství oxidu dusného (NO), který je důležitým faktorem nitrosativního stresu (role tohoto faktoru v rozvoji TEN je diskutována dále). Monocyty a makrofágy, se kterými interaguje Th1 lymfocyt, dále produkují INFγ, který upreguluje expresi FasL na keratinocytech a umožňuje tak rozvoj apoptózy těchto buněk cestou vazby FasL na FasR 94). Makrofágy také sekretují celou řadu proinflamatorních cytokinů jako IL-1 a TNFα a zpětně produkují IL-12 na Th lymfocyty. Tento cytokin je výrazným diferenciačním faktorem právě pro Th1 lymfocyty. Zde bych rád zmínil, že za vazbu mezi Th lymfocytem a makrofágem je zodpovědný ICAM-1 (na povrchu makrofágu) a LFA-1 (Lymphocyte function-associated antigen 1), což je adhezivní receptor na Th lymfocytech (95). Vzájemná interakce Th1 a makrofágů je základním mechanizmem tzv. imunopatologické reakce opožděného typu DTH (delayed type of hypersenzitivity) (96).

Th lymfocyty hrají také velmi důležitou roli v klonální expanzi antigenně specifických Tc lymfocytů. IL-2 je pro Th výrazný autokrinní růstový faktor nezbytný pro jejich dělení a proliferaci (97). Proces proliferace a diferenciace Tc lymfocytů se zdá být výrazně závislý na přítomnosti dostatečného množství Th1 lymfocytů. Pro samotnou proliferaci Tc lymfocytů je nutný opět IL-2, který nejsou Tc lymfocyty schopny sekretovat v dostatečném množství. Ovšem úloha Th lymfocytů ve stimulaci Tc je možná daleko komplexnější než jen v sekreci IL-2. Ukazuje se, že schopnost samotné dendritické buňky (APC) iniciovat dělení a diferenciaci antigenně specifických klonů Tc lymfocytů, musí předcházet stimulace Th lymfocyty. V rámci této transformace hraje důležitou roli vazba jednotlivých signalizačních molekul. CD40L na povrchu aktivovaného Th lymfocytu a CD40 na povrchu dendritické buňky. Následně dendritická buňka zahájí expresi kostimulačních povrchových molekul CD80 a CD86 a sekreci cytokinů (IL-1 a IL-12), které se účastní stimulace Tc buněk (98, 99). Vazba mezi profesionálními APC a Tc lymfocyty je zprostředkována mj. také ICAM-1 (na povrchu APC) a LFA-1 (na povrchu Tc lymfocytů) (95). Jedna z důležtitých patofyziologických drah participujících na rozvoji TEN je znázorněna na obrázku č. 4.

ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule 1), také známý jako CD54, je zástupcem rodiny imunoglobulinů (100). Jde o typický transmembránový protein. Vyskytuje se běžně v relativně nízké koncentraci v membráně leukocytů a endoteliálních buněk. Exprese tohoto proteinu se zvyšuje po stimulaci některými z proinflamatorních cytokinů (IL-1 nebo TNFα) (101). ICAM-1 je ligandem pro LFA-1 (integrin), tedy receptorem lokalizovaným na

membráně lymfocytů (Tc i Th). Vazba mezi LFA-1 (T lymfocyty) a ICAM-1 (endoteliální buňky) facilituje transmigraci lymfocytů přes endotelie do tkání. Navíc vazba LFA-1/ICAM-1 umožňuje vzájemné působení např. Th1 lymfocytu a makrofágu. LFA-1 byl také nalezen v solubliní formě, která po vazbě na ICAM-1 tento receptor zablokuje (102). V případě adheze vybraných leukocytů (lymfocytů a monocytů) a endoteliálních buněk se uplatňuje také další člen imunoglobulinové rodiny, VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecule-1) neboli CD106 (103). Jeho exprese je dominantně lokalizována na cévy různého průměru a je opět vyvolána působením proinflamatorními cytokiny.

Jedním z velmi potentních inhibitorů ICAM-1/VCAM-1 je antitrombin. I když v souvislosti s jeho podáváním pacientům s TEN nejsou doposud v literatuře žádné zmínky, v našem terapeutickém konceptu má antitrombin právě pro možnou inhibici transmigrace lymfocytů do dermis své nezastupitelné místo.



Obr. č. 4 Pravděpodobná apoptotická dráha u pacientů s TEN mediovaná prostřednictvím Tc lymfocytů (DR death receptor, CTL – Tc lymfocyty. Adaptováno dle Chave et al. (104).

Současné poznání role Th17 lymfocytů v patogenezi TEN

Th lymfocyty jsou dnes klasifikovány do 4 podskupin: Th1, Th2, Th17 a Treg. Th17 lymfocyty jsou charakterizovány expresí receptoru CCR6 a produkcí IL-17A a IL-17F (105). Produkují také další cytokiny jako IL-21, IL-22 nebo TNFα. K diferenciaci na Th17 lymfocyty dochází za působení IL-6 a TGF-ß (106). Právě TGF-ß se zdá být klíčovým cytokinem, který ovlivňuje diferenciaci Th17 lymfocytů nebo T regulačních lymfocytů Treg (změna fenotypu Th17 na Treg). Při nízkých koncentracích TGF-ß dochází ke vzniku Th17 lymfocytů, naopak vysoké koncentrace tohoto cytokinu vedou k diferenciaci Treg (107).

Recentně bylo zjištěno, že se Th17 lymfocyty vyskytují velmi početně u pacientů se SJS nebo TEN, a to zejména v průběhu prvního týdne onemocnění (108). Počet těchto buněk dobře koreluje s průběhem samotného onemocnění. Při jejich poklesu dochází ke zlepšení klinického obrazu. Snížení počtu Th17 lymfocytů je u pacientů se SJS nebo TEN doprovázeno nárůstem produkce TGF-ß, což vede ke zvýšené diferenciaci Treg. Treg dále působí zejména na neutrofilní granulocyty, a to několika supresními mechanizmy. První zahrnuje produkci inhibičních cytokinů IL-10, TGF-ß a IL-35. Druhým důležitým mechanizmem je indukce apoptózy prostřednictvím granzymu A a perforinu (109, 110). Výsledkem této interakce může být rozvoj neutropenie, která se u pacientů se SJS nebo TEN vyskytuje velmi často.

I když je dnes dobře známá velice úzká provázanost mezi oběma podtypy Th lymfocytů (Th17 a Treg), pochopení jejich role při samotném rozvoji a progresi SJS nebo TEN vyžaduje další imunologické zkoumání.

Vlastní proces aktivace T-lymfocytů (farmakologicko-imunologický koncept)

Léky mohou aktivovat T-lymfocyty zpravidla třemi cestami: jako hapteny, jako prohapteny a přímou interakcí mezi léčivem, MHC a T-lymfocytárním receptorem (68). Drtivá většina léků je chemicky inertní, přesto existují zástupci, kteří přímo reagují s tkáňovými proteiny. Typickým příkladem je penicilin G kovalentně se vázající na lysin endogenních proteinů, dále potom kaptopril nebo cefalosporiny (111).

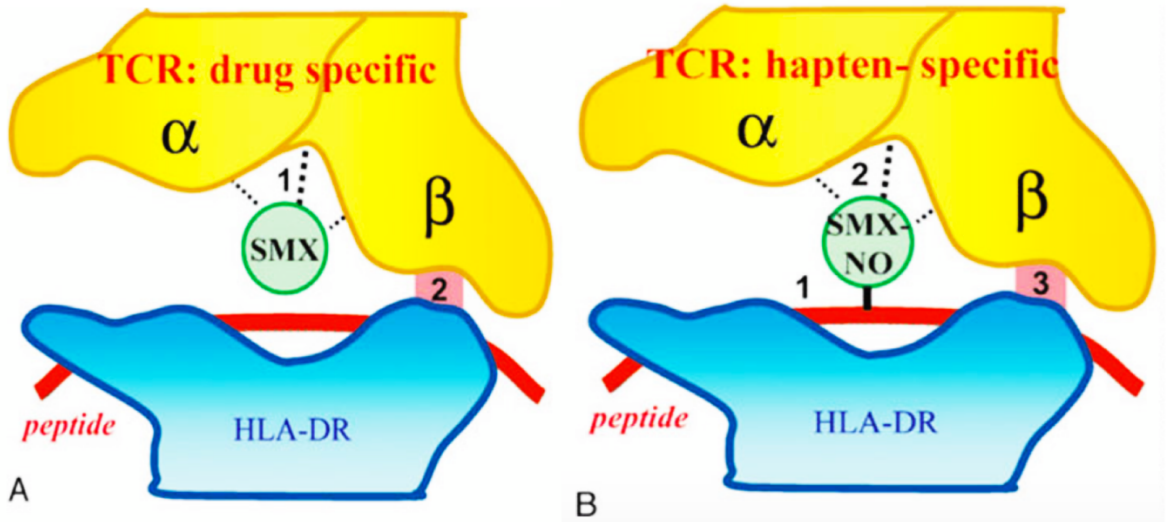
Většina léků tedy představuje spíše „prohapteny“, tedy za určitých okolností se z nich hapteny teprve stávají. Klíčovou roli v této transformaci má cytochrom P450 (CYP450). Samotný metabolizmus prostřednictvím tohoto enzymatického systému se dá dále rozdělit do dvou fází. První z nich je reprezentována oxidační reakcí, kdy vznikají chemicky reaktivní meziprodukty, které se dále ve druhé fázi kovalentně vážou na např. glutathion, acetát, sulfát apod.

Za nestandardních podmínek dochází k tomu, že metabolity z první fáze nepostupují do fáze druhé a mohou se navázat na endogenní proteiny a vytvořit tak antigen (112).

Velmi dobře je tento proces popsán při metabolizaci allopurinolu, při němž vzniká oxypurinol, který se zvláště při renální insuficienci kumuluje v organismu a může způsobit tzv. allopurinolový hypersenzitivní syndrom. Ten je následně podkladem pro rozvoj TEN (113, 114).

Pochopitelně i v rodině genů pro CYP450 existuje značný polymorfizmus, jenž může odpovídat za rozdílnou kinetiku v metabolisaci daných léků. Dobře je tento polymorfizmus popsán u tzv. N-acetyltransferázy. Pacienti, kteří patří do skupiny tzv. „rychlých acetylátorů", jsou schopni metabolisovat léky rychleji než pacienti, kteří jsou „pomalí acetylátoři". Zajímavé je, že pacienti se SJS nebo TEN mají daleko nižší N-acetylační kapacitu než zdravá kontrola. Proto se dá předpokládat, že nízká N-acetylační kapacita může zvyšovat riziko rozvoje těchto syndromů (115).

Pro samotnou aktivaci T-lymfocytů byl vypracován tzv. „p-i concept". Jedná se vlastně o farmakologickou interakci s imunologickým receptorem (116). Na obrázku č. 5 jsou popsány dvě formy „p-i conceptu". První je definována pro inertní molekulu, druhá následně pro reaktivní metabolit. **„P-i concept" může také vysvětlovat, proč některé léky (např. karbamazepin) nejsou nikdy spojeny s B-lymfocytární reakcí (urtikária nebo leukocytoklastická vaskulitida)** (68).



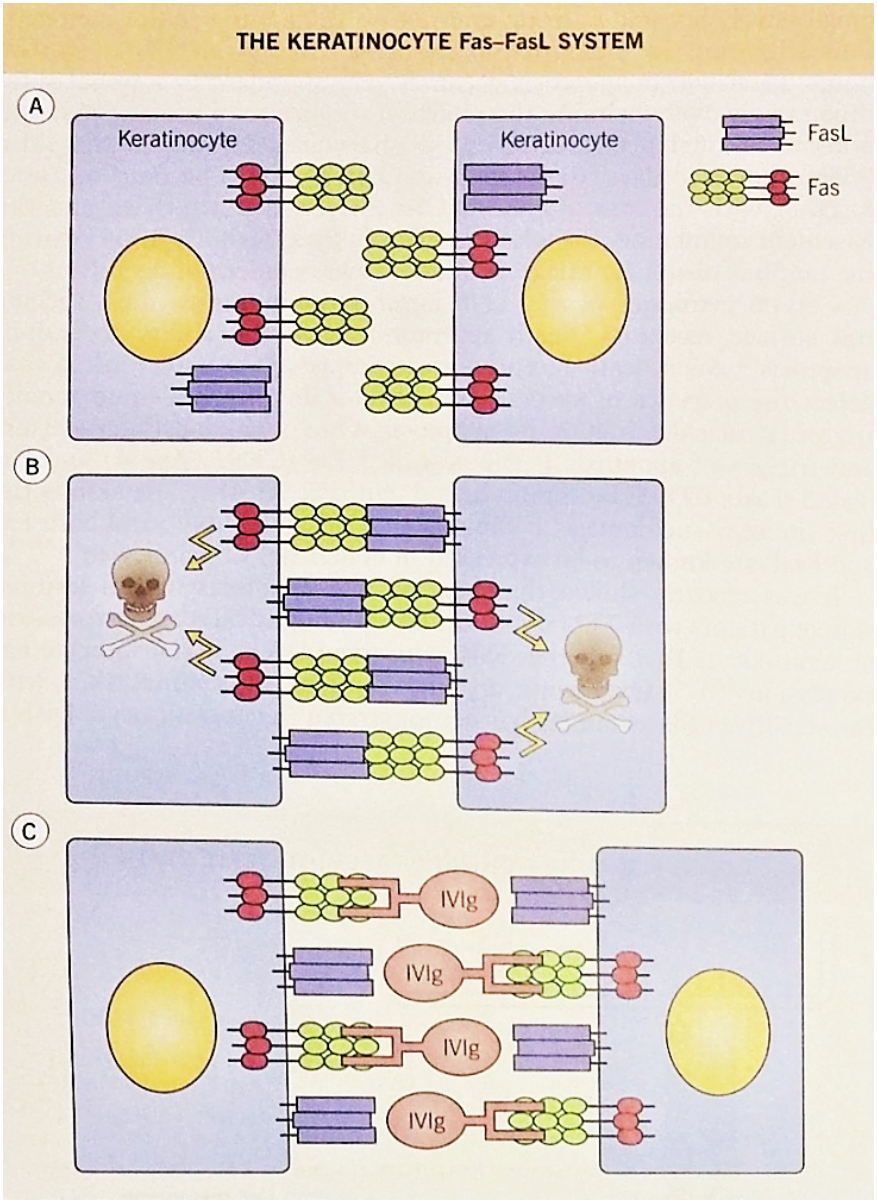
Obr. č. 5 „P-i concept" A) 1 – Lék, v našem případě sulfamethoxazol (SMX) se váže nekovalentní vazbou na receptor T-lymfocytů (TCR). Samotná vazba pravděpodobně není dostatečná, aby umožnila klonální proliferaci T-lymfocytů. 2 – Klonální proliferace může nastat až po posílení této stimulace dodatečnou interakcí s MHC molekulami. B) 1 – SMX ve formě reaktivního metabolitu (nitrózový metabolit SMX-NO) kovalentně váže na peptid. 2 – Takto modifikovaný peptid je rozpoznán a navázána na receptor T-lymfocytů, jež následně interagují s MHC molekulami (3). Adaptováno dle Pichler et al. (116).

1.6.4 Role cytokinů v patofyziologii TEN

Vazba FasL na FasR jako efektor apoptózy u pacientů s TEN

Fas receptor (FasR, CD95R, APO-1, TNFRSF6) je transmembránový protein typu I z rodiny TNF receptorů. Je exprimován na povrchu různých buněčných populací (mj. T-lymfocyty, keratinocyty) (117). Samotný receptor se skládá ze tří částí: extracelulární, transmembránové a intracelulární (cytosolické). Pro tento receptor existuje specifický ligand, FasL (CD95L, CD178) (118, 119). Jde o transmembránový protein typu II z rodiny TNF cytokinů, jedná se o biologický aktivní homotrimer. Na rozdíl od FasR je exprese FasL daleko přísněji kontrolovaná. FasL se vyskytuje na povrchu zralých Th lymfocytů, na povrchu Tc lymfocytů se vyskytuje pouze v případě jejich aktivace. Vazba FasL na FasR se u pacientů s TEN uplatňuje jako jeden z nejůležitějších patofyziologických pochodů ve vnější dráze aktivace kaspázového apoptotického mechanizmu. Po aktivaci FasR se začne v intracelulárním prostoru postupně skládat komplex, který nese označení DISC (death-inducing signaling complex) a iniciuje proteolytickou kaspázovou aktivitu (120). Samotný DISC je multiproteinový komplex obsahující Death Receptor (FasR), Fas-Associated protein with Death Domain (FADD, také označovaný jako MORT1) a prokaspázu, resp. kaspázu-8 (121). Kaspáza-8 patří do skupiny iniciačních kaspáz, jejím úkolem je aktivovat řadu efektorových kaspáz (3,6 aj.) (62).

Jak již bylo zmíněno dříve, FasL se nachází na povrchu Th lymfocytů a také na aktivovaných Tc lymfocytech. Nicméně základní interakcí, která je patofyziologickým podkladem TEN, se zdá být vazba FasL exprimovaných na povrchu keratinocytů (po mnohočetné stimulaci) na specifické vazebné místo FasR, opět na keratinocytech. Tento patofyziologický postup, resp. FasR a FasL interakce mezi keratinocyty, by již mohla uspokojivě vysvětlit samotnou rozsáhlou kožní exfoliaci (obrázek č. 6).



Obr. č. 6 Schéma znázorňující vazbu mezi FasR a FasL keratinocytů a její blokace intravenózními imunoglobuliny (IVIg). A) Normální stav, kdy na povrchu keratinocytu jsou exprimovány FasR. B) Stav, kdy exprese FasL vede k apoptóze buňky. C) Možnosti ovlivnění vazby FasR a FasL keratinocytů IVIg. Adaptováno dle Bolognia et al. (122).

Vazba TNFα na TNFR –1 jako efektor apoptózy u pacientů s TEN

Dalo by se říci, že role TNFα je v případě rozvoje TEN daleko kontroverznější, než je tomu v případě FasL. TNFα hraje v rozvoji TEN velmi důležitou úlohu, přesto by se ovšem jeho role neměla přeceňovat. Přítomnost TNFα byla popsána u pacientů s TEN v epidermis, kde byla jeho koncentrace daleko vyšší než plazmatická koncentrace (123). Dále v tekutině získané z buly byla zjištěna přítomnost také solubilní formy tzv. sTNFα (124). Dnes jsou známy 2 typy receptorů pro TNFα. Tedy TNFR-1 a TNFR-2 (125). V případě apoptózy se uplatňuje pouze receptor TNFR-1. TNFR-2 má opačnou úlohu, zajišťuje dostatečnou

intracelulární produkci řady antiapoptotických mediátorů cestou nukleárního faktoru kappa B (NF-κB) (126, 127). Přesto ani vazba TNFα na TNFR-1 nevede pouze ke spuštění kaspázami mediované apoptózy.

Zajímavé je srovnání jednotlivých proinflamatorních cytokinů u pacientů s TEN a pacinetů s termickým traumatem. Teorii, že u pacientů s TEN dominuje apoptóza, potvrzuje skutečnost, že v případě rozvoje TEN je dominantním cytokinem TNFα, zatímco v případě termického traumatu a následného rozvoje nekrózy v oblasti epidermis a dermis je přítomna vysoká koncentrace IL-1 (interleukin-1), zatímco tento cytokin se u pacientů s TEN vyskytuje pouze ve velmi nízké koncentraci (128).

Role TNFα a jeho podíl na rozvoji TEN je dán dvojím mechanizmem. První je jeho vazba na specifický receptor (TNFR-1) a druhým mechanizmem je to, že zvyšuje expresi FasL na T lymfocytech i keratinocytech (tento efekt má také INFγ) (128).

Samotná vazba TNFα na TNFR-1 způsobí trimerizaci receptoru, který následně akivuje TNFR1-associated death domain protein (TRADD). Tento protein slouží dále jako jakási platforma pro aktivaci nejméně tří dalších mediátorů, a to RIP1 (receptor interacting protein 1), Fas-associated death domain protein (FADD) a TNF-receptor associated factor 2 (TRAF-2) (129). Jistá kontroverze v případě rozvoje TEN připadá v úvahu zejména proto, že každý z těchto mediátorů má odlišnou funkci. Při aktivaci RIP1 a FADD přes již aktivovaný TRADD dojde k následnému rozvoji apoptózy cestou iniciačních a efektrových kaspáz, které jsou identické s intracelulárními pochody po aktivaci FasR (stejná receptorová rodina). Pokud dojde k aktivaci RIP1 a TRAF2 přes již aktivovaný TRADD, pak tato cesta vede k transkripci NF-κB, respektive dojde k primární aktivaci komplexu IKK podjednotek (inhibitor of nuclear factor kappa B kinase). Pro aktivaci IKK podjednotek je zapotřebí součinnosti obou mediátorů, tedy jak RIP1, tak i TRAF-2. Dráha NF-κB způsobuje výslednou mnohočetnou antiapoptotickou aktivitu. Dominantní v tomto smyslu je zejména antiapoptotický protein bcl-2 a další nitrobuněčné inhibitory apoptózy, resp. inihibitory aktivity specifických kaspáz, např. c-IAP1 (The cellular inhibitor of apoptosis 1), XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein) (130, 131).

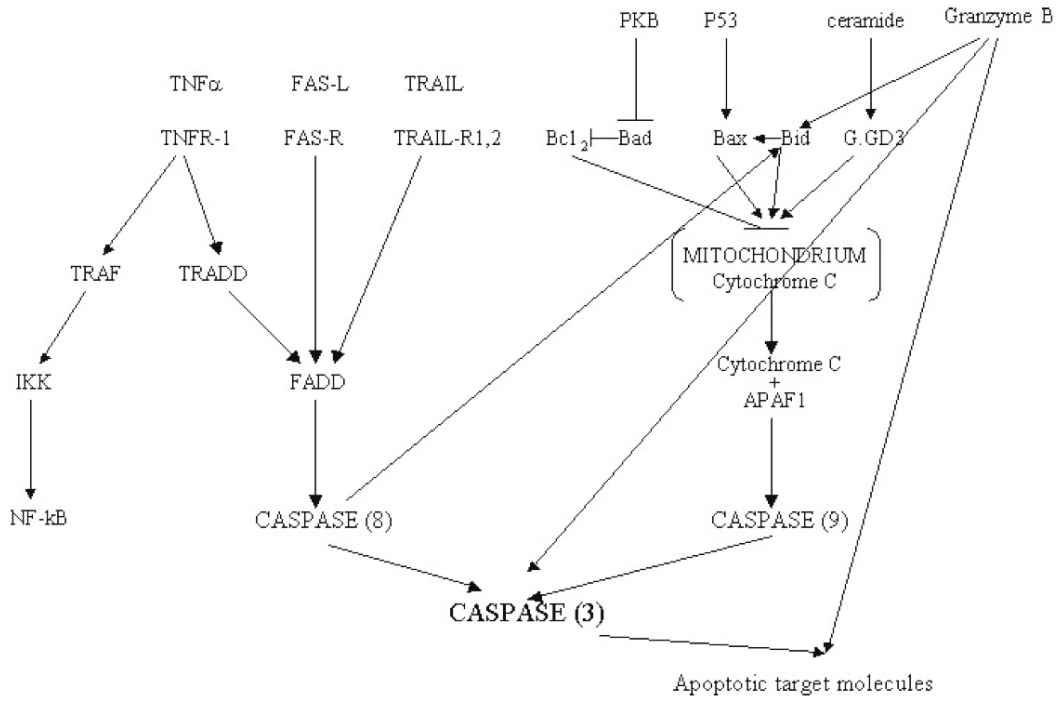
Výše zmíněná skutečnost vede k domněnce, že TNFα má v případě rozvoje TEN pravděpodobně důležitou úlohu, přesto se jeho nezastupitelná role projevuje také v případě významné protekce buňky před apoptotickými působky. Bohužel ani dnes stále nevíme, která patofyziologická dráha je v případě vazby TNFα u pacientů s TEN aktivnější, jestli je to proapoptotická RIP1 a FADD, nebo naopak antiapoptotická RIP1 a TRAF-2.

Vazba TRAIL na TRAIL-R1, R2 jako efektor apoptózy u pacientů s TEN

TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) představuje další cytokin, který se svou vazbou na specifický receptor dokáže spustit apoptózu (132). Jak již název napovídá, rovněž i tento protein patří do tzv. TNF superrodiny. Podobě jako v předchozích případech je apoptotická cesta identická, tedy zejména aktivace iniciační kaspázy-8 a následně efektorové kaspázy-3. Následně dojde k aktivaci specifických kináz, jejichž důsledkem je apoptóza.

V případě rozvoje TEN není jeho dráha a úloha v indukci apoptózy tak detailně prozkoumána jako v případě TNFα a FasL. Vlastně se dnes ani neví, jestli se v patofyziologii TEN tato dráha vůbec uplatňuje. Jeho role je zkoumána zejména v případě indukce apoptózy u nádorově změněných buněk (133). Dnes není spolehlivě odhalen jeho účinek na buňky nádorově netransformované.

Na obrázku č. 7 jsou schematicky znázorněny různé patofyziologické dráhy, které vedou k aktivaci efektorové kaspázy-3, což má za následek apoptózu buňky (keratinocytu).



Obr. č. 7 adaptováno dle Chave (shrnutí jednotlivých možných mechanizmů rozvoje TEN – cytokinové i lymfocytární) - (TNFα - tumor necrosis factor α, TNFR-1 - Tumor necrosis factor receptor 1, TRAF - TNF receptor associated factor, IKK - IκB kinase, NF-κB - nuclear factor NF-kappa B, TRADD - Tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain, FAS-L – (CD95L), FAS-R – (CD95R), FADD - Fas-Associated protein with Death Domain, TRAIL - TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL-R1,2 - TNF-related apoptosis-inducing ligand Receptor 1,2, PKB - Protein kinase B, Bad - Bcl-2-associated death promoter, Bcl_2 - B-cell lymphoma 2, Bax - Bcl-2-associated X protein, Bid - BH3 interacting-domain, APAF1 - Apoptotic protease activating factor 1). Adaptováno dle Chave et al. (104).

1.6.5 Role oxidativního a nitrosativního stresu v patofyziologii TEN

Roli oxidativního a nitrosativního stresu v rozvoji TEN se věnuje relativně méně pozornosti, než je tomu v případě Tc lymfocytů, TNFα nebo exprese FasL keratinocytů. I když počet publikací zmiňujících tuto problematiku pozvolna narůstá, význam oxidativního a nitrosativního stresu v patofyziologii TEN není stále uspokojivě objasněn. Řada autorů včetně mě má zato, že právě volné kyslíkové a dusíkové radikály mohou být jistým pojítkem mezi jednotlivými patofyziologickými drahami TEN (134).

Oxid dusný (NO) je důležitým spouštěčem apoptózy obecně. Jeho nízká koncentrace je jednoznačně prospěšná pro buněčný systém a ochraňuje ho před programovanou smrtí. Naopak vysoká koncentrace vede k poškození buněčných komponent a indukci apoptózy (135, 136). Toxický efekt NO je způsoben volnými dusíkovými radikály, zejména peroxynitritem. U pacientů s TEN dochází ke zvýšení produkce NO v samotných keratinocytech (inducibilní NOS – iNOS) díky působení dvou cytokinů TNFα a INFγ, jež jsou produkovány T-lymfocyty (Tc i Th). NO dále vede k upregulaci FasL na keratinocytech, a tedy k rozvoji apoptózy samotných keratinocytů cestou kaspázy-8 (104).

Podobně jako v případě volných dusíkových radikálů mohou také volné kyslíkové radikály způsobit apoptózu keratinocytů tím, že poškozují řadu intracelulárních komponent. V keratinocytech pacientů s TEN byla nalezena také zvýšená exprese glutation-S-transferázy pi (GST-pi), která je jednoznačně indukovaná samotným oxidativním stresem (137).

Publikací, které by zkoumaly rozsah oxidativního a nitrosativního stresu u pacientů s TEN, je velmi málo. Prakticky jediná relevantní studie zabývající se touto problematikou je z roku 2015. Peter et al. se v této studii zaměřili na evaluaci plazmatických koncentrací jednotlivých markerů oxidatního a nitrosativního stresu u pacientů s SJS a TEN (138).

Celkem bylo do studie zařazeno 25 pacientů (10 pacientů se SJS nebo TEN) a 15 pacientů bylo v kontrolní skupině (8 pacientů s makulopapulárním rashem, 7 pacientů s drobným dermatologicko-chirurgickým výkonem). U těchto pacientů se měřily plazmatické koncentrace (proteinové karbonyly, malondialdehyd, konjugované dieny, nitrity a nitráty).

Zajímavostí bylo, že ani u jednoho z parametrů oxidativního a nitrosativního stresu nebyla zaznamenána elevace v porovnání s kontrolní skupinou pacientů. Jistou nevýhodou byl design studie, resp. její bias. Jako komparátor sloužili opět pacienti, nešlo tedy o zdravé dobrovolníky. Závěrem autoři zmiňují, že je potřeba hledat další parametry oxidativního a nitrosativního stresu u pacientů s TEN, které by u této kondice mohly být elevovány.

1.7 Klinická manifestace

1.7.1 Prodromální fáze a fáze vlastní klinické manifestace

Pro klinické projevy TEN je důležité rozdělit samotný průběh na fázi nespecifickou (prodromální) a fázi specifickou, tedy fázi vlastních klinických projevů (tato fáze se podle řady autorů dále dělí na fázi iniciační a fázi amplifikační) (139, 140, 141).

Do fáze prodromální patří charakteristický soubor příznaků, který ovšem nemusí být u všech pacientů plně klinicky vyjádřen. Jedná se o příznaky, které se velmi podobají příznakům běžného nachlazení („flu-like“ příznaky) (142). Nejvýznamnější prodromální symptomy u pacientů s TEN jsou znázorněny v tabulce č. 3.

Malátnost
Zarudnutí kůže a pruritus
Elevace tělesné teploty (subfebrilie až hyperpyrexie) mnohdy obtížně farmakologicky ovlivnitelná
Kašel
Bolestivost svalů a kloubů
Nauzea, zvracení
Bolesti hlavy
Konjunktivitida

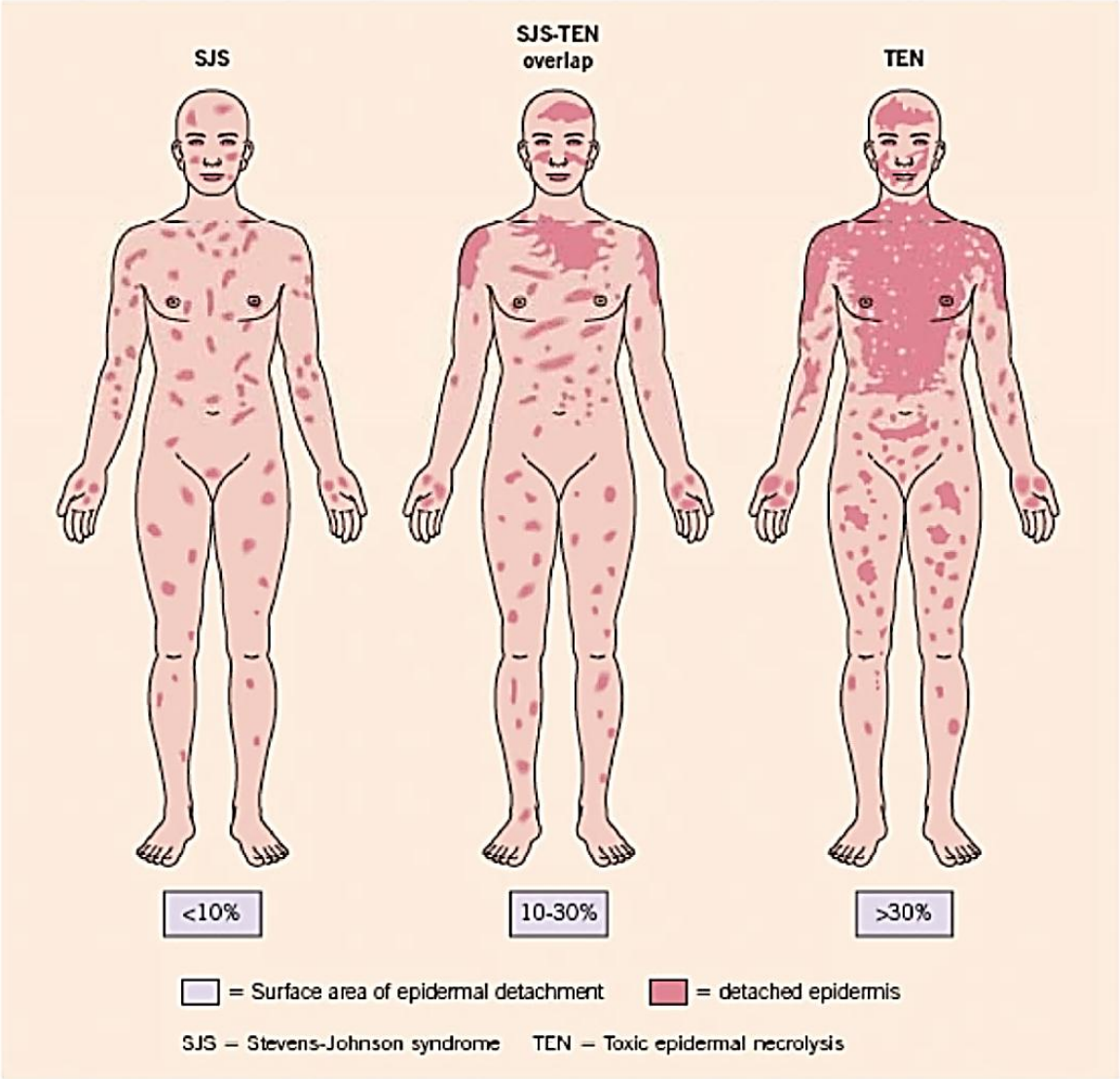
Tab. č. 3 Nejvýznamnější prodromální symptomy u pacientů s TEN (104, 143).

Většina prodromálních symptomů trvá od jednoho do sedmi dní, ale tyto příznaky se mohou objevovat i v řádu několika týdnů, než se klinicky vyjádří samotná TEN. V této fázi většinou navštíví řada pacientů praktického lékaře, který reaguje na stav zahájením symptomatické terapie. V případě kožních projevů a pruritu jsou velmi často aplikována antihistaminika.

Po této fázi již následuje rozvoj typických kožních projevů. Podle některých autorů mohou vlastním kožním klinickým projevům předcházet projevy slizniční, které jsou obecně u pacientů s TEN velmi časté (až 90 % pacientů) (144). Typickou primární lokalizací slizničních projevů je orofarynx, dále oblasti spojivky a velmi často se manifestují slizniční erose také v oblasti genitálu (56, 145). Důležitým a cenným klinickým příznakem v této fázi může být dysfagie ev. odynofagie (146).

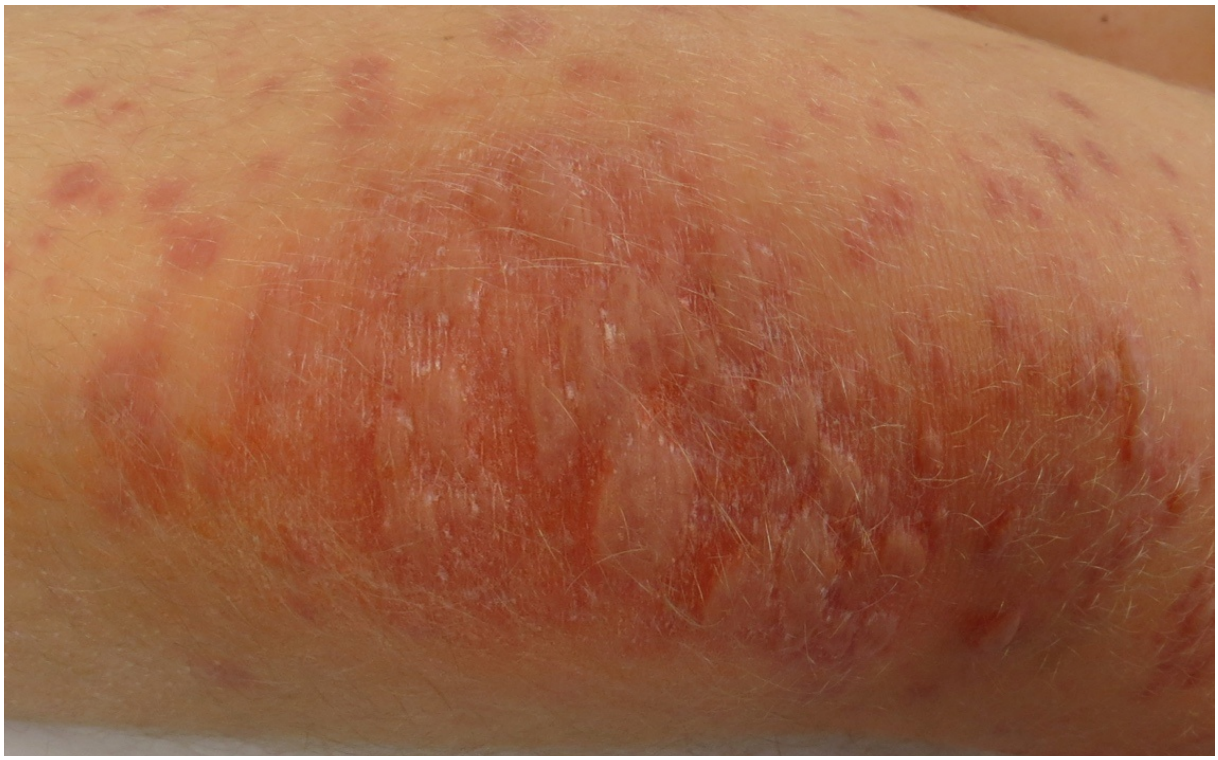
Zpravidla s latencí jednoho až tří dní od rozvoje klinických projevů v oblasti sliznice následuje typický rozvoj v oblasti kůže. Zprvu nejsou klinické projevy v oblasti kůže patognomické pro TEN – objevuje se erytematózní makulární rash dominantně v oblasti trupu, krku a hlavy, končetiny bývají většinou postiženy až v případě další propagace

onemocnění (147). Obrázek č. 8 nabízí schematické znázornění obvyklé distribuce kožních projevů u pacientů se SJS, overlap TEN a TEN.



Obr. č. 8 Schématické znázornění nejčastější lokalizace kožních morf u SJS, overlap TEN, TEN. Adaptováno dle Bolognia et al. (122).

Postupně dochází k formování drobných bul, které se následně velmi rychle kumulují v buly větší, jež se zejména mechanickým tlakem velmi snadno perforují. Na obrázcích č. 9, 10, 11, 12, 13 jsou znázorněny jednotlivé fáze od počátečních klinických projevů až do plně vyjádřené amplifikační fáze pacientů s TEN.



Obr. č. 9 Klinické projevy typické pro iniciační fázi (foto archív autora).

Obr. č. 10 Klinické projevy s již plně rozvinutými kožními příznaky a nově se tvořícími bulami v amplifikační fázi (foto archív autora).

Obr. č. 11 Typický klinický rozvoj TEN v oblasti zad (foto archív autora).

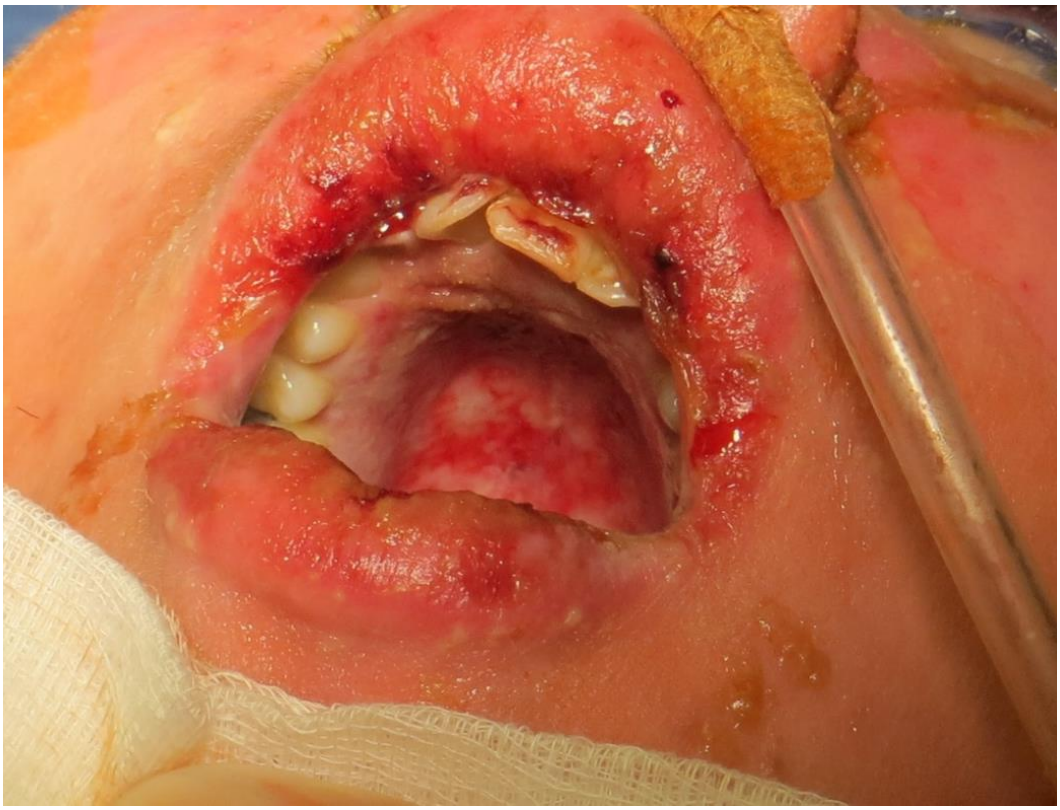
Obr. č. 12 Fulminantní obraz TEN v oblasti trupu (foto archív autora).

Obr. č. 13 Klinická symptomatologie TEN v oblasti zad, masivně se odlučující epidermis (foto archív autora).

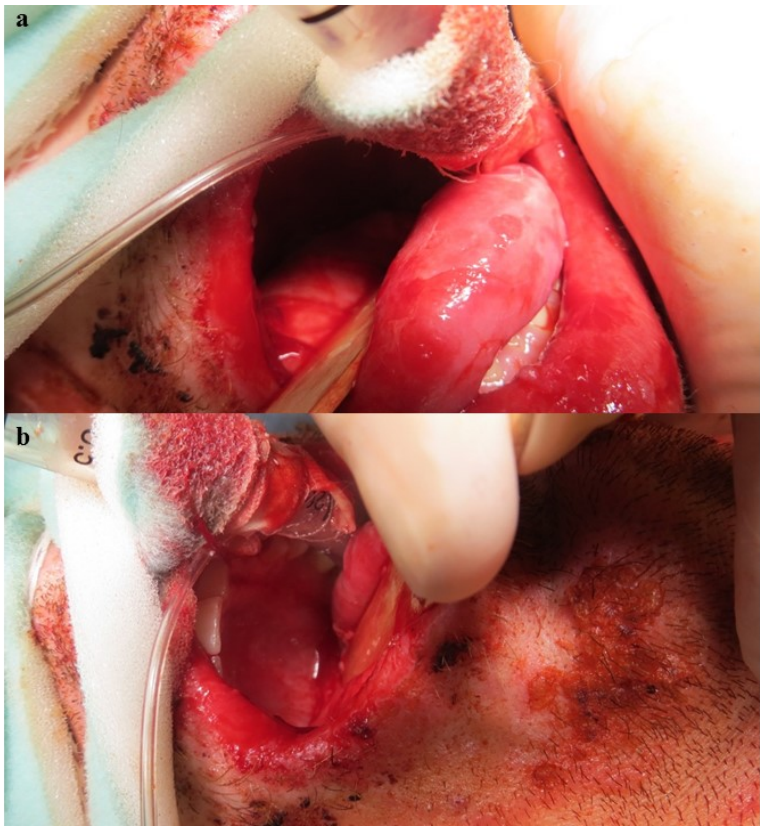
Samotná progrese z makulárního nebo papulárního rashe k rozsáhlým bulám je závislá na formě TEN. Můžeme se setkat s fulminantním průběhem TEN, kdy k této progresi dochází v rámci několika hodin, ale také s formou TEN, u které se formují buly jen velmi pozvolna v rámci dní (148, 149, 150). Z vlastní zkušenosti si dovoluji poznamenat, že průběh TEN se dá předpovědět pouze zčásti, nicméně bývá mnohdy závislý na věku pacienta. Fulminantní průběh TEN se dá předpokládat u mladého pacienta ve věku kolem 20–30 let. Naopak pacienti nad 60–70 let věku mají spíše pozvolnější formu TEN.

Pro samotnou diagnostiku TEN je nezbytné, aby rozsah kožní exfoliace byl minimálně 30 % TBSA (21, 79, 104, 151)**.**

I ve fázi vlastních klinických projevů dochází také k další postupné progresi poškození v oblasti sliznic. Na obrázku č. 14, 15, 16 je znázorněno jednotlivé postižení sliznic v amplifikační fázi.



Obr. č. 14 Rozsah klinické manifestace TEN na sliznici tvrdého patra u pacientky v amplifikační fázi (foto archív autora).



Obr. č. 15 Rozsah klinické manifestace v a) oblasti jazyka b) oblasti tvrdého patra (foto archív autora).

Obr. č. 16 Postižení sliznic v oblasti pochvy a okolí análního otvoru (foto archiv autora).

1.7.2 Oční komplikace u pacientů s TEN

Oční komplikace představují skupinu klinických projevů u pacientů s TEN, které se dají dále rozdělit podle několika kritérií:

1) *Kritérium času*
    a. Akutní komplikace.
    b. Chronické komplikace.
2) *Kritérium lokalizace*
    a. Spojivka – keratinizace, subepiteliální fibróza, konjuktiválním kontrakce, symblefaron, ankyloblepharon.
    b. Oční víčka – trichiasis, dystichiasis, dysfunkce meibomské žlázy, blepharitis.
    c. Rohovka – epiteliální defekty, stromální ulcerace, neovaskularizace, limbitis, perforace.

Dle dostupných dat jsou oční komplikace přítomny u zhruba 60–71 % pacientů se SJS, u TEN je frekvence výskytu vyšší (72–90 %) (152, 153, 154, 155). Dlouhodobé oční komplikace po SJS nebo TEN jsou popisovány u 27–59 % pacientů (156). Většina z publikovaných prací popisuje oční komplikace u kohorty dospělých pacientů. V případě dětských pacientů je publikovaných dat daleko méně. Výskyt očních komplikací u dětí s TEN dosahuje 71–100 % případů. Na rozdíl od dospělé populace je frekvence dlouhodobých následků nižší, pohybuje se kolem 21–29 % (157, 158).

Nicméně nejčastějším klinickým příznakem u pacientů s TEN, ať již jde o dětského nebo dospělého pacienta, je konjunktivitida. Její výskyt ve většině studií osciluje kolem 80 % případů. Shrnutí nejčastějších klinických projevů v oblasti oka u pacientů s TEN je znázorněno v tabulce č. 4.

Zvýšená slzivost
Bolestivost
Suché oko
Blefarospasmus
Pocit cizího tělesa
Snížená viditelnost
Fotofobie
Diplopie

Tab. č. 4 Nejčastější klinické příznaky a subjektivní potíže v oblasti oka u pacientů s TEN (159, 160, 161).

Typický obraz projevů TEN v oblasti oka, doplněný o výjimečnou infekční komplikaci – endoftalmitis (endogenní diseminace multirezistentní *Pseudomonas aeruginosa*) je znázorněn na obrázku č. 17.

Obr. č. 17 Oční manifestace u pacienta s TEN (přítomná konjunktivitida, symblefaron, neovaskularizace rohovky) spolu s pseudomonádovou endoftalmitidou (foto archiv autora).

1.7.3 Bronchoskopické obrazy u pacientů s TEN

Dodnes ve světové odborné literatuře neexistují relevantní informace týkající se problematiky postižení dolních dýchacích cest u pacientů s TEN. Bronchoskopické vyšetření představuje nejdůležitější nástroj v diagnostice postižení dolních dýchacích cest u těchto pacientů a dále v diagnostice rozvoje infekčních komplikací (BAL – bronchoalveolární lavaž). Bronchoskopii u pacientů s TEN by měl provádět nejen zkušený bronchoskopista, ale také lékař detailně obeznámený s problematikou SCARs. Jako důležité považuji poznamenat, že podobně jako v oblasti kožního krytu je i slizniční obraz u pacientů s TEN nestacionární, ve většině případů v průběhu prvních 5–7 dní progreduje. Proto iniciální bronchoskopický obraz nemusí korespondovat s bronchoskopickým obrazem po několika dnech. Je tedy nutné

provádět bronchoskopické vyšetření opakovaně nejen dle předem stanoveného algoritmu, ale zejména s akcentací na aktuální potřeby pacienta. Na druhou stranu časté bronchoskopie přináší zvýšené riziko přenosu infekce právě do oblasti dolních dýchacích cest.

Mezi nejčastěji se vyskytující klinické příznaky v oblasti dolních dýchacích cest u pacientů s TEN patří hypersekrece, edém sliznice, defekty sliznice, krvácení (endobronchiální, podslizniční). Stupeň vyjádření purulentní sekrece je u těchto pacientů ovlivněn mírou farmakologicky indukované imunosuprese. V roce 2017 se mi jako prvnímu vůbec podařilo publikovat nově vytvořený systém kvantifikace (gradingu) postižení dolních dýchacích cest u pacientů s TEN. Spolu s nejdůležitějšími bronchoskopickými obrazy, které reprezentují jednotlivé stupně postižení, je tato publikace znázorněna v příloze č. 2.

1.7.4 Nejdůležitější klinická znamení u pacientů s TEN

Pro samotnou diagnostiku TEN a diferenciální diagnostiku mezi jednotlivými SCARs jsou také důležitá specifická klinická znamení. Přehled těch nejvýznamnějších a jejich pozitivita u jednotlivých SCARs je znázorněn v příloze č. 3. V dokumentu, který je součástí této přílohy, je popsáno také potenciálně nové klinické znamení u těchto pacientů.

Zde bych velmi rád poznamenal, že v souvislosti s TEN je nejčastějším pozitivním klinickým příznakem popsaným v řadě publikací Nikolského znamení. Přesto toto znamení není u pacientů s TEN pozitivní. Jeho pozitivita je pouze u stavů s intraepidermálním rozvolněním např. PV. U pacientů s TEN je toto znamení velmi často zaměňováno s pseudo-Nikolského znamením, které je běžně označováno jako znamení Nikolského. Mezi další velmi důležitá znamení právě u pacientů s TEN patří Asboe-Hansenovo znamení (162).

1.8 Histopatologický obraz u pacientů s TEN

Histopatologické vyšetření je dnes zlatým standardem v potvrzení diagnózy TEN (144, 163, 164). Toto vyšetření navíc umožňuje odlišit mezi sebou jednotlivé SCARs a další závažné bulózní onemocnění. Pro odběr histologického vyšetření platí několik zásad. Důležitá je optimální volba léze. Pokud je to možné, neměla by kožní biopsie být prováděna z již exfoliované plochy. Pro histopatologické vyšetření je daleko vhodnější kožní excize, která obsahuje i samotnou bulu, a tedy také odlučující vrstvu epidermis. Samotná metodika odběru je závislá zejména na pracovišti a jeho zvyklostech. Pro diagnostiku postačuje i provedení tzv. „punch biopsy“, tedy odběr tkáně speciální jehlou s variabilní tloušťkou (alespoň 4 mm) (165). Na našem pracovišti se provádí člunková kožní biopsie. Před odběrem je nutná informace histopatologického pracoviště. Materiál se následně nijak nefixuje, ale posílá se k vyšetření na zmrzlo. V případě odběru více vzorků je vhodné alespoň jeden preparát následně fixovat ve formolu a dále vyšetřit až po nabarvení hematoxylin-eosinem. Toto vyšetření ovšem poskytne výsledky s delším časovým odstupem, proto je vhodné pouze jako doplňkové k vyšetření na zmrzlo.

Dnes neexistuje jednoznačné doporučení, které by definovalo množství jednotlivých biopsií. Jako optimální počet se jeví odběr dvou bioptických vzorků, první je zpracován bez fixace na zmrzlo, jako druhý se odebírá preparát, který je fixován formalínem a následně je zpracován. U obou případů platí, že je nutno odebrat bioptický vzorek, který obsahuje také epidermis. Na obrázku č. 18 je znázorněn odběr tkáně k histopatologickému vyšetření u pacienta s vysoce suspektní TEN.

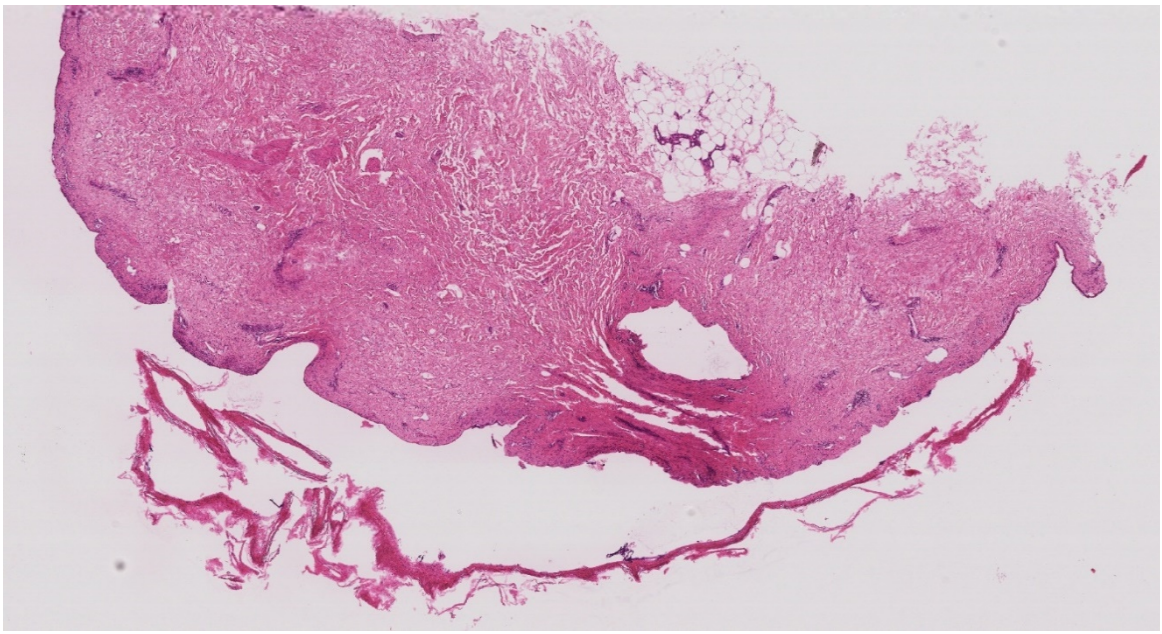
Obr. č. 18 Odběr kožní biopsie člunkovým řezem v rámci diagnostiky TEN (foto archív autora).

Histologicky se u pacientů s TEN nachází v časném stádiu postupné rozšiřování počtu nekrotických keratinocytů, při další progresi kompletní epidermální nekróza a postupné rozvolňování v oblasti dermo-epidermální junkce. V oblasti papilární dermis je přítomen jen velmi chabý zánětlivý infiltrát (163). V oblasti dermis dominují Th lymfocyty a monocyty. Tc lymfocyty jsou dominantně zastoupeny v nekrotické epidermis. O tom, že v případě TEN je v oblasti dermis přítomen jen minimální zánětlivý infiltrát, věděl i samotný Alan Lyell, který popsal tento stav jako tzv. „dermal silence“ (166).

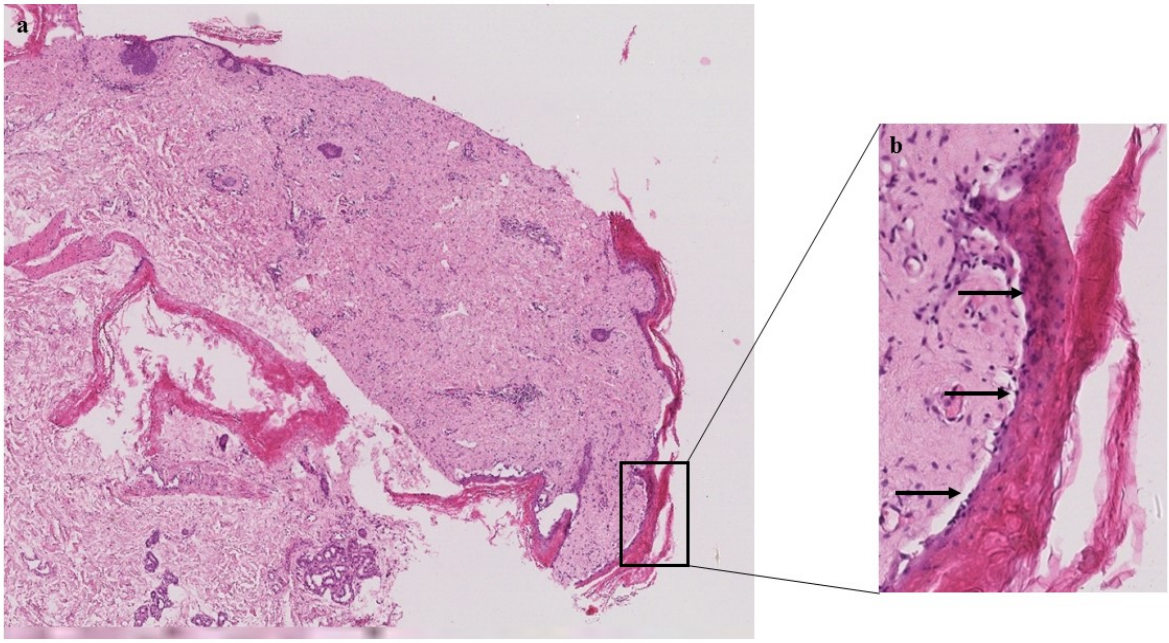
Quinn et al. popisují ve své prácí relativně širokou denzitu infiltrace dermis mononuklárními leukocyty. Poukazují také na skutečnost, že tato denzita úzce koreluje se závažností TEN. S nárůstem denzity mononukleárního dermálního infiltrátu narůstá také riziko úmrtí (167).

Epidermální nekróza je pro diagnózu TEN vysoce senzitivní, ale jen málo specifická. Na rozdíl od SJS byly v rámci histopatologického obrazu u pacientů s TEN popsány také abnormality v oblasti potních žláz, lymfocytární infiltrát, hyperplasie bazálních buněk a nekróza. Na obrázcích č. 19, 20 jsou znázorněny histopatologické změny u pacientů s TEN.

Vzhledem k akutním projevům TEN nejsou přítomny histopatologické známky parakeratotické hyperkeratózy (168).



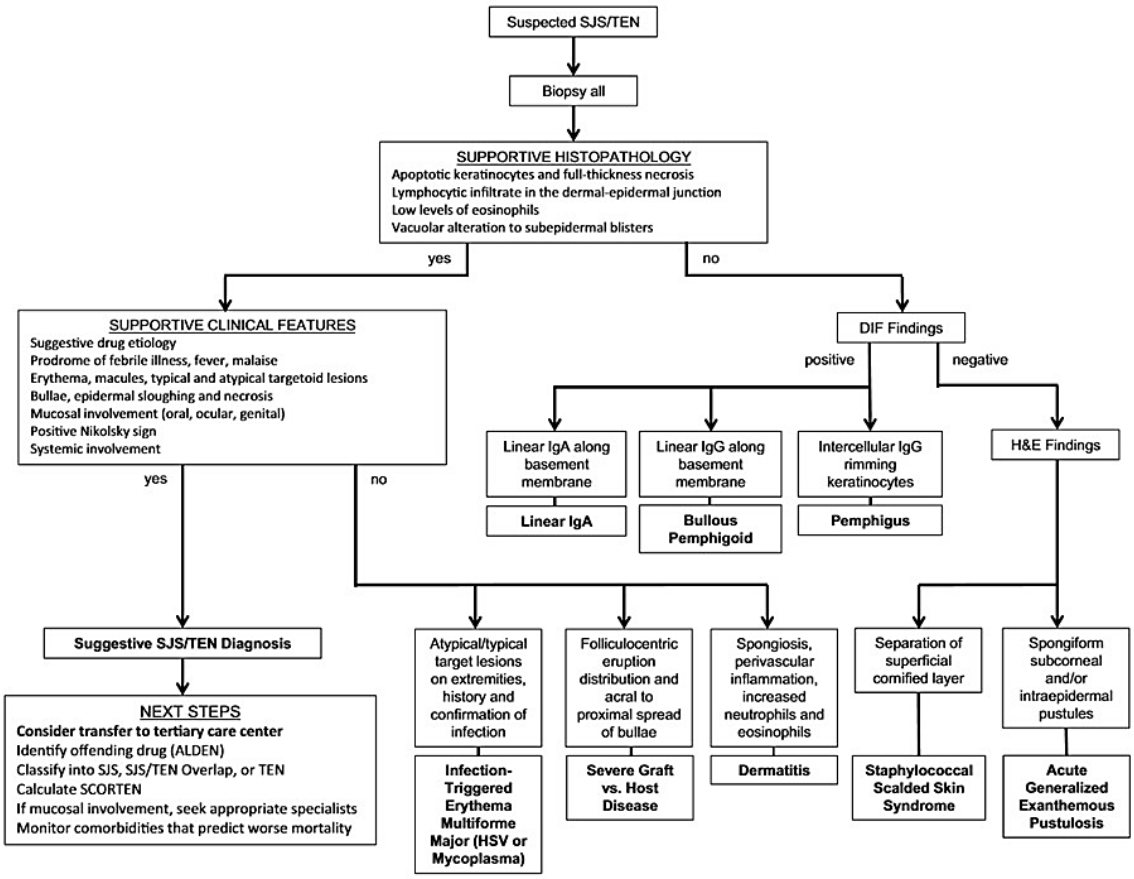
Obr. č. 19 histologický obraz TEN – odlučování epidermis a subepidermálně se formující bula a naznačenou spontánní perforací (barvení Hematoxylin Eosin, zvětšeno 40x) (foto MUDr. Kyclová Ústav patologie FN Brno).



Obr. č. 20 a) Histologický obraz TEN s již kompletní ztrátou epidermis v horní části (barvení Hematoxylin Eosin, zvětšeno 40x) b) výřez obrázku s nekrotickou epidermis a formující se subepidermální bulou – naznačena šipkami (foto MUDr. Kyclová Ústav patologie FN Brno).

1.9 Diferenciální diagnostika TEN

Jak již bylo uvedeno výše, ve skupině závažných bulózních onemocnění či SCARs existuje několik stavů, které mohou svou klinickou manifestací napodobovat TEN. Proto se do popředí opět dostává provedení histolopatologického vyšetření a jeho důležitost nejen v samotné konfirmaci diagnózy TEN, ale také i v rámci diferenciální diagnostiky klinicky podobných stavů. Jeden z velmi zajímavých algoritmů v diferenciální diagnostice je znázorněn na obrázku č. 21.



Obr. č. 21 Diferenciální diagnostika klinicky podobných syndromů prostřednictvím histopatologického vyšetření. Adaptováno dle Lim et al. (169).

V následující části se pokusím zmínit nejdůležitější syndromy, které mohou imitovat TEN. Rozhodně nepůjde o komplexní výčet všech klinicky podobných stavů. Do skupiny diferenciální diagnostiky jsem nezařadil SJS a overlap TEN. V literatuře stále převažuje názor, že se jedná o podobný, možná i identický patofyziologický proces, který je jen různou měrou intenzivní a různou měrou klinicky a laboratorně vyjádřený. Zkušený histopatolog ovšem může nalézt odlišnosti mezi těmito syndromy i při vyšetření bioptického materiálu. Jak již bylo řečeno v kapitole 1.8, nález buněk zánětu v oblasti dermis je u pacientů s TEN velmi chabý. V literatuře se udává v případě histologického vyšetření pacientů se SJS vyšší

zastoupení buněk bílé krevní řady (zejména T-lymfocytů a makrofágů). Ovšem jen velmi zkušený histopatolog může tyto mnohdy jen velmi drobné nuance rozeznat. Nicméně jak bylo poznamenáno výše, v případě těchto tří syndromů je základním odlišením zejména nejdůležitjěší klinický znak, a tím je rozsah samotného postižení. Zatímco SJS je svým rozsahem omezen na 0–10 % TBSA, v případě ovelap TEN jde o rozsah kožního postižení od 11–29 % TBSA, a pokud má pacient ≥30 % TBSA, jde již o TEN (viz obrázek č. 5). V případě ostatních syndromů a klinických stavů není již samo odlišení vždy tak jednoduché.

1.9.1 Klinicky významné stavy nejčastěji imitující TEN

Popáleniny

Popáleniny vznikají působením nadprahové energie, ať již termické, elektrické, chemické či radiační. Na rozdíl od TEN jsou tedy popáleniny způsobeny úrazovým mechanizmem (170). Hloubka jejich prezentace je dána zejména velikostí energie a poté rezistencí vystavené tkáně. Následkem je různě hluboké kožní postižení, které může, ale také nemusí mít potenciál ke spontánní reepitelizace defektů. Z lokálního pohledu jsou popálené plochy odlišné od exfoliovaných ploch zejména svou nehomogenitou (postulace tzv. Jacksonského talíře – centrálně je defekt hlubší periferně, poté je povrchnější) (171).

V případě termického traumatu mohou být postiženy také sliznice dýchacích cest. Jedná se o stav označovaný jako inhalační trauma, jež je definováno jako akutní postižení dýchacích cest způsobené inhalací produktů hoření nebo páry (172). Zatímco v případě horních dýchacích cest dominuje při postižení termická noxa, případně také v kombinaci s noxou chemickou, v oblasti dolních dýchacích cest dochází k positžení sliznic pouze chemickou noxou.

Na rozdíl od TEN jsou popáleniny jako takové velmi častým úrazem. Udává se, že na termické trauma se v průměru léčí 1 % populace každý rok. Podobně jako TEN se pochopitelně i popáleniny vyskytují v každém věku.

Zajímavostí je, že v případě postižení epidermis u popálení je dominujícím procesem nekróza za dirigence IL-1, v případě TEN jde o apoptózu, při které dominuje jiný proinflamatorní cytokin, tedy TNFα (173).

Fytofotodermatitida

Fytofotodermatitida je neimunologická reakce kůže, která může vzniknout u všech kožních fototypů po kontaktu se skupinou látek, které nesou označení furanokumariny (174). Nejvýznamnějším a také nejsilnějším furanokumarinem je 5-methoxypsoralen (175). Pro rozvoj fytofotodermatitidy je ovšem esenciální expozice UV zářením. Existuje celá skupiny rostlin, které produkují furanokumariny, jakou jsou např. fíky, petržel, celer nebo bolševník velkolepý (176). Podobně jako popáleniny se manifestují celou škálou kožní klinické manifestace. V případě fytofotodermatitidy můžeme nalézt jen pouhý erytém, dále také bulózní postižení a kožní projevy mohou být až charakteru hlubokých nekróz, které se opět v rámci urychlení fázového postupu v hojení rány musí řešit chirurgicky.

Kožní defekty se v případě fytofotodermatitidy vyvinou v průběhu 12–36 hodin a další wound-management je závislý na primární hloubce postižení. Mohou se vyskytnout kdekoliv na těle, resp. na místě, které přišlo do kontaktu s furanokumariny a UV zářením. Nejčastěji tedy v tomto případě bývají postiženy akrální části horních a dolních končetin (177, 178).

Stafylokokový syndrom opařené kůže (SSSS – Staphylococcal scalded skin syndrome)

Jde o onemocnění, které se může manifestovat velmi podobně jako TEN (patří také do skupiny Burn-like syndromů), ale v případě SSSS nikdy nedochází k postižení sliznic (179). Rozdíl je také ve věkové distribuci, protože v případě SSSS jsou nejčastěji postiženy děti, zejména novorozenci (180). Důvodem je nedostatečná renální kompetence k eliminaci superantigenu produkovaného některými typy kmenů *Staphylococcus aureus*. Následně dochází k jeho kumulaci a působení na desmoglein-1 ve stratum granulosum (dojde k rozvolnění v intraepidermální úrovni) (181, 182). Velmi důležité je v případě diferenciální diagnostiky provedení mikrobiologického vyšetření, v případě nejasností také provedení histologického vyšetření. Základním přístupem v terapii je podání protistafylokokových antibiotik a lokální péče. Plochy velmi rychle reepitelizují. Doba potřebná ke kompletnímu uzávěru kožního defektu je zhruba 5–7 dní. Zakladní pojednání o patofyziologii, klinické prezentaci a epidemiologii v České republice je uvedeno v příloze č. 4.

Erythema multiforme (EM)

EM se může prezentovat širokým spektrem závažnosti, proto se také odlišuje její méně závažná forma označovaná jako minor a forma závažnější jako major. Toto rozdělení bylo provedeno již v roce 1950 Thomasem (13). V případě erytema multiforme minor jde o

typické, přesně lokalizované a ohraničené kožní erupce s žádným nebo jen minimálním poškozením sliznice. Kožní projevy jsou velmi patognomické, začínají zpravidla na končetinách a po zhruba sedmi dnech mají tendenci k spontánnímu hojení. Jedná se o onemocnění, které je většinou vyvoláváno virovou infekcí, zejména infekcí herpesvirovou (herpes simplex virus – HSV a Ebstein-Barr virus – EBV) (183). Vzhledem k tomu, že toto onemocnění může být asociováno s perzistentní antigenní stimulací, má tendenci k rekurencím, zejména sezonním (jaro a podzim) (184).

EM major byla dlouhou dobu považována za SJS. Až v roce 1993 byl SJS od EM major odlišen a přiřazen ke skupině TEN. Dnes se na EM major pohlíží jako na onemocnění, které se podobně jako EM minor prezentuje typickými kožními lézemi ne většími nežl 10 % TBSA spolu s postižením sliznic (i vícečetným). Podobně jako v případě EM minor i u její závažnější formy hraje důležitou roli imunologická reakce na různé infekční stimuly (infekční agens). Odlišnosti mezi EM major a TEN jsou zejména z pohledu věkové distribuce (u EM major jsou postiženi zejména pacienti mezi druhou a třetí dekádou) a dále preference pohlaví. U TEN převládají ženy, u EM major muži (185).

Prodromální fáze může probíhat podobně jako u TEN – zvýšená teplota a artralgie. Poté se na kůži objeví typické kruhovité papuly, které expandují a manifestují se vyvýšeným valem, zatímco centrum je pod niveau (erythema annulare). Ve střední části se obvykle formuje bula s čirým a mnohdy i hemoragickým obsahem. Vzhledem k tomu, že typická kožní léze u EM připomíná duhovku, jde o „herpes iris“ nebo „iris lesions“ (186).

Jako příčina rozvoje EM major byla popsána řada stavů: virové, bakteriální, fungální či parazitární nákazy, medikace léků (zejména antibiotika, antikonvulziva nebo allopurinol). EM major byla také popsána u některých onemocnění (hematologické malignity – mnohočetný myelom, non-Hodgkinův lymfom) (187).

Obecně se nedoporučuje žádné zvláštní vyšetření v rámci diferenciální diagnostiky. Typické kožní léze dokáží toto onemocnění velmi snadno odhalit. Přesto je kožní biopsie indikována u jakýchkoliv pochybností a také v případě detekce atypických kožních lézí.

Pemfigus vulgaris (PV)

PV je autoimunitní onemocnění, které je způsobeno cirkulujícími protilátkami ze skupiny IgG namířenými proti povrchovým antigenům keratinocytů (Ca-dependentní kadheriny – desmoglein 1 a 3) (188, 189). Jedná se o transmembránové glykoproteiny, které zajišťují intercelulární adhezi a komunikaci. Histopatologickým podkladem je poté intraepidermální bula s akantolýzou a akantotickými buňkami (pyknotické jádro) (190). Toto

onemocnění se typicky manifestuje ve věkové kategorii 40–70 let (bez preference pohlaví). Může být asociováno s dalšími autoimunitními chorobami, jako jsou revmatoidní artritida, myastenia gravis či perniciózní anémie (191). U PV je pozitivní jednak přímé i nepřímé Nikolského znamení, jednak také Tzanckův test (cytologický průkaz akantolytických keratinocytů na otiskovém preparátu ze spodiny čerstvého puchýře) (192).

Pro PV je rovněž důležité, že bývají velmi často postiženy sliznice, zejména oblast dutiny ústní. Dále může být postižena spojivka nebo sliznice perianogenitální oblasti (193).

Primární léze u PV je plochá bula s čirým obsahem mírně se zvedající nad okolní zdravou kůži. Může být přítomný i erytematózní lem. Puchýře jsou velmi fragilní, a pokud dojde k jejich perforaci, vznikají velmi bolestivé eroze, i když se jedná o intraepidermální úroveň poškození. PV je charakteristický svým relativně pomalým fázovým postupem v hojení rány.

Prognóza pacientů je bez terapie fatální. Podávání kortikoidů eventuálně imunosupresivních preparátů (použit byl cyklosporin A i cyklofosfamid) zlepšuje jejich prognózu, nicméně dlouhodobé komplikace vedou k udávané letalitě 5–15 % (194, 195).

Bulózní pemfigoid (BP)

Klinické projevy BP mohou být podobné, jako je tomu u PV, ale s tím rozdílem, že za jejich podkladem není akantolýza a dominantní úroveň změn je lokalizována v oblasti dermo-epidermální junkce, podobně jako je tomu u pacientů s TEN. I proto je Nikolského fenomén negativní. Slizniční postižení se vyskytuje u pacientů s BP asi ve 30 % (196). Typickým pacientem pro BP je žena ve věku nad 60 let. Tzankův test je pro absenci akantolýzy pochopitelně negativní. Vzhledem k tomu, že se vyskytuje zejména u starších osob, nese také označení stařecký pemfigus (197). Kožní kompromitace u pacientů s BP je typicky v oblasti končetin, teprve v rámci progrese onemocnění je postupně postižena také kůže trupu. Může se rovněž manifestovat postmedikamentózně nebo může být projevem malignity (paraneoplázie) (198, 199). Jedná se opět o onemocnění autoimunitního původu. Subepidermálně se u pacinetů s BP dají identifikovat protilátky IgG proti antigenům bazální laminy (2 nekolagenní hemidesmozomální glykoproteiny bazální membrány – BP180, BP230) (200, 201). Protilátky proti BP180 se vyskytují v séru až u 90 % pacientů. Letalita je do velké míry determinovaná vysokým věkem pacientů a přítomností celé řady komorbidit. Pohybuje se kolem 20 % (202).

Akutní generalizovaná exantematózní pustulóza (AGEP – acute generalized exanthematous pustulosis)

Původně byla tato nozologická jednotka pojmenovaná jako pustulární psoriáza. Teprve na konci 60. let minulého století bylo zjištěno, že se jedná o onemocnění, které není asociováno s psoriázou (203). Podobně jako TEN je i AGEP zařazen do skupiny SCARs. Jedná se o závažnou kožní reakci, která je iniciována po požití některého léčiva – typicky aminopeniciliny, chinolony, sulfonamidy a azoly I. generaze (ketokonazol, flukonazol) (204, 205).

Avšak tento stav má řadu odlišností v porovnání s TEN. Jde zejména o samotný průběh onemocnění. U AGEP chybí prodromální fáze, a doba mezi užitím preparátu a rozvojem klinické symptomatologie je tedy velmi krátká (do 48 hodin). V literatuře byly popsány i případy rozvoje AGEP bez asociace s užíváním medikamentů. Opět šlo zejména o virovou infekci cytomegalovirem nebo parvovirem B19. Rozvoj AGEP byl také popsán po pavoučím kousnutí (206).

Patofyziologie je velmi podobná TEN. Jedná se o T buněčně mediovanou kožní manifestaci. Po expozici jsou aktivovány specifické Th a Tc lymfocyty, následně tyto buňky proliferují a migrují do dermis a epidermis. Dochází k apoptóze keratinocytů cestou vazby Fas-L a Fas-R nebo působením granzymu B. Vznikají tak epidermální vezikuly. V první fázi vezikuly obsahují pouze specifické Th lymfocyty a keratinocyty. Dochází ovšem k postupnému uvolňování CXCL8 (C-X-C motif chemokine ligand 8), což je velmi potentní cytokin pro neutrofily, následuje chemotaxe neutrofilů a změna vesikuly na pustulu. I v případě AGEP jsou popisovány změny funkce vnitřních orgánů (asi ve 20 % případů) (207, 208, 209).

I když je patofyziologický podklad velmi podobný s TEN, klinický obraz je odlišný. U AGEP je ve většině případů postižena zejména kůže. Sliznice jsou postiženy velmi raritně. Pokud je u tohoto syndromu zjištěno postižení sliznic, vždy jde pouze o postižení v oblasti dutiny ústní. Nejčastější lokalizací pro manifestaci AGEP je trup a dále také intertriginózní místa. Kožní morfy jsou charakteru pustul na erytematózním podkladě (210).

Diagnóza je založena na kombinaci histologických a klinických obrazů v jasně definovaném a standardizovaném algoritmu. Používá se diagnostické skóre z EuroSCAR studie (tabulka č. 5) (211). V rámci histopatologického vyšetření je důležitým obrazem přítomnost nonfolikulárních pustul (rozdíl od bakteriální folikulitidy). Základní terapeutický přístup má zamezit další používání podezřelého preparátu a terapie bakteriální superinfekce (cílená, nikoliv profylaktická). Po vysazení vyvolávajícího preparátu dochází většinou ke

spontánní regresi, přesto i v souvislosti s tímto syndromem je popisována letalita do 5 %. Většinou jde o následky rozvoje multiorgánového selhání nebo diseminované intravaskulární koagulace (212).

Morphology	**Score**
Pustules	
Typical	2
Compatible	1
Insufficient	0
Erythema	
Typical	2
Compatible	1
Insufficient	0
Distribution/pattern	
Typical	2
Compatible	1
Insufficient	0
Pustular desquamation	
Yes	1
No/insufficient	0
Course	
Mucosal involvement	
Yes	–2
No	0
Acute onset (<10d)	
Yes	0
No	–2
Resolution (<15d)	
Yes	0
No	–4
Fever > 38°C	
Yes	1
No	0
Neutrophils > 7,000/mm	
Yes	1
No	0
Histology	
Other diseases	–10
Not representative/no histopatology	0
Exocytosis of neutrophils	1
Subcorneal and/or intraepidermal nonspongiform or unspecified pustule(s) with papillary edema or subcorneal and/or intraepidermal spongiform or unspecified pustule(s) without papillary edema	2
Spongiform subcorneal and/or intraepidermal pustule(s) with papillary edema	3
Interpretation: <0: no AGEP, 1-4: possible, 5-7: probable, and 8-12: definite.	

Tab. č. 5 Skóre pro výpočet pravěpodobnosti AGEP. Adaptováno dle Sidoroff et al. (211)

Lékově indukovaný hypersenzitivní syndrom (DIHS – drug-induced hypersensitivity syndrome) / Poléková reakce s eosinofilií a systémovými symptomy (DRESS – drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms)

Primárně byl tento stav popsán jako DIHS v roce 1950 Chaikenem (213). Jean-Claude Roujeau ho následně přejmenoval na DRESS (214, 215). I když termín DIHS je již dnes obsolentní, stále se můžeme v recentní literatuře s tímto pojmenováním setkat.

Opět se jedná o vzácný a potenciálně život ohrožující syndrom. Jeho první klinické známky byly popsány již ve 30. letech minulého století u pacienta, u něhož se tento stav objevil v souvislosti s užíváním antikonvulziv (216, 217). Podobně jako u TEN není dodnes plně objasněna patofyziologická podstata tohoto syndromu a nejsou dostupné ani relevantní informace týkající se incidence tohoto syndromu. I v souvisosti s ním bylo zaznamenáno prodromální období (pruritus, febrilie), které může trvat i několik týdnů. Tento stav byl popsán jak u dětí, tak také u dospělých (218). Letalita syndromu dosahuje asi 10 %, je tedy vyšší než v souvislostí s AGEP. V případě kožních projevů DHIS/ DRESS nejde většinou o jeden typický projev, častější jsou mnohočetné kožní eflorescence. Tento syndrom se většinou manifestuje jako morbilliformní rash (219). Nejčastější lokalizací kožních projevů je oblast hlavy, krku a trupu, v oblasti končetin se kožní projevy objevují až sekundárně. V rámci systémového postižení může dojít ke kompromitaci funkcí zejména jater, plic, srdce a žláz s vnitřní sekrecí aj. (220).

Dodnes neexistuje univerzální standard v diagnostice tohoto syndromu. Příčiny jsou, jak již historicky oba názvy napovídají, postmedikamentózní, podobně jako je tomu u TEN. Časová osa rozvoje klinických projevů může být přibližně totožná s rozvojem klinických projevů u pacientů s TEN a pohybuje se kolem 2–6 týdnů. Byla popsána řada léků, které mohou indukovat rozvoj tohoto syndromu, ovšem nejčastěji se zmiňuje skupina antikonvulziv (zejména karbamazepin), ale také antibiotika, antivirotika či antidepresiva (221, 222). Základní patofyziologickou představou je hypersenzitivita na samotný lék nebo spíše na jeho metabolit (DHIS/DRESS může mít asociaci s defektem v enzymatické výbavě). Podobně jako u TEN není doposud vyloučen také podíl možné virové infekce – opět jde zejména o herpetické viry CMV, EBV, HHV-6, HHV-7. Možný je také podíl genetické predispozice, nicméně výzkum v oblasti imunogenetiky u tohoto syndromu není tak daleko jako v případě samotné TEN (223).

Až u 75 % bývá u pacientů s DRESS lymfadenopatie, proto je u nich prováděn odběr uzliny na histolopatologické vyšetření. Typický je v tomto případě nález lymfoidní hyperplasie. Avšak histopatologické vyšetření kůže nedetekuje apoptózu v oblasti dermo-

epidermální junkce, naopak v oblasti papilární dermis je bohatý perivaskulární infiltrát lymfocytů a eozinofilů (224).

Typickým laboratorním a klinickým obrazem je u pacientů s DRESS hepatosplenomegalie, lymfocytóza a v diferenciálním obraze eozinofilie.

Další syndromy

Další klinicky relevantní syndromy, které mohou imitovat svými projevy TEN, jsou uvedeny v tabulce č. 6. V případě epidermálního postižení jsou syndromy řazeny do skupiny pemfigu, u subepidermálního postižení následně do skupiny pemfigoidu.

Skupina pemfigu (epidermální)	Pemfigus vegetans	
	Pemfigus foliaceus	
	Paraneoplastický pemfigus	
	IgA pemfigus	
Skupina pemfigoidu (subepidermální)	IgG	Jizvící pemfigoid
		Gestační pemfigoid
		Nodulární pemfigoid
		Epidermolysis bullosa acquisita
	IgA	Lineární IgA bulózní dermatóza
Jiné	Dermatitis herpetiformis	
	Graft vs. host disease	

Tab. č. 6 Jednotlivé stavy (skupina pemfigu a pemfigoidu) imitující svým projevem TEN a jejich dělení dle místa maximálního postižení. Adaptováno dle Florea et al. (225).

1.10 Terapie

Vzhledem k tomu, že TEN je toxoalergická autoimunitní reakce, nepřekvapí, že základním terapeutickým přístupem je podávání imunosupresiv. Bohužel současné možnosti terapie pacientů s TEN jsou zásadním způsobem limitovány nekompletní znalostí patofyziologické problematiky. Za šest dekád od popisu prvních případů TEN se terapeutický přístup zásadním způsobem nemění. To má za následek také relativně neměnnou letalitu pacientů s tímto onemocněním.

V kapitole o terapii se budu snažit o popis a vysvětlení nejdůležitější systémových a lokálních preparátů a materiálů využívaných v terapii pacientů s TEN. Pro snazší orientaci v problematice terapie jsem použil dělení dle následujícího schématu:

1.10.1 Systémová terapie pacientů s TEN.
- 1.10.1.1 Specifická (cílená) systémová terapie.
- 1.10.1.2 Podpůrná systémová terapie.

1.10.2 Lokální terapie pacientů s TEN.

1.10.3 Lokální přípravky, jejichž použití je v současné době v různé fázi klinického hodnocení.

1.10.4 Management při postižení dýchacích cest u pacientů s TEN.

1.10.5 Oční management u pacientů s TEN.

1.10.1 Systémová terapie pacientů s TEN

Systémová terapie představuje dnes nejdůležitější komplex léčebných opatření, která mají za úkol zastavit další propagaci základního onemocnění. Dále má maximálně podpořit terapii lokální v navození, a to v co možná nejkratší době, reepitelizaci kožních defektů a uzávěr defektů slizničních. I dnes existuje skupina zainteresovaných odborníků, kteří i přes jednoznačná klinická data praktikují přístup k pacientům s TEN, který nese označení „wait and see“ protokol (226). Tento protokol přežívá navzdory pokrokům v rámci poodhalování samotné patofyziologie TEN. Přesto si myslím, že je stále „populární“, a to zejména ze dvou hlavních důvodů. Prvním je jistě nedostatečný počet pacientů, resp. chybějící robustní data, která by jednoznačně prokázala efektivitu některého z jiných protokolů. Druhým důvodem je jako vždy velmi akcentovaný ekonomický pohled. Terapie pacientů s TEN dnes může představovat ekonomicky velmi náročnou kapitolu. Není výjimkou, že dvou- až třítýdenní hospitalizace u pacientů s těžkou formou TEN s SCORTEN kolem 4–5 může stát i přes 1 milión korun. Přesto doufám, že kliniků, kteří nadále praktikují vyčkávací postup, bude postupně ubývat a převládne aktivní přístup k pacientům s TEN.

Samotná systémová terapie se dá dále rozdělit na dvě podkapitoly. První se týká specifické systémové terapie. V této podkapitole popisuji účinnost, resp. neúčinnost nejdůležitějších preparátů v terapii TEN, a to ať již z historického, nebo aktuálního pohledu. Následuje podkapitola nespecifické systémové terapie, která je rovněž velmi důležitá a zároveň zcela jasně dokumentuje nutnost komplexního přístupu k pacientům s TEN.

V rámci terapie u pacientů s TEN platí jedno základní pravidlo – minimalizovat extenzivní medikamentózní přístup na pouze nezbytné léky.

1.10.1.1 Specifická (cílená) systémová terapie

Termín cílená terapie u pacientů s TEN se používá v souvislosti se skupinou preparátů, které se ať již z historického, nebo také ze současného hlediska používaly nebo používají k zastavení progrese základního onemocnění. Ve většině případů se jedná o imunosupresivní preparáty.

Kortikosteroidy

Kortikosteroidy jsou nejdéle používanou skupinou léků v terapii TEN. Tato terapie je známa u pacientů s TEN už více než 40 let (227). Odborná veřejnost se není schopna ani po letech dohodnout, jestli podávání kortikosteroidů v terapii pacientů s TEN je benefitní, nebo nikoliv. Zastánci kortikosteroidů argumentují účinnou schopností zástupců této lékové skupiny zastavit progresi onemocnění, odpůrci zase oponují skutečností, že pacienti léčení kortikosteroidy mají daleko vyšší riziko pro rozvoj infekčních komplikací. Většina studií, která se týká užití kortikosteroidů u pacientů s TEN, má několik nevýhod – podobně jako v téměř všech případech jde většinou o velmi malé soubory pacientů, nerandomizované studie či pouhé retrospektivní sledování (4, 228, 229, 230). Proto jsou výsledky jednotlivých studií velmi rozporuplné, z velké části i protichůdné. Lepší výsledky se zdají být u pacientů, kterým je aplikována vyšší dávka kortikosteroidů (metylprednisolon nad 1000 mg nebo jeho ekvivalent). Shrnutí všech relevantních studií, v nichž jsou pacienti s TEN léčeni kortikosteroidy, je znázorněno v tabulce č. 7.

Efekt kortikosteroidů na molekulární úrovni je dán zejména regulací transkripce NF-κB, tedy potlačení produkce řady proinflamatorních cytokinů (IL1-6, 8, 11, 12, 15, 16, INFγ, TNFα) (104, 231).

Kortikoidy oslabují funkci monocyto-makrofágového systému a také snižují počet cirkulujících Tc lymfocytů. Právě jejich efekt v interakci s Tc lymfocyty a monocyty, resp. makrofágy by se dal považovat za stěžejní v terapii pacientů s TEN. Bohužel imunosuprese

způsobená kortikosteroidy je globální, resp. neselektivní, což s sebou přináší i svá rizika – tedy rozvoj infekčních komplikací. Problém v interakci s NF-κB vidím také v tom, že právě tento faktor produkuje řadu proliferačních a antiapoptotických působků. To znamená, že inhibicí jeho funkce může dojít ke zhoršení základního onemocnění. Podobně je tomu také při podávání biologické léčby.

Řada studií poukazuje na skutečnost, že používání kortikosteroidů v terapii TEN nevede ke snížení letality. Doposud bylo publikováno relativně velké množství prací, které popisují rozvoj TEN i u pacientů chronicky medikujících kortikosteroidy pro nějaké onemocnění, a to nejčastěji revmatologické povahy. Roujeau et al. publikovali, že až 9 % pacientů, u nichž se rozvinula TEN, chronicky užívalo kortikosteroidy (232). Současné poznání mechanizmu účinku kortikosteroidů a jejich více než 40leté používání v terapii pacientů s TEN vede v návaznosti na publikované výsledky k jednoznačnému závěru – kortikosteroidy se v terapii pacientů s TEN rozhodně nedají doporučit. Přesto všichni pacienti s TEN transferovaní na naši kliniku měli zavedenou terapii kortikosteroidy.

Autor studie	Místo studie	Design	Počet pacientů	Intervence	Letalita	Poznámka
Murphy et al. (233) 1997	Monocentrická (popáleninové centrum)	Retrospektivní	TEN (12)	Nejsou detaily v dávkování použitých kortikosteroidů	8/12 (0%)	Ve studii nebyl použit komparátor
Schulz et al. (4) 2000	Monocentrická (popáleninové centrum)	Retrospektivní	TEN (34)	Nejsou detaily v dávkování použitých kortikosteroidů	13/34 (%)	Ve studii nebyl použit komparátor
Ducic et al. (228) 2002	Monocentrická (popáleninové centrum)	Retrospektivní	TEN (29)	Metylprednisolon 160-240 mg/ den Redukce dávky dle klinické odpovědi	13/29 (%)	Diagnóza TEN je ve studii založena na rozsahu postižení ≥ 20 % TBSA (tedy jsou hodnoceni ve studii i pacienti s overlap TEN Ve studii nebyl použit komparátor
Kim et al. (230) 2005	Monocentrická (dermatologické centrum)	Retrospektivní	TEN (21)	Metylprednisolon 250-1000 mg/ den. Nejsou informace o redukci dávky	6/21 (%)	Ve studii nebyl použit komparátor
Kardaun et al. (234) 2007	Monocentrická (dermatologické centrum)	Retrospektivní	SJS (1) SJS/TEN (4) TEN (7)	1-1,5mg/kg dexametazonu 4 pacienti + 500 mg cyklofosfamidu	1/12 (%)	Ve studii nebyl použit komparátor
Schneck et al. (229) 2008	Multicentrická	Retrospektivní	SJS (57) SJS/TEN (44) TEN (18)	Maximální dávka = ekvivalent 250mg prednisolonu	21/119	Robustní data Rozdílné přístupy, ve studii zahrnuty jak dermatologické tak i popáleninové centra.
Chen et al. (235) 2010	Monocentrická (dermatologické centrum)	Retrospektivní	Pouze kortikosteroidy SJS (43) TEN (15) Kortikosteroidy + IVIg SJS (9) TEN (15)	Hydrokortizon 100-700 mg denně nebo metylprednizolon 40-80 mg denně IVIg průměrná dávka 2,7± 1,5 g/kg a den (3-15 dní)	Pouze kortikosteroidy 2/58 (%) Kortikosteroidy + IVIg 3/24 (%)	Ojedinělá publikace s relativně robustními daty a dokumentovanou efektivitou kortikosteroidů
Hirahara et al. (236) 2013	Monocentrická (dermatologické centrum)	Retrospektivní	SJS (3) SJS/TEN (2) TEN (3)	Metylprednisolon 1000 mg po dobu 3 dní	0/8 (0%)	Efektivní
Suwarsa et al. (237) 2016	Monocentrická (dermatologické centrum)	Retrospektivní	SJS (39) SJS/TEN (7) TEN (11)	Prednison dávka 1-6 mg/kg	SJS 3/39 (7,69%) TEN 4/11 (36,36%)	Nespolehlivá data a interpretace

Tab. č. 7 Vybrané studie hodnotící efektivitu kortikosteroidů u pacientů s TEN (červeně značeny studie, kde kortikosteroidy nesnížili očekávanou letalitu).

Intravenózní imunoglobuliny (IVIg)

Intravenózní imunoglobuliny jsou určeny pro prevenci široké skupiny stavů a také pro terapii vybraných onemocnění autoimunitního charakteru. Jde o podání polyvalentních IgG protilátek, které byly získány z plazmy několika stovek až tisíců dárců. První zmínka o použití imunoglobulinů je z roku 1952, kdy šlo o intramuskulární aplikaci, tedy o IMIg (238). Dnes je toto podání kvůli bolestivosti a nemožnosti podávat vyšší koncentrace nahrazeno subkutánní s.c. nebo intravenózní (IVIg) formou aplikace. Tato cesty administrace se používá zejména při hypogamaglobulinemii (primární, sekundární) (239, 240).

V terapii pacientů s TEN se používá výhradně intravenózní podávání imunoglobulinů. Viard et al. dokumentoval v roce 1998 jako první efektivitu IVIg u pacientů s TEN (241). Použití IVIg v terapii pacientů s TEN má své logické zdůvodnění. Kompetitivní vazbou na FasR znemožňuje indukci apoptózy právě navázáním FasL na tento receptor. Otázka, která není dodnes dořešena, je, jaké množství imunoglobulinů by pacienti s TEN měli dostat. Pacienti ve většině studií obdrželi od 0,2–0,75 g/kg a den (po dobu 3–5 dní) (104). Nejsou ovšem výjimkou i studie, ve kterých pacienti obdrželi až 2 g/kg t. hm (235). a den. I přestože koncem 90. let minulého století vzbudila tato terapie velikou euforii, následné studie a metaanalýzy nedokázaly jednoznačně potvrdit efektivitu léčebného konceptu založeného na podávání imunoglobulinů. Hlavním problémem je, že řada studií, v nichž pacienti dostali IVIg, je velmi těžko srovnatelná, a to kvůli rozdílným terapeutickým protokolům. Navíc IVIg nepřinesl žádný signifikantní význam v redukci letality pacientů s TEN. V tabulce č. 8 a 9 jsou zmíněny nejdůležitější studie zabývající se efektivitou IVIg u pacientů s TEN.

Autor studie	Místo studie	Design	Počet pacientů	Dávka IVIG	Letalita	Poznámka
Viard et al. (241) 1998	Multicentrická	Prospektivní	TEN (10)	0,2-0,75 g/kg a den (4 dny)	0/10 (0%)	
Stella et al. (242) 2001	Monocentrická (Popáleninové centrum)	Prospektivní	SJS (1) SJS/TEN (7) TEN (1)	0,6-0,7 g/kg a den (4 dny)	1/9 (11%)	
Bachot et al. (243) 2003	Monocentrická (Dermatologické centrum)	Prospektivní	SJS (9) SJS/TEN (5) TEN (20)	2g/kg a den (min. 2 dny)	11/34 (32%)	
Campione et al. (244) 2003	Monocentrická (Dermatologické centrum)	Retrospektivní	TEN (10)	2g/kg a den (minimálně 5 dní)	1/10 (10%)	
Trent et al. (245) 2003	Monocentrická (Dermatologické centrum)	Retrospektivní	SJS/TEN (6) TEN (10)	0,4 -1 g/kg a den (4 dny)	1/16 (6%)	
Prins et al. (246) 2003	Multicentrická	Retrospektivní	SJS/TEN (7) TEN (41)	0,7 g/kg a den (4 dny)	6/48 (12%)	Duplikované případy s Viard et al., Campione et al., Trent et al.
Al-Mutairi et al. (247) 2004	Monocentrická (Dermatologické centrum)	Retrospektivní	TEN (12)	0,5 – 1,0 g/kg a den (4-5 dní)	0/12 (0%)	
Brown et al. (248) 2004	Monocentrická (Popáleninové centrum)	Retrospektivní	TEN (24)	0,4 g/kg a den (4 dny)	10/24 (42%)	Komparátor – skupina léčená kortikosteroidy mortalita 6/21 (29%)
Shortt et al. (249) 2004	Monocentrická (Popáleninové centrum)	Retrospektivní	SJS/TEN (16)	Průměrně 0,7 g/kg a den (4 dny)	4/16 (25%)	
Kim et al. (230) 2005	Monocentrická (Dermatologické centrum)	Retrospektivní	TEN (14)	1,6-2 g/kg a den	1/14 (7%)	SCORTEN predikovaná letalita 17 %
Tan et al. (250) 2005	Monocentrická (Dermatologické centrum)	Retrospektivní	SJS/TEN (4) TEN (8)	2g/kg a den (min. 2 dny)	1/12 (8%)	8/12 bez histologické verifikace 9/12 pacientů užívalo také kortikosteroidy
Lissia et al. (251) 2005	Monocentrická (Popáleninové centrum)	Retrospektivní	TEN (5)	1g/kg a den (3 dny) 0,5g/kg a den (další 3 dny)	1/5 (20%)	Všichni pacienti IVIg+plazmaferéza - 3 cykly 1 pacient rekurence příznaků po 10 dnech
Gravante et al. (252) 2007	Monocentrická (popáleninové centrum)	Retrospektivní	SJS (1) TEN (16)	0,4 g/kg a den (4 dny)	7/17 (41%)	

Tab. č. 8 Vybrané studie hodnotící efektivitu IVIg u pacientů s TEN (červeně značeny studie, kde IVIg nesnížili očekávanou letalitu).

Autor studie	Místo provedení studie	Design	Počet pacientů	Dávka IVIg	Letalita	Poznámka
Stella et al. (253) 2007	Monocentrická (Popáleninové centrum)	Retrospektivní	SJS (1) SJS/TEN (16) TEN (5)	IVIG 0,7 g/kg a den (4 dny) + Metylprednisolon 250 mg denně po 2 dny	6/23 (26%)	SCORTEN predikovaná letalita 36 %. Zahrnuje pacienty ze studie Stella et al.2001
Shneck et al. (229) 2008	Multicentrická	Retrospektivní	SJS (9) SJS/TEN (11) TEN (15)	1,9 g/kg a den po dobu 1-7 dní	12/35 (34%)	Heterogenní péče, zahrnuje pacienty ze studie Bachot et al. 2003
Chen et al. (235) 2010	Multicentrická	Retrospektivní	SJS a TEN (82)	2g/kg a den různá délka podání	IVIg+Kortikoidy (12,5%) Kortikoidy (3,4%)	24 pacientů IVIg+kortikosteroidy 58 pacientů kortikoteroidy
Firoz et al. (254) 2012	Monocentrická (Popáleninové centrum)	Prospektivní	TEN (23)	4g/kg a den (3 dny)	Nejsou data pro skupinu IVIg	Bez signifik. rozdílu v mortalitě u skupiny IVIG, skupiny s CyA a skupiny s podpůrnou terapii
Lee et al. (255) 2013	Monocentrická (Dermatologické centrum)	Retrospektivní	SJS/TEN (28) TEN (36)	Průměrně 2,4 g/kg a den (4 dny)	20/64 (31%)	Bez rozdílu v mortalitě při aplikaci různých dávek IVIG
Aihara et al. (256) 2015	Multicentrická	Prospektivní	SJS (5) TEN (3)	0,4 g/kg a den (5 dní)	0/8 (0%)	Všichni pacienti užívali také kortikosteroidy

Tab. č. 9 Vybrané studie hodnotící efektivitu IVIg u pacientů s TEN (červeně značeny studie, kde IVIg nesnížili očekávanou letalitu).

Cyklosporin A (CyA)

Cyklosporin A je cyklický polypeptid izolovaný z plísně *Tolypocladium inflatum*. Poprvé byl objeven ve vzorku půdy získaného z norské oblasti Hardangervidda v roce 1969 (257). Jeho imunosupresivní účinek byl objeven v roce 1972 ve Švýcarsku (258). V roce 1980 byl tento preparát poprvé použit Thomasem Starzlem u mladé pacientky po transplantanci jater. O tři roky později byl CyA schválen jako imunosupresivum v rámci transplantace dalších solidních orgánů (259). CyA má dnes velmi široké imunosupresivní využití, ať již jde o orgánové transplantace, transplantace kostní dřeně, autoimunitní choroby či revmatoidní artritidu.

Z pohledu terapie pacientů s TEN je důležité, že se jedná o specifický inhibitor T lymfocytů, zejména Th lymfocytů. A právě modulace Th lymfocytů je pro pacienty s TEN klíčová. V T-lymfocytech se CyA váže na vazebný protein (cyklofilin A), vytvořený komplex následně inhibuje kalcineurin, dochází k inhibici defosforylace nukleárního faktoru T lymfocytů. Výsledkem je inhibice syntézy interleukinu-2 a aktivace T lymfocytů (260). Cyklosporin A inhibuje také aktivaci nukleárního faktoru kappa B, a dalších genů, které se účastní aktivace T lymfocytů nebo produkce INFγ. CyA inhibuje také aktivaci B lymfocytů, dále inhibuje eliminaci bakterií ve fagocytech a působení interleukinu-1 na mesangiální buňky. Následně dochází k redukci vyplavování prostaglandinů a zejména redukci množství iNOS (inducibilního oxidu dusnatého), který je u pacientů s TEN zdrojem adduktů nitrosativního stresu (138).

V příloze č. 5 je popsán případ prvního úspěšného použití tohoto imunosupresiva u pacienta s TEN v České republice. V tabulce č. 10 je výčet dostupných studií, popisujících efektivitu CyA u pacientů s TEN. S použitím CyA máme také relativně velké zkušenosti i na našem pracovišti.

Cyklofosfamid

Cyklofosfamid je představitelem skupiny oxazofosforinových cytostatik. Je nositelem alkylačních radikálů, které se aktivizují až po metabolizaci v organismu. Metabolizací cestou CYP450 vzniká aktivní metabolit 4-hydroxy-cyklofosfamid (261). Jeho efekt je nejen imunosupresivní, ale i cytostatický. U kožních onemocnění se cyklofosfamid zkoušel s relativně dobrým efektem u řady stavů: systémový lupus erytematodes, mycosis fungoides, pemfigus vulgaris, paraneoplastický pemfigus aj. (262, 263).

Velmi často se pro terapii kožních onemocnění kombinuje cyklofosfamid s kortikosteroidy. Jeho širší použití je omezeno zejména četnými nežádoucími účinky: nauzea a zvracení, průjem, hemoragická cystitida, myelodysplasie, hypogamaglobulinemie (264).

Podstatou samotného účinku cyklofosfamidu je indukce apoptózy lymfocytů. Bohužel apoptóza není specifická pro jednu skupinu buněk a může dojít k potenciaci apoptózy v oblasti keratinocytů, a tedy také zhoršení stavu. Proto tento preparát dnes již není doporučovaný pro terapii pacientů s TEN.

Anti-TNFα preparáty

O samotné roli TNFα v patofyziologii TEN je pojednáno v kapitole 1.6.4. Nepřekvapí proto, že od konce minulého století byly snahy zavést do terapie pacientů s TEN také preparáty, které by tlumily samotnou produkci tohoto proinflamatorního cytokinu. V 90. letech minulého století nebyly pochopitelně k dispozici monoklonální protilátky, proto bylo nutno použít dostupné medikamenty. Právě v té době byl nejdostupnějším preparátem, který vykazoval výraznou aktivitu proti produkci TNFα, thalidomid. Thalidomid tlumí produkci TNFα a IL-6 u monocytů i lymfocytů. V roce 1998 byla provedena dvojitě zaslepená studie s použitím thalidomidu proti placebu u pacientů s TEN (265). Bohužel studie musela být zastavena předčasně, protože ve skupině s thalidomidem byla mnohonásobně vyšší letalita (83 % vs. 30 % ve skupině placeba). Jednou z možností, jak vysvětlit vysokou letalitu, byla skutečnost, že thalidomid působí jako možný kostimulant pro Tc lymfocyty, potencuje tak jejich cytotoxickou aktivitu. Avšak již dříve byla zmíněna skutečnost, že TNFα má také antiapoptotické signální dráhy, které jsou při jeho snížené produkci rovněž inhibovány.

I přes signifikantní zvýšení letality u pacientů s thalidomidem se otevřely nové možnosti terapie pacientů s TEN při zavedení monoklonálních protilátek do klinické praxe. Rád bych se krátce zmínil o třech zástupcích ze skupiny biologických léčiv: infliximab, etanercept, adalimumab. První dva byly u pacientů s TEN testovány a nutno podotknout, že opět se spornými výsledky. Chybí, ostatně jako i u jiných terapeutických konceptů, robustní metaanalýza získaných dat. Dodnes existuje pouze jediná studie, které hodnotí efektivitu etanerceptu u 10 pacientů s TEN (tabulka č. 11). Základní kontroverze v terapii biologiky u pacientů s TEN je znázorněna v příloze č. 6.

Autor studie	Místo studie	Design	Počet pacientů	Dávka CyA	Mortalita	Poznámka
Arévalo et al. (266) 2000	Monocentrická (popáleninové centrum)	Retrospektivní Case-control studie	TEN (11)	3 mg/kg po dobu 14 dní s následnou redukcí po dobu 2 týdnů	0/11 (0%)	Komparátor cyklofosfamid + metylprednisolon (mortalita 50%)
Valeyrie-Allanore et al. (267) 2010	Monocentrická (dermatologické centrum)	Retrospektivní Case series	SJS (10) SJS-TEN (12) TEN (7)	3 mg/kg po dobu 10 dní, postupná redukce po dobu 1 měsíce	0/29 (0%)	Není kontrolní skupina pacientů
Singh et al. (268) 2013	Monocentrická (dermatologické centrum)	Retrospektivní Case-control studie	SJS (5) SJS-TEN (3) TEN (3)	CyA 3 mg/kg a den po dobu 7 dní, postupná redukce po dobu dalších 7 dní	0/11 (0%)	
Kirchhof et al. (269) 2014	Monocentrická (dermatologické centrum)	Retrospektivní CyA vs. IVIg	SJS/TEN (64)	Různé dávky CyA, IVIg	CyA 1/17 (5,9%) IVIG 11/37 (29,7%)	17/37 pacientů ve skupině IVIG a 11/17 pacientů ve skupině s CyA mělo menší rozsah než 10 % TBSA Nejednalo se tedy o pacienty s „overlap TEN“
Lipový et al. (270) 2016	Monocentrická (popáleninové centrum)	Retrospektivní	TEN (6)	4-5 mg/kg a den 5-15 dní	1/6 (16,7%)	Pacienti medikovali také kortikoidy i IVIg

Tab. č. 10 Vybrané studie hodnotící efektivitu CyA u pacientů s TEN.

Autor studie	Místo studie	Design	Počet pacientů	Dávka	Mortalita	Poznámka
Paradisi et al. (271) 2014	Monocentrická (dermatologické centrum)	Prospektivní	TEN (10)	Etanercept (50 mg; 1 dávka) subkutanní podání	0/10 (0%)	3 pacienti v souboru měli malignitu není komparátor

Tab. č. 11 Vybrané parametry jediné relevantní studie hodnotící efektivitu etanerceptu v terapii TEN.

Ulinastatin

Ulinastatin uvádím jen pro doplnění kompletního výčtu současných možností terapie, přestože jsem si vědom limitace použití tohoto preparátu u pacientů s TEN nebo SJS. Jedná se o močový inhibitor trypsinu (urinary trypsin inhibitor – UTI), který inaktivuje řadu serinových proteáz (trypsin, chymotrypsin, kallikrein, plasmin atd.). Jeho produkce je zvyšována řadou proinflamatorních cytokinů (IL-6 a TNFα) (272).

Indikace pro jeho použití je v současné době u pacientů s akutní a chronickou pankreatitidou. Experimentální studie se zaměřují také na jeho využitelnost u popálených pacientů a pacientů s inhalačním traumatem. Ulinastatin se používá zejména v Asii (Japonsko, Indie, Jižní Korea). Data o použití u pacientů se SJS nebo TEN jsou velmi omezená. Vlastně jde o jedinou sérii tří kazuistik z Japonska (dvou dětí s TEN a jednoho dítěte se SJS). U všech tří pacientů došlo k rychlé regresi kožních změn. Žádné z dětí nemělo kožní ani oční dlouhodobé následky. Studie byla publikována již v roce 2002 (273). Dodnes není bohužel dohledatelná žádná další studie, která by potvrdila udávanou efektivitu ulinastatinu u většího počtu pacientů se SJS nebo TEN.

Plazmaferéza

Jedná se o mimotělní metodu, která se řadí do skupiny léčebných aferéz. Dnes má tato metodika poměrně široké spektrum indikací. Používá se zejména pro odstranění patogenní cirkulující plazmatické substance a dále k náhradě chybějícího plazmatického faktoru (např. ADAMTS13 u trombotické trombocytopenické purpury) (274). Pacienti s TEN mohou profitovat z pouze včasně zahájené plazmaferézy. Existuje relativně velké množství studií, které ukazují na možnou efektivitu u pacientů s TEN. Zde bych chtěl také připomenout, že jedna z nejdůležitějších studií pochází také od skupiny z Fakultní nemocnice v Hradci Králové (275). Přesto ani plazmaferéza není dnes jednoznačně v terapii TEN doporučována. V tabulce č. 12 jsou shrnuty nejdůležitější relevantní studie zabývající se použitím plazmaferézy u pacientů s TEN.

Autor studie	Místo provedení studie	Design	Počet pacientů	N plazmaferéz	Mortalita	Poznámka
Chaidemenos et al. (276) 1997	Monocentrická (Dermatologické centrum)	Retrospektivní	TEN (7)	(1-4) (2500 ml)	0/7 (0%)	5 pacientů ve studii mělo popsáno dobu trvání nemoci od 3-6 dní (nekoresponduje s délkou léčby TEN) Není histologická konfirmace. 2 pacienti v souboru měli malignitu
Egan et al. (277) (1999)	Monocentrická (Dermatologické centrum)	Retrospektivní	TEN (16)	(1-4)	PL 0/6 (0%) NPL 4/10 (40%)	Plazmaferéza pouze u 6 pacientů v souboru.
Yamada et al. (278) (2008)	Multicentrická	Retrospektivní	TEN (47)	(1-6)	11/47 (23,4%)	Přehled všech pacientů s TEN léčených plazmaferézou v Japonsku
Košťál et al. (275) (2012)	Monocentrická (Hematologie)	Retrospektivní	TEN (4)	3-6	0/4 (0%)	Plazmaferéza u všech pacientů pro progresi onemocnění po předchozí terapii kortikosteroidy ev. IVIg + kortikosteroidy

Tab. č. 12 Vybrané studie hodnotící efektivitu plazmaferézy u pacientů s TEN.

Ostatní

Další důležité preparáty, které byly u pacientů s TEN vyzkoušeny, ovšem žádný s jednoznačně kladnou klinickou odpovědí nebo kladným dopadem na snížení počtu úmrtí, jsou tyto: N-acetylcystein, pentoxyfillin a G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) (104).

Z budoucího pohledu bych se rád také zmínil o možné roli insulinu a zinku u pacientů s TEN. Insulin podobně jako IGF (insulin-like growth factor) aktivují PKB (Protein kinase B) dráhu cestou phosphatidylinositide-3‘-OH kinasy. IGF má mohutný antiapoptotický efekt. PKB následně inaktivuje Bad, ovšem jeho hlavní podíl na zastavení apoptózy je v rámci inaktivace kaspázy 9 (279).

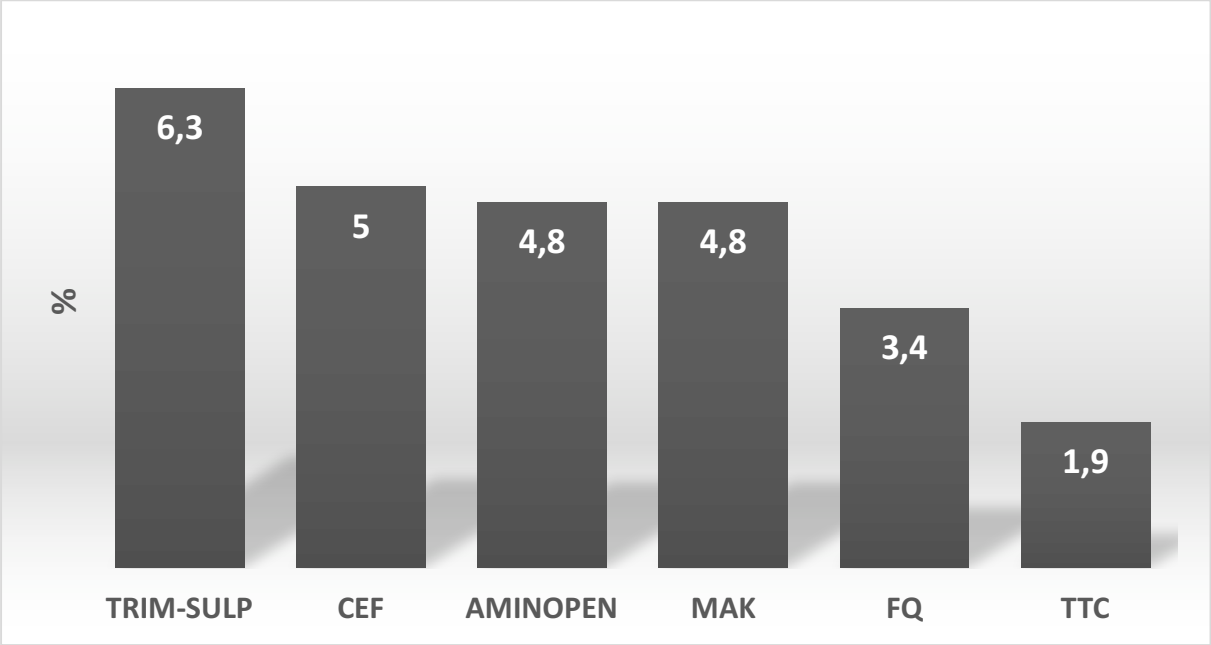
Zinek má protektivní efekt na buňku před programovanou smrtí z důvodu různých stimulů (chemických, imunologických apod.). Zinek je zároveň antioxidantem, který stabilizuje buněčnou membránu. Zároveň se suplementace zinku prokázala jako efektivní v terapii syndromu, který nese označení jako nekrolytický migratorní erytém (NME) (280). Podstatou tohoto syndromu je opět rozvoj apoptózy v oblasti keratinocytů. Deficit zinku podobně jako hyperglukagonemie nebo deficit mastných kyselin mohou rovněž indukovat rozvoj NME. Imunologické studie se suplementací zinku ukazují na skutečnost, že zinek stimuluje proliferaci T-lymfocytů a také zvyšuje sekreci proinflamatorních cytokinů (INFγ, TNFα), což pochopitelně není u pacientů s TEN vhodné (281). Vyšší dávky zinku ovšem mají naopak působit imunosupresivně (282). Potenciálním efektem zinku u pacientů s TEN by tedy mohla být inhibice apoptózy keratinocytů a v dostatečné dávce také imunosuprese. Nicméně samotné množství zinku, které by bylo efektivní u pacientů s TEN, není v současnosti známo. Jak v případě efektivity insulinu, tak také efektivity zinku bude nutné další intenzivní zkoumání.

1.10.1.2 Podpůrná systémová terapie

Antimikrobiální terapie

Adekvátně vedená antimikrobiální terapie představuje jeden ze stěžejních faktorů určujících prognózu pacientů s TEN. V případě rozsáhlých kožních defektů se ale nedoporučuje podávat antimikrobiální preparáty v profylaktickém nebo pre-emtivním formátu. Antimikrobiální preparáty se podávají pouze v případě jednoznačně prokázané infekce, resp. signifikantního počtu PPM (typické lokální i systémové projevy infekce nemusí být pro imunosupresivní terapii plně vyjádřeny).

Při volbě samotného antiinfektiva nezáleží jen na jeho efektivitě vůči patogenu nebo farmakokinetických vlastnostech, ale také na úrovni rizika pro rozvoj samotné TEN. Antimikrobiální preparáty představují relativně nebezpečnou skupinu, přesto mezi jednotlivými zástupci existují významné rozdíly, se kterými by se mělo při výběru počítat. Z pohledu rizika rozvoje TEN jsou relativně bezpečnější preparáty jako tetracykliny, fluorochinolony, makrolidy, naopak nebezpečné jsou trimethoprim-sulfamethoxazol, ale také aminopeniciliny (graf č. 3). Jinak pro zásady antimikrobiální terapie platí stejná pravidla jako u jiných kriticky nemocných pacientů.



Graf č. 3 Nejdůležitější antimikrobiální preparáty podílející se na rozvoji TEN dle studie EuroSCAR (TRIM-SULP – trimethoprim sulfamethoxazol, CEF - cefalosporiny, AMINOPEN - aminopeniciliny, MAK - makrolidy, FQ - fluorochinolony, TTC - tetracykliny) (44).

Analgetická terapie

Podávání analgetik je rovněž naprosto esenciální součástí komplexní terapie pacientů s TEN. Vzhledem k lokalizaci dominantních změn v oblasti kůže nepřekvapí, že samotné exfoliované plochy jsou velmi bolestivé (227). U pacientů s TEN je proto jednoznačně preferováno podávání opioidních analgetik (fentanyl, sufentanil), ev. jejich kombinace s jinými preparáty s analgetizujícím potenciálem (metamizol aj.). Z pohledu administrace opioidních analgetik se jeví jako nejoptimálnější kontinuální podávání. Zvláštní postavení mají u těchto pacientů paracetamol a skupina analgetik označovaných jako oxikamy. Jedná se o vysoce rizikové preparáty z pohledu rozvoje TEN (283). V grafu č. 2 jsou znázorněny výsledky retrospektivní analýzy u pacientů se SJS nebo TEN. V této studii byla u celkem 23,2

% z velkového počtu 373 pacientů zjištěna souvislost s rozvojem těchto syndromů a užíváním paracetamolu. Avšak u řady pacientů nebyl paracetamol užíván samostatně, velmi často byl kombinován např. s antimikrobiálními preparáty. Přesto bychom měli podávání těchto preparátů u pacientů s TEN minimalizovat.

Prevence rozvoje stresového vředu

U každého pacienta s TEN by mělo být pamatováno na prevenci rozvoje stresového vředu (SUS – stress ulcer syndrome). Dnes neexistují u pacientů s TEN informace týkající se prevalence SUS ani nejčastější doby pro jeho vznik. V rámci volby preparátu platí totožná pravidla jako u jiných kriticky nemocných pacientů. Volba by primárně měla padnout na sukralfát sodný. Tento preparát je preferovaný zejména proto, že při jeho podávání nedochází ke změnám pH v oblasti žaludku, tedy je obtížnější vycestování jednotlivých PPM ze střeva retrográdně až do oblasti horních dýchacích cest, které poté mohou sloužit jako zdroj pro rozvoj infekce v oblasti dolních dýchacích cest. Dnes panuje jistá kontroverze nad podáváním inhibitorů protonové pumpy (PPI – proton pump inhibitor) a H2 blokátorů. Rozvoj TEN byl popsán jak v případě omeprazolu nebo pantoprazolu, tak také ranitidinu (44). Na našem pracovišti pacientům podáváme sukralfát sodný, při výpadku v distribuci jsme použili jako alternativu omeprazol.

Antikoagulační terapie

Management antikoagulační terapie není u pacientů s TEN zatížen žádným zvláštním doporučením. Podává se profylaktická dávka LMWH (low-molecular weight heparin), tedy 100 IU/kg t. hm. U pacientů léčených na naší klinice preferujeme podávání nadroparinu v kontinuální infúzi před s. c. podáním. Nicméně neexistují žádná data, která jeden, či druhý způsob podání u pacientů s TEN favorizují.

Tekutinová terapie

Další důležitou součástí podpůrné terapie je tekutinová léčba. Podávají se jak balancované krystaloidní roztoky, tak také krystaloidní roztoky, které suplementují specifickou potřebu iontů u pacienta. Pro objem dodávaného roztoku neexistují u pacientů s TEN formule analogické s těmi pro popálené pacienty. Obecně je potřeba tekutin nižší, nežje tomu u popálených pacientů. Základní orientací pro adekvátní volumoterapii je pochopitelně produkce moči (u dospělého pacienta 0,5 ml/kg t. hm. a hodinu, u dítěte 1 ml/kg t.hm. a hodinu). Dále je možno využít také širokou škálu dnes běžně dostupné monitorace

hemodynamiky (analýza pulzové křivky), podobně jako i u jiných kriticky nemocných pacientů. Shiga et al. sledovali potřeby tekutin u pacientů s TEN během prvních 3 dní od začátku hospitalizace. U celkem 21 pacientů s TEN dospěli k optimální tekutinové formuli: 2 ml/kg t. hm. na každé % ztráty kožního krytu (284). Dle mého názoru se jedná o relativně vysoké číslo, protože tento objem se běžně hradí u pacientů s těžkým nebo kritickým popálením. Zvýšený příjem tekutin vede k extravazaci a následnému edému (plicnímu, kožnímu). U pacientů s TEN je tento proces usnadněn vyšší produkcí NO jako následku rozvoje nitrosativního stresu. Při vyšších potřebách tekutin, než je doporučované množství, je vhodné u pacienta sledovat také nitrobřišní tlak (IAP – intraabdominal pressure).

Nutriční terapie

Samotná problematika nutriční podpory u pacientů s TEN byla dlouhou dobu opomíjena. Přesto i tato kapitola nabývá v posledních letech na svém významu (285). Až do nedávna byly veškeré informace týkající se této problematiky ovlivněny velmi malým souborem pacientů, ve většině případů šlo pouze o kazuistiky.

Studie z roku 2002 provedená v jednotlivých popáleninových centrech v USA ukazuje, že s parenterální nutricí (PN) u pacientů s TEN se začíná daleko dříve, než je tomu u nutrice enterální (EN). Velmi často se PN zahajuje ještě před samotným transferem do popáleninového centra. V této práci je poukázáno také na skutečnost, že pacienti s TEN, kteří byli živeni pouze PN, měli také vyšší mortalitu. I přestože je dnes u kriticky nemocných pacientů jednoznačně preferována EN, PN, je stále prezentována jako jedna z nejdůležitějších součástí terapeutického přístupu k pacientům s TEN (286).

V roce 2016 provedli Graves et al. velkou multicentrickou retrospektivní analýzu literárně dostupných dat týkajících se problematiky EN u pacientů se SJS/TEN. V analýze bylo obsaženo 171 probandů (103 pacientů s TEN, 29 pacientů se SJS, 39 pacientů s overlap TEN). EN obdrželo 81 % pacientů v souboru. U 58 pacientů (34 %) byla provedena nepřímá kalorimetrie a medián provedení této metody byl 4. den od přijetí. Zjištěný medián energetické potřeby byl 24,2 kcal/kg/d. I když byl medián SCORTENu u těchto pacientů 2 a predikovaná letalita byla 12 %, zemřelo celkem 50 pacientů ze souboru (29 %). Reálná letalita byla tedy daleko vyšší nežli ta očekávaná. Dvanáct pacientů v souboru (7 %) mělo pouze PN, nicméně letalita v této skupině byla daleko vyšší než 66 %, tedy vyšší nežli ve skupině s EN či kombinací PN + EN (287).

V roce 2008 Mayes et al. provedli srovnání kalorické potřeby u skupiny 30 dětí s TEN a termickým traumatem. Ukázalo se, že energetická potřeba dětí s TEN je o 22 % nižší, nežli

je tomu u popálených pacientů, přesto vzhledem k malému počtu pacientů nebylo dosaženo hladiny statistické významnosti (288).

Otázka volby jednotlivých formulí EN byla také předmětem Gravesova zkoumání. Pacienti sice měli zavedeno EN různými preparáty, dominovaly ovšem čisté proteinové přípravky (87 % pacientů). U 49 % pacientů byla podána EN s více než 20 % proteinových kalorií. Pouze u 5 pacientů z jednoho centra byla použita formule obsahující glutamin.

Na tomto místě bych chtěl popsat reálný průběh vedení EN a PN u pacientů hospitalizovaných na naší klinice, kteří jsou definováni v souboru v kapitole II.

Všichni pacienti s TEN dostávali kombinaci EN a PN bezprostředně po přijetí k hospitalizaci. Volba přípravku pro EN byla závislá na několika faktorech a komorbiditách (diabetes mellitus, chronické renální selhání, stupeň poškození sliznice dolních dýchacích cest, rozsah kožních exfoliací apod.). V rámci sondové výživy jsme u těchto pacientů použili následující přípravky (jde většinou o vysokokalorické přípravky (>1,5 kcal/ml), řada z nich obsahuje také glutamin):

1) Nutricomp glutamine plus® (B. Braun Medical s. r. o).
2) Intestamin®, Reconvan®, Supportan®, Diben® (Fresenius Kabi s. r. o.).
3) Oxepa®, Pulmocare®, Nepro® HP (Abbott Laboratories s. r. o.).

V případě parenterální výživy jsme u pacientů za období 20 let postupně přešli z „mutli-bottle“ systému na systém prefabrikovaných nebo individuálně připravovaných vaků. Samozřejmá je také suplementace mikronutrientů, vitamínů a stopových prvků (Addaven®, Soluvit™ N, Fresenius Kabi AB).

Důležitá je také monitorace plazmatické koncentrace albuminu. Jeho přestup mechanizmem zvaným „capillary leak syndrome“ z intravaskulárního do intersticiálního prostoru není tak výrazný jako u pacientů s termickým traumatem, přesto k němu dochází. Na našem pracovišti máme nastavený transfuzní trigger pro hrazení albuminu (plazmatická koncentrace 25 g/l) a hrazení čerstvě zmražené plazmy (plazmatická koncentrace celkové bílkoviny 55 g/l).

Pacienti s TEN mají typickou hypermetabolickou odpověď. Přesto dnes neexistuje jednoznačné doporučení pro pacienty s TEN týkající se vedení PN a EN.

Z práce Gravese et al. lze vyvodit tyto závěry pro vedení EN u pacientů s TEN:

1) EN je u pacientů se SJS/TEN bezpečná a efektivní.
2) Pacienti se SJS nebo TEN mají zvýšenou kalorickou potřebu srovnatelnou s jinými kriticky nemocnými pacienty.

1.10.2 Lokální terapie

V ideálním případě terapie TEN platí, že celková léčba by měla zastavit progresi a zamezit tak další klinickou propagaci a lokální terapie by měla maximálně podpořit spontánní reepitelizaci kožních defektů (289, 290).

Precizní lokální péče je v adekvátním posunu v hojení rány pro pacienty s TEN naprosto esenciální. Veškerá manipulace s kožními defekty musí probíhat za aseptických podmínek. Je vhodné na tomto místě podotknout, že jakákoliv manipulace s kožními defekty je pro pacienty extrémně bolestivá, proto je optimální provádět samotnou lokální péči během celkové anestezie. Vycházíme-li ze současného patofyziologického poznání a histopatologického obrazu, zjistíme, že úroveň kožního „odpojení" je v oblasti dermo-epidermální junkce. Z pohledu hojení samotného kožního defektu to znamená, že všechny exfoliované plochy u pacientů s TEN mají primárně potenciál ke spontánní reepitelizaci. Je ovšem nutné, aby samotný wound-management byl veden členem týmu, který má s tímto typem ran zkušenosti.

Během této fáze může být spontánní reepitelizace kompromitována celou řadou lokálních i systémových příčin. Výsledkem této kompromitace může být jak prolongované hojení, tak také prohloubení kožního defektu a ztráta schopnosti spontánně reepitelizovat. Hlavní důvody, které způsobují konverzi rány, jsou znázorněny v následující tabulce a jsou většinou identické s příčinami konverze rány u popálených pacientů (170).

K celkovým příčinám, které se podílejí na konverzi rány u pacientů s TEN, patří zejména hypoxie, rozvoj šokového stavu s nutností podávání vazopresorů a rozvoj edému při neadekvátní tekutinové léčbě. Podstatná je pochopitelně také přítomnost řady komorbidit (diabetes mellitus) a zpomalení fázového postupu v hojení rány díky kortikosteroidům.

Lokální příčiny jsou ovlivnitelné samotným adekvátním přístupem k hojení rány. Patří sem zejména infekční komplikace, rozvoj kolaterálního edému a dále macerace, nebo naopak desikace rány.

Pokud dojde k prohloubení exfoliované plochy a ta ztratí schopnost spontánně reepitelizovat, dramaticky se mění prognóza pacientů s TEN. Jediná možnost definitivního

uzávěru takového defektu je přiložení autologního dermo-epidermálního štěpu. Prognóza je navíc ovlivněna také samotným rozsahem konvertované plochy, protože pacienti s TEN mohou mít rozsah exfoliované plochy i 100 % TBSA, a pokud dojde ke konverzi v celém nebo v dominantním podílu rozsahu, jedná se o stav, který není slučitelný se životem, protože nejsou přítomny plochy, které by mohly sloužit jako donorská místa.

Je nutno mít na paměti, že klasický fázový posun v hojení rány tak, jak je aplikován u pacientů s termickým traumatem či jinými typy akutních ran, je u pacientů s TEN neplatný. Jde zejména o absenci první fáze, tedy přístupu k odstranění devitalizovaných tkání, které jsou již ve většině případů díky spontánní perforaci bul prakticky provedeny, stačí pouze velmi šetrný debridement. V případě prohloubení exfoliovaných ploch se i v těchto oblastech může začít formovat nekrosa, jejíž odstranění poté podléhá stejným postupům jako v případě popálené plochy. Po vyčištění defektu následuje druhá fáze, tedy podpora samotné reepitelizace. Doba nutná pro definitivní uzávěr kožního defektu u pacientů s TEN je delší, nežli je tomu u podobně strukturované popálené plochy. Za touto skutečností stojí zejména terapie kortikosteroidy (291).

Ve všech fázích hojení kožních defektů u pacientů s TEN velmi záleží na volbě samotného krytu. Nevhodná volba může způsobit konverzi rány a vést tak ke zhoršení prognózy těchto pacientů. Příklady neadekvátně volené lokální terapie u pacientů s TEN jsou znázorněny na obrázku č. 22, 23.

Obr. č. 22 Na exfoliované plochy aplikována extramurálně zinková pasta (foto archív autora).

Obr. č. 23 Na exfoliované plochy aplikován extramurálně hypermangan (foto archív autora).

Samotnou kapitolou v komplexním přístupu k exfoliovaným plochám pacientů s TEN tvoří mikrobiologická surveillance. Infekce v oblasti exfoliovaných ploch a následný rozvoj septických komplikací jsou dominantními příčinami úrmtí u pacientů s TEN. Na rozdíl od jiných akutních ran dochází u pacinetů s TEN v oblasti exfoliovaných ploch k rychlé progresi směrem od kontaminace defektů nejrůznějšími PPM (včetně oportunních patogenů) přes kolonizaci až po lokální infekci. Vzhledem k farmakoterapeuticky indukované imunosupresi jsou výrazně kompromitovány lokální obranné mechanizmy, proto dochází k velmi časné diseminaci těchto PPM do krevního oběhu a rozvoji systémové infekce.

Precizní mikrobiologická surveillance v oblasti exfoliovaných ploch musí být prováděna bezprostředně od vzniku až po kompletní uzávěr kožního defektu. V rámci specifického přístupu k pacientům s TEN se nám velmi osvědčuje semikvantitativní model hodnocení počtu PPM pomocí otiskové metody (obrázek č. 24). Zejména dynamika vývoje počtu PPM a jejich reakce na aplikaci antimikrobiálních preparátů je touto metodou velmi snadno kvantifikována. U pacientů s TEN v závislosti na úrovni imunosuprese absentují nebo mohou být jen velmi limitně vyjádřeny klinické známky lokální infekce, tak, jak se prezentují u jiných typů ran.

Obr. č. 24 Provádění otiskové metody k semikvantitativnímu vyšetření mikrobiologické situace v dané oblasti (foto archív autora).

Pokud dojde z jakékoliv příčiny k prohloubení exfoliovaných defektů u pacientů s TEN, pro jejich definitivní uzávěr je nutné provést odběr dermo-epidermálních kožních štěpů (obrázek č. 24, 25). Pro tyto účely je nejvhodnější plocha, která nebyla primárně exfoliována. Pokud jsme nuceni použít jako donorskou plochu zhojený kožní defekt, musíme počítat s opětovnou prolongací doby nutné pro kompletní zhojení.

Obr. č. 25 Plocha v oblasti bérce bez schopnosti ke spontánní reepitelizaci, nutná autotransplantace dermo-epidermálním štěpem (foto archív autora).

Obr. č. 26 Zhojené plochy v oblasti bérců po zatransplantování dermo-epidermálními štěpy. V oblasti levého bérce pevně adheruje mastný tyl na donorské ploše (foto archív autora).

V případě volby optimálního kožního krytu panuje řada dohadů. Lokální strategie vychází ze zkušeností daného týmu a nedá se dnes jednoznačně favorizovat jen jediný kožní kryt (104, 227). Přesto existuje jedno důležité pravidlo v rámci lokálního přístupu u pacientů s TEN. Na kožní defekty by se neměl používat tzv. SSD (silver sulfadiazin) krém. Jedná se o preparát stále hojně používaný v rámci lokální péče u pacientů s termickým traumatem. Jeho použití u pacientů s TEN je limitováno zejména kvůli riziku rozvoje makulopapulárního rashe a formování tzv. pseudoeschary na povrchu defektu. Navíc SSD spolu s trimethoprim-sulfamethoxazolem patří do skupiny sulfonamidů, které mohou iniciovat samotný rozvoj SJS nebo TEN. U pacienta s TEN by mohlo dojít k další dodatečné iritaci imunitního systému a zhoršení lokálního nálezu.

Podobně jako u lokální péče pacientů s termickým traumatem se zdá být i u pacientů s TEN superiorní použití biologických kožních krytů (292, 293, 294). Avšak i jejich indikace má svá úskalí. Optimálně by se biologický kryt měl použít bezprostředně po odstranění zevní nekrotické vrstvy epidermis a po provedení šetrného debridementu. Tak se maximálně eliminuje riziko rozvoje infekčních komplikací v oblasti exfoliované plochy. Problémem dnes dostupných biologických krytů je jejich nulová antimikrobiální aktivita, resp. absence jakékoliv antimikrobiální komponenty. Proto jejich použití u defektů, se kterými bylo již manipulováno po perforaci buly, je rizikové z pohledu právě rozvoje lokální infekce. Tyto defekty jsou velmi často kontaminovány či kolonizovány a použití biologického kožního krytu může vést k uzavření PPM do prostoru mezi kryt a povrch defektu a usnadnit tak jeho pomnožení. Navíc tato oblast je dále nedostupná pro antiseptika. V roce 2014 jsme publikovali celosvětově první kazuistiku popisující použití krytu Xe-Derma® u dospělé pacientky s TEN. Tato publikace je součástí přílohy č. 7. V tabulce č. 13 jsou vyjmenovány nejdůležitější lokální materiály používané u pacientů s TEN.

V lokální péči jsou rovněž velmi důležitá antiseptika. Tabulka č. 14 nabízí opět přehled stěžejních antiseptik, které se používají u pacientů s TEN. Na naší klinice preferujeme a klinicky se nám osvědčil preparát obsahující octenidin dihydrochlorid. Chemicky jde o N, N'-(1,10 decanediyldi-1[4H]-pyridinyl-4-ylidene) bis-(1-octanamine) dihydrochlorid. Jedná se o molekulu, která byla do klinické praxe zavedena již koncem 80. let minulého století (295). Podstatou jejího účinku je přítomnost dvou kladně nabitých aktivních center, která interagují s negativně nabitou bakteriální stěnou. Výsledkem této interakce je narušení struktury stěny patogenu a lýza buňky (296). Vhledem k tomu, že tato centra jsou lokalizována na dlouhém alifatickém hydrokarbonovém řetězci, nedochází mezi nimi ke

vzájemnému ovlivnění. Octenidin dihydrochlorid vykazuje širokospektrou antimikrobiální aktivitu.

Pravidelně také testujeme ve spolupráci s Oddělením klinické mikrobiologie FN Brno jeho in-vitro aktivitu vůči epidemiologicky nejdůležitějším patogenům pacientů s TEN. Právě výsledky tohoto testování jsou znázorněny v příloze č. 8.

Na obrázcích č. 27, 28, 29, 30, 31 je znázorněno použití nejčastějších krytů u pacientů s TEN na naší klinice.

Kožní kryt	Charakteristika
Aquacel®Ag Aquacel™Ag+Extra Aquacel®AgBurn	Obsahují Hydrofiber® - unikátní pletenou vláknitou hydrokoloidní formou, při kontaktu s lůžkem rány změna na charakter gelu. Chemickou strukturou se jedná o karboxymetylcelulózuNaCMC obsahující 1,2 % stříbra v iontové formě. Použití u ran s vysokým rizikem infekce. Různé tvary a velikosti. V případě Aquacel™Ag+ Extra prokázaná také aktivita vůči biofilmu.
Mepilex® Mepilex®Ag	Pěnové krytí (polyuretanová pěna) s patentově chráněnou vnitřní adhezivní non-traumatickou vrstvou Safetac®, vysoce efektivní krytí pro široké spektrum akutních i chronických ran. Mepilex®Ag se liší od Mepilex® obsahem koloidního stříbra. U pacientů s TEN vhodné zejména na re-epitelizaci zbytkových defektů s polymikrobiální flórou.
Acticoat™	Samotné krytí je složeno ze tří vrstev, na obou vnějších stranách je polyetylenová síť obsahující nanokrystalické stříbro a uprostřed je vysoce aktivní absorbční vrstva. Široká antimikrobiální aktivita je zajištěna právě nanokrystalickým stříbrem (kryt zajišťuje jeho řízené uvolňování do rány).
Granuflex®	Hydrokoloidní krytí bez antimikrobiální komponenty, u pacientů s TEN vhodné na krytí drobných zbytkových defektů, bez kultivačního záchytu PPM
Algináty - Flaminal Forte® - Flaminal Hydro®	Koloidní hydroaktivní gelové krytí. Ve Flaminal Forte® je větší obsah alginátu. Obsahují enzymatický antibakteriární systém (Glukozaoxidáza a laktoperoxidáza). Vhodné u pacientů s akutní i chronickou ranou. Velmi používané krytí, zejména u pacientů s větším rozsahem exfoliace.
COM 30®	Třívrstevné krytí – polyesterová síťka, PUR pěna a polyamidový úplet. Široké použití zejména u akutních ran. Nemá antimikrobiální aktivitu, možná impregnace antiseptiky. U pacientů s TEN použití na krytí exfoliovaných defektů i donorských míst. Prevence rozvoje hypergranulační tkáně u defektů se zpomaleným fázovým postupem.
Xe-Derma®	Česká acelulární xenogenní dermis. V současné době použití zejména u akutních ran. Použití u ran chronických nyní ve fázi klinického hodnocení. V příloze č.7 prezentujeme první použití tohoto krytu u dospělého pacienta s TEN na světě. V souvislosti s TEN velmi potentní krytí. Pouze jednorázová aplikace.
Biobrane®	Jedná se o dvouvrstevné biokompozitní krytí – zevní vrstvu tvoří silikonový film, ve vnitřní vrstvě je obsažena nylonová síť s navázanými peptidy prasečího kolagenu I. Tento biologický kryt je u pacientů s TEN používán také velmi často.

Tab. č. 13 Nejpoužívanější preparáty v lokální péči u pacinetů s TEN.

Antiseptikum	Charakteristika
Octenisept®	100 g roztoku obsahuje 0,1 g octenidin dihydrochloridu a 2,0 g phenoxyethanolu. Široké antimikrobiální spektrum – grampozitivní i gramnegativní bakterie, protozoa, kvasinky i vláknité houby, viry. Unikátní preparát, který je na naší klinice v této indikaci preferován mezi jednotlivými antiseptiky.
Prontosan® Lavanid® Octenilin®	Jedná se o skupinu tzv. lavaseptik (preparáty určeny pro oplach rány) s širokou antimikrobiální aktivitou. Roztoky Prontosanu® a Lavanidu® obsahují polyhexanid v různé koncentraci. Účinnou látkou u Octenilinu® je octenidindihydrochlorid.
Braunol® Betadine® Braunoderm®	Preparáty obsahující povidon-iod (PVPI), první dva preparáty se hodí také na antisepsi v oblasti sliznic. Rozdíl mezi oběma preparáty je zejména v procentuálním zastoupení PVPI. Braunoderm® je alkoholový roztok (2-propanol) spolu s PVPI. Použití pouze v oblasti kůže.
Skinsept®Mucosa	Dominantní preparát na péči o defekty v oblasti sliznic pacientů s TEN 100 g preparátu obsahuje: 1,5 g chlorhexidindiglukonátu (20%), 1,4 g H_2O_2 a 10,4 g etanolu (96%)

Tab. č. 14 Nejdůležitější antiseptika používaná u pacientů s TEN.

Obr. č. 27 Aquacel®Ag – stav po dvou dnech od aplikace do oblasti vlasaté části hlavy (foto archív autora).

Obr. č. 28 Aquacel®Ag Burns a jeho aplikace ve formě rukavice na ruku pravé horní končetiny.

Obr. č. 29 Stav defektu po aplikaci Flaminalu Hydro® (foto archív autora).

Obr. č. 30 Již kompletně podepitelizovaný defekt po aplikaci acelulární alogenní dermis Xe-Derma® (foto archív autora).

Obr. č. 31 Mepilex® Ag v aplikaci na zbytkové defekty v oblasti zad a hýždí (foto archív autora).

1.10.3 Lokální přípravky, jejichž použití je v současné době v různých fázích klinického hodnocení

Vzhledem ke stále neuspokojivě vysoké letalitě nepřekvapí, že se farmaceutické firmy snaží vyvíjet nové preparáty a materiály, které mohou u pacientů s TEN zlepšovat prognózu. Do této části by se v současné době daly zařadit dva preparáty, palifermin a oleogel-S10. První preparát je již zařazen do klinického hodnocení, druhý preparát má za sebou velmi úspěšné klinické hodnocení na různé kožní defekty termického i netermického origa.

Palifermin

Jedná se o lidský rekombinantní růstový faktor keratinocytů (KGF – keratinocyte growth factor) produkovanný *Escherichia coli.* Endogenní KGF je produkován mesenchymálními buňkami a fibroblasty (297). Patří do rodiny růstového faktoru pro fibroblasty (FGF – fibroblast growth factor). KGF stimuluje růst buněk také v oblasti sliznice dutiny ústní a střeva. Používá se u pacientů s chemoterapií nebo radioterapií. V průběhu klinického hodnocení redukoval incidenci a trvání orální mukositidy (298). Pro použití v této

indikaci byl schválen již v roce 2004 FDA (Food and Drug administration), o rok později také EMA (European Medicines Agency). KGF receptor je prezentován na epiteliálních buňkách v mnoha tkáních zahrnujících trávicí trakt, plíce, játra, kůži aj. (299).

Výsledky první fáze klinické studie zatím nejsou k dispozici, ale je možné, že do budoucna bude palifermin indikován ke zkrácení doby reepitelizace u pacientů s TEN. Otázkou ovšem zůstává cena. Pro průměrného dospělého pacienta s váhou 70 kg stojí podání paliferminu asi 130 000 Kč.

Oleogel-S10

Jedná se o nový a velmi potentní preparát v rámci wound-managementu akutních i chronických ran. Je získán extrakcí z březové kůry patentově chráněným „single step" procesem. Obsahuje celou řadu látek, nicméně dominantní zastoupení mají tzv. triterpeny (300). Výrazný potenciál triterpenů v akceleraci hojení ran je znám již relativně dlouho. Právě triterpeny jako betulin, lupeol nebo kyselina betulinová představují velmi nadějnou skupinu přírodních látek, které mají zajímavý potenciál v podpoře dělení keratinocytů, a mohou tedy akcelerovat hojení defektu a podporovat samotnou reepitelizaci (301).

Tato unikátní směs nejúčinnějších triterpenů prokázala výraznou efektivitu v podpoře reepitelizace u řady ran. Schválenou indikací pro použití oleogelu-S10 jsou kožní defekty u pacientů s epidermolysis bullosa, dále u pacientů s aktinickou keratózou a také pacientů s popáleninami (302). V roce 2012 jsem se účastnil s týmem spolupracovníků z KPRCH FN Brno jako hlavní zkoušející klinického hodnocení efektivity oleogelu-S10 v reepitelizaci donorských ploch. V rámci tohoto hodnocení naše klinika zařadila celkem 32 pacientů (37 %). Výsledky prokázaly nejen výraznou efektivitu v akceleraci reepitelizace donorských ploch, ale také lepší funkční a kosmetické výsledky z pohledu dlouhodobého sledování. Výsledky třetí fáze klinického hodnocení použití tohoto preparátu u donorských ploch jsou znázorněny v příloze č. 9.

V návaznosti na potvrzenou efektivitu u pacientů s epidermolysis bullosa a také u jiných typů ran je pravděpodobné, že tento preparát bude do budoucna úspěšně použit i u pacientů s TEN (u primárních i sekundárních kožních defektů). Nicméně v dnešní době se na schválení indikace pro použití u těchto pacientů čeká. **Je plánováno rozšíření indikací cestou další klinické studie.**

1.10.4 Management při postižení dýchacích cest u pacientů s TEN

Samotný přístup při postižení sliznic v oblasti dýchacích cest se řídí zejména anatomickou lokalizací. Zatímco v oblasti horních dýchacích cest je důležité podávání antiseptik, v oblasti dolních dýchacích cest dominuje provádění bronchoskopie a také intenzivní nebulizační terapie.

Vhodnými antiseptiky při postižení sliznic horních dýchacích cest jsou opět preparáty obsahující octenidindi hydrochlorid (Octenisept®), který mimo použití na samotné exfoliované kožní defekty má schválenou indikaci také pro použití na sliznice. Dalším hojně používaným preparátem je chlorhexidin diglukonát (Skinsept Mucosa®). Základním cílem pro aplikaci antiseptik do oblasti horních dýchacích cest je redukce počtu PPM a jejich další možná propagace do oblasti dolních dýchacích cest.

Pro dolní dýchací cesty je důležité provedení samotné bronchoskopie, a to ať již z pohledu diagnostického, tak také terapeutického. Obecně platí, že při nálezu slizničního postižení v oblasti dolních dýchacích cest je nutno bronchoskopii opakovat (optimálně po 3–5 dnech). Není možno aplikovat jednotný protokol pro provádění bronchoskopií, je nutná individualizace podle potřeb každého pacienta. Četné bronchoskopie přináší pro pacienty s TEN zvýšené riziko rozvoje infekčních komplikací a také riziko krvácivých projevů apod. Cílené bronchoskopické vyšetření umožňuje lepší toaletu dolních dýchacích cest, zejména pokud dochází k odlučování sliznice, a zabraňuje tak rozvoji atelektáz. Cílená bronchoskopie je také velmi důležitá v případě indikace weaningu a následné extubace, protože významným způsobem redukuje riziko reintubace.

V rámci komplexní mikrobiologické surveillance pacientů s TEN se veškerá kultivace z oblasti horních i dolních dýchacích cest (BAL – bronchoalveolární laváž, TBAS – tracheobronchiální aspirát aj.) provádí nejen na bakterie, ale také na kvasinky a plísně. V případě podezření na mikromycetární infekci v této oblasti je vyšetření doplněno také serologickou diagnostikou (např. galaktomanan).

V rámci nebulizace profitují pacienti s TEN podobně jako pacienti s inhalačním traumatem z podávání N-acetylcysteinu a dále také bronchodilatantií (salbutamol).

1.10.5 Oční management u pacientů s TEN

Přední oční segment bývá u pacientů s TEN kompromitován velmi často. Navíc pacienti, kteří přežijí TEN, mají mnohdy trvalé oční následky nejrůznějšího charakteru. Proto je role oftalmologa jak v akutní fázi, tak i v rámci dlouhodobého sledování pacientů s TEN naprosto nezastupitelná (152).

Každý pacient, u kterého je diagnostikována TEN, by měl být vyšetřen oftalmologem. Oční nález zaznamenává podobnou dynamiku jako kožní změny. Další terapie se řídí dle individuálního očního nálezu. Pokud jsou při oftalmologickém vyšetření zjištěny komplikace popsané v kapitole 1.7.2, je nutno neprodleně zahájit lokální terapii (oftalmologika).

Mezi nejdůležitější oftalmologika v konvenčním přístupu k pacientům s TEN patří kortikoidy, topická antibiotika a lubrikantia. Dalším důležitým úkonem, pokud je indikován, je pravidelné mechanické rozrušování adheze vznikající mezi tarzální a bulbární konjunktivou. U některých pacientů je v mezidobí vhodné vložit mezikruží do předního očního segmentu (154, 159, 303, 304).

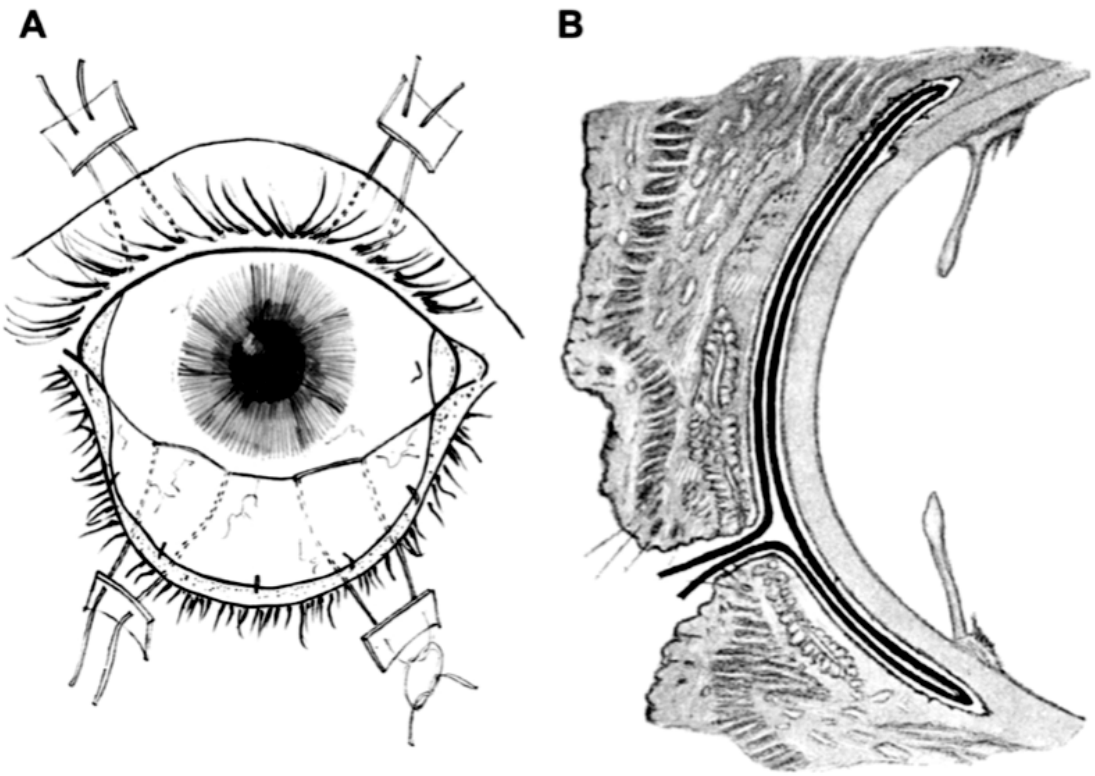
Kortikoidy jsou velmi často podávané v kombinaci s antimikrobiálním preparátem (Maxitrol® – neomycin, polymyxin B a dexamethason, Tobradex® – tobramycin a dexamethason, event. 0,5% chloramfenikol a 0,1% dexamethason). V topické léčbě se uplatňují také jiné preparáty ze skupiny imunosupresiv. Velmi dobrý klinický efekt je zaznamenáván také při lokálním podávání cyklosporinu A (305, 306).

Na rozdíl od celkového podání je u topické aplikace do oblasti předního očního segmentu přípustné profylaktické podávání antibiotik. Cílená antibiotická terapie je dále upravována podle kultivačních nálezů.

Jedna z nejčastěji používaných profylaktických kombinací v topickém použití je podání 0,5% moxifloxacinu (Vigamox®), 0,5% cyklosporinu A (Restasis®) a 0,1% dexamethasonu, kdy každý z preparátů se podává dvakrát denně. Na okraj víček se následně aplikuje Tobradex® mast na noc (307).

Transplantace amniové membrány u pacientů s TEN

Amniová membrána v chirurgické terapii pacientů se SJS nebo TEN byla poprvé použita Johnem v roce 2002 (308). Kobayashi spolu se svým kolektivem v roce 2006 modifikoval tuto techniku a dá se říci, že se v této podobě používá dodnes (309). Na obrázku č. 32 je schematicky znázorněno vložení a fixace amniové membrány.



Obr. č. 32 Schématické znázornění inzerce amniové membrány (A) přední pohled, (B) boční pohled. Adaptováno dle Meller et al. (310).

Výkon se provádí v celkové anestezii. Dnes se používá výhradně kryoprezerovaná amniová membrána. Použití amniové membrány v akutním období u pacientů s TEN je následování supresí inflamace, prevence konjunktivální adheze, ochrana povrchu rohovky před rozvojem infekčních komplikací (311).

Amniová membrána se používá také v rámci chirurgické korekce řady chronických komplikací po SJS nebo TEN.

1.11 Dlouhodobé následky u pacientů s TEN

Všichni pacienti s TEN by měli být dispenzarizováni po dobu minimálně 2 let. Důvodem je možný rozvoj komplikací, a to ať již v krátkodobém, nebo dlouhodobém horizontu. V rámci dispenzarizace je nutno myslet na kompromitaci nejen v oblasti kůže nebo předního očního segmentu, ale také na poškození některého z vnitřních orgánů (játra, ledviny, plíce aj.) (312). Komplikace mohou být jak somatického, tak i psychického charakteru. Podobně jako i u popálenin může být za psychickými problémy zejména změna tělesného schématu.

Vzhledem k charakteru postižení nepřekvapí, že kožní potíže dominují také mezi dlouhodobými komplikacemi. Výskyt těchto komplikací osciluje v rozmezí od 69–100 % (313). Z pohledu exfoliovaných ploch je důležité sledování charakteru zhojených defektů. I když se plochy zhojí spontánně, je určité riziko, že dojde k rozvoji patologického typu hojení – hypertrofických jizevnatých formací. Toto riziko se zvyšuje zejména v oblastech, ve kterých došlo k opakovaným lokálním infekcím (zejména gramnegativními bakteriémi) (314). U defektů, u nichž došlo ke konverzi a k definitivnímu uzávěru, byl použit dermo-epidermální štěp, je riziko rozvoje hypertrofických jizev také vyšší. Přesto je u těchto pacientů pravděpodobnost patologického hojení daleko menší nežli u pacientů s termickým traumatem.

Oplatek et al. sledovali dlouhodobé komplikace u pacientů s TEN (315). Celkem bylo za devítileté období hospitalizováno 64 pacientů s TEN (18 pacientů zemřelo v akutním období). Po propuštění zemřelo dalších 15 pacientů. Příčinou úmrtí těchto pacientů bylo multiorgánové selhání a také sepse. U řady pacientů se příčinu úmrtí nepodařilo zjistit. Žádný pacient ze skupiny přeživších neměl zaznamenanou rekurenci TEN. U 31 pacientů byly hodnoceny dlouhodobé komplikace. Z tohoto počtu mělo 81 % pacientů kožní problémy (depigmentace, jizvení, zvýšená svědivost, zarudnutí, reakce na změny teploty aj.). U 14 pacientů byly zjištěny během hospitalizace, tedy v akutní fázi, oční komplikace. Z tohoto počtu u 11 pacientů (79 %) byly zaznamenány dlouhodobé oční komplikace. U 23 % pacientů byly zjištěny renální problémy. Zajímavé bylo, že 73 % pacientů, u nichž bylo identifikováno slizniční poškození, mělo dlouhodobě prezentované slizniční eroze zejména v oblasti dutiny ústní (45 % pacientů) a jícnu (45 % pacientů).

Přítomnost očních komplikací v průběhu akutní fáze vede velmi často k dlouhodobým komplikacím zejména v oblasti předního očního segmentu (316, 317). Akutní konjunktivitida se mění na membranózní či pseudomembranózní formu. Zánět vede ke ztrátě pohárkových buněk a jizvení duktů slzných žláz. Následkem je rozvoj chronické formy suchého oka, což je nejčastější dlouhodobá oční komplikace u pacientů s TEN.

Všechny dlouhodobé následky po prodělání TEN snižují kvalitu života pacientů, a proto musí být pečlivě zaznamenány a promptně řešeny, pokud je vůbec řešení možné.

KAPITOLA II

Vlastní soubor pacientů – zhodnocení efektivity inovativního přístupu k pacientům, u nichž selhala primární terapie

2.1 Úvod:

Dodnes neexistuje spolehlivý koncept v přístupu k pacientům s TEN, který by efektivně snižoval jejich letalitu. Za neuspokojivými výsledky stojí hned několik kritických faktorů. Prvním jsou omezené možnosti terapeutické intervence v první linii léčby. Současné léčebné možnosti jsou diskutovány v kapitole I této habilitační práce. Druhým faktorem je dnes stále absentující terapeutická alternativa, kterou bychom dokázali pacientům s TEN nabídnout. Právě potřeba zavedení záložního terapeutického plánu pro tyto pacienty vedla k vytvoření zcela nového přístupu. Koncept prezentovaný v této habilitační práci je nejen celosvětově unikátní, ale jak bude popsáno dále, také stoprocentně efektivní.

2.2 Materiál a metodika

2.2.1 Základní epidemiologická charakteristika vlastního souboru pacientů

Do studie byli zahrnuti všichni pacienti s diagnózou TEN (L512 dle MKN-10), kteří byli léčeni na naší klinice v období od 1. ledna 1996 do 31. prosince 2016. U těchto pacientů byly sledovány a následně hodnoceny základní epidemiologické ukazatele (věk, pohlaví, délka hospitalizace, SCORTEN, ALDEN, přítomnost slizničního postižení, rozsah kožní exfoliace, nutnost umělé plicní ventilace a její délka, provedení tracheostomie apod.) spolu s ukazateli laboratorně-klinickými (biochemické, mikrobiologické a hematologické).

Velká pozornost byla věnována zejména infekčním komplikacím a jejich původcům, protože právě ty mají dnes dominantní podíl na letalitě pacientů s TEN. Vzhledem k tomu, že neexistuje doporučení pro diagnostiku infekčních komplikací u těchto pacientů, bylo nutno použít všeobecná kritéria platná pro popálené pacienty formulovaná v rámci ABA (American Burn Association) a doplněná o kritéria CDC (Centers for Disease Control and Prevention) pro jednotlivé typy infekčních komplikací s přihlédnutím k faktu, že zejména klinické příznaky nemusí být u pacientů s TEN vždy plně vyjádřeny (318, 319, 320).

Pro diagnostiku TEN bylo použito jak klinického obrazu, tak také histologické konfirmace. Metodika histologické konfirmace byla na naší klinice zavedena do rutinního přístupu k těmto pacientům až po roce 2007. Histologické ověření klinické diagnózy bylo tedy provedeno u 7 pacientů v souboru, kteří byli hospitalizováni po tomto roce.

U 4 pacientů byl pro progresi základního onemocnění použit „rescue“ postup (všichni pacienti byli hospitalizovaní pro TEN v letech 2012–2016). Aplikace tohoto konceptu byla schválena Etickou komisí FN Brno a použita u pacientů po vyčerpání všech současných terapeutických možností.

2.2.2 Nově postulovaný koncept přístupu k pacientům s TEN při selhání primární terapie („rescue“ postup)

Tento koncept jsem začal formuloval před několika lety v návaznosti na promptní úmrtí mladé pacientky s TEN. Ústředním imunosupresivem použitým v našem konceptu je CyA. Až do roku 2009 nebyl v terapii pacientů s TEN v ČR a na Slovensku CyA použit. První úspěšné použití CyA bylo právě u pacientky s touto diagnózou, léčenou na našem pracovišti (popsaná kazuistika je součástí přílohy č. 5). Proto se CyA stal základním stavebním kamenem nově vznikajícího konceptu v přístupu k pacientům s TEN. Na tento základní kámen se postupně dle vyšetření pacientů a jejich výsledků přidávaly další diagnostické metodiky a terapie se doplnila o další preparáty. Během šesti let tak vznikl

z celosvětového pohledu unikátní koncept, který v sobě zahrnuje řadu inovativních postupů, jež nebyly doposud publikovány. Vzhledem k tomu, že je tento koncept relativně složitý, rozdělil jsem následující text na logicky navazující části tak, aby byl písemným podáním pro čtenáře snadněji pochopitelný.

2.2.2.1 Mikrobiologické vyšetření a analýzy (spolupráce s Oddělením klinické mikrobiologie FN Brno)

V případě infekčních komplikací je nutno na začátek podotknout, že u pacientů s TEN jsou mnohdy klinické příznaky infekce potlačeny charakterem základní léčby, proto diagnostika těchto komplikací patří do rukou kliniků s největšími zkušenostmi. U všech pacientů je bezprostředně po přijetí nutno provést kompletní mikrobiologické vyšetření – odběr materiálu z oblasti dýchacích cest (výtěr nosohltanu a oropharyngu, sputum, u intubovaných pacientů vyžadujících umělou plicní ventilaci tracheobronchiální aspirát – TBAS, bronchoalveolární laváž – BAL), stěr z rekta, exfoliovaných ploch (otisky i stěry), odběr moči a hemokultury (aerobní i anaerobní), v případě postižení sliznice oka také stěry z oblasti předního očního segmentu. Tyto materiály jsou v co možná nejkratší době odeslány k dalšímu zpracování do laboratoře klinické mikrobiologie.

Biologický materiál je dále nanesen na základní kultivační půdy, selektivní půdy dle typu materiálu a požadavků zasílajícího lékaře. U tekutých materiálů (aspiráty, punktáty apod.) je vždy zhotoven mikroskopický preparát. Materiály k hemokultivaci zasílané v hemokultivačních lahvičkách již s růstovým médiem jsou vloženy do přístroje k automatické kultivaci.

Zpracování biologického materiálu z oblasti exfoliovaných ploch

Stěry z exfoliovaných ploch se provádí sterilním vatovým tamponem zanořeným následně do transportní půdy (AMIES). Po transportu do mikrobiologické laboratoře je materiál nanesen na kultivační půdy – krevní agar, McConkey agar (selektivní agar pro gramnegativní mikroby), krevní agar s přídavkem NaCl (selektivní agar pro stafylokoky) a VL agar (kultivace anaerobně rostoucích mikrobů). Nelze hodnotit kvantitu. Výhodou této metody je anaerobní kultivace. Podobně jako u popálených pacientů nepatří anaerobní mikroorganismy ani u pacientů s TEN ke stěžejním původcům ranné infekce.

Otisky z exfoliovaných ploch se provádí přiložením proužků sterilního filtračního papíru na exfoliovanou plochu a jejich přenesením na kultivační půdy – krevní agar, McConkey agar, URIselect (chromogenní kultivační půda pro záchyt gramnegativních i

grampozitivních mikrobů s barevným odlišením růstu). Jedná se o semikvantitativní metodu, která již umožňuje kvantitativní sledování mikrobiálního osídlení rané plochy, jeho změny v čase a tím i účinnosti léčby. Nevýhodou této metody je, že neumožňuje anaerobní kultivaci.

Zpracování biologického materiálu z oblasti horních a dolních dýchacích cest

Biologický materiál z dýchacích cest je nanesen na základní kultivační půdy – krevní agar, McConkey agar. Materiály odebírané z dolních dýchacích cest se dále očkují na VL agar pro anaerobní zpracování. U tekutých materiálů (TBAS, BAL) je přidáván krevní agar s přídavkem NaCl a čokoládový agar (obohacený o živiny získané lýzou erytrocytů pro lepší růst náročnějších mikrobů – *Haemophilus* spp. apod.) a také je vždy zhotoven mikroskopický preparát. U materiálů s převahou leukocytů a mikroskopicky jednotného typu mikroba je možno usuzovat na původce infekce a zacílit alespoň předběžně antibiotickou terapii.

TBAS, sputa a materiály získané z BALu se zpracovávají semikvantitativními metodami (tracheální aspiráty a sputa ředěním, BAL nanesením kalibrovanou kličkou), což umožňuje odlišení mikrobů pouze kolonizujících horních cest dýchacích a mikrobů způsobujících infekci dolních dýchacích cest.

Zpracování moči

Moče od pacientů FN Brno jsou kultivovány na krevním agaru a McConkey agaru. Materiál je nanesen kalibrovanou kličkou (1 μl), což umožňuje kvantitativní hodnocení růstu mikrobů následující den (rozmezí od $<10^4$ do $>10^5$ mikrobů v 1 ml moči).

Zpracování hemokultur

Krev k hemokultivaci je odebírána do hemokultivačních lahviček s již definovaným obsahem růstového média a inhibitorů antibiotik. Tyto jsou zasílány do mikrobiologické laboratoře a vloženy do přístroje sloužícího k automatické kultivaci (Bactec). Pokud přístroj detekuje růst mikroba, je zhotoven mikroskopický preparát a tekutina z lahviček je nanesena na krevní agar, McConkey agar, URIselect a v případě anaerobních kultivačních lahviček také na VL agar. Nález v mikroskopickém preparátu je neprodleně hlášen klinickému lékaři a umožňuje zacílení antibiotické terapie.

Další postup kultivace a identifikace PPM

Kultivační půdy jsou inkubovány 18–24 hodin při teplotě 35–37 °C, krevní agar a čokoládový agar v atmosféře se zvýšenou tenzí CO_2, VL agar v anaerobní atmosféře, ostatní půdy v běžné atmosféře. Při negativním kultivačním nálezu za 24 hodin je u většiny materiálů kultivace prodloužena na 48–72 hodin. Hemokultivační lahvičky se kultivují v automatickém systému 6 dní.

Pokud je požadována kultivace na kvasinky a plísně (což u pacientů s TEN je vhodné vždy), doplní se sestava kultivačních půd o Sabouraudův agar. Tento materiál je inkubován samostatně. Kvasinky se inkubují 6 dní při teplotě 28–30 °C, inkubace plísně poté trvá 7 dní při pokojové teplotě a teplotě 35–37 °C. Při podezření na invazivní mykotickou infekci lze využít stanovení houbových antigenů v krvi – galaktomananu (aspergilový antigen) a 1,3-beta-D-glukanu (panfungální antigen).

Identifikace mikroorganismů se v současné době v laboratoři OKM provádí většinou pomocí biotyperu MALDI-TOF. Výhodou je větší databáze mikroorganismů a tím přesnější identifikace a zejména rychlost identifikace ve srovnání s dříve používanými komerčními soupravami. Identifikace pomocí komerčně vyráběných souprav ENTEROtest 24 (Erba Lachema s.r.o.), STAPHYtest 24 (Erba Lachema s.r.o.), BBL crystal® (Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, USA), API Systém rapid (BioMérieux SA, Lyon, Francie) vyžadovala 24hodinovou inkubaci v termostatu, pomocí biotyperu je výsledek k dispozici během několika hodin.

U mikroorganismů, které jsou identifikovány v daném biologickém materiálu jako možné nebo jisté etiologické agens, je stanovena citlivost k antibiotikům. Základní metodou jejímu stanovení je disková difúzní metoda, kdy je citlivost, resp. rezistence baktérie k antibiotikům stanovena na základě hodnocení inhibičních zón, které vytvoří mikroorganismus kolem disku s antibiotikem po předepsané době inkubace. V některých případech je pak tato metoda stanovení citlivosti doplněna o stanovení hodnot MIC – minimální inhibiční koncentrace (koncentrace antibiotika, která je schopna zastavit růst mikroba). Stanovení citlivosti k antibiotikům pomocí MIC je vždy prováděno u kultivačních nálezů v hemokulturách.

2.2.2.2 Hematologické analýzy (spolupráce s Oddělením klinické hematologie FN Brno)

Kvantitativní stanovení aktivity antitrombinu v plazmě

Preanalýza:

Pro vyšetření AT se používá citrátová plazma získaná odběrem venózní krve (3 ml) do umělohmotné odběrové zkumavky s citrátem sodným v ředění 1:10. Analytický vzorek se připravuje centrifugací (15 minut při 2500 g).

Metodika:

Stanovení anti-Xa aktivity AT v plazmě se provádí fotometrickou metodou s použitím reagencie DG-Chrom AT L (Grifols s.r.o.) na koagulačních automatech STA R (Diagnostika Stago). Toto vyšetření je prováděno v rutinním a statimovém režimu, i jako vitální indikace. Dostupnost tohoto vyšetření je po celých 24 hodin denně.

2.2.2.3 Imunologické analýzy (spolupráce s Ústavem klinické imunologie a alergologie FN U Svaté Anny)

Imunofenotypizace metodou průtokové cytometrie

Preanalýza:

Odběr venózní krve do 2,7 ml odběrové zkumavky s EDTA (Sarstedt Monovette®). Do zpracování uchovávat při laboratorní teplotě.

Metodika:

Pomocí fluorescenčně značených monoklonálních protilátek proti charakteristickým povrchovým antigenům byla metodou průtokové cytometrie (CYTOMICS FC 500 firmy Beckman Coulter, USA) provedena diferenciace buněčných populací a subpopulací. Bylo stanoveno následující spektrum povrchových antigenů: CD3, CD4, CD8, CD14, HLA-DR, CD38.

2.2.2.4 Biochemické analýzy (spolupráce s Oddělením klinické biochemie FN Brno a Biochemickým ústavem LF MU)

Stanovení plazmatické koncentrace cyklosporinu A

Preanalýza:

Odběr krve pro stanovení CyA je prováděno primárně do zkumavky s EDTA 2,7 ml (Sarstedt Monovette®). Pro stanovení lze použít i heparinovou krev, ale stabilita vzorku je v tomto případě kratší a stanovení musí být provedeno tentýž den. CyA má tendenci akumulovat se na povrchu kanyl, takže při nesprávném odběru může dojít k změření falešně zvýšených hodnot.

Metodika:

Zkumavka je transportována za běžných podmínek do laboratoře, kde je do alikvotu nesrážlivé krve vzorku přidáno deproteinizační činidlo a směs je centrifugována 4 minuty při 3500 RCF (relative centrifugal force). Supernatant je poté přemístěn do speciální zkumavky (Transplant Pretreatment Tube) a ta je analyzována v přístroji Architect i1000 SR, kde je zpracována dvoukrokovou metodou CMIA (chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích). Vzorek je smíchán s ředicím roztokem s paramagnetickými mikročásticemi, které jsou potažené protilátkou proti cyklosporinu. Po navázaní antigenu je směs promyta. Paramagnetické částice jsou během promývání drženy magnetem na stěnách zkumavky. V druhém kroku je k této směsi přidán konjugát CyA s akrinidinem, který je navázán na neobsazená vazebná místa na mikročásticích. Nenavázaný přebytek je promyt. Poté je přidán pre-trigger vytvářející kyselé prostředí, které zabraňuje předčasnému uvolnění energie a slouží k odštěpení akridininu z konjugátu navázaného na komplex mikročástice (registrace pozadí). Chemiluminiscenční reakce je spuštěna přidáním triggeru a dochází ke změření emise záření (aktivované čtení). Konečné čtení (RLU – relative light unit) odpovídá rozdílu aktivovaného čtení a pozadí. Množství CyA je nepřímo úměrné signálu v jednotkách RLU. Na základě kalibrace metody na standardní materiál se známou koncentrací cyklosporinu je výsledek RLU přepočten na koncentraci analytu ve vzorku.

Kometová analýza: stanovení poškození DNA u cirkulujících lymfocytů

Kometová analýza (comet assay) neboli gelová elektroforéza jednotlivých buněk (SCGE – single cell gel electrophoresis) je mikroelektroforetická metoda pro zjištění poškození DNA jednotlivých buněk. Tato metoda byla poprvé publikována v roce 1984 Ostlingem a Johansonem a do dnešní doby prošla řadou modifikací (320). V současnosti jde o standardní techniku v biomonitoringu nebo stanovování genotoxicity (321, 322). Na naší klinice byla tato metoda úspěšně zavedena do „rescue“ postupu u pacientů s TEN léčených CyA k monitoraci poškození DNA cirkulujících lymfocytů.

Detailní metodika provedení kometové analýzy u pacienta s TEN je popsána v příloze č. 10. Jedná se o první popis použití kometové analýzy u pacienta s TEN vůbec.

2.2.2.5 Farmakologie konceptu

Jak již bylo zmíněno výše, základním stavebním kamenem v „rescue“ postupu je CyA. Podávání tohoto preparátu by dnes v reflexi na současné patofyziologické poznání mělo být favorizováno u všech pacientů s TEN. Otázkou, která není dodnes spolehlivě zodpovězena, je

dávkování CyA. V našem konceptu jsme zvolili intenzivnější dávkovací schéma po kratší dobu (5 dní). Další dosud nezodpovězenou otázkou je efektivní plazmatická koncentrace CyA (plazmatická koncentrace, při které dochází k zastavení progrese kožních a slizničních projevů). Dle vlastních zkušeností dnes již víme, že efektivní plazmatická koncentrace CyA je minimálně 180–200 ng/ml. Tato koncentrace byla doposud u všech pacientů dosažena při dávce CyA 5mg/kg a den (děleno do dvou denních dávek) a podávání po dobu právě 5 dní. Pro dosažení plazmatické koncentrace není rozdíl v administraci samotného CyA (i. v., p. o.).

Bohužel se pacienti s TEN dostávají do popáleninových center relativně pozdě a většinou s progresí po neúspěšné terapii zavedené kortikoidy. Samotné podávání CyA nemusí u těchto pacientů ve fulminantní fázi postačovat. Vzhledem k tomu, že u těchto pacientů je už jakási nezávislost projevů na periferii (zejména v oblasti dermis), za kterou odpovídá interakce CD95R a CD95L mezi keratinocyty, je naprosto nezbytné doplnit CyA o podávání IVIg. Naše dávkovací schéma IVIg je délkou totožné s podáváním CyA (5 dní) a dávka IVIg je spíše nižší (0,2 mg/kg a den) v porovnání s dostupnými informacemi ze světové literatury.

Třetí nejdůležitější součástí je podávání antitrombinu (AT), dříve také antitrombinu III, u pacientů s TEN. Podávání AT pacientům s TEN je v této souvislosti naprostou inovací. První popis benefitu AT pro pacienty s TEN je součástí této habilitační práce (příloha č. 11). Navíc jsme zjistili, že vstupní hodnoty AT velmi silně korelují s pravděpodobností přežití pacientů s TEN. Podávání AT u těchto pacientů je naprosto individuální dle výsledků plazmatické koncentrace (snaha o plazmatickou aktivitu kolem 120 %). Pro výpočet požadovaných jednotek AT se používá běžně dostupný vzorec (**Počet požadovaných jednotek AT** = [žádoucí – aktuální hodnota AT] x [t. hm. kg] : 1,4).

Také bych rád doplnil, že u pacientů s TEN dochází podobně jako u popálených pacientů k hypoproteinemii. Na našem pracovišti je nastaven transfuzní trigger pro albumin 25 g/l a pro celkovou bílkovinu 55 g/l. Při poklesu plazmatické koncentrace celkové bílkoviny pod tuto hodnotu se podává čerstvě zmražená plazma (ČZP v průměru obsahuje asi 200j AT) a tato skutečnost musí být také kalkulována.

V našem konceptu nikdy neiniciujeme terapii kortikosteroidy, nicméně vzhledem k tomu, že pacienti jsou transferováni z jiných nemocničních zařízení a mají vždy zavedenu terapii kortikosteroidy, postupujeme konceptem individualizované deeskalace dávek. Krátká a intenzivní imunosupresivní fáze je nahrazena fází imunostimulační. Hlavní preparát používaný v této fázi je Tranferendi factor suillus.

Transferendi factor suillus (vepřový přenosový faktor)

Látka přenášející reakci specifické imunity z imunizovaného dárce na neimunizovaného příjemce nese obecně označení transfer faktor (přenosový faktor) (324).

V České republice se používají dva typy transfer faktorů:

1) Dialyzovaný leukocytární extract (DLE) humanních leukocytů (IMMODIN®, Sevac a. s.)
2) Ultrafiltrovaný leukocytární extrakt (ULE) leukocytů vepřů (IMUNOR®, ImunomedicA a. s.)

U našich pacientů jsme použili preparát IMUNOR®. Jedná se o lyofilizovaný ultrafiltrát dezintegrovaných bílých krvinek zdravých vepřů. Jedna tableta obsahuje 10 mg Transferendi factor suillus. Před samotným podáním se tableta rekonstituuje pomocí aqua purificata a používá se výhradně perorálně nalačno. Jedna tableta obsahuje ultrafiltrát z $2x10^{10}$ leukocytů. Takto vzniklý ultrafiltrovaný extrakt obsahuje směs nízkomolekulárních peptidů (molekulová hmotnost menší nežli 12 kDa) a regulačních produktů T lymfocytů. Použití tohoto preparátu je indikováno pro případy prokázané poruchy buněčné imunity (deprese počtu T lymfocytů, odchylky v počtu CD4+, CD8+ T lymfocytů). Mezi jeho další indikace patří např. deficity humorální imunity se sníženými hladinami imunoglobulinů. V současné době je jeho použití schváleno nejen pro dospělé pacienty, ale také pro děti starší 3 let. Dávkování je striktně individuální a u pacientů s TEN se řídíme doporučením konzultujícího imunologa.

Mechanismus účinku je komplexní. Transferendi factor suillus patří do skupiny tzv. imunostimulancií. Vlastní přenosový efekt vede k aktivaci nekompetentních lymfocytů, takže jsou následně schopny rozpoznat cizí antigeny a reagovat na ně proliferací a diferenciací (325).

Aktivuje také chemotaxi a fagocytární aktivitu makrofágů a polymorfonukleárů. Zvyšuje syntézu nukleových kyselin, uplatňuje se rovněž v antiinflamatorním a antiedematózním efektu (326).

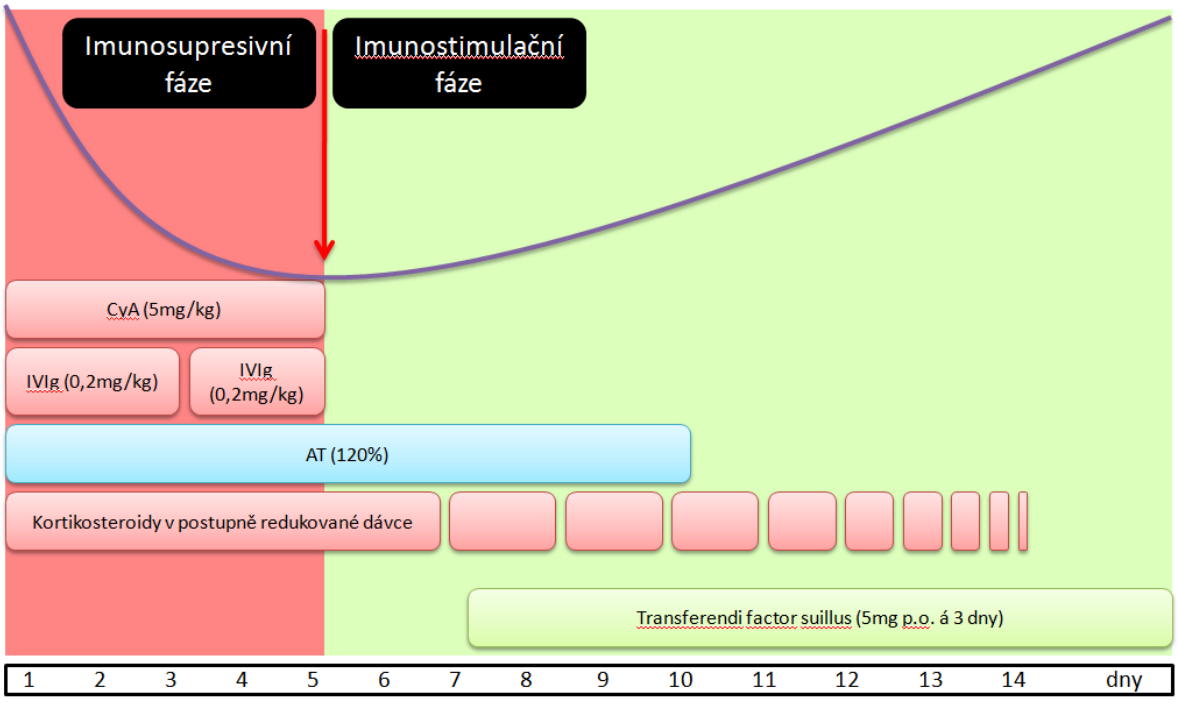
2.2.2.6 Statistické metody

Spojité proměnné jsou popsány průměrem, mediánem, minimem a maximem. Výsledky jsou uváděny jako průměrná hodnota ± směrodatná odchylka. Kategoriální proměnné jsou popsány jako počet osob a procentuální zastoupení. Pro statistické hodnocení byly použity neparametrické testy z důvodu porušení předpokladu normality dat a vzhledem k

malému počtu pacientů v souboru. Výsledky statistického hodnocení jsou popsány p-hodnotami Mann-Whitneyova testu pro srovnání rozdělení pravděpodobnosti spojitých a ordinálních proměnných mezi dvěma skupinami pacientů. Nezávislost dvou kategoriálních proměnných je hodnocena Fisherovým exaktním testem. Tučně zvýrazněné p-hodnoty jsou statisticky významné na hladině významnosti 0,050 (p-hodnota ≤ 0,050). V okamžiku, kdy v jedné z hodnocených skupin nebo v jedné z hodnocených kategorií je pouze jeden pacient, není statistické hodnocení provedeno a místo p-hodnoty je uveden "–".

2.2.2.7 Shrnutí léčebného protokolu

Základní podstatou „rescue“ postupu je krátká a intenzivní fáze imunosuprese, která je po 5 dnech doprovázena zhodnocením klinického stavu a lokálního nálezu. Vzhledem k tomu, že u všech případů takto léčených pacientů došlo po této době k zastavení progrese základního onemocnění, je následně aplikován Transferendi factor suillus v rámci imunostimulace pacientů, která je klíčová pro efektivní konfrontaci s PPM, a tedy pro snížení rizika rozvoje infekčních komplikací, které by mohly mít pro pacienty fatální následky. Léčebný protokol je graficky znázorněn na obrázku č.33.



Obr. č. 33 Grafické znázornění výše definovaného „rescue“ postupu (imunosupresivní a imunostimulační fáze) v průběhu 14 dní (CyA – cyklosporin A, IVIg – intravenózní imunoglobuliny, AT – antitrombin).

2.3 Výsledky

2.3.1 Základní epidemiologické ukazatele pacientů s TEN

Celkem bylo ve sledovaném období léčeno na Klinice popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno 14 pacientů s diagnózou TEN. Z tohoto počtu byli hospitalizováni pouze 3 muži (M:F 1:3,7). Průměrný věk u pacientů v souboru byl 50,0 ± 23,8 let, průměrný rozsah exfoliované plochy byl 69,4 ± 25,7 % TBSA. Všichni pacienti v souboru byli transferováni na naši kliniku sekundárně po primární hospitalizaci pro TEN či jiné onemocnění a k rozvoji TEN došlo až v průběhu terapie jiného základního onemocnění.

Závažnost celkového stavu byla hodnocena pomocí SCORTEN. Průměrná hodnota tohoto ukazatele u všech pacientů v souboru byla 3,4 ± 1,1, dva pacienti dosahovali hodnoty 5, což reprezentuje až 90% letalitu. Průměrná hodnota SCORTEN u pacientů, kteří zemřeli, byla 3,6 ± 1,0, u pacientů, kteří přežili, 3,1 ± 1,2. Pacienti léčení „rescue“ postupem měli průměrnou vstupní hodnotu SCORTEN 3,8 ± 1,3, vykazovali tedy horší prognózu než pacienti, kteří zemřeli. Průměrná doba mezi začátkem příznaků a začátkem hospitalizace v našem centru byla u pacientů, kteří zemřeli, 5,6 ± 2,3 dní a 8,3 ± 5,6 dní u všech přeživších pacientů. U pacientů léčených „rescue“ postupem byla tato doba 8,5 ± 5,2 dní. Průměrná délka hospitalizace u všech pacientů byla 23,5 ± 14,0 dní, u zemřelých pacientů 14,3 ± 13,4 dní, u pacientů s „rescue“ postupem 28,0 ± 3,6 dní. Zbylí dva pacienti, kteří přežili bez „rescue“ postupu, byli hospitalizováni 41, resp. 42 dní.

Průběh hospitalizace si u celkem 11 pacientů (78,6 %) vyžádal umělou plicní ventilaci (UPV). Průměrná doba UPV u všech pacientů v souboru byla následně 10,5 ± 7,6 dní, u zemřelých pacientů 8,4 ± 5,0 dní, u pacientů léčených „rescue“ postupem 15,7 ± 14,1 dní.

Histologická konfirmace byla provedena u 7 pacientů (všichni byli hospitalizováni po roce 2007). Před tímto rokem se histologická konfirmace na naší klinice neprováděla. Celkem u 3 pacientů byla zaznamenána ztráta schopnosti reepitelizace části z exfoliovaných ploch (konverze rány) s následnou jedinou možností definitivního uzávěru dermo-epidermálním štěpem. Pouze u jedné pacientky s konverzí kožního defektu dospěl stav k samotné autotransplantaci dermo-epidermálním štěpem, u zbylých pacientů došlo k úmrtí vlivem progrese základního onemocnění.

Vzhledem k relativně malému počtu pacientů v našem souboru se nedá jednoznačně identifikovat rizikový preparát z pohledu rozvoje TEN. Mezi nejčastěji identifikované skupiny léků patřily antikonvulziva (lamotrigin, valproát, fenytoin) nebo antimikrobiální preparáty (potencované aminopeniciliny, trimetoprim-sulfamethoxazol). Základní epidemiologické ukazatele spolu s dalšími důležitými údaji jsou shrnuty v tabulce č. 15.

V našem souboru zemřelo 7 pacientů, tedy polovina. V žádném ze sledovaných základních epidemiologických ukazatelů jsme nenašli statisticky signifikantní rizikový faktor pro letalitu pacientů v souboru. V tabulce č. 16 jsou popsány nejdůležitější epidemiologické a laboratorní parametry sledované v kontextu letality pacientů v souboru. Vzhledem k mediánu hodnoty SCORTEN (3,5), byla predikovaná letalita v rozmezí 35,3 % (očekávaná letalita pro SCORTEN 3) a 58,3 % (SCORTEN 4). Reálná letalita dosahovala 50 %, což je v korelaci s letalitou očekávanou. Při detailnější analýze počtu úmrtí u jednotlivých kategorií SCORTEN jsme zjistili, že u pacientů se SCORTEN 2 byla reálná letalita 25 % (očekávaná 12,1 %), se SCORTEN 3 67 % (očekávaná 35,3 %), se SCORTEN 4 60 % (očekávaná 58,3 %) a se SCORTEN 5 50 % (očekávaná >90 %). I když parametry pro výpočet SCORTEN jsou omezené, ze získaných dat se dají vyvodit jednoznačné závěry. Se vzrůstající hodnotou SCORTEN narůstá také úspěšnost naší terapie a tato skutečnost je dána zejména zavedením „rescue“ postupu do terapie pacientů s TEN. Tabulka č. 17 shrnuje vzájemnou souvislost mezi dosaženými hodnotami SCORTEN a letalitou pacientů v souboru.

Pacient	Pohlaví	Věk	Rozsah exfoliace[1]	Postižení sliznic	SCORTEN[2]	Exitus	Vyvolávající preparát	Doba[3]	Hospitalizace celkem (dny)	Hospitalizace JIP (dny)	UPV	UPV (dny)
1	Ž	81	33	N	5	N	Valproát, Fenytoin	5	24	24	A	7
2	Ž	31	95	A	2	N	Tetrazepam	16	41	38	N	-
3	Ž	77	60	N	4	N	Nitrofurantoin	16	31	31	N	-
4	M	23	35	A	2	N	Paracetamol	8	26	23	A	10
5	Ž	33	85	A	4	A	Amoxicilin + klavulanová kys.	3	8	8	A	7
6	M	75	100	A	4	A	Ampicilin	4	7	7	A	7
7	Ž	30	65	A	3	N	Amoxicilin + klavulanová kys.	6	34	26	A	8
8	Ž	69	99	A	3	A	Norfloxacin , ASA Paracetamol	5	9	9	A	9
9	Ž	66	40	N	2	N	Amoxicilin + klavulanová kys. Ibuprofen	2	42	14	N	-
10	Ž	77	60	A	4	A	Trimethoprim sulfamethoxazol	5	19	19	A	19
11	Ž	20	90	A	2	A	Penicilin	5	5	5	A	5
12	M	68	35	A	3	A	Amoxicilin + klavulanová kys.	10	43	43	A	4
13	Ž	30	90	A	5	A	Lamotrigin Venlafaxin	7	9	9	A	9
14	Ž	20	85	A	4	N	Lamotrigin	5	31	31	A	30

Tab. č. 15 Základní epidemiologické ukazatele u pacientů s TEN (ASA – kyselina acetylsalicylová). [1] rozsah exfoliace v % TBSA, [2] SCORTEN hodnocen při přijetí, [3] doba mezi začátkem příznaků a přijetím do našeho centra.

		Exitus			0-7 dní letalita		8-28 dní letalita		29-50 dní letalita		Statistické hodnocení[1]			
		Celkem	ano	ne	ano	ne	ano	ne	ano	ne	Exitus	0-7 dní letalita	8-28 dní letalita	29-50 dní letalita
N		14	7	7	2	12	4	8	1	7	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota
Věk		50; 50 (20; 81)	53; 68 (20; 77)	47; 31 (20; 81)	48; 48 (20; 75)	50; 50 (20; 81)	52; 51 (30; 77)	50; 49 (20; 81)	68; 68 (68; 68)	47; 31 (20; 81)	0,701	0,647	0,609	–
Pohlaví	Muž	3 (21 %)	2 (29 %)	1 (14 %)	1 (50 %)	2 (17 %)	0	2 (25 %)	1 (100 %)	1 (14 %)				
	Žena	11 (79 %)	5 (71 %)	6 (86 %)	1 (50 %)	10 (83 %)	4 (100 %)	6 (75 %)	0	6 (86 %)				
Počet měření pro následující parametry		11	4	7	1	10	2	8	1	7				
Množství krevní plasmy j.		28; 24 (0; 82)	39; 32 (9; 82)	22; 19 (0; 52)	9; 9 (9; 9)	30; 25 (0; 82)	54; 54 (26; 82)	24; 22 (0; 52)	38; 38 (38; 38)	22; 19 (0; 52)	0,257	0,343	0,192	–
Množství AT j.		4 636; 2 500 (0; 22 000)	1 875; 2 250 (0; 3 000)	6 214; 5 500 (0; 22 000)	0; 0 (0; 0)	5 100; 2 750 (0; 22 000)	2 750; 2 750 (2 500; 3 000)	5 688; 3 750 (0; 22 000)	2 000; 2 000 (2 000; 2 000)	6 214; 5 500 (0; 22 000)	0,446	0,202	1,000	–
Krev j.		2; 2 (0; 6)	2; 2 (0; 4)	2; 2 (0; 6)	0; 0 (0; 0)	2; 2 (0; 6)	2; 2 (1; 2)	3; 3 (0; 6)	4; 4 (4; 4)	2; 2 (0; 6)	0,702	0,200	0,598	–
Doba od příznaků k hospitalizaci		8; 6 (2; 16)	6; 6 (3; 10)	8; 6 (2; 16)	5; 5 (5; 5)	8; 7 (2; 16)	5; 5 (3; 7)	9; 7 (2; 16)	10; 10 (10; 10)	8; 6 (2; 16)	0,702	0,522	0,431	–

Tab. č. 16 Vliv vybraných epidemiologických a klinických parametrů na letalitu pacientů s TEN v souboru. [1] hodnoceno pomocí Mannova-Whitneyova testu.

		Exitus			0-7 dní letalita		8-28 dní letalita		29-50 dní letalita		Statistické hodnocení [1]			
		Celkem	ano	ne	ano	ne	ano	ne	ano	ne	Exitus	0-7 dní letalita	8-28 dní letalita	29-50 dní letalita
N		14	7	7	2	12	4	8	1	7	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota
SCORTEN příjem	2	4 (29 %)	1 (14 %)	3 (43 %)	1 (50 %)	3 (25 %)	0	3 (38 %)	0	3 (43 %)	0,464	0,635	0,187	–
	3	3 (21 %)	2 (29 %)	1 (14 %)	0	3 (25 %)	1 (25 %)	2 (25 %)	1 (100 %)	1 (14 %)				
	4	5 (36 %)	3 (43 %)	2 (29 %)	1 (50 %)	4 (33 %)	2 (50 %)	2 (25 %)	0	2 (29 %)				
	5	2 (14 %)	1 (14 %)	1 (14 %)	0	2 (17 %)	1 (25 %)	1 (13 %)	0	1 (14 %)				

Tab. č. 17 Vztah mezi závažností TEN (SCORTEN) a letalitou. [1] hodnoceno pomocí Mannova-Whitneyova testu (SCORTEN hodnoceno jako ordinální proměnná).

Přestože u pacientů s TEN rozhoduje o přežití celá řada faktorů, nejdůležitějším je bezesporu charakter celkové terapie. Vzhledem k tomu, že pacienti v našem souboru byli léčeni různými preparáty (žádný z pacientů nebyl léčen přístupem „wait and see“, tedy pouze podpůrnou terapií), zhodnotili jsme také charakter celkové terapie a její vliv na letalitu pacientů s TEN.

První otázkou, na kterou jsme chtěli znát odpověď, byl vliv dávky kortikosteroidů na samotnou letalitu. Zajímavým, ale trochu očekávaným zjištěním bylo, že všichni pacienti v souboru, u kterých bylo podáno vyšší množství kortikosteroidů (VDK = metylprednisolon v dávce vyšší nežli 1000 mg denně nebo jeho ekvivalent) zemřeli (N = 6). Naopak ve skupině pacientů, kteří dostávali metylprednisolon v dávce nižší nežli 1000 mg, zemřel pouze 1 pacient a ostatních 7 přežilo. Z tohoto pohledu je pochopitelné a jasně definované, že pouze navyšování dávek kortikosteroidů při progresi onemocnění nevede k požadované terapeutické efektivitě. Nutno ovšem dodat, že pacienti, kteří dostávali vyšší dávky kortikosteroidů (≥ 1000 mg metylprednisolonu denně nebo jeho ekvivalent), byli ve všech případech léčeni pouze kortikosteroidy. U pacientů, kteří dostávali kortikosteroidy v menším množství, byly pouze u jednoho pacienta použity v monoterapii, u 6 pacientů byly kortikosteroidy podávány v kombinaci s jiným preparátem. Do této kapitoly také patří pacienti v inovativním terapeutickém schématu, kteří byli léčeni pro progresi při již zavedené terapii.

Z našich výsledků vyplynulo, že podávání kortikosteroidů má zásadní význam pro letalitu pacientů s TEN, zejména pokud jde o vyšší dávky nebo eskalované dávkovací schéma.

U kortikosteroidů je rozdíl natolik významný, že i přes relativně malý soubor pacientů je dosaženo statisticky signifikantních hodnot. V porovnání úmrtí u pacientů s vysokodávkovaným (VDK) a nízkodávkovaným (NDK) schématem kortikosteroidů je $p = 0{,}005$ (v období od 7. do 28. dne je dokonce rozdíl v letalitě $p = 0{,}002$).

Při porovnávání vlivu dalších preparátů na letalitu pacientů s TEN nebylo dosaženo statisticky signifikantních hodnot. Nicméně v některých případech je to dáno zejména malým počtem pacientů. V této souvislosti bych chtěl vyzvednout efektivitu zejména CyA u pacientů s TEN v našem souboru. Z celkového počtu 6 pacientů, kterým byl podán CyA, zemřel pouze jeden pacient. Navíc u tohoto pacienta byla zahájena terapie CyA opožděně (3. den hospitalizace) pro fulminantní průběh. U zbylých 5 pacientů byl podán CyA bezprostředně po přijetí k hospitalizaci. IVIg byl aplikován 5 pacientům, 4 pacienti přežili.

„Rescue“ postupem byli léčeni 4 pacienti s progresí základního onemocnění, u kterých by dříve byla volena eskalační terapie kortikosteroidy. Z našeho pohledu prokázal „rescue“

postup naprosto jedinečnou efektivitu. Nikdo z pacientů, u nichž byl aplikován, nezemřel, přestože dle SCORTEN měli ze všech skupin pacientů nejhorší prognózu. Srovnání jednotlivých preparátů v celkovém podání a jejich vliv na letalitu pacientů v souboru je znázorněn v tabulce č. 18, 19.

		Exitus			0-7 dní letalita		8-28 dní letalita		29-50 dní letalita		Statistické hodnocení[1]			
		Celkem	ano	ne	ano	ne	ano	ne	ano	ne	Exitus	0-7 dní letalita	8-28 dní letalita	29-50 dní letalita
N		14	7	7	2	12	4	8	1	7	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota
CyA	ano	6 (43 %)	1 (14 %)	5 (71 %)	0	6 (50 %)	1 (25 %)	5 (63 %)	0	5 (71 %)	0,103	0,473	0,545	–
	ne	8 (57 %)	6 (86 %)	2 (29 %)	2 (100 %)	6 (50 %)	3 (75 %)	3 (38 %)	1 (100 %)	2 (29 %)				
IVIg	ano	5 (36 %)	1 (14 %)	4 (57 %)	0	5 (42 %)	1 (25 %)	4 (50 %)	0	4 (57 %)	0,266	0,505	0,576	–
	ne	9 (64 %)	6 (86 %)	3 (43 %)	2 (100 %)	7 (58 %)	3 (75 %)	4 (50 %)	1 (100 %)	3 (43 %)				
Kortikoidy	≥1 000 mg	6 (43 %)	6 (86 %)	0	2 (100 %)	4 (33 %)	4 (100 %)	0	0	0	**0,005**	0,165	**0,002**	–
	<1 000 mg	8 (57 %)	1 (14 %)	7 (100 %)	0	8 (67 %)	0	8 (100 %)	1 (100 %)	7 (100 %)				

Tab. č. 18 Vliv celkově podaných preparátů v terapii TEN na letalitu pacientů (CyA – cyklosporin A, IVIg – intravenózní imunoglobuliny). [1] hodnoceno pomocí Fisherova exaktního testu.

		Exitus			0-7 dní letalita		8-28 dní letalita		29-50 dní letalita		Statistické hodnocení[1]			
		Celkem	ano	ne	ano	ne	ano	ne	ano	ne	Exitus	0-7 dní mortalita	8-28 dní mortalita	29-50 dní mortalita
N		14	7	7	2	12	4	8	1	7	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota
Terapeutické schéma	„rescue“ postup	4 (29 %)	0	4 (57 %)	0	4 (33 %)	0	4 (50 %)	0	4 (57 %)	0,070	0,648	0,269	–
	VDK nebo NDK	8 (57 %)	6 (86 %)	2 (29 %)	2 (100 %)	6 (50 %)	3 (75 %)	3 (38 %)	1 (100 %)	2 (29 %)				
	Jiné	2 (14 %)	1 (14 %)	1 (14 %)	0	2 (17 %)	1 (25 %)	1 (13 %)	0	1 (14 %)				
	„rescue“ postup	4 (29 %)	0	4 (57 %)	0	4 (33 %)	0	4 (50 %)	0	4 (57 %)	0,070	1,000	0,208	–
	VDK nebo NDK + jiné	10 (71 %)	7 (100 %)	3 (43 %)	2 (100 %)	8 (67 %)	4 (100 %)	4 (50 %)	1 (100 %)	3 (43 %)				
N		12	6	6	2	10	3	7	1	6	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota
Terapeutické schéma	„rescue“ postup	4 (33 %)	0	4 (67 %)	0	4 (40 %)	0	4 (57 %)	0	4 (67 %)	0,061	0,515	0,200	–
	VDK nebo NDK	8 (67 %)	6 (100 %)	2 (33 %)	2 (100 %)	6 (60 %)	3 (100 %)	3 (43 %)	1 (100 %)	2 (33 %)				

Tab. č. 19 Porovnání letality u pacientů v souboru v závislosti na použití jednotlivých terapeutických schémat (NDK – nízkodávkované kortikosteroidy, VDK – vysokodávkované kortikosteroidy). [1] hodnoceno pomocí Fisherova exaktního testu.

2.3.2 Infekční komplikace, spektrum potenciálně patogenních mikroorganismů a rizikové faktory pro rozvoj infekce u pacientů s TEN

Infekční komplikace se vyskytly v průběhu hospitalizace u všech pacientů v souboru. Multifokální infekce, tedy infekční komplikace diagnostikovaná ve dvou a více kompartmentech, byla zaznamenána u 11 pacientů (78,6 %). Vzhledem k obsáhlosti samotné problematiky jsem tuto část rozdělil na několik dílčích otázek a pokusil jsem se na ně odpovědět.

Jaký vliv má na rozvoj infekčních komplikací množství podávaných kortikosteroidů?

Celkem bylo v souboru 8 pacientů, u kterých bylo podáváno menší množství než 1000 mg metylprednisolonu denně a 6 pacientů s vyšší dávkou. Všech 8 pacientů s NDK mělo zároveň diagnostikovanou multifokální infekci. U pacientů s VDK to byla pouze polovina (tedy 3 pacienti). Maximální dávka kortikosteroidů u pacientů s multifokální infekcí byla 965 mg metylprednisolonu, zatímco u pacientů bez multifokální infekce 2333 mg metylprednisolonu ($p = 0,032$). Nižší dávky kortikosteroidů jsou tedy z pohledu rozvoje multifokální infekce rizikovější, a to dokonce na úrovni statistické významnosti. Další údaj se statisticky významným rozdílem se týká infekční komplikace způsobené gramnegativními tyčkami do 48 hodin od počátku hospitalizace. Infekce způsobená těmito PPM byla zaznamenána celkem u 9 pacientů. Maximální dávka metylprednisolonu u pacientů s diagnostikovanou gramnegativní infekcí do 48 hodin od počátku hospitalizace na naší klinice byla 818 mg, naopak maximální dávka metylprednisolonu u pacientů bez této infekční komplikace byla 2050 mg ($p = 0,012$). I zde je statisticky signifikantní rozdíl v neprospěch nižších dávek metylprednisolonu. Další výsledky jsou již bez statistické signifikance v rozdílu. Kompletní přehled infekčních komplikací v závislosti na množství podávaných kortikosteroidů je znázorněn v tabulce č. 20.

Jaký vliv má na rozvoj infekčních komplikací závažnost základního onemocnění, eventuálně další epidemiologické ukazatele?

Pro závažnost TEN byl v této souvislosti použit opět SCORTEN. Se závažností základního onemocnění stoupá také riziko rozvoje infekčních komplikací. Přesto v žádném ze sledovaných parametrů v našem souboru nebyl zjištěn statisticky signifikantní rozdíl. Kompletní výčet jednotlivých parametrů popisujících závislost hodnot SCORTEN na riziku rozvoje infekčních komplikací u pacientů v souboru je zobrazen v tabulce č. 21.

			Schéma kortikoidů[1]		Dávka kortikoidů	Statistické hodnocení[2]	
		Celkem	< 1 000 mg	≥ 1 000 mg	maximální dávka v mg	Schéma kortikoidů p-hodnota	Dávka kortikoidů p-hodnota
N		14	8	6	14		
infekce	ano	14	8 (57 %)	6 (43 %)	1 258; 750 (240; 2 500)	–	–
	ne	0	0	0	–		
multifokální infekce	ano	11	8 (73 %)	3 (27 %)	965; 750 (240; 2 500)	0,055	**0,032**
	ne	3	0	3 (100 %)	2 333; 2 500 (2 000; 2 500)		
infekce 48 hodin	ano	12	8 (67 %)	4 (33 %)	1 093; 750 (240; 2 500)	0,165	0,137
	ne	2	0	2 (100 %)	2 250; 2 250 (2 000; 2 500)		
G+ infekce 48 hodin	ano	9	6 (67 %)	3 (33 %)	1 097; 750 (375; 2 500)	0,580	0,541
	ne	5	2 (40 %)	3 (60 %)	1 548; 2 000 (240; 2 500)		
G- infekce 48 hodin	ano	9	7 (78 %)	2 (22 %)	818; 500 (240; 2 000)	0,091	**0,012**
	ne	5	1 (20 %)	4 (80 %)	2 050; 2 500 (750; 2 500)		
houby infekce 48 hodin	ano	3	2 (67 %)	1 (33 %)	1 208; 750 (375; 2 500)	1,000	0,937
	ne	11	6 (55 %)	5 (45 %)	1 272; 750 (240; 2 500)		
infekce 1. týden	ano	11	6 (55 %)	5 (45 %)	1 272; 750 (240; 2 500)	1,000	0,937
	ne	3	2 (67 %)	1 (33 %)	1 208; 750 (375; 2 500)		
G+ infekce 1. týden	ano	10	5 (50 %)	5 (50 %)	1 375; 1 375 (375; 2 500)	0,580	0,388
	ne	4	3 (75 %)	1 (25 %)	966; 563 (240; 2 500)		
G- infekce 1. týden	ano	10	5 (50 %)	5 (50 %)	1 375; 1 375 (375; 2 500)	0,580	0,388
	ne	4	3 (75 %)	1 (25 %)	966; 563 (240; 2 500)		
houby infekce 1. týden	ano	2	1 (50 %)	1 (50 %)	1 120; 1 120 (240; 2 000)	1,000	0,457
	ne	12	7 (58 %)	5 (42 %)	1 281; 750 (375; 2 500)		
infekce 2. týden	ano	9	8 (89 %)	1 (11 %)	679; 500 (240; 2 000)	–	–
	ne	0	0	0	–		
G+ infekce 2. týden	ano	8	7 (88 %)	1 (13 %)	671; 438 (240; 2 000)	–	–
	ne	1	1 (100 %)	0	750		
G- infekce 2. týden	ano	7	6 (86 %)	1 (14 %)	732; 500 (375; 2 000)	1,000	0,544
	ne	2	2 (100 %)	0	495; 495 (240; 750)		
houby infekce 2. týden	ano	1	1 (100 %)	0	750	–	–
	ne	8	7 (88 %)	1 (13 %)	671; 438 (240; 2 000)		
infekce 3. týden	ano	8	8 (100 %)	0	514; 438 (240; 750)	–	–
	ne	0	0	0	–		
G+ infekce 3. týden	ano	8	8 (100 %)	0	514; 438 (240; 750)	–	–
	ne	0	0	0	–		
G- infekce 3. týden	ano	7	7 (100 %)	0	481; 375 (240; 750)	–	–
	ne	1	1 (100 %)	0	750		
houby infekce 3. týden	ano	1	1 (100 %)	0	750	–	–
	ne	7	7 (100 %)	0	481; 375 (240; 750)		
infekce 4. týden	ano	6	6 (100 %)	0	498; 438 (240; 750)	–	–
	ne	0	0	0	–		
G+ infekce 4. týden	ano	5	5 (100 %)	0	550; 500 (375; 750)	–	–
	ne	1	1 (100 %)	0	240		
G- infekce 4. týden	ano	6	6 (100 %)	0	498; 438 (240; 750)	–	–
	ne	0	0	0	–		
houby infekce 4. týden	ano	1	1 (100 %)	0	375	–	–
	ne	5	5 (100 %)	0	523; 500 (240; 750)		

Tab. č. 20 Riziko rozvoje infekční epizody u pacientů s TEN dle množství kortikosteroidů užívaných v terapii ([1] 1000 mg metylprednisolonu, [2] schéma kortikoidů je hodnoceno pomocí Fisherova exaktního testu a Dávka kortikoidů pomocí Mannova-Whitneyova testu, G+ grampozitivní kmeny bakterií, G- gramnegativní kmeny bakterií).

			SCORTEN příjem				Statistické hodnocení[1]
		Celkem	2	3	4	5	
N		14	4	3	5	2	p-hodnota
infekce	ano	14	4 (29 %)	3 (21 %)	5 (36 %)	2 (14 %)	–
	ne	0	0	0	0	0	
multifokální infekce	ano	11	3 (27 %)	2 (18 %)	4 (36 %)	2 (18 %)	0,517
	ne	3	1 (33 %)	1 (33 %)	1 (33 %)	0	
infekce 48 hodin	ano	12	4 (33 %)	2 (17 %)	4 (33 %)	2 (17 %)	0,849
	ne	2	0	1 (50 %)	1 (50 %)	0	
G+ infekce 48 hodin	ano	9	3 (33 %)	1 (11 %)	3 (33 %)	2 (22 %)	0,677
	ne	5	1 (20 %)	2 (40 %)	2 (40 %)	0	
G- infekce 48 hodin	ano	9	2 (22 %)	2 (22 %)	3 (33 %)	2 (22 %)	0,367
	ne	5	2 (40 %)	1 (20 %)	2 (40 %)	0	
houby infekce 48 hodin	ano	3	2 (67 %)	1 (33 %)	0	0	0,062
	ne	11	2 (18 %)	2 (18 %)	5 (45 %)	2 (18 %)	
infekce 1. týden	ano	11	2 (18 %)	3 (27 %)	5 (45 %)	1 (9 %)	0,517
	ne	3	2 (67 %)	0	0	1 (33 %)	
G+ infekce 1. týden	ano	10	2 (20 %)	3 (30 %)	4 (40 %)	1 (10 %)	0,825
	ne	4	2 (50 %)	0	1 (25 %)	1 (25 %)	
G- infekce 1. týden	ano	10	2 (20 %)	3 (30 %)	4 (40 %)	1 (10 %)	0,825
	ne	4	2 (50 %)	0	1 (25 %)	1 (25 %)	
houby infekce 1. týden	ano	2	0	1 (50 %)	1 (50 %)	0	0,849
	ne	12	4 (33 %)	2 (17 %)	4 (33 %)	2 (17 %)	
infekce 2. týden	ano	9	3 (33 %)	2 (22 %)	3 (33 %)	1 (11 %)	–
	ne	0	0	0	0	0	
G+ infekce 2. týden	ano	8	2 (25 %)	2 (25 %)	3 (38 %)	1 (13 %)	–
	ne	1	1 (100 %)	0	0	0	
G- infekce 2. týden	ano	7	2 (29 %)	2 (29 %)	2 (29 %)	1 (14 %)	0,761
	ne	2	1 (50 %)	0	1 (50 %)	0	
houby infekce 2. týden	ano	1	1 (100 %)	0	0	0	–
	ne	8	2 (25 %)	2 (25 %)	3 (38 %)	1 (13 %)	
infekce 3. týden	ano	8	3 (38 %)	2 (25 %)	2 (25 %)	1 (13 %)	–
	ne	0	0	0	0	0	
G+ infekce 3. týden	ano	8	3 (38 %)	2 (25 %)	2 (25 %)	1 (13 %)	–
	ne	0	0	0	0	0	
G- infekce 3. týden	ano	7	2 (29 %)	2 (29 %)	2 (29 %)	1 (14 %)	–
	ne	1	1 (100 %)	0	0	0	
houby infekce 3. týden	ano	1	1 (100 %)	0	0	0	–
	ne	7	2 (29 %)	2 (29 %)	2 (29 %)	1 (14 %)	
infekce 4. týden	ano	6	1 (17 %)	2 (33 %)	2 (33 %)	1 (17 %)	–
	ne	0	0	0	0	0	
G+ infekce 4. týden	ano	5	1 (20 %)	2 (40 %)	1 (20 %)	1 (20 %)	0,546
	ne	1	0	0	1 (100 %)	0	
G- infekce 4. týden	ano	6	1 (17 %)	2 (33 %)	2 (33 %)	1 (17 %)	–
	ne	0	0	0	0	0	
houby infekce 4. týden	ano	1	0	0	0	1 (100 %)	–
	ne	5	1 (20 %)	2 (40 %)	2 (40 %)	0	

Tab. č. 21 Riziko rozvoje infekční epizody u pacientů s TEN dle tíže onemocnění vyjádřené prostřednictvím SCORTEN (G+ grampozitivní kmeny bakterií, G- gramnegativní kmeny bakterií), [1] hodnoceno pomocí Mannova-Whitneyova testu (SCORTEN hodnoceno jako ordinální proměnná).

Mezi další rizikové faktory pro rozvoj infekčních komplikací u pacientů s TEN patří jistě délka hospitalizace či délka umělé plicní ventilace (UPV). Průměrná délka hospitalizace u pacientů s multifokální infekcí byla 28 dní, délka pobytu na JIP následně 24 dní. U pacientů bez multifokální infekce je průměrná délka hospitalizace shodná s dobou strávenou na JIP, tedy 7 dní. U obou sledovaných parametrů byl zaznamenán statisticky signifikantní rozdíl jak u celkové délky hospitalizace ($p = 0,019$), tak u délky strávené na JIP ($p = 0,019$). Zajímavostí je, že byl zaznamenán také signifikantní rozdíl v délce pobytu na JIP u pacientů se zjištěnou infekcí gramnegativními tyčkami i bez ní, a to v době do 48 hodin od začátku hospitalizace na naší klinice. Pacienti s tímto typem infekční komplikace strávili na JIP průměrně 27 dní, u pacientů bez přítomnosti infekce těmito PPM trval pobyt na JIP průměrně pouze 9 dní ($p = 0,005$).

Další signifikantní hodnota v rozdílu byla zjištěna u přítomností infekčních komplikací způsobených grampozitivními i gramnegativními kmeny bakterií v období od 2. do 7. dne od začátku hospitalizace. U pacientů s pozitivitou tohoto sledování byla průměrná délka UPV 10 dní, zatímco u pacientů bez prokázané infekce grampozitivními nebo gramnegativními kmeny bakterií byla průměrná délka umělé plicní ventilace pouze 3 dny ($p = 0,046$). Vliv rizikových faktorů, jako jsou délka hospitalizace celkem, doba strávená na JIP či UPV a její délka na rozvoj infekčních komplikací v průběhu hospitalizace, je znázorněn v tabulce č. 22.

Podobné sledování bylo provedeno také z pohledu přítomnosti invazivních vstupů. Všichni pacienti v souboru měli zavedený centrální žilní katétr (CŽK), proto se sledovala zejména délka jeho zavedení. Jiná byla situace u arteriálního čidla. Sledován byl nejen parametr doby jeho zavedení, ale také jeho přítomnost, protože arteriální linku měli zajištěnou pouze 4 pacienti v souboru. Z pohledu statisticky signifikantního rozdílu byl pozorován vliv doby zavedení CŽK, multifokální infekce a také přítomnosti infekce způsobené gramnegativními bakteriemi do 48 hodin od přijetí k hospitalizaci. V prvním případě byla průměrná délka CŽK u pacientů s multifokální infekcí 22 dní, u pacientů bez multifokální infekce pouze 7 dní ($p = 0,029$). V druhém případě byla průměrná doba zavedení CŽK u pacientů s infekcí vyvolanou gramnegativními kmeny bakterií do 48 hodin od začátku hospitalizace 25 dní, u pacientů bez této infekce se jednalo pouze o 7 dní ($p = 0,003$). Toto pozorování je pochopitelně výrazně ovlivněno samotným přežitím pacientů, což se projevilo také na samotné délce hospitalizace. Vliv těchto faktorů na rozvoj infekčních komplikací u pacientů v souboru je znázorněn v tabulce č. 23.

			Délka hosp.	Délka JIP	UPV		Délka UPV	Statistické hodnocení[1]			
		Celkem	ve dnech	ve dnech	ano	ne	ve dnech	Délka hosp.	Délka JIP	UPV	Délka UPV
N		14	14	14	11	3	14	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota
infekce	ano	14	24; 25 (5; 43)	21; 21 (5; 43)	11 (79 %)	3 (21 %)	8; 7 (0; 30)	–	–	–	–
	ne	0	–	–	0	0	–				
multifokální infekce	ano	11	28; 31 (8; 43)	24; 24 (8; 43)	8 (73 %)	3 (27 %)	9; 7 (0; 30)	**0,019**	**0,019**	1,000	1,000
	ne	3	7; 7 (5; 9)	7; 7 (5; 9)	3 (100 %)	0	7; 7 (5; 9)				
infekce 48 hodin	ano	12	26; 29 (5; 43)	23; 24 (5; 43)	9 (75 %)	3 (25 %)	8; 7 (0; 30)	0,170	0,170	1,000	0,645
	ne	2	9; 9 (8; 9)	9; 9 (8; 9)	2 (100 %)	0	8; 8 (7; 9)				
G+ infekce 48 hodin	ano	9	27; 26 (7; 43)	23; 23 (7; 43)	7 (78 %)	2 (22 %)	10; 7 (0; 30)	0,256	0,316	1,000	0,590
	ne	5	17; 9 (5; 34)	16; 9 (5; 31)	4 (80 %)	1 (20 %)	6; 7 (0; 9)				
G- infekce 48 hodin	ano	9	29; 31 (9; 43)	27; 26 (9; 43)	7 (78 %)	2 (22 %)	10; 8 (0; 30)	0,061	**0,005**	1,000	0,419
	ne	5	14; 8 (5; 42)	9; 8 (5; 14)	4 (80 %)	1 (20 %)	6; 7 (0; 9)				
houby infekce 48 hodin	ano	3	30; 41 (5; 43)	29; 38 (5; 43)	2 (67 %)	1 (33 %)	3; 4 (0; 5)	0,483	0,391	1,000	0,071
	ne	11	22; 24 (7; 42)	18; 19 (7; 31)	9 (82 %)	2 (18 %)	10; 8 (0; 30)				
infekce 1. týden	ano	11	23; 26 (7; 43)	22; 23 (7; 43)	9 (82 %)	2 (18 %)	9; 8 (0; 30)	0,815	0,310	1,000	0,181
	ne	3	24; 24 (5; 42)	14; 14 (5; 24)	2 (67 %)	1 (33 %)	4; 5 (0; 7)				
G+ infekce 1. týden	ano	10	23; 23 (7; 43)	21; 21 (7; 43)	9 (90 %)	1 (10 %)	10; 9 (0; 30)	0,944	0,723	0,176	**0,046**
	ne	4	26; 28 (5; 42)	19; 19 (5; 31)	2 (50 %)	2 (50 %)	3; 3 (0; 7)				
G- infekce 1. týden	ano	10	23; 23 (7; 43)	21; 21 (7; 43)	9 (90 %)	1 (10 %)	10; 9 (0; 30)	0,944	0,723	0,176	**0,046**
	ne	4	26; 28 (5; 42)	19; 19 (5; 31)	2 (50 %)	2 (50 %)	3; 3 (0; 7)				
houby infekce 1. týden	ano	2	20; 20 (9; 31)	20; 20 (9; 31)	1 (50 %)	1 (50 %)	5; 5 (0; 9)	0,855	0,855	0,396	0,645
	ne	12	24; 25 (5; 43)	21; 21 (5; 43)	10 (83 %)	2 (17 %)	9; 7 (0; 30)				
infekce 2. týden	ano	9	32; 31 (19; 43)	28; 26 (14; 43)	6 (67 %)	3 (33 %)	9; 7 (0; 30)	–	–	–	–
	ne	0	–	–	0	0	–				
G+ infekce 2. týden	ano	8	31; 31 (19; 43)	29; 29 (19; 43)	6 (75 %)	2 (25 %)	10; 8 (0; 30)	–	–	–	–
	ne	1	42	14	0	1 (100 %)	0				
G- infekce 2. týden	ano	7	31; 31 (19; 43)	29; 26 (19; 43)	6 (86 %)	1 (14 %)	11; 8 (0; 30)	0,462	0,462	0,083	0,074
	ne	2	37; 37 (31; 42)	23; 23 (14; 31)	0	2 (100 %)	0; 0 (0; 0)				
houby infekce 2. týden	ano	1	42	14	0	1 (100 %)	0	–	–	–	–

	ne	8	31; 31 (19; 43)	29; 29 (19; 43)	6 (75 %)	2 (25 %)	10; 8 (0; 30)				
infekce 3. týden	ano	8	34; 33 (24; 43)	29; 29 (14; 43)	5 (63 %)	3 (38 %)	7; 6 (0; 30)	–	–	–	–
	ne	0	–	–	0	0	–				
G+ infekce 3. týden	ano	8	34; 33 (24; 43)	29; 29 (14; 43)	5 (63 %)	3 (38 %)	7; 6 (0; 30)	–	–	–	–
	ne	0	–	–	0	0	–				
G- infekce 3. týden	ano	7	33; 31 (24; 43)	31; 31 (23; 43)	5 (71 %)	2 (29 %)	8; 7 (0; 30)	–	–	–	–
	ne	1	42	14	0	1 (100 %)	0				
houby infekce 3. týden	ano	1	42	14	0	1 (100 %)	0	–	–	–	–
	ne	7	33; 31 (24; 43)	31; 31 (23; 43)	5 (71 %)	2 (29 %)	8; 7 (0; 30)				
infekce 4. týden	ano	6	34; 33 (24; 43)	32; 31 (24; 43)	4 (67 %)	2 (33 %)	8; 6 (0; 30)	–	–	–	–
	ne	0	–	–	0	0	–				
G+ infekce 4. týden	ano	5	35; 34 (24; 43)	32; 31 (24; 43)	4 (80 %)	1 (20 %)	10; 7 (0; 30)	–	–	–	–
	ne	1	31	31	0	1 (100 %)	0				
G- infekce 4. týden	ano	6	34; 33 (24; 43)	32; 31 (24; 43)	4 (67 %)	2 (33 %)	8; 6 (0; 30)	–	–	–	–
	ne	0	–	–	0	0	–				
houby infekce 4. týden	ano	1	24	24	1 (100 %)	0	7	–	–	–	–
	ne	5	36; 34 (31; 43)	34; 31 (26; 43)	3 (60 %)	2 (40 %)	8; 4 (0; 30)				

Tab. č. 22 Hodnocení rizikových faktorů (délka hospitalizace, délka pobytu na JIP, UPV a jeho délka) na rozvoj infekčních komplikací u pacientů s TEN. [1] hodnoceno pomocí Mannova-Whitneyova testu.

			CŽK doba	Arteriální čidlo		Arteriální čidlo doba	Statistické hodnocení[1]		
		Celkem	ve dnech	ano	ne	ve dnech	CŽK doba	Arteriální čidlo	Arteriální čidlo doba
N		14	14	4	10	14	p-hodnota	p-hodnota	p-hodnota
infekce	ano	14	19; 18 (5; 43)	4 (29 %)	10 (71 %)	4; 0 (0; 29)	–	–	–
	ne	0	–	0	0	–			
multifokální infekce	ano	11	22; 24 (8; 43)	4 (36 %)	7 (64 %)	5; 0 (0; 29)	**0,029**	0,505	0,242
	ne	3	7; 7 (5; 9)	0	3 (100 %)	0; 0 (0; 0)			
infekce 48 hodin	ano	12	21; 22 (5; 43)	4 (33 %)	8 (67 %)	5; 0 (0; 29)	0,272	1,000	0,360
	ne	2	9; 9 (8; 9)	0	2 (100 %)	0; 0 (0; 0)			
G+ infekce 48 hodin	ano	9	21; 19 (7; 43)	3 (33 %)	6 (67 %)	5; 0 (0; 29)	0,504	1,000	0,676
	ne	5	16; 9 (5; 31)	1 (20 %)	4 (80 %)	3; 0 (0; 14)			
G- infekce 48 hodin	ano	9	25; 26 (9; 43)	4 (44 %)	5 (56 %)	7; 0 (0; 29)	**0,003**	0,221	0,095
	ne	5	7; 8 (5; 9)	0	5 (100 %)	0; 0 (0; 0)			
houby infekce 48 hodin	ano	3	26; 30 (5; 43)	0	3 (100 %)	0; 0 (0; 0)	0,585	0,505	0,242
	ne	11	17; 16 (7; 31)	4 (36 %)	7 (64 %)	5; 0 (0; 29)			
infekce 1. týden	ano	11	21; 19 (7; 43)	4 (36 %)	7 (64 %)	5; 0 (0; 29)	0,160	0,505	0,242
	ne	3	12; 8 (5; 24)	0	3 (100 %)	0; 0 (0; 0)			
G+ infekce 1. týden	ano	10	20; 18 (7; 43)	3 (30 %)	7 (70 %)	5; 0 (0; 29)	0,570	1,000	0,929
	ne	4	17; 16 (5; 31)	1 (25 %)	3 (75 %)	4; 0 (0; 14)			
G- infekce 1. týden	ano	10	20; 18 (7; 43)	3 (30 %)	7 (70 %)	5; 0 (0; 29)	0,570	1,000	0,929
	ne	4	17; 16 (5; 31)	1 (25 %)	3 (75 %)	4; 0 (0; 14)			
houby infekce 1. týden	ano	2	20; 20 (9; 31)	1 (50 %)	1 (50 %)	7; 7 (0; 14)	0,583	0,505	0,423
	ne	12	19; 18 (5; 43)	3 (25 %)	9 (75 %)	4; 0 (0; 29)			
infekce 2. týden	ano	9	25; 26 (8; 43)	3 (33 %)	6 (67 %)	6; 0 (0; 29)	–	–	–
	ne	0	–	0	0	–			
G+ infekce 2. týden	ano	8	28; 28 (16; 43)	3 (38 %)	5 (63 %)	6; 0 (0; 29)	–	–	–
	ne	1	8	0	1 (100 %)	0			
G- infekce 2. týden	ano	7	27; 26 (16; 43)	2 (29 %)	5 (71 %)	5; 0 (0; 29)	0,659	1,000	0,602
	ne	2	20; 20 (8; 31)	1 (50 %)	1 (50 %)	7; 7 (0; 14)			

houby infekce 2. týden	ano	1	8	0	1 (100 %)	0	–	–	–
	ne	8	28; 28 (16; 43)	3 (38 %)	5 (63 %)	6; 0 (0; 29)			
infekce 3. týden	ano	8	26; 28 (8; 43)	3 (38 %)	5 (63 %)	6; 0 (0; 29)	–	–	–
	ne	0	–	0	0	–			
G+ infekce 3. týden	ano	8	26; 28 (8; 43)	3 (38 %)	5 (63 %)	6; 0 (0; 29)	–	–	–
	ne	0	–	0	0	–			
G- infekce 3. týden	ano	7	29; 30 (16; 43)	3 (43 %)	4 (57 %)	7; 0 (0; 29)	–	–	–
	ne	1	8	0	1 (100 %)	0			
houby infekce 3. týden	ano	1	8	0	1 (100 %)	0	–	–	–
	ne	7	29; 30 (16; 43)	3 (43 %)	4 (57 %)	7; 0 (0; 29)			
infekce 4. týden	ano	6	31; 31 (24; 43)	2 (33 %)	4 (67 %)	7; 0 (0; 29)	–	–	–
	ne	0	–	0	0	–			
G+ infekce 4. týden	ano	5	31; 30 (24; 43)	1 (20 %)	4 (80 %)	6; 0 (0; 29)	–	–	–
	ne	1	31	1 (100 %)	0	14			
G- infekce 4. týden	ano	6	31; 31 (24; 43)	2 (33 %)	4 (67 %)	7; 0 (0; 29)	–	–	–
	ne	0	–	0	0	–			
houby infekce 4. týden	ano	1	24	0	1 (100 %)	0	–	–	–
	ne	5	32; 31 (26; 43)	2 (40 %)	3 (60 %)	9; 0 (0; 29)			

Tab. č. 23 Hodnocení vybraných rizikových faktorů (CŽK doba – počet dní zavedení centrálního žilního katétru, přítomnost arteriálního čidla a doba jeho zavedení) na rozvoj infekčních komplikací u pacientů s TEN. [1] CŽK doba a Arteriální čidlo - doba jsou hodnoceny pomocí Mannova-Whitneyova testu, přítomnost Arteriálního čidla je hodnocena pomocí Fisherova exaktního testu.

Jak ovlivňuje riziko rozvoje infekčních komplikací u pacientů s TEN zvolené terapeutické schéma?

Základní otázkou bylo zhodnocení vlivu „rescue“ postupu na rozvoj infekčních komplikací u takto léčených pacientů. Z tohoto pohledu byly zvoleny dvě formy srovnání. V terapeutickém schématu 1 byl inovativní přístup postaven proti komparátorům VDK a jinému přístupu (obsahující NDK a CyA). V terapeutickém schématu 2 byly komparátorem monoterapie kortikosteroidy (bez ohledu na dávku) a dále také jiný terapeutický přístup (kortikosteroidy spolu s CyA).

Ani v případě porovnání prvního či druhého terapeutického schématu nebyl prokázán statisticky signifikantní vliv na rozvoj infekčních komplikací. Opět z pohledu rozvoje infekčních komplikací patří „rescue“ postup k těm nejrizikovějším. V případě srovnání v rámci terapeutického schématu 1 byl výskyt multifokální infekční komplikace u všech 4 pacientů, v případě VDK pouze u 2 z 5 pacientů a u jiného přístupu byla zaznamenána multifokální infekční komplikace u všech 5 pacientů ($p = 0,066$).

Podíl vlivu jednotlivých terapeutických přístupů na rozvoj infekční komplikace v průběhu hospitalizace je znázorněn v tabulce č. 24.

		Terapeutické schéma 1				Terapeutické schéma 2			Statistické hodnocení[1]	
		Celkem	„rescue“ postup	VDK	jiné	„rescue“ postup	VDK nebo NDK	jiné	Terapeutické schéma 1	Terapeutické schéma 2
N		14	4	5	5	4	8	2	p-hodnota	p-hodnota
infekce	ano	14	4 (29 %)	5 (36 %)	5 (36 %)	4 (29 %)	8 (57 %)	2 (14 %)	–	–
	ne	0	0	0	0	0	0	0		
multifokální infekce	ano	11	4 (36 %)	2 (18 %)	5 (45 %)	4 (36 %)	5 (45 %)	2 (18 %)	0,066	0,516
	ne	3	0	3 (100 %)	0	0	3 (100 %)	0		
infekce 48 hodin	ano	12	4 (33 %)	3 (25 %)	5 (42 %)	4 (33 %)	6 (50 %)	2 (17 %)	0,286	0,648
	ne	2	0	2 (100 %)	0	0	2 (100 %)	0		
G+ infekce 48 hodin	ano	9	3 (33 %)	2 (22 %)	4 (44 %)	3 (33 %)	4 (44 %)	2 (22 %)	0,500	0,441
	ne	5	1 (20 %)	3 (60 %)	1 (20 %)	1 (20 %)	4 (80 %)	0		
G- infekce 48 hodin	ano	9	4 (44 %)	1 (11 %)	4 (44 %)	4 (44 %)	3 (33 %)	2 (22 %)	0,051	0,087
	ne	5	0	4 (80 %)	1 (20 %)	0	5 (100 %)	0		
houby infekce 48 hodin	ano	3	0	1 (33 %)	2 (67 %)	0	2 (67 %)	1 (33 %)	0,725	0,516
	ne	11	4 (36 %)	4 (36 %)	3 (27 %)	4 (36 %)	6 (55 %)	1 (9 %)		
infekce 1. týden	ano	11	3 (27 %)	4 (36 %)	4 (36 %)	3 (27 %)	6 (55 %)	2 (18 %)	1,000	1,000
	ne	3	1 (33 %)	1 (33 %)	1 (33 %)	1 (33 %)	2 (67 %)	0		
G+ infekce 1. týden	ano	10	2 (20 %)	4 (40 %)	4 (40 %)	2 (20 %)	6 (60 %)	2 (20 %)	0,600	0,552
	ne	4	2 (50 %)	1 (25 %)	1 (25 %)	2 (50 %)	2 (50 %)	0		
G- infekce 1. týden	ano	10	2 (20 %)	4 (40 %)	4 (40 %)	2 (20 %)	6 (60 %)	2 (20 %)	0,600	0,552
	ne	4	2 (50 %)	1 (25 %)	1 (25 %)	2 (50 %)	2 (50 %)	0		
houby infekce 1. týden	ano	2	1 (50 %)	1 (50 %)	0	1 (50 %)	1 (50 %)	0	0,725	1,000
	ne	12	3 (25 %)	4 (33 %)	5 (42 %)	3 (25 %)	7 (58 %)	2 (17 %)		
infekce 2. týden	ano	9	4 (44 %)	1 (11 %)	4 (44 %)	4 (44 %)	4 (44 %)	1 (11 %)	–	–
	ne	0	0	0	0	0	0	0		
G+ infekce 2. týden	ano	8	4 (50 %)	1 (13 %)	3 (38 %)	4 (50 %)	3 (38 %)	1 (13 %)	–	–
	ne	1	0	0	1 (100 %)	0	1 (100 %)	0		
G- infekce 2. týden	ano	7	3 (43 %)	1 (14 %)	3 (43 %)	3 (43 %)	3 (43 %)	1 (14 %)	1,000	1,000
	ne	2	1 (50 %)	0	1 (50 %)	1 (50 %)	1 (50 %)	0		
houby infekce 2. týden	ano	1	0	0	1 (100 %)	0	1 (100 %)	0	–	–

	ne	8	4 (50 %)	1 (13 %)	3 (38 %)	4 (50 %)	3 (38 %)	1 (13 %)		
infekce 3. týden	ano	8	4 (50 %)	0	4 (50 %)	4 (50 %)	3 (38 %)	1 (13 %)	–	–
	ne	0	0	0	0	0	0	0		
G+ infekce 3. týden	ano	8	4 (50 %)	0	4 (50 %)	4 (50 %)	3 (38 %)	1 (13 %)	–	–
	ne	0	0	0	0	0	0	0		
G- infekce 3. týden	ano	7	4 (57 %)	0	3 (43 %)	4 (57 %)	2 (29 %)	1 (14 %)	–	–
	ne	1	0	0	1 (100 %)	0	1 (100 %)	0		
houby infekce 3. týden	ano	1	0	0	1 (100 %)	0	1 (100 %)	0	–	–
	ne	7	4 (57 %)	0	3 (43 %)	4 (57 %)	2 (29 %)	1 (14 %)		
infekce 4. týden	ano	6	3 (50 %)	0	3 (50 %)	3 (50 %)	2 (33 %)	1 (17 %)	–	–
	ne	0	0	0	0	0	0	0		
G+ infekce 4. týden	ano	5	2 (40 %)	0	3 (60 %)	2 (40 %)	2 (40 %)	1 (20 %)	–	–
	ne	1	1 (100 %)	0	0	1 (100 %)	0	0		
G- infekce 4. týden	ano	6	3 (50 %)	0	3 (50 %)	3 (50 %)	2 (33 %)	1 (17 %)	–	–
	ne	0	0	0	0	0	0	0		
houby infekce 4. týden	ano	1	1 (100 %)	0	0	1 (100 %)	0	0		
	ne	5	2 (40 %)	0	3 (60 %)	2 (40 %)	2 (40 %)	1 (20 %)		

Tab. č. 24 Rozvoj infekčních komplikací bez závislosti na kompartmentu v průběhu hospitalizace u pacientů s „rescue“ postupem a jinými terapeutickými přístupy. [1] hodnoceno pomocí Fisherova exaktního testu.

Jaký podíl na rozvoji infekčních komplikací v oblasti exfoliovaných ploch měla volba lokálního krytí?

Pro účely lepší interpretace byly rozděleny lokální kryty na materiály, které obsahují stříbro, a kryty, které tuto antimikrobiální komponentu postrádají. Biologický kryt v této souvislosti nebyl zahrnut, protože byl použit pouze u jednoho pacienta ze souboru.

Infekční komplikace v oblasti exfoliované plochy (EWI – exfoliating wound infection) spadají do kategorie infekce kůže a měkkých tkání (SSTI – skin and soft tissue infection). Tato infekční komplikace byla zjištěna v období do 48 hodin od začátku hospitalizace u celkem 9 pacientů z našeho souboru. Syntetický kryt bez stříbra byl použit v iniciálním wound-managementu u celkem 5 pacientů (56 %), syntetický kryt se stříbrem byl použit v tomto období u celkem 7 pacientů (78 %). Jak je patrné z výsledků, u některých pacientů docházelo v rámci individualizace ve wound-managementu ke kombinaci obou typů kožních krytů.

Nejvyšší počet pacientů s výskytem infekční komplikace v oblasti exfoliovaných ploch byl zaznamenán v období od 2. do 7. dne od začátku hospitalizace. V tomto období byla zaznamenána SSTI u 10 pacientů. V dalším období byla již zaznamenána redukce počtu pacientů s touto infekční komplikací, což bylo dáno zejména reepitelizací samotného kožního defektu, nebo úmrtím pacienta.

Zajímavý je také samotný pohled na podíl použití syntetického krytu se stříbrem v průběhu hospitalizace. Ve všech sledovaných obdobích bylo použití moderního krytí s touto antimikrobiální komponentou dominující. V prvních 48 hodinách byl použit v rámci wound-managementu u 7 pacientů (78 %). Po 7 dnech hospitalizace frekvence jeho použití narůstala. Od 8. do 14. dne hospitalizace byl kryt s antimikrobiální komponentou použit u 6 pacientů (86 %), v dalším týdnu u všech 6 pacientů. Ve 4. týdnu hospitalizace byla infekční komplikace v oblasti exfoliované plochy zaznamenána pouze u 4 pacientů, ve všech případech šlo o zbytkové defekty s vysokým potenciálem konverze a chronické bakteriální kolonizace, v tomto případě bylo jednoznačně lokální krytí se stříbrem indikováno, proto bylo použito také u všech pacientů.

Jediný statisticky signifikantní výsledek v této části byl dosažen u aplikace syntetického krytu bez stříbra u pacientů, u kterých byla zjištěna SSTI způsobená gramnegativními tyčkami v období od 48 hodin do 7. dne hospitalizace. „Obyčejný“ syntetický kryt byl použit u 3 pacientů (38 %) z 8 s SSTI způsobenou gramnegativními tyčkami, naopak u 6 pacientů tato infekce nebyla prokázána a u všech byl použit syntetický

kryt bez stříbra (p = 0,031). V tabulce č. 25 jsou prezentována data týkající se vlivu charakteru lokálního krytí na rozvoj infekčních komplikací v oblasti exfoliovaných ploch.

			Syntetický kryt		Syntetický kryt s Ag		Statistické hodnocení[1]	
		Celkem	ano	ne	ano	ne	syntetický kryt p-hodnota	syntetický kryt s Ag p-hodnota
N		14	9	5	8	6		
SSTI 48 hodin	ano	9	5 (56 %)	4 (44 %)	7 (78 %)	2 (22 %)	0,580	0,091
	ne	5	4 (80 %)	1 (20 %)	1 (20 %)	4 (80 %)		
G+ SSTI 48 hodin	ano	8	4 (50 %)	4 (50 %)	6 (75 %)	2 (25 %)	0,301	0,277
	ne	6	5 (83 %)	1 (17 %)	2 (33 %)	4 (67 %)		
G- SSTI 48 hodin	ano	6	3 (50 %)	3 (50 %)	5 (83 %)	1 (17 %)	0,580	0,138
	ne	8	6 (75 %)	2 (25 %)	3 (38 %)	5 (63 %)		
houby SSTI 48 hodin	ano	1	1 (100 %)	0	1 (100 %)	0	–	–
	ne	13	8 (62 %)	5 (38 %)	7 (54 %)	6 (46 %)		
SSTI 1. týden	ano	10	5 (50 %)	5 (50 %)	7 (70 %)	3 (30 %)	0,221	0,245
	ne	4	4 (100 %)	0	1 (25 %)	3 (75 %)		
G+ SSTI 1. týden	ano	9	4 (44 %)	5 (56 %)	6 (67 %)	3 (33 %)	0,086	0,580
	ne	5	5 (100 %)	0	2 (40 %)	3 (60 %)		
G- SSTI 1. týden	ano	8	3 (38 %)	5 (63 %)	6 (75 %)	2 (25 %)	**0,031**	0,277
	ne	6	6 (100 %)	0	2 (33 %)	4 (67 %)		
houby SSTI 1. týden	ano	2	2 (100 %)	0	1 (50 %)	1 (50 %)	0,505	1,000
	ne	12	7 (58 %)	5 (42 %)	7 (58 %)	5 (42 %)		
SSTI 2. týden	ano	7	4 (57 %)	3 (43 %)	6 (86 %)	1 (14 %)	0,500	0,417
	ne	2	2 (100 %)	0	1 (50 %)	1 (50 %)		
G+ SSTI 2. týden	ano	5	2 (40 %)	3 (60 %)	5 (100 %)	0	0,167	0,167
	ne	4	4 (100 %)	0	2 (50 %)	2 (50 %)		
G- SSTI 2. týden	ano	6	4 (67 %)	2 (33 %)	5 (83 %)	1 (17 %)	1,000	1,000
	ne	3	2 (67 %)	1 (33 %)	2 (67 %)	1 (33 %)		
houby SSTI 2. týden	ano	0	0	0	0	0	–	–
	ne	9	6 (67 %)	3 (33 %)	7 (78 %)	2 (22 %)		
SSTI 3. týden	ano	6	4 (67 %)	2 (33 %)	6 (100 %)	0	1,000	0,250
	ne	2	1 (50 %)	1 (50 %)	1 (50 %)	1 (50 %)		
G+ SSTI 3. týden	ano	3	2 (67 %)	1 (33 %)	3 (100 %)	0	1,000	1,000
	ne	5	3 (60 %)	2 (40 %)	4 (80 %)	1 (20 %)		
G- SSTI 3. týden	ano	6	4 (67 %)	2 (33 %)	6 (100 %)	0	1,000	0,250
	ne	2	1 (50 %)	1 (50 %)	1 (50 %)	1 (50 %)		
houby SSTI 3. týden	ano	1	1 (100 %)	0	1 (100 %)	0	–	–
	ne	7	4 (57 %)	3 (43 %)	6 (86 %)	1 (14 %)		
SSTI 4. týden	ano	4	4 (100 %)	0	4 (100 %)	0	0,067	–
	ne	2	0	2 (100 %)	2 (100 %)	0		
G+ SSTI 4. týden	ano	3	3 (100 %)	0	3 (100 %)	0	0,400	–
	ne	3	1 (33 %)	2 (67 %)	3 (100 %)	0		
G- SSTI 4. týden	ano	3	3 (100 %)	0	3 (100 %)	0	0,400	–
	ne	3	1 (33 %)	2 (67 %)	3 (100 %)	0		
houby SSTI 4. týden	ano	0	0	0	0	0	–	–
	ne	6	4 (67 %)	2 (33 %)	6 (100 %)	0		

Tab. č. 25 Infekce v oblasti exfoliované plochy (SSTI – skin and soft tissue infection) a její výskyt v závislosti na volbě lokálního krytí. [1] hodnoceno pomocí Fisherova exaktního testu.

Jaké je spektrum PPM podílející se na rozvoji infekčních komplikací pacientů v souboru?

O tom, že pacienti s TEN jsou každodenně konfrontováni s celou řadou PPM, svědčí také výsledky následujícího sledování. Celkem bylo u skupiny našich pacientů izolováno 498 PPM, tedy na jednoho pacienta připadá v průměru více než 35 izolovaných PPM. Z tohoto počtu spadalo 155 patogenů do grampozitivního spektra (31,1 %), 331 do spektra gramnegativního (66,5 %), u pacientů bylo izolováno také 12 kvasinek (2,4 %). Celkový poměr G+/G- činil 1:2,14. U žádného z pacientů v souboru nebyla izolována vláknitá houba. U přeživších pacientů bylo vykultivováno 104 grampozitivních koků (29,6 %) a 240 gramnegativních tyček (68,2 %), G+/G- ratio bylo 1:2,31. Pacienti léčení „rescue“ postupem měli G+/G- ratio 1:1,82. Pacienti, kteří přežili a byli léčeni standardně, měli G+/G- ratio 1:3,45. U pacientů, kteří zemřeli, bylo vykultivováno celkem 51 grampozitivních koků (34,9 %) a 91 gramnegativních tyček (62,3 %), G+/G- ratio bylo 1:1,78.

Dominantními PPM ve všech sledovaných podskupinách byly koagulasa negativní stafylokoky (izolace celkem 121x), dále *Klebsiella* sp. (*Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca* izolace, 93x), *Enterobacter* sp. (*Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae,* 73x) a *Pseudomonas aeruginosa* (63x). Všechny vykultivované PPM u pacientů v souboru jsou znázorněny v tabulce č. 26.

V tabulce č. 27 jsou dále uvedeny vykultivované kmeny PPM u jednotlivých pacientů v souboru. Pořadí pacientů je shodné s tabulkou č. 15.

Patogen	Přeživší (N = 7)		Zemřelí (N = 7)	Celkem
	„rescue“ postup (N = 4)	Standardní koncept terapie (N = 3)		
Grampozitivní kmeny	**73 (47,1 %)**	**31 (20 %)**	**51 (32,9 %)**	**155**
koag.neg.	**54 (44,6 %)**	**20 (16,5 %)**	**47 (38,8 %)**	**121**
Staphylococcus	**0**	**4 (100 %)**	**0**	**4**
Staphylococcus aureus	**5 (35,7 %)**	**5 (35,7 %)**	**4 (28,6 %)**	**14**
Enterococcus faecalis	**1 (50 %)**	**1 (50 %)**	**0**	**1**
Enterococcus faecium	**12 (92,3 %)**	**1 (7,7 %)**	**0**	**13**
Streptococcus sp.	**1 (100 %)**	**0**	**0**	**1**
Clostridium difficile				
Gramnegativní kmeny	**133 (40,2 %)**	**107 (32,3 %)**	**91 (27,5 %)**	**331**
Pseudomonas aeruginosa	**22 (34,9 %)**	**30 (47,6 %)**	**11 (17,5 %)**	**63**
Klebsiella sp.	**20 (21,5 %)**	**21 (22,6 %)**	**52 (55,9 %)**	**93**
Enterobacter sp.	**26 (35,6 %)**	**47 (64,4 %)**	**0**	**73**
Acinetobacter sp.	**1 (7,7 %)**	**3 (23,1 %)**	**9 (69,2 %)**	**13**
Escherichia coli	**15 (60,0 %)**	**5 (20,0 %)**	**5 (20,0 %)**	**25**
Proteus sp.	**29 (78,4 %)**	**0**	**8 (21,6 %)**	**37**
Citrobacter sp.	**9 (69,2 %)**	**0**	**4 (30,8 %)**	**13**
Morganela morganii	**0**	**0**	**2 (100 %)**	**2**
Stenotrophomonas maltophilia	**8 (100 %)**	**0**	**0**	**8**
Burholderia cepacia	**0**	**1 (100 %)**	**0**	**1**
Seratia marcescens	**3 (100 %)**	**0**	**0**	**3**
Kvasinky	**4 (33,3 %)**	**4 (33,3 %)**	**4 (33,3 %)**	**12**
Candida albicans	**3 (37,5 %)**	**2 (25,0 %)**	**3 (37,5 %)**	**8**
Candida parapsilosis	**0**	**2 (66,6 %)**	**1 (33,3 %)**	**3**
Candida tropicalis	**1 (100 %)**	**0**	**0**	**1**

Tab. č. 26 Všechny izolované PPM u jednotlivých skupin pacientů s TEN.

Pacient	Exfoliovaná plocha	Krevní řečiště	Dýchací cesty	Močový systém	Perianogenitální oblast Stolice
1	Koaguláza neg. stafylokok *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Enterobacter* sp. *Klebsiella* sp.	*Enterobacter* sp. Koaguláza neg. stafylokok *Klebsiella* sp.	*Klebsiella* sp. *Pseudomonas aeruginosa* *Enterobacter* sp. *Stenotrophomonas maltophilia*	Koaguláza neg. stafylokok (kontaminace) *Pseudomonas aeruginosa* *Klebsiella* sp. *Candida* sp.	*Escherichia coli* *Clostridium difficile*
2	*Streptococcus* sp. Koaguláza neg. stafylokok *Klebsiella* sp. *Acinetobacter* sp. *Enterobacter* sp. *Candida* sp. *Staphylococcus aureus* *Enterococcus faecalis* *Pseudomonas aeruginosa*	*Staphylococcus aureus* Koaguláza neg. stafylokok *Enterobacter* sp.	*Enterobacter* sp.	*Candida* sp. *Pseudomonas aeruginosa* Koaguláza neg. stafylokok (kontaminace)	
3	*Escherichia coli* *Proteus* sp. *Candida* sp. *Pseudomonas aeruginosa*	Koaguláza neg. stafylokok		*Enterococcus faecium* *Proteus* sp.	
4	*Enterococcus faecalis* *Klebsiella* sp. *Enterobacter* sp. *Proteus* sp. *Escherichia coli* Koaguláza neg. stafylokok *Pseudomonas aeruginosa* *Citrobacter* sp.	*Enterobacter* sp. Koaguláza neg. stafylokok	*Streptococcus* sp *Klebsiella* sp.	*Klebsiella* sp.	
5	Koaguláza neg. stafylokok			*Pseudomonas aeruginosa* *Entrobacter* sp.	*Pseudomonas aeruginosa*
6	Koaguláza neg. stafylokok *Acinetobacter* sp.				

7	*Staphylococcus aureus* Koaguláza neg. stafylokok *Escherichia coli* *Enterococcus faecalis* *Pseudomonas aeruginosa*	*Staphylococcus aureus*	Koaguláza neg. stafylokok *Enterococcus faecalis*	*Enterococcus faecalis* *Klebsiella* sp. *Escherichia coli* Koaguláza neg. stafylokok (kontaminace)	
8	*Klebsiella* sp. *Acinetobacter* sp.				
9	Koaguláza neg. stafylokok		*Candida* sp.	*Enterococcus faecium* *Candida* sp.	
10	*Escherichia coli*	Koaguláza neg. stafylokok		*Enterococcus faecalis* *Klebsiella* sp. *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Proteus* sp.	
11					
12	Koaguláza neg. stafylokok *Klebsiella* sp. *Enterococcus faecalis* *Acinetobacter* sp. *Proteus* sp. *Pseudomonas aeruginosa*	*Enterococcus faecalis* Koaguláza neg. stafylokok *Klebsiella* sp. *Pseudomonas aeruginosa*		*Escherichia coli* *Proteus* sp. *Candida* sp. *Klebsiella* sp. *Pseudomonas aeruginosa* *Morganella morganii*	
13	Koaguláza neg. stafylokok *Klebsiella* sp. *Pseudomonas aeruginosa* *Citrobacter* sp.			*Escherichia coli*	Koaguláza neg. stafylokok *Klebsiella* sp.
14	*Streptococcus* sp. Koaguláza neg. stafylokok *Escherichia coli* *Proteus* sp. *Acinetobacter* sp. *Serratia marcescens*	*Proteus* sp. *Serratia marcescens*	*Streptococcus* sp. Koaguláza neg. stafylokok *Pseudomonas aeruginosa*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Proteus* sp.

Tab. č. 27 PPM izolované v jednotlivých kompartmentech pacientů v souboru. Referování pacienti ve stejném pořadí jako v tab. č. 15.

Počet jednotlivých PPM je ovšem zkreslen celkovým počtem hospitalizačních dní. U pacientů, kteří přežili a byli léčeni „rescue“ postupem, byl kumulativní počet hospitalizačních dní 112 (průměr na jednoho pacienta 28 dní), u zbylých přeživších pacientů poté 117 dní (průměr 39 dní) a u zemřelých pacientů 100 dní (průměr 14 dní). Při přepočtu na počet izolovaných PPM zjistíme, že u pacientů s „rescue“ postupem léčby bylo izolováno 1,88 patogenu na pacienta a den hospitalizace, u přeživších standardně léčených pacientů to bylo 1,21 patogenu na pacienta a den hospitalizace a u zemřelých pacientů byl počet izolovaných patogenů na pacienta a den hospitalizace 1,47. U pacientů ve skupině „rescue“ postupem léčby TEN bylo tedy izolováno nejvíce PPM, a to nejen z absolutního, ale také i z relativního pohledu.

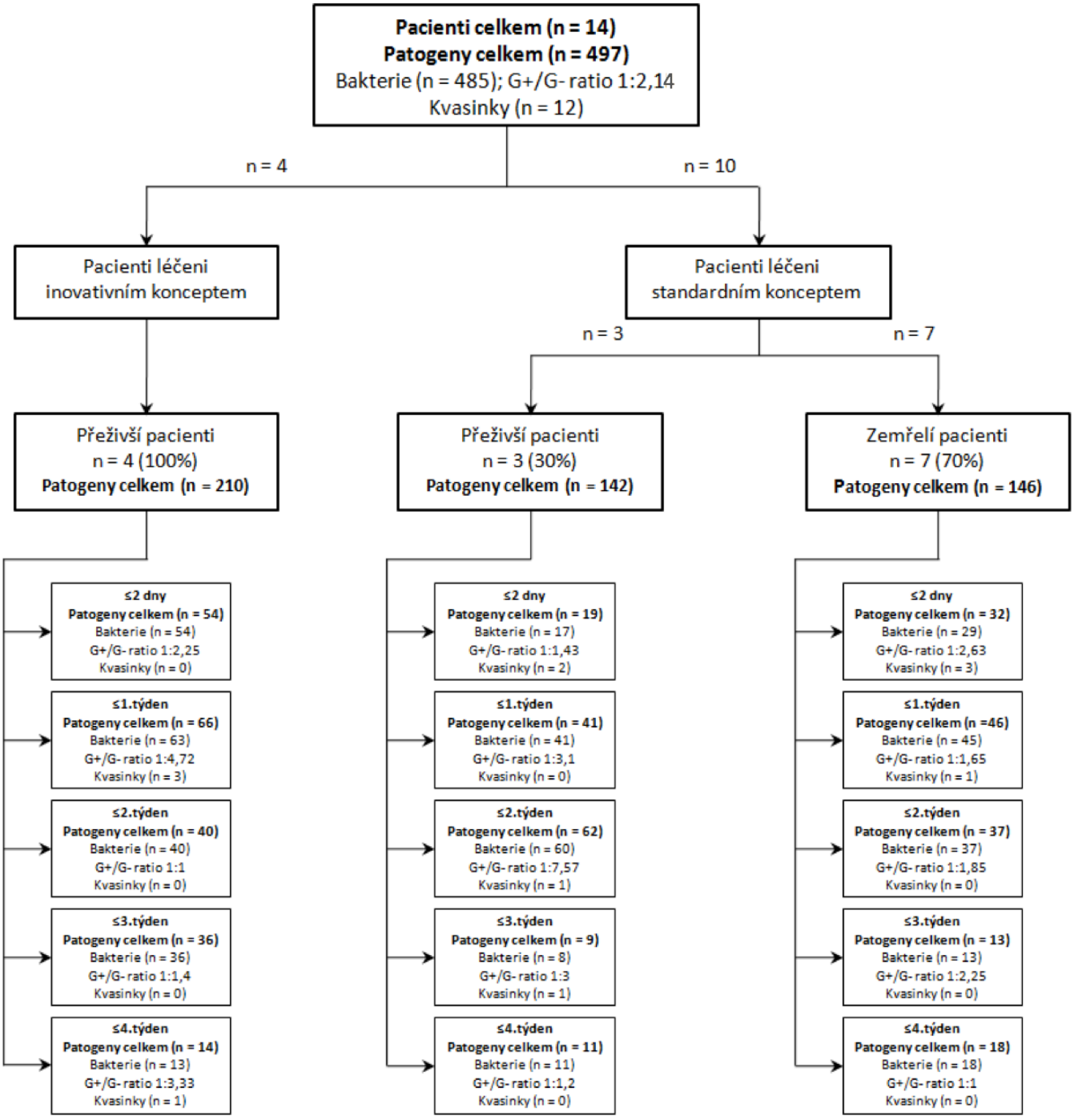
Daleko zajímavější, než jen samotný počet izolovaných PPM, byla dynamika jejich výskytu v průběhu hospitalizace u jednotlivých skupin pacientů. O tom, že pacienti léčení „rescue“ postupem byli v době přijetí v nejkritičtějším stavu z pohledu porovnání jiných skupin, svědčí nejen nejvyšší SCORTEN ze všech skupin, ale také nejvyšší množství izolovaných PPM v průběhu zejména 1. týdne hospitalizace.

Zatímco ve skupině s „rescue“ postupem bylo do 48 hodin izolováno u celkem 4 pacientů 54 patogenů, tj. 13,5 patogenu na jednoho pacienta (G+/G- ratio bylo 1:2,25), u skupiny přeživších pacientů léčených standardně to bylo celkem „pouze“ 19 patogenů, tj. 6,3 patogenu na jednoho pacienta (G+/G- ratio bylo 1:1,43). U skupiny zemřelých pacientů bylo do 48 hodin od začátku hospitalizace izolováno 32 patogenů, tj. 4,6 patogenu na jednoho pacienta (G+/G- ratio 1:2,63).

Dominance v počtu izolovaných PPM u skupiny pacientů léčených „rescue“ postupem pokračovala také v dalším období, tedy od 48 hodin do konce 1. týdne hospitalizace. Celkem bylo izolováno 66 patogenů, tj. 16,5 patogenu na jednoho pacienta (G+/G- ratio bylo 1:4,72), u skupiny pacientů se standardní terapií bylo izolováno 41 patogenů, tj. 13,7 patogenu na jednoho pacienta (G+/G- ratio bylo 1:3,1), u zemřelých pacientů to bylo v tomto období 46 patogenů, tj. 6,6 patogenu na jednoho pacienta (G+/G- ratio bylo 1:1,65).

V dalších obdobích docházelo již k pozvolné redukci počtu izolovaných PPM, což bylo u skupiny s „rescue“ postupem způsobené účinností samotného protokolu spolu s efektivním antimikrobiálním (lokálním i celkovým) přístupem. U zbylé skupiny přeživších pacientů docházelo k dalšímu nárůstu počtu PPM, který mohl být způsoben hlubší imunosupresí a projevoval se také na celkové délce hospitalizace. Dále již patogenní nálož postupně klesala, podobně jak tomu bylo u první skupiny pacientů. U zemřelých pacientů je z pochopitelného důvodu redukce počtu izolovaných PPM od 1. týdne hospitalizace. Schéma

zastoupení jednotlivých patogenů v průběhu hospitalizace u pacientů s „rescue“ postupem, přeživších pacientů bez „rescue“ postupu a zemřelých pacientů je znázorněno na obrázku č. 34.



Obr. č. 34 Zastoupení jednotlivých PPM v průběhu hospitalizace u pacientů s „rescue“ postupem (inovativní koncept), přeživších pacientů bez „rescue“ postupu a pacientů zemřelých.

Jaká je úroveň rezistence PPM izolovaných u pacientů s TEN v průběhu hospitalizace?

Zde již nejsou jednotlivé PPM rozděleny podle individuálního terapeutického přístupu. Vzhledem k omezenému počtu bylo preferováno kumulativní sledování. Dá se předpokládat, že v průběhu terapie bude zejména díky selekčnímu tlaku jednotlivých antimikrobiálních preparátů rezistence PPM narůstat. Toto tvrzení jsme ovšem pozorovali pouze u některých PPM, u jiných PPM nedocházelo ke změně v úrovni rezistence.

Citlivost/rezistence PPM byla sledována u klíčových antimikrobiálních preparátů. U grampozitivních koků byl nárůst rezistence v průběhu hospitalizace sledován pouze u koaguláza negativních stafylokoků, a to k oxacilinu, klindamycinu a trimethoprim-sulfamethoxazolu. K oxacilinu bylo citlivých celkem 58 % všech kmenů koaguláza negativních stafylokoků izolovaných do 48 hodin od přijetí pacientů. Ovšem již ve 4. týdnu vykazovaly kmeny koaguláza negativních stafylokoků k oxacilinu 100% rezistenci. U klindamycinu byla situace obdobná, v období do 48 hodin od přijetí byla citlivost k tomuto antibiotiku zjištěna u 77 % kmenů koaguláza negativních stafylokoků, ve 4. týdnu již jen u 7 %. U trimethoprim-sulfamethoxazolu došlo v průběhu hospitalizace také k redukci efektivity vůči koaguláza negativních stafylokoků, v období do 48 hodin bylo citlivých 71 % kmenů, ve 4. týdnu již pouze 40 % kmenů. U všech izolovaných kmenů si zachovával vankomycin 100% efektivitu. Vysoká účinnost vůči kmenům koaguláza negativních stafylokoků byla také po celou dobu hospitalizace zaznamenána u tetracyklinů (87 % citlivých kmenů do 48 hodin od začátku hospitalizace a 93 % citlivých kmenů ve 4. týdnu hospitalizace). Z dalších dat u grampozitivních koků stojí za zmínku jeden kmen enterokoka resp. *Enterococcus faecium* rezistentní k vankomycinu (tedy VRE – vankomycin rezistentní enterokok) a 100% rezistence všech izolovaných kmenů *Streptococcus* sp. k erytromycinu.

U gramnegativních tyček je rovněž možno pozorovat několik zajímavých zjištění. V případě kmenů *Proteus* sp. jde o narůstající trend rezistence k aminoglykosidům (gentamicin a amikacin) a rovněž také k flourochinolonům (ciprofloxacin). Také pokles citlivých kmenů *Escherichia coli* v průběhu hospitalizace k aminopenicilinům, kdy v období do 48 hodin od přijetí bylo celkem 57 % všech kmenů citlivých, zatímco ve 2. týdnu se úroveň citlivosti snížila na 25 % všech izolovaných kmenů.

Nejzajímavějším pozorováním byl u gramnegativních tyček jednoznačně nárůst počtu rezistentních kmenů u *Pseudomonas aeruginosa*. Snížení efektivity se týká prakticky všech dostupných protipseudomonádových preparátů (gentamicin, ciprofloxacin, ceftazidim, meropenem, piperacilin/tazobactam) mimo amikacin. Ten si ponechává 100% efektivitu vůči všem izolovaným kmenům *Pseudomonas aeruginosa* v celém průběhu hospitalizace.

Vývoj poměru všech citlivých a rezistentních kmenů grampozitivních koků a gramnegativních tyček v průběhu hospitalizace u pacientů s TEN je znázorněn v tabulce č. 28 a 29. Vliv vybraných faktorů na riziko rozvoje infekčních komplikací rezistentním kmenem PPM lze vyjádřit prostřednictvím Spearmanova korelačního koeficientu. Jako relevantní parametry, které mohou být rizikovými faktory pro selekci rezistentních kmenů bakterií, byly vybrány: hodnota SCORTEN při přijetí, rozsah exfoliace, délka hospitalizace a doba od počátečních příznaků k začátku hospitalizace na naší klinice. Tyto parametry a jejich vliv byl studován u vybraných kmenů bakterií (vzhledem k počtu PPM nebyly všechny kmeny bakterií vhodné). V případě grampozitivního spektra to byly kmeny koaguláza negativní *Staphylococcus* a *Enterococcus faecalis* u gramnegativních tyček poté *Proteus* sp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* sp. a *Klebsiella* sp.

U grampozitivního spektra se prokázal vliv délky hospitalizace a doby od začátku příznaků k hospitalizaci jako faktory s velkou sílou asociace pro rozvoj rezistence u *Enterococcus faecalis* (r_s = 0,866, p = 0,058 pro délku hospitalizace a r_s = 0,894, P = 0,106 pro dobu od počátku příznaků po hospitalizaci), tato skutečnost nebyla ovšem potvrzena u kmenů koaguláza negativního stafylokoka.

V případě gramnegativních tyček se prokázal jako významný rizikový faktor rozsah exfoliované plochy v případě selekce rezistentních kmenů *Proteus* sp. (r_s = 0,921, p = 0,026) a dále vliv délky hospitalizace na selekci rezistentních kmenů *Acinetobacter* sp. (r_s = 0,778, p = 0,069).

Vliv vybraných rizikových faktorů pro selekci rezistentních kmenů bakterií je znázorněn v tab. 30, 31.

	Počet pacientů	Počet pacientů s nálezem	Počet kmenů	Počet kmenů	Oxacilin			Vankomycin			Klindamicin			Tetracyklin			Kotrimoxazol			Aminopeniciliny		
	N	N (%)	suma	průměr; medián (min; max)	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.
PATOGENY G+																						
SKN – G+ koagulasa negativní stafylokok																						
do 48 hodin	14	7 (50 %)	31	4.4; 3.0 (1; 15)	18 (58 %)	0.6; 0.6 (0; 1)		31 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		24 (77 %)	0.6; 0.9 (0; 1)		27 (87 %)	0.8; 1.0 (0; 1)		22 (71 %)	0.6; 0.9 (0; 1)				
48 h. – 1 týden	14	9 (64 %)	29	3.2; 1.0 (1; 12)	11 (38 %)	0.4; 0.1 (0; 1)		29 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		16 (55 %)	0.5; 0.3 (0; 1)		20 (69 %)	0.6; 1.0 (0; 1)		13 (45 %)	0.5; 0.9 (0; 1)				
1 – 2 týdny	9	8 (89 %)	31	3.9; 3.0 (1; 9)	2 (6 %)	0.1; 0.0 (0; 1)		31 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		14 (45 %)	0.3; 0.0 (0; 1)		22 (71 %)	0.8; 1.0 (0; 1)		5 (16 %)	0.2; 0.1 (0; 1)				
2 – 3 týdny	8	6 (75 %)	15	2.5; 1.5 (1; 6)	2 (13 %)	0.1; 0.0 (0; 0)		15 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		10 (67 %)	0.3; 0.0 (0; 1)		12 (80 %)	0.9; 1.0 (0; 1)		3 (20 %)	0.2; 0.0 (0; 1)				
3 – 4 týdny	6	5 (83 %)	15	3.0; 2.0 (1; 8)	0 (0 %)	0.0; 0.0 (0; 0)		15 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		1 (7 %)	0.2; 0.0 (0; 1)		14 (93 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		6 (40 %)	0.2; 0.0 (0; 1)				
ENFA – G+ Enterococcus feacalis																						
do 48 hodin	14	2 (14 %)	6	3.0; 3.0 (1; 5)				6 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)					0 (0 %)	0.0; 0.0 (0; 0)					6 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)	
48 h. – 1 týden	14	3 (21 %)	3	1.0; 1.0 (1; 1)				2 (67 %)	0.7; 1.0 (0; 1)					2 (67 %)	0.7; 1.0 (0; 1)					3 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)	
1 – 2 týdny	9	2 (22 %)	4	2.0; 2.0 (2; 2)				4 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)					2 (50 %)	0.5; 0.5 (0; 1)					4 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)	
2 – 3 týdny	8	0	–	–				0	–	–				0	–	–				0	–	–
3 – 4 týdny	6	2 (33 %)	2	1.0; 1.0 (1; 1)				2 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)					1 (50 %)	0.5; 0.5 (0; 1)					2 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)	
ENFC – G+ Enterococcus faecium																						
do 48 hodin	14	0	–	–				0	–	–				0	–	–				0	–	–
48 h. – 1 týden	14	0	–	–				0	–	–				0	–	–				0	–	–
1 – 2 týdny	9	0	–	–				0	–	–				0	–	–				0	–	–
2 – 3 týdny	8	2 (25 %)	2	1.0; 1.0 (1; 1)				1 (50 %)	0.5; 0.5 (0; 1)					1 (50 %)	0.5; 0.5 (0; 1)					0 (0 %)	0.0; 0.0 (0; 0)	
3 – 4 týdny	6	0	–	–				0	–	–				0	–	–				0	–	–
SA – G+ Staphylococcus aureus																						
do 48 hodin	14	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–			
48 h. – 1 týden	14	2 (14 %)	5	2.5; 2.5 (2; 3)	5 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		5 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		4 (80 %)	0.8; 0.8 (1; 1)		5 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		5 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)				
1 – 2 týdny	9	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–			
2 – 3 týdny	8	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–			
3 – 4 týdny	6	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–			

	Počet pacientů	Počet pacientů s nálezem	Počet kmenů	Počet kmenů	Klindamicin			Tetracyklin			Penicilin			Erytromycin		
	N	N (%)	suma	průměr; medián (min; max)	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.
STR-A,B – G+ Streptococcus alfa, beta hemolytický																
do 48 hodin	14	2 (14 %)	2	1.0; 1.0 (1; 1)	1 (50 %)	0.5; 0.5 (0; 1)		1 (50 %)	0.5; 0.5 (0; 1)		2 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		0 (0 %)	0.0; 0.0 (0; 0)	
48 h. – 1 týden	14	1 (7 %)	3	3,0	3 (100 %)	1.0		3 (100 %)	1.0		3 (100 %)	1.0		0 (0 %)	0.0	
1 – 2 týdny	9	1 (11 %)	4	4,0	4 (100 %)	1.0		4 (100 %)	1.0		4 (100 %)	1.0		0 (0 %)	0.0	
2 – 3 týdny	8	1 (13 %)	4	4,0	4 (100 %)	1.0		4 (100 %)	1.0		4 (100 %)	1.0		0 (0 %)	0.0	
3 – 4 týdny	6	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–

Tab. č. 28 Úroveň rezistence u grampozitivních (G+) patogenů izolovaných u pacientů s TEN v průběhu hospitalizace.

	Počet pacientů	Počet pacientů s nálezem	Počet kmenů	Počet kmenů	Aminopeniciliny			Gentamicin			Amikacin			Ciprofloxacin			Ceftazidim			Meropenem			Trimethoprim sulfamethoxazol			Piperacilin/tazobactam		
	N	N (%)	suma	průměr; medián (min; max)	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.	citlivých N (%)	průměr; medián (min; max)	medián rezist.
PATOGENY G-																												
PRMI/PRVU – G- proteus mirabilis, proteus vulgaris																												
do 48 hodin	14	3 (21 %)	3	1.0; 1.0 (1; 1)				1 (33 %)	0.3; 0.0 (0; 1)		3 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		2 (67 %)	0.7; 1.0 (0; 1)								1 (33 %)	0.3; 0.0 (0; 1)				
48 h. – 1 týden	14	3 (21 %)	23	7.7; 3.0 (2; 18)				20 (87 %)	0.7; 1.0 (0; 1)		23 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		18 (78 %)	0.3; 0.0 (0; 1)								18 (78 %)	0.3; 0.0 (0; 1)				
1 – 2 týdny	9	2 (22 %)	3	1.5; 1.5 (1; 2)				1 (33 %)	0.5; 0.5 (0; 1)		3 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		1 (33 %)	0.5; 0.5 (0; 1)								1 (33 %)	0.5; 0.5 (0; 1)				
2 – 3 týdny	8	2 (25 %)	5	2.5; 2.5 (1; 4)				0 (0 %)	0.0; 0.0 (0; 0)		5 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		4 (80 %)	0.5; 0.5 (0; 1)								0 (0 %)	0.0; 0.0 (0; 0)				
3 – 4 týdny	6	2 (33 %)	3	1.5; 1.5 (1; 2)				0 (0 %)	0.0; 0.0 (0; 0)		2 (67 %)	0.5; 0.5 (0; 1)		2 (67 %)	0.5; 0.5 (0; 1)								1 (33 %)	0.5; 0.5 (0; 1)				
ESCO – G- Escherichia coli																												
do 48 hodin	14	6 (43 %)	7	1.2; 1.0 (1; 2)	4 (57 %)	0.5; 0.5 (0; 1)		6 (86 %)	0.8; 1.0 (0; 1)		7 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		5 (71 %)	0.7; 1.0 (0; 1)		4 (57 %)	0.5; 0.5 (0; 1)										
48 h. – 1 týden	14	2 (14 %)	13	6.5; 6.5 (3; 10)	12 (92 %)	0.8; 0.8 (1; 1)		13 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		2 (15 %)	0.3; 0.3 (0; 1)		12 (92 %)	0.8; 0.8 (1; 1)		12 (92 %)	0.8; 0.8 (1; 1)										
1 – 2 týdny	9	3 (33 %)	4	1.3; 1.0 (1; 2)	1 (25 %)	0.3; 0.0 (0; 1)		4 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		4 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		4 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		4 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)										
2 – 3 týdny	8	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–									
3 – 4 týdny	6	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–									
PSAE – G- Pseudomonas aeruginosa																												
do 48 hodin	14	2 (14 %)	6	3.0; 3.0 (1; 5)				6 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		6 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		6 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		5 (83 %)	0.9; 0.9 (1; 1)		6 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)					5 (83 %)	0.9; 0.9 (1; 1)	
48 h. – 1 týden	14	4 (29 %)	11	2.8; 2.0 (1; 6)				10 (91 %)	0.8; 1.0 (0; 1)		11 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		8 (73 %)	0.8; 1.0 (0; 1)		11 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		11 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)					11 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)	
1 – 2 týdny	9	3 (33 %)	25	8.3; 2.0 (2; 21)				24 (96 %)	0.8; 1.0 (1; 1)		25 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		24 (96 %)	0.8; 1.0 (1; 1)		22 (88 %)	0.8; 0.9 (1; 1)		24 (96 %)	0.8; 1.0 (1; 1)					22 (88 %)	0.8; 0.9 (1; 1)	
2 – 3 týdny	8	6 (75 %)	13	2.2; 1.5 (1; 6)				7 (54 %)	0.6; 0.8 (0; 1)		13 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		7 (54 %)	0.6; 0.8 (0; 1)		8 (62 %)	0.7; 1.0 (0; 1)		9 (69 %)	0.8; 1.0 (0; 1)					6 (46 %)	0.6; 0.7 (0; 1)	
3 – 4 týdny	6	3 (50 %)	8	2.7; 2.0 (1; 5)				1 (13 %)	0.3; 0.0 (0; 1)		8 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		1 (13 %)	0.3; 0.0 (0; 1)		1 (13 %)	0.1; 0.0 (0; 0)		1 (13 %)	0.3; 0.0 (0; 1)					1 (13 %)	0.3; 0.0 (0; 1)	
ACBA – G- Acinetobacter baumannii																												
do 48 hodin	14	0	–	–				0	–	–	0	–	–	0	–	–				0	–	–						
48 h. – 1 týden	14	3 (21 %)	9	3.0; 3.0 (2; 4)				2 (22 %)	0.3; 0.0 (0; 1)		6 (67 %)	0.7; 1.0 (0; 1)		2 (22 %)	0.3; 0.0 (0; 1)					9 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
1 – 2 týdny	9	4 (44 %)	4	1.0; 1.0 (1; 1)				4 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		4 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		4 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)					4 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
2 – 3 týdny	8	0	–	–				0	–	–	0	–	–	0	–	–				0	–	–						
3 – 4 týdny	6	0	–	–				0	–	–	0	–	–	0	–	–				0	–	–						
SEMA – G- Seratia marcescens																												
do 48 hodin	14	0	–	–				0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–						
48 h. – 1 týden	14	1 (7 %)	1	1,0				1 (100 %)	1.0		0 (0 %)	0.0		1 (100 %)	1.0		1 (100 %)	1.0		1 (100 %)	1.0							
1 – 2 týdny	9	0	–	–				0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–						
2 – 3 týdny	8	0	–	–				0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–						
3 – 4 týdny	6	1 (17 %)	3	3,0				3 (100 %)	1.0		2 (67 %)	0.7		3 (100 %)	1.0		3 (100 %)	1.0		3 (100 %)	1.0							
CIKO/CIFR – G- Citrobacter koseri/freundi																												
do 48 hodin	14	2 (14 %)	6	3.0; 3.0 (2; 4)				6 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		6 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		6 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		6 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		6 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
48 h. – 1 týden	14	1 (7 %)	5	5,0				5 (100 %)	1.0		5 (100 %)	1.0		5 (100 %)	1.0		5 (100 %)	1.0		5 (100 %)	1.0							
1 – 2 týdny	9	1 (11 %)	2	2,0				2 (100 %)	1.0		2 (100 %)	1.0		2 (100 %)	1.0		2 (100 %)	1.0		2 (100 %)	1.0							
2 – 3 týdny	8	0	–	–				0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–						
3 – 4 týdny	6	0	–	–				0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–						
KLPN/KLOX – G- Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca																												
do 48 hodin	14	4 (29 %)	22	5.5; 5.5 (1; 10)				22 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		21 (95 %)	0.8; 1.0 (0; 1)		22 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		22 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		22 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
48 h. – 1 týden	14	7 (50 %)	20	2.9; 2.0 (1; 9)				12 (60 %)	0.9; 1.0 (0; 1)		20 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		11 (55 %)	0.9; 1.0 (0; 1)		12 (60 %)	0.9; 1.0 (0; 1)		20 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
1 – 2 týdny	9	3 (33 %)	27	9.0; 7.0 (2; 18)				10 (37 %)	0.7; 1.0 (0; 1)		27 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		9 (33 %)	0.7; 1.0 (0; 1)		10 (37 %)	0.7; 1.0 (0; 1)		27 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
2 – 3 týdny	8	3 (38 %)	16	5.3; 6.0 (2; 8)				6 (38 %)	0.5; 0.5 (0; 1)		16 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		5 (31 %)	0.3; 0.3 (0; 1)		6 (38 %)	0.5; 0.5 (0; 1)		16 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
3 – 4 týdny	6	3 (50 %)	7	2.3; 3.0 (1; 3)				4 (57 %)	0.7; 1.0 (0; 1)		7 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		4 (57 %)	0.7; 1.0 (0; 1)		4 (57 %)	0.7; 1.0 (0; 1)		7 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
MOMO – G- Morganella morgannii																												
do 48 hodin	14	1 (7 %)	2	2,0				2 (100 %)	1.0		2 (100 %)	1.0		2 (100 %)	1.0		2 (100 %)	1.0		2 (100 %)	1.0							
48 h. – 1 týden	14	0	–	–				0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–						
1 – 2 týdny	9	0	–	–				0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–						
2 – 3 týdny	8	0	–	–				0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–						
3 – 4 týdny	6	0	–	–				0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–	0	–	–						
ENCL/ENAE – G- Enterobacter cloacae/aerogenes																												
do 48 hodin	14	3 (21 %)	15	5.0; 5.0 (4; 6)				15 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		15 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		15 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		9 (60 %)	0.7; 1.0 (0; 1)		15 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
48 h. – 1 týden	14	2 (14 %)	29	14.5; 14.5 (11; 18)				29 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		29 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		29 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		29 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		29 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
1 – 2 týdny	9	2 (22 %)	26	13.0; 13.0 (2; 24)				26 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		26 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		26 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		21 (81 %)	0.9; 0.9 (1; 1)		26 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
2 – 3 týdny	8	2 (25 %)	2	1.0; 1.0 (1; 1)				1 (50 %)	0.5; 0.5 (0; 1)		2 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		1 (50 %)	0.5; 0.5 (0; 1)		0 (0 %)	0.0; 0.0 (0; 0)		2 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
3 – 4 týdny	6	2 (33 %)	2	1.0; 1.0 (1; 1)				1 (50 %)	0.5; 0.5 (0; 1)		2 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)		1 (50 %)	0.5; 0.5 (0; 1)		1 (50 %)	0.5; 0.5 (0; 1)		2 (100 %)	1.0; 1.0 (1; 1)							
STMA – G- Stenotrophomonas maltophilia																												
do 48 hodin	14	0	–	–										0	–	–							0	–	–			
48 h. – 1 týden	14	0	–	–										0	–	–							0	–	–			
1 – 2 týdny	9	1 (11 %)	7	7.0										0 (0 %)	0.0								7 (100 %)	1.0				
2 – 3 týdny	8	0	–	–										0	–	–							0	–	–			
3 – 4 týdny	6	1 (17 %)	1	1.0										0 (0 %)	0.0								1 (100 %)	1.0				
BUCE – G- Burholderia cepacia																												
do 48 hodin	14	0	–	–													0	–	–				0	–	–	0	–	–
48 h. – 1 týden	14	0	–	–													0	–	–				0	–	–	0	–	–
1 – 2 týdny	9	0	–	–													0	–	–				0	–	–	0	–	–
2 – 3 týdny	8	0	–	–													0	–	–				0	–	–	0	–	–
3 – 4 týdny	6	1 (17 %)	1	1.0													1 (100 %)	1.0					1 (100 %)	1.0		0 (0 %)	0.0	

Tab. č. 29 Úroveň rezistence u gramnegativních (G-) patogenů izolovaných u pacientů s TEN v průběhu hospitalizace.

Grampozitivní kmeny	Citlivost Koagulasa negativní stafylokoky			Citlivost *Enterococcus faecalis*		
	N	r_s	p-hodnota	N	r_s	p-hodnota
SCORTEN příjem	13	-0,275	0,362	5	-0,304	0,619
Rozsah exfoliace	13	0,275	0,362	5	0,148	0,812
Délka hospitalizace	13	0,393	0,185	5	0,866	0,058
Doba od příznaků k hospitalizaci	10	-0,448	0,194	4	0,894	0,106

Tab. č. 30 Vliv vybraných rizikových faktorů pro selekci rezistentních kmenů Koagulasa negativní stafylokoky a *Enterococcus faecalis*.
(r_s - Spearmanův korelační koeficient; možná interpretace: malá síla asociace při |r|= 0.1 až 0.3; středí síla asociace při |r| = 0.3 až 0.7 a velká síla asociace při |r| = 0.7 až 1).

Gramnegativní kmeny	Citlivost *Proteus* sp.			Citlivost *Escherichia coli*			Citlivost *Pseudomonas aeruginosa*			Citlivost *Acinetobacter* sp.			Citlivost *Klebsiella* sp.		
	N	r_s	p-hodnota	N	r_s	p-hodnota	N	r_s	p-hodnota	N	r_s	p-hodnota	N	r_s	p-hodnota
SCORTEN příjem	5	0,631	0,254	8	-0,316	0,445	10	-0,358	0,310	6	0,070	0,896	8	-0,112	0,792
Rozsah exfoliace	5	0,921	**0,026**	8	0,000	1,000	10	0,160	0,658	6	-0,270	0,604	8	0,617	0,103
Délka hospitalizace	5	-0,500	0,391	8	-0,074	0,862	10	-0,302	0,397	6	0,778	0,069	8	-0,546	0,162
Doba od příznaků k hospitalizaci	4	-0,632	0,368	7	0,112	0,811	9	-0,154	0,693	3	–	–	7	0,020	0,967

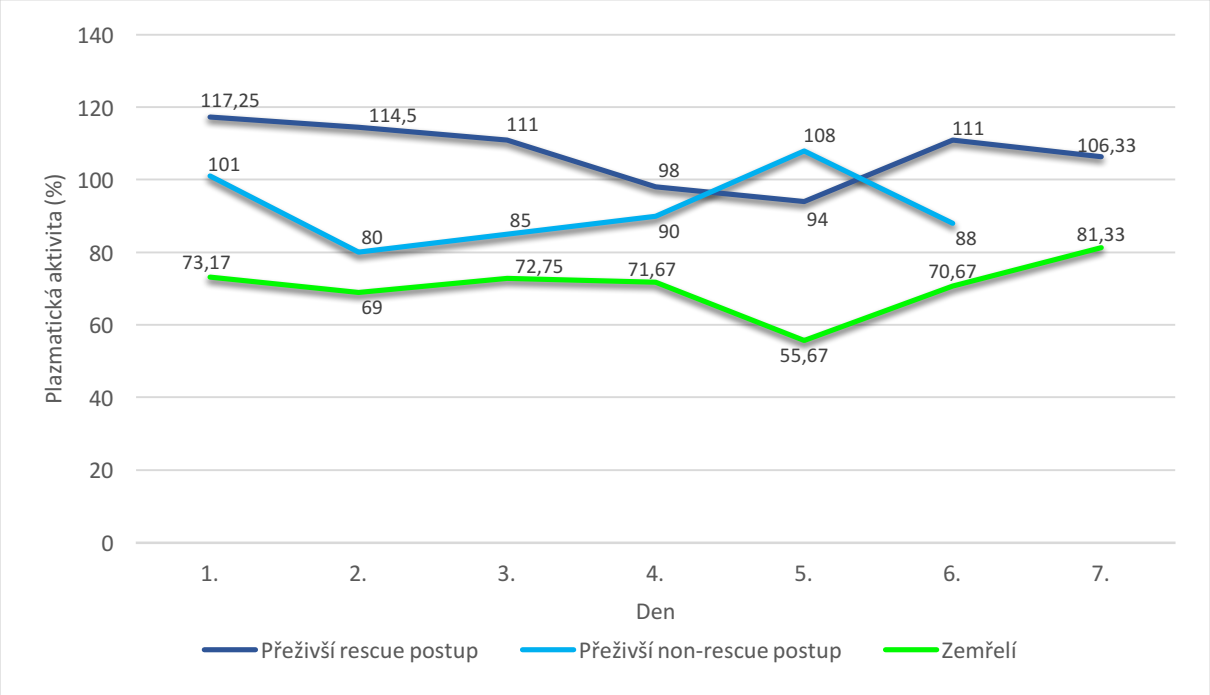
Tab. č. 31 Vliv vybraných rizikových faktorů pro selekci rezistentních kmenů vybraných gramnegativních bakterií. (r_s - Spearmanův korelační koeficient; možná interpretace: malá síla asociace při |r|= 0.1 až 0.3; středí síla asociace při |r| = 0.3 až 0.7 a velká síla asociace při |r| = 0.7 až 1).

2.3.3 Plazmatická aktivita antitrombinu u pacientů s TEN

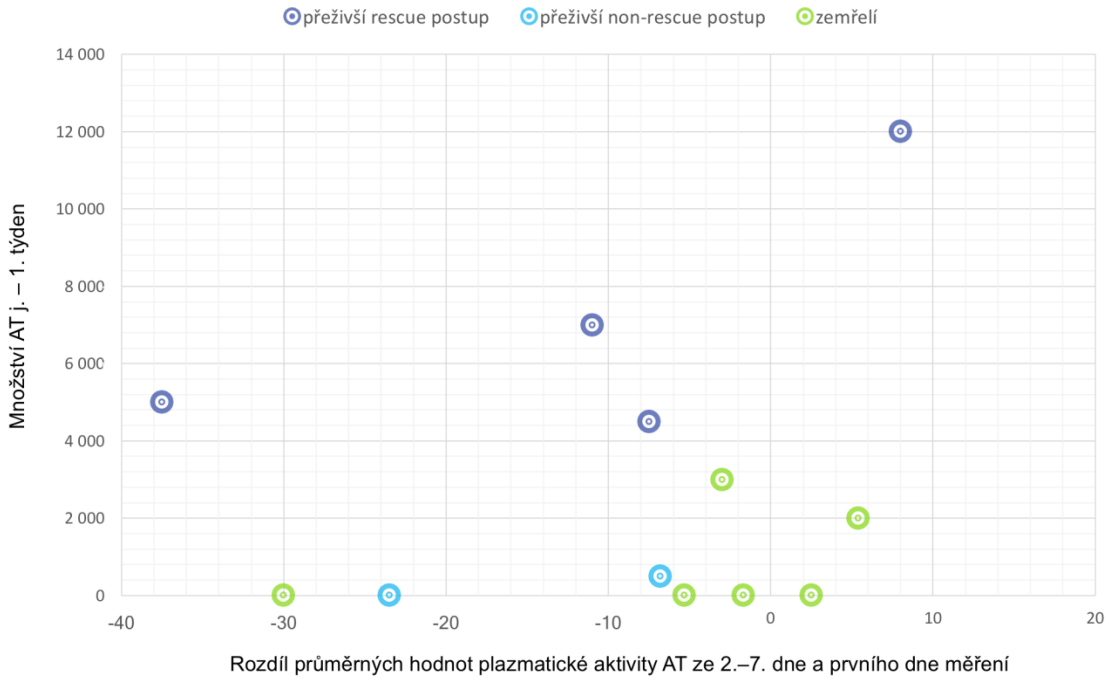
Sledování plazmatické aktivity antitrombinu (AT) bylo provedeno celkem u 13 pacientů ze souboru (nejdůležitější výsledky jsou prezentovány v příloze č. 11). Analýzou tohoto sledování bylo zjištěno několik unikátních závěrů:

1) Plazmatická aktivita AT velmi úzce koreluje s letalitou pacientů s TEN.
2) Podávání AT a udržování jeho plazmatické aktivity okolo 120 % vede k lepší prognóze těchto pacientů.

Průměrná plazmatická aktivita AT zaznamenaná u zemřelých pacientů byla 73,2 %. U přeživších pacientů byla plazmatická aktivita 111,8 %. Její dynamika u skupiny přeživších (rescue/ non-rescue postup) a zemřelých pacientů je znázorněna v grafu č. 4. U všech skupin pacientů byl zaznamenán v průběhu prvního týdne hospitalizace pokles plazmatické aktivity AT. V následujícím grafu č. 5 je znázorněna závislost rozdílu plazmatické aktivity AT 1. den a průměrné plazmatické aktivity 2.–7. den a množství podaného AT (jednotek) během tohoto období.



Graf č. 4 Dynamika plazmatické aktivity AT u souboru vlastních pacientů.



Graf č. 5 Závislost rozdílu plazmatické aktivity 1. den a průměrné plazmatické aktivity 2. – 7.den a množství podaných jednotek (j.) AT.

2.3.4 Imunologické parametry u pacientů s TEN

V současné době je v rámci řízené imunosuprese již pouhé stanovení počtu leukocytů či diferenciálního obrazu bílé krevní řady nedostačující. Proto jsme do rutinního sledování pacientů s TEN zahrnuli také monitoraci subpopulace T-lymfocytů (CD4+, CD8+), jejich vzájemný poměr, subpopulace B-lymfocytů (CD19+), NK buněk (CD16+/CD56+) a také procentuální míru exprese CD14+ na monocytech (CD14+ HLAD-DR+).

Nejdůležitějším sledovaným parametrem v našem „rescue" postupu byl absolutní a relativní počet CD4+ T-lymfocytů. Průměr i medián vstupních plazmatických koncentrací CD4+ T-lymfocytů byl v našem souboru v normálním rozmezí, nicméně již 3. den po zahájení terapie pozorujeme pokles jeho hodnot, který přetrvává až do konce 2. týdne. Teprve kolem 3. týdne po zahájení terapie se hodnoty plazmatické koncentrace CD4+ T-lymfocyty opět normalizovaly. Tento efekt byl zapříčiněn podáváním transferendi factor suillus.

Výsledky komplexního imunologického vyšetření u pacientů s „rescue" postupem jsou znázorněny v tabulce č. 32.

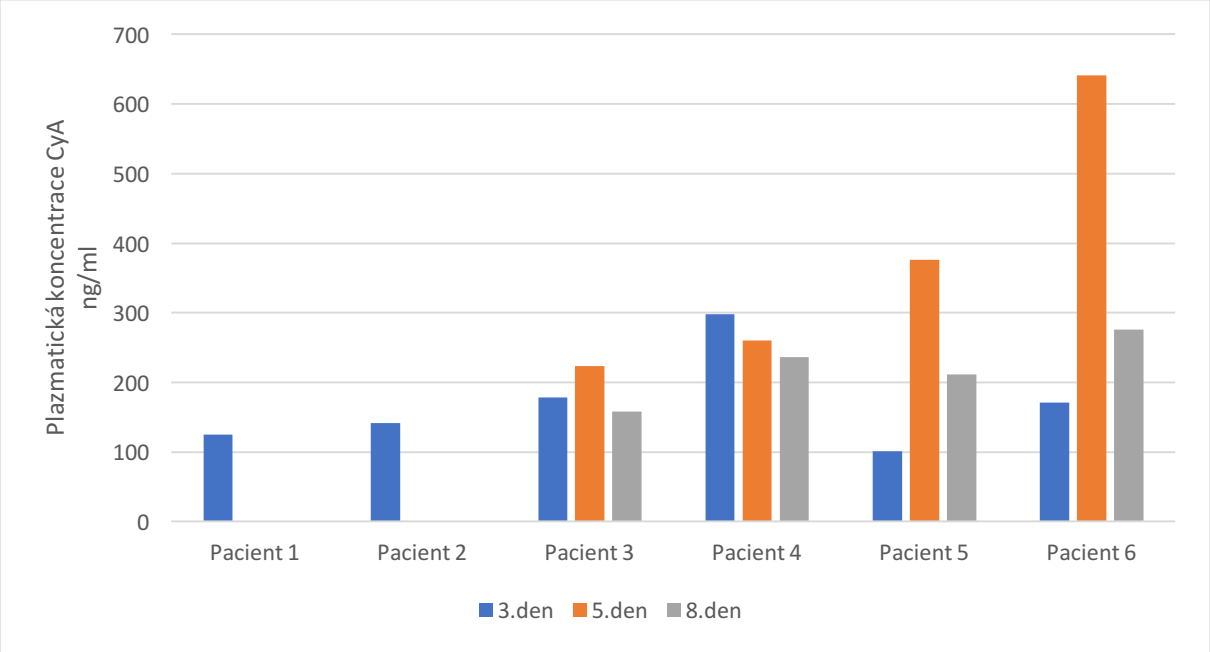
		Norma	1.den	3.den (pouze 2 měření)	5.den (± 1 den)	7.den (± 1 den)	14.den (± 1 den)	21.den (± 3 dny)
Leukocyty	x 10^9/l	4,0-10,0	8,79; 6,93 (5,8; 15,5)	5,52; nd (3,86; 7,18)	11,31; 10,25 (3,65; 21,1)	14,03; 16,55 (2,8; 20,2)	6,65; 7,35 (1,7; 10,8)	8,67; 10,2 (3,8; 12)
Subpopulace T-lymfocytů								
CD3+	%	55,0-83,0	68,5; 67,5 (50; 89)	54,0; nd (45; 63)	59,0; 56,5 (45;78)	60,0; 59,0 (51; 71)	60,75; 59,5 (52; 72)	65,67; 59,0 (58; 80)
Abs.počet CD3+	x 10^9/l	0,70-2,10	0,63; 0,62 (0,32; 0,97)	0,4; nd (0,33; 0,47)	0,4; 0,4 (0,28; 0,51)	0,26; 0,3 (0,1; 0,36)	0,23; 0,23 (0,13; 0,33)	0,43; 0,5 (0,21; 0,59)
CD3+CD4+	%	28,0-57,0	54,25; 53 (29; 82)	38,5; nd (35; 42)	43,5; 36 (35; 67)	42,25; 39 (33; 58)	43,5; 42 (37; 60)	52,34; 49 (37; 71)
Abs.počet CD3+CD4+	x 10^9/l	0,30-1,40	0,5; 0,44 (0,26; 0,89)	0,29; nd (0,25; 0,32)	0,29; 0,3 (0,18; 0,39)	0,19; 0,22 (0,06; 0,25)	0,16; 0,16 (0,09; 0,24)	0,33; 0,38 (0,19; 0,41)
CD3+CD8+	%	10,0-39,0	14,25; 14,0 (7; 22)	15,5; nd (10; 21)	15,75; 15,5 (9; 23)	17,0; 15,0 (10; 28)	15,25; 13,5 (8; 26)	12,34; 10,0 (8;19)
Abs.počet CD8+	x 10^9/l	0,20-0,90	0,13; 0,13 (0,06; 0,19)	0,12; nd (0,08;0,16)	0,11; 0,10 (0,05;0,20)	0,07; 0,06 (0,03; 0,15)	0,06; 0,04 (0,02; 0,14)	0,1; 0,08 (0,02; 0,19)
Poměr CD4+/CD8+		0,70-3,0	5,21; 3,91 (1,32; 11,71)	2,75; nd (2,0; 3,5)	3,37; 2,93 (1,52; 4,11)	2,96;3,02 (1,32; 4,46)	3,89;3,86 (1,15; 6,67)	5,24; 4,9 (1,95; 8,88)
Subpopulace B lymfocytů								
CD19+	%	6,0-19,0	20,75; 23,5 (9,0; 27,0)	32,5; nd (26; 39)	25,25; 28,0 (7; 38)	28,5; 29,0 (13; 43)	27,75; 29,5 (14; 39)	23,34; 22,0 (17; 31)
Abs.počet CD19+	x 10^9/l	0,10-0,50	0,15; 0,16 (0,1; 0,19)	0,24; nd (0,2; 0,28)	0,18; 0,15 (0,03; 0,4)	0,12; 0,09 (0,05; 0,24)	0,12; 0,12 (0,03; 0,21)	0,18; 0,18 (0,05; 0,32)
NK buňky								
CD16+/CD56+	%	7,0-31,0	17; 21 (1; 25)	13; nd (11; 15)	14,75; 14,5 (10; 20)	11,75; 12,5 (4; 18)	8,5; 10 (3; 11)	10; 11 (1; 18)
Abs.počet CD16+/CD56+	x 10^9/l	0,09-0,60	0,13; 0,16 (0,01; 0,19)	0,10; nd (0,08; 0,11)	0,11; 0,12 (0,03; 0,17)	0,06; 0,06 (0,01; 0,10)	0,04; 0,04 (0,01; 0,06)	0,09; 0,11 (0,04; 0,15)
Monocyty								
CD14+HLA DR+	%	90,0-100,0	94,18; 94,1 (90,8; 97,7)	86,3; nd (82,8; 89,8)	85,28; 90,8 (62,5; 97,0)	64,1; 63,8 (30,3; 98,5)	90,75; 90,25 (88,2; 97,8)	93,47; 93,0 (90,8; 96,6)

Tab. č. 32 Vybrané imunologické parametry u pacientů s „rescue“ postupem (nd = nedefinováno).

2.3.5 Závislost poškození DNA cirkulujících lymfocytů a plazmatické koncentrace cyklosporinu A u pacientů s TEN

Hodnoty plazmatické koncentrace CyA

Plazmatická koncentrace CyA byla vyšetřována u všech pacientů (N = 6), u nichž byl CyA použit. U dvou pacientů v souboru bylo do 8. dne hospitalizace provedeno pouze jedno měření. První evaluace plazmatické koncentrace byla provedena 3. den po zahájení terapie. Průměrná hodnota plazmatické koncentrace v tento den byla 169 ng/ml (N = 6). Tato plazmatická koncentrace byla u 5 pacientů dostačující pro zastavení progrese základního onemocnění. U jedné pacientky onemocnění dále progredovalo. U všech pacientů pokračovalo podávání CyA po dobu minimálně dalších dvou dní. Průměrná plazmatická koncentrace CyA byla 5. den po podání 375 ng/ml (N = 4). Další měření bylo provedeno 8. den hospitalizace, kdy průměrná plazmatická koncentrace CyA byla 220 ng/ml (N = 4). V grafu č. 6 jsou znázorněny hodnoty plazmatické koncentrace u konkrétních pacientů 3., 5. a 8. den od zahájení terapie.



Graf č. 6 Plazmatická koncentrace CyA u pacientů z našeho souboru.

Cílem tohoto měření bylo odpovědět na dosud nevyřešenou otázku, a to – jaká je minimální plazmatická koncentrace CyA, která zastavuje progresi základního onemocnění? U 5 pacientů byla zastavena po třetím dni podávání CyA. Jeho průměrná plazmatická koncentrace tento den byla 169 ng/ml (minimální hodnota byla 101 ng/ml a maximální hodnota byla 298 ng/ml). Dalo by se tedy předpokládat, že plazmatická koncentrace CyA v tomto rozmezí dokáže zastavit progresi TEN. Dávku zmatečnosti do tohoto tvrzení vnáší

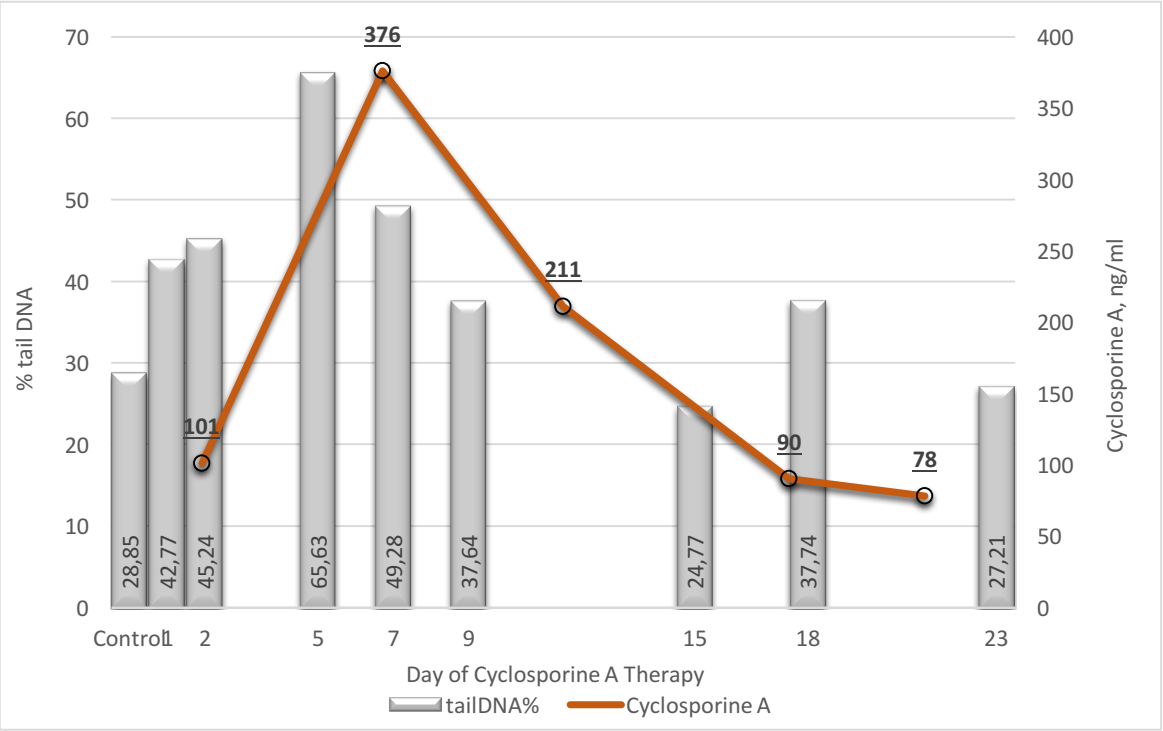
pacient č. 4, který jako jediný ze skupiny zemřel. Tento pacient měl 3. den od začátku podávání CyA plazmatickou koncentraci 298 ng/ml, tedy nejvyšší ze všech pacientů v souboru, přesto u něj došlo k další progresi TEN.

U všech pacientů se pokračovalo v podávání CyA do minimálně 5. dne hospitalizace, kdy byla průměrná plazmatická koncentrace 375 ng/ml (minimální hodnota 223 ng/ml, maximální hodnota 641 ng/ml). Všichni pacienti dostávali dávku CyA 5 mg/kg a den rozdělenou do dvou dílčích dávek.

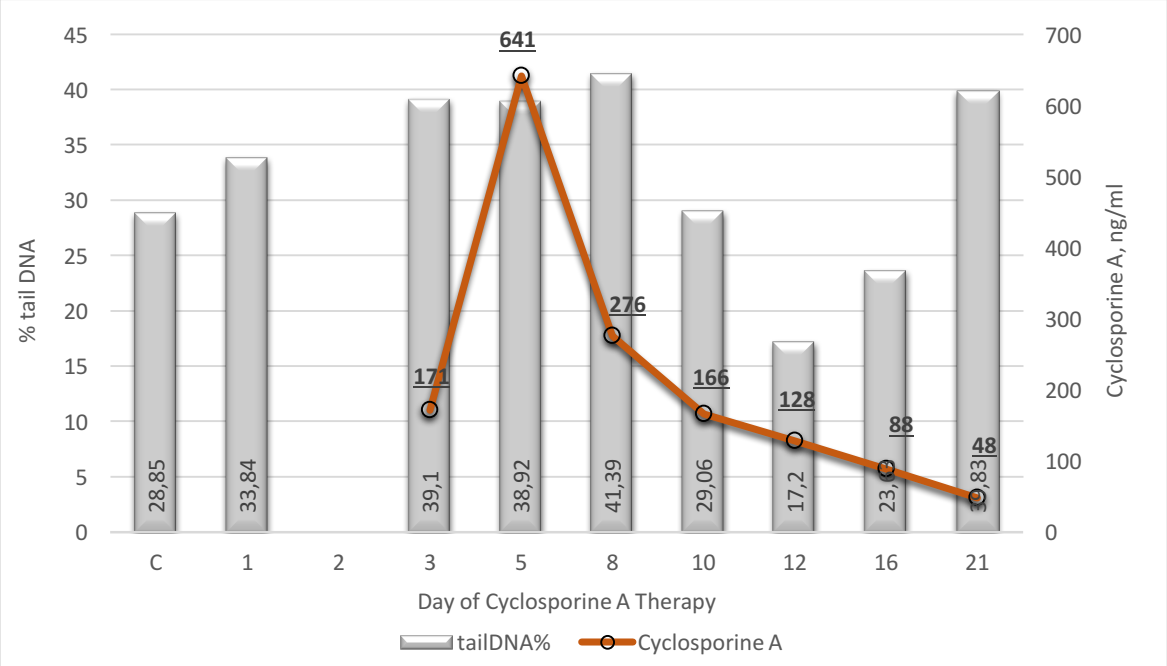
Kometová analýza

Toto vyšetření bylo do algoritmu diagnosticko-terapeutických opatření u pacientů s TEN zařazeno v roce 2015. Proto jsou doposud k dispozici výsledky pouze u dvou pacientů. Přesto přináší několik zásadních zjištění, která budou prezentována níže. Dle výsledků kometové analýzy docházelo v průběhu imunosupresivní fáze k nárůstu poškození DNA cirkulujících lymfocytů, jež koreluje s nárůstem plazmatické koncentrace CyA. Tento efekt byl zaznamenán zejména u pacienta č. 1. U pacienta č. 2 nebyla tato dynamika natolik zjevná, přesto se daly identifikovat totožné parametry vývoje poškození DNA u cirkulujících lymfocytů. Po ukončení imunosupresivní fáze docházelo pochopitelně ke snížení plazmatické koncentrace CyA a k redukci poškození DNA lymfocytů. Velmi překvapivým zjištěním bylo opětovné zvýšení poškození DNA lymfocytů 18. resp. 21. den hospitalizace. Výsledky dynamiky poškození DNA T-lymfocytů v závislosti na plazmatické koncentraci u pacientů s TEN jsou znázorněny v grafu č. 7, 8.

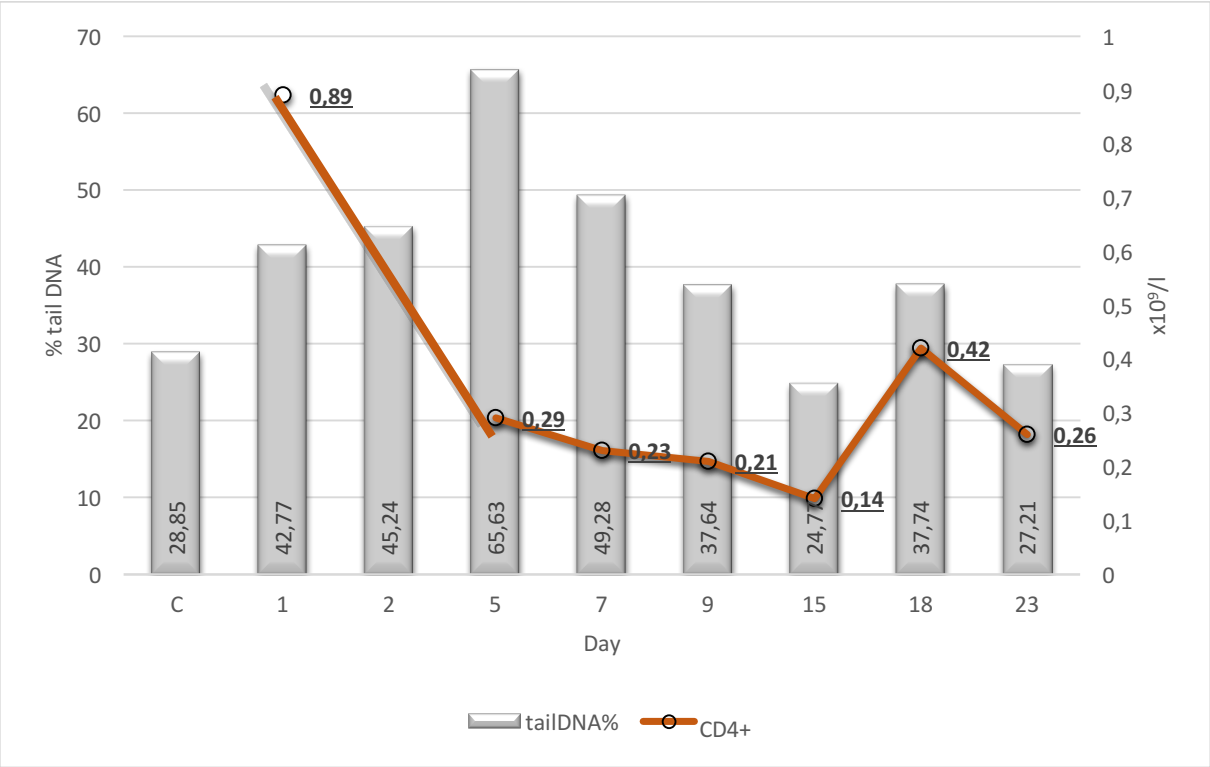
Opětovné zvýšení poškození DNA lymfocytů bylo zaznamenáno kolem 2. týdne po zahájení imunostimulační fáze konceptu (podávání transferendi factor suillus 5mg p. o. po 3 dny). Vysvětlením tohoto posunu je pravděpodobně právě podávání tohoto imunostimulačního preparátu. Specifická imunostimulace měla u obou pacientů primárně efekt v nárůstu počtu leukocytů (T-lymfocytů). Nárůst celkového počtu T-lymfocytů je způsoben vyplavením nezralých nebo defektních zástupců této podskupiny leukocytů. Teprve s odstupem dalších 7 dní dochází k postupné normalizaci úrovně poškození DNA T-lymfocytů. Vztah mezi poškozením DNA lymfocytů a celkovým počtem CD4+ T-lymfocytů u obou pacientů je znázorněn v grafu č. 9, 10.



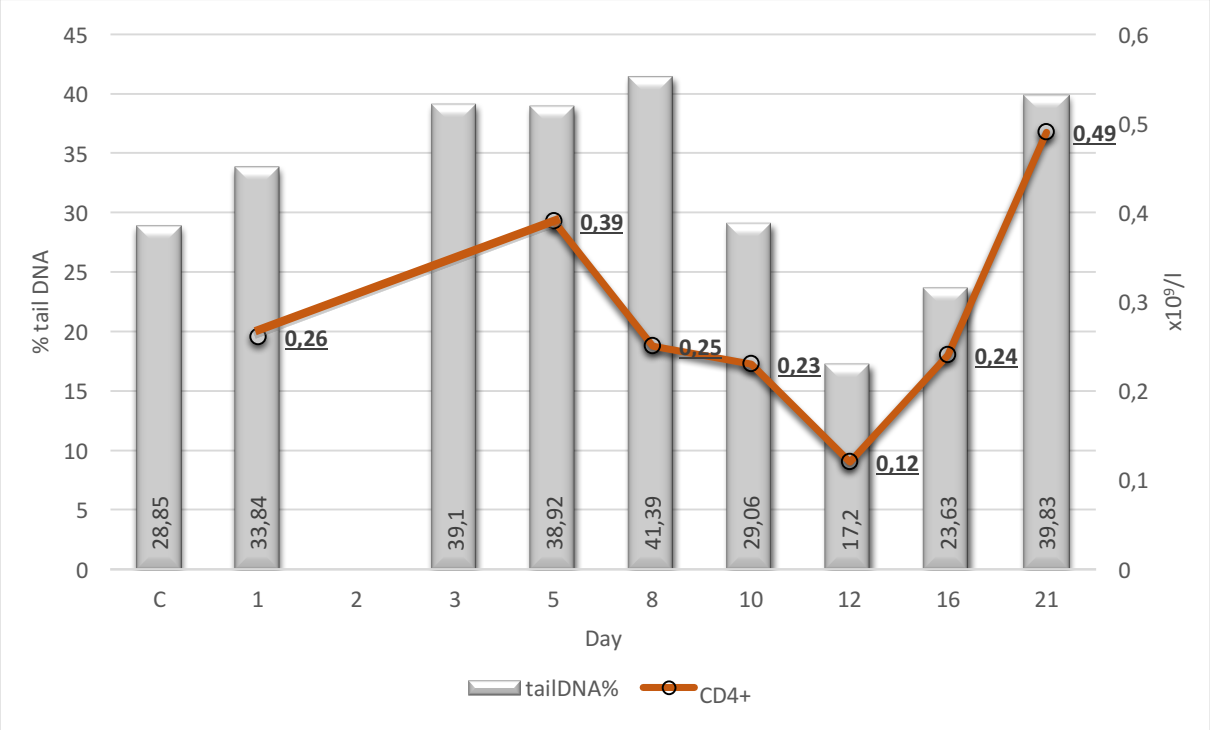
Graf č. 7 Vztah plasmatické koncentrace CyA a úrovně poškození komet (%) u pacientky č.1. (Control – kontrolní skupina zdravých dobrovolníků).



Graf č. 8 Vztah plasmatické koncentrace CyA a úrovně poškození komet (%) u pacientky č.2. (C – kontrolní skupina zdravých dobrovolníků).



Graf č. 9 Vztah mezi absolutním počtem CD4+ a poškozením DNA lymfocytů (%) u pacientky č.1. (C – kontrolní skupina zdravých dobrovolníků).



Graf č. 10 Vztah mezi absolutním počtem CD4+ a poškozením DNA lymfocytů (%) u pacientky č.2. (C – kontrolní skupina zdravých dobrovolníků).

2.4 Diskuze

V kapitole II jsou prezentovány výsledky terapie pacientů s TEN léčených na Klinice popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno v období 1996–2015. Celkem bylo ve zmíněném období identifikováno 14 pacientů, kteří splňovali požadovaná kritéria. Žádný z nich nebyl primárně hospitalizován pro diagnózu TEN a všichni byli transferováni na naši kliniku sekundárně pro progresi TEN. V době přijetí na naše pracoviště byla u všech pacientů v souboru zavedena terapie kortikosteroidy, u jednoho pacienta byla doplněná o podání IVIg.

Vzhledem k raritnímu výskytu tohoto onemocnění představuje 14 pacientů s diagnózou TEN nejvyšší počet pacientů léčených v jednom centru v České republice a na Slovensku. I v rámci doposud publikovaných epidemiologických studií se zdá být počet pacientů zcela konkurenceschopný s potenciálně respektovatelnými závěry.

Incidence TEN se pohybuje v mnoha epidemiologicky zaměřených studiích kolem 0,5–2,0 případů na milión obyvatel a rok (34, 35, 36). Letalita pacientů s TEN dle referovaných dat je velmi variabilním parametrem. Většina epidemiologických studií udává letalitu kolem 30–50 %, nicméně dle některých závěrů je letalita ještě vyšší (38, 39). Další kontroverzi můžeme shledat v rámci výskytu tohoto syndromu u dětí a dospělých.

I když jsou publikovány práce, které nezaznamenávají zásadní rozdíly ve výskytu TEN u dospělých a dětských pacientů, většina publikací poukazuje na skutečnost, že incidence tohoto syndromu je u dětí nižší a úspěšnost terapie daleko vyšší v porovnání s populací dospělých pacientů (158, 327). Hsu et al. ve své recentní práci zaměřené na výskyt TEN v americké pediatrické populaci popisuje incidenci v rozmezí 0–0,7 případů na milión obyvatel a rok (328). V této multicentrické studii bylo identifikováno celkem 129 dětí s touto diagnózou. Jejich průměrný věk byl 9,3 ± 0,7 let. Letalita byla v tomto souboru stanovena na 16,0 %. Spies et al. publikoval výsledky kohorty 15 dětí (průměrný věk 7,2 ± 1,5 let) hospitalizovaných v období 1984–2000 ve Shriners Hospitals for Children v Galvestonu (USA), tedy nejprestižnějším dětském popáleninovém centru na světě (329). Celková letalita v tomto souboru činila pouze 7 %.

Všechny studie se shodují na tom, že riziko rozvoje tohoto syndromu narůstá s věkem. Starší pacienti mají vyšší spotřebu léků, ať již chronicky zavedených, tak i akutně užívaných. Průměrný věk pacientů v našem souboru byl 50,0 ± 24,8 let. Tento parametr je v korelaci s celou řadou epidemiologicky koncipovaných studií. Haber et al. referoval průměrný věk 47,7 ± 17,6 let, Brand et al. 50,7 ± 15,7 let, Ying et al. 46,3 ± 22,3 let nebo Struck et al. 56,0 ± 14,0 let (41, 330, 331, 332). Zajímavou skutečností zjištěnou při analýze našeho souboru je samotná věková distribuce pacientů v souboru. Pacienti referovaní v tomto

souboru byli buď mladší než 33 let, nebo starší než 66 let. Mezi touto věkovou hranicí nebyl hospitalizován žádný pacient. Podobně nebyl hospitalizován žádný pacient mladší 20 let. Malý počet pacientů neumožňuje formulovat jednoznačné závěry, nicméně tato věková distribuce byla pozorována také při analýze výsledků CELESTE studie (příloha č. 12, 13). Weinand et al. referuje ve své práci podobné věkové rozložení (333). Z celkového počtu 68 pacientů (10 pacientů se SJS, 18 pacientů se SJS/TEN a 40 pacientů s TEN) bylo 37 pacientů (54,4 %) starších 61 let a 15 pacientů (22,1 %) mladších než 30 let.

Ze zatím ne přesně definovaného důvodu jsou ve většině epidemiologických studií častěji postiženy ženy. V našem souboru byli pouze 3 muži, což reprezentovalo 21 % všech pacientů. Identického procentuálního zastoupení dosáhl také Struck et al. (332). Shiga et al. ve své studii zaznamenal 33% zastoupení mužů, Dalli et al. 40% a Ioannides et al. 41% zastoupení (284, 334, 335). Naopak se dají nalézt také studie, ve kterých byla zjištěna dominance mužů. Carttoto et al. identifikoval ve svém souboru 56 % mužů, Firoz et al. 54 % a Haber 57 % (254, 330, 336).

I přestože se uvádí v souvislosti se SJS nebo TEN, že v rámci světové populace neexistuje geografická predispozice, jsou tyto syndromy zaznamenávány o něco častěji u Asiatů v porovnání s bělochy. Frey et al. ve své multicentricky designované epidemiologické studii provedené na populaci Velké Británie poukazuje, že riziko rozvoje TEN je u Asiatů až 2x vyšší v porovnání s bělochy (337). Hsu et al. popisuje ve své studii, v níž provedl retrospektivní analýzu americké populace, také dvakrát vyšší incidenci TEN u černochů (OR 1,97; IS 95% 1,76–2,20) a Asiatů (OR 2,77; IS 95% 2,22–3,40) v porovnání s bělochy (338).

Řada studií vysvětluje tuto skutečnost zejména genetickou variací a výrazným kolísáním přítomnosti zejména HLA-B*1502 v dané populaci. Jak je popsáno v příloze č. 1, přítomnost této alely je velmi silně asociována s rozvojem SJS nebo TEN zejména u pacientů medikujících karbamazepin či jiná antikonvulziva, např. fenytoin. A právě populace v oblasti jihovýchodní Asie má vysoké procentuální zastoupení této alely na rozdíl od populace evropské, kde se prakticky nevyskytuje (339). Naopak o nulovém vlivu prostředí pro rozvoj TEN svědčí skutečnost, že vyšší riziko tohoto syndromu mají také Asiaté žijící v Evropě v porovnání s ostatní evropskou populací (340, 341). I v našem souboru jsme léčili jednoho Asiata, nicméně identifikovaným rizikovým preparátem pro rozvoj jeho TEN byl benzodiazepin, nikoliv antikonvulzivum.

Řada studií poukazuje na možnou sezónní variabilitu z pohledu výskytu SJS nebo TEN (342, 343). Bohužel studie prezentují značně nehomogenní informace týkající se

nejrizikovějšího období. Obecně se ovšem dá konstatovat, že zejména u dětí a mladších pacientů narůstá riziko rozvoje SJS nebo TEN v zimních měsících. Tato skutečnost souvisí jak s nárůstem užívaných rizikových preparátů (antibiotika, paracetamol, nesteroidní antiflogistika aj.), tak také s vyšší frekvencí infekčních komplikací (virové, mykoplasmové) (344). Na rozdíl od mladších pacientů není u starších a chronicky medikujících pacientů popisována zásadní odlišnost ve výskytu v jednotlivých ročních obdobích. V našem souboru nebyla sezónní variabilita pozorována, nicméně základní limitací byl jednoznačně malý počet pacientů.

V průběhu meta-analýz řady epidemiologických studií bylo identifikováno několik faktorů, které mohou zvýšit riziko rozvoje SJS nebo TEN. Mezi základní rizikové faktory patří přítomnost malignity, epilepsie, dna, deprese, probíhající či proběhlé infekční onemocnění, systémový lupus erythematosus nebo akutní či chronické renální postižení (338, 345, 346, 347). Naopak sledované faktory jako abusus alkoholu, BMI nebo fumatorství neprokázaly důležitost z pohledu zvýšeného rizika rozvoje SJS nebo TEN (338).

Frey et al. ve své studii komplexně hodnotí nejdůležitější rizikové faktory pro rozvoj SJS nebo TEN (337). Epilepsie byla statisticky signifikantním faktorem pro rozvoj SJS nebo TEN resp. nově zavedená antiepileptika užívaná ≤ 84 dní (OR 4,65; 95% IS 2,67–8,10). Podobně dopadli také recentně diagnostikovaní pacienti se dnou, resp. nově užívající allopurinol (OR 20,48; 95% IS 2,39–175,19). Nalezla se také souvislost zvyšující riziko rozvoje SJS nebo TEN u pacientů s lupus erythematosus (kožní nebo systémová forma OR 16,00, 95% IS 1,79 – 143,15), chronickým selháváním ledvin (OR 2,12; 95% IS 1,14 – 3,96), aktivním nádorovým onemocněním (OR 2,01; 95% IS 1,27–3,18) nebo diagnostikovanou pneumonií (OR 1,80; 95% IS 1,06–3,04). Vyšší riziko bylo nalezeno také u pacientů s depresí (OR 1,48; 95% IS 1,10–1,99). Z EuroSCAR studie byl vyhodnocen jako velmi rizikový preparát sertalin, tedy antidepresivum ze skupiny SSRI (Selective serotonin reuptake inhibitors) (44). Naopak Frey et al. ve výše zmíněné práci hodnotí SSRI jako relativně bezpečnou skupinu léků obecně (SSRI ≤ 84 dní OR 0,88; 95% IS 0,10–7,53). Tato skutečnost může být zčásti zkreslena tím, že sertalin není příliš frekventně používán ve Velké Británii (je až 4. nejčastěji používaný zástupce skupiny SSRI po fluoxetinu, citalopramu a paroxetinu). Naopak fluoxetin, citalopram a paroxetin jsou z pohledu rozvoje TEN daleko bezpečnější. To může být důvod, proč Frey et al. nezaznamenal u britských pacientů medikujících antidepresiva ze skupiny SSRI zvýšené riziko rozvoje SJS nebo TEN.

Pacienti s lupus erythematosus (LE) mají potvrzeno mnohonásobně vyšší riziko rozvoje SJS nebo TEN i v jiných publikacích. Ziemer et al. ve své práci poukazuje na

podobnost mezi klinickou manifestací SJS nebo TEN a LE. V případě pacientů s LE je základní klinickou prezentací v oblasti kůže epidermální nekróza a rozvoj bulózního exantému. Není tedy vyloučeno, že může docházet k chybnému stanovení diagnózy SJS nebo TEN u pacientů s tímto onemocněním (348). Navíc u pacientů s LE může dojít také k rozvoji EM. Současné projevy obou těchto onemocnění byly popsány již v roce 1922. Aby situace byla ještě komplikovanější, u pacientů s LE byl v roce 1963 popsán tzv. Rowellův syndrom (349). Jedná se o ještě raritnější onemocnění nežli TEN, do roku 2005 bylo literárně popsáno pouze 28 případů. U řady pacientů byly také rozeznány faktory, které mohly iniciovat rozvoj tohoto syndromu. Mezi nejčastěji provokující faktory patřily opět medikamenty (doxycyklin, kaptopril, furosemid, nitrofurantoin aj.) (350). Nejčastěji se toto onemocnění manifestuje u žen středního věku. Pro určení diagnózy tohoto syndromu byla následně stanovena hlavní a vedlejší kritéria. Mezi hlavní kritéria patří pochopitelně přítomnost LE a EM-like lesions a pozitivita ANA (antinukleárních protilátek). Vedlejšími kritérii jsou pozitivita anti-La (SS-B) nebo anti-Ro (SS-A) a pozitivita testu na přítomnost revmatoidního faktoru (RF) (351). I přestože Rowell v roce 1963 podchytil 4 pacienty s tímto onemocněním a u všech popsal specifický kožní nález označený jako tzv. „chilblain lupus“, u dalších pacientů byl výskyt těchto projevů jen velmi sporadický (349).

Za posledních 20 let byla zmíněna v souvislosti s rozvojem SJS nebo TEN řada maligních onemocnění jako mnohočetný myelom, non-Hodgkinův lymfom nebo tumory centrální nervové soustavy (252, 347, 352). Dodnes není plně pochopena asociace mezi maligním onemocněním a rozvojem těchto syndromů. Není ani jisté, jestli za rozvojem SJS nebo TEN může samotná malignita, nebo léky, které jsou nutné v terapii základního onemocnění. V roce 2008 publikovala Mockenhaupt et al., že za rozvoj SJS nebo TEN u pacientů s maligním onemocněním centrální nervové soustavy nemůže s největší pravděpodobností samotná přítomnost tumoru, ale léky podávané pacientům s tímto typem postižení (dexamethason, antiepileptika) (44). Současné studie naznačují, že rozvoj SJS nebo TEN může být asociován s hematologickými malignitami, ale nikoliv s maligním onemocněním jako takovým. Samotná přítomnost solidního tumoru nevede ke zvýšenému riziku rozvoje těchto syndromů. Řada publikací popisuje různé chemoterapeutické preparáty vyvolávající SJS nebo TEN (353, 354, 355). Navíc řada pacientů s malignitou má do medikace zavedenou např. terapii antiepileptiky nebo allopurinolem v rámci prevence dopadů tumor-lysis syndromu (356, 357).

Role nejrůznějších PPM v etiologii rozvoje SJS nebo TEN je dnes rovněž velmi intenzivně diskutována, nicméně tato kapitola se zdá být daleko složitější, nežli je tomu

u maligních onemocnění. Dnes převládá názor, že infekce způsobená *Mycoplasma pneumoniae* zvyšuje riziko rozvoje SJS, ale nemá vliv na výskyt TEN (49, 358, 359). Dříve diskutovaná herpesvirová infekce (zejména infekce herpes simplex virus 1, HSV-1) se dnes nejeví jako faktor, který by zvyšoval riziko rozvoje nejen TEN, ale také SJS. AIDS nebo HIV pozitivita je významným rizikovým faktorem pro SJS nebo TEN, a to hned ze dvou pohledů (52, 360). Za prvé toto onemocnění vede ke zvýšenému užívání potenciálně rizikových preparátů (nevirapin, trimetoprim-sulfamethoxazol), za druhé HIV pozitivní pacienti mají specifickou imunitní dysregulaci (361, 362). V literatuře se diskutuje zejména pokles hodnot CD4+ T-lymfocytů. Pacienti s tuberkulózou představují rovněž rizikovější skupinu z pohledu rozvoje SJS nebo TEN, nicméně tato skutečnost je dána zejména užíváním antituberkulotik (363, 364).

Také diagnostikovaná pneumonie v předešlých 120 dnech se jeví jako rizikový faktor pro rozvoj SJS nebo TEN, a to opět ze dvou důvodů. Prvním je podávání antimikrobiálních preparátů v terapii pneumonie, druhým důvodem je poté skutečnost, že samotná pneumonie může být asociována s virovou infekcí. V této souvislosti vznikají opět diagnostické rozpaky. Canavan et al. publikoval ve své práci data ukazující, že řada případů tzv. „Mycoplasma pneumoniae-associated mucocutaneous disease“ může být špatně diagnostikována jako SJS nebo TEN (365).

Akutní nebo chronické onemocnění ledvin se jeví v řadě studií jako signifikantní komorbidita pro rozvoj SJS nebo TEN. Jedním z možných vysvětlení je nedostatečná renální eliminace léku, resp. jeho metabolitu s následnou kumulací v organismu (328, 346).

Průměrný rozsah exfoliované plochy určený u našich pacientů byl 69,4 ± 25,7 % TBSA. Velmi podobného parametru dosáhl ve své studii Boorboor et al. (66,4 ± 30,3 % TBSA) (366). Gerdts et al. publikoval průměrný rozsah exfoliované plochy u vlastního souboru 80,0 ± 34,5 % TBSA (367). Extenzivnějšího kožního postižení dosáhl také Yarbrough et al., který ve své studii zaznamenal průměrný rozsah 79,0 ± 20,0 % TBSA (368). Naopak v pracích Lebargy et al. a Haber et al. byly zaznamenány menší průměrné rozsahy kožní exfoliace, 40,0 ± 25,0 % TBSA resp. 42,0 ± 20,0 % TBSA (330, 369). V některých studiích ovšem dochází ke směšování dvou pojmů týkajících se rozsahu kožního postižení, resp. rozsahu exfoliované plochy. Na tomto místě bych chtěl upozornit, že pro klinickou diagnostiku TEN je naprosto esenciální, aby více než 30 % tělesného povrchu bylo reprezentováno plochami exfoliovanými, nikoliv s kožním postižením, které se manifestuje pouhým zarudnutím. Tento v literatuře relativně častý omyl způsobuje následnou špatnou diagnostiku samotné TEN a od toho odvozenou chybnou interpretaci všech navazujících dat.

Průměrná délka hospitalizace byla v souboru všech našich pacientů 23,5 ± 14,0 dní, u pacientů, kteří přežili 32,7 ± 6,9 dní, u zemřelých pacientů poté 14,3 ± 13,4 dní. Podobných hodnot tohoto parametru dosáhli ve svých studiích například Tan et al. (20,4 ± 8,0 dní), Gerdts et al. (17,9 ± 17,0 dní), Bequignon et al. (21,5 ± 12,5 dní), Brand et al. (21,1 ± 12,1 dní) (41, 367, 370, 371). Khoo et al. poté udával průměrnou délku hospitalizace 34,1 dní (40). Naopak Moniz et al. dosáhl průměrné délky pobytu v popáleninovém centru u pacientů se SJS a TEN pouze 12,6 ± 7,8 dní (39). Pozoruhodně a až nereálně krátkou dobu hospitalizace popisuje ve své práci Al-Mutairi et al. Za pětileté období sledovali celkem 12 pacientů s TEN, u kterých byla průměrná délka hospitalizace jen 12,5 ± 4,3 dní (247). V souboru byli dokonce i pacienti hospitalizovaní pouze 7 dní. I když autoři udávají, že všichni pacienti přežili a u všech byla provedena histologická konfirmace pro potvrzení diagnózy TEN, hodnoty délky hospitalizace jsou pro přeživší pacienty s TEN naprosto nereálné. Doba kolem jednoho týdne je potřebná k reepitelizaci defektů, které vznikají v úrovni intraepidermální, nikoliv v úrovni dermo-epidermální. Nicméně v textu již dále nejsou k dispozici data, která by se týkala následné péče, eventuálně dalšího směřování pacientů s touto diagnózou.

V našem souboru bylo celkem 11 pacientů (78,6 %), u nichž byla indikována umělá plicní ventilace. U 4 pacientů (28,6 %) byla provedena tracheostomie. Průměrná délka umělé plicní ventilace u pacientů v našem souboru byla 10,5 ± 7,6 dní (bez tracheostomie 8,7 ± 5,0 dní, s tracheostomií 13,5 ± 11,0 dní). Žádný z pacientů nebyl ventilován kratší dobu než 96 hodin. Literárně se udává, že zhruba 40 % pacientů se SJS nebo TEN má respirační komplikace, které si zhruba u poloviny pacientů vyžádají umělou plicní ventilaci (369, 372, 373). Navíc v případě plicních komplikací byly u pacientů s TEN popsány řadou autorů nejen akutní komplikace, ale také komplikace chronické, nejčastěji se prezentující jako bronchiolitis obliterans (3, 374). I přestože tato populace pacientů má vysokou pravděpodobnost rozvoje plicních komplikací, dodnes neexistují doporučení pro intubaci nebo provedení tracheostomie u těchto pacientů. Hsu et al. hodnotil nutnost umělé plicní ventilace u pediatrických pacientů s TEN (328). Z celkového počtu 129 sledovaných dětí vyžadovalo umělou plicní ventilaci 45 pacientů (34,9 %; IS 95% 23,6–46,1). Z tohoto počtu bylo 35 dětí (27,2 %; IS 95% 7,7–46,9) ventilováno po dobu delší nežli 96 hodin, pouze 10 dětí (7,7 %; IS 95% 0–20,2) bylo ventilováno kratší dobu. Williams et al. se ve své práci pokusil formulovat kritéria pro intubaci a provedení tracheostomie u pacientů se SJS nebo TEN (375). Celkem bylo hodnoceno 40 pacientů, 17 pacientů (42,5 %) vyžadovalo intubaci a provedení časné tracheostomie (dle autorů byla časná tracheostomie provedena do 10. ventilačního dne).

Pacienti byli intubováni 3,0 ± 2,2 dne. Faktory identifikované jako rizikové pro intubaci a provedení tracheostomie v této studii byly postižení sliznice dutiny ústní (p = 0,001), rozsah kožní exfoliace nad 70 % TBSA (p = 0,002), progrese kožní exfoliace mezi 1. a 3. dnem hospitalizace o ≥15 % TBSA (p = 0,002), neurologická komorbidita (p = 0,290) a laryngoskopicky zjištěné postižení sliznice horních dýchacích cest (p = 0,290).

Řada studií udává, že jedním z nejdůležitějších parametrů, který determinuje šanci na přežití u pacientů s TEN, je doba od začátku příznaků po začátek hospitalizace (podání adekvátní terapie). Ve většině těchto studií je průměrná doba transferu pacienta s TEN do zařízení poskytujících adekvátní terapii kolem 6 dní. Ying et al. referoval průměrnou dobu do hospitalizace 6,8 ± 4,3 dní, Palmieri et al. ve svém souboru čítajícím 199 pacientů s TEN dosáhla doby 6,0 ± 0,9 dní, Imahara et al. 5,2 ± 4,6 dní, Dorafshar et al. poté 6,0 ± 6,3 dní (286, 331, 376, 377). Vyšší průměrnou dobu publikoval u svých souborů pacientů Shiga et al. 8,4 ± 6,6 dní, Gravante et al. dosáhl dokonce průměrné hodnoty 11,0 ± 12,0 dní (252, 284). Pacienti z našeho souboru byli transferováni na kliniku průměrně 6,9 ± 4,3 dní od začátku prvních příznaků onemocnění. Nicméně nebyl u nich shledán signifikantní dopad délky tohoto intervalu na samotnou letalitu. Dva pacienti ze souboru byli hospitalizováni na naší klinice po 16 dnech od rozvoje prvních příznaků, resp. byli transferováni z jiného zdravotnického zařízení a oba pacienti přežili.

Z pohledu šance na přežití je pro pacienty s TEN důležitá nejen doba mezi rozvojem prvních příznaků a zahájením adekvátní terapie, ale také zařízení, kam jsou pacienti směřováni. Začátkem 90. let minulého století se postupně začaly objevovat relativně malé soubory pacientů, které poukazovaly na skutečnost, že právě popáleninová centra představují optimální zařízení pro léčbu takto postižených pacientů. V roce 1995 referoval Kelemen et al., že pacienti, kteří jsou transferováni do popáleninového centra do 7 dní od stanovení diagnózy, mají nejen vyšší šanci na přežití, ale také kratší celkovou dobu hospitalizace (378). Tato data byla následně podpořena také závěry dalších publikací. McGee et al. referoval celkové snížení bakteriémie, infekce v oblasti krevního řečiště a letality u pacientů, kteří byli do popáleninového centra transferováni do 7 dní od stanovení diagnózy (379).

I dnes platí, že popáleninová centra splňují svým materiálním, prostorovým a personálním zabezpečením nejpřísnější kritéria nutná pro úspěch v léčbě těchto pacientů. Bohužel i přes jednoznačnou evidenci je dnes stále řada pacientů léčena v jiných zařízeních. Výsledky diagnostiky a terapie těchto pacientů jsou poté značně rozporuplné.

I když je dnes známo více nežli 200 preparátů, které mohou způsobit rozvoj TEN, produkce farmaceutických firem povede k tomu, že jejich počet se bude postupně ještě zvyšovat. Existují léky nebo lékové skupiny, které jsou z pohledu rozvoje TEN rizikovější. V souboru našich pacientů byly všechny preparáty hodnoceny pomocí ALDEN, tedy metodiky, která je popsána v kapitole I. U deseti pacientů šlo pouze o jeden preparát, u zbylých pacientů byly identifikovány jako rizikové dva i více preparátů. Nejčastější skupinou léků, která způsobila rozvoj TEN u pacientů v našem souboru, byly antimikrobiální preparáty (antibiotika a chemoterapeutika). U 6 pacientů byl identifikován jako rizikový penicilin nebo potencovaný aminopenicilin**,** dále byl v souboru jeden pacient s TEN po trimethoprim-sulfamethoxazolu, jeden po norfloxacinu a také jeden pacient, u kterého došlo k rozvoji TEN po nitrofurantoinu. I když se poslednímu pacientovi věnuje komplexně kazuistika, která je součástí přílohy č. 14, rád bych se i na tomto místě zmínil, že se pravděpodobně jedná o dosud první kazuistiku, u které došlo k rozvoji TEN po tomto antibiotiku. V literatuře jsou dohledatelné pouze případy rozvoje SJS nebo DRESS indukované nitrofurantoinem, nikoliv TEN (380, 381, 382). V databázi FDA je přítomno jedno hlášení případu rozvoje TEN po nitrofurantoinu, nicméně nejsou k dispozici žádná specifika, jedná se pouze o hlášení nežádoucího účinku léčiva.

Při porovnání s jinými studiemi, které byly zaměřeny na identifikaci rizikového preparátu v rozvoji TEN, nepřekvapí, že druhou nejpočetnější lékovou skupinou u pacientů v našem souboru jsou antikonvulziva. U dvou pacientů došlo k rozvoji TEN po lamotriginu, u jedné pacientky byl v rizikovém období dle ALDEN podávána kombinace valproátu a fenytoinu. V našem souboru byla tedy zjištěna dominance antimikrobiálních preparátů v indukci TEN nad antikonvulzivy. U dvou pacientů byl také identifikován jako podezřelý preparát z rozvoje TEN paracetamol.

Podobné závěry byly zjištěny také v jedné z nejzásadnějších a také nejvíce citovaných prací s tématem TEN, kterou publikoval Roujeau et al. v roce 1995 (232). Tato práce se systematicky zabývala právě rizikem rozvoje SJS nebo TEN v souvislosti s užíváním léků. Studie nese označení SCAR (The severe cutaneous adverse reaction study). V průběhu samotné analýzy byla hodnocena velmi početná databáze asi 120 miliónů obyvatel Francie, Německa, Itálie a Portugalska. Celkem bylo v této databázi nalezeno 245 pacientů (89 se SJS, 76 s overlap TEN a 80 pacientů s TEN). Histologická konfirmace klinické diagnózy byla provedena pouze u 141 pacientů (57,6 %). Výsledky této studie zčásti korelují s námi dosaženými výsledky. Nejčastěji byly z pohledu rozvoje výše zmíněných syndromů identifikovány antimikrobiální preparáty (celkem u 115 pacientů, 46,9 %), následovala

antikonvulziva (59 pacientů, 24,1 %) a paracetamol (48 pacientů, 19,6 %). V této práci bylo také identifikováno celkem 35 pacientů (14,3 %), u kterých došlo k rozvoji některého z výše zmíněných syndromů při užívání kortikosteroidů. Podíl jednotlivých preparátů s relativním rizikem (RR) pro rozvoj SJS, overlap TEN a TEN ve studii SCAR je znázorněn v tabulce č. 33. Při bližším rozboru těchto skupin byla dominantní zejména betalaktamová antibiotika (celkem 29 případů, 15 případů aminopenicilin, 14 případů cefalosporiny) a dále trimethoprim-sulfamethoxazol (22 případů). Naopak relativně bezpečně se jevily makrolidy nebo tetracykliny (6 resp. 5 případů). Z antikonvulziv převažovaly fenobarbital (28 případů), karbamazepin (13 případů) a valproát (10 případů). Naopak relativním překvapením bylo pouze 13 pacientů, u kterých došlo k rozvoji TEN během užívání allopurinolu, nicméně dá se předpokládat, že začátkem 90. let neužívalo allopurinol tolik pacientů jako dnes. Toto zjištění potvrzuje také Halevy et al. (383). Jedná se o rozšíření studie EuroSCAR provedené v roce 2008 o data z Izraele. Z analýzy jednotlivých preparátů dominuje v této studii právě allopurinol. Je zde také diskutována skutečnost, že do budoucna bude narůstat počet pacientů s TEN po allopurinolu, protože narůstá počet pacientů užívajících tento preparát.

Léková skupina		**Sledovaná skupina N = 245 (18 %)**	**Kontrolní skupina N = 1147 (82 %)**	**Relativní riziko RR**
Antibiotika, chemoterapeutika				
	Biseptol	22 (9)	0	160
	Makrtolidy	6 (2)	5 (0,4)	5,7
	Chinolony	11 (4)	5 (0,4)	11
	Cefalosporiny	14 (6)	3 (0,3)	23
	Tetracykliny	5 (2)	4 (0,3)	6
	Aminopeniciliny	15 (6)	12 (1)	6,2
Antikonvulziva				
	Fenytoin	8 (3)	3 (0,3)	13
	Karbamazepin	13 (5)	6 (0,5)	11
	Valproát	10 (4)	4 (0,3)	12
	Fenobarbital	28 (12)	9 (0,9)	15
Allopurinol		13 (5)	11 (1)	5,6
Paracetamol		48 (20)	88 (8)	2,6
Salicyláty		32 (13)	80 (7)	2

Tab. č. 33 Výsledky porovnání rizikovosti jednotlivých preparátů dle studie Roujeau et al. (232).

Mockenhaupt et al. publikovala výsledky německého registru týkající se pacientů s nově užívanými antiepileptiky v letech 1998 až 2001 (384). Zjistila, že 90 % všech případů SJS nebo TEN se rozvine do 63 dní od začátku užívání antiepileptik. Stanovuje výskyt 1–10 případů na 10.000 pacientů nově užívajících antiepileptika.

Ve studii Sharma et al. byla rovněž publikována data zaměřená na rizikové preparáty u rozvoje SJS nebo TEN (385). Celkem bylo ve studii 30 pacientů (6 SJS, 9 overlap TEN, 15 TEN). U těchto pacientů bylo identifikováno celkem 57 rizikových preparátů. Nejčastěji se jednalo o antikonvulziva (35,1 %), antibiotika (33,3 %) a nesteroidní antiflogistika (24,6 %). Mezi jednotlivými preparáty dominoval fenytoin (9 pacientů), karbamazepin (6 pacientů), paracetamol (6 pacientů) a cefalosporin (5 pacientů).

V roce 2008 byla publikována práce, která byla totožně designovaná jako práce Roujeaua z roku 1995. Autorem této studie byla Maja Mockenhaupt et al., která srovnávala RR daného preparátu u dvou kohort pacientů (44). V první kohortě byli pacienti s diagnostikovaným SJS, overlap TEN a TEN a v druhé kohortě byli pacienti bez těchto syndromů. Opět se jedná o populaci pacientů z nadnárodního registru. Z celkového počtu 513 potenciálních případů některého z výše zmíněných syndromů bylo pro mylnou nebo nedostatečně provedenou diagnózu vyřazeno 134 pacientů, kteří nesplňovali diagnostická kritéria pro SJS apod. V první kohortě tedy zůstalo 379 pacientů. V kohortě druhé bylo zařazeno 1505 pacientů. Nejčastějším preparátem, který byl identifikován pro rozvoj SJS nebo TEN, byl paracetamol (celkem u 88 pacientů 23,2 %) dále to byl allopurinol (66 pacientů 17,4 %) a karbamazepin (31 pacientů 8,2 %). Pro zpřehlednění jsou výsledky uvedeny v tabulce č. 34.

Levi et al. se zabývala problematikou rizikových léků v rozvoji SJS a TEN u dětí (386). Jedná o věkově selektované probandy (≤15 let) ze dvou předchozích multicentrických studií (SCAR a EuroSCAR). V této práci byla publikována silná asociace s rozvojem SJS nebo TEN u dětí medikujících sulfonamidy, fenobarbital, karbamazepin nebo lamotrigin.

Léková skupina		Sledovaná skupina N = 379 (20 %)	Kontrolní skupina N = 1505 (80 %)	Relativní riziko RR (95% IS)
Antibiotika, chemoterapeutika, antivirotika				
	Biseptol	24 (6,3)	1 (0,1)	102 (14-754)
	Makrtolidy	18 (4,8)	10 (0,7)	7,5 (3,4-16)
	Chinolony	13 (3,4)	5 (0,3)	10,7 (3,8-30)
	Cefalosporiny	19 (5,0)	7 (0,5)	11,3 (4,7-27)
	Tetracykliny	7 (1,9)	5 (0,3)	5,6 (1,8-18)
	Aminopeniciliny	18 (4,8)	18 (1,2)	4,1 (2,1-8)
	Nevirapin	21 (5,5)	0	Větší než 22
Antikonvulziva				
	Fenytoin	19 (5,0)	3 (0,2)	26 (7,8-90)
	Karbamazepin	31 (8,2)	4 (0,3)	33 (12-95)
	Lamotrigin	14 (3,7)	0	Větší než 14
	Fenobarbital	20 (5,3)	5 (0,3)	17 (6,2-45)
Allopurinol		66 (17,4)	28 (1,9)	11 (7,0-18)
Paracetamol		88 (23,2)	216 (14,4)	1,8 (1,4-2,4)
Acetylsalicylová kys.		46 (12,1)	97 (6,5)	2,0 (1,4-2,9)
Kortikosteroidy	Obecně	56 (14,8)	31 (2,1)	8,2 (5,2-13)
	Dexamethason	25 (6,6)	1 (0,1)	106 (14-786)
	Prednison	29 (7,7)	24 (1,6)	5,1 (2,9-8,9)
PPI	Pantoprazol	9 (2,4)	2 (0,1)	18 (3,9-85)
	Jiné PPI	25 (6,6)	34 (2,3)	3,1 (1,8-5,2)
SSRI	Sertralin	6 (1,6)	5 (0,3)	4,8 (1,5-16)
	Fluoxetine	5 (1,3)	10 (0,7)	2,0 (0,7-5,9)
	Jiné SSRI	5 (1,3)	18 (1,2)	1,1 (0,4-3)

Tab. č. 34 Výsledky porovnání rizikovosti jednotlivých preparátů dle studie Mockenhaupt et al. (44).

Z výše uvedené tabulky vyplývá několik zajímavých zjištění. I když byl paracetamol identifikován jako nejčastěji užívaný ve skupině pacientů s rozvojem SJS, overlap TEN nebo TEN (88 pacientů), jeho časté užívání u kontrolní skupiny pacientů (216 pacientů) způsobilo nízké RR = 1,8 (95% IS 1,4-2,4). Podobnou situaci můžeme nalézt také v souvislosti s užíváním acetylsalycilové kyseliny (ASA), která byla v době diagnózy některého ze skupiny

bulózních syndromů zjištěna u celkem 46 pacientů. Vzhledem k tomu, že ASA medikovalo i relativně velké množství pacientů z kontrolního souboru (N = 97), vypočtené RR bylo 2,0 (95% IS 1,4-2,9). Na opačný konec spadají preparáty jako trimethoprim-sulphamethoxazol nebo dexamethason. U obou dvou preparátů dochází k dramatickému zvýšení relativního rizika (RR = 102; 95% IS 14-745 resp. RR = 106; 95% IS 14-786). Dle dostupných výsledků je nutno při podávání těchto preparátů dbát zvlášť vysoké obezřetnosti. Hodnocení např. u nevirapinu není a ani nemůže být úplně objektivní, protože jak jsem popisoval v předchozím textu, HIV pozitivní pacienti mají vyšší riziko rozvoje TEN nežli zdravá populace. U lamotriginu byla situace v roce 2008 obtížně hodnotitelná, protože autoři sami popisují, že se jedná o preparát nově zavedený do klinické praxe s relativně malým rozšířením v populaci. Bohužel se tato studie do roku 2017 neopakovala, takže výsledky týkající se RR rozvoje některého z bulózních syndromů při podávání lamotriginu dodnes nejsou k dispozici. Nicméně dá se předpokládat i v návaznosti na námi dosažené výsledky, že riziko rozvoje tohoto syndromu může být u podávání lamotriginu významně zvýšeno.

Za další zmínku stojí také relativně nízké riziko u aminopenicilinů a zejména u skupiny tetracyklinů, což vede k poměrně důležitému bodu při rozhodování v případě algoritmu antimikrobiální terapie pacientů s TEN. Tento poznatek byl úspěšně implikován také do souboru našich pacientů. V příloze č. 15 jsou diskutovány výhody použití tigecyklinu u těchto pacientů.

V roce 2000 bylo publikováno nejuniverzálnější skórovací schéma pro stanovení prognózy pacientů s TEN (57). I když se u nich jedná o velmi často používaný nástroj, stále intenzivněji sílí hlasy volající po jeho revizi. V rámci SCORTEN se vede diskuze kolem dvou hlavních kapitol. Tou první je úprava ev. doplnění hodnocených parametrů a druhou je následně doba, kdy by mělo být hodnocení provedeno. Dovolím si v rámci této diskuze připojit také svůj úhel pohledu.

Mezi základní nedostatky použitých parametrů v rámci SCORTEN řadím věkovou hranici 40 let. Dnes se stále častěji setkáváme s pacienty, kteří mají věk kolem 80 let. Pochopitelně prognóza těchto pacientů bývá odlišná v porovnání s pacienty o polovinu mladšími. Dalším problematickým bodem v hodnocení SCORTEN je rozsah exfoliace, který je omezen podobně jako věk pouze na jednu hodnotu, a to 30 % TBSA. Prognóza u pacientů, kteří mají rozsah kožního postižení pouze 35–40 %, nemůže být srovnávaná s pacienty, kteří mají rozsah exfoliace kůže 100 %. Tyto komentáře se týkají pouze samotné úpravy dat. Nicméně z mého pohledu představuje dnes SCORTEN nedostatečný nástroj k hodnocení prognózy zejména z důvodů chybějících daleko důležitějších dat, nežli je věková nebo

rozsahová hranice. Je to např. přítomnost postižení sliznic jako hlavní problém pro rozvoj infekčních komplikací mimo kůži, tedy např. v oblasti dolních dýchacích cest, předního očního segmentu apod. Postižení sliznic v oblasti horních a dolních dýchacích cest ve většině případů vede k rozvoji akutní dechové nedostatečnosti, nutnosti urgentního zajištění dýchacích cest a následně zahájení umělé plicní ventilace. I z tohoto pohledu se jeví provedení bronchoskopie při podezření na postižení sliznice dolních dýchacích cest jako naprosto základní vyšetření v komplexním přístupu k těmto pacientům. Dalším důležitým parametrem je přítomnost infekční komplikace v době přijetí do popáleninového centra, resp. přítomnost multifokální infekce. Dnes se již ví, že tato komplikace má zásadní dopad na prognózu pacientů s TEN, proto si myslím, že její implementace do revidovaného skórovacího schématu by byla v souladu s moderním poznáním samotného onemocnění. Navíc přítomnost infekční komplikace např. v oblasti exfoliovaných ploch může znamenat špatně vedenou lokální terapii, která může změnit prognózu nemocných.

Z pohledu laboratorních hodnot se zdá být slibným vyšetřením u pacientů s TEN plazmatická aktivita AT. Jedná se o další parametr, který by mohl přispět ke zpřesnění odhadované prognózy u těchto pacientů. Informace týkající se možnosti využití AT u pacientů s TEN jsou znázorněny v příloze č. 11.

Důležitou připomínkou, která je v souvislosti se SCORTEN diskutována velmi často, je doba, kdy by mělo být toto hodnocení provedeno, a jestli má být provedeno v průběhu hospitalizace opakovaně, či nikoliv (387). Osobně si myslím, že SCORTEN je pouze informativní hodnocení a nedokáže zohlednit individualitu pacienta natolik, abychom se mohli na hodnoty jednoznačně spolehnout. Přesto by toto hodnocení mělo být schopno reflektovat změnu, ať již ve smyslu progrese základního onemocnění, nebo naopak. Řada autorů proto doporučuje provést toto vyšetření první den hospitalizace s následným přehodnocením 3. a někdy dále 5. den hospitalizace (58, 388).

V roce 2011 byla provedena rozsáhlá meta-analýza publikovaných dat, která byla zaměřena na přesnost v předpovědi úmrtí u pacientů se SJS nebo TEN (389). Do porovnání byly zařazeny pouze publikace, které obsahovaly minimálně 10 pacientů se SJS nebo TEN a použili SCORTEN jako predikční model. Vzhledem k tomu, že SCORTEN byl formulován v roce 2000, byly sledovány práce, které byly publikovány v letech 2001–2009.

Celkem bylo identifikováno 47 studií, které byly dále rozděleny do 3 větví. V první větvi byli pacienti léčení pouze podpůrnou terapií v protokolu „wait and see“. V druhé větvi byli poté pacienti léčení kortikosteroidy a ve třetí větvi pacienti s IVIg. Bohužel tato analýza nebyla provedena pro nedostatečný počet studií a pacientů také u CyA.

Zajímavostí bylo, že u všech tří větví byla reálná letalita nižší, nežli se očekávalo. Ve větvi podpůrné terapie bylo identifikováno celkem 6 studií a 199 pacientů s diagnózou SJS, overlap TEN a TEN. Předpokládaná letalita dle kalkulovaného SCORTEN byla 60 pacientů (30 %), reálná poté 53 pacientů (26,6 %). Takzvané „mortality ratio“ (MR), tedy poměr mezi reálnou a očekávanou letalitou, bylo 0,89 (95% IS 0,67–1,16; p = 0,43). Ve druhé větvi bylo 78 pacientů léčených kortikosteroidy. Předpokládaná letalita byla 19 pacientů (23,8 %), reálná poté 17 pacientů (21,8 %). MR bylo v této větvi 0,92 (95% IS 0,53–1,48; p = 0,84). Ve třetí větvi se 162 pacienty léčenými IVIg byla očekáváná letalita 48 pacientů (29,4 %) a reálná 39 pacientů (24,1 %). MR bylo 0,82 (95% IS 0,58–1,12; p = 0,23). Z těchto dat by se dalo vyvodit několik konkrétních závěrů. SCORTEN mírně nadhodnocoval očekávanou letalitu ve všech skupinách pacientů. Nejlepšího výsledku, resp. nejvyššího rozdílu mezi očekávanou a reálnou letalitou bylo dosaženo ve větvi, ve které se pacientům podávaly IVIg. O tom, že méně je někdy více, svědčí také srovnání populace pacientů léčených pouze podpůrnou terapií a kortikosteroidy. Skupina pacientů s podpůrnou terapií dosáhla lepších výsledků, nežli tomu bylo u skupiny pacientů léčených kortikosteroidy.

Pacienti v našem souboru dosáhli jedné z nejvyšších průměrných hodnot SCORTEN (3,4 ± 1,1), která kdy byla publikována. S touto hodnotou korespondovala také relativně vysoká letalita (50 %). Podobně vysokou hodnotou SCORTEN, tedy 3,2 ± 1,0, dosáhl ve své studii Struck et al., letalita v tomto souboru byla 44 % (332). Cartotto et al. ve svém souboru dosáhl letality 30 % při průměrné hodnotě SCORTEN 2,3 ± 1,2 (336). Dorafshar et al., Shiga et al. referoval 27% resp. 29% letalitu při průměrné hodnotě SCORTEN 2,7 ± 1,6 resp. 2,7 ± 1,1 (284, 377).

Všechny výše zmíněné skutečnosti jsou důvodem, proč řada pracovišť nestanovuje prognózu pacientů pomocí SCORTEN. Le et al. hodnotil formou dotazníkového šetření kvalitu v přístupu k pacientům se SJS nebo TEN (390). Tento projekt byl proveden ve spolupráci s ABA a v jeho rámci byly dostatečné informace získány ze 102 popáleninových center napříč USA. Pouze 27 % center mělo vypracovaný písemný algoritmus pro diagnostiku a terapii těchto pacientů. Tento údaj je zarážející zejména proto, že dnes již existuje celá řada doporučení vycházejících z přehledových článků (144, 304, 391, 392, 393). Jsou k dispozici i konkrétní protokoly upravující přístup k pacientům s TEN (227, 394, 395). Data týkající se evropských popáleninových center nejsou bohužel k dispozici, nicméně dá se předpokládat, že dokument upravující přístup k pacientům s touto diagnózou bude mít vypracováno ještě menší procento center. Pro mě bylo zajímavým zjištěním to, že se SCORTEN využívá rutinně jen velmi málo. Tento model byl použit u pouze 25 % dotázaných center. Naopak 77 % center

používalo pro diagnostiku SJS nebo TEN histopatologickou konfirmaci, což hodnotím velmi pozitivně.

Histopatologická konfirmace klinické diagnózy TEN byla na našem pracovišti zavedena od roku 2007. U pacientů hospitalizovaných do této doby byla diagnostika založená pouze na klinickém obraze. I dnes se můžeme potkat s nezanedbatelným počtem pracovišť, která považují klinickou diagnostiku za dostatečnou. Zde bych chtěl znovu zdůraznit, že histopatologické potvrzení klinické diagnózy je dnes naprosto nezbytné.

Samotná problematika infekčních komplikací u pacientů s TEN je literárně zpracovaná pouze okrajově. Přitom se jedná o nejčastější příčinu úmrtí u pacientů s TEN (68, 396). Je tedy s podivem, že přítomnost infekčních komplikací není zahrnuta do SCORTEN v celkovém stanovení šance na přežití u těchto pacientů. Ducic et al. stanovil, že s přítomností infekční komplikace u pacientů s TEN dramaticky narůstá riziko úmrtí (až 79x) (228).

Jak je zmíněno v kapitole I, existuje hned několik zásadních důvodů, proč jsou pacienti s TEN konfrontováni s celou řadou PPM a proč v této konfrontaci velmi často neuspějí. Základním problémem je extenzivní ztráta kožního krytu, kdy selhává funkce lokální bariéry. Podobným problémem se stává také slizniční postižení, zejména pokud jde o postižení sliznice dolních dýchacích cest a sliznice střeva. Druhým důvodem je kompromitace imunologické odpovědi na vpád PPM díky farmakologicky indukované imunosupresi.

U pacientů s TEN sledujeme odlišnou dynamiku vývoje infekčních komplikací, nežli je tomu u popálených pacientů, a to hned z několika důvodů. Popálení pacienti jsou transferováni do specializovaných center bezprostředně po úrazu, zatímco u pacientů s TEN dochází v tomto ohledu k časové prodlevě. Několikadenní hospitalizace v jiném zdravotnickém zařízení a neadekvátně vedená lokální péče mají za následek rychlou kolonizaci nozokomiálními PPM a rozvoj lokální infekce. Další odlišností je přítomnost nekrózy v oblasti popálené nebo exfoliované plochy. Pochopitelně se v oblasti popálené plochy nekrotická tkáň prezentuje relativně často, zatímco u plochy exfoliované je vždy známkou prohloubení defektu. U exfoliované plochy je příčinou zpomalení nebo zastavení fázového postupu v hojení rány nejčastěji přítomnost PPM. Následná konverze rány spolu s formováním nekrotické tkáně způsobují další pomnožení PPM, protože nekróza představuje excelentní růstové médium pro patogeny. Výsledkem může být tedy kožní defekt, který ztratil potenciál k reepitelizaci a dramatické zhoršení prognózy pacientů. V návaznosti na výše zmíněné bych chtěl opět akcentovat problematiku včasného transferu pacientů s TEN do popáleninových center.

Vysoké riziko rozvoje infekčních komplikací u pacientů s TEN je známo již několik desetiletí. V tomto pohledu byla v roce 1987 publikována jedna z průkopnických prací (56). Revuz et al. sledoval velmi početnou skupinu pacientů s TEN (N = 87), z níž zemřelo 20 pacientů. U poloviny z nich byla pozitivní hemokultivace (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*). Výsledky této práce vedly k dalšímu zkoumání vztahu mezi bakteriémií/infekcí krevního řečiště a rizikem úmrtí u pacientů s TEN.

Za dobu tří dekád, které uplynuly od publikace těchto dat, došlo k několika zásadním změnám v interakci člověk a PPM. Jde zejména o dramatický nárůst rezistence nejrůznějších PPM. Dovoluji si tvrdit, že infekční komplikace způsobená kmeny *Staphylococcus aureus* nepředstavuje dnes tak výrazné riziko jako dříve. Důvodem může být vývoj celé řady nových protistafylokokových antibiotik.

Odlišnou situaci pozorujeme v gramnegativním spektru bakterií. Nárůst rezistence k různým antimikrobiálním preparátům je zaznamenáván prakticky u všech zástupců této skupiny. Proto jsou infekční komplikace způsobené kmeny *Pseudomonas aeruginosa* zatíženy daleko vyšším rizikem úmrtí, nežli je tomu např. u kmenů *Staphylococcus aureus*. Navíc za poslední dekádu se velmi výrazně začínají prosazovat zástupci početné čeledi enterobacteriaceae s mnohdy velmi vysokou prevalencí nejrůznějších rezistentních mechanismů (ESBL, ampC apod.). Dá se říci, že kmeny z této čeledi jsou v dnešní době nejúspěšnějšími patogeny v interakci s hostitelem, ať již jde o pacienta s termickou, nebo netermickou ztrátou kožního krytu (397, 398, 399, 400, 401).

Nepřekvapí tedy, že septické komplikace jsou u pacientů s TEN velmi časté. Khoo et al. udává, že v jeho souboru bylo až 61 % pacientů s TEN, kteří splňovali podmínky pro sepsi (40). Nicméně zde bych zdravě zapochyboval u prezentace laboratorních a klinických známek sepse. U pacientů se nemůžeme orientovat striktně jen podle klinických příznaků, nicméně interpretace, jestli se jedná o infekční komplikaci, nebo pouze kontaminaci /kolonizaci, spadá do dikce nejzkušenějšího člena týmu v dané problematice. Vzhledem k absenci řady klinických příznaků by pro diagnostiku sepse či infekce u těchto pacientů měl být kladen daleko vyšší důraz na laboratorní/mikrobiologické vyšetření.

Pouze včasná, adekvátně indikovaná a následně také vedená antimikrobiální terapie je jedním z nejdůležitějších bodů určujících prognózu pacientů TEN.

Gravante et al. sledoval korelaci mezi pozitivitou kultivace PPM z oblasti exfoliovaných ploch a krevního řečiště (402). Celkem sledoval 32 pacientů s histologicky potvrzenou diagnózou TEN. Z tohoto počtu zemřelo 11 pacientů (34 %). Pozitivní izolaci bakterií zaznamenal u 25/32 pacientů (8/11 zemřelých, 17/21 přeživších). Hemokultura byla

pozitivní u 18/32 pacientů (7/11 zemřelých, 11/21 přeživších). Ze závěrů této studie vyplývá, že přítomnost více než dvou různých kmenů bakterií izolovaných z hemokultury byla signifikantně spojena s úmrtím pacientů v souboru ($p < 0,05$).

Na tuto práci navazuje de Prost et al. sledováním bakteriémie u daleko většího souboru dospělých pacientů (403). Za jedenáctileté období sledoval 179 pacientů (53 SJS, 60 overlap TEN, 66 pacientů s TEN). Zajímavostí bylo zaznamenané velmi nízké SCORTEN v souboru přeživších pacientů (medián 1), u zemřelých pacientů byla hodnota mediánu 3. To odpovídá také relativně nízké letalitě (13,4 %). U sledované skupiny pacientů bylo zaznamenáno 48 epizod infekce krevního řečiště (incidence byla 15,5/1000 hospitalizačních dní). Z hemokultur bylo izolováno 70 kmenů bakterií (23 kmenů *Staphylococcus aureus*, 15 kmenů *Pseudomonas aeruginosa* a 17 kmenů enterobakterií). Jedním z cílů této práce bylo stanovit rizikové faktory pro rozvoj infekce krevního řečiště u pacientů s epidermální nekrolýzou. Těmito rizikovými faktory byly věk nad 40 let (HR 2,5; 95% IS, 1,35–4,63 $p = 0,004$) a rozsah exfoliované plochy nad 30 % TBSA (HR 2,5; 95% IS, 1,13–5,47 $p = 0,023$). Zajímavostí bylo, že pozitivita kultivace z exfoliovaných ploch u kmenů methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) a *Pseudomonas aeruginosa* vedla také ke statisticky signifikantnímu rozvoji infekce v oblasti krevního řečiště. Pro MRSA (OR 22,2; 95% IS, 2,67–184,69 $p < 0,001$), pro *Pseudomonas aeruginosa* (OR 18,6; 95% IS, 2,36–147,58 $p < 0,001$). Byla zjištěna také velmi podstatná role entrobakterií (OR 1,02; 95% IS, 1,003–1,040 $p = 0,024$) v rozvoji infekce krevního řečiště. Potvrzuje se tak hypotéza, že pacienti s větším rozsahem exfoliované plochy mají také častěji slizniční postižení, což vede ke snížené kompetentnosti střevní bariéry a potenciálně vyšší pravděpodobnosti translokace bakterií z endoluminárního prostoru do krevního řečiště.

V roce 2014 byla publikována další práce na téma sekundární bakteriální infekce u pacientů s TEN (404). Během dvanáctiletého období se podařilo shromáždit data od 27 pacientů. Z tohoto počtu mělo 17 pacientů (63 %) pozitivitu kultivace PPM v některém z kompartmentů. Celkem bylo u této skupiny pacientů izolováno 35 kmenů bakterií. Dominovala pozitivní izolace z oblasti exfoliovaných ploch (18x), sputa 9x a hemokultura 4x. Mezi nejčastěji izolovanými PPM byly opět *Staphylococcus aureus* (11x) a *Pseudomonas aeruginosa* (8x). Tyto PPM dominovaly u infekce v oblasti exfoliované plochy také v pracích dalších autorů. Zajíček et al. izoloval u 31 % pacientů ze stěrů z oblasti exfoliované plochy právě *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa* (405). Gerdts et al. udával, že 74 % z 19 pacientů v souboru mělo pozitivní kultivaci z oblasti kožních defektů, dominantně byly kultivovány opět tyto PPM (367).

Pravděpodobně nejkomplexnější pojednání o mikrobiologické problematice a antimikrobiální politice u pacientů se SJS nebo TEN bylo publikováno v roce 2016 (406). Studie byla provedena na 24 pacientech (pouze 5 pacientů mělo diagnózu potvrzenou také histologicky), u kterých bylo kumulativně odebráno 303 materiálů ke kultivaci. Ta byla pozitivní v 113 případech (37,3 %). Nejčastěji byla zjištěna pozitivita v oblasti exfoliované plochy (52x), dále 25x byla zaznamenána pozitivní kultivace hemokultur, 14 pozitivních kultivací moči a 8x pozitivita kultivace materiálu z dolních dýchacích cest. Na rozdíl od našeho souboru byla u pacientů v této práci zjištěna dominance grampozitivních kmenů bakterií. Ze 113 pozitivních vzorků bylo izolováno celkem 137 kmenů PPM, z tohoto počtu bylo 92 z grampozitivního a pouze 29 z gramnegativního spektra (G+/G- ratio bylo 3,17:1). V souboru byly izolovány také zástupci kvasinek (11x). U zbylých 5 vzorků nebyl specifikován původce.

Nejčastěji byly opět izolovány kmeny *Staphylococcus aureus* (celkem 38x, 27,7 % všech izolací), následované *Pseudomonas aeruginosa* (15x 10,9 %). Další spektrum PPM se zásadním způsobem neodlišuje ani od předchozích studií, ani od námi zjištěných dat.

U 15 pacientů (62,5 %) byla zjištěna v průběhu hospitalizace sepse, přičemž nejčastější zdrojem PPM byla exfoliovaná plocha (77,8 %). U třetiny septických pacientů došlo k rozvoji těžké sepse.

V této studii byla sledována také citlivost k antibiotikům, nicméně pouze u vybraných kmenů a kumulativně, není tedy možno srovnat naše data, která se týkají také dynamiky vývoje rezistence PPM v průběhu hospitalizace.

Z dostupných publikací se dá říci, že jakákoliv infekční komplikace se u pacientů se SJS nebo TEN vyvine v 62,9 % –91,7 %, infekce v oblasti exfoliované plochy osciluje od 31,8 %–78,0 %, infekce krevního řečiště 14,8 %–54,2 % (367, 404, 405, 406, 407). Data týkající se výskytu infekčních komplikací v dalších kompartmentech nejsou v současné době k dispozici.

V našem souboru jsme zaznamenali pozitivitu kultivačního nálezu u 13 ze 14 pacientů. V rámci srovnání s předchozími studiemi se může zdát, že pacienti v našem souboru byli vystaveni daleko vyšší náloži PPM, nežli tomu bylo ve výše citovaných studiích. V našem souboru pacientů byla ovšem základním problémem samotná doba izolace PPM. Do 48 hodin od přijetí bylo izolováno celkem 105 PPM, což je 21,1 % ze všech izolací v průběhu hospitalizace. Tedy více než pětinou všech PPM byli pacienti kolonizování/infikováni ještě před začátkem hospitalizace v našem zařízení. Nedá se předpokládat, že ani při velmi agresivní antimikrobiální politice dojde k úplné eradikaci všech patogenů, proto od 48 hodin

do 7. dne od přijetí bylo izolováno dalších 153 PPM (30,7 %). Během prvního týdne hospitalizace bylo tedy u pacientů izolováno více nežli polovina všech PPM.

Dále v porovnání s relevantními studiemi byla v našem souboru nejen kvantitativní převaha různých PPM, ale také zásadní kvalitativní odlišnost. Tou je samotný poměr grampozitivních a gramnegativních bakterií. Většina studií udává, že u pacientů s TEN dominují grampozitivní koky. Z grampozitivního spektra bylo v našem souboru pacientů vykultivováno „pouze" 155 kmenů bakterií, zatímco z gramnegativního to bylo 331 kmenů. Byl tedy stanoven celkový poměr G+/G- 1:2,14. Dříve jsem se v textu zmínil o skutečnosti, že infekční komplikace způsobené grampozitivními koky nejsou u kriticky nemocných pacientů obecně zatíženy tak vysokým rizikem úmrtí, jako je tomu u gramnegativních kmenů bakterií. Podobně je tomu také u pacientů s TEN. Proto pokud bychom respektovali tuto skutečnost, měli bychom dosáhnout vyšší letality, nežli tomu bylo v předchozích studiích. V této souvislosti bych chtěl vyzvednout efektivitu našeho „rescue" postupu. Nejenže tímto konceptem byli léčeni pacienti, u kterých došlo k selhání základního terapeutického přístupu, ale navíc byli kolonizováni /infikováni nejvyšším počtem PPM ze všech sledovaných skupin našich pacientů. Efektivita tohoto konceptu se projevila nejen v rámci hodnocení SCORTEN (očekávaná vs. reálná letalita), ale také v rámci hodnocení parametrů, které ve SCORTEN kalkulovány nejsou, ale které mohou mít zásadní dopad na prognózu pacientů s TEN (infekční komplikace).

Cílem „rescue" postupu, stejně jako jakéhokoliv jiného konceptu, který by byl aplikován u pacientů s TEN, nemůže být pouze zastavení progrese základního onemocnění, ale také potenciace aktivity antimikrobiálních preparátů.

Řada studií týkajících se problematiky závažných bulózních onemocnění cílí na imunologickou problematiku jako na vysoce pravděpodobný klíč ke kompletnímu odhalení patofyziologie s následným využitím pro účinnější terapeutický model. Doposud byla hlavní oblast zájmu imunologického výzkumu u pacientů s TEN zaměřena na roli CD8+T-lymfocytů a také NK buněk. Přesto se již dlouhou dobu diskutuje možná zásadní role CD4+ T-lymfocytů na chování základního onemocnění. Navíc za posledních dvacet let nedošlo k zásadní implementaci imunologických poznatků do vlastní terapie pacientů s TEN, pokud pomineme roli biologické terapie, kterou dnes doprovází celá řada otázek.

Většina poznatků z této problematiky je diskutována v kapitole I, zde bych se chtěl zaměřit zejména na to, proč je role imunologie/imunologa v našem „rescue" postupu tak nepostradatelná.

Data publikovaná v tabulce č. 32 jsou unikátní jak z pohledu obsahu, tak také jejich množství. I když jde o sledování pouze čtyř pacientů, výsledky mohou být slibným vodítkem pro další směřování výzkumu. Jistá heterogenita vstupních absolutních hodnot CD4+ T-lymfocytů u pacientů v souboru může být způsobena jejich relativně malým množstvím, nicméně se zdá, že u pacientů je důležitý relativní poměr mezi vstupními hodnotami a hodnotami cílovými.

Podle našich zjištění je redukce absolutních hodnot CD3+/CD4+ T-lymfocytů na 50 % vstupní hodnoty doprovázena zastavením progrese základního onemocnění. V našem souboru byla vstupní absolutní hodnota CD3+/CD4+ T-lymfocytů 0,5 x 10^9/l (rozmezí 0,26; 0,89), 5. den hospitalizace, kdy došlo k ukončení terapie CyA, byla absolutní hodnota CD3+/CD4+T-lymfocytů 0,29 x 10^9/l (0,18; 0,39). Je dále patrné, že i po přerušení podávání CyA dochází k další redukci a že účinnost imunostimulační strategie se začne projevovat až kolem 3. týdne od aplikace celého „rescue“ postupu.

Zde je možno nalézt zásadní tvrzení s jednoznačným dopadem do klinické praxe. Pacienti po dobu zhruba 3 týdnů od začátku hospitalizace jsou ohroženi infekčními komplikacemi, přestože v tomto období jsou již exfoliované plochy reepitelizovány. Je nutno na tuto skutečnost myslet a provádět i v tomto období cílenou a individualizovanou mikrobiologickou surveillance.

Vzhledem k velmi vysokému riziku rozvoje infekčních komplikací u pacientů s TEN je rovněž klíčovým parametrem v rámci imunologického sledování exprese DR lokusu HLA II. třídy na monocytech (CD14+ HLA-DR+). Jedná se o jeden z nejdůležitějších parametrů v rámci stanovení imunoparalýzy u kriticky nemocných pacientů obecně (408, 409). Udává se, že přetrvávající hodnoty tohoto parametru pod 30–40 % jsou bezprostředně spojeny s rizikem úmrtí pacienta. Dokonce v některých studiích byla popsána letalita až 100 % (410). Z tohoto pohledu se v našem souboru pacientů dařilo díky zařazení imunostimulační intervence udržovat hodnoty tohoto parametru kolem dolní hranice normy (tj. 90 %). Nicméně v průběhu prvního týdne po zahájení terapie došlo k poklesu průměrných hodnot CD14+ HLA-DR+ až na zhruba 60 %. Hodnoty se postupně normalizovaly 14. den od zahájení terapie.

Současná data o efektivitě jednotlivých imunosupresivních preparátů v terapii pacientů s TEN jednoznačně preferují podávání CyA. I když jsou dnes k dispozici data o dávkování CyA, zásadní limitací jsou doposud nepublikované údaje o plazmatické koncentraci CyA, kterých je nutno dosáhnout pro zastavení progrese TEN. Při zavádění konceptu obsahující CyA do rutinní terapie u pacientů s TEN na našem pracovišti jsme vycházeli z běžně

dostupných dat, týkajících se cílové plazmatické koncentrace tohoto imunosupresiva u pacientů v potransplantačním období, zejména u pacientů po transplantaci ledviny. Doporučovaná cílová plazmatická koncentrace v prvním měsíci po transplantaci je mezi 200–300 ng/ml, udržovací plazmatická koncentrace je poté 100–150 ng/ml (411, 412).

Primární plazmatická koncentrace, které jsme u pacientů s TEN chtěli dosáhnout, byla 150 ng/ml. Dnes již ale musím konstatovat, že v mnohých případech není plně dostačující k léčbě akutního onemocnění a že pacienti s TEN vyžadují vyšší plazmatickou koncentraci nežli pacienti po transplantaci ledviny. Dnes máme jako efektivní plazmatickou koncentraci CyA v terapii TEN stanovenu hodnotu **200 ng/ml**. U tří pacientů jsme dosáhli o něco nižší plazmatické koncentrace, přesto se zastavila progrese základního onemocnění. Nicméně jako bezpečná plazmatická koncentrace CyA v terapii pacientů s TEN se zdá být právě cílová hodnota 200 ng/ml.

Kometová analýza představuje rychlou, senzitivní a relativně snadnou metodu pro stanovení úrovně poškození DNA (323). Vzhledem k tomu, že se jedná o nenáročnou metodu, dá se předpokládat, že se do budoucna bude tato metoda dále rozšiřovat i do jiných indikací. Problém, se kterým jsou dodnes zodpovědní pracovníci konfrontováni, je zejména absence standardizovaných postupů a běžně dostupných produktů.

Kometová analýza dokáže tedy rozpoznat celkové poškození DNA. Nicméně tato metodika se dá kombinovat s řadou dalších postupů, a to například přidáním různých enzymů je možno zjistit specifičtější poškození DNA. Collins et al. popisuje možnost detekce oxidovaných pyrimidinů štěpením endonukleasnou III (413). Dušinská et al. popisuje detekci oxidovaných purinů pomocí formamidopyrimidin-DNA-glykosylasou (414). Pomocí T4 endonukleasy se dají odhalit cyklobutanové pyrimidinové dimery a AlkA glykosylasou poté alkylací poškozené báze (415, 416). K nalezení chromozomu nebo jeho části v kometě se kombinuje kometová analýza s FISH (Fluorescenční in situ hybridizace).

Velmi často je v souvislosti s kometovou analýzou diskutována nejednoduchá interpretace samotného vztahu laboratorního nálezu (úrovní poškození DNA) s jeho biologickým dopadem. U pacientů s TEN léčených CyA může být tato interpretace relativně jednoduchá, vzniká poměrně úzká korelace mezi úrovní poškození DNA a plazmatické koncentrace CyA. U obou pacientů v souboru se objevil také druhý vrchol nárůstu úrovně poškození DNA, který byl zapříčiněn imunostimulační terapií pomocí transferendi factor suillus.

Biochemický ústav LF MU patří v rámci propagace této metodiky mezi přední pracoviště u nás. Zasloužila se o to zejména Mgr. Milena Matejovičová, Ph.D., a také Mgr.

Miroslav Dvořák, Ph.D., který právě ve své disertační práci s názvem „Sledování poškození DNA metodou kometové analýzy“ významným způsobem přispěl ke zviditelnění této metodiky (417). V návaznosti na tuto disertační práci vznikla také již mnohaletá intenzivní spolupráce mezi Biochemickým ústavem LF MU a Klinikou popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno. Výsledkem je nejen implementace této metodiky do diagnosticko-terapeutického algoritmu v rámci „rescue“ postupu k pacientům s TEN, ale také velmi nadějná perspektiva v hodnocení účinnosti léčby u pacientů s termickým traumatem.

Z pohledu oxidativního a nitrosativního stresu testujeme u pacientů s TEN také několik biochemických markerů, nicméně toto testování je spíše nadějnou vizí do budoucna. Mezi biochemické parametry sledované nejen u pacientů s TEN, ale také u pacientů s termickým poškozením patří 4-hydroxynonenal, 8-deoxy-2-oxoguanosin. Je snaha zavést také metodiku biochemického parametru hodnoticího nitrosativní stres – 3-nitrotyrosin.

4-hydroxynonenal (4-HNE) je produktem lipidové peroxidace. Byl poprvé popsán Esterbauerem v roce 1991 (418). Vzniká tedy při oxidaci lipidů, které obsahují polynenasycené omega-6 mastné acylové skupiny. Jeho role jako biomarkeru je intenzivně zkoumána u celé řady onemocnění (aterogeneze, různé typy nádorového a neurodegenerativního onemocnění apod.) (419, 420, 421).

8-hydroxy-2‘-deoxyguanosin (8-OHdG) je další biomarker oxidativního poškození organismu (422). Oxidativní poškození DNA může být způsobeno přímou interakcí mezi volnými kyslíkovými radikály a DNA, nebo nepřímo na základě aktivace endonukleáz (423). Oxidační poškození DNA se nejčastěji projevuje poškozením struktury bází nebo sacharidové složky (424). 8-OHdG je nefyziologický derivát dusíkatých bází v různých biologických materiálech. Vzhledem k minimálnímu nebo nulovému ovlivnění hodnot tohoto markeru například stravou se jedná o relativně validní endogenní marker poškození DNA volnými kyslíkovými radikály. Jedná se o oxidovaný derivát deoxyguanosinu (proto je jeho další název 8-Oxo-2‘ deoxyguanosin) (425).

Hodnoty 8-OHdG narůstají s věkem, a to jak v mitochondriální, tak i nukleární DNA. Tento marker je dnes intenzivně zkoumán u celé řady patologických stavů – Alzheimerova choroba, atopická dermatitida, cystická fibróza, revmatoidní artritida, nádorové onemocnění aj. (426, 427, 428).

3-nitrotyrosin (3-NT, celý název je 3-nitro-L-tyrosin) je produktem interakce mezi tyrosinem a reaktivním dusíkovým radikálem, například peroxynitritem (429). Jedná se o jeden z potenciálně nadějných biomarkerů nejen u pacientů s TEN, ale také v rámci obecné monitorace úrovně poškození buněk nebo úrovně zánětu (430). Jde o biomarker endogenní

peroxynitritové aktivity. Největší zkušenosti s tímto biomarkerem jsou při stanovování jeho koncentrace z mozkomíšního moku u meningitid (431, 432).

2.5 Závěr

Toxická epidermální nekrolýza zůstává i nadále raritním onemocněním, které je doprovázeno vysokou letalitou. Vzácnost tohoto onemocnění bohužel neumožňuje ověřit jakýkoliv terapeutický koncept na větším souboru pacientů v relativně krátkém časovém rozmezí.

Přesto jsme díky systematické práci a detailnímu studiu současných poznatků dokázali formulovat unikátní koncept, jenž zachránil pacienty, kteří by před jeho zavedením zemřeli. Je do něj implementováno několik celosvětově jedinečných postřehů, které dále zvyšují šanci na přežití těchto pacientů.

Do budoucna budeme i nadále usilovat o další rozvoj tohoto konceptu nejen z pohledu laboratorních metodik, ale také z pohledu aktivního přístupu k vývoji nových dočasných bioaktivních krytů, které by mohly zkrátit samotnou délku reepitelizace. V této oblasti jsme již dnes na velmi dobré cestě. Z celkového pohledu bychom rádi rozšířili počet takto léčených pacientů a zavedli tento terapeutický koncept také na jiná pracoviště. Ne vždy bude ovšem tato snaha uskutečnitelná, protože unikátnost tohoto konceptu reflektuje také unikátnost osobností zastoupených v multidisciplinárním týmu našeho pracoviště, který pečoval o všechny uvedené pacienty.

3. Souhrn

Toxická epidermální nekrolýza (TEN) je vzácné autoimunitní onemocnění, které se dominantně manifestuje v oblasti kůže a sliznic. Základním patofyziologickým mechanismem tohoto onemocnění je indukce apoptózy v oblasti dermo-epidermální junkce. Typicky se mezi nejčastější induktory řadí léky, nebo jejich metabolity. Přesto se udává, že asi u 10 % případů se nepodaří nalézt souvislost mezi rozvojem tohoto onemocnění a užíváním některého z léků. Základním klinickým projevem je různě rozsáhlá kožní exfoliace (minimální rozsah pro TEN je 30 % TBSA – total body surface area), která je velmi často doprovázena také slizničním postižením a celkovou toxicitou. Jde o vzácné onemocnění, jehož literární incidence se pohybuje mezi 0,5–2,0 případů na 1 milión obyvatel a rok. Letalita tohoto syndromu se pohybuje kolem 30–50 %, nicméně byly publikovány soubory i s daleko vyšší letalitou.

V současné době neexistuje žádný terapeutický koncept, který by dokázal spolehlivě zastavit progresi základního onemocnění a zároveň by minimalizoval riziko následných komplikací. Vzhledem k tomu, že se jedná o autoimunitní onemocnění, je základním terapeutickým přístupem podávání imunosupresiv. I přes značné pokroky ve všech zásadních oblastech diagnostiky a terapie se letalita těchto pacientů prakticky nemění.

Dnes existuje celá řada léků (imunosupresiv), které byly pacientům s TEN podávány, bohužel u drtivé většiny z nich jsou výsledky značně rozporuplné. Nadějné výsledky jsou dnes zaznamenávány prakticky pouze v případě cyklosporinu A (CyA). CyA se na našem pracovišti stal postupně základním stavebním kamenem v komplexním přístupu k pacientům s TEN. Postupně se doplňovaly další metodiky, které umožnily monitorovat průběh a individuální odpověď na léčbu. Dnes se již existence tohoto konceptu opírá nejen o jednotlivá teoretická východiska, ale díky této habilitační práci také o praktické ověření samotné účinnosti.

Habilitační práce významným způsobem přispívá k rozšíření povědomí o tomto syndromu a prohlubuje znalosti u lékařů, kteří se s TEN již setkali. Svým objemem nemá nejen v českém, ale troufám si říci i světovém písemnictví obdoby. V kapitole II je prezentován koncept, kterým jsme úspěšně vyléčili čtyři pacienty. Uvádění pacienti by před zavedením tohoto konceptu zemřeli. Největší prostor je v této kapitole věnován nejzávažnější problematice, se kterou jsou pacienti s TEN dnes konfrontováni, a to infekčním komplikacím.

Součástí habilitační práce je také několik příloh, ve kterých je popsána řada inovativních prvků a postupů, které mohou dále zlepšit prognózu nemocných. Jsou zde také prezentovány výsledky multicentrické analýzy zaměřené na prevalenci infekčních komplikací

u pacientů s TEN. Ve studii jsou zpracována data od 39 pacientů. Svým objemem dat a zaměřením je tato práce rovněž unikátní.

4. Summary

Toxic epidermal necrolysis (TEN) is a rare autoimmune disease, which is predominantly manifested in the skin and mucous membranes. The basic pathophysiological mechanism of this disease is induction of apoptosis in the area of the dermal-epidermal junction. Typically, the most common inducers include drugs or their metabolites. However, it is reported that it is not possible to find a link between the development of this disease and the use of any drugs in about 10% of the cases. The basic clinical manifestation includes variously extensive skin exfoliation (the minimum TEN range is 30% TBSA - total body surface area), which is often accompanied by affected mucous membranes and overall toxicity. It is a rare disease, the literary incidence of which is between 0.5-2.0 cases per 1 million inhabitants per year. The lethality of this syndrome is around 30-50%, but even higher lethality rates have been published.

There is currently no therapeutic concept, which can reliably stop the progression of the underlying disease while minimizing the risk of subsequent complications. As it is an autoimmune disease, the primary therapeutic approach is administration of immunosuppressive agents. Despite significant advances in all major areas of diagnosis and therapy, the lethality of these patients practically has not changed.

Today, there are many drugs (immunosuppressive), which have been administered to patients with TEN, unfortunately the vast majority of these results are quite contradictory. Promising results are now only recorded for Cyclosporine A (CyA). CyA has gradually become the cornerstone of a complex approach to TEN patients at our workplace. Gradually, additional methodologies have been added, which enable monitoring of the progression and individual responses to the treatment. Today, the existence of this concept is based both on individual theoretical assumptions and, thanks to this habilitation work, also on practical verification of effectiveness.

The habilitation thesis significantly contributes to widening awareness of this syndrome and deepening the knowledge of doctors, who have already met patients with TEN. Its volume is unparalleled both in Czech literature, and I dare say in world literature as well. Chapter II presents a concept, which we used to successfully cure four patients. The mentioned patients would have died before the implementation of this concept. The largest area in this chapter is devoted to the most serious issue, which TEN patients now have to face, namely infectious complications.

The habilitation thesis also includes several annexes, which describe a number of innovative elements and procedures, which can further improve the prognosis of patients. It

also includes presentation of the results of a multicentric analysis focused on the prevalence of infectious complications in patients with TEN. Data from 39 patients have been processed in the study. Both the data volume and focus of this work are very unique.

5. Přínos habilitační práce pro rozvoj oboru

Hlavním přínosem této habilitační práce je maximálně praktický dopad do každodenní klinické praxe a pevně věřím, že její existence povede ke zkvalitnění péče o pacienty s TEN v ČR. Práce takového rozsahu jednoznačně v naší zemi doposud chyběla. Svým objemem dat překonává doposud uveřejněné publikace na dané téma.

Přestože jsem se snažil pojmout habilitační práci prakticky, je v ní obsaženo také množství inovativních prvků, které posouvají poznání tohoto syndromu dále. Řada dat a poznatků se objevuje vůbec poprvé, a to nejen v české odborné literatuře, ale také v evropském, nebo dokonce celosvětovém kontextu.

Předkládaná habilitační práce představuje důležitý dokument, který rozvíjí obor popáleninové medicíny o tyto aspekty:

1) Pro pacienty s TEN je důležitým faktorem pro přežití včasný transfer do popáleninového centra.
2) Před samotným transferem je klíčová role odesílajícího lékaře, zejména dermatologa, a je na něj kladena vysoká odpovědnost za provedení adekvátní diagnostiky bez zbytečného časového prodlení.
3) Pacienti, kteří splňují diagnostická kritéria pro TEN, by měli být neprodleně transferováni do popáleninového centra.
4) Dnes již pouhá diagnostika pomocí klinické symptomatologie je při rozmanitosti závažných bulózních onemocnění naprosto nedostatečná, **vždy** musí dojít k provedení histologické konfirmace.
5) Dokument, který je součástí této habilitační práce (příloha č. 16) upravuje doposud slepou část v rámci mezinemocniční komunikace, a to transfer těchto pacientů do cílového popáleninového centra.
6) Dle zveřejněných dat z této habilitační práce by pacienti s TEN neměli mít zavedenu terapii kortikosteroidy, přesto je toto dnes pravidlem a všichni pacienti transferovaní do našeho centra měli tuto terapii zavedenou. Kortikoidy nevedou ke zlepšení prognózy pacientů s TEN nejen v porovnání s jinými terapeutickými modalitami /imunosupresivními koncepty/, ale také v porovnání s podpůrnou terapií.
7) Dle některých autorů by měly být preparáty ze skupiny anti-TNFα preferovány. V samotném textu habilitační práce a v příloze č. 6 je jednoznačně vyjádřeno, proč by tyto preparáty u pacientů s TEN neměly být podávány, podobně jako je tomu u kortikosteroidů

8) Výsledky u IVIg jsou dnes rozporuplné, jejich použití se nyní nedá jednoznačně doporučit, nebo nedoporučit. Volba IVIg je pro pacienty jednoznačně prospěšná, pokud budeme porovnávat tuto terapii s kortikosteroidy, symptomatickou terapií a anti-TNFα.
9) Nejen podle referovaných dat v této práci, ale také podle dalších publikovaných textů by se dnes měl dávat daleko větší prostor CyA v celkové terapii pacientů s TEN. Pozitivní dopad má také lokální podávání tohoto imunosupresiva do oblasti předního očního segmentu. V příloze č. 5 je publikován první úspěšný případ systémové terapie TEN pomocí CyA v České republice.
10) Bronchoskopie je velmi důležitý nástroj zejména z pohledu diagnostiky slizničního nálezu v oblasti dolních dýchacích cest. Význam bronchoskopie dále narůstá především u pacientů, u kterých došlo k akutnímu respiračnímu selhání a dále také v diagnostice infekčních komplikací v tomto kompartmentu. Bronchoskopický grading je znázorněn v příloze č. 2. Jde o celosvětově první návrh rozdělení tíže slizničního postižení u pacientů s TEN.
11) V kapitole II je metodicky popsán inovativní koncept tzv. „rescue“ postup, který jsme ověřili na pilotním projektu schváleném Etickou komisí FN Brno. Přestože pacienti měli vysoké hodnoty SCORTEN, 100% prevalenci multifokální infekce, nebylo v této skupině zaznamenáno žádné úmrtí.
12) U pacientů s TEN je prospěšné monitorování plazmatické aktivity AT a udržování jejich hodnot nad 100 %. Práce, která je součástí přílohy č. 11, je první literárním pojednáním o výhodách AT u pacientů s TEN.
13) Pacienti s TEN mohou profitovat z imunostimulace, nicméně tento krok je nutno vždy konzultovat s imunologem, který jej dále řídí. Transferendi factor suillus je v případě imunostimulace pacientů s TEN jednoznačně prospěšným preparátem. V tomto habilitačním spisu lze nalézt první literární zmínku týkající se použití transfer faktoru u těchto pacientů.
14) Kometová analýza je jednoznačně významnou doplňkovou metodikou v monitorování poškození DNA cirkulujících lymfocytů. Její využití je popsáno v příloze č. 10.
15) V habilitační práci jednoznačně potvrzujeme, že infekce patří k nejčastějším komplikacím v průběhu terapie pacientů s TEN.
16) V příloze č. 17 je popsán první případ diseminované infekce *Aspergillus* sp., jejíž projevy byly maskovány za sepsi způsobenou multirezistentní *Pseudomonas*

aeruginosa. Díky této práci byla zavedena pravidelná monitorace galaktomananu a 1,3-beta-D-glukanu (dříve mananu) u těchto pacientů.

17) V příloze č. 15 je popsán první případ off-label použití tigecyklinu v terapii infekční komplikace v oblasti dolních dýchacích cest a kolitidou způsobenou *Clostridium difficile* u pacientky s TEN.
18) V příloze č. 3 je dále popsáno potenciálně nové klinické znamení, které bylo sledováno u našich pacientů.
19) V příloze č. 14 je publikovaná práce týkající se pravděpodobně prvního popisu nitrofurantoinem indukované TEN, a i když je v databázi FDA o této skutečnosti zmínka, případ není dále zpracován a ani není známo, jestli šlo skutečně o TEN.
20) Přílohy č. 12, 13 obsahují výsledky multicentrické studie. Tato studie obsahuje nejpočetnější soubor pacientů s TEN ve střední Evropě a nejpočetnější soubor na světě, který se specificky zaměřuje na roli infekčních komplikací u pacientů s TEN.

6. Seznam použitých zkratek a anglických ekvivalentů

ABA	American Burn Association/ Americká popáleninová asociace
ADAMTS13	A Disintegrin And Metalloprotease with ThromboSpondin type 1 motif 13 - metalloproteáza, štěpící velké multimery von Willebrandova faktoru
AGEP	Acute Generalised Exanthematous Pustulosis/ Akutní generalizovaná exantematózní pustulóza
ALDEN	An Algorithm for Assessment of Drug Causality in Stevens – Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis/ algoritmus stanovení lékové spojitosti se SJS a TEN
APACHE	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation/ skóre definující závažnost stavu pacienta
APAF1	Apoptotic protease activating factor 1/ Faktor aktivující apoptotickou proteázu
APC	Antigen presenting cells/ Antigen prezentující buňky
AT	Antitrombin
BAL	Bronchoalveolární laváž
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
BP	Bulózní pemfigoid
CAD	Caspase Activated DNase/ Kaspázou aktivovaná endonukleáza
CADRs	Cutaneous Adverse Drug Reactions/ Vedlejší kožní polékové reakce
CASPASE	Cysteine-dependent ASPartate-directed proteASE/ skupina cysteinproteáz, účastnících se procesu apoptózy
CCR6	C-C chemokine receptor type 6/ CC chemokinový receptor 6
CD	Cluster of Differentiation / klasifikace buněk pomocí monoklonálních protilátek
CDC	Centers for Disease Control and Prevention/ Centrum pro kontrolu a prevenci infekcí
c-IAP1	The cellular inhibitor of apoptosis 1/ Buněčný inhibitor apoptózy 1
CMIA	Chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích
CMV	Cytomegalovirus
CTLA-1	Cytotoxic T lymfocyte-associated serine esterase 1/ Cytotoxická s T lymfocyty asociovaný serinová esteráza 1
CŽK	Centrální žilní katétr
CyA	Cyklosporin A

CXCL8	C-X-C motif chemokine ligand 8/ cytokin způsobující iniciaci chemotaxe neutrofilů
CYP450	Cytochrom P450
ČZP	Čerstvě zmražená plasma
DIHS	Drug Induced Hypersenzitivity Syndrome/ Lékově indukovaný hypersenzitivní syndrom
DISC	Death-inducing signaling complex/ multiproteinový komplex obsahující receptor smrti – inicializuje proteolytickou kaspázovou aktivitu
DLE	Dialyzovaný leukocytární extract
DR	Death receptor/ Receptor smrti
DRESS	Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms/ Léková reakce s eozinofilií a systémovými projevy
DTH	Delayed type of hypersenzitivity/ Opožděný typ hypersenzitivity
EBV	Epstein-Barrové virus
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
EM	Erythema multiforme
EMA	European Medicines Agency/ Evropská léková agentura
EN	Enterální nutrice
ET	Exfoliativní toxin
EWI	Exfoliating wound infection/ infekční komplikace v oblasti exfoliovaných kožních defektů
FADD	Fas-Associated protein with Death Domain/ Fas-asociovaný protein s doménou smrti
FDA	Food and Drug Administration/ Úřad pro kontrolu potravin a léčiv
FGF	Fibroblast growth factors/ Růstové faktory pro fibroblasty
FISH	Fluorescenční in situ hybridizace
G-CSF	Granulocyte-colony stimulating factor/ Faktor stimulující granulocytární kolonie
HHV-6,7	Human herpesvirus 6,7/ Lidský herpesvirus 6,7
HIV	Human Immunodeficiency Virus/ Virus lidské imunodeficience
HLA	Human Leukocyte Antigen/ antigeny histokompatibilního systému
HSV	Herpes simplex virus
IAP	Intra-abdominal pressure/ nitrobřišní tlak
ICAD	Inhibitor of Caspase Activated DNase/ Inhibitor kaspázou aktivované endonukleázy

ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1/ Mezibuněčná adhezivní molekula 1
IGF	Insulin-like growth factor/ Somatomedin/ Insulinu podobný růstový faktor 1
IKK	Inhibitor of nuclear factor kappa B kinase/ Inhibitor kinázy nukleárního faktoru kappa B
IL	Interleukin
IMIg	Intramuskulární imunoglobuliny
INFγ	Interferon gama
IS	Interval spolehlivosti
IVIg	Intravenózní imunoglobuliny
KGF	Keratinocyte growth factor/ Růstový faktor pro keratinocyty
LE	Lupus erythematosus
LFA-1	Lymphocyte function-associated antigen 1/ Integrin/ Adhezivní lymfocytární receptor
LMWH	Low-molecular-weight heparin/ Nízkomolekulární heparin
MHC	Major histocompatibility complex/ Hlavní histokompatibilní komplex
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
MKN-10	Mezinárodní klasifikace nemocí, 10. revize
MPM	Mortality Probability Model/ Model pravděpodobnosti úmrtí
MRSA	Methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*
nd	nedefinováno
NDK	Nízkodávkované kortikosteroidy
NF-κB	Nukleární faktor kappa B
NME	Nekrolytický migratorní erytém
NO	Oxid dusnatý
OR	Odds ratio/ Poměr šancí
PKB	Protein kináza B
PPI	Proton-pump inhibitor/ Inhibitor protonové pumpy
PPM	Potenciálně patogenní mikroorganismus
PV	Pemfigus vulgaris
PVPI	Polyvinylpyrrolidon-iod
P-I concept	Pharmacological interaction with immune receptors concept/ Koncept farmakologické interakce s receptory imunitního systému
RCF	Relative centrifugal force/ Relativní centrifugační síla

RIP1	Receptor interacting protein 1/ Protein 1 interagující s receptorem
RLU	Relative light unit/ Relativní světelná jednotka
PN	Parenterální nutrice
RR	Relativní riziko
SAPS	Simplified Acute Physiology Score/ skóre definující závažnost stavu pacienta
SCARs	Severe Cutaneous Adverse Reactions/ Závažné kožní vedlejší reakce
SCORTEN	SCORe of Toxic Epidermal Necrosis/ skóre definující závažnost stavu pacienta s toxickou epidermální nekrolýzou
SCGE	Single cell gel electrophoresis/ Jednobuněčná gelová elektroforéza
SJS	Stevens-Johnsonův syndrom
SSD	Silver sulfadiazin/ Sulfadiazin stříbrný
SSRI	Selective serotonin reuptake inhibitors/ Selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu
SSSS	Staphylococcal scalded skin syndrome/ Stafylokokový syndrom opařené kůže
SSTI	Skin and soft tissue infections/ Infekce kůže a měkkých tkání
sTNFα	Solubilní forma TNFalfa
SUS	Stress ulcer syndrome/ Stresový vřed
TBAS	Tracheobronchiální aspirát
TBSA	Total body surface area/ Celkový tělesný povrch
Tc lymfocyty	Cytotoxické T lymfocyty
TEN	Toxická epidermální nekrolýza
TGFß	Transforming Growth Factor Beta/ Transformující růstový faktor beta
Th lymfocyty	Pomocné T lymfocyty
TNFα, ß	Tumor necrosis factor alfa, beta/ Faktor nádorové nekrózy alfa, beta
TNFR1,2	Tumor necrosis factor receptor 1,2
TRADD	TNFR1-associated death domain protein/ TNFR1 asociovaný protein obsahující doménu smrti
TRAF-2	TNF-receptor associated factor 2/ Faktor 2 asociovaných s TNF-receptorem
TRAIL	TNF-related apoptosis-inducing ligand/ TNF příbuzný ligand indukující apoptózu
Treg	Regulační T lymfocyt

ULE	Ultrafiltrovaný leukocytární extrakt
UPV	Umělá plicní ventilace
UTI	Urinary tract infection/ Infekce močového systému
ÚZIS	Ústav zdravotnických informací a statistiky
VCAM-1	Vascular cell adhesion protein 1/ Adhezivní protein vaskulárních buněk
VDK	Vysokodávkované kortikosteroidy
VRE	Vankomycin rezistentní enterokok
XIAP	X-linked inhibitor of apoptosis protein/ Protein inhibující apoptózu
4-HNE	4-hydroxynonenal
8-OHdG	8-hydroxy-2‘-deoxyguanosin
3-NT	3-nitrotyrosin

7. Seznam obrázků

Obr. č. 1 Jednotlivé stavy spadající do skupiny netermálních ztrát kožního krytu s doporučením lokální a systémové terapie. Dělení dle místa primárního postižení. Adaptováno dle Herndon et al. (25).

Obr. č. 2 Schématické znázornění apoptózy prostřednictvím vazby FasL (CD95L) na FasR (CD95R). Adaptováno dle Pereira et al. (68).

Obr. č. 3 Schématické znázornění apoptózy prostřednictvím granzymu B a perforinu CD8+ T lymfocytů. Adaptováno dle Pereira et al. (68).

Obr. č. 4 Pravděpodobná apoptotická dráha u pacientů s TEN mediovaná prostřednictvím Tc lymfocytů (DR death receptor, CTL – Tc lymfocyty. Adaptováno dle Chave et al. (104).

Obr. č. 5 „P-i concept" A) 1 – Lék, v našem případě sulfamethoxazol (SMX) se váže nekovalentní vazbou na receptor T-lymfocytů (TCR). Samotná vazba pravděpodobně není dostatečná, aby umožnila klonální proliferaci T-lymfocytů. 2 – Klonální proliferace může nastat až po posílení této stimulace dodatečnou interakcí s MHC molekulami. B) 1 – SMX ve formě reaktivního metabolitu (nitrózový metabolit SMX-NO) kovalentně váže na peptid. 2 – Takto modifikovaný peptid je rozpoznán a navázána na receptor T-lymfocytů, jež následně interagují s MHC molekulami (3). Adaptováno dle Pichler et al. (116).

Obr. č. 6 Schéma znázorňující vazbu mezi FasR a FasL keratinocytů a její blokace intravenózními imunoglobuliny (IVIg). A) Normální stav, kdy na povrchu keratinocytu jsou exprimovány FasR. B) Stav, kdy exprese FasL vede k apoptóze buňky. C) Možnosti ovlivnění vazby FasR a FasL keratinocytů IVIg. Adaptováno dle Bolognia et al. (122).

Obr. č. 7 adaptováno dle Chave (shrnutí jednotlivých možných mechanizmů rozvoje TEN – cytokinové i lymfocytární) - (TNFα - tumor necrosis factor α, TNFR-1 - Tumor necrosis factor receptor 1, TRAF - TNF receptor associated factor, IKK - IκB kinase, NF-κB - nuclear factor NF-kappa B, TRADD - Tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain, FAS-L – (CD95L), FAS-R – (CD95R), FADD - Fas-Associated protein with Death Domain, TRAIL - TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL-R1,2 - TNF-related apoptosis-inducing ligand Receptor 1,2, PKB - Protein kinase B, Bad - Bcl-2-associated death promoter, Bcl2 - B-cell lymphoma 2, Bax - Bcl-2-associated X protein, Bid - BH3 interacting-domain, APAF1 - Apoptotic protease activating factor 1). Adaptováno dle Chave et al. (104).

Obr. č. 8 Schématické znázornění nejčastější lokalizace kožních morf u SJS, overlap TEN, TEN. Adaptováno dle Bolognia et al. (122).

Obr. č. 9 Klinické projevy typické pro iniciační fázi (foto archív autora).

Obr. č. 10 Klinické projevy s již plně rozvinutými kožními příznaky a nově se tvořícími bulami v amplifikační fázi (foto archív autora).

Obr. č. 11 Typický klinický rozvoj TEN v oblasti zad (foto archív autora).

Obr. č. 12 Fulminantní obraz TEN v oblasti trupu (foto archív autora).

Obr. č. 13 Klinická symptomatologie TEN v oblasti zad, masivně se odlučující epidermis (foto archív autora).

Obr. č. 14 Rozsah klinické manifestace TEN na sliznici tvrdého patra u pacientky v amplifikační fázi (foto archív autora).

Obr. č. 15 Rozsah klinické manifestace v a) oblasti jazyka b) oblasti tvrdého patra (foto archív autora).

Obr. č. 16 Postižení sliznic v oblasti pochvy a okolí análního otvoru (foto archiv autora).

Obr. č. 17 Oční manifestace u pacienta s TEN (přítomná konjunktivitida, symblefaron, neovaskularizace rohovky) spolu s pseudomonádovou endoftalmitidou (foto archiv autora).

Obr. č. 18 Odběr kožní biopsie člunkovým řezem v rámci diagnostiky TEN (foto archív autora).

Obr. č. 19 histologický obraz TEN – odlučování epidermis a subepidermálně se formující bula a naznačenou spontánní perforací (barvení Hematoxylin Eosin, zvětšeno 40x) (foto MUDr. Kyclová Ústav patologie FN Brno).

Obr. č. 20 a) Histologický obraz TEN s již kompletní ztrátou epidermis v horní části (barvení Hematoxylin Eosin, zvětšeno 40x) b) výřez obrázku s nekrotickou epidermis a formující se subepidermální bulou – naznačena šipkami (foto MUDr. Kyclová Ústav patologie FN Brno).

Obr. č. 21 Diferenciální diagnostika klinicky podobných syndromů prostřednictvím histopatologického vyšetření. Adaptováno dle Lim et al. (169).

Obr. č. 22 Na exfoliované plochy aplikována extramurálně zinková pasta (foto archív autora).

Obr. č. 23 Na exfoliované plochy aplikován extramurálně hypermangan (foto archív autora).

Obr. č. 24 Provádění otiskové metody k semikvantitativnímu vyšetření mikrobiologické situace v dané oblasti (foto archív autora).

Obr. č. 25 Plocha v oblasti bérce bez schopnosti ke spontánní reepitelizaci, nutná autotransplantace dermo-epidermálním štěpem (foto archív autora).

Obr. č. 26 Zhojené plochy v oblasti bérců po zatransplantování dermo-epidermálními štěpy. V oblasti levého bérce pevně adheruje mastný tyl na donorské ploše (foto archív autora).

Obr. č. 27 Aquacel® Ag – stav po dvou dnech od aplikace do oblasti vlasaté části hlavy (foto archív autora).

Obr. č. 28 Aquacel® Ag Burns a jeho aplikace ve formě rukavice na ruku pravé horní končetiny.

Obr. č. 29 Stav defektu po aplikaci Flaminalu Hydro® (foto archív autora).

Obr. č. 30 Již kompletně podepitelizovaný defekt po aplikaci acelulární alogenní dermis Xe-Derma® (foto archív autora).

Obr. č. 31 Mepilex® Ag v aplikaci na zbytkové defekty v oblasti zad a hýždí (foto archív

autora).

Obr. č. 32 Schématické znázornění inzerce amniové membrány (A) přední pohled, (B) boční pohled. Adaptováno dle Meller et al. (310).

Obr. č. 33 Grafické znázornění výše definovaného „rescue“ postupu (imunosupresivní a imunostimulační fáze) v průběhu 14 dní (CyA – cyklosporin A, IVIg – intravenózní imunoglobuliny, AT – antitrombin).

Obr. č. 34 Zastoupení jednotlivých PPM v průběhu hospitalizace u pacientů s „rescue“ postupem (inovativní koncept), přeživších pacientů bez „rescue“ postupu a pacientů zemřelých.

8. Seznam tabulek

Tab. č. 1 Sledované parametry u jednotlivých preparátů a jejich následná interpretace z pohledu rizikovosti rozvoje TEN. Adaptováno dle Sassolas et al. (48).

Tab. č. 2 SCORTEN – sledované parametry a převedení bodového součtu na pravděpodobnost úmrtí (57).

Tab. č. 3 Nejvýznamnější prodromální symptomy u pacientů s TEN (104, 143).

Tab. č. 4 Nejčastější klinické příznaky a subjektivní potíže v oblasti oka u pacientů s TEN (159, 160, 161).

Tab. č. 5 Skóre pro výpočet pravěpodobnosti AGEP. Adaptováno dle Sidoroff et al. (211)

Tab. č. 6 Jednotlivé stavy (skupina pemfigu a pemfigoidu) imitující svým projevem TEN a jejich dělení dle místa maximálního postižení. Adaptováno dle Florea et al. (225).

Tab. č. 7 Vybrané studie hodnotící efektivitu kortikosteroidů u pacientů s TEN (červeně značeny studie, kde kortikosteroidy nesnížili očekávanou letalitu).

Tab. č. 8 Vybrané studie hodnotící efektivitu IVIg u pacientů s TEN (červeně značeny studie, kde IVIg nesnížili očekávanou letalitu).

Tab. č. 9 Vybrané studie hodnotící efektivitu IVIg u pacientů s TEN (červeně značeny studie, kde IVIg nesnížili očekávanou letalitu).

Tab. č. 10 Vybrané studie hodnotící efektivitu CyA u pacientů s TEN.

Tab. č. 11 Vybrané parametry jediné relevantní studie hodnotící efektivitu etanerceptu v terapii TEN.

Tab. č. 12 Vybrané studie hodnotící efektivitu plazmaferézy u pacientů s TEN.

Tab. č. 13 Nejpoužívanější preparáty v lokální péči u pacinetů s TEN.

Tab. č. 14 Nejdůležitější antiseptika používaná u pacientů s TEN.

Tab. č. 15 Základní epidemiologické ukazatele u pacientů s TEN (ASA – kyselina acetylsalicylová). [1] rozsah exfoliace v % TBSA, [2] SCORTEN hodnocen při přijetí, [3] doba mezi začátkem příznaků a přijetím do našeho centra.

Tab. č. 16 Vliv vybraných epidemiologických a klinických parametrů na letalitu pacientů s TEN v souboru.

Tab. č. 17 Vztah mezi závažností TEN (SCORTEN) a letalitou. [1] hodnoceno pomocí Mannova-Whitneyova testu (SCORTEN hodnoceno jako ordinální proměnná).

Tab. č. 18 Vliv celkově podaných preparátů v terapii TEN na letalitu pacientů (CyA – cyklosporin A, IVIg – intravenózní imunoglobuliny).

Tab. č. 19 Porovnání letality u pacientů v souboru v závislosti na použití jednotlivých terapeutických schémat (NDK – nízkodávkované kortikosteroidy, VDK – vysokodávkované

kortikosteroidy, CyA – cyklosporin A, IVIg – intravenózní imunoglobuliny).

Tab. č. 20 Riziko rozvoje infekční epizody u pacientů s TEN dle množství kortikosteroidů užívaných v terapii ([1] 1000 mg metylprednisolonu, G+ grampozitivní kmeny bakterií, G- gramnegativní kmeny bakterií).

Tab. č. 21 Riziko rozvoje infekční epizody u pacientů s TEN dle tíže onemocnění vyjádřené prostřednictvím SCORTEN (G+ grampozitivní kmeny bakterií, G- gramnegativní kmeny bakterií), [1] hodnoceno pomocí Mannova-Whitneyova testu (SCORTEN hodnoceno jako ordinální proměnná).

Tab. č. 22 Hodnocení rizikových faktorů (délka hospitalizace, délka pobytu na JIP, UPV a jeho délka) na rozvoj infekčních komplikací u pacientů s TEN.

Tab. č. 23 Hodnocení vybraných rizikových faktorů (CVK doba – počet dní zavedení centrálního žilního katétru, přítomnost arteriálního čidla a doba jeho zavedení) na rozvoj infekčních komplikací u pacientů s TEN.

Tab. č. 24 Rozvoj infekčních komplikací bez závislosti na kompartmentu v průběhu hospitalizace u pacientů s „rescue" postupem a jinými terapeutickými přístupy.

Tab. č. 25 Infekce v oblasti exfoliované plochy (SSTI – skin and soft tissue infection) a její výskyt v závislosti na volbě lokálního krytí.

Tab. č. 26 Všechny izolované PPM u jednotlivých skupiny pacientů s TEN.

Tab. č. 27 Referování pacienti ve stejném pořadí jako v tab.č.15.

Tab. č. 28 Úroveň rezistence u grampozitivních (G+) patogenů izolovaných u pacientů s TEN v průběhu hospitalizace.

Tab. č. 29 Úroveň rezistence u gramnegativních (G-) patogenů izolovaných u pacientů s TEN v průběhu hospitalizace.

Tab. č. 30 Vliv vybraných rizikových faktorů pro selekci rezistentních kmenů Koagulasa negativní stafylokoky a *Enterococcus faecalis*. (r_s - Spearmanův korelační koeficient; možná interpretace: malá síla asociace při |r|= 0.1 až 0.3; středí síla asociace při |r| = 0.3 až 0.7 a velká síla asociace při 0.7 až 1).

Tab. č. 31 Vliv vybraných rizikových faktorů pro selekci rezistentních kmenů vybraných gramnegativních bakterií. (r_s - Spearmanův korelační koeficient; možná interpretace: malá síla asociace při |r|= 0.1 až 0.3; středí síla asociace při |r| = 0.3 až 0.7 a velká síla asociace při 0.7 až 1).

Tab. č. 32 Vybrané imunologické parametry u pacientů s „rescue" postupem.

Tab. č. 33 Výsledky porovnání rizikovosti jednotlivých preparátů dle studie Roujeau et al. (232).

Tab. č. 34 Výsledky porovnání rizikovosti jednotlivých preparátů dle studie Mockenhaupt et al. (44).

9. Seznam grafů

Graf č. 1 Počet pacientů s TEN, poměr pohlaví a počet úmrtí. Data dle ÚZIS.

Graf č. 2 Procentuální zastoupení jednotlivých preparátů na rozvoji TEN dle studie EuroSCAR mimo antimikrobiální léky (44). (PAR – paracetamol, ALLO – allopurinol, KORT – kortikosteroidy, ASA – kyselina acetylsalicylová, KARB – karbamazepin, PHEN – phenytoin, LAM – lamotrigin).

Graf č. 3 Nejdůležitější antimikrobiální preparáty podílející se na rozvoji TEN dle studie EuroSCAR (TRIM-SULP – trimethoprim sulfamethoxazol, CEF - cefalosporiny, AMINOPEN - aminopeniciliny, MAK - makrolidy, FQ - fluorochinolony, TTC - tetracykliny) (44).

Graf č. 4 Dynamika plasmatické aktivity AT u souboru vlastních pacientů.

Graf č. 5 Závislost rozdílu plasmatické aktivity 1. den a průměrné plasmatické aktivity 2. – 7.den a množství podaných jednotek (j.) AT.

Graf č. 6 Plasmatická koncentrace CyA u pacientů z našeho souboru.

Graf č. 7 Vztah plasmatické koncentrace CyA a úrovně poškození komet (%) u pacientky č.1. (Control – kontrolní skupina zdravých dobrovolníků).

Graf č. 8 Vztah plasmatické koncentrace CyA a úrovně poškození komet (%) u pacientky č.2. (C – kontrolní skupina zdravých dobrovolníků).

Graf č. 9 Vztah mezi absolutním počtem CD4+ a poškozením DNA lymfocytů (%) u pacientky č.1. (C – kontrolní skupina zdravých dobrovolníků).

Graf č. 10 Vztah mezi absolutním počtem CD4+ a poškozením DNA lymfocytů (%) u pacientky č.2. (C – kontrolní skupina zdravých dobrovolníků).

10. Seznam autorovy literatury se vztahem k tématu habilitační práce

1. Publikace in extenso
    a. Nešpor D, Lipový B, Gregorová N. Cyklosporin A v terapii toxické epidermální nekrolýzy. Dermatol. Praxi. 2011;5(3):156-159.
    b. Lipový B, Brychta P, Chaloupková Z, Suchánek I. Staphylococcal scalded skin syndrome in the Czech Republic: an epidemiological study. Burns. 2012; 38(2):296-300. doi:10.1016/j.burns.2011.08.005
    c. Lipový B, Hanslianová M. Citlivost enterobakterií k tigecyklinu u pacientů s akutní a chronickou ranou. Antiinfectives News. 2012;3(2):20-23.
    d. Lipový B, Řihová H, Kaloudová Y, Mager R, Suchánek I. Use of Xe-Derma®, a novel biological cover, in a female patient with toxic epidermal necrolysis. Annals of burns and fire disasters. 2014;27(3):136-140.
    e. Lipový B, Řihová H, Kempný T, Suchánek I. Fulminantní průběh lamotriginem indukované toxické epidermální nekrolýzy. Neurol. praxi 2015;16(5):299-301.
    f. Lipový B, Řihová H, Suchánek I, Ondrášková H. Cyklosporin A v terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou: vlastní zkušenosti a přehled literatury. Léčba ran. 2016;2:4-8.
    g. Lipový B, Holoubek J, Hanslianová M, Řihová H, Suchánek I. Spektrum potenciálně patogenních mikroorganismů izolovaných z exfoliovaných ploch u pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. Léčba ran. 2016;2:9-11.
    h. Lipový B, Řihová H, Wilková M, Hanslianová M, Kyclová J, Brychta P. První případ nitrofurantoinem indukované toxické epidermální nekrolýzy? Dermatol. praxi 2016;10(4):197-200.
    i. Lipový B, Řihová H, Hanslianová M, Suchánek I, Brychta P. Stenotrophomonas maltophilia as the cause of ventilator-associated pneumonia in a female patient with toxic epidermal necrolysis and Clostridium colitis: time for off-label tigecycline? Epidemiol Mikrobiol Imunol. 2016 Fall;65(3):177-181.
    j. Lipový B, Řihová H, Hanslianová M, Chaloupková Z, Hromaníková M, Pavlovsky Z, Kempný T, Suchanek I, Brychta P. Fatal progression of multifocal infection of Aspergillus sp. and multi-resistant Pseudomonas aeruginosa in a patient with toxic epidermal necrolysis and renal cancer. Epidemiol Mikrobiol Imunol. 2017 In press
    k. Lipový B, Matejovičová M, Řihová H, Štikarovská M, Novotná L, Hlaváčová M, Paulová H, Suchánek I, Brychta P. The application of comet assay in monitoring of the immunosuppression level in patient with toxic epidermal necrolysis: a case report. Burns open. 2017 In press
    l. Podmelle F, Barret JP, Lipový B, Rennekampff HO, Schumann H, Schwieger-Briel A, Zahn T, Metelmann I. Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: results of a randomized phase III clinical trials program. Burns 2017, In press

2. Letter to the Editor
    a. Lipový B. A potential new sign in patients with toxic epidermal necrolysis. Burns. 2016 Nov;42(7):1618-1620. doi: 10.1016/j.burns.2016.07.014.
    b. Lipový B, Baran M. A draft of bronchoscopic grading system in patients with toxic epidermal necrolysis. Burns. 2017 Jun;43(4):890-892. doi: 10.1016/j.burns.2017.01.005.
    c. Lipový B, Cvanová M. The role of antithrombin in patients with toxic epidermal necrolysis. Burns. 2017 Aug;43(5):1135-1137. doi: 10.1016/j.burns.2017.01.031.

3. Přehledové práce
    a. Lipový B, Řihová H, Gregorová N, Suchánek I. Toxická epidermální nekrolýza: přehled možností terapie. Hojení ran. 2011;5(4):6-12.
    b. Lipový B, Gregorová N, Fiamoli M. Polékové dermatologické katastrofy v ambulantní praxi. Referátový výběr z dermatovenerologie, 2011;53(4):35-40.
    c. Lipový B. Historie použití stříbra v lokální terapii akutních a chronických ran. Referátový výběr z dermatovenerologie, 2012;54(3):14-17.
    d. Lipový B. Současné poznatky imunogenetiky ve vztahu k rozvoji závažných polékových kožních reakcí. Dermatol Praxi 2015;9(3):124-127.
    e. Lipový B, Holoubek J. Současný pohled na roli inhibitorů TNFα v terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. Klin Farmakol Farm 2016;30(4): 24–27.

4. Popularizační texty
    a. Lipový B. Toxická epidermální nekrolýza: vzácná a nebezpečná. Medical Tribune. Léčba ran. 2011(4).

5. Prezentace na konferencích
    a. Ondrášková H, Stašek J, Jonášek M, Sas I, Lipový B. Péče o pacienta s Lyellovým syndromem. 6. Křivánkovy dny: Perioperační péče - Sborník příspěvků. Pardubice, 2009.
    a. Lipový B, Hanslianová M, Řihová H. Využití tigecyclinu v terapii infekcí měkkých tkání. Kongres klinické mikrobiologie a infekčních nemocí. Olomouc, 2010.
    b. Lipový B, Řihová H, Hanslianová M, Ondrášková H, Gregorová N, Hokynková A, Hufová I, Suchánek I. Lyellův syndrom: odlišné osudy stejné diagnózy. IX.celostátní kongres s mezinárodní účastí na téma: mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů. Pardubice, 2011. Práce oceněna vědeckou radou jako nejlepší přednáška na kongresu.
    c. Lipový B, Řihová H, Hanslianová M, Gregorová N, Suchánek I. Lyellův syndrom: infekční komplikace. XX.konference mladých mikrobiologů, Tomáškovy dny. Brno, 2011.
    d. Lipový B, Řihová H, Suchánek I. Jak (ne)diagnostikovat a (ne)léčit Lyellův syndrom. XVIII.ročník Konference mladých lékařů. Brno, 2011.
    e. Lipový B, Řihová H, Gregorová N, Suchánek I. Burn-like syndromy: epidemiologická studie. V.Česko-Slovenský kongres intenzivní medicíny. Praha, 2011.
    f. Nešpor D, Lipový B. Lyellův syndrom - možnosti diagnostiky a terapie. 55. Studentská vědecká konference LF MU. Brno, 2011.

g. Lipový B, Řihová H, Hanslianová M. Kandidy a vláknité houby: problém pouze hematoonkologických pacientů? X. celostátní kongres s mezinárodní účastí: Mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů. Pardubice, 2012. ISSN 1802-6400.
h. Lipový B, Kubek T, Gregorová N, Mager R, Suchánek I. Popálení nebo fotodermatitida? VIII. Festival kazuistik, Pediatrická konference. Luhačovice, 2012. ISBN 978-80-260-1959-6.
i. Lipový B, Řihová H, Hufová I, Fiamoli M, Gregorová N, Suchánek I, Brychta P. Nutnost multioborového přístupu v terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. Mezinárodní sympozium České společnosti plastické chirurgie. Plzeň, 2012.
j. Lipový B, Řihová H, Hanslianová M, Suchánek I. Infekční komplikace u pacientů s netermickou ztrátou kožního krytu. VIII. Mezinárodní kongres prevence nozokomiálních nákaz. Brno, 2012.
k. Lipový B, Řihová H, Jelínková Z, Chaloupková Z, Brychta P. How many cases of toxic epidermal necrolysis we really have? 22nd Conference of the European Wound Management Association, Vídeň, Rakousko, 2012.
l. Lipový B, Řihová H, Hanslianová M, Suchánek I. Infekční komplikace u pacientů s netermickou ztrátou kožního krytu. VIII. Mezinárodní kongres prevence nozokomiálních nákaz. Brno, 2012.
m. Bartošková J, Lipový B, Hanslianová M, Suchánek I, Brychta P. Tigecyklin v postantibiotické éře. 17.výroční konference popáleninové medicíny. Hradec Králové, 2012.
n. Lipový B, Kubek T, Suchánek I, Burýšková D. Fytofotodermatitida. XI. Celostátní kongres mezioborové spolupráce při léčbě ran a kožních defektů. Pardubice, 2013.
o. Lipový B, Řihová H. Parainfekční nebo postmedikamentózní příčina TEN, aneb byla slepice dříve než vejce? 19. Výroční konference Společnosti popáleninové medicíny. Karlova Studánka, 2014.
p. Lipový B, Řihová H. Použití tigecyklinu v terapii infekcí dolních dýchacích cest u pacientů s termickou a netermickou kožní ztrátou. 16. PG kurz sepse a MODS. Ostrava, 2014.
q. Lipový B, Paulová H, Hlaváčová M, Materovičová M, Novotná L, Tomandl J. Případové studie hodnocení oxidačního stresu a poškození DNA cirkulujících leukocytů u pacientů s termickou a netermickou ztrátou kožního krytu. XX. Výroční konference České společnosti popáleninové medicíny. Velké Bílovice, 2015.
r. Lipový B. Anti-TNFa preparáty v terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou: PRO NOC. 7th Central European Congress of Burns. Košice, Slovensko, 2016.
s. Lipový B. Netermální ztráty kožního krytu léčené v popáleninových centrech. X.kongres České společnosti intenzivní medicíny. Brno, 2016.
t. Lipový B. Postavení Octeniseptu v komplexním wound-managementu pacientů s akutní a chronickou ranou. 1.Slovenské sympózium hojenia rán. Jasná, Slovensko, 2016.
u. Lipový B, Řihová H, Štikarovská D, Hlaváčová M, Paulová H, Matejovičová M, Suchánek I. Řízená imunomodulace v terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. XIV.kongres České společnosti pro léčbu rány s mezinárodní účastí. Pardubice, 2016.

v. Holoubek J, Lipový B. Spektrum potenciálně patogenních mikroorganisml u infekčních komplikací v závislosti na charakteru terapie pacinetů s toxickou epidermální nekrolýzou. 60.Studentská vědecká konference LF MU. Brno, 2016.
w. Lipový B, Řihová H, Hanslianová M, Suchánek I. Tigecyklin v „off-label" indikacích u pacinetů s termickou a netermickou ztrátou kožního krytu. 7th Central European Congress of Burns. Košice, Slovensko, 2016.
x. Lipový B, Bartošek D, Brychta P. Transfer pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou do popáleninových center: podklady pro vznik doporučení. 7th Central European Congress of Burns. Košice, Slovensko, 2016.
y. Lipový B. Antiseptické roztoky: indikace a použití v komplexním wound-managementu pacientů s akutní a chronickou ranou. Hojení ran v kostce. Olomouc, 2017.
z. Lipový B, Holoubek J, Řihová H, Hanslianová M, Kyclová J, Suchánek I. Generalizovaná kožní kandidóza imitující svými klinickými projevy toxickou epidermální nekrolýzu. XV. Celostátní kongres s mezinárodní účastí na téma: Mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů. Pardubice, 2017.
aa. Lipový B, Holoubek J, Řihová H, Hanslianová M, Klučková M, Suchánek I. In vitro model antimikrobiální aktivity octenidin dihydrochloridu vůči epidemiologicky nejdůležitějším patogenům pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. XV. Celostátní kongres s mezinárodní účastí na téma: Mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů. Pardubice, 2017.
bb. Lipový B, Holoubek J, Řihová H, Hanslianová M, Cvanová M, Suchánek I. Infekční komplikace u pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. XV. Celostátní kongres s mezinárodní účastí na téma: Mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů. Pardubice, 2017.
cc. Chaloupková Z, Lipový B, Kaloudová Y, Hromaníková M, Fiamoli M, Mager R, Suchánek I. Možnosti využití biologického krytu Xe-Derma v méně častých indikacích. XV. Celostátní kongres s mezinárodní účastí na téma: Mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů. Pardubice, 2017.
dd. Lipový B, Holoubek J, Řihová H, Hanslianová M, Klučková M, Suchánek I. Octenidin dihydrochlorid: jeho indikace a použití v komplexním wound-managementu pacientů s akutní a chronickou ranou. XV. Celostátní kongres s mezinárodní účastí na téma: Mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů. Pardubice, 2017.
ee. Lipový B, Holoubek J, Raška F, Knoz M, Řihová H, Mager R, Suchánek I. Současné možnosti využití biologických krytů u pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. Bioimplantologie, Brno, 2017.
ff. Holoubek J, Lipový B, Řihová H, Suchánek I. Bronchoskopické obrazy ventilátorové pneumonie pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. XXVI. konference mladých mikrobiologů, Tomáškovy dny. Brno, 2017.
gg. Holoubek J, Lipový B, Hanslianová M, Suchánek I, Brychta P. Spektrum potenciálně patogenních mikroorganismů izolovaných z exfoliovaných ploch u pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. XXI. výroční konference České společnosti popáleninové medicíny ČLS JEP. Praha, 2017.
hh. Lipový B, Holoubek J, Knoz M, Raška F, Řihová H, Suchánek I, Brychta P. Role cyklosporinu A v terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. XXI. výroční konference České společnosti popáleninové medicíny ČLS JEP. Praha, 2017.

ii. Lipový B, Holoubek J, Suchánek I. Role imunogenetiky v rozvoji toxické epidermální nekrolýzy. Brněnský genetický den. Brno, 2017.

11. Literatura

1) Roujeau JC. The spectrum of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a clinical classification. J Invest Dermatol. 1994 Jun;102(6):28S-30S.
2) Roujeau JC. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis are severity variants of the same disease which differs from erythema multiforme. J Invest Dermatol. 1997 Nov;24(11):726-9.
3) Letko E, Papaliodis DN, Papaliodis GN, Daoud YJ, Ahmed AR, Foster CS. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a review of the literature. Ann Allergy Asthma Immunol. 2005 Apr;94(4):419-36; quiz 436-8, 456.
4) Schulz JT, Sheridan RL, Ryan CM, MacKool B, Tompkins RG. A 10-year experience with toxic epidermal necrolysis. J Burn Care Rehabil. 2000 May-Jun;21(3):199-204.
5) Palmieri TL, Greenhalgh DG, Saffle JR, Spence RJ, Peck MD, Jeng JC, Mozingo DW, Yowler CJ, Sheridan RL, Ahrenholz DH, Caruso DM, Foster KN, Kagan RJ, Voigt DW, Purdue GF, Hunt JL, Wolf S, Molitor F. A multicenter review of toxic epidermal necrolysis treated in U.S. burn centers at the end of the twentieth century. J Burn Care Rehabil. 2002 Mar-Apr;23(2):87-96.
6) Hebra F. On diseases of the skin, including the exanthemata. London: New Sydenham Society; 1866-80.
7) Ritter von Rittershain G (1878) Die exfoliative dermatitis jüngerer Säuglinge. Zent-Ztg Kinderheilkunde 2:3-23
8) Almquist, E: Pemphigus neonatorum, bakteriologisch und epidemiologisch beleuchtet. Z Hyg Infektionskr 1891;10: 253–257,
9) Melish, ME, Glasgow, LA: The staphylococcal scalded-skin syndrome: Development of an experimental model. N Engl J Med 1970;282: 1114–1119,
10) Amagai, M, Matsuyoshi, N, Wang, ZH, et al: Toxin in bullous impetigo and staphylococcal scalded-skin syndrome targets desmoglein 1. Nat Med 2000;6: 1275–1277,
11) Prevost, G, Couppie, P, Monteil, H: Staphylococcal epidermolysins. Curr Opin Infect Dis 2003;16: 71–76,
12) Stevens AM, Johnson FC. A new eruptive fever associated with stomatitis and ophthalmia; report of two cases in children. Am J Dis Child. 1922;24:526–533.
13) Thomas BA. The so-called Stevens-Johnson syndrome. BMJ. 1950;1:1393-7.
14) Li K, Haber RM. Stevens-Johnson syndrome without skin lesions (fuchs syndrome): a literature review of adult cases with mycoplasma cause. Arch Dermatol.2012; 148(8): 963-964.
15) Šternberský J, Tichý M. Fuchs' syndrome (Stevens-Johnson syndrome without skin involvement) in an adult male--a case report and general characteristics of the sporadically diagnosed disease. Acta Dermatovenerol Croat. 2014;22(4):284-7.
16) Debre R, Lemy M, Lamotte M. L'erythrodermie bulleuses avec epidermolyse. Bull Soc Pediatr (Paris). 1939;37:231-238:
17) Lyell A. Toxic epidermal necrolysis: an eruption resembling scalding of the skin. Br J Dermatol. 1956;68(11):355-61.
18) Lang R, Walker J. An unusual bullous eruption. S Afr Med J. 1956 Feb 4. 30(5):97-8.
19) Lyell A. A review of toxic epidermal necrolysis in Britain. Br J Dermatol. 1967;79:662-71.
20) Lyell A. Toxic epidermal necrolysis (the scalded skin syndrome): a reappraisal. Br J Dermatol. 1979;100(1):69-86.

21) Bastuji-Garin S, Rzany B, Stern RS, Shear NH, Naldi L, Roujeau JC. Clinical classification of cases of toxic epidermal necrolysis, Stevens-Johnson syndrome, and erythema multiforme. Arch Dermatol. 1993;129(1):92-6.
22) Valeyrie-Allanore L, Roujeau JC. Denominations and classification of severe cutaneous adverse reactions to drugs: splitters versus mergers. Eur J Dermatol. 2007 Sep-Oct;17(5):359-60.
23) Faucher LD, Morris SE, Edelman LS, Saffle JR. Burn center management of necrotizing soft-tissue surgical infections in unburned patients. Am J Surg. 2001 Dec;182(6):563-9.
24) Atiyeh BS, Kayle DI, Nasser AA. Burn-like syndromes. Ann Burns Fire Disasters. 1999; 12(1):39-43.
25) Herndon DN, ed. Total burn care. 3rd ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders, c2007. ISBN 978-1-4160-3274-8.
26) Handler MZ, Schwartz RA. Staphylococcal scalded skin syndrome: diagnosis and management in children and adults. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2014 Nov;28(11):1418-23. doi: 10.1111/jdv.12541.
27) Verma R, Vasudevan B, Pragasam V. Severe cutaneous adverse drug reactions. Med J Armed Forces India. 2013 Oct;69(4):375-83. doi: 10.1016/j.mjafi.2013.01.007.
28) Martin T, Li H. Severe cutaneous adverse drug reactions: a review on epidemiology, etiology, clinical manifestation and pathogenesis. Chin Med J (Engl). 2008 Apr 20;121(8):756-61.
29) Duong TA, Valeyrie-Allanore L, Wolkenstein P, Chosidow O. Severe cutaneous adverse reactions to drugs. Lancet. 2017 May 2. pii: S0140-6736(16)30378-6. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30378-6.
30) Kelly JP, Auquier A, Rzany B, Bastuji-Garin S, Correia O, Shapiro S, et al. An international collaborative case-control study of severe cutaneous adverse reactions (SCAR). Design and methods. J Clin Epidemiol. 1995;48(9):1099-108.
31) Roujeau JC. Severe cutaneous adverse reactions to drugs (SCAR): definitions, diagnostic criteria, genetic predisposition. Dermatol Sinica. 2009;27(2):203-9.
32) Lonjou C, Borot N, Sekula P, Ledger N, Thomas L, Halevy S, Naldi L, Bouwes-Bavinck JN, Sidoroff A, de Toma C, Schumacher M, Roujeau JC, Hovnanian A, Mockenhaupt M; RegiSCAR study group. A European study of HLA-B in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis related to five high-risk drugs. Pharmacogenet Genomics. 2008 Feb;18(2):99-107. doi: 10.1097/FPC.0b013e3282f3ef9c.
33) Tangamornsuksan W, Chaiyakunapruk N, Somkrua R, Lohitnavy M, Tassaneeyakul W. Relationship between the HLA-B*1502 allele and carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a systematic review and meta-analysis. JAMA Dermatol. 2013 Sep;149(9):1025-32. doi: 10.1001/jamadermatol.2013.4114.
34) Schöpf E, Stühmer A, Rzany B, Victor N, Zentgraf R, Kapp JF. Toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome. An epidemiologic study from West Germany. Arch Dermatol. 1991 Jun;127(6):839-42.
35) Roujeau JC, Guillaume JC, Fabre JP, Penso D, Fléchet ML, Girre JP. Toxic epidermal necrolysis (Lyell syndrome). Incidence and drug etiology in France, 1981-1985.Arch Dermatol. 1990 Jan;126(1):37-42.
36) Ventura F, Fracasso T, Leoncini A, Gentile R, de Stefano F. Death caused by toxic epidermal necrolysis (Lyell syndrome). J Forensic Sci. 2010 May;55(3):839-41. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01338.x.

37) Li LF, Ma C. Epidemiological study of severe cutaneous adverse drug reactions in a city district of China. Clin Exp Dermatol. 2006 Sep;31(5):642-7.
38) Ugburo AO, Temiye EO, Ilombu CA. A 12-year retrospective study of non-burn skin loss (burn-like syndromes) at a tertiary burns unit in a developing country. Burns. 2008 Aug;34(5):637-43. doi: 10.1016/j.burns.2007.08.022.
39) Moniz P, Casal D, Mavioso C, Castro JV, Almeida MA. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a 15-year retrospective study. Acta Med Port. 2011 Jan-Feb;24(1):59-70.
40) Khoo AK, Foo CL. Toxic epidermal necrolysis in a burns centre: a 6-year review. Burns. 1996 Jun;22(4):275-8.
41) Brand R, Rohr JB. Toxic epidermal necrolysis in Western Australia. Australas J Dermatol. 2000 Feb;41(1):31-3.
42) Mawson AR, Eriator I, Karre S. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis (SJS/TEN): could retinoids play a causative role? Med Sci Monit. 2015 Jan 12;21:133-43. doi: 10.12659/MSM.891043.
43) Cooper KL. Drug reaction, skin care, skin loss. Crit Care Nurse. 2012 Aug;32(4):52-9. doi: 10.4037/ccn2012340.
44) Mockenhaupt M, Viboud C, Dunant A, Naldi L, Halevy S, Bouwes Bavinck JN, Sidoroff A, Schneck J, Roujeau JC, Flahault A. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: assessment of medication risks with emphasis on recently marketed drugs. The EuroSCAR-study. J Invest Dermatol. 2008 Jan;128(1):35-44.
45) Borrás-Blasco J, Navarro-Ruiz A, Borrás C, Casterá E. Adverse cutaneous reactions induced by TNF-alpha antagonist therapy. South Med J. 2009 Nov;102(11):1133-40. doi: 10.1097/SMJ.0b013e3181bb554c.
46) Owczarczyk-Saczonek A, Zdanowska N, Znajewska-Pander A, Placek W. Stevens-Johnson syndrome in a patient with rheumatoid arthritis during long-term etanercept therapy. J Dermatol Case Rep. 2016 Mar 31;10(1):14-6. doi: 10.3315/jdcr.2016.1224.
47) Salama M, Lawrance IC. Stevens-Johnson syndrome complicating adalimumab therapy in Crohn's disease. World J Gastroenterol. 2009 Sep 21;15(35):4449-52.
48) Sassolas B, Haddad C, Mockenhaupt M, Dunant A, Liss Y, Bork K, Haustein UF, Vieluf D, Roujeau JC, Le Louet H. ALDEN, an algorithm for assessment of drug causality in Stevens-Johnson Syndrome and toxic epidermal necrolysis: comparison with case-control analysis. Clin Pharmacol Ther. 2010 Jul;88(1):60-8. doi: 10.1038/clpt.2009.252.
49) Campagna C, Tassinari D, Neri I, Bernardi F. Mycoplasma pneumoniae-induced recurrent Stevens-Johnson syndrome in children: a case report. Pediatr Dermatol. 2013 Sep-Oct;30(5):624-6. doi: 10.1111/pde.12177.
50) Watanabe Y, Matsukura S, Isoda Y, Morita A, Aihara M, Kambara T. A case of toxic epidermal necrolysis induced by allopurinol with human herpesvirus-6 reactivation. Acta Derm Venereol. 2013 Nov;93(6):731-2. doi: 10.2340/00015555-1610.
51) Honma M, Tobisawa S, Iinuma S, Shibuya T, Komatsu S, Takahashi I, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H. Toxic epidermal necrolysis with prominent facial pustules: a case with reactivation of human herpesvirus 7. Dermatology. 2010;221(4):306-8. doi: 10.1159/000319756.
52) Mittmann N, Knowles SR, Koo M, Shear NH, Rachlis A, Rourke SB. Incidence of toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson Syndrome in an HIV cohort: an observational, retrospective case series study. Am J Clin Dermatol. 2012 Feb 1;13(1):49-54. doi: 10.2165/11593240-000000000-00000.

53) Yang C, Mosam A, Mankahla A, Dlova N, Saavedra A. HIV infection predisposes skin to toxic epidermal necrolysis via depletion of skin-directed CD4+ T cells. J Am Acad Dermatol. 2014 Jun;70(6):1096-102. doi: 10.1016/j.jaad.2013.12.025.
54) Zawacki BE, Azen SP, Imbus SH, Chang YT. Multifactorial probit analysis of mortality in burned patients. Ann Surg. 1979 Jan;189(1):1-5.
55) Farmer AW. Experience with burns at the hospital for sick children. Am J Surg. 1943;59(2):195-209.
56) Revuz J, Penso D, Roujeau JC, Guillaume JC, Payne CR, Wechsler J, Touraine R. Toxic epidermal necrolysis. Clinical findings and prognosis factors in 87 patients. Arch Dermatol. 1987 Sep;123(9):1160-5.
57) Bastuji-Garin S, Fouchard N, Bertocchi M, Roujeau JC, Revuz J, Wolkenstein P. SCORTEN: a severity-of-illness score for toxic epidermal necrolysis. J Invest Dermatol. 2000 Aug;115(2):149-53.
58) Sekula P, Liss Y, Davidovici B, Dunant A, Roujeau JC, Kardaun S, Naldi L, Schumacher M, Mockenhaupt M. Evaluation of SCORTEN on a cohort of patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis included in the RegiSCAR study. J Burn Care Res. 2011 Mar-Apr;32(2):237-45. doi: 10.1097/BCR.0b013e31820aafbc.
59) Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer. 1972 Aug;26(4):239-57.
60) Lockshin RA, Zakeri Z. Apoptosis, autophagy, and more. Int J Biochem Cell Biol. 2004 Dec;36(12):2405-19.
61) Twomey C, McCarthy JV. Pathways of apoptosis and importance in development. J Cell Mol Med. 2005 Apr-Jun;9(2):345-59.
62) Šrámek M. Apoptóza, mechanizmy, metody studia. Brno, 2010. Bakalářská práce (Bc.). Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, Oddělení genetiky a molekulární biologie, 2010-06-21.
63) Riedl SJ, Shi Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. Nat Rev Mol Cell Biol. 2004 Nov;5(11):897-907.
64) Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. Nat Rev Mol Cell Biol. 2008 Mar;9(3):231-41.
65) Ow YP, Green DR, Hao Z, Mak TW. Cytochrome c: functions beyond respiration. Nat Rev Mol Cell Biol. 2008 Jul;9(7):532-42. doi: 10.1038/nrm2434.
66) Ashkenazi A. Targeting death and decoy receptors of the tumour-necrosis factor superfamily. Nat Rev Cancer. 2002 Jun;2(6):420-30.
67) French LE, Tschopp J. Fas-mediated cell death in toxic epidermal necrolysis and graft-versus-host disease: potential for therapeutic inhibition. Schweiz Med Wochenschr. 2000 Nov 4;130(44):1656-61.
68) Pereira FA, Mudgil AV, Rosmarin DM. Toxic epidermal necrolysis. J Am Acad Dermatol. 2007 Feb;56(2):181-200. Review.
69) Cecconi F, Alvarez-Bolado G, Meyer BI, Roth KA, Gruss P. Apaf1 (CED-4 homolog) regulates programmed cell death in mammalian development. Cell. 1998 Sep 18;94(6):727-37.
70) Leist M, Jäättelä M. Triggering of apoptosis by cathepsins. Cell Death Differ. 2001 Apr;8(4):324-6.
71) MacDonald G, Shi L, Vande Velde C, Lieberman J, Greenberg AH. Mitochondria-dependent and -independent regulation of Granzyme B-induced apoptosis. J Exp Med. 1999 Jan 4;189(1):131-44.
72) Rousalova I, Krepela E. Granzyme B-induced apoptosis in cancer cells and its regulation (review). Int J Oncol. 2010 Dec;37(6):1361-78.

73) Shi L, Mai S, Israels S, Browne K, Trapani JA, Greenberg AH. Granzyme B (GraB) autonomously crosses the cell membrane and perforin initiates apoptosis and GraB nuclear localization. J Exp Med. 1997 Mar 3;185(5):855-66.
74) Kam CM, Hudig D, Powers JC. Granzymes (lymphocyte serine proteases): characterization with natural and synthetic substrates and inhibitors. Biochim Biophys Acta. 2000 Mar 7;1477(1-2):307-23.
75) Waterhouse NJ, Sedelies KA, Browne KA, Wowk ME, Newbold A, Sutton VR, Clarke CJ, Oliaro J, Lindemann RK, Bird PI, Johnstone RW, Trapani JA. A central role for Bid in granzyme B-induced apoptosis. J Biol Chem. 2005 Feb 11;280(6):4476-82.
76) Lord SJ, Rajotte RV, Korbutt GS, Bleackley RC. Granzyme B: a natural born killer. Immunol Rev. 2003 Jun; 193:31-8.
77) Lu H, Hou Q, Zhao T, Zhang H, Zhang Q, Wu L, Fan Z. Granzyme M directly cleaves inhibitor of caspase-activated DNase (CAD) to unleash CAD leading to DNA fragmentation. J Immunol. 2006 Jul 15;177(2):1171-8.
78) Nassif A, Bensussan A, Boumsell L, Deniaud A, Moslehi H, Wolkenstein P, Bagot M, Roujeau JC. Toxic epidermal necrolysis: effector cells are drug-specific cytotoxic T cells. J Allergy Clin Immunol. 2004 Nov;114(5):1209-15.
79) Schwartz RA, McDonough PH, Lee BW. Toxic epidermal necrolysis: Part I. Introduction, history, classification, clinical features, systemic manifestations, etiology, and immunopathogenesis. J Am Acad Dermatol. 2013 Aug;69(2):173.e1-13; quiz 185-6. doi: 10.1016/j.jaad.2013.05.003.
80) Bartoli M, Richard I. Calpains in muscle wasting. Int J Biochem Cell Biol. 2005 Oct;37(10):2115-33.
81) Smith MA, Schnellmann RG. Calpains, mitochondria, and apoptosis. Cardiovasc Res. 2012 Oct 1;96(1):32-7. doi: 10.1093/cvr/cvs163.
82) Chwieralski CE, Welte T, Bühling F. Cathepsin-regulated apoptosis. Apoptosis. 2006 Feb;11(2):143-9.
83) Foghsgaard L, Wissing D, Mauch D, Lademann U, Bastholm L, Boes M, Elling F, Leist M, Jäättelä M. Cathepsin B acts as a dominant execution protease in tumor cell apoptosis induced by tumor necrosis factor. J Cell Biol. 2001 May 28;153(5):999-1010.
84) Johnson DE. Noncaspase proteases in apoptosis. Leukemia. 2000 Sep;14(9):1695-703.
85) Nassif A, Bensussan A, Dorothée G, Mami-Chouaib F, Bachot N, Bagot M, Boumsell L, Roujeau JC. Drug specific cytotoxic T-cells in the skin lesions of a patient with toxic epidermal necrolysis. J Invest Dermatol. 2002 Apr;118(4):728-33.
86) Le Cleach L, Delaire S, Boumsell L, Bagot M, Bourgault-Villada I, Bensussan A, Roujeau JC. Blister fluid T lymphocytes during toxic epidermal necrolysis are functional cytotoxic cells which express human natural killer (NK) inhibitory receptors. Clin Exp Immunol. 2000 Jan;119(1):225-30.
87) Correia O, Delgado L, Ramos JP, Resende C, Torrinha JA. Cutaneous T-cell recruitment in toxic epidermal necrolysis. Further evidence of CD8+ lymphocyte involvement. Arch Dermatol. 1993 Apr;129(4):466-8.
88) Hořejší V, Bartůňková J, Brdička T, Špíšek R. Základy imunologie. 6., aktualizované vydání. V Praze: Stanislav Juhaňák - Triton, 2017. ISBN 978-80-7553-250-3.
89) Jílek P. Imunologie: stručně, jasně, přehledně. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4822-1.
90) Shresta S, Pham CT, Thomas DA, Graubert TA, Ley TJ. How do cytotoxic lymphocytes kill their targets? Curr Opin Immunol. 1998 Oct;10(5):581-7.

91) Hanabuchi S, Koyanagi M, Kawasaki A, Shinohara N, Matsuzawa A, Nishimura Y, Kobayashi Y, Yonehara S, Yagita H, Okumura K. Fas and its ligand in a general mechanism of T-cell-mediated cytotoxicity. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994 May 24;91(11):4930-4.
92) Paul NL, Ruddle NH. Lymphotoxin. Annu Rev Immunol. 1988;6:407-38.
93) Romagnani S. Type 1 T helper and type 2 T helper cells: functions, regulation and role in protection and disease. Int J Clin Lab Res. 1991;21(2):152-8.
94) Kraaij MD, Vereyken EJ, Leenen PJ, van den Bosch TP, Rezaee F, Betjes MG, Baan CC, Rowshani AT. Human monocytes produce interferon-gamma upon stimulation with LPS. Cytokine. 2014 May;67(1):7-12. doi: 10.1016/j.cyto.2014.02.001.
95) Yang L, Froio RM, Sciuto TE, Dvorak AM, Alon R, Luscinskas FW. ICAM-1 regulates neutrophil adhesion and transcellular migration of TNF-alpha-activated vascular endothelium under flow. Blood. 2005 Jul 15;106(2):584-92.
96) Cher DJ, Mosmann TR. Two types of murine helper T cell clone. II. Delayed-type hypersensitivity is mediated by TH1 clones. J Immunol. 1987 Jun 1;138(11):3688-94.
97) Toribio ML, Gutiérrez-Ramos JC, Pezzi L, Marcos MA, Martínez C. Interleukin-2-dependent autocrine proliferation in T-cell development. Nature. 1989 Nov 2;342(6245):82-5.
98) Mattern T, Flad HD, Brade L, Rietschel ET, Ulmer AJ. Stimulation of human T lymphocytes by LPS is MHC unrestricted, but strongly dependent on B7 interactions. J Immunol. 1998 Apr 1;160(7):3412-8.
99) Bugeon L, Dallman MJ. Costimulation of T cells. Am J Respir Crit Care Med. 2000 Oct;162(4 Pt 2):S164-8.
100) Seth R, Raymond FD, Makgoba MW. Circulating ICAM-1 isoforms: diagnostic prospects for inflammatory and immune disorders. Lancet. 1991 Jul 13;338(8759):83-4.
101) McHale JF, Harari OA, Marshall D, Haskard DO. TNF-alpha and IL-1 sequentially induce endothelial ICAM-1 and VCAM-1 expression in MRL/lpr lupus-prone mice. J Immunol. 1999 Oct 1;163(7):3993-4000.
102) Yusuf-Makagiansar H, Anderson ME, Yakovleva TV, Murray JS, Siahaan TJ. Inhibition of LFA-1/ICAM-1 and VLA-4/VCAM-1 as a therapeutic approach to inflammation and autoimmune diseases. Med Res Rev. 2002 Mar;22(2):146-67.
103) Marui N, Offermann MK, Swerlick R, Kunsch C, Rosen CA, Ahmad M, Alexander RW, Medford RM. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through an antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. J Clin Invest. 1993 Oct;92(4):1866-74.
104) Chave TA, Mortimer NJ, Sladden MJ, Hall AP, Hutchinson PE. Toxic epidermal necrolysis: current evidence, practical management and future directions. Br J Dermatol. 2005 Aug;153(2):241-53.
105) Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. Annu Rev Immunol. 2009;27:485-517. doi: 10.1146/annurev.immunol.021908.132710.
106) Yang L, Anderson DE, Baecher-Allan C, Hastings WD, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK, Hafler DA. IL-21 and TGF-beta are required for differentiation of human T(H)17 cells. Nature. 2008 Jul 17;454(7202):350-2. doi: 10.1038/nature07021.
107) Kimura A, Kishimoto T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. Eur J Immunol. 2010 Jul;40(7):1830-5. doi: 10.1002/eji.201040391.
108) Teraki Y, Kawabe M, Izaki S. Possible role of TH17 cells in the pathogenesis of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. J Allergy Clin Immunol. 2013 Mar;131(3):907-9. doi: 10.1016/j.jaci.2012.08.042.

109) Chaudhry A, Samstein RM, Treuting P, Liang Y, Pils MC, Heinrich JM, Jack RS, Wunderlich FT, Brüning JC, Müller W, Rudensky AY. Interleukin-10 signaling in regulatory T cells is required for suppression of Th17 cell-mediated inflammation. Immunity. 2011 Apr 22;34(4):566-78. doi: 10.1016/j.immuni.2011.03.018.
110) Chattopadhyay PK, Betts MR, Price DA, Gostick E, Horton H, Roederer M, De Rosa SC. The cytolytic enzymes granyzme A, granzyme B, and perforin: expression patterns, cell distribution, and their relationship to cell maturity and bright CD57 expression. J Leukoc Biol. 2009 Jan;85(1):88-97. doi: 10.1189/jlb.0208107.
111) Friedmann PS, Lee MS, Friedmann AC, Barnetson RS. Mechanisms in cutaneous drug hypersensitivity reactions. Clin Exp Allergy. 2003 Jul;33(7):861-72.
112) Knowles SR, Uetrecht J, Shear NH. Idiosyncratic drug reactions: the reactive metabolite syndromes. Lancet. 2000 Nov 4;356(9241):1587-91.
113) Kumar A, Edward N, White MI, Johnston PW, Catto GR. Allopurinol, erythema multiforme, and renal insufficiency. BMJ. 1996 Jan 20;312(7024):173-4.
114) Hande KR, Noone RM, Stone WJ. Severe allopurinol toxicity. Description and guidelines for prevention in patients with renal insufficiency. Am J Med. 1984 Jan;76(1):47-56.
115) Dietrich A, Kawakubo Y, Rzany B, Mockenhaupt M, Simon JC, Schöpf E. Low N-acetylating capacity in patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Exp Dermatol. 1995 Oct;4(5):313-6.
116) Pichler WJ. The p-i Concept: Pharmacological Interaction of Drugs With Immune Receptors. World Allergy Organ J. 2008 Jun;1(6):96-102. doi: 10.1097/WOX.0b013e3181778282.
117) Strasser A, Jost PJ, Nagata S. The many roles of FAS receptor signaling in the immune system. Immunity. 2009 Feb 20;30(2):180-92. doi: 10.1016/j.immuni.2009.01.001.
118) Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. Science. 1998 Aug 28;281(5381):1305-8.
119) Abe R. Immunological response in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. J Dermatol. 2015 Jan;42(1):42-8. doi: 10.1111/1346-8138.12674.
120) Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, Germer M, Pawlita M, Krammer PH, Peter ME. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. EMBO J. 1995 Nov 15;14(22):5579-88.
121) Sprick MR, Weigand MA, Rieser E, Rauch CT, Juo P, Blenis J, Krammer PH, Walczak H. FADD/MORT1 and caspase-8 are recruited to TRAIL receptors 1 and 2 and are essential for apoptosis mediated by TRAIL receptor 2. Immunity. 2000 Jun;12(6):599-609.
122) Bolognia J, Jorizzo JL, Rapini RP, ed. Dermatology. Mosby: 1 edition, 2003. ISBN 978-0-3230-2409-9.
123) Caproni M, Torchia D, Schincaglia E, Volpi W, Frezzolini A, Schena D, Marzano A, Quaglino P, De Simone C, Parodi A, Barletta E, Fabbri P. Expression of cytokines and chemokine receptors in the cutaneous lesions of erythema multiforme and Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. Br J Dermatol. 2006 Oct;155(4):722-8.
124) Correia O, Delgado L, Barbosa IL, Campilho F, Fleming-Torrinha J. Increased interleukin 10, tumor necrosis factor alpha, and interleukin 6 levels in blister fluid of toxic epidermal necrolysis. J Am Acad Dermatol. 2002 Jul;47(1):58-62.
125) Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. Cell. 2001 Feb 23;104(4):487-501.

126) Rothe M, Sarma V, Dixit VM, Goeddel DV. TRAF2-mediated activation of NF-kappa B by TNF receptor 2 and CD40.Science. 1995 Sep 8;269(5229):1424-7.
127) Beg AA, Baltimore D. An essential role for NF-kappaB in preventing TNF-alpha-induced cell death. Science. 1996 Nov 1;274(5288):782-4.
128) Nassif A, Moslehi H, Le Gouvello S, Bagot M, Lyonnet L, Michel L, Boumsell L, Bensussan A, Roujeau JC. Evaluation of the potential role of cytokines in toxic epidermal necrolysis. J Invest Dermatol. 2004 Nov;123(5):850-5.
129) Hsu H, Shu HB, Pan MG, Goeddel DV. TRADD-TRAF2 and TRADD-FADD interactions define two distinct TNF receptor 1 signal transduction pathways. Cell. 1996 Jan 26;84(2):299-308.
130) Wang CY, Mayo MW, Korneluk RG, Goeddel DV, Baldwin AS Jr. NF-kappaB antiapoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. Science. 1998 Sep 11;281(5383):1680-3.
131) Eckelman BP, Salvesen GS, Scott FL. Human inhibitor of apoptosis proteins: why XIAP is the black sheep of the family. EMBO Rep. 2006 Oct;7(10):988-94.
132) Suliman A1, Lam A, Datta R, Srivastava RK. Intracellular mechanisms of TRAIL: apoptosis through mitochondrial-dependent and -independent pathways. Oncogene. 2001 Apr 19;20(17):2122-33.
133) Johnstone RW, Frew AJ, Smyth MJ. The TRAIL apoptotic pathway in cancer onset, progression and therapy. Nat Rev Cancer. 2008 Oct;8(10):782-98. doi: 10.1038/nrc2465.
134) Downey A, Jackson C, Harun N, Cooper A. Toxic epidermal necrolysis: review of pathogenesis and management. J Am Acad Dermatol. 2012 Jun;66(6):995-1003. doi: 10.1016/j.jaad.2011.09.029.
135) Lerner LH, Qureshi AA, Reddy BV, Lerner EA. Nitric oxide synthase in toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome. J Invest Dermatol. 2000 Jan;114(1):196-9.
136) Viard-Leveugle I, Gaide O, Jankovic D, Feldmeyer L, Kerl K, Pickard C, Roques S, Friedmann PS, Contassot E, French LE. TNF-α and IFN-γ are potential inducers of Fas-mediated keratinocyte apoptosis through activation of inducible nitric oxide synthase in toxic epidermal necrolysis. J Invest Dermatol. 2013 Feb;133(2):489-98. doi: 10.1038/jid.2012.330.
137) Paquet P, Piérard GE. Glutathione-S-transferase pi expression in toxic epidermal necrolysis: a marker of putative oxidative stress in keratinocytes. Skin Pharmacol Physiol. 2007;20(2):66-70.
138) Peter D, Amirtharaj GJ, Mathew T, Pulimood S, Ramachandran A. Role of Oxidative and Nitrosative Stress in Pathophysiology of Toxic Epidermal Necrolysis and Stevens Johnson Syndrome-A Pilot Study.Indian J Dermatol. 2015 Sep-Oct;60(5):427-31. doi: 10.4103/0019-5154.159617.
139) Paquet P, Piérard GE, Quatresooz P. Novel treatments for drug-induced toxic epidermal necrolysis (Lyell's syndrome). Int Arch Allergy Immunol. 2005 Mar;136(3):205-16.
140) Piérard GE, Paquet P. Facing up to toxic epidermal necrolysis. Expert Opin Pharmacother. 2010 Oct;11(15):2443-6. doi: 10.1517/14656566.2010.512915.
141) Sehgal VN, Srivastava G. Toxic epidermal necrolysis (TEN) Lyell's syndrome. J Dermatolog Treat. 2005;16(5-6):278-86.
142) Cartotto R. Burn Center Care of Patients with Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis. Clin Plast Surg. 2017 Jul;44(3):583-595. doi: 10.1016/j.cps.2017.02.016.

143) Wong KC, Kennedy PJ, Lee S. Clinical manifestations and outcomes in 17 cases of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Australas J Dermatol. 1999 Aug;40(3):131-4.
144) Harr T, French LE. Toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome. Orphanet J Rare Dis. 2010 Dec 16;5:39. doi: 10.1186/1750-1172-5-39.
145) Mockenhaupt M. The current understanding of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Expert Rev Clin Immunol. 2011 Nov;7(6):803-13; quiz 814-5. doi: 10.1586/eci.11.66.
146) Clayton NA, Kennedy PJ. Management of dysphagia in toxic epidermal necrolysis (TEN) and Stevens-Johnson syndrome (SJS). Dysphagia. 2007 Jul;22(3):187-92.
147) Bastuji-Garin S, Rzany B, Stern RS, Shear NH, Naldi L, Roujeau JC. Clinical classification of cases of toxic epidermal necrolysis, Stevens-Johnson syndrome, and erythema multiforme. Arch Dermatol. 1993 Jan;129(1):92-6.
148) Melde SL. Ofloxacin: a probable cause of toxic epidermal necrolysis. Ann Pharmacother. 2001 Nov;35(11):1388-90.
149) Paquet P, Nusgens BV, Piérard GE, Lapière CM. Gelatinases in drug-induced toxic epidermal necrolysis. Eur J Clin Invest. 1998 Jul;28(7):528-32.
150) Rasmussen J. Toxic epidermal necrolysis. Med Clin North Am. 1980 Sep;64(5):901-20.
151) Fritsch PO, Sidoroff A. Drug-induced Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. Am J Clin Dermatol. 2000 Nov-Dec;1(6):349-60.
152) Power WJ, Ghoraishi M, Merayo-Lloves J, Neves RA, Foster CS. Analysis of the acute ophthalmic manifestations of the erythema multiforme/Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis disease spectrum. Ophthalmology. 1995 Nov;102(11):1669-76.
153) Sotozono C, Ueta M, Koizumi N, Inatomi T, Shirakata Y, Ikezawa Z, Hashimoto K, Kinoshita S. Diagnosis and treatment of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis with ocular complications. Ophthalmology. 2009 Apr;116(4):685-90. doi: 10.1016/j.ophtha.2008.12.048.
154) Yip LW, Thong BY, Lim J, Tan AW, Wong HB, Handa S, Heng WJ. Ocular manifestations and complications of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: an Asian series. Allergy. 2007 May;62(5):527-31.
155) Magina S, Lisboa C, Leal V, Palmares J, Mesquita-Guimarães J. Dermatological and ophthalmological sequels in toxic epidermal necrolysis. Dermatology. 2003;207(1):33-6.
156) Oplatek A, Brown K, Sen S, Halerz M, Supple K, Gamelli RL. Long-term follow-up of patients treated for toxic epidermal necrolysis. J Burn Care Res. 2006 Jan-Feb;27(1):26-33.
157) Forman R, Koren G, Shear NH. Erythema multiforme, Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in children: a review of 10 years' experience. Drug Saf. 2002;25(13):965-72.
158) Finkelstein Y, Soon GS, Acuna P, George M, Pope E, Ito S, Shear NH, Koren G, Shannon MW, Garcia-Bournissen F. Recurrence and outcomes of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in children. Pediatrics. 2011 Oct;128(4):723-8. doi: 10.1542/peds.2010-3322.
159) Chang YS, Huang FC, Tseng SH, Hsu CK, Ho CL, Sheu HM. Erythema multiforme, Stevens-Johnson syndrome, and toxic epidermal necrolysis: acute ocular manifestations, causes, and management. Cornea. 2007 Feb;26(2):123-9.
160) Morales ME, Purdue GF, Verity SM, Arnoldo BD, Blomquist PH. Ophthalmic Manifestations of Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis and

Relation to SCORTEN. Am J Ophthalmol. 2010 Oct;150(4):505-510.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2010.04.026.
161) Di Pascuale MA, Espana EM, Liu DT, Kawakita T, Li W, Gao YY, Baradaran-Rafii A, Elizondo A, Raju VK, Tseng SC. Correlation of corneal complications with eyelid cicatricial pathologies in patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis syndrome. Ophthalmology. 2005 May;112(5):904-12.
162) Grando SA, Grando AA, Glukhenky BT, Doguzov V, Nguyen VT, Holubar K. History and clinical significance of mechanical symptoms in blistering dermatoses: a reappraisal. J Am Acad Dermatol. 2003 Jan;48(1):86-92.
163) Iwai S, Sueki H, Watanabe H, Sasaki Y, Suzuki T, Iijima M. Distinguishing between erythema multiforme major and Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis immunopathologically. J Dermatol. 2012 Sep;39(9):781-6. doi: 10.1111/j.1346-8138.2012.01532.x.
164) Paquet P, Piérard GE. Erythema multiforme and toxic epidermal necrolysis: a comparative study. Am J Dermatopathol. 1997 Apr;19(2):127-32.
165) Alguire PC, Mathes BM. Skin biopsy techniques for the internist. J Gen Intern Med. 1998 Jan;13(1):46-54.
166) Lyell A. Toxic epidermal necrolysis (the scalded skin syndrome): a reappraisal. Br J Dermatol. 1979;100(1):69-86.
167) Quinn AM, Brown K, Bonish BK, Curry J, Gordon KB, Sinacore J, Gamelli R, Nickoloff BJ. Uncovering histologic criteria with prognostic significance in toxic epidermal necrolysis. Arch Dermatol. 2005 Jun;141(6):683-7.
168) Weyers W, Metze D. Histopathology of drug eruptions - general criteria, common patterns, and differential diagnosis. Dermatol Pract Concept. 2011 Jan 31;1(1):33-47. doi: 10.5826/dpc.0101a09.
169) Lim VM, Do A, Berger TG, Nguyen AH, DeWeese J, Malone JD, Jordan K, Hom F, Tuffanelli L, Fillari P, Siu S, Grossman R. A decade of burn unit experience with Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis: Clinical pathological diagnosis and risk factor awareness. Burns. 2016 Jun;42(4):836-43. doi: 10.1016/j.burns.2016.01.014.
170) Königová R, Bláha J. Komplexní léčba popáleninového traumatu. Praha: Karolinum, 2010. ISBN 978-80-246-1670-4.
171) Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns: pathophysiology and types of burns. BMJ. 2004 Jun 12;328(7453):1427-9.
172) Lipový B, Řihová H, Kaloudová Y, Jonášek M, Suchánek I, Gregorová N, Brychta P. Inhalační trauma - historie, současnost a budoucnost. Otorinolaryng. a Foniat. 2011;60(1),51-57.
173) Paquet P, Piérard GE. New insights in toxic epidermal necrolysis (Lyell's syndrome): clinical considerations, pathobiology and targeted treatments revisited. Drug Saf. 2010 Mar 1;33(3):189-212. doi: 10.2165/11532540-000000000-00000.
174) Wagner AM, Wu JJ, Hansen RC, Nigg HN, Beiere RC. Bullous phytophotodermatitis associated with high natural concentrations of furanocoumarins in limes. Am J Contact Dermat. 2002 Mar;13(1):10-4.
175) Seligman PJ, Mathias CG, O'Malley MA, Beier RC, Fehrs LJ, Serrill WS, Halperin WE. Phytophotodermatitis from celery among grocery store workers. Arch Dermatol. 1987 Nov;123(11):1478-82.
176) Camm E, Buck HW, Mitchell JC. Phytophotodermatitis from Heracleum mantegazzianum. Contact Dermatitis. 1976 Apr;2(2):68-72.
177) Klimaszyk P, Klimaszyk D, Piotrowiak M, Popiołek A. Unusual complications after occupational exposure to giant hogweed (Heracleum mantegazzianum): a case report.

Int J Occup Med Environ Health. 2014 Jan;27(1):141-4. doi: 10.2478/s13382-014-0238-z.
178) Lagey K, Duinslaeger L, Vanderkelen A. Burns induced by plants. Burns. 1995 Nov;21(7):542-3.
179) Oliveira AR, Aires S, Faria C, Santos E. Staphylococcal scalded skin syndrome. BMJ Case Rep. 2013 Jun 10;2013. pii: bcr2013009478. doi: 10.1136/bcr-2013-009478.
180) Handler MZ, Schwartz RA. Staphylococcal scalded skin syndrome: diagnosis and management in children and adults. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2014 Nov;28(11):1418-23. doi: 10.1111/jdv.12541.
181) Patel GK, Finlay AY. Staphylococcal scalded skin syndrome: diagnosis and management. Am J Clin Dermatol. 2003;4(3):165-75.
182) Simpson C. The management of staphylococcal scalded skin syndrome in infants. Nurs Times. 2003 Oct 21-27;99(42):59-61.
183) Turnbull N, Hawkins D, Atkins M, Francis N, Roberts N. Persistent erythema multiforme associated with Epstein-Barr virus infection. Clin Exp Dermatol. 2014 Mar;39(2):154-7. doi: 10.1111/ced.12243.
184) Furue M, Yamazaki S, Jimbow K, Tsuchida T, Amagai M, Tanaka T, Matsunaga K, Muto M, Morita E, Akiyama M, Soma Y, Terui T, Manabe M. Prevalence of dermatological disorders in Japan: a nationwide, cross-sectional, seasonal, multicenter, hospital-based study. J Dermatol. 2011 Apr;38(4):310-20. doi: 10.1111/j.1346-8138.2011.01209.x.
185) Samim F, Auluck A, Zed C, Williams PM. Erythema multiforme: a review of epidemiology, pathogenesis, clinical features, and treatment. Dent Clin North Am. 2013 Oct;57(4):583-96. doi: 10.1016/j.cden.2013.07.001.
186) Sanchis JM, Bagán JV, Gavaldá C, Murillo J, Diaz JM. Erythema multiforme: diagnosis, clinical manifestations and treatment in a retrospective study of 22 patients. J Oral Pathol Med. 2010 Nov;39(10):747-52. doi: 10.1111/j.1600-0714.2010.00912.x.
187) Choi Y, Nam KH, Lee JB, Lee JY, Ihm CW, Lee SE, Oh SH, Hashimoto T, Kim SC. Retrospective analysis of 12 Korean patients with paraneoplastic pemphigus. J Dermatol. 2012 Dec;39(12):973-81. doi: 10.1111/j.1346-8138.2012.01655.x.
188) Venugopal SS, Murrell DF. Diagnosis and clinical features of pemphigus vulgaris. Immunol Allergy Clin North Am. 2012 May;32(2):233-43, v-vi. doi: 10.1016/j.iac.2012.04.003.
189) Joly P, Litrowski N. Pemphigus group (vulgaris, vegetans, foliaceus, herpetiformis, brasiliensis). Clin Dermatol. 2011 Jul-Aug;29(4):432-6. doi: 10.1016/j.clindermatol.2011.01.013.
190) Wang R, Li J, Wang M, Hao H, Chen X, Li R, Zhu X. Prevalence of myasthenia gravis and associated autoantibodies in paraneoplastic pemphigus and their correlations with symptoms and prognosis. Br J Dermatol. 2015 Apr;172(4):968-75. doi: 10.1111/bjd.13525.
191) Zhao CY, Murrell DF. Pemphigus vulgaris: an evidence-based treatment update. Drugs. 2015 Feb;75(3):271-84. doi: 10.1007/s40265-015-0353-6.
192) Kulthanan K, Chularojanamontri L, Tuchinda P, Sirikudta W, Pinkaew S. Clinical features and course of pemphigus in Thai patients. Asian Pac J Allergy Immunol. 2011 Jun;29(2):161-8.
193) Knudson RM, Kalaaji AN, Bruce AJ. The management of mucous membrane pemphigoid and pemphigus. Dermatol Ther. 2010 May-Jun;23(3):268-80. doi: 10.1111/j.1529-8019.2010.01323.x.

194) Atzmony L, Hodak E, Gdalevich M, Rosenbaum O, Mimouni D. Treatment of pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus: a systematic review and meta-analysis. Am J Clin Dermatol. 2014 Dec;15(6):503-15. doi: 10.1007/s40257-014-0101-9.
195) Martin LK, Werth VP, Villaneuva EV, Murrell DF. A systematic review of randomized controlled trials for pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. J Am Acad Dermatol. 2011 May;64(5):903-8. doi: 10.1016/j.jaad.2010.04.039.
196) Joly P, Baricault S, Sparsa A, Bernard P, Bédane C, Duvert-Lehembre S, Courville P, Bravard P, Rémond B, Doffoel-Hantz V, Bénichou J. Incidence and mortality of bullous pemphigoid in France. J Invest Dermatol. 2012 Aug;132(8):1998-2004. doi: 10.1038/jid.2012.35.
197) Bastuji-Garin S, Joly P, Lemordant P, Sparsa A, Bedane C, Delaporte E, Roujeau JC, Bernard P, Guillaume JC, Ingen-Housz-Oro S, Maillard H, Pauwels C, Picard-Dahan C, Dutronc Y, Richard MA; French Study Group for Bullous Diseases. Risk factors for bullous pemphigoid in the elderly: a prospective case-control study. J Invest Dermatol. 2011 Mar;131(3):637-43. doi: 10.1038/jid.2010.301.
198) Lo Schiavo A, Ruocco E, Brancaccio G, Caccavale S, Ruocco V, Wolf R. Bullous pemphigoid: etiology, pathogenesis, and inducing factors: facts and controversies. Clin Dermatol. 2013 Jul-Aug;31(4):391-9. doi: 10.1016/j.clindermatol.2013.01.006.
199) Di Zenzo G, Della Torre R, Zambruno G, Borradori L. Bullous pemphigoid: from the clinic to the bench. Clin Dermatol. 2012 Jan-Feb;30(1):3-16. doi: 10.1016/j.clindermatol.2011.03.005.
200) Charneux J, Lorin J, Vitry F, Antonicelli F, Reguiai Z, Barbe C, Tabary T, Grange F, Bernard P. Usefulness of BP230 and BP180-NC16a enzyme-linked immunosorbent assays in the initial diagnosis of bullous pemphigoid: a retrospective study of 138 patients. Arch Dermatol. 2011 Mar;147(3):286-91. doi: 10.1001/archdermatol.2011.23.
201) Venning VA, Taghipour K, Mohd Mustapa MF, Highet AS, Kirtschig G. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of bullous pemphigoid 2012. Br J Dermatol. 2012 Dec;167(6):1200-14. doi: 10.1111/bjd.12072.
202) Cortés B, Marazza G, Naldi L, Combescure C, Borradori L; Autoimmune Bullous Disease Swiss Study Group. Mortality of bullous pemphigoid in Switzerland: a prospective study. Br J Dermatol. 2011 Aug;165(2):368-74. doi: 10.1111/j.1365-2133.2011.10413.x.
203) Szatkowski J, Schwartz RA. Acute generalized exanthematous pustulosis (AGEP): A review and update. J Am Acad Dermatol. 2015 Nov;73(5):843-8. doi: 10.1016/j.jaad.2015.07.017.
204) Sidoroff A. Acute generalized exanthematous pustulosis. Chem Immunol Allergy. 2012;97:139-48. doi: 10.1159/000335625.
205) Miteva L, Kadurina M, Schwartz RA. Childhood acute generalized exanthematous pustulosis induced by oral ketoconazole. Acta Dermatovenerol Croat. 2010;18(4):267-70.
206) Choi MJ, Kim HS, Park HJ, Park CJ, Lee JD, Lee JY, Kim HO, Park YM. Clinicopathologic manifestations of 36 korean patients with acute generalized exanthematous pustulosis: a case series and review of the literature. Ann Dermatol. 2010 May;22(2):163-9. doi: 10.5021/ad.2010.22.2.163.
207) Murad A, Murphy A. Cutaneous vasculitis overlap with acute generalised exanthematous pustulosis (AGEP). BMJ Case Rep. 2014 Nov 17;2014. pii: bcr2014206362. doi: 10.1136/bcr-2014-206362.
208) Fernando SL. Acute generalised exanthematous pustulosis. Australas J Dermatol. 2012 May;53(2):87-92. doi: 10.1111/j.1440-0960.2011.00845.x.

209) Feldmeyer L, Heidemeyer K, Yawalkar N. Acute Generalized Exanthematous Pustulosis: Pathogenesis, Genetic Background, Clinical Variants and Therapy. Int J Mol Sci. 2016 Jul 27;17(8). pii: E1214. doi: 10.3390/ijms17081214.¨
210) Speeckaert MM, Speeckaert R, Lambert J, Brochez L. Acute generalized exanthematous pustulosis: an overview of the clinical, immunological and diagnostic concepts. Eur J Dermatol. 2010 Jul-Aug;20(4):425-33. doi: 10.1684/ejd.2010.0932.
211) Sidoroff A, Halevy S, Bavinck JN, Vaillant L, Roujeau JC. Acute generalized exanthematous pustulosis (AGEP)--a clinical reaction pattern. J Cutan Pathol. 2001 Mar;28(3):113-9.
212) Hotz C, Valeyrie-Allanore L, Haddad C, Bouvresse S, Ortonne N, Duong TA, Ingen-Housz-Oro S, Roujeau JC, Wolkenstein P, Chosidow O. Systemic involvement of acute generalized exanthematous pustulosis: a retrospective study on 58 patients. Br J Dermatol. 2013 Dec;169(6):1223-32. doi: 10.1111/bjd.12502.
213) Chaiken BH, Goldberg BI, Segal JP. Dilantin sensitivity; report of a case of hepatitis with jaundice, pyrexia and exfoliative dermatitis. N Engl J Med. 1950;242:897Y898.
214) Roujeau JC. Clinical heterogeneity of drug hypersensitivity. Toxicology. 2005;209:123Y129.
215) Begon E, Roujeau JC. Drug hypersensitivity syndrome: DRESS (drug rash with eosinophilia and systemic symptoms). Ann Dermatol Venereol. 2004;131:293Y297.
216) Knowles SR, Shapiro LE, Shear NH. Anticonvulsant hypersensitivity syndrome: incidence, prevention, and management. Drug Saf. 1999; 21:489Y501.
217) Shear NH, Spielberg SP. Anticonvulsant hypersensitivity syndrome: in vitro assessment of risk. J Clin Invest. 1988;82:1826Y1832.
218) Descamps V, Brunet-Possenti F. Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms or Virus Reactivation with Eosinophilia and Systemic Symptoms. Pediatr Dermatol. 2016 Sep;33(5):562. doi: 10.1111/pde.12931.
219) Spriet S, Banks TA. Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms syndrome. Allergy Asthma Proc. 2015 Nov-Dec;36(6):501-5. doi: 10.2500/aap.2015.36.3903.
220) Crispin JC, Martinez-Banos D, Alcocer-Varela J. Adult-onset Still disease as the cause of fever of unknown origin. Medicine (Baltimore). 2005;84:331Y337.
221) Mallal S, Phillips E, Carosi G, Molina JM, Workman C, Tomazic J, Jagel-Guedes E, Rugina S, Kozyrev O, Cid JF, Hay P, Nolan D, Hughes S, Hughes A, Ryan S, Fitch N, Thorborn D, Benbow A; PREDICT-1 Study Team. HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. N Engl J Med. 2008;358:568Y579.
222) French A, Weller C. Interstitial myocarditis following the clinical and experimental use of sulfonamide drugs. Pathology. 1942;18:109Y122.
223) Descamps V, Valance A, Edlinger C, Fillet AM, Grossin M, Lebrun-Vignes B, Belaich S, Crickx B. Association of human herpesvirus 6 infection with drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms. Arch Dermatol. 2001 Mar;137(3):301-4.
224) Ben m'rad M, Leclerc-Mercier S, Blanche P, Franck N, Rozenberg F, Fulla Y, Guesmi M, Rollot F, Dehoux M, Guillevin L, Moachon L. Drug-induced hypersensitivity syndrome: clinical and biologic disease patterns in 24 patients. Medicine (Baltimore). 2009 May;88(3):131-40. doi: 10.1097/MD.0b013e3181a4d1a1.
225) Florea F, Sitaru C. Relevance of immunofluorescence methods in clinical dermatology. CML Dermatology. 2011;15:29-45.
226) Brambilla G, Brucato F, Angrisano A, Palmieri G. Treatment of toxic epidermal necrolysis (TEN). Ann Burns Fire Disasters. 2002 March; 15(1):17-21.
227) Creamer D, Walsh SA, Dziewulski P, Exton LS, Lee HY, Dart JK, Setterfield J, Bunker CB, Ardern-Jones MR, Watson KM, Wong GA, Philippidou M, Vercueil A,

Martin RV, Williams G, Shah M, Brown D, Williams P, Mohd Mustapa MF, Smith CH. U.K. guidelines for the management of Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis in adults 2016. Br J Dermatol. 2016 Jun;174(6):1194-227. doi: 10.1111/bjd.14530.
228) Ducic I, Shalom A, Rising W, Nagamoto K, Munster AM. Outcome of patients with toxic epidermal necrolysis syndrome revisited. Plast Reconstr Surg. 2002 Sep 1;110(3):768-73.
229) Schneck J, Fagot JP, Sekula P, Sassolas B, Roujeau JC, Mockenhaupt M. Effects of treatments on the mortality of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: A retrospective study on patients included in the prospective EuroSCAR Study. J Am Acad Dermatol. 2008 Jan;58(1):33-40.
230) Kim KJ, Lee DP, Suh HS, Lee MW, Choi JH, Moon KC, Koh JK. Toxic epidermal necrolysis: analysis of clinical course and SCORTEN-based comparison of mortality rate and treatment modalities in Korean patients. Acta Derm Venereol. 2005;85(6):497-502.
231) Almawi WY, Melemedjian OK. Negative regulation of nuclear factor-kappaB activation and function by glucocorticoids. J Mol Endocrinol. 2002 Apr;28(2):69-78.
232) Roujeau JC, Kelly JP, Naldi L, Rzany B, Stern RS, Anderson T, Auquier A, Bastuji-Garin S, Correia O, Locati F, et al. Medication use and the risk of Stevens-Johnson syndrome or toxic epidermal necrolysis. N Engl J Med. 1995 Dec 14;333(24):1600-7.
233) Murphy JT, Purdue GF, Hunt JL. Toxic epidermal necrolysis. J Burn Care Rehabil. 1997 Sep-Oct;18(5):417-20.
234) Kardaun SH, Jonkman MF. Dexamethasone pulse therapy for Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. Acta Derm Venereol. 2007;87(2):144-8.
235) Chen J, Wang B, Zeng Y, Xu H. High-dose intravenous immunoglobulins in the treatment of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Chinese patients: a retrospective study of 82 cases. Eur J Dermatol. 2010 Nov-Dec;20(6):743-7. doi: 10.1684/ejd.2010.1077.
236) Hirahara K, Kano Y, Sato Y, Horie C, Okazaki A, Ishida T, Aoyama Y, Shiohara T. Methylprednisolone pulse therapy for Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: clinical evaluation and analysis of biomarkers. J Am Acad Dermatol. 2013 Sep;69(3):496-8. doi: 10.1016/j.jaad.2013.04.007.
237) Suwarsa O, Yuwita W, Dharmadji HP, Sutedja E. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Dr. Hasan Sadikin General Hospital Bandung, Indonesia from 2009–2013. Asia Pac Allergy 2016;6:43-7.
238) Bruton, OC, Apt L, Gitlin D, Janeway CA. Absence of serum gamma globulins. AMA Am J Dis Child, 1952, 84(5), p. 632-636.
239) Pirofsky B. Intravenous immune globulin therapy in hypogammaglobulinemia. A review. Am J Med. 1984 Mar 30;76(3A):53-60.
240) Thon V. Intravenózní a subkutánní imunoglobulinová terapie. Epidemiol Mikrobiol Imunol. 2013; 62(2): 64-73.
241) Viard I, Wehrli P, Bullani R, Schneider P, Holler N, Salomon D, Hunziker T, Saurat JH, Tschopp J, French LE. Inhibition of toxic epidermal necrolysis by blockade of CD95 with human intravenous immunoglobulin. Science. 1998 Oct 16;282(5388):490-3.
242) Stella M, Cassano P, Bollero D, Clemente A, Giorio G. Toxic epidermal necrolysis treated with intravenous high-dose immunoglobulins: our experience. Dermatology. 2001;203(1):45-9.
243) Bachot N, Revuz J, Roujeau JC. Intravenous immunoglobulin treatment for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a prospective noncomparative

study showing no benefit on mortality or progression. Arch Dermatol. 2003 Jan;139(1):33-6.
244) Campione E, Marulli GC, Carrozzo AM, Chimenti MS, Costanzo A, Bianchi L. High-dose intravenous immunoglobulin for severe drug reactions: efficacy in toxic epidermal necrolysis. Acta Derm Venereol. 2003;83(6):430-2.
245) Trent JT, Kirsner RS, Romanelli P, Kerdel FA. Analysis of intravenous immunoglobulin for the treatment of toxic epidermal necrolysis using SCORTEN: The University of Miami Experience. Arch Dermatol. 2003 Jan;139(1):39-43.
246) Prins C, Kerdel FA, Padilla RS, Hunziker T, Chimenti S, Viard I, Mauri DN, Flynn K, Trent J, Margolis DJ, Saurat JH, French LE; TEN-IVIG Study Group. Toxic epidermal necrolysis-intravenous immunoglobulin. Treatment of toxic epidermal necrolysis with high-dose intravenous immunoglobulins: multicenter retrospective analysis of 48 consecutive cases. Arch Dermatol. 2003 Jan;139(1):26-32.
247) Al-Mutairi N, Arun J, Osama NE, Amr Z, Mazen AS, Ibtesam el-A, Nazeha el-B. Prospective, noncomparative open study from Kuwait of the role of intravenous immunoglobulin in the treatment of toxic epidermal necrolysis. Int J Dermatol. 2004 Nov;43(11):847-51.
248) Brown KM, Silver GM, Halerz M, Walaszek P, Sandroni A, Gamelli RL. Toxic epidermal necrolysis: does immunoglobulin make a difference? J Burn Care Rehabil. 2004 Jan-Feb;25(1):81-8.
249) Shortt R, Gomez M, Mittman N, Cartotto R. Intravenous immunoglobulin does not improve outcome in toxic epidermal necrolysis. J Burn Care Rehabil. 2004 May-Jun;25(3):246-55.
250) Tan AW, Thong BY, Yip LW, Chng HH, Ng SK. High-dose intravenous immunoglobulins in the treatment of toxic epidermal necrolysis: an Asian series. J Dermatol. 2005 Jan;32(1):1-6.
251) Lissia M, Figus A, Rubino C. Intravenous immunoglobulins and plasmapheresis combined treatment in patients with severe toxic epidermal necrolysis: preliminary report. Br J Plast Surg. 2005 Jun;58(4):504-10.
252) Gravante G, Delogu D, Marianetti M, Trombetta M, Esposito G, Montone A. Toxic epidermal necrolysis and Steven Johnson syndrome: 11-years experience and outcome. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2007 Mar-Apr;11(2):119-27.
253) Stella M, Clemente A, Bollero D, Risso D, Dalmasso P. Toxic epidermal necrolysis (TEN) and Stevens-Johnson syndrome (SJS): experience with high-dose intravenous immunoglobulins and topical conservative approach. A retrospective analysis. Burns. 2007 Jun;33(4):452-9.
254) Firoz BF, Henning JS, Zarzabal LA, Pollock BH. Toxic epidermal necrolysis: five years of treatment experience from a burn unit. J Am Acad Dermatol. 2012 Oct;67(4):630-5. doi: 10.1016/j.jaad.2011.12.014. Erratum in: J Am Acad Dermatol. 2013 Dec;69(6):1048.
255) Lee HY, Lim YL, Thirumoorthy T, Pang SM. The role of intravenous immunoglobulin in toxic epidermal necrolysis: a retrospective analysis of 64 patients managed in a specialized centre. Br J Dermatol. 2013 Dec;169(6):1304-9. doi: 10.1111/bjd.12607.
256) Aihara M, Kano Y, Fujita H, Kambara T, Matsukura S, Katayama I, Azukizawa H, Miyachi Y, Endo Y, Asada H, Miyagawa F, Morita E, Kaneko S, Abe R, Ochiai T, Sueki H, Watanabe H, Nagao K, Aoyama Y, Sayama K, Hashimoto K, Shiohara T; SJS/TEN Study Group. Efficacy of additional i.v. immunoglobulin to steroid therapy in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. J Dermatol. 2015 Aug;42(8):768-77. doi: 10.1111/1346-8138.12925.

257) Svarstad H, Bugge HC, Dhilloon SS. From Norway to Novartis: Cyclosporin from Tolypocladium in atum in an open access bioprospecting regime. Biodiversity and Conservation, 2000; 9 (11): 1521–1541.
258) Calne RY, White DJ, Thiru S, Evans DB, McMaster P, Dunn DC, Craddock GN, Pentlow BD, Rolles K. Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. Lancet. 1978 Dec 23-30;2(8104-5):1323-7.
259) Starzl TE, Klintmalm GB., Porter KA, Iwatsuki S, Schröter GP. Liver transplantation with use of cyclosporin a and prednisone. N. Engl. J. Med, 1981; 305 (5): 266–9.
260) Suchý D, Grundmann M. Cyklosporin A: farmakokinetika, monitorování a jeho použití v revmatologii. Klin Farmakol Farm, 2009; 23 (4): 187–193.
261) McDonald GB, Slattery JT, Bouvier ME, Ren S, Batchelder AL, Kalhorn TF, Schoch HG, Anasetti C, Gooley T. Cyclophosphamide metabolism, liver toxicity, and mortality following hematopoietic stem cell transplantation. Blood. 2003 Mar 1;101(5):2043-8.
262) Shaik F, Botha J, Aboobaker J, Mosam A. Corticosteroid/cyclophosphamide pulse treatment in South African patients with pemphigus. Clin Exp Dermatol. 2010 Apr;35(3):245-50. doi: 10.1111/j.1365-2230.2009.03450.x.
263) McCune WJ, Golbus J, Zeldes W, Bohlke P, Dunne R, Fox DA. Clinical and immunologic effects of monthly administration of intravenous cyclophosphamide in severe systemic lupus erythematosus. N Engl J Med. 1988 Jun 2;318(22):1423-31.
264) Lawson M, Vasilaras A, De Vries A, Mactaggart P, Nicol D. Urological implications of cyclophosphamide and ifosfamide. Scand J Urol Nephrol. 2008;42(4):309-17. doi: 10.1080/00365590701570953.
265) Wolkenstein P, Latarjet J, Roujeau JC, Duguet C, Boudeau S, Vaillant L, Maignan M, Schuhmacher MH, Milpied B, Pilorget A, Bocquet H, Brun-Buisson C, Revuz J. Randomised comparison of thalidomide versus placebo in toxic epidermal necrolysis. Lancet. 1998 Nov 14;352(9140):1586-9.
266) Arévalo JM, Lorente JA, González-Herrada C, Jiménez-Reyes J. Treatment of toxic epidermal necrolysis with cyclosporin A. J Trauma. 2000 Mar;48(3):473-8.
267) Valeyrie-Allanore L, Wolkenstein P, Brochard L, Ortonne N, Maître B, Revuz J, Bagot M, Roujeau JC. Open trial of ciclosporin treatment for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Br J Dermatol. 2010 Oct;163(4):847-53. doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.09863.x.
268) Singh GK, Chatterjee M, Verma R. Cyclosporine in Stevens Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis and retrospective comparison with systemic corticosteroid. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2013 Sep-Oct;79(5):686-92. doi: 10.4103/0378-6323.116738.
269) Kirchhof MG, Miliszewski MA, Sikora S, Papp A, Dutz JP. Retrospective review of Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis treatment comparing intravenous immunoglobulin with cyclosporine. J Am Acad Dermatol. 2014 Nov;71(5):941-7. doi: 10.1016/j.jaad.2014.07.016.
270) Lipový B, Řihová H, Suchánek I, Ondrášková H. Cyklosporin A v terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou: vlastní zkušenosti a přehled literatury. Léčba ran. 2016;(2):4-8.
271) Paradisi A, Abeni D, Bergamo F, Ricci F, Didona D, Didona B. Etanercept therapy for toxic epidermal necrolysis. J Am Acad Dermatol. 2014 Aug;71(2):278-83. doi: 10.1016/j.jaad.2014.04.044.
272) Park KH, Lee KH, Kim H, Hwang SO. The anti-inflammatory effects of ulinastatin in trauma patients with hemorrhagic shock. J Korean Med Sci. 2010 Jan;25(1):128-34. doi: 10.3346/jkms.2010.25.1.128.

273) Inamo Y, Okubo T, Wada M, Fuchigami S, Hashimoto K, Fuchigami T, Takahashi S, Sawada S, Harada K. Intravenous ulinastatin therapy for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in pediatric patients. Three case reports. Int Arch Allergy Immunol. 2002 Jan;127(1):89-94.
274) Cataland SR, Jin M, Lin S, Kennedy MS, Kraut EH, George JN, Wu HM. Cyclosporin and plasma exchange in thrombotic thrombocytopenic purpura: long-term follow-up with serial analysis of ADAMTS13 activity. Br J Haematol. 2007 Nov;139(3):486-93.
275) Koštál M, Bláha M, Lánská M, Koštálová M, Bláha V, Štepánová E, Malý J. Beneficial effect of plasma exchange in the treatment of toxic epidermal necrolysis: a series of four cases. J Clin Apher. 2012;27(4):215-20. doi: 10.1002/jca.21213.
276) Chaidemenos GC, Chrysomallis F, Sombolos K, Mourellou O, Ioannides D, Papakonstantinou M. Plasmapheresis in toxic epidermal necrolysis. Int J Dermatol. 1997 Mar;36(3):218-21.
277) Egan CA, Grant WJ, Morris SE, Saffle JR, Zone JJ. Plasmapheresis as an adjunct treatment in toxic epidermal necrolysis. J Am Acad Dermatol. 1999 Mar;40(3):458-61.
278) Yamada H, Takamori K. Status of plasmapheresis for the treatment of toxic epidermal necrolysis in Japan. Ther Apher Dial. 2008 Oct;12(5):355-9. doi: 10.1111/j.1744-9987.2008.00609.x.
279) Zhou H, Li XM, Meinkoth J, Pittman RN. Akt regulates cell survival and apoptosis at a postmitochondrial level. J Cell Biol. 2000 Oct 30;151(3):483-94.
280) Perniciaro C, Rappaport KD, White JW Jr. Apoptosis with positive direct immunofluorescence findings in a patient with necrolytic migratory erythema. Cutis. 1998 Sep;62(3):129-32.
281) Prasad AS. Zinc and immunity. Mol Cell Biochem. 1998 Nov;188(1-2):63-9.
282) Wellinghausen N, Rink L. The significance of zinc for leukocyte biology. J Leukoc Biol. 1998 Nov;64(5):571-7.
283) Penso D, Roujeau JC, Guillaume JC, Revuz J, Touraine R. Toxic epidermal necrolysis after oxicam use. J Am Acad Dermatol. 1986 Feb;14(2 Pt 1):275-6.
284) Shiga S, Cartotto R. What are the fluid requirements in toxic epidermal necrolysis? J Burn Care Res. 2010 Jan-Feb;31(1):100-4. doi: 10.1097/BCR.0b013e3181cb8cb8.
285) Lacy JA. Toxic epidermal necrolysis. Nutr Clin Pract. 1991 Feb;6(1):18-20.
286) Palmieri TL, Greenhalgh DG, Saffle JR, Spence RJ, Peck MD, Jeng JC, Mozingo DW, Yowler CJ, Sheridan RL, Ahrenholz DH, Caruso DM, Foster KN, Kagan RJ, Voigt DW, Purdue GF, Hunt JL, Wolf S, Molitor F. A multicenter review of toxic epidermal necrolysis treated in U.S. burn centers at the end of the twentieth century. J Burn Care Rehabil. 2002 Mar-Apr;23(2):87-96.
287) Graves C, Faraklas I, Maniatis K, Panter E, La Force J, Aleem R, Zavala S, Albrecht M, Edwards P, Cochran A. Nutrition in Toxic Epidermal Necrolysis: A Multicenter Review. Nutr Clin Pract. 2016 May 3. pii: 0884533616642746.
288) Mayes T, Gottschlich M, Khoury J, Warner P, Kagan R. Energy requirements of pediatric patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Nutr Clin Pract. 2008 Oct-Nov;23(5):547-50. doi: 10.1177/0884533608323434.
289) Abela C, Hartmann CE, De Leo A, de Sica Chapman A, Shah H, Jawad M, Bunker CB, Williams GJ, Leon-Villapalos J. Toxic epidermal necrolysis (TEN): the Chelsea and Westminster Hospital wound management algorithm. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2014 Aug;67(8):1026-32. doi: 10.1016/j.bjps.2014.04.003.
290) Smith SD, Dodds A, Dixit S, Cooper A. Role of nanocrystalline silver dressings in the management of toxic epidermal necrolysis (TEN) and TEN/Stevens-Johnson

syndrome overlap. Australas J Dermatol. 2015 Nov;56(4):298-302. doi: 10.1111/ajd.12254.
291) Paquet P, Jacob E, Quatresooz P, Jacquemin D, Piérard GE. Delayed reepithelialization and scarring deregulation following drug-induced toxic epidermal necrolysis. Burns. 2007 Feb;33(1):100-4.
292) Bradley T, Brown RE, Kucan JO, Smoot EC 3rd, Hussmann J. Toxic epidermal necrolysis: a review and report of the successful use of Biobrane for early wound coverage. Ann Plast Surg. 1995 Aug;35(2):124-32.
293) Pianigiani E, Ierardi F, Taddeucci P, Perotti R, Biagioli M, Di Simplicio FC, Andreassi A, Fimiani M. Skin allograft in the treatment of toxic epidermal necrolysis (TEN). Dermatol Surg. 2002 Dec;28(12):1173-6.
294) Arévalo JM, Lorente JA. Skin coverage with Biobrane biomaterial for the treatment of patients with toxic epidermal necrolysis. J Burn Care Rehabil. 1999 Sep-Oct;20(5):406-10.
295) Harke HP. Octenidine dihydrochloride, properties of a new antimicrobial agent. Zentralbl Hyg Umweltmed. 1989 May;188(1-2):188-93.
296) Hübner NO, Siebert J, Kramer A. Octenidine dihydrochloride, a modern antiseptic for skin, mucous membranes and wounds. Skin Pharmacol Physiol. 2010;23(5):244-58. doi: 10.1159/000314699.
297) Beaven AW, Shea TC. The effect of palifermin on chemotherapyand radiation therapy-induced mucositis: a review of the current literature. Support Cancer Ther. 2007 Sep 1;4(4):188-97. doi: 10.3816/SCT.2007.n.014.
298) Spielberger R, Stiff P, Bensinger W, Gentile T, Weisdorf D, Kewalramani T, Shea T, Yanovich S, Hansen K, Noga S, McCarty J, LeMaistre CF, Sung EC, Blazar BR, Elhardt D, Chen MG, Emmanouilides C. Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers. N Engl J Med. 2004 Dec 16;351(25):2590-8.
299) Hong L, Han Y, Liu J, Fan D. Keratinocyte growth factor receptor: a therapeutic target in solid cancer. Expert Opin Ther Targets. 2015;19(10):1411-8. doi: 10.1517/14728222.2015.1062474.
300) Agra LC, Ferro JN, Barbosa FT, Barreto E. Triterpenes with healing activity: A systematic review. J Dermatolog Treat.2015 Apr 20:1-6.
301) Woelfle U, Laszczyk MN, Kraus M, Leuner K, Kersten A, Simon-Haarhaus B, Scheffler A, Martin SF, Müller WE, Nashan D, Schempp CM. Triterpenes promote keratinocyte differentiation in vitro, ex vivo and in vivo: a role for the transient receptor potential canonical (subtype) 6. J Invest Dermatol. 2010 Jan;130(1):113-23. doi: 10.1038/jid.2009.248.
302) Huyke C, Reuter J, Rödig M, Kersten A, Laszczyk M, Scheffler A, Nashan D, Schempp C.Treatment of actinic keratoses with a novel betulin-based oleogel. A prospective, randomized, comparative pilot study. J Dtsch Dermatol Ges.2009 Feb;7(2):128-33. doi: 10.1111/j.1610-0387.2008.06865.x.
303) Shammas MC, Lai EC, Sarkar JS, Yang J, Starr CE, Sippel KC. Management of acute Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis utilizing amniotic membrane and topical corticosteroids. Am J Ophthalmol. 2010 Feb;149(2):203-213.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2009.08.040.
304) Gregory GD. The opthalmologic management of acute Stevens Johnson Syndrome. The Ocular Surface. 2008; 6(2):87-95
305) Onaran Z, Usta G, Koçak M, Ornek K, Büyükkoçak U. Topical ophthalmic cyclosporine in the treatment of toxic epidermal necrolysis. Case Rep Med. 2011;2011:416842. doi: 10.1155/2011/416842.

306) Zhou XQ, Wei RL. Topical cyclosporine A in the treatment of dry eye: a systematic review and meta-analysis. Cornea. 2014 Jul;33(7):760-7. doi: 10.1097/ICO.0000000000000123.
307) Purnamawati S, Febriana SA, Danarti R, Saefudin T. Topical treatment for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a review. Bali Med J. 2016;5(1):82-90.
308) John T, Foulks GN, John ME, Cheng K, Hu D. Amniotic membrane in the surgical management of acute toxic epidermal necrolysis. Ophthalmology. 2002 Feb;109(2):351-60.
309) Kobayashi A, Yoshita T, Sugiyama K, Miyashita K, Niida Y, Koizumi S, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation in acute phase of toxic epidermal necrolysis with severe corneal involvement. Ophthalmology. 2006 Jan;113(1):126-32.
310) Meller D, Pires RT, Mack RJ, Figueiredo F, Heiligenhaus A, Park WC, Prabhasawat P, John T, McLeod SD, Steuhl KP, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns. Ophthalmology. 2000 May;107(5):980-9; discussion 990.
311) Shay E, Kheirkhah A, Liang L, Sheha H, Gregory DG, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation as a new therapy for the acute ocular manifestations of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Surv Ophthalmol. 2009 Nov-Dec;54(6):686-96. doi: 10.1016/j.survophthal.2009.03.004.
312) Sheridan RL, Schulz JT, Ryan CM, Schnitzer JJ, Lawlor D, Driscoll DN, Donelan MB, Tompkins RG. Long-term consequences of toxic epidermal necrolysis in children. Pediatrics. 2002 Jan;109(1):74-8.
313) Yang CW, Cho YT, Chen KL, Chen YC, Song HL, Chu CY. Long-term Sequelae of Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis. Acta Derm Venereol. 2016 May;96(4):525-9. doi: 10.2340/00015555-2295.
314) Hunt TK, Hopf HW. Wound healing and wound infection. What surgeons and anesthesiologists can do. Surg Clin North Am. 1997 Jun;77(3):587-606.
315) Oplatek A, Brown K, Sen S, Halerz M, Supple K, Gamelli RL. Long-term follow-up of patients treated for toxic epidermal necrolysis. J Burn Care Res. 2006 Jan-Feb;27(1):26-33.
316) Gueudry J, Roujeau JC, Binaghi M, Soubrane G, Muraine M. Risk factors for the development of ocular complications of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Arch Dermatol. 2009 Feb;145(2):157-62. doi: 10.1001/archdermatol.2009.540.
317) Saeed H, Mantagos IS, Chodosh J. Complications of Stevens-Johnson syndrome beyond the eye and skin. Burns. 2016 Feb;42(1):20-7. doi: 10.1016/j.burns.2015.03.012.
318) Greenhalgh DG, Saffle JR, Holmes JH 4th, Gamelli RL, Palmieri TL, Horton JW, Tompkins RG, Traber DL, Mozingo DW, Deitch EA, Goodwin CW, Herndon DN, Gallagher JJ, Sanford AP, Jeng JC, Ahrenholz DH, Neely AN, O'Mara MS, Wolf SE, Purdue GF, Garner WL, Yowler CJ, Latenser BA; American Burn Association Consensus Conference on Burn Sepsis and Infection Group. American Burn Association consensus conference to define sepsis and infection in burns. J Burn Care Res. 2007 Nov-Dec;28(6):776-90.
319) Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. Am J Infect Control. 2008 Jun;36(5):309-32. doi: 10.1016/j.ajic.2008.03.002.

320) Owens CD, Stoessel K. Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. J Hosp Infect. 2008 Nov;70 Suppl 2:3-10. doi: 10.1016/S0195-6701(08)60017-1.
321) Ostling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. Biochem Biophys Res Commun. 1984 Aug 30;123(1):291-8.
322) Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu JC, Sasaki YF. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. Environ Mol Mutagen. 2000;35(3):206-21.
323) Collins AR, Azqueta A. DNA repair as a biomarker in human biomonitoring studies; further applications of the comet assay. Mutat Res. 2012 Aug 1;736(1-2):122-9. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.03.005.
324) Vacek A, Hofer M, Hromas J, Luksíková E, Svoboda J, Schneiderová H. Hemopoiesis-stimulating effects and enhanced survival of irradiated mice after peroral or intraperitoneal administration of ultrafiltered pig leukocyte extract (UPLE, IMUNOR). Immunopharmacol Immunotoxicol. 2002 Nov;24(4):651-64.
325) Hofer M, Vacek A, Holá J, Weiterová L, Streitová D. Peroral IMUNOR, a low-molecular-weight immunomodulator prepared from disintegrated and ultrafiltered leukocytes, enhances recovery from myelosuppression induced by cisplatin or 5-fluorouracil. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2006;28(1):1-11.
326) Hofer M, Vacek A, Lojek A, Holá J, Streitová D. Ultrafiltered pig leukocyte extract (IMUNOR) decreases nitric oxide formation and hematopoiesis-stimulating cytokine production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. Int Immunopharmacol. 2007 Oct;7(10):1369-74.
327) Tristani-Firouzi P, Petersen MJ, Saffle JR, Morris SE, Zone JJ. Treatment of toxic epidermal necrolysis with intravenous immunoglobulin in children. J Am Acad Dermatol. 2002 Oct;47(4):548-52.
328) Hsu DY, Brieva J, Silverberg NB, Paller AS, Silverberg JI. Pediatric Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in the United States. J Am Acad Dermatol. 2017 May;76(5):811-817.e4. doi: 10.1016/j.jaad.2016.12.024.
329) Spies M, Sanford AP, Aili Low JF, Wolf SE, Herndon DN. Treatment of extensive toxic epidermal necrolysis in children. Pediatrics. 2001 Nov;108(5):1162-8.
330) Haber J, Hopman W, Gomez M, Cartotto R. Late outcomes in adult survivors of toxic epidermal necrolysis after treatment in a burn center. J Burn Care Rehabil. 2005 Jan-Feb;26(1):33-41.
331) Ying S, Ho W, Chan HH. Toxic epidermal necrolysis: 10 years experience of a burns centre in Hong Kong. Burns. 2001 Jun;27(4):372-5.
332) Struck MF, Illert T, Schmidt T, Reichelt B, Steen M. Secondary abdominal compartment syndrome in patients with toxic epidermal necrolysis. Burns. 2012 Jun;38(4):562-7. doi: 10.1016/j.burns.2011.10.004.
333) Weinand C, Xu W, Perbix W, Lefering R, Maegele M, Rathert M, Spilker G. 27 years of a single burn centre experience with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: analysis of mortality risk for causative agents. Burns. 2013 Nov;39(7):1449-55. doi: 10.1016/j.burns.2013.03.011.
334) Dalli RL, Kumar R, Kennedy P, Maitz P, Lee S, Johnson R. Toxic epidermal necrolysis/Stevens-Johnson syndrome: current trends in management. ANZ J Surg. 2007 Aug;77(8):671-6.
335) Ioannides D, Vakali G, Chrysomallis F, Chaidemenos G, Mpatsios K, Mourellou O, Minas A. Toxic epidermal necrolysis: a study of 22 cases. J Eur Acad Dermatol Venereol. 1994;3(3):266-75.

336) Cartotto R, Mayich M, Nickerson D, Gomez M. SCORTEN accurately predicts mortality among toxic epidermal necrolysis patients treated in a burn center. J Burn Care Res. 2008 Jan-Feb;29(1):141-6. doi: 10.1097/BCR.0b013e31815f3865.
337) Frey N, Jossi J, Bodmer M, Bircher A, Jick SS, Meier CR, Spoendlin J. The Epidemiology of Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis in the UK. J Invest Dermatol. 2017 Jun;137(6):1240-1247. doi: 10.1016/j.jid.2017.01.031.
338) Hsu DY, Brieva J, Silverberg NB, Silverberg JI. Morbidity and Mortality of Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis in United States Adults. J Invest Dermatol. 2016 Jul;136(7):1387-97. doi: 10.1016/j.jid.2016.03.023.
339) Ferrell PB Jr, McLeod HL. Carbamazepine, HLA-B*1502 and risk of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: US FDA recommendations. Pharmacogenomics. 2008 Oct;9(10):1543-6. doi: 10.2217/14622416.9.10.1543.
340) Hung SI, Chung WH, Liu ZS, Chen CH, Hsih MS, Hui RC, Chu CY, Chen YT. Common risk allele in aromatic antiepileptic-drug induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Han Chinese. Pharmacogenomics. 2010 Mar;11(3):349-56. doi: 10.2217/pgs.09.162.
341) Génin E, Schumacher M, Roujeau JC, Naldi L, Liss Y, Kazma R, Sekula P, Hovnanian A, Mockenhaupt M. Genome-wide association study of Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis in Europe. Orphanet J Rare Dis. 2011 Jul 29;6:52. doi: 10.1186/1750-1172-6-52.
342) Auquier-Dunant A, Mockenhaupt M, Naldi L, Correia O, Schröder W, Roujeau JC; SCAR Study Group. Severe Cutaneous Adverse Reactions. Correlations between clinical patterns and causes of erythema multiforme majus, Stevens-Johnson syndrome, and toxic epidermal necrolysis: results of an international prospective study. Arch Dermatol. 2002 Aug;138(8):1019-24.
343) Wanat KA, Anadkat MJ, Klekotka PA. Seasonal variation of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis associated with trimethoprim-sulfamethoxazole. J Am Acad Dermatol. 2009 Apr;60(4):589-94. doi: 10.1016/j.jaad.2008.11.884.
344) Tay YK, Huff JC, Weston WL. Mycoplasma pneumoniae infection is associated with Stevens-Johnson syndrome, not erythema multiforme (von Hebra). J Am Acad Dermatol. 1996 Nov;35(5 Pt 1):757-60.
345) Baker MG, Cresce ND, Ameri M, Martin AA, Patterson JW, Kimpel DL. Systemic lupus erythematosus presenting as Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. J Clin Rheumatol. 2014 Apr;20(3):167-71. doi: 10.1097/RHU.0000000000000088.
346) Hung CC, Liu WC, Kuo MC, Lee CH, Hwang SJ, Chen HC. Acute renal failure and its risk factors in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Am J Nephrol. 2009;29(6):633-8. doi: 10.1159/000195632.
347) Ishida T, Ito A, Sato F, Kusumoto S, Iida S, Inagaki H, Morita A, Akinaga S, Ueda R. Stevens-Johnson Syndrome associated with mogamulizumab treatment of adult T-cell leukemia / lymphoma. Cancer Sci. 2013 May;104(5):647-50. doi: 10.1111/cas.12116.
348) Ziemer M, Kardaun SH, Liss Y, Mockenhaupt M. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in patients with lupus erythematosus: a descriptive study of 17 cases from a national registry and review of the literature. Br J Dermatol. 2012 Mar;166(3):575-600. doi: 10.1111/j.1365-2133.2011.10705.x.
349) Rowell NR, Beck JS, Anderson JR. Lupus erythematosus and erythema multiforme-like lesions. A syndrome with characteristic immunological abnormalities. Arch Dermatol. 1963 Aug;88:176-80.

350) Duarte AF, Mota A, Pereira M, Baudrier T, Azevedo F. Rowell syndrome - case report and review of the literature. Dermatol Online J. 2008 Mar 15;14(3):15.
351) Zeitouni NC, Funaro D, Cloutier RA, Gagné E, Claveau J. Redefining Rowell's syndrome. Br J Dermatol. 2000 Feb;142(2):343-6.
352) Rosen AC, Balagula Y, Raisch DW, Garg V, Nardone B, Larsen N, Sorrell J, West DP, Anadkat MJ, Lacouture ME. Life-threatening dermatologic adverse events in oncology. Anticancer Drugs. 2014 Feb;25(2):225-34. doi: 10.1097/CAD.0000000000000032.
353) Valeyrie-Allanore L, Poulalhon N, Fagot JP, Sekula P, Davidovici B, Sidoroff A, Mockenhaupt M. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis induced by amifostine during head and neck radiotherapy. Radiother Oncol. 2008 May;87(2):300-3. doi: 10.1016/j.radonc.2008.01.021.
354) Then C, von Einem JC, Müller D, Flaig MJ, Huber RM, Reincke M. Toxic epidermal necrolysis after pemetrexed and cisplatin for non-small cell lung cancer in a patient with sharp syndrome. Onkologie. 2012;35(12):783-6. doi: 10.1159/000345109.
355) Doesch J, Debus D, Meyer C, Papadopoulos T, Schultz ES, Ficker JH, Brueckl WM. Afatinib-associated Stevens-Johnson syndrome in an EGFR-mutated lung cancer patient. Lung Cancer. 2016 May;95:35-8. doi: 10.1016/j.lungcan.2016.02.015.
356) Wilson FP, Berns JS. Onco-nephrology: tumor lysis syndrome. Clin J Am Soc Nephrol. 2012 Oct;7(10):1730-9. doi: 10.2215/CJN.03150312.
357) Ryu HJ, Song R, Kim HW, Kim JH, Lee EY, Lee YJ, Song YW, Lee EB. Clinical risk factors for adverse events in allopurinol users. J Clin Pharmacol. 2013 Feb;53(2):211-6. doi: 10.1177/0091270012439715.
358) Fournier S, Bastuji-Garin S, Mentec H, Revuz J, Roujeau JC. Toxic epidermal necrolysis associated with Mycoplasma pneumoniae infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1995 Jun;14(6):558-9.
359) Mulvey JM, Padowitz A, Lindley-Jones M, Nickels R. Mycoplasma pneumoniae associated with Stevens Johnson syndrome. Anaesth Intensive Care. 2007 Jun;35(3):414-7.
360) Saiag P, Caumes E, Chosidow O, Revuz J, Roujeau JC. Drug-induced toxic epidermal necrolysis (Lyell syndrome) in patients infected with the human immunodeficiency virus. J Am Acad Dermatol. 1992 Apr;26(4):567-74.
361) Budamakuntla L, Loganathan E, Suryanarayan S, Abhishek K, Sarvajnamurthy S. Nevirapine induced toxic epidermal necrolysis and non-Hodgkin lymphoma in a Human Immunodeficiency Virus positive patient. Indian Dermatol Online J. 2014 Apr;5(2):179-81. doi: 10.4103/2229-5178.131096.
362) Taqi SA, Zaki SA, Nilofer AR, Sami LB. Trimethoprim-sulfamethoxazole-induced Steven Johnson syndrome in an HIV-infected patient. Indian J Pharmacol. 2012 Jul-Aug;44(4):533-5. doi: 10.4103/0253-7613.99346.
363) Rezakovic S, Pastar Z, Kostovic K. Cutaneous adverse drug reactions caused by antituberculosis drugs. Inflamm Allergy Drug Targets. 2014;13(4):241-8.
364) Jung SO, Cho MJ, Park DI, Kim SY, Kim JO, Jung SS, Park HS, Lee JE, Moon JY, Chung CU. Stevens-Johnson Syndrome and Hypothermia Associated with Anti-tuberculosis Medication in a Patient with Heart Failure. Chin Med J (Engl). 2015 Oct 20;128(20):2837-8. doi: 10.4103/0366-6999.167373.
365) Canavan TN, Mathes EF, Frieden I, Shinkai K. Mycoplasma pneumoniae-induced rash and mucositis as a syndrome distinct from Stevens-Johnson syndrome and erythema multiforme: a systematic review. J Am Acad Dermatol. 2015 Feb;72(2):239-45. doi: 10.1016/j.jaad.2014.06.026.

366) Boorboor P, Vogt PM, Bechara FG, Alkandari Q, Aust M, Gohritz A, Spies M. Toxic epidermal necrolysis: use of Biobrane or skin coverage reduces pain, improves mobilisation and decreases infection in elderly patients. Burns. 2008 Jun;34(4):487-92.
367) Gerdts B, Vloemans AF, Kreis RW. Toxic epidermal necrolysis: 15 years' experience in a Dutch burns centre. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2007 Jul;21(6):781-8.
368) Yarbrough DR 3rd. Experience with toxic epidermal necrolysis treated in a burn center. J Burn Care Rehabil. 1996 Jan-Feb;17(1):30-3.
369) Lebargy F, Wolkenstein P, Gisselbrecht M, Lange F, Fleury-Feith J, Delclaux C, Roupie E, Revuz J, Roujeau JC. Pulmonary complications in toxic epidermal necrolysis: a prospective clinical study. Intensive Care Med. 1997 Dec;23(12):1237-44.
370) Tan AW, Thong BY, Yip LW, Chng HH, Ng SK. High-dose intravenous immunoglobulins in the treatment of toxic epidermal necrolysis: an Asian series. J Dermatol. 2005 Jan;32(1):1-6.
371) Bequignon E, Duong TA, Sbidian E, Valeyrie-Allanore L, Ingen-Housz-Oro S, Chatelin V, Coste A, Wolkenstein P, Chosidow O, Papon JF. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: ear, nose, and throat description at acute stage and after remission. JAMA Dermatol. 2015 Mar;151(3):302-7. doi: 10.1001/jamadermatol.2014.4844.
372) McIvor RA, Zaidi J, Peters WJ, Hyland RH. Acute and chronic respiratory complications of toxic epidermal necrolysis. J Burn Care Rehabil. 1996 May-Jun;17(3):237-40.
373) Thimmesch M, Gilbert A, Tuerlinckx D, Bodart E. Chronic respiratory failure due to toxic epidermal necrosis in a 10 year old girl. Acta Clin Belg. 2015 Feb;70(1):69-71. doi: 10.1179/2295333714Y.0000000086.
374) Yamane Y, Aihara M, Ikezawa Z. Analysis of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japan from 2000 to 2006. Allergol Int. 2007 Dec;56(4):419-25.
375) Williams R, Hodge J, Ingram W. Indications for intubation and early tracheostomy in patients with Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis. Am J Surg. 2016 Apr;211(4):684-688.e1. doi: 10.1016/j.amjsurg.2015.12.011.
376) Imahara SD, Holmes JH 4th, Heimbach DM, Engrav LE, Honari S, Klein MB, Gibran NS. SCORTEN overestimates mortality in the setting of a standardized treatment protocol. J Burn Care Res. 2006 May-Jun;27(3):270-5.
377) Dorafshar AH, Dickie SR, Cohn AB, Aycock JK, O'Connor A, Tung A, Gottlieb LJ. Antishear therapy for toxic epidermal necrolysis: an alternative treatment approach. Plast Reconstr Surg. 2008 Jul;122(1):154-60. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181773d5d.
378) Kelemen JJ 3rd, Cioffi WG, McManus WF, Mason AD Jr, Pruitt BA Jr. Burn center care for patients with toxic epidermal necrolysis. J Am Coll Surg. 1995 Mar;180(3):273-8.
379) McGee T, Munster A. Toxic epidermal necrolysis syndrome: mortality rate reduced with early referral to regional burn center. Plast Reconstr Surg. 1998 Sep;102(4):1018-22.
380) Chan HL, Stern RS, Arndt KA, Langlois J, Jick SS, Jick H, Walker AM. The incidence of erythema multiforme, Stevens-Johnson syndrome, and toxic epidermal necrolysis. A population-based study with particular reference to reactions caused by drugs among outpatients. Arch Dermatol. 1990 Jan;126(1):43-7.

381) Fitzgerald DA, Smith AG, Suarez V, Daggett PR. Stevens- -Johnson syndrome and toxic hepatitis induced by nitrofurantoin: a case report. J Dermatol Treat 1993; 4: 211–213.
382) Velema MS, Voerman HJ. DRESS syndrome caused by nitrofurantoin. Neth J Med. 2009 Apr;67(4):147-9.
383) Halevy S, Ghislain PD, Mockenhaupt M, Fagot JP, Bouwes Bavinck JN, Sidoroff A, Naldi L, Dunant A, Viboud C, Roujeau JC; EuroSCAR Study Group. Allopurinol is the most common cause of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Europe and Israel. J Am Acad Dermatol. 2008 Jan;58(1):25-32.
384) Mockenhaupt M, Messenheimer J, Tennis P, Schlingmann J. Risk of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in new users of antiepileptics. Neurology. 2005 Apr 12;64(7):1134-8.
385) Sharma VK, Sethuraman G, Minz A. Stevens Johnson syndrome, toxic epidermal necrolysis and SJS-TEN overlap: a retrospective study of causative drugs and clinical outcome. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2008 May-Jun;74(3):238-40.
386) Levi N, Bastuji-Garin S, Mockenhaupt M, Roujeau JC, Flahault A, Kelly JP, Martin E, Kaufman DW, Maison P. Medications as risk factors of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in children: a pooled analysis. Pediatrics. 2009 Feb;123(2):e297-304. doi: 10.1542/peds.2008-1923.
387) Vaishampayan SS, Das AL, Verma R. SCORTEN: does it need modification? Indian J Dermatol Venereol Leprol 2008; 74:35–7.
388) Guégan S, Bastuji-Garin S, Poszepczynska-Guigné E, Roujeau JC, Revuz J. Performance of the SCORTEN during the first five days of hospitalization to predict the prognosis of epidermal necrolysis. J Invest Dermatol. 2006 Feb;126(2):272-6.
389) Roujeau JC, Bastuji-Garin S. Systematic review of treatments for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis using the SCORTEN score as a tool for evaluating mortality. Ther Adv Drug Saf. 2011 Jun;2(3):87-94. doi: 10.1177/2042098611404094.
390) Le HG, Saeed H, Mantagos IS, Mitchell CM, Goverman J, Chodosh J. Burn unit care of Stevens Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: A survey. Burns. 2016 Jun;42(4):830-5. doi: 10.1016/j.burns.2015.12.001.
391) Borchers AT, Lee JL, Naguwa SM, Cheema GS, Gershwin ME. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Autoimmun Rev 2008;7:598–605.
392) Fernando SL. The management of toxic epidermal necrolysis. Australas J Dermatol 2012;53:165–71.
393) Mukasa Y, Craven N. Management of toxic epidermal necrolysis and related syndromes. Postgrad Med J 2008;84:60–5.
394) Endorf FW, Cancio LC, Gibran NS. Toxic epidermal necrolysis clinical guidelines. J Burn Care Res 2008;29: 706–12.
395) Fromowitz JS, Ramos-Caro FA, Flowers FP. Practical guidelines for the management of toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome. Int J Dermatol 2007;46:1092–4.
396) Kim HI, Kim SW, Park GY, Kwon EG, Kim HH, Jeong JY, Chang HH, Lee JM, Kim NS. Causes and treatment outcomes of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in 82 adult patients. Korean J Intern Med. 2012 Jun;27(2):203-10. doi: 10.3904/kjim.2012.27.2.203.
397) Moet GJ, Jones RN, Biedenbach DJ, Stilwell MG, Fritsche TR. Contemporary causes of skin and soft tissue infections in North America, Latin America, and Europe: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-2004). Diagn Microbiol Infect Dis. 2007 Jan;57(1):7-13.

398) Sebeny PJ, Riddle MS, Petersen K. Acinetobacter baumannii skin and soft-tissue infection associated with war trauma. Clin Infect Dis. 2008 Aug 15;47(4):444-9. doi: 10.1086/590568.
399) Tekin R, Dal T, Bozkurt F, Deveci O, Palanc Y, Arslan E, Selçuk CT, Hoşoğlu S. Risk factors for nosocomial burn wound infection caused by multidrug resistant Acinetobacter baumannii. J Burn Care Res. 2014 Jan-Feb;35(1):e73-80. doi: 10.1097/BCR.0b013e31828a493f.
400) Babík J, Bodnárová L, Sopko K. Acinetobacter-- serious danger for burn patients. Acta Chir Plast. 2008;50(1):27-32.
401) Perween N, Prakash SK, Siddiqui O. Multi Drug Resistant Klebsiella Isolates in Burn Patients: A Comparative Study. J Clin Diagn Res. 2015 Sep;9(9):DC14-6. doi: 10.7860/JCDR/2015/13837.6576.
402) Gravante G, Esposito G, Delogu D, Montone A, Sconocchia G. More than two different bacterial species isolated from blood of toxic epidermal necrolysis patients significantly increase mortality. Burns. 2006 Sep;32(6):793-4.
403) de Prost N, Ingen-Housz-Oro S, Duong Ta, Valeyrie-Allanore L, Legrand P, Wolkenstein P, Brochard L, Brun-Buisson C, Roujeau JC. Bacteremia in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: epidemiology, risk factors, and predictive value of skin cultures. Medicine (Baltimore). 2010 Jan;89(1):28-36. doi: 10.1097/MD.0b013e3181ca4290.
404) Mahar PD, Wasiak J, Cleland H, Paul E, Gin D, Watters DA, Marsh P, Padiglione AA. Secondary bacterial infection and empirical antibiotic use in toxic epidermal necrolysis patients. J Burn Care Res. 2014 Nov-Dec;35(6):518-24. doi: 10.1097/BCR.0000000000000062.
405) Zajicek R, Pintar D, Broz L, Suca H, Königova R. Toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome at the Prague Burn Centre 1998-2008. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2012 May;26(5):639-43. doi: 10.1111/j.1468-3083.2011.04143.x.
406) Tocco-Tussardi I, Huss F, Presman B. Microbiological findings and antibacterial therapy in Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis patients from a Swedish Burn Center. J Cutan Pathol. 2017 May;44(5):420-432. doi: 10.1111/cup.12894.
407) Rajaratnam R, Mann C, Balasubramaniam P, Marsden JR, Taibjee SM, Shah F, Lim R, Papini R, Moiemen N, Lewis H. Toxic epidermal necrolysis: retrospective analysis of 21 consecutive cases managed at a tertiary centre. Clin Exp Dermatol. 2010 Dec;35(8):853-62. doi: 10.1111/j.1365-2230.2010.03826.x.
408) Šrámek V, Dadák L, Štouračová M, Štětka P, Komolíková L, Kuklínek P. Immodin v léčbě imunoparalýzy nemocných v intenzivní péči. Vnitř Lék 2007; 53(9): 954–959.
409) Monneret G, Lepape A, Voirin N et al. Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock. Intensive Care Med 2006; 32: 1175–1183.
410) Nierhaus A, Schneider CG, Frings D et al. Sequential assessment of immune function in SIRS and sepsis:monocyte function, severity and outcome. Intensive Care Med 2001; 27(Suppl 2): S199.
411) Morris RG. Cyclosporin therapeutic drug monitoring--an established service revisited. Clin Biochem Rev. 2003 May;24(2):33-46.
412) Mohammadpour N, Elyasi S, Vahdati N, Mohammadpour AH, Shamsara J. A review on therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs. Iran J Basic Med Sci. 2011 Nov;14(6):485-98.
413) Collins AR, Duthie SJ, Dobson VL. Direct enzymic detection of endogenous oxidative base damage in human lymphocyte DNA. Carcinogenesis. 1993 Sep;14(9):1733-5.

414) Dusinska M, Collins AJ. Detection of oxidised purines and UV-induced photoproducts in DNA of single cells, by inclusion of lesion-specific enzymes in the comet assay. Alternatives to laboratory animals. 1996;24:405-411.
415) Collins AR, Dobson VL, Dusinská M, Kennedy G, Stětina R. The comet assay: what can it really tell us? Mutat Res. 1997 Apr 29;375(2):183-93.
416) Collins AR, Dusinská M, Horská A. Detection of alkylation damage in human lymphocyte DNA with the comet assay. Acta Biochim Pol. 2001;48(3):611-4.
417) Dvořák M. Sledování poškození DNA metodou kometové analýzy. Brno, 2013. Dizertační práce (Ph.D.). Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, Biochemický ústav, 2013-09-26.
418) Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. Free Radic Biol Med. 1991;11(1):81-128.
419) Csala M, Kardon T, Legeza B, Lizák B, Mandl J, Margittai É, Puskás F, Száraz P, Szelényi P, Bánhegyi G. On the role of 4-hydroxynonenal in health and disease. Biochim Biophys Acta. 2015 May;1852(5):826-38. doi: 10.1016/j.bbadis.2015.01.015.
420) Shoeb M, Ansari NH, Srivastava SK, Ramana KV. 4-Hydroxynonenal in the pathogenesis and progression of human diseases. Curr Med Chem. 2014;21(2):230-7.
421) Barrera G, Pizzimenti S, Ciamporcero ES, Daga M, Ullio C, Arcaro A, Cetrangolo GP, Ferretti C, Dianzani C, Lepore A, Gentile F. Role of 4-hydroxynonenal-protein adducts in human diseases. Antioxid Redox Signal. 2015 Jun 20;22(18):1681-702. doi: 10.1089/ars.2014.6166.
422) Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2' -deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. 2009 Apr;27(2):120-39. doi: 10.1080/10590500902885684.
423) Di Minno A, Turnu L, Porro B, Squellerio I, Cavalca V, Tremoli E, Di Minno MN. 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine Levels and Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of the Literature. Antioxid Redox Signal. 2016 Apr 1;24(10):548-55. doi: 10.1089/ars.2015.6508.
424) Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. Clin Chim Acta. 2004 Jan;339(1-2):1-9.
425) Mesaros C, Arora JS, Wholer A, Vachani A, Blair IA. 8-Oxo-2'-deoxyguanosine as a biomarker of tobacco-smoking-induced oxidative stress. Free Radic Biol Med. 2012 Aug 1;53(3):610-7. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.04.006.
426) Zengi O, Karakas A, Ergun U, Senes M, Inan L, Yucel D. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine level and plasma paraoxonase 1 activity with Alzheimer's disease. Clin Chem Lab Med. 2011 Nov 18;50(3):529-34. doi: 10.1515/CCLM.2011.792.
427) Rall LC, Roubenoff R, Meydani SN, Han SN, Meydani M. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) as a marker of oxidative stress in rheumatoid arthritis and aging: effect of progressive resistance training. J Nutr Biochem. 2000 Nov;11(11-12):581-584.
428) Nakai K, Yoneda K, Maeda R, Munehiro A, Fujita N, Yokoi I, Moriue J, Moriue T, Kosaka H, Kubota Y. Urinary biomarker of oxidative stress in patients with psoriasis vulgaris and atopic dermatitis. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2009 Dec;23(12):1405-8.
429) Ahsan H. 3-Nitrotyrosine: A biomarker of nitrogen free radical species modified proteins in systemic autoimmunogenic conditions. Hum Immunol. 2013 Oct;74(10):1392-9. doi: 10.1016/j.humimm.2013.06.009.

430) Baraldi E, Giordano G, Pasquale MF, Carraro S, Mardegan A, Bonetto G, Bastardo C, Zacchello F, Zanconato S. 3-Nitrotyrosine, a marker of nitrosative stress, is increased in breath condensate of allergic asthmatic children. Allergy. 2006 Jan;61(1):90-6.
431) Kastenbauer S, Koedel U, Pfister HW. Role of peroxynitrite as a mediator of pathophysiological alterations in experimental pneumococcal meningitis. J Infect Dis. 1999 Oct;180(4):1164-70.
432) Kastenbauer S, Koedel U, Becker BF, Pfister HW. Oxidative stress in bacterial meningitis in humans. Neurology. 2002 Jan 22;58(2):186-91.

12. Seznam příloh

Příloha 1: Lipový B. Současné poznatky imunogenetiky ve vztahu k rozvoji závažných polékových kožních reakcí. Dermatol Praxi. 2015;9(3):124-127.

Příloha 2: Lipový B, Baran M. A draft of bronchoscopic grading system in patients with toxic epidermal necrolysis. Burns. 2017 Jun;43(4):890-892. doi: 10.1016/j.burns.2017.01.005.

Příloha 3: Lipový B. A potential new sign in patients with toxic epidermal necrolysis. Burns. 2016 Nov;42(7):1618-1620. doi: 10.1016/j.burns.2016.07.014.

Příloha 4: Lipový B, Brychta P, Chaloupková Z, Suchánek I. Staphylococcal scalded skin syndrome in the Czech Republic: an epidemiological study. Burns. 2012; 38(2):296-300. doi:10.1016/j.burns.2011.08.005.

Příloha 5: Nešpor D, Lipový B, Gregorová N. Cyklosporin A v terapii toxické epidermální nekrolýzy. Dermatol Praxi. 2011;5(3):156-159.

Příloha 6: Lipový B, Holoubek J. Současný pohled na roli inhibitorů TNFα v terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. Klin Farmakol Farm. 2016;30(4): 24–27.

Příloha 7: Lipový B, Řihová H, Kaloudová Y, Mager R, Suchánek I. Use of Xe-Derma®, a novel biological cover, in a female patient with toxic epidermal necrolysis. Ann Burns Fire Disasters. 2014;27(3):136-140.

Příloha 8: Lipový B, Holoubek J, Řihová H, Hanslianová M, Klučková M, Suchánek I. In vitro model antimikrobiální aktivity octenidin dihydrochloridu vůči epidemiologicky nejdůležitějším patogenům pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. XV. Celostátní kongres s mezinárodní účastí na téma: Mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů. Pardubice, 2017.

Příloha 9: Podmelle F, Barret JP, Lipový B, Rennekampff HO, Schumann H, Schwieger-Briel A, Zahn T, Metelmann I. Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: results of a randomized phase III clinical trials program. Burns. 2017, In press.

Příloha 10: Lipový B, Matejovičová M, Řihová H, Štikarovská M, Novotná L, Hlaváčová M, Paulová H, Suchánek I, Brychta P. The application of comet assay in monitoring of the immunosuppression level in patient with toxic epidermal necrolysis: a case report. Burns open. 2017, In press.

Příloha 11: Lipový B, Cvanová M. The role of antithrombin in patients with toxic epidermal necrolysis. Burns. 2017 Aug;43(5):1135-1137. doi: 10.1016/j.burns.2017.01.031.

Příloha 12: Lipový B, Holoubek J, Hanslianová M, Cvanová M, Klein L, Grossová I, Zajíček R, Bukovčan P, Koller J, Baran M, Lengyel P, Eimer L, Jandová M, Košťál M, Brychta P; CELESTE Study Group. Toxic epidermal necrolysis data from the CELESTE multinational registry. Part I: Epidemiology and general microbiological characteristics. Burns. 2017, In review.

Příloha 13: Lipový B, Holoubek J, Hanslianová M, Cvanová M, Klein L, Grossová I, Zajíček R, Bukovčan P, Koller J, Baran M, Lengyel P, Eimer L, Jandová M, Košťál M, Brychta P; CELESTE Study Group. Toxic epidermal necrolysis data from the CELESTE multinational registry. Part II: Specific systemic and local risk factors for development of infectious complications. Burns. 2017, In review.

Příloha 14: Lipový B, Řihová H, Wilková M, Hanslianová M, Kyclová J, Brychta P. První případ nitrofurantoinem indukované toxické epidermální nekrolýzy? Dermatol praxi. 2016;10(4):197-200.

Příloha 15: Lipový B, Řihová H, Hanslianová M, Suchánek I, Brychta P. Stenotrophomonas maltophilia as the cause of ventilator-associated pneumonia in a female patient with toxic epidermal necrolysis and Clostridium colitis: time for off-label tigecycline? Epidemiol Mikrobiol Imunol. 2016;65(3):177-181.

Příloha 16: Dokument upravující podmínky před a během transferu pacientů s TEN do popáleninových center.

Příloha 17: Lipový B, Řihová H, Hanslianová M, Chaloupková Z, Hromaníková M, Pavlovsky Z, Kempný T, Suchanek I, Brychta P. Fatal progression of multifocal infection of Aspergillus sp. and multi-resistant Pseudomonas aeruginosa in a patient with toxic epidermal necrolysis and renal cancer. Epidemiol Mikrobiol Imunol. 2017;66(3):128-132.

Příloha 1: Lipový B. Současné poznatky imunogenetiky ve vztahu k rozvoji závažných polékových kožních reakcí. Dermatol Praxi. 2015;9(3):124-127.

Současné poznatky imunogenetiky ve vztahu k rozvoji závažných polékových kožních reakcí

MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D.
Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno
Lékařská fakulta Masarykova Univerzita Brno

Toxická epidermální nekrolýza (TEN) a Stevens-Johnsonův syndrom (SJS) patří do širší skupiny závažných polékových kožních reakcí (SCARs – Severe cutaneous adverse reactions). Do této skupiny patří také DRESS (Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms) a DIHS (Drug induced hypersenzitivity syndrome). V průběhu posledního desetiletí dochází k progresi povědomí o patofyziologické povaze jednotlivých syndromů a mechanizmů účinku léků, které k rozvoji těchto stavů vedou. Díky případům nakupení těchto stavů u příbuzných pacientů se došlo k názoru, že za řadou SCARs může být genetická predispozice (zejména v oblasti hlavního histokompatibilního komplexu-MHC). Z tohoto pohledu jsou nejlépe prozkoumané zejména antikonvulziva (lamotrigin, fenytoin, karbamazepin), allopurinol, či některá antiretrovirotika (nevirapin). Následující přehledový článek se pokouší shrnout nejaktuálnější informace z této oblasti.

Klíčová slova: toxická epidermální nekrolýza, Stevens-Johnsonův syndrom, HLA systém.

Recent findings of immunogenetics in relation to the development of serious drug-induced skin reactions

Toxická epidermální nekrolýza (TEN) a Stevens-Johnsonův syndrom (SJS) patří do širší skupiny závažných polékových kožních reakcí (SCARs – Severe cutaneous adverse reactions). Do této skupiny patří také DRESS (Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms) a DIHS (Drug induced hypersenzitivity syndrome). V průběhu posledního desetiletí dochází k progresi povědomí o patofyziologické povaze jednotlivých syndromů a mechanizmů účinku léků, které k rozvoji těchto stavů vedou. Díky případům nakupení těchto stavů u příbuzných pacientů se došlo k názoru, že za řadou SCARs může být genetická predispozice (zejména v oblasti hlavního histokompatibilního komplexu-MHC). Z tohoto pohledu jsou nejlépe prozkoumané zejména antikonvulziva (lamotrigin, fenytoin, karbamazepin), allopurinol, či některá antiretrovirotika (nevirapin). Následující přehledový článek se pokouší shrnout nejaktuálnější informace z této oblasti.

Key words: toxic epidermal necrolysis, Stevens-Johnson syndrome, HLA system.

Dermatol. praxi 2015; 9(3): 124–127

Úvod

Toxická epidermální nekrolýza (TEN) a Stevens-Johnsonův syndrom (SJS) patří k závažným kožním polékovým reakcím (SCARs – Severe cutaneous adverse reactions). Do této skupiny patří také další dva syndromy, které nesou označení DRESS (Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms) a DIHS (Drug induced hypersenzitivity syndrome) (1). TEN patří k nejzávažnějším syndromům ze skupiny SCARs a je zatížena vysokou mortalitou kolem 30 % (2). I když se dnes postupem času objevují střípky její patofyziologické povahy, stále v mnohých případech tápeme. Jedná se o polékovou toxoalergickou reakci, ovšem udává se, že v 4–10 % není v anamnéze pacientů s rozvojem TEN zjištěn žádný medikament (3). V rámci patofyziologie dominuje indukce apoptózy v oblasti dermo-epidermální junkce. Při vystupňování apoptózy je patrný jeden z důležitých klinických znaků – Nikolského fenomén (obrázek 1).

Tento syndrom poprvé popsal Alan Lyell, skotský dermatolog, v roce 1956 u 4 pacientů. I když v jeho původním pojednání šlo o dvě dnes již odlišné příčiny rozvoje exfoliativního onemocnění, stafylokokový syndrom opařené kůže a toxickou epidermální nekrolýzu, není pochyb o tom, že patřil k pionýrům v popisu do té doby neznámého syndromu (4). Proto dnes toxická epidermální nekrolýza nese jeho jméno, Lyellův syndrom. V době, kdy popsal Lyell nové bulózní onemocnění, odborná veřejnost byla již dávno seznámena s tzv. Stevens-Johnsonovým syndromem. Již v roce 1922 si Stevens a Johnson všimli dvou případů dětí s erozivní stomatitidou, febrilií, konjuktivitidou a kožními erupcemi charakteru spíše makul nežli bul (některé obsahovaly i nekrotické centrum) (5).

Obrázek 1. Nikolského fenomén u pacienta s toxickou epidermální nekrolýzou

Epidemiologie

Výskyt obou syndromů je, nejen v evropské populaci, zcela raritní. Velké studie, které se zabývají epidemiologickou charakteristikou, vykazují incidenci u SJS okolo 4–6 případů/milion obyvatel a rok. Z pohledu výskytu je TEN ještě daleko vzácnější nežli SJS, jeho incidence se pohybuje okolo 0,5–2 případy/milion obyvatel a rok. Data získaná z Ústavu zdravotnických informací a statistiky (ÚZIS), porovnávaná s jednotlivými popáleninovými centry, ukazují, že průměrný výskyt v České republice je v případě SJS 2,64 případů/milion obyvatel a rok a v případě TEN 0,93 případů/milion obyvatel a rok (6). Počet hlášených případů SJS a TEN v jednotlivých letech období 1994–2010 je znázorněn v grafu 1.

Nejčastější léky v rozvoji TEN nebo SJS

Dnes je známo přes 200 preparátů, které jsou podezřelé z rozvoje SJS nebo TEN, a stále přibývají další. Data z nejrecentnějších prací popisují rozvoj bulózního onemocnění po požití například danazolu, telapreviru, dronedaronu,

vemurafenibu, vorikonazolu aj. (7, 8, 9, 10, 11). Naopak u řady preparátů je tento potenciál znám již několik desetiletí. Většinou se kožní projevy začnou manifestovat do 3 týdnů po zahájení terapie, ojediněle se vyskytnou až po 8 týdnech. Nejčastěji zmiňované preparáty v rozvoji SJS nebo TEN jsou znázorněny v tabulce 1.

Asociace HLA systému a SCARs

Za posledních deset let došlo k výraznému pokroku z pohledu pochopení samotného mechanizmu indukce rozvoje nejen TEN, ale většiny bulózních onemocnění. U řady pacientů, s různým typem SCARs, byla zjištěna pozitivní rodinná anamnéza. Tato skutečnost vedla k hypotéze, že za rozvojem těchto syndromů může stát určitá genetická predispozice (asociace s HLA systémem) (12). Dnes mezi nejlépe prozkoumané preparáty patří antikonvulziva, allopurinol a antiretrovirotika.

Antikonvulziva (Lamotrigin, Fenytoin, Karbamazepin)

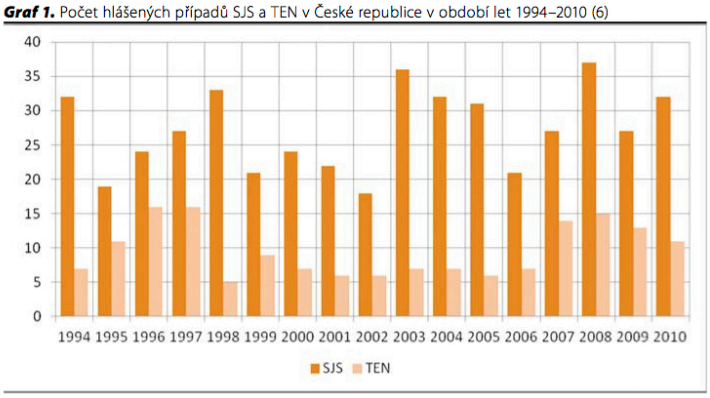
Karbamazepin je aromatické antikonvulzivum. Udává se, že během prvních tří měsíců používání dochází k mírnějším kožním reakcím u zhruba 10 % pacientů (spíše makulopapulózní erupce) (13). V souvislosti s karbamazepinem a genetickou podstatou SCARs existují nejrobustnější data u přítomnosti HLA-B*15:02 (pouze u pacientů se SJS/TEN) (14). Jedná se o data získaná výhradně z populačních studií v oblasti jihovýchodní Asie (Čína, Vietnam, Kambodža, Thajsko, Indie). Při dalším cíleném zkoumání na přítomnost HLA-B*15 : 02 u jiných populací (japonské, korejské nebo evropské) nebyly potvrzeny výsledky z populace jihovýchodní Asie (15). U pacientů těchto národností nebyla pozorována spojitost s rozvojem SJS/TEN a přítomnosti HLA-B*15 : 02. Za jedno z možných vysvětlení můžeme považovat samotnou variabilitu přítomnosti této alely na celém světě**.** Udává se, že alela HLA-B*15 : 02 je přítomna v populaci jihovýchodní Asie v 8 % (Čína 10,2 %, Malajsie 8,4 %, Thajsko 8,4 %, Indonésie až 16,7 %), u indické populace byl zjištěn výskyt této alely v 0–6 % v závislosti na samotném regionu (16). V jiných oblastech na světě nepřekračuje výskyttéto alely 1 % a např. v Evropě je její výskyt 0,4 % (12).

V roce 2014 byla publikována data srovnávající výskyt HLA-B*15 : 02 alely u pacientů užívající karbamazepin s a bez rozvoje SJS/TEN. Bylo zjištěno, že z 5 pacientů medikujících karbamazepin se SJS/TEN mají přítomnost této alely 2 pacienti, zatímco z 52 pacientů s karbamazepinem, ale bez SJS/TEN, pouze 2 pacienti (40 % vs. 3,8 %). OR 16,67; 95 % (1,70-162-96) P = 0,0349 (OR – Odds ratio, P – p value) (17).

Při dalším cíleném hledání specifických alel důležitých pro rozvoj jednotlivých SCARs byla objevena jiná, HLA-A*31 : 01, a to jednak u evropské, ale i japonské populace (18, 19). Dle publikovaných dat je možno říci, že přítomnost této alely může za rozvoj nejrůznějších SCARs během terapie karbamazepinem (SJS/TEN i DRESS). Výsledky tohoto prvního zjištění byly podrobeny meta-analýze v rámci specifického registru označeného jako RegiSCAR. Z tohoto registru vyplynulo, že HLA-A*31 : 01 je silně spojena s karbamazepinem indukovaným DRESS u evropské (OR 57,6; 95 % CI 11,0–340; P < 0,001) (CI – confidence interval) i čínské populace (OR 23,0; 95 % CI 4,2–125; P < 0,001), ale nebyla potvrzena asociace mezi přítomností této alely a rozvojem SJS/TEN po karbamazepinu (20). Pro přehlednost jsou data získaná z této metaanalýzy znázorněna v tabulce 2. Dle výsledků lze usuzovat, že v případě SJS/TEN byla přítomnost této alely v asijské skupině dokonce „protektivní" z pohledu rozvoje těchto syndromů (byla zaznamenána vyšší incidence nosičství u pacientů, kteří medikovali karbamazepin a nebyla u nich zaznamenána přítomnosti SJS/TEN). Přesto ani tyto výsledky nemusí znamenat, že přítomnost této alely není spojena s rozvojem i jiných SCARs než jen DRESS. Zvláště u SJS/TEN se dnes domníváme, že jde pouze o jakousi pohotovost k rozvoji těchto syndromů a že samotný syndrom musí být vázán na mnohdy i kombinaci několika faktorů (stres, menstruace, infekce apod.)

Další publikace pouze potvrdily výsledky z RegiSCAR registru. Dle publikovaných dat lze dnes říci, že použití detekce přítomnosti alely HLA-A*31 : 01 se nedá v evropské ani jiné populaci použít v rámci sreeningu pacientů užívajících karbamazepin z pohledu rozvoje SJS/TEN. V rámci testování přítomnosti dalších specifických alel, zejména v asijské populaci, bylo zjištěno, že přítomnost HLA-B*15:08 (indická populace), HLA-B*15 : 11 (korejská populace) a HLA-B*15 : 18 (japonská populace) může vést k indukci různých SCARs způsobených užíváním

Graf 1. Počet hlášených případů SJS a TEN v České republice v období let 1994–2010 (6)



Tabulka 1. Nejčastější preparáty, které jsou obviňovány z rozvoje SCARs (ACEI-Inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu, ASA – kyselina acetylsalicylová)

Allopurinol
Antibiotika (beta-laktamy, trimethoprim-sulfamethoxazol, makrolidy, chinolony)
Antiepileptika
Kortikosteroidy
Paracetamol, Indometacin, Ibuprofen, ACEI, ASA, Furosemid aj.

Tabulka 2. Spojitost mezi HLA-A*31 : 01 a SCARs po karbamazepinu (20)

	Evropa	Asie/Čína
DRESS přítomen	10 pacientů (7 +HLA-A*31:01) **70 %**	10 pacientů (5 +HLA-A*31:01) **50 %**
SJS/TEN přítomen	20 pacientů (3 +HLA-A*31:01) **15 %**	53 pacientů (1 +HLA-A*31:01) **1,9 %**
DRESS ani SJS/TEN Nepřítomen	257 pacientů (10 +HLA-A*31:01) **3,9 %**	72 pacientů (3 + HLA-A*31:01) **4,2 %**

karbamazepinu (12, 21, 22). Důvodem může být jejich vysoký stupeň aminokyselinové homologie právě s HLA-B*15:02 (23).

V rámci výše zmíněných dat reagovaly světové regulační a kontrolní orgány (FDA – Food and drug Administration) doporučením před začátkem terapie karbamazepinem u Asiatů vyšetřit právě přítomnost alely HLA-B*15:02 v rámci primární prevence rozvoje SCARs. Na druhou stranu Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) vydalo doporučení směřující k pacientům, kteří již užívají karbamazepin a jsou zároveň nosiči alely HLA-B*15:02. Pokud terapie trvala déle než 3 měsíce a nedošlo k zaznamenání žádné SCARs, může být karbamazepin dále s opatrností medikován (24).

V případě dalších antikonvulziv, jako jsou fenytoin a lamotrigin, je situace komplikovanější skutečností, že doposud chybí data z robustních studií. V případě fenytoinu, a zejména lamotriginu jde pouze o jednotky pacientů. Navíc všechna data pochází opět z jihovýhodní Asie, kde je incidence nosičů alely HLA-B*15:02 vysoká. Dá se tedy předpokládat, že její přítomnost může být spojená i s rozvojem SJS/TEN u pacientů užívajících fenytoin a lamotrigin? V roce 2013 odpublikovali Cheung a kol. data čínské populace, která se zabývají spojitostí přítomnosti HLA-B*15:02 a rozvojem SJS/TEN i u jiných aromatických antiepileptik (25). Z výsledků této studie je patrná velmi silná asociace přítomnosti HLA-B*15:02 a medikace fenytoinu v rozvoji SJS/TEN (OR 4,26; 95 % CI 1,93–9,93; P < 0,001). V případě lamotriginu již spojitost nebyla tak výrazná (OR 3,59; 95 % CI 1,15–11,22; P < 0,03). I když u ani jednoho z antiepileptik není závislost na přítomnosti alely HLA-B*15:02 tak výrazná jako v případě karbamazepinu, přesto i v indikaci fenytoinu vydala FDA doporučení, které u nosičů právě této alely doporučuje důrazně zvážit vyhnutí se fenytoinu jako alternativě za karbamazepin. V souvislosti s potenciálním rizikem rozvoje SJS/TEN po medikaci lamotriginu je nutno zmínit také práci Parka a kol. V jejich souboru bylo sice pouze 5 pacientů se SJS/TEN po lamotriginu, ale tři z nich byli nosiči alely HLA-B*44:03 (26).

Fricke-Galindo a kol. publikovali v roce 2014 výsledky studie asociace HLA alel a antiepileptik v mexické populaci (27). Celkem bylo do studie zařazeno 21 pacientů, u kterých došlo po podání karbamazepinu, fenytoinu nebo lamotriginu k rozvoji SCARs, 31, kteří tolerovali antiepileptika, a 225 zdravých dobrovolníků. Výskyt HLA-C*08:01 alely u skupiny s fenytoinem a SCARs byl daleko větší než u skupiny pacientů, kteří fenytoin tolerovali (p = 0,0179), nebo v populaci zdravých dobrovolníků (p < 0,0001). V průběhu této studie bylo také zjištěno, že HLA-A*02:01:01, HLA-B*35:01:01, HLA-C*04:01:01 se častěji vyskytují u pacientů, u kterých došlo k SCARs po lamotriginu v porovnání s pacienty, kteří lamotrigin tolerovali (p = 0,0048). Rozdíl byl ještě daleko vyšší v porovnání se zdravou populací (p < 0,0001).

Tabulka 3. Spojitost užívání allopurinolu a nosičství alely HLA-B*58:01 na rozvoji SCARs (33)

	Allopurinol + SCARs +	Allopurinol + SCARs -	Allopurinol – SCARs -
N (pozitivita HLA-B*58:01)	16/25 (64 %)	1/23 (4,3 %)	63/3200 (1,96 %)
OR		39,11	88,52
95 % CI		4,49–340,51	37,69–207,92

Allourinol

Allopurinol je preparát, který je celosvětově velmi rozšířen. WHO ho zařadilo do seznamu esenciálních medikamentů, které by měly být celosvětově dostupné v základní péči. Jedná se izomer hypoxantinu, který inhibuje xantinoxidázu a používá se jako antiuratikum. V souvislosti s užíváním allopurinolu je výskyt SCARs udáván mezi 2–3 %, výskyt závažných kožních reakcí, které mohou skončit i fatálně, okolo 0,4 % (28). Nejčastěji v souvislosti se SCARs indukovanými allopurinolem je zmiňována přítomnost alely HLA-B*58:01. Poprvé byla tato asociace zjištěna u populace Tchaj-wanu. Z dat získaných z této studie zjišťujeme 100% (51/51) přítomnost HLA-B*58:01u pacientů se SCARs užívajících allopurinol, zatímco u populace tolerantní k rozvoji SCARs po allopurinolu byl HLA-B*58:01 20/153, tedy 15 % (29). Otázkou následně bylo, jak jsou na tom ostatní populace. U čínské populace byla zjištěna velmi silná asociace mezi přítomností této alely a rozvojem SCARs. U studií z jiných zemí Asie a Austrálie není zaznamenána tak silná spojitost (30). V Japonsku byla zjištěna souvislost pouze mezi 36–40 % (31). Evropská data ukazují podobnou souvislost jako data z Austrálie, kdy z 31 pacientů s SJS/TEN byla zjištěna přítomnost HLA-B*58:01 u 19 pacientů, tj. 61 % (32). V práci Goncala a kol. sledovali výskytSCARs u portugalské populace, do svého sledování zařadili 25 pacientů (14 žen) ve věku 29 až 93 let (33). Většina z pacientů měla několik léků v chronické medikaci, nicméně allopurinol byl u nich před rozvojem SCARs zařazen de novo (k rozvoji SCARs od začátku terapie allopurinolem bylo 8 týdnů). U 19 pacientů byly zaznamenány symptomy svědčící pro DRESS (horečka, eosinofilie, abnormální funkce ledvin a jater, generalizovaný exantém a otok obličeje). U zbývajících 6 pacientů byl diagnostikován SJS/TEN. Z celkového počtu 25 pacientů medikujících recentně allopurinol byla nalezena pozitivita pro HLA-B*58:01 u 16 pacientů (64 %). V této studii byly srovnávány tři větve (allopurinol medikující se SCARs, allopurinol medikující bez SCARs a normální populace). Výsledky jsou znázorněny v tabulce 3.

Již v roce 2011 byl publikován na téma asociace HLA-B*58:01 a rozvoje SJS/TEN u pacientů medikujících allopurinol přehledový článek s relativně robustními daty (30). Celkem byly v databázi nalezeny 4 studie zahrnující pacienty medikující allopurinol se dvěma větvemi – se a bez SJS/TEN (Bylo takto identifikováno 55 pacientů se SJS/TEN), a 5 studií, kde byly proti sobě postaveny skupiny pacientů se SJS/TEN po užívání allopurinolu a jako kontrola normální populace nemedikující allopurinol (69 pacientů se SJS/TEN) (29, 31, 32, 34, 35). Kumulativně u 50 ze 69 pacientů, u kterých došlo k rozvoji SJS/TEN po požití allopurinolu, bylo zjištěno nosičství HLA-B*58:01. Zatímco výskyt této alely v populaci byl pouze u 171 z 3 378 zdravých dobrovolníků. Z těchto studií byla pouze práce autorů Lonjou a kol. z Evropy. Zbývající počet pacientů a zdravých dobrovolníků byl opět z Asie.

I díky výše zmíněným zjištěním doporučuje nejen u asijské populace FDA používat alternativu u HLA-B*58:01 pozitivity v případě zvažování podání allopurinolu. Zde vnímám zásadní rozdíl proti primárnímu genetickému screeningu u antikonvulziv (primárně zaměřené pouze na asijskou populaci).

Antiretrovirotika (Nevirapin, Abacavir)

U antiretrovirotik je situace poměrně složitá. Je již dnes všeobecně známo, že HIV pozitivní pacienti mají vyšší výskyt rozvoje SJS/TEN, než je tomu u zdravé populace. Za touto skutečností stojí dva důležité body, první z nich je samotná infekce, druhý je častá nutnost antibiotické nebo chemoterapeutické léčby. Zejména velmi frekventní je použití trimetoprim-sulfamethoxazolu u pacientů, kteří mají pneumocystovou pneumonii. Možná právě proto je toto chemoterapeutikum nejčastějším antimikrobiálním preparátem, který může za

rozvoj SJS/TEN. Proto je mnohdy velmi složité určit, jestli za rozvoj SJS/TEN může samotné antiretrovirotiku nebo virová infekce, ev. kombinace obou příčin. Přesto existují dva preparáty ze skupiny antiretrovirotik, které mohou iniciovat rozvoj SJS/TEN na podkladě jisté genetické predispozice. Jsou jimi nevirapin a abacavir. Je jasné, že pokud v předešlých skupinách byl základním problémem nedostatek robustních dat, tak v tomto případě bude situace ještě horší. Existují studie, které poukazují na zvýšenou četnost HLA-B*35:05 u pacientů, u kterých byl zaznamenán exantém po podání nevirapinu (36). Jednalo se opět o studii z Thajska. Již v roce 2006 byla publikována také práce z Evropy, kdy na populaci HIV pozitivních pacientů ze Sardinie byla zjištěna spojitost s DRESS po podání nevirapinu a pozitivitou v nosičství HLA-B*14:02 (37). Nicméně dodnes nejsou k dispozici spolehlivá data, která by ukázala na silnou asociaci ve výskytu některé z alel HLA systému a SCARs u pacientů užívající nevirapin.

V souvislosti s použitím abacaviru byl pozorován podobný syndrom, jako je DRESS, přesto se v drobnostech odlišoval. Tento stav byl pojmenován Abacavir Hypersensitivity Syndrom (ABC HSS), který je rovněž doprovázen různě rozsáhlým exantémem (38). Základní odlišnosti od DRESSu byly zejména gastrointestinální potíže (zvracení a průjem). Další zajímavostí je také skutečnost, že se stav kompletně upraví během několika dní po vysazení abacaviru pouze s podpůrnou terapií. Studie ukazující, že ABC HSS má silnou spojitost s přítomností HLA-B*57:01, byla publikována již před více než 10 lety (39, 40). Další zajímavosti v souvislosti se SCARs po požití abacaviru je, že studie většinou pocházejí od pacientů z geograficky vzdálených částí světa, přesto s historickými vazbami (australská a britská populace).

Závěr

Z prezentovaných dat vyplývá, že se postupně poodkrývá skutečnost, že za řadou SCARs může být genetický podklad. V mnohých případech již tyto základní genetické poznatky vedou k jednoznačným závěrům pro klinickou praxi a primární prevenci rozvoje SCARs. Bohužel zatím žádná data z České republiky, která by mohla být srovnávána s evropskou nebo asijskou populací, nebyla dosud prezentována, přesto se sílící imigrací budeme možná v následujících letech konfrontováni s primárním genetických screeningem u vybraných medikamentů i my.

Literatura

1. Bastuji-Garin S, Rzany B, Stern RS, Shear H, Naldi L, Roujeau JC. Clinical classification of cases of toxic epidermal necrolysis, Stevens-Johnson syndrome, and erythema multiforme. Archives of Dermatology. 1993; 129(1): 92–96.

2. Mahar PD, Wasiak J, Hii B, Cleland H, Watters DA, Gin D, Spinks AB. A systematic review of the management and outcome of toxic epidermal necrolysis treated in burns centres. Burns. 2014; 40(7): 1245–1254. doi: 10.1016/j.burns.2014.02.006.

3. Roujeau JC, Stern RS. Severe adverse cutaneous reactions to drugs. N Engl J Med. 1994; 331(19): 1272–1285.

4. Lyell A. Toxic epidermal necrolysis: an eruption resembling scalding of the skin. Br J Dermatol. 1956; 68(11): 355–361.

5. Ward KE, Archambault R, Mersfelder TL, Archambault, Mersfelder. „Severe adverse skin reactions to nonsteroidal antiinflammatory drugs: A review of the literature". American Journal of Health-System Pharmacy. 2010; 67(3): 206–213. doi: 10.2146/ajhp080603.

6. Lipový B, Klosová H, Tokarik M, Kempný T, Chaloupková Z, Štětínský J, Brychta P, Brož L, Němečková Crkvenjaš Z. Severe bullous diseases in the Czech Republic. Epidemiology Reports 2014; 2: 5. doi: 10.7243/2054-9911-2-5.

7. Koh W, Tay Y, Koh M. Danazol-induced Stevens-Johnson syndrome in a patient with systemic lupus erythematosus. Dermatol Online J. 2015; 21(1). pii: 13030/qt24v513b9.

8. Shuster M, Do D, Nambudiri V. Severe cutaneous adverse reaction to telaprevir. Dermatol Online J. 2015; 21(1). pii: 13030/qt2zq8z9zt.

9. Gecks T, Prochnau D, Franz M, Jung C, Kühnert H, Schliemann S, Figulla HR. Toxic Epidermal Necrolysis During Dronedarone Treatment: First Report of a Severe Serious Adverse Event Of A New Antiarrhythmic Drug. Cardiovasc Toxicol. 2015 Jan 15. [Epub ahead of print].

10. Jeudy G, Dalac-Rat S, Bonniaud B, Hervieu A, Petrella T, Collet E, Vabres P. Successful switch to dabrafenib after vemurafenib-induced toxic epidermal necrolysis. Br J Dermatol. 2014 Nov 10. doi: 10.1111/bjd.13522. [Epub ahead of print].

11. Gomulka J, Wilson BD, Joyce JC. Toxic epidermal necrolysis due to voriconazole: case report and review. Dermatol Online J. 2014; 20(9). pii: 13030/qt2pt32578.

12. Cheng CY, Su SC, Chen CH, Chen WL, Deng ST, Chung WH. HLA associations and clinical implications in T-cell mediated drug hypersensitivity reactions: an updated review. J Immunol Res. 2014; 2014: 565320. doi: 10.1155/2014/565320.

13. Leckband SG, Kelsoe JR, Dunnenberger HM, George AL Jr, Tran E, Berger R, Müller DJ, Whirl-Carrillo M, Caudle KE, Pirmohamed M; Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for HLA-B genotype and carbamazepine dosing. Clin Pharmacol Ther. 2013; 94(3): 324–328. doi: 10.1038/clpt.2013.103.

14. Wang Q, Zhou JQ, Zhou LM, Chen ZY, Fang ZY, Chen SD, Yang LB, Cai XD, Dai QL, Hong H, Wang HX. Association between HLA-B*1502 allele and carbamazepine-induced severe cutaneous adverse reactions in Han people of southern China mainland. Seizure. 2011; 20(6): 446–448. doi: 10.1016/j.seizure.2011.02.003.

15. Locharernkul C, Shotelersuk V, Hirankarn N. Pharmacogenetic screening of carbamazepine-induced severe cutaneous allergic reactions. J Clin Neurosci. 2011; 18(10): 1289–1294. doi: 10.1016/j.jocn.2010.12.054.

16. Gonzalez-Galarza FF, Christmas S, Middleton D, Jones AR. Allele frequency net: a database and online repository for immune gene frequencies in worldwide populations. Nucleic Acids Res. 2011 Jan; 39 (Database issue): D913–919. doi: 10.1093/nar/gkq1128.

17. Khor AH, Lim KS, Tan CT, Wong SM, Ng CC. HLA-B*15:02 association with carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in an Indian population: a pooled-data analysis and meta-analysis. Epilepsia. 2014 Nov; 55 (11): e120–124. doi: 10.1111/epi.12802.

18. McCormack M, Alfirevic A, Bourgeois S, Farrell JJ, Kasperavičiūtė D, Carrington M, Sills GJ, Marson T, Jia X, de Bakker PI, Chinthapalli K, Molokhia M, Johnson MR, O'Connor GD, Chaila E, Alhusaini S, Shianna KV, Radtke RA, Heinzen EL, Walley N, Pandolfo M, Pichler W, Park BK, Depondt C, Sisodiya SM, Goldstein DB, Deloukas P, Delanty N, Cavalleri GL, Pirmohamed M. HLA-A*3101 and carbamazepine-induced hypersensitivity reactions in Europeans. N Engl J Med. 2011; 364(12): 1134–1143. doi: 10.1056/NEJMoa1013297.

19. Ozeki T, Mushiroda T, Yowang A, Takahashi A, Kubo M, Shirakata Y, Ikezawa Z, Iijima M, Shiohara T, Hashimoto K, Kamatani N, Nakamura Y. Genome-wide association study identifies HLA-A*3101 allele as a genetic risk factor for carbamazepine-induced cutaneous adverse drug reactions in Japanese population. Hum Mol Genet. 2011; 20(5): 1034–1041. doi: 10.1093/hmg/ddq537.

20. Genin E, Chen DP, Hung SI, Sekula P, Schumacher M, Chang PY, Tsai SH, Wu TL, Bellón T, Tamouza R, Fortier C, Toubert A, Charron D, Hovnanian A, Wolkenstein P, Chung WH, Mockenhaupt M, Roujeau JC. HLA-A*31:01 and different types of carbamazepine-induced severe cutaneous adverse reactions: an international study and meta-analysis. Pharmacogenomics J. 2014; 14(3): 281–288. doi: 10.1038/tpj.2013.40.

21. Kim SH, Lee KW, Song WJ, Kim SH, Jee YK, Lee SM, Kang HR, Park HW, Cho SH, Park SH, Min KU, Chang YS; Adverse Drug Reaction Research Group in Korea. Carbamazepine-induced severe cutaneous adverse reactions and HLA genotypes in Koreans. Epilepsy Res. 2011; 97(1–2): 190–197. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2011.08.010.

22. Kaniwa N, Saito Y, Aihara M, Matsunaga K, Tohkin M, Kurose K, Furuya H, Takahashi Y, Muramatsu M, Kinoshita S, Abe M, Ikeda H, Kashiwagi M, Song Y, Ueta M, Sotozono C, Ikezawa Z, Hasegawa R; JSAR research group. HLA-B*1511 is a risk factor for carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese patients. Epilepsia. 2010 Dec; 51 (12): 2461–2465. doi: 10.1111/j.1528-1167.2010.02766.x.

23. Wei CY, Chung WH, Huang HW, Chen YT, Hung SI. Direct interaction between HLA-B and carbamazepine activates T cells in patients with Stevens-Johnson syndrome. J Allergy Clin Immunol. 2012; 129(6): 1562–9.e5. doi: 10.1016/j.jaci.2011.12.990.

24. Amstutz U, Shear NH, Rieder MJ, Hwang S, Fung V, Nakamura H, Connolly MB, Ito S, Carleton BC; CPNDS clinical recommendation group. Recommendations for HLA-B*15:02 and HLA-A*31:01 genetic testing to reduce the risk of carbamazepine-induced hypersensitivity reactions. Epilepsia. 2014; 55(4): 496–506. doi: 10.1111/epi.12564.

25. Cheung YK, Cheng SH, Chan EJ, Lo SV, Ng MH, Kwan P. HLA-B alleles associated with severe cutaneous reactions to antiepileptic drugs in Han Chinese. Epilepsia. 2013; 54(7): 1307–1314. doi: 10.1111/epi.12217.

26. Park HJ, Kim SR, Leem DW, Moon IJ, Koh BS, Park KH, Park JW, Lee JH. Clinical features of and genetic predisposition to drug-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in a single Korean tertiary institution patients-investigating the relation between the HLA -B*4403 allele and lamotrigine. Eur J Clin Pharmacol. 2015; 71(1): 35–41. doi: 10.1007/s00228-014-1764-0.

27. Fricke-Galindo I, Martínez-Juárez IE, Monroy-Jaramillo N, Jung-Cook H, Falfán-Valencia R, Ortega-Vázquez A, Alonso-Vilatela ME, López-López M. HLA-A*02:01:01/-B*35:01:01/-C*04:01:01 haplotype associated with lamotrigine-induced maculopapular exanthema in Mexican Mestizo patients. Pharmacogenomics. 2014; 15(15): 1881–1891. doi: 10.2217/pgs.14.135.

28. Hershfield MS, Callaghan JT, Tassaneeyakul W, Mushiroda T, Thorn CF, Klein TE, Lee MT. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for human leukocyte antigen-B genotype and allopurinol dosing. Clin Pharmacol Ther. 2013; 93(2): 153–158. doi: 10.1038/clpt.2012.209.

29. Hung SI, Chung WH, Liou LB, Chu CC, Lin M, Huang HP, Lin YL, Lan JL, Yang LC, Hong HS, Chen MJ, Lai PC, Wu MS,

Chu CY, Wang KH, Chen CH, Fann CS, Wu JY, Chen YT. HLA--B*5801 allele as a genetic marker for severe cutaneous adverse reactions caused by allopurinol. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005; 102(11): 4134–4139.

30. Somkrua R, Eickman EE, Saokaew S, Lohitnavy M, Chaiyakunapruk N. Association of HLA-B*5801 allele and allopurinol-induced Stevens Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a systematic review and meta--analysis. BMC Med Genet. 2011; 12: 118. doi: 10.1186/1471-2350-12-118.

31. Kaniwa N, Saito Y, Aihara M, Matsunaga K, Tohkin M, Kurose K, Sawada J, Furuya H, Takahashi Y, Muramatsu M, Kinoshita S, Abe M, Ikeda H, Kashiwagi M, Song Y, Ueta M, Sotozono C, Ikezawa Z, Hasegawa R; JSAR research group. HLA--B locus in Japanese patients with anti-epileptics and allopurinol-related Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Pharmacogenomics. 2008; 9(11): 1617–1622. doi: 10.2217/14622416.9.11.1617.

32. Lonjou C, Borot N, Sekula P, Ledger N, Thomas L, Halevy S, Naldi L, Bouwes-Bavinck JN, Sidoroff A, de Toma C, Schumacher M, Roujeau JC, Hovnanian A, Mockenhaupt M; RegiSCAR study group. A European study of HLA-B in Stevens--Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis related to five high-risk drugs. Pharmacogenet Genomics. 2008; 18 (2): 99–107. doi: 10.1097/FPC.0b013e3282f3ef9c.

33. Gonçalo M, Coutinho I, Teixeira V, Gameiro AR, Brites MM, Nunes R, Martinho A. HLA-B*58:01 is a risk factor for allopurinol-induced DRESS and Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis in a Portuguese population. Br J Dermatol. 2013; 169(3): 660–5. doi: 10.1111/bjd.12389.

34. Jung JW, Song WJ, Kim YS, Joo KW, Lee KW, Kim SH, Park HW, Chang YS, Cho SH, Min KU, Kang HR. HLA-B58 can help the clinical decision on starting allopurinol in patients with chronic renal insufficiency. Nephrol Dial Transplant. 2011; 26(11): 3567–3572. doi: 10.1093/ndt/gfr060.

35. Kang HR, Jee YK, Kim YS, Lee CH, Jung JW, Kim SH, Park HW, Chang YS, Jang IJ, Cho SH, Min KU, Kim SH, Lee KW; Adverse Drug Reaction Research Group in Korea. Positive and negative associations of HLA class I alleles with allopurinol--induced SCARs in Koreans. Pharmacogenet Genomics. 2011; 21(5): 303–307. doi: 10.1097/FPC.0b013e32834282b8.

36. Chantarangsu S, Mushiroda T, Mahasirimongkol S, Kiertiburanakul S, Sungkanuparph S, Manosuthi W, Tantisiriwat W, Charoenyingwattana A, Sura T, Chantratita W, Nakamura Y. HLA-B*3505 allele is a strong predictor for nevirapine-induced skin adverse drug reactions in HIV-infected Thai patients. Pharmacogenet Genomics. 2009; 19(2): 139–146. doi: 10.1097/FPC.0b013e32831d0faf.

37. Ciccacci C, Di Fusco D, Marazzi MC, Zimba I, Erba F, Novelli G, Palombi L, Borgiani P, Liotta G. Association between CYP2B6 polymorphisms and Nevirapine-induced SJS/TEN: a pharmacogenetics study. Eur J Clin Pharmacol. 2013; 69(11): 1909–1916. doi: 10.1007/s00228-013-1549-x.

38. Shapiro M, Ward KM, Stern JJ. A near-fatal hypersensitivity reaction to abacavir: case report and literature review. AIDS Read. 2001; 11(4): 222–226.

39. Hetherington S, Hughes AR, Mosteller M, Shortino D, Baker KL, Spreen W, Lai E, Davies K, Handley A, Dow DJ, Fling ME, Stocum M, Bowman C, Thurmond LM, Roses AD. Genetic variations in HLA-B region and hypersensitivity reactions to abacavir. Lancet. 2002; 359(9312): 1121–1122.

40. Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin AM, Moore C, Sayer D, Castley A, Mamotte C, Maxwell D, James I, Christiansen FT. Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. Lancet. 2002; 359(9308): 727–732.

Článek přijat redakcí: 17. 2. 2015
Článek přijat k publikaci: 4. 5. 2015

MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D.
Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie
FN LF a MU Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno
blipovy@fnbrno.cz

Příloha 2: Lipový B, Baran M. A draft of bronchoscopic grading system in patients with toxic epidermal necrolysis. Burns. 2017 Jun;43(4):890-892. doi: 10.1016/j.burns.2017.01.005.

Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
journal homepage: www.elsevier.com/locate/burns

Letter to the Editor

A draft of bronchoscopic grading system in patients with toxic epidermal necrolysis☆

Dear sir,

Toxic epidermal necrolysis (TEN) is a rare, life-threatening condition, which is caused by the development of massive apoptosis in the dermoepidermal junction [1]. This apoptosis is mainly caused by caspase mechanisms, which are affected by the activity of T-lymphocytes (CD4+ and CD8+), NK cells, or the bond of CD95L to CD95R [2]. Noncaspase mechanisms are also applied in the TEN pathophysiology, e.g., production of granzyme B CD8+ T lymphocytes or NK cells [3].

A basic clinical manifestation is extensive skin exfoliation (at least in the range of 30% of the total body surface area) [4]. The condition is often complicated by damage of the mucous membranes. The most serious localization of a damaged continuity of the mucosal lining is in the area of the lower airways. Unfortunately, presently there is no classification of the severity of the impaired mucosal lining in patients with toxic epidermal necrolysis.

Bronchoscopy in patients with TEN is a very important tool for the initial evaluation of damage severity of the mucous membranes in the lower respiratory tract. Moreover, it enables targeted collection of material for testing (bronchoalveolar lavage and protected-specimen brush) in the framework of comprehensive microbiological surveillance. In patients with mucosal defects and those with inhalation injury, there is an increased likelihood of development of infectious complications in the lower respiratory tract [5]. Compromised defense mechanisms in the lower respiratory tract together with the administration of immunosuppressive agents within the therapy for TEN enable a very rapid progression of these infectious complications with fatal consequences for the patient.

A bronchoscopic examination should be the gold standard for the diagnosis of damage of mucosal membranes and development of infectious complications in the lower respiratory tract in patients with TEN, especially if the patient's condition requires artificial mechanical ventilation for acute respiratory failure. Table 1 shows an overview of grading of the bronchoscopic classification, which has been used in our department for several years.

The most common clinical symptoms occurring in the lower respiratory tract in patients with TEN include hypersecretion, edema, mucosal defects, bleeding (endobronchial and submucosal), and purulent secretion/varying degree of manifestation depending on the strength of immunosuppression.

Table 1 – Bronchoscopic grading of the damage in the lower respiratory tract in patients with toxic epidermal necrolysis.

Grade of damage	Description of the local finding
G0	Without damage, the mucous membrane is competent to a clear extent
G1	Only small/patch-like damage to the mucosal continuum/hypersecretion
G1a	Bleeding symptoms are not present (spontaneous or postinstrumental)
G1b	Symptoms of infectious complications are not present (purulent secretions)
G2	Extensive mucosal defects with bleeding symptoms (spontaneous) Extensive mucosal defects with symptoms of infectious complications Hypersecretion of serous quality
G3	Symptoms of bronchial obturation caused by massive separation of the mucous membrane/hypersecretion. Different intensity of bleeding With/without signs of infectious complications

☆ Feedback to the article: Le HG, Saeed H, Mantagos IS, Mitchell CM, Goverman J, Chodosh J. Burn unit care of Stevens Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: A survey. Burns. 2016 Jun;42(4):830-5. http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2015.12.001.

Please cite this article in press as: B. Lipový, M. Baran, A draft of bronchoscopic grading system in patients with toxic epidermal necrolysis, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.01.005

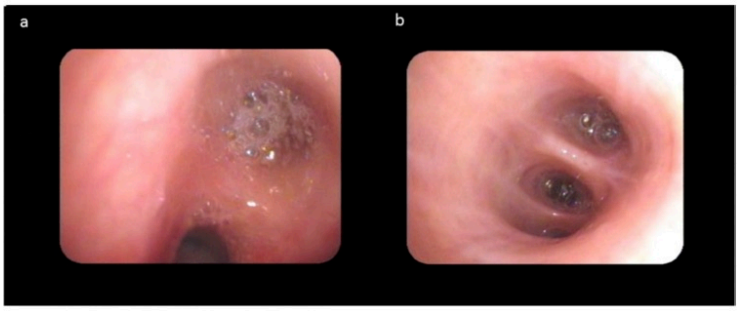


Fig. 1 – (a) Bronchoscopic view of the gap L of the lower bronchus (obturation by hypersecretion); (b) gaps between the bronchi LB 7, 8, 9, and 10 visualized after the aspiration of the material (also obturation by the serous content). Grade 1a.

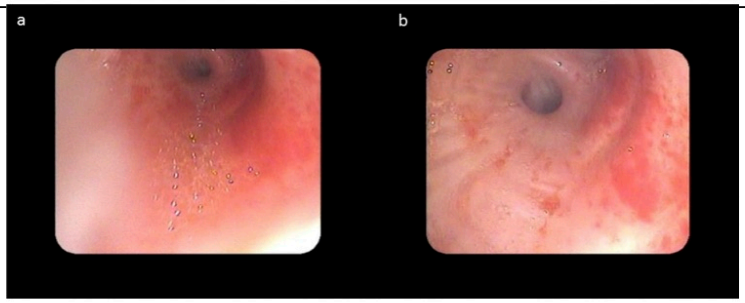


Fig. 2 – Bronchoscopic view of the gap of the left lower bronchus from the left main bronchus. (a) in front (b) after lavage (subserosal bleeding along with hypersecretion). Grade 1b.

Bronchoscopy itself must always be performed by the most experienced bronchoscopist. Because of the fragility of the mucous membranes, it can very often lead to postinstrumental endobronchial bleeding. At the same time, because of possible endobronchial obstruction by the separating mucous membrane, realization of bronchoscopy is necessary to eliminate atelectatic changes.

Bronchoscopic examples of various degrees of damage in the lower respiratory tract are shown in Figs. 1–5.

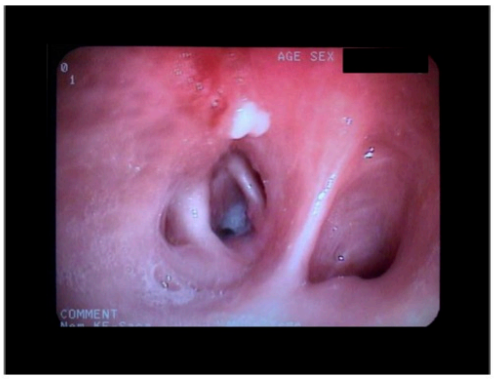


Fig. 3 – Bronchoscopic view of the gap of the lower right bronchus. Grade 1b.

Fig. 4 – Bronchoscopic view into the lingula from the left upper bronchus in a patient with TEN (presence of seropurulent hypersecretion with symptoms of infectious complications and edematous mucous membrane). Grade 1b/G2.

Please cite this article in press as: B. Lipový, M. Baran, A draft of bronchoscopic grading system in patients with toxic epidermal necrolysis, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.01.005

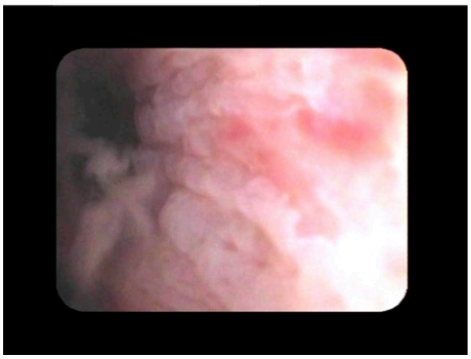


Fig. 5 – A bronchoscopic view of the separating mucous membrane together with subserosal edema in right main bronchus. Grade 3.

REFERENCES

[1] Lim VM, Do A, Berger TG, Nguyen AH, DeWeese J, Malone JD, et al. A decade of burn unit experience with Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis: Clinical pathological diagnosis and risk factor awareness. Burns 2016;42(Jun (4)):836-43, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2016.01.014.
[2] Chave TA, Mortimer NJ, Sladden MJ, Hall AP, Hutchinson PE. Toxic epidermal necrolysis: current evidence, practical management and future directions. Br J Dermatol 2005;153(Aug (2)):241-53.
[3] Khalili B, Bahna SL. Pathogenesis and recent therapeutic trends in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Ann Allergy Asthma Immunol 2006;97(Sep (3))272-80 quiz 281-3, 320.
[4] Lissia M, Mulas P, Bulla A, Rubino C. Toxic epidermal necrolysis (Lyell's disease). Burns 2010;36(Mar (2)):152-63, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2009.06.213.
[5] Lebargy F, Wolkenstein P, Gisselbrecht M, Lange F, Fleury-Feith J, Delclaux C, et al. Pulmonary complications in toxic epidermal necrolysis: a prospective clinical study. Intensive Care Med 1997;23(Dec (12)):1237-44.

Břetislav Lipový[a,b,*]
[a]*Department of Burns and Reconstructive Surgery, University Hospital Brno, Czechia*

[b]*Medical Faculty, Masaryk University Brno, Czechia*

Matúš Baran
Department of Burns and Reconstructive Surgery, 1st Private Hospital Ltd., Kosice-Saca, Slovakia

* *Correspondence to:* Jihlavská 20, Brno 625 00, Czechia.
E-mail address: bretalipovy@gmail.com (B. Lipový).

Available online xxx

http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.01.005
© 2017 Elsevier Ltd and ISBI. All rights reserved.

Please cite this article in press as: B. Lipový, M. Baran, A draft of bronchoscopic grading system in patients with toxic epidermal necrolysis, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.01.005

Příloha 3: Lipový B. A potential new sign in patients with toxic epidermal necrolysis. Burns. 2016 Nov;42(7):1618-1620. doi: 10.1016/j.burns.2016.07.014.

Letter to the Editor

A potential new sign in patients with toxic epidermal necrolysis

Dear Sir,

Toxic epidermal necrolysis represents the most serious illness within the group of SCARs (Severe Cutaneus Adverse Reactions). It is an acute life threatening exfoliative process affecting the skin and mucous membranes with fulminant character infrequently resulting in death [1].

The base for development of this syndrome is the apoptosis induction in the area of dermo-epidermal junction. This fact is very important from the perspective of differential diagnosis, because the similar conditions like e.g. Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS) is caused with intra-epidermal loosening (the area of stratum granulosum) [2].

Today the group of SCARs includes many syndromes that might manifest clinically in a very similar way. Differential diagnosis within the individual syndromes is likely to be very complicated. Therefore the execution of histopathology examination is essential for the definite diagnosis [3]. Unfortunately, many places does not ensure immediate availability of histopathology. Accordingly the necessity of clinical examination and the evidence of specific clinic signs for particular syndromes remain. Within the differential

Table 1 – Clinical signs related in patients with severe bullous diseases – Stevens–Johnson syndrome and Toxic epidermal necrolysis [4] .

Name	Description	Positivity
Nikolsky sign	With shear force the side pressure on the skin results in loosening of upper layer of epidermis from the lower. **Marginal Nikolsky sign** – the nearness of existing lesions **Direct Nikolsky sign** – regular skin on the distant place **Wet Nikolsky sign** (exudative surface means acantholysis in deeper locations) **Dry Nikolsky sign** (acantholysis in the upper epidermis)	Intraepidermal acantholysis Pemphigus vulgaris Pemphigus foliaceus Staphylococcal scalded skin syndrome
Bulla spread sign (Lutz sign)	Indirect pressure with finger applied on the bulla results in its peripheral enlargement/spread. Asboe-Hansen sign is the variation of bulla spread sign	Bullous pemphigoid Dermatitis herpetiformis Epidermolysis bullosa Stevens–Johnson syndrome Toxic epidermal necrolysis
Sheklakov sign (false Nikolsky sign)	Peripheral spread of ruptured blister that enlarges the original erosion on the healthy skin.	Bullous pemphigoid Toxic epidermal necrolysis Stevens–Johnsons syndrome Dermatitis herpetiformis Other subepidermal blistering disorders
Epidermal peeling sign (pseudo-Nikolsky sign)	The cause mechanism is the same as Nikolsky sign, detected only in the area of damaged skin. Its underlay is necrosis of epidermal cells, not acantholysis	Stevens–Johnson syndrome Toxic epidermal necrolysis Burns Bullous ichthyosiform erythroderma

diagnosis of individual syndromes in the group of SCARs there are used some very important clinical signs. There is the overview in Table 1.

A new clinical sign is detected in the area of hand palmar side and foot plantar side, in the area of the thickest epidermis. Its essence is the separation in the area of dermo-epidermal junction, it is not possible to find this sign with the intra-epidermal loosening (fragile epidermis).

This phenomenon was observed in 3 patients with histologically confirmed toxic epidermal necrolysis with the range of damage 35–95%TBSA with significant infliction in the area of hands and feet.

Fig. 1 – Finger penetration into the little finger dermo-epidermal layer.

Fig. 2 – Finger penetration into the palmar area (also dermo-epidermal layer).

These patients were affected with significant loosening in the area of dermo-epidermal level that enabled the penetration of another person's finger without continuity of loosening epidermis. The gradual manifestation of this clinic sign is described in Figs. 1 and 2.

REFERENCES

[1] Mockenhaupt M, Viboud C, Dunant A, Naldi L, Halevy S, Bouwes Bavinck JN, Sidoroff A, Schneck J, Roujeau JC, Flahault A. Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: assessment of medication risks with emphasis on recently marketed drugs. The EuroSCAR-study. J Invest Dermatol 2008;128(January (1)):35–44.
[2] Lipový B, Brychta P, Chaloupková Z, Suchánek I. Staphylococcal scalded skin syndrome in the Czech Republic: an epidemiological study. Burns 2012;38(March (2)):296–300.
[3] Quinn AM, Brown K, Bonish BK, Curry J, Gordon KB, Sinacore J, Gamelli R, Nickoloff BJ. Uncovering Histologic Criteria with Prognostic Significance in Toxic Epidermal Necrolysis. Arch Dermatol 2005;141(6):683–7.
[4] Sachdev D, Sign of Nikolskiy & related signs. Indian J Dermatol Venerol Leprol 2003;69(3):243–4.

REACTION TO MANUSCRIPT

[4] Horna Strand A, Rubertsson S, Huss F, Mani M. Epidermal exfoliation of over 95% after a burn in an 18-month-old boy: case report and review of the literature. Burns 2016;42(March (2)):e18–23. http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2015.06.021.

B. Lipový[a,b,*]
[a]*Department of Burns and Reconstructive Surgery, University Hospital Brno, Czech Republic*
[b]*Medical Faculty, Masaryk University Brno, Czech Republic*

*Correspondence to: Jihlavská 20, Brno 625 00, Czech Republic
E-mail address: bretalipovy@gmail.com (B. Lipový)

Accepted 13 July 2016

http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2016.07.014
0305-4179/© 2016 Elsevier Ltd and ISBI. All rights reserved.

Příloha 4: Lipový B, Brychta P, Chaloupková Z, Suchánek I. Staphylococcal scalded skin syndrome in the Czech Republic: an epidemiological study. Burns. 2012; 38(2):296-300. doi:10.1016/j.burns.2011.08.005.

BURNS 38 (2012) 296–300

available at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

journal homepage: www.elsevier.com/locate/burns

Staphylococcal scalded skin syndrome in the Czech Republic: an epidemiological study

Břetislav Lipový [a,b,*], Pavel Brychta [a,b], Zuzana Chaloupková [a,b], Ivan Suchánek [a]

[a] Department of Burns and Reconstructive Surgery, University Hospital Brno, Czech Republic
[b] Medical Faculty, Masaryk University in Brno, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:
Accepted 9 August 2011

Keywords:
Staphylococcal scalded skin syndrome
Exfoliative toxin
Desmoglein-1
Epidemiology

ABSTRACT

Objective: To identify the basic epidemiological characteristics of children hospitalized with diagnosis of Staphylococcal scalded skin syndrome in the Czech Republic in the years 1994–2009.

Introduction: Staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) is a relatively rare disease in childhood. This syndrome was first defined in 1878 by Baron Gottfried Ritter von Rittershainem and belongs to the group of diseases called Burn-like syndromes. It is a bullous skin disease caused by exfoliative toxins which are produced by certain types of *Staphyloccocus aureus*. Typical structures affected by these toxins are desmosome proteins called Desmoglein-1 located in the stratum granulosum of epidermis. Unlike in Lyell's syndrome or Stevens-Johnson's syndrome, the exfoliation is caused by loss of adhesivity particularly in the stratum granulosum and not by induction of apoptosis in the dermo-epidermal junction.

Material and methods: This retrospective study was conducted on patients hospitalized in the Czech Republic in the period from 1.1.1994 to 31.12.2009. The basic condition for the inclusion in the retrospective study was age under 1 year and hospitalization due to SSSS. A total of 399 children (177 girls) fulfilled the criteria for inclusion into the study. Information was obtained from a central data depository, the Department of Health Information and Statistics, Czech Republic.

Results: A total of 399 children under 1 year were hospitalized for the diagnosis of SSSS in the study period. The group included 177 girls and 222 boys. M:F ratio was 1.25:1. The average incidence of SSSS in the Czech Republic was 25.11 cases per 100 000 children under 1 year of age. The highest recorded incidence in the followed period was in 1994, when a total of 57 cases of SSSS was reported, namely 53.47 per 100 000 children. By contrast, in 2003, there were reported only 12 cases and the incidence of 12.81 per 100 000 children. The average length of hospitalization was 6.39 days. In 1995, the highest average length of hospitalization was reported, which was 8.1 days, and then in 2007, the lowest average length of hospitalization, 4.4 days. There was no significant difference in the length of hospitalization in boys and girls. None of the 399 children in the population died.

Conclusion: In our retrospective study, we established basic epidemiological characteristics of a group of children aged under 1 year with diagnosis of SSSS. As epidemiological data show, the occurrence of this syndrome is not sporadic, but steady.

© 2011 Elsevier Ltd and ISBI. All rights reserved.

* *Corresponding author at:* Department of Burns and Reconstructive Surgery, University Hospital Brno, Czech Republic. Tel.: +420 532233004.
E-mail address: b.lipovy@seznam.cz (B. Lipový).
0305-4179/$36.00 © 2011 Elsevier Ltd and ISBI. All rights reserved.
doi:10.1016/j.burns.2011.08.005

1. Introduction

Staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) is a relatively rare disease in childhood. In the literature, it is also known as Pemphigus neonatorum or Ritter's disease. This syndrome was first defined in 1878 by Baron Gottfried Ritter von Rittershainem, who described similar symptoms in 297 children in one decade [1]. In 1970, Melish and Glasgow Ritter first discovered the disease agent when they isolated *coagulasa-positive Staphylococcus aureus* [2].

Traditionally it belongs to the group of diseases called Burn-like syndromes. It is a bullous skin disease caused by exfoliative toxins which are produced by certain types of *S. aureus* [3]. Typically, it is caused by the phage type 2 (subtypes 3A, 3B, 3C, 55 and 71) that produces toxins ET-A ET-B and also ET-D, recently included in this group. These toxins act under certain circumstances as superantigens and stimulate proliferation of T-lymphocyte population with a massive release of cytokines followed by epidermal lesion [4]. Typical structures affected by these toxins are desmosome proteins called Desmoglein-1 located in the stratum granulosum of epidermis [5]. The mechanism of action is similar to specific proteases. The result of this interaction is reduced adhesion of the stratum granulosum and subsequent macroscopic exfoliation of the skin. Unlike in Lyell's syndrome or Stevens-Johnson's syndrome, the exfoliation is caused by loss of adhesivity particularly in the stratum granulosum and not by induction of apoptosis in the dermo-epidermal junction [6]. It is important that there is not affected mucosa in the case of Staphylococcal scalded skin syndrome, because Desmoglein-1 is only present in the stratum granulosum of epidermis. But still, the exact mechanism of action of this toxin is unknown.

SSSS is a disease of early childhood, although even seniors may be affected [7,8], that are mostly patients with chronic renal failure, immunocompromised patients, epileptics, etc. The most commonly affected are children because they excrete exfoliatins through the kidneys and therefore the vulnerable group includes patients with poorly developed renal functions or patients with renal failure [9]. In these patients, the elimination of superantigens is not adequate. Furthermore, children do not have developed antibodies against staphylococcal toxins.

Diagnosis of this syndrome within the group called Burn-like syndromes is usually not difficult, but always, we need to think about this diagnosis and perform a number of tests—histological, microbiological, immunological and of course clinical. Proper differential diagnosis in the case of distinguishing between these conditions is absolutely necessary, because even if the corticosteroid therapy in Lyell's syndrome is today controversial, it is still used, and its use in case of confusion for SSSS could be for a patient with staphylococcal infection absolutely fatal.

In the differential diagnosis between SSSS and Lyell syndromes it is also important to define the cellular immunity, as shown in Fig. 1.

The basic therapeutic approach is to use anti-staphylococcal antibiotics/betalactams/i.e. methicillinum. Due to the increasing number of cases where the SSSS is caused by CA-MRSA (Community Acquired-methicillin-resistant *S. aureus*), the choice is vancomycin [11]. For larger defects, it is also necessary to monitor the inner environment, microbial situation and precise guidance of fluid resuscitation [12,13].

2. Material and methods

This retrospective study was conducted on patients hospitalized in the Czech Republic in the period from 1.1.1994 to 31.12.2009. The basic condition for the inclusion in the retrospective study was age under 1 year and hospitalization due to SSSS. A total of 399 children (177 girls) fulfilled the criteria for inclusion into the study. Information was obtained from a central data depository, the Department of Health Information and Statistics, Czech Republic.

The number of children aged under1 year was in 1994 a total of 106 579 i.e. 1.03% of the total number of inhabitants of the Czech Republic. In 2009, the number of children in the same age group grew up to 118 348 i.e. 1.13% of the total population of the Czech Republic. The overall development of the population in each year of the followed period is shown in Graph 2. Organization of care for patients with Burn-like syndromes—Lyell's syndrome, Stevens-Johnson syndrome, erythema multiforme, etc., in the Czech Republic is driven mainly by the Burn Centres (Prague, Brno, Ostrava), but also by the Department of Anesthesiology and Intensive Care and Department of Dermatology in large university hospitals. Minority of patients are treated in hospitals of smaller type. The specific situation is a group of patients with SSSS, that get to the Burn center in case of complications or primarily due to extensive exfoliation, which is quite rare in neonates. Therefore, the important role in the treatment of this syndrome plays the primary or secondary type of hospital.

3. Results

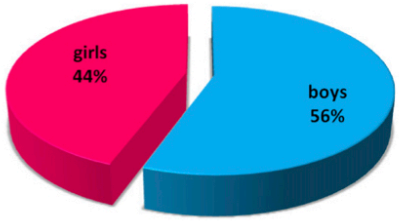
A total of 399 children under 1 year were hospitalized for the diagnosis of SSSS in the followed period. The group included 177 girls and 222 boys. M:F ratio was 1.25:1. The ratio of boys and girls with SSSS in the study is shown in Graph 1. The average incidence of SSSS in the Czech Republic was 25.11 cases per 100 000 children under 1 year of age. The highest recorded incidence in the followed period was in 1994, when a total of 57 cases of SSSS was reported, namely 53.47 per 100 000

	Lyell syndrom	SSSS
Lymfopenia	Yes	no
CD4+	Decreased	normal
CD8+	normal, increased	normal
CD4+/CD8+	Decreased	normal

Fig. 1 – Differential diagnosis using the differences in cellular immunity of Lyell's syndrome and SSSS [10].

Year	1994	1999	2004	2009
Population (x 1000)	10 333	10 278	10 221	10 507
Children < 1 year	106 579 (1,03%)	89 471 (0,87%)	97 664 (0,96%)	118 348 (1,13%)
Incidence of SSSS (x 10^5)	53,47	16,77	14,34	20,28

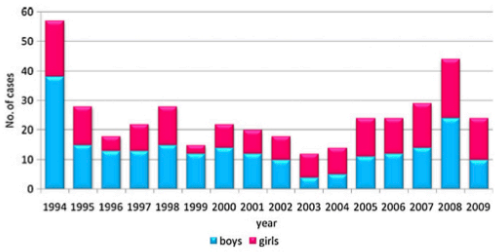
Fig. 2 – Incidence of SSSS in selected years of the period, the population of children under one year.



Graph 1 – The ratio of girls and boys ($n = 399$) with the diagnosis of Staphylococcal scalded skin syndrome (M:F ratio 1.25:1).

children. By contrast, in 2003, there were reported only 12 cases and the incidence of 12.81 per 100 000 children. The incidence of SSSS in selected years of the period is shown in Fig. 2. The number of reported cases of SSSS in children under one year in the Czech Republic for each year of the period is shown in Graph 2. None of the 399 children in the population died.

The average length of hospitalization was 6.39 days. In 1995, the highest average length of hospitalization was reported, 8.1 days, and then in 2007, the lowest average length of hospitalization, 4.4 days. There was no significant difference in the length of hospitalization in boys and girls. In the group of boys the average length of hospitalization was 6.50 days and in the group of girls it was 6.23 days. The average length of hospitalization and length of hospitalization among girls and boys enrolled in a file is shown in Graph 3.



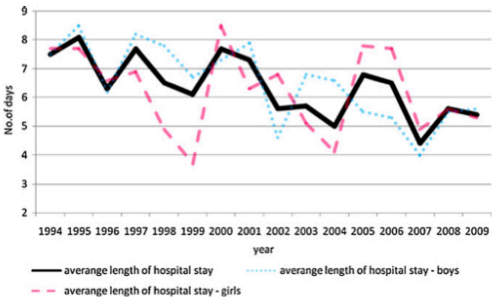
Graph 2 – The number of reported cases of SSSS in children under one year in the Czech Republic for each year of the period.

4. Discussion

In our work we focused on high-risk groups considering the development of SSSS, namely children under one year of age. Although bullous diseases in this age group are very rare, there are not many multiple epidemiological studies dealing with this issue.

Impetigo, usually caused by strains of *S. aureus*, is one of the most common bacterial skin disease in childhood [14]. SSSS is a generalized form of bullous impetigo. Unlike patients with bullous impetigo, the strains of *S. aureus* are usually not detected in the material from the bull, because the disease is caused by toxins that can enter the bloodstream and reach remote areas from the primary site (upper airways) [15].

Differential diagnosis between Burn-like syndromes and SSSS is usually not that difficult. The reason is quite different pathophysiology. SSSS is characterized, as well as Lyell and Stevens-Johnson syndrome, by positive Nikolsky phenomenon, but the primary objective for exfoliatins is Desmoglein-1, localized predominantly in the skin [16]. During the 1990s of the last century there were isolated 3 isoforms of Desmoglein [17,18], which were completed in 2003 by the 4th isoform [19]. Desmoglein-1 is a member of the cadherin supergene family. It is also known as a desmosomal cadherin. Conversely, in mucosa is located another representative of the desmoglein family, Desmoglein-3, which is not the primary objective of exfoliatins [20]. From the pathophysiological explanation is clear that in the case of SSSS is not affected mucosa, which is another important point in the differential diagnosis of this syndrome.



Graph 3 – Average length of hospitalization and length of hospitalization among girls and boys enrolled in a file for each year of the period.

The most vulnerable group are children aged under 5 years. Children under 2 years of age represent 62% of all patients and children aged under 6 years then 98%. This is mainly due to the immature and reduced immune system in children and due to the reduction in the clearance of exfoliatins through kidneys, leading to their accumulation in the body. There are also reported cases of the disease in newborns in the literature [21–24]. The main origin is chorioamnionitis caused by strains of *S. aureus*. The basic premise of this disease is an infection caused by strains of *S. aureus*, that produce toxins (exfoliatins), most often ET-A ET-B. More cases are reported with the exposure to toxin A (ET-A). Toxins can be produced apart or simultaneously. Exfoliatins disseminate in the blood circulation of the body from primary sources. Adult patients who develop SSSS usually suffer particularly severe G+ coccus infection as commun or nosocomial pneumonia, osteomyelitis, etc. Children may develop this disease on the basis of minor upper respiratory tract infection. There are reports of developing of this disease in children of breast-feeding mothers with breast abscess caused by *S. aureus* [25,26].

The initial laboratory examination involves the blood culture (repeatedly), wound swabs, nasal swab for diagnosing nasal carrier of MRSA, as well as coagulation, blood urea nitrogen, C-reactive protein, procalcitonin and liver transaminases [12].

In the study, we have recorded no deaths in the monitored children, which does not correspond with the results of large clinical trials, in which, the mortality in patients with SSSS is although very low but not zero. The main causes of death in these patients are infectious complications because the exfoliated area looses its defensive functions (of the skin) and facilitates the entry of infectious agents. The mortality in children is around 1–5%, in adults is significantly higher—over 40% and depends mainly on comorbidities, which may also cause the development of this syndrome [27–30]. In pediatric patients with SSSS there is no difference in incidence depending on sex, while in adult patients the M:F ratio is 2:1. Wound healing is very prompt, spontaneous reepitelization usually occurs during the 1st week after the symptoms start [31]. Prolonged phase of wound healing process is a negative prognostic sign. The most common complications associated with this syndrome are superinfections, sepsis, hypothermia (in extensive defects), dehydration and ion imbalance [32].

The basic therapeutic approach is intravenous antibiotic therapy. The overall treatment also includes fluid resuscitation, which usually requires smaller volume than in scalded (burned) pediatric patients with similar extent of the total burned/exfoliated skin cover. Very important is the knowledge of the epidemiological situation in terms of MRSA carriers. The countries that record higher incidence of MRSA should primarily recommend vancomycin therapy, by contrast to conventional administration of oxacillin for MSSA agents [13]. In MRSA-caused SSSS patients the mortality is higher compared to MSSA [33,34]. Corticosteroids are strictly contraindicated and the administration of NSAIDs is also not recommended for further reduction of renal functions [12,35].

Thanks to good neonatal care in Czech Republic, we achieve excellent long-term results in infant mortality. During the followed period, there was a significant decline in infant mortality. In 1990 the overall infant mortality rate fixed at 7.8 per 1000, in 2000 it was 2.3 per 1000 and in 2007 it was 1.8 per 1000. The neonatal care is high-quality and allows survival of children with birth weights around 400 g. And the children with low birth weight represent a very vulnerable group in terms of the development of SSSS.

5. Conclusion

In our retrospective study, we were able to establish basic epidemiological characteristics of a group of children aged under 1 year with diagnosis of SSSS. As epidemiological data show, the occurrence of this syndrome is not sporadic, but steady. But still, not many such extensive epidemiological files exist. Comparison of epidemiological characteristics with a number of case-series can therefore generate significant heterogeneity in the results.

Conflict of interest

None declared.

REFERENCES

[1] Ritter von Rittershain G. Die exfoliative dermatitis jüngerer Säuglinge. Zent-Ztg Kinderheilkunde 1878;2:3–23.
[2] Melish ME, Glasgow LA. The staphylococcal scalded-skin syndrome: development of an experimental model. N Engl J Med 1970;282:1114–9.
[3] Ladhani S, Evans RW. Staphylococcal scalded skin syndrome. Arch Dis Child 1998;78:85–8.
[4] Paquet P, Pierard GE. Differential pathomechanisms of epidermal necrolytic blistering diseases. Int J Mol Med 2002;10:695–9.
[5] Amagai M, Matsuyoshi N, Wang Z, Andl C, Stanley JR. Toxin bullous impetigo and staphylococcal scalded skin syndrome targets desmoglein 1. Nat Med 2000;6:1275–7.
[6] Yamasaki O, Yamaguchi T, Sugai M, Chapuis-Cellier C, Arnaud F, Vandenesch F, et al. Clinical manifestations of staphylococcal scalded-skin syndrome depend on serotypes of exfoliative toxins. J Clin Microbiol Apr 2005;43(4):1890–3.
[7] Decleire PY, Blondiaux G, Delaere B, Glupczynski Y. Staphyloccocal scalded skin syndrome in an adult. Acta Clin Belg 2004;59(November–December (6)):365–8.
[8] Shirin S, Gottlieb AB, Stahl EB. Staphylococcal scalded skin syndrome in an immunocompetent adult: possible implication of low-dosage prednisone. Cutis 1998;62(November (5)):223–4.
[9] Kadam S, Tagare A, Deodhar J, Tawade Y, Pandit A. Staphylococcal scalded skin syndrome in a neonate. Indian J Pediatr 2009;76(October (10)):1074.
[10] Napoli B, ĎArpa N, ĎAmelio L, Chimenti S, Pileri D, Accardo-Palumbo A, et al. Staphylococcal scalded skin syndrome: kriteria for differential diagnosis from Lyell̈s syndrome. Two cases in adult patients. Ann Burns Fire Disasters 2006;19(December (4)):188–91.
[11] Acland KM, Darvay A, Griffin C, Aali SA, Russell-Jones R. Staphylococcal scalded skin syndrome in an adult associated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Br J Dermatol Mar 1999;140(3):518–20.

[12] Patel GK, Finlay AY. Staphylococcal scalded skin syndrome: diagnosis and management. Am J Clin Dermatol 2003;4(3):165–75.
[13] Johnston GA. Treatment of bullous impetigo and the staphylococcal scalded skin syndrome in infants. Expert Rev Anti Infect Ther 2004;2(June (3)):439–46.
[14] Shinefield HR. In: Remington JS, Klein JO, editors. Staphylococcal infections in infectious diseases of the fetus and newborn infants. Philadelphia, PA, USA: W.B. Saunders Co.; 1995. p. 1105–41.
[15] Hanakawa Y, Stanley JR. Mechanisms of blister formation by staphylococcal toxins. J Biochem Dec 2004;136(6):747–50.
[16] Uzun S, Durdu M. The specificity and sensitivity of Nikolskiy sign in the diagnosis of pemphigus. J Am Acad Dermatol 2006;54(March (3)):411–5.
[17] Koch PJ, Walsh MJ, Schmelz M, Goldschmidt MD, Zimbelmann R, Franke WW. Identification of desmoglein, a constitutive desmosomal glycoprotein, as a member of the cadherin family of cell adhesion molecules. Eur J Cell Biol 1990;53:1–12.
[18] Nilles LA, Parry DA, Powers EE, Angst BD, Wagner RM, Green KJ. Structural analysis and expression of human desmoglein: a cadherin-like component of the desmosome. J Cell Sci 1991;99:809–21.
[19] Whittock NV, Bower C. Genetic evidence for a novel human desmosomal cadherin, desmoglein 4. J Invest Dermatol 2003;120:523–30.
[20] Ladhani S, Joannou CL, Lochrie DP, Evans RW, Poston SM. Clinical, microbial, and biochemical aspects of the exfoliative toxins causing staphylococcal scalded-skin syndrome. Clin Microbiol Rev 1999;12:224–42.
[21] Makhoul IR, Kassis I, Hashman N, Sujov P. Staphylococcal scalded skin syndrome in a very low birth weight premature infant. Pediatrics 2001;108:e16.
[22] Lo W, Wang C, Chu M. Intrauterine staphylococcal scalded skin syndrome: report of a case. Ped Infect Dis J 2000;19:481.
[23] Curran JP, Al-Salihi FL. Neonatal staphylococcal scalded skin syndrome: massive outbreak due to an unusual phage type. Paediatrics 1980;66(2):285–90.
[24] Faden H. Neonatal staphylococcal skin infections. Pediatr Infect Dis J 2003;22(4):389.
[25] Chi CY, Wang SM, Lin HC, Liu CC. A clinical and microbiological comparison of *Staphylococcus aureus* toxic shock and scalded skin syndromes in children. Clin Infect Dis 2006;42(January (2)):181–5.
[26] Cribier B, Piemont Y, Grosshans E. Staphylococcal scalded skin syndrome in adults. A clinical review illustrated with a new case. J Am Acad Dermatol 1994;30(February (2 Pt 2)):319–24.
[27] Resnic SD. Staphylococcal toxin-mediated syndromes in childhood. Semin Dermatol 1992;11:18.
[28] Canoso JJ, Barza M. Soft tissue infections. Rheum Dis Clin North Am 1993;15:235–9.
[29] Chi CY, Wang SM, Lin HC, Liu CC. A clinical and microbiological comparison of *Staphylococcus aureus* toxic shock and scalded skin syndromes in children. Clin Infect Dis 2006;42:181–5.
[30] Mockenhaupt M, Idzko M, Grosber M, Schopf E, Norgauer J. Epidemiology of staphylococcal scalded skin syndrome in Germany. J Invest Dermatol 2005;124(4):700–3.
[31] Mueller E, Haim M, Petnehazy T, Acham-Roschitz B, Trop M. An innovative local treatment for staphylococcal scalded skin syndrome. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010;29:893–7.
[32] Patel GK. Treatment of staphylococcal scalded skin syndrome. Expert Rev Anti Infect Ther 2004;2(4):575–87.
[33] Acland KM, Darvay A, Griffin C, Aali SA, Russell-Jones R. Staphylococcal scalded skin syndrome in an adult associated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Br J Dermatol 1999;140:518–20.
[34] Yokota S, Imagawa T, Katakura S, Mitsuda T, Arai K. Staphylococcal scalded skin syndrome caused by exfoliative toxin B-producing methicillinresistant *Staphylococcus aureus*. Eur J Pediatr 1996;155:722.
[35] Elias PM, Fritsch P, Epstein EH. Staphylococcal scalded skin syndrome: clinical features, pathogenesis, and recent microbiological and biochemical developments. Arch Dermatol 1977;113:207–19.

Příloha 5: Nešpor D, Lipový B, Gregorová N. Cyklosporin A v terapii toxické epidermální nekrolýzy. Dermatol Praxi. 2011;5(3):156-159.

Cyklosporin A v terapii toxické epidermální nekrolýzy

MUDr. David Nešpor[2], MUDr. Břetislav Lipový[1,2], MUDr. Nora Gregorová[1]
[1]Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno
[2]Lékařská fakulta Masarykovy univerzity Brno

Toxická epidermální nekrolýza byla poprvé popsána skotským dermatologem Alanem Lyellem v roce 1956. Proto tato nozologická jednotka nese označení Lyellův syndrom. Jedná se o extrémně vzácné onemocnění projevující se rozsáhlou kožní nekrolýzou a systémovou toxicitou. Pouze včasná diagnostika, neodkladné zahájení terapie, kvalitní nutrice a péče o ránu, spolu s precizní mikrobiologickou monitorací, může zlepšovat prognózu takto postižených pacientů. V kazuistice předkládáme případ těžce postižené mladé ženy vietnamské národnosti léčené cyklosporinem A.

Klíčová slova: toxická epidermální nekrolýza, cyklosporin A.

Ciclosporin A in treating toxic epidermal necrolysis

Toxic epidermal necrolysis was first described by Alan Lyell, a Scottish dermatologist, in 1956. That is why this nosological entity is also referred to as Lyell's syndrome. It is an extremely rare disease characterized by extensive epidermal necrolysis and systemic toxicity. Only an early diagnosis, immediate initiation of treatment, good-quality nutrition and wound care along with accurate microbiological monitoring can improve the prognosis of patients with this disease. We report a case of a severely affected young Vietnamese woman treated with ciclosporin A.

Key words: toxic epidermal necrolysis, ciclosporin A.

Dermatol. praxi 2011; 5(3): 156–159

Úvod

Toxická epidermální nekrolýza (TEN), neboli Lyellův syndrom je extrémně vzácné onemocnění s incidencí okolo 0,5–2 případy na 1 milion obyvatel za rok (1). Ze zatím nevysvětlených příčin bývají častěji postiženy ženy. V České republice bylo hlášeno za rok 2009 celkem 13 případů Lyellova syndromu. Roční incidence byla tedy 1,24 případů na 1 milion obyvatel. Jedná se o potenciálně život ohrožující polékovou toxoalergickou reakci, která způsobuje rozsáhlou kožní a slizniční exfoliaci v oblasti junkce. Stav je také komplikován systémovou toxicitou. I dnes věří řada autorů, že Steven-Johnsonův syndrom (SJS) je pouze jiná klinická manifestace stejného imunologického procesu jako u Lyellova syndromu, který způsobuje menší nekrolýzu v oblasti kůže, ovšem s výraznějším postižením sliznic (2). Tyto syndromy se spolu s erytema multiforme nebo pemfigus vulgaris řadí mezi hlavní zástupce skupiny tzv. „Burn-like syndromů". A právě Lyellův syndrom představuje nejzávažnější onemocnění této skupiny. Celosvětově je udávaná mortalita okolo 40–90 % (3).

Jedná se o imunologickou reakci na přítomnost cizího antigenu. U 90 % pacientů se dá v anamnéze vystopovat medikament indukující rozvoj Lyellova syndromu (4). Mezi nejrizikovější léky patří antibiotika (trimetoprim-sulfamethoxazol, ampicilin-klavulanová kyselina), dále nesteroidní antiflogistika, antiepileptika (karbamazepin, valproát), alopurinol, kortikosteroidy, antidepresiva, anxiolytika aj. Ovšem více než 10 % případů zůstane bez zjištěné vyvolávající příčiny.

V rámci věkových skupin bývají nejčastěji postiženi pacienti ve věku 40–60 let, přičemž starší lidé mohou mít relativně vyšší riziko rozvoje tohoto onemocnění, protože užívají více léků. Výskyt Lyellova syndromu je častěji pozorován u pacientů po transplantaci kostní dřeně a u HIV pozitivních pacientů (5).

Pro úspěšnou terapii a maximální zvýšení šance na přežití postižených pacientů je esenciální dodržení určitých zásad. Zvláště důležité jsou časná diagnostika, neoddalovaná terapie, vyvarování se jakýchkoliv nadbytečných medikamentů a precizní mikrobiologická surveillance.

Zlatým standardem v diagnostice a diferenciální diagnostice Lyellova syndromu je kožní biopsie, která odhalí exfoliaci způsobenou apoptotickým procesem v oblasti dermo-epidermální junkce. Zároveň umožní odlišení také od Steven-Johnsonova syndromu. Kožní biopsie napomůže také vyloučit Stafylokokový syndrom opařené kůže (SSSS). SSSS je naprosto odlišný od Lyellova a Steven-Johnosonova syndromu, ovšem klinicky může tyto stavy napodobovat. Jedná se také o bulózní onemocnění, které způsobují exfoliatiny, produkované určitým typem (fágový typ 2) *Staphylococcus aureus* (6). Tradičně jsou do této skupiny zařazovány toxiny jako ET-A a ET-B, recentní studie také zařazují ET-D. Tyto exfoliatiny působí jako superantigeny, které stimulují proliferaci T lymfocytů a masivním uvolněním cytokinů způsobují epidermální postižení. Exfoliatiny také způsobují prostřednictvím interakce s Desmogleinem -1 (protein desmozomů ze stratum granulosum epidermis) ztrátu adheze v této oblasti epidermis (7). Proto je při histologickém vyšetření patrné intraepidermální postižení, které vzniká ztrátou vazby desmozomů nikoliv indukcí apoptózy. SSSS je typicky onemocnění dětského věku, popisované případy tohoto onemocnění jsou u dospělých zcela raritní. Je to způsobeno zejména tím, že exfoliatiny jsou vylučovány ledvinami a nezralost jejich funkcí zejména ve věku do 5 let může způsobovat jejich větší kumulaci.

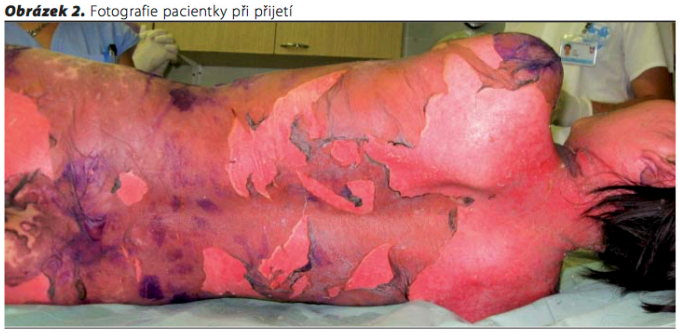
V kazuistice prezentujeme případ mladé ženy vietnamské národnosti, u které způsobilo užití tetrazepamu Lyellův syndrom. Tato pacientka byla léčena cyklosporinem A.

Kazuistika

Pacientka vietnamské národnosti byla přijata dne 28. 7. 2010 na JIP Kliniky popálenin a rekonstrukční chirurgie Fakultní nemocnice Brno (dále KPRCH) s bulózním postižením 95 % celkového tělesného povrchu (obrázek 1, 2).

Obrázek 1. Fotografie pacientky při přijetí

Obrázek 2. Fotografie pacientky při přijetí



K tomuto stavu došlo po léčbě bolestí zad benzodiazepinovým přípravkem obsahujícím Tetrazepam. Prvním projevem byl výsev puchýřnatých formací 22. den po prvním podání Tetrazepamu, který byl primárně diagnostikován jako erythema exsudativum multiforme. Pacientka byla v té době umístěna z nařízení soudu ve vazební věznici Praha Ruzyně.

Byla ihned zahájena terapie kortikosteroidy (Solumedrol) v dávce 3 × 80 mg, ale i přes postupné navyšování dávky až na 1 000 mg/den docházelo ke stálému zhoršování onemocnění. Proto byla pacientka přeložena do Vězeňské nemocnice Brno. Tamní dermatologický konsiliář doporučil ponechat stávající dávku kortikosteroidů a indikoval zahájení antibiotické terapie kombinací Oxacilin (29. den) a Amoxicilin (31. den). Opakovaně zde byly prováděny převazy exfoliovaných ploch bez použití celkové anestezie, tedy pro pacientku velmi bolestivé.

Pro další progresy onemocnění byla pacientka 39. den od prvního kontaktu s vyvolávající látkou přeložena na KPRCH. Primární evaluace rozsahu a lokalizace exfoliovaných oblastí byla provedena na operačním sále v celkové anestezii, byl zajištěn centrální žilní katétr a po předchozí telefonické domluvě s histopatologem byl odebrán bioptický materiál z pravého předloktí, díky němuž byla potvrzena diagnóza Lyellova syndromu. Rozsah exfoliované oblasti byl 95 % TBSA s drobným výsevem bul v oblasti bukální sliznice. Na krku a tvářích byl přítomen výsev červených makul bez obsahu, periorbitálně exfoliace. Pokožka vlasové části hlavy zůstala nepostižena. Při vyšetření per rectum a per vaginam sliznice intaktní. Provedena mikrobiologická surveillance exfoliovaných defektů, zhodnocen Nikolskeho fenomén, který byl pozitivní a plochy byly sterilně kryty mastným tylem s obklady s Chlorhexydinem.

V den přijetí byl pacientce proveden standardní odběr krve, včetně CIK (cirkulujících imunokomplexy) a IgE v séru, dále hCG, RRR a TPHA testy, vše s negativním nálezem. Byla zjištěna pozitivita u IgG na CMV, Anti HAV IgG, Anti HBc a HBsAg. Pacientka udávala, že při rozsevu bul byla přeočkována tetanovým antitoxinem, což vzhledem k imunosupresivní terapii kortikosteroidy se jeví jako nedostatečné, proto z profylaktických důvodů podán ještě TEGA 250 IU a následně po třech týdnech dávka 250 IU opakována. Dále po přijetí byla vyšetřena oftalmologem, který popsal pouze exfoliativní postižení víček s normálním očním nálezem. Vyšetření rtg skiagrafie hrudníku neobjevilo žádnou patologii. Vzhledem ke kritickému stavu při přijetí nasazen cyklosporin A o velikosti indukční dávky 5 mg/kg/den. Následující dny bylo pokračováno v dávkách o velikosti 4 mg/kg/den. Pravidelně byla sledována plazmatická koncentrace cyklosporinu A v séru. Léčba trvala 14 dní. Souběžně s imunosupresivní léčbou cyklosporinem A byly pozvolna snižovány dávky kortikosteroidů s ohledem na prevenci vzniku akutní adrenální insuficience.

Ihned po přijetí byla zahájena cílená mikrobiologická surveillance, a to nejen na defektech, ale i v krevním řečišti, v dýchacích a močových cestách. Byly pravidelně odebírány otisky exfoliovaných ploch k semikvantitativnímu hodnocení mikrobiologické situace včetně. Standardní odběry byly doplňovány o kultivace na půdách pro kvasinky a plísně. Do diagnostického konceptu byla zakomponována také sérologická diagnostika k určení invazivity mykóz, to znamená manan a galaktomanan. 40. den se rozvinul kandidový soor, kde byla kultivačně zjištěna Candida albicans a který byl podle citlivosti přeléčen Flukonazolem. Následně antimykoticko – antibiotická terapie volena podle výsledku mikrobiologického monitoringu s ještě větší intenzitou po 46. dni, kdy byla zjištěna kritická leukopenie, klesající až k 1×10^9/l. V následujících dnech již hodnoty leukocytů postupně normalizovány.

Během hospitalizace došlo u pacientky k rozvoji hypertenze, s možnou etiologií v léčbě kortikoidy a cyklosporinem A. Pacientka byla vyšetřena na lůžku lékařem Interní kardiologické kliniky pomocí transtorakální ECHO s nálezem hraničních hodnot krevního tlaku pro hypertenzi v plicnici, bez další patologie. Nasazeny blokátory Ca2+ kanálu.

Postupně po kombinované terapii dochází k epitelizaci zejména trupu a obličeje, následně také končetin. Pouze v oblasti bérců a drob-

Obrázek 3. Zbytkové defekty na dolních končetinách před autotransplantací dermoepidermálními štěpy

Obrázek 4. Fotografie pacientky před propuštěním

Obrázek 5. Fotografie pacientky před propuštěním

ných okrsků na končetinách nebyla pozorována schopnost spontánní reepitelizace, pravděpodobně došlo k prohloubení defektů z lokálních příčin, nejspíše se jednalo o plochy infikované (Klebsiella penumoniae). Proto byly tyto defekty, s rozsahem 11 % TBSA, autotransplantovány dermoepidermálními štěpy (obrázek 3). Primární volba místa odběrové plochy byla v místech nepostižených exfoliací.

Pacientka byla převazována v celkové anestezii obden. Na plochy topicky aplikován Flaminal Hydro.

Po 77 dnech od prvního požití Tetrazepamu a po 55 dnech hospitalizace byla pacientka přeložena do Vazební věznice Praha s kompletně zhojenými defekty a snižující se dávkou kortikosteroidů (obrázek 4, 5).

Diskuze

Vzhledem k tomu, že se jedná o extrémně vzácné onemocnění a většina studií je na úrovni case-report nebo maximálně case-series, dosud neexistuje u Lyellova syndromu spolehlivý terapeutický protokol. V souvislosti s léčbou Lyellova syndromu se nejčastěji jako potenciálně prospěšné zmiňují tyto preparáty: kortikosteroidy, cyklosporin A, IVIG, thalidomid, plazmaferéza aj. Základem terapie je imunomodulační přístup. Strategie „wait-and-see" je dnes již těžko připustitelná, ale některými pracovišti stále používaná.

Mezi nejvíce debatované preparáty patří kortikosteroidy. V žádné z dosud provedených studií se neprokázat benefit podání kortikosteroidů u pacientů s Lyellovým syndromem. Naopak oproti kontrolní skupině se u pacientů ve skupině s kortikosteroidy výrázně zvyšují infekční komplikace a tedy i mortalita. Navíc se udává, že kortikosteroidy užívané v indikaci jiného onemocnění způsobují okolo 5 % případů Lyellova syndromu (8). Kortikosteroidy také zhoršují fázový postup a způsobují prolongované hojení rány. Proto dnes nelze doporučit kortikosteroidy v terapii tohoto syndromu. Výsledkem řady studií je přímo kontraindikace podávání kortikosteroidů u diagnózy Lyellova syndromu. Řada pacientů, kteří se dostávají do specializovaných center pro diagnózu Lyellova syndromu již má zavedenou terapii kortikosteroidy a jejich náhlé vysazení může způsobit akutní adrenální insuficienci. Proto je nutno v terapii kortikosteroidy s pozvolnou deeskalací pokračovat a při progresi volit do kombinace jinou strategii terapie. Intravenózní podání imunoglobulinů preferuje řada pracovišť. Opírá se o četné studie, které poukazují na účinnou inhibici indukce apoptózy. Za indukci apoptózy u Lyellova syndromu může vazba Fas-Fas L, kterou ruší právě podání intravenózních imunoglobulinů. Z tohoto pohledu by se mělo jednat o ideální preparát v léčebném konceptu Lyellova syndromu. Výsledky studií in vitro jasně podporují zastavení apoptotických procesů, ovšem klinická data již nejsou tak příznivá. Doposud nebylo přesvědčivě zdůvodněno, proč navzdory slibnému mechanizmu účinku stále velké množství terapie tímto preparátem selhává. U terapie intravenózními imunoglobuliny se navíc přidává také řada nežádoucích účinků jako – hyperviskózní syndrom (akutní infarkt myokardu, ischemická cévní mozková

příhoda), anafylaktická reakce, aseptická meningitida, akutní renální selhání. Existují studie, které doporučují profylaktické podávání intravenózní imunoglobulinů u HIV pozitivních pacientů, kteří užívají trimetoprim –sulfametoxazol v léčbě pneumonie způsobené Pneumocystis jiroveciib (9). Dalším preparátem je cyklosporin A, který byl poprvé použit v terapii Lyellova syndromu v roce 1986. Jedná se o potentní imunosupresivum, jehož mechanizmus účinku je zastavení syntézy interleukinu 2 (IL-2) prostřednictvím inhibice kalcineurinu. V řadě klinických studií a kazuistik je tento preparát kladně hodnocen z pohledu zkrácení hospitalizace, přežití a zrychlení reepitelizace (10). Ovšem chybí velká metaanalýza těchto výsledků.

Závěr

I v dnešní době představuje Lyellův syndrom onemocnění se stále neuspokojivě vysokou mortalitou. Vzhledem k raritnímu výskytu v populaci bude velmi obtížné najít konsenzus v účinné terapii.

Literatura

1. Schulz JT, Sheridan RL, Ryan CM, et al. A 10-year experience with toxic epidermal necrolysis. J Burn Care Rehabil 2000; 21(3): 199–204.
2. Becker DS. Toxic epidermal necrolysis. Lancet 1998; 351: 1417–1420.
3. Murphy JT, Purdue GF, Hunt JL. Toxic epidermal necrolysis. J Burn Care Rehabil 1997; 18: 417–420.
4. Roujeau JC, Kelly JP, Naldi L, et al. Medication use and the risk of Stevens-Johnson syndrome or toxic epidermal necrolysis. N Engl J Med 1995; 333(24): 1600–1607.
5. Saiag P, Caumes E, Chosidow O, et al. Drug-induced toxic epidermal necrolysis (Lyell syndrome) in patients infected with the human immunodeficiency virus. J Am Acad Dermatol 1990; 26: 567–574.
6. Elias PM, Fritsch P, Epstein EH. Staphylococcal scalded skin syndrome: clinical features, pathogenesis, and recent microbiological and biochemici developments. Arch Dermatol 1977; 113: 207–219.
7. Dancer SJ, Garratt R, Sanhanha J, et al. The epidermolytic toxins are serine proteases. FEBS Lett 1990; 268: 129–132.
8. Pasricha JS, et al. Toxic epidermal necrolysis. Int. J Dermatol. 1996; 35: 523–527.
9. Sanwo M, et al. Use of intravenous immunoglobulin in the treatment of severe cutaneous drug reactions in patients with AIDS. J Allergy Clin. Immunol. 1996; 98: 1112–1115.
10. Paquet P, et al. Would cyclosporin A be beneficial to mitigate drug-induced toxic epidermal necrolysis? Dermatol. 1999; 198: 198–202.

Článek přijat redakcí: 11. 7. 2011
Článek přijat k publikaci: 11. 8. 2011

MUDr. David Nešpor
Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno-Bohunice

Příloha 6: Lipový B, Holoubek J. Současný pohled na roli inhibitorů TNFα v terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. Klin Farmakol Farm. 2016;30(4): 24–27.

Současný pohled na roli inhibitorů TNFα v terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou

Břetislav Lipový[1, 2], Jakub Holoubek[1]
[1]Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno
[2]Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno

Toxická epidermální nekrolýza (TEN) představuje nejzávažnější syndrom ze skupiny SCARs (Severe Cutaneous Adverse Reactions). Jde tedy o polékovou toxoalergickou reakci, u které dochází k rozvoji apoptózy v oblasti dermo-epidermální junkce. Dodnes není spolehlivě vysvětlena komplexní patofyziologická podstata tohoto syndromu, což vede k jistým zmatečnostem v terapii. Výsledkem je stále neuspokojivě vysoká mortalita. Vzhledem k tomu, že TNFα hraje důležitou roli v doposud popsané patofyziologii TEN, zdá se být podávání inhibitorů TNFα logickou volbou v terapii těchto pacientů. Ovšem situace není tak jednoznačná, jak se může na první pohled zdát.

Klíčová slova: toxická epidermální nekrolýza, biologická léčba, TNFα.

Current perspective on the role of TNFα inhibitors in treating patients with toxic epidermal necrolysis

Toxic epidermal necrolysis (TEN) represents the most severe syndrome of the SCARs (Severe Cutaneous Adverse Reactions) group. It is a drug-induced toxic-allergic reaction in which apoptosis develops in the area of the dermoepidermal junction. To date, the complex pathophysiological nature of this syndrome has not been elucidated reliably, which has resulted in certain confusion in the treatment. As a result, the mortality rate is still unsatisfactorily high. Given the fact that TNFα plays an important role in the hitherto described pathophysiology of TEN, the administration of TNFα inhibitors appears to be a logical choice in treating these patients. However, the situation is not as unequivocal as it may seem at first sight.

key words: toxic epidermal necrolysis, biological therapy, TNFα.

Úvod

Toxická epidermální nekrolýza (TEN) představuje nejzávažnější syndrom ze skupiny tzv. SCARs (Severe Cutaneous Adverse Reactions) (1). První popis tohoto syndromu provedl v roce 1956 skotský dermatolog Alan Lyell, proto se někdy TEN označuje jako Lyellův syndrom (2). Základní podstatou TEN je masivní indukce apoptózy v oblasti dermo-epidermální junkce. Vzniká tak různě rozsáhlá kožní exfoliace, přičemž kritéria pro diagnózu TEN jsou splněna v případě, že minimální rozsah postižení kožního povrchu je 30 % TBSA (total body surface area). Velmi často bývají u TEN postiženy také sliznice (3). Indukce apoptózy je iniciována přítomností cizorodého antigenu. V případě TEN se jedná typicky o medikamenty, přesto u asi 5–10 % případů TEN se nepodaří najít přímá souvislost mezi tímto syndromem a podáváním nějakého léku (4). TEN je celosvětově velmi raritní syndrom, jehož incidence se pohybuje kolem 0,5–1 případ na milion obyvatel a rok (v České republice je každoročně evidováno přibližně 5–10 případů). Nejsou zaznamenány výraznější geografické rozdíly ve výskytu tohoto onemocnění. Závažnost syndromu spočívá ve vysoké mortalitě, která se pohybuje mezi 30–50 % (5).

Přestože patofyziologie TEN není doposud spolehlivě objasněna, pokroky které byly zaznamenány na poli imunologie, zejména za poslední dekádu, velmi přispěly k pochopení podstaty samotného syndromu. Podle aktuálních poznatků dochází k reakci imunitního systému a interakci mezi HLA antigeny I. třídy s následnou klonální produkcí CD8+ T lymfocytů (cytotoxické T lymfocyty). Tyto lékově specifické klony mohou následně různými mechanizmy iniciovat apoptózu keratinocytů. Samotné CD8+ T lymfocyty by ovšem v tomto množství nebyly schopny způsobit extenzivní kožní a slizniční postižení, proto se v této fázi velmi intenzivně zapojují také CD4+ T lymfocyty (pomocné lymfocyty). CD4+ T lymfocyty transmigrují do tkání a mohou způsobovat

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA: MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D.
Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno
Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno

Cit. zkr: Klin Farmakol Farm 2016; 30(4): 24–27
Článek přijat redakcí: 22. 11. 2016
Článek přijat k publikaci: 11. 12. 2016

Obr. 1. *Lokální nález exfoliace v oblasti pravé horní končetiny*

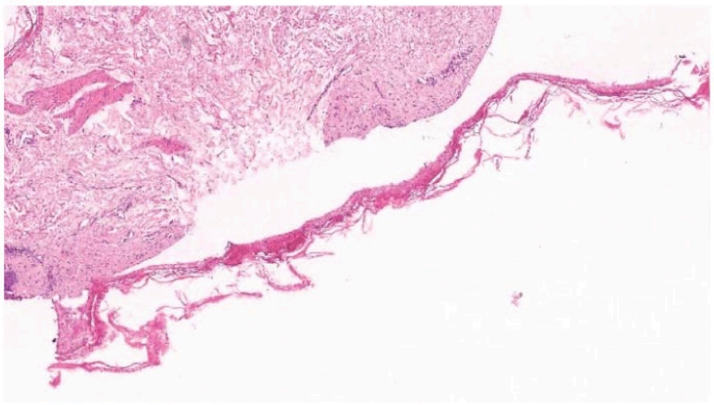
Obr. 2. *Lokální nález exfoliace v oblasti hýždí a zad*

apoptózu keratinocytů přímo (FasR-FasL vazba), nebo také nepřímo zvyšováním produkce CD8+ T lymfocytů a také ovlivňováním NK buněk (6).

V případě TEN se při rozvoji apoptózy epidermálních buněk uplatňují dva hlavní systémy – kaspázový a nekaspázový (7). V případě kaspázového apoptotického mechanizmu se dále hovoří o dvou drahách indukce. Vnější dráha je aktivována vazbou specifického ligandu (FasL, CD95L) na receptor FasR (CD95R). Následně dochází k aktivaci apoptotické dráhy přes iniciační kaspázu (kaspáza-8) až ke kaspáze efektorové (kaspáza-3) (8). Identickou dráhu spouští také vazba TNFα na specifický receptor (TNFR1 – Tumor necrosis factor receptor 1). Vnitřní dráha aktivace kaspázového apoptotického mechanizmu je iniciována dysregulací vnitřního prostředí buňky. Předpokládá se, že vnitřní dráha se v patofyziologii TEN uplatňuje zcela minoritně. U nekaspázových proteáz se v rozvoji apoptózy epidermálních buněk uplatňuje zejména granzym B produkovaný specifickými klony CD8+ a také NK buňkami (9).

Jak již bylo zmíněno dříve, základním klinickým příznakem TEN je postižení kůže v podobě exfoliace s následnou tvorbou rozsáhlých erozí v rozsahu minimálně 30 % TBSA (obr. 1, 2). Vzhledem k tomu, že TEN může imitovat celou řadu jiných závažných bulózních onemocnění, je před samotným zavedením terapie nezbytně nutná precizní diagnostika. Ta se v současné době opírá o pozitivitu některých klinických znamení (pseudo-Nikolského fenomén – při drobném tlaku na postižené místo epidermis dochází k jejímu posunutí proti dermis, Asboe-Hansenovo znamení – při vertikálním tlaku na bulu se její obsah šíří do okolí buly), kožní biopsii a také o podrobnou anamnézu, především farmakologickou (10).

Obr. 3. *Histologické vyšetření s obrazem odlučující se epidermis a chabým zánětlivým infiltrátem dermis, typický obraz pro TEN*



Charakteristický histopatologický obraz TEN zahrnuje přítomnost četných nekrotických keratinocytů a rozvolnění v oblasti dermo-epidermální junkce (11) (obr. 3). Právě v oblasti tohoto rozvolnění dochází k postupné tvorbě bulózních formací. V dermis je přítomen pouze chudý zánětlivý infiltrát. Alan Lyell sám popsal tento stav jako tzv. dermal silence (12).

Role TNFα a jeho receptoru v patofyziologii TEN

TNFα hraje v rozvoji TEN pravděpodobně důležitou úlohu, přesto by se jeho patogenetická role neměla přeceňovat. Jeho přítomnost byla popsána u pacientů s TEN v epidermis, kde byla jeho koncentrace daleko vyšší nežli v plazmě (13). V obsahu bul byla zjištěna přítomnost solubilní formy tzv. sTNFα. Dnes jsou známy 2 typy receptorů pro TNFα – TNFR-1 a TNFR-2. Při vzniku apoptózy se uplatňuje pouze receptor TNFR-1. TNFR-2 má opačnou úlohu, tedy zajištění dostatečné intracelulární produkce řady antiapoptotických mediátorů cestou nukleárního faktoru kappa B (NF-kB). Přesto samotná vazba TNFα na TNFR-1 nevede pouze ke spuštění kaspázami zprostředkované apoptózy (14).

Zajímavé je srovnání úlohy jednotlivých proinflamatorních cytokinů při vzniku TEN a termického traumatu. Zatímco při rozvoji TEN hraje důležitou roli TNFα, u termického traumatu se v oblasti dermis nachází daleko vyšší koncentrace IL-1 (15).

Thalidomid a jeho efektivita u pacientů s TEN

O patogenetické roli TNFα v patofyziologii TEN se spekulovalo již v 90. letech minulého století. Tehdy nebyly ještě, nejen pro pacienty s TEN, k dispozici selektivní inhibitory, resp. biologika. Ovšem byl již dobře známý preparát, který měl výraznou anti-TNFα aktivitu, thalidomid. Thalidomid je nechvalně známý preparát, který byl vyvinut v 50. letech minulého století v Německu jako sedativum a hypnotikum (16). Používal se až do roku 1961, kdy byla naznačena příčinná souvislost mezi užíváním tohoto

preparátu a vývojovými abnormalitami novorozenců.

Určitou renesanci zažil thalidomid v 90. letech minulého století, kdy se začalo využívat jeho inhibičního účinku na TNFα. S částečným úspěchem byl využit např. při terapii Behcetovy choroby, GVHD (graft versus host disease) nebo SLE (systémový lupus erythematodes) (17, 18).

Velké naděje se také přikládaly thalidomidu v rámci terapie pacientů s TEN. Proto v roce 1998 proběhla studie, která byla designovaná jako zaslepená s cílem zhodnotit superioritu v přežití pacientů ve skupině s thalidomidem, proti skupině užívající placebo. Studie byla provedena nejprogresivnější skupinou zabývající se závažnými bulózními stavy pod vedením Pierra Wolkensteina (19). Samotná studie byla předčasně ukončena, protože byla zaznamenána excesivní mortalita v thalidomidové skupině (zemřelo 10 z 12 probandů), zatímco ve skupině s placebem zemřeli 3 z 10 probandů. Výsledkem této studie tedy bylo zjištění, že použití thalidomidu u pacientů s TEN je nejen neefektivní, ale naopak škodlivé, proto se další použití tohoto preparátu v terapii pacientů s TEN nedoporučuje.

Paradoxně byly zaznamenány případy rozvoje TEN u pacientů, kteří medikovali thalidomid z jiných příčin. Colagrande et al. reportovali případ rozvoje TEN u pacienta s primární myelofibrózou, který užíval thalidomid (20). Eo et al. popsali případ rozvoje TEN u pacienta, který medikoval thalidomid z důvodu mnohočetného myelomu (21).

Biologika v terapii pacientů s TEN

V souvislosti s terapií TEN jsou dnes zmiňovány tři preparáty ze skupiny tzv. biologické léčby – etanercept, infliximab, adalimumab. Vývoj těchto preparátů na přelomu století vedl k možné renesanci použití anti-TNFα preparátů v terapii pacientů s TEN. Mezi jednotlivými zástupci této skupiny jsou odlišnosti. Zatímco etanercept představuje fúzní protein lidského receptoru p75 tumor nekrotizujícího faktoru a Fc proteinu, infliximab je chimerická IgG1 monoklonální protilátka (75 % humánní a 25 % myší komponenta) a adalimumab je plně humánní IgG monoklonální protilátka. V terapii pacientů s TEN byly doposud použity etanercept a infliximab (22, 23). Jedná se pouze o jednotlivé kazuistiky nebo série kazuistik v řádově jednotkách pacientů. Výsledky nejsou ovšem přesvědčivé. Jediná doposud publikovaná studie zahrnující početnější skupinu pacientů (n = 10) byla publikována v roce 2014 (24). U všech pacientů bylo jednorázově podáno 50 mg etanerceptu s.c. Nikdo ze souboru pacientů nezemřel a u všech byla zaznamenána rychlá regrese základního onemocnění. Přesto počáteční nadšení bylo opět vystřídáno pochybnostmi. Pozitivní výsledky byly většinou publikovány pouze z center v Itálii s vazbou na jednu skupinu výzkumníků, což budí drobné rozpaky. Konstruktivní metaanalýza o použití biologické léčby u pacientů s TEN v jiných zemích doposud chybí.

Proti použití biologické léčby v terapii pacientů s TEN hovoří také současně reportované případy rozvoje Stevens-Johnsonova syndromu (SJS) u pacientů medikujících chronicky biologika, zejména adalimumab, z důvodu jiného základního onemocnění. Mounach et al. nebo Owczarczyk-Saczonek et al. publikovali případ rozvoje SJS u pacientů s revmatoidní artritidou užívajících dlouhodobě etanercept nebo adalimumab (25, 26). Salama et al. poukazují na rozvoj SJS po podání adalimumabu u pacienta s Crohnovou chorobou (27).

Rozvoj TEN při terapii inhibitory TNFα sice zatím nebyl popsán, podstata SJS a TEN je ale velmi podobná, a rozdíl mezi těmito syndromy je pouze v intenzitě a rozsahu postižení kůže a sliznic (TEN více než 30 % TBSA, SJS méně nebo rovno 10 %) (28).

Možné patofyziologické vysvětlení nežádoucího potlačení produkce TNFα v průběhu léčby pacientů TEN

Jak již bylo zmíněno výše, má TNFα a jeho vazba zejména na TNFR1 nejen apoptotický, ale také antiapoptotický efekt na danou buňku. Samotná vazba TNFα na TNF-R1 způsobí trimerizaci receptoru, který následně akivuje TNFR1-associated death domain protein (TRADD). Tento protein slouží dále jako jakási platforma pro aktivaci nejméně 3 dalších mediátorů, RIP1 (receptor interacting protein 1), Fas-associated death domain protein (FADD) a TNF-receptor associated factor 2 (TRAF-2). Jistá kontroverze v případě rozvoje TEN připadá v úvahu zejména proto, že každý z těchto mediátorů má odlišnou funkci. Při aktivaci RIP1 a FADD přes již aktivovaný TRADD dojde k následnému rozvoji apoptózy cestou iniciačních a efektrových kaspáz, které jsou identické s intracelulárními pochody po aktivaci FasR (stejná receptorová rodina).

Pokud dojde k aktivaci RIP1 a TRAF2 přes již aktivovaný TRADD, tato cesta vede k transkripci NF-κB (nukleárního faktoru kappa B), respektive dojde k primární aktivaci komplexu IKK podjednotek (inhibitor of nuclear factor kappa B kinase). Pro aktivaci IKK podjednotek je zapotřebí součinnosti obou mediátorů, tedy jak RIP1, tak i TRAF-2. Dráha NF-κB způsobuje výslednou mnohočetnou antiapoptotickou aktivitu. Dominantní v tomto smyslu je zejména antiapoptotický protein BCL-2 a další nitrobuněčné inhibitory apoptózy, resp. inhibitory aktivity specifických kaspáz, např. c-IAP1 (The cellular inhibitor of apoptosis 1), XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein) (29).

Výše zmíněná skutečnost vede k domněnce, že TNFα má v případě rozvoje TEN možná důležitou úlohu, přesto jeho nezastupitelná role je také v případě významné protekce buňky před apoptotickými působky. Bohužel ani dnes stále nevíme, která patofyziologická dráha je v případě vazby TNF u pacientů s TEN aktivnější, jestli je to proapoptotická RIP1 a FADD, nebo naopak antiapoptotická RIP1 a TRAF-2.

Přesto by se dalo namítnout, že míra exprese FasL na T lymfocytech a také keratinocytech je výrazně ovlivněna aktivitou TNFα. Při supresi produkce TNFα by tedy mělo dojít k potlačení i druhé, významné patofyziologické dráhy uplatňující se v rozvoji TEN. Situace kolem exprese FasL je ovšem daleko složitější, ovlivňují ji mimo TNFα také jiné cytokiny, např. INFγ nebo také produkce samotného oxidu dusného. A právě míra oxidativního a nitrosativního stresu je dnes v souvislosti s patofyziologií TEN velmi intenzivně zkoumána (30).

Závěr

V reflexi na současné patofyziologické poznání, a ne zcela přesvědčivé výsledky týkající se efektivity biologik v terapii pacientů s TEN, se dnes použití jednotlivých preparátů z této skupiny nedá doporučit. Přesto k definitivnímu závěru povede ještě dlouhá cesta, přes pochopení samotné role TNFα v iniciační a amplifikační fázi TEN, po provedení multicentrické metaanalýzy, která nám přinese dostatečně robustní data o účinnosti, nebo naopak škodlivosti podávání biologik u pacientů s TEN.

LITERATURA

1. Chung WH, Wang CW, Dao RL. Severe cutaneous adverse drug reactions. J Dermatol. 2016; 43(7): 758–766. doi: 10.1111/1346–8138.13430.
2. Lyell A. Toxic epidermal necrolysis: an eruption resembling scalding of the skin. Br J Dermatol. 1956; 68(11): 355–361.
3. Lipový B, Říhová H, Kempný T, Suchánek I. Fulminantní průběh lamotriginem indukované toxické epidermální nekrolýzy. Neurol. praxi 2015; 16(5): 299–301.
4. Schwartz RA, McDonough PH, Lee BW. Toxic epidermal necrolysis: Part I. Introduction, history, classification, clinical features, systemic manifestations, etiology, and immunopathogenesis. J Am Acad Dermatol. 2013; 69(2): 173.e1–13; quiz 185–186.
5. Harr T, French LE. Toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome. Orphanet J Rare Dis, 2010; 5: 39–50.
6. Le Cleach L, Delaire S, Boumsell L, Bagot M, Bourgault-Villada I, Bensussan A, Roujeau JC. Blister fluid T lymphocytes during toxic epidermal necrolysis are functional cytotoxic cells which express human natural killer (NK) inhibitory receptors. Clin Exp Immunol. 2000; 119(1): 225–230.
7. Hoetzenecker W, Mehra T, Saulite I, Glatz M, Schmid-Grendelmeier P, Guenova E, Cozzio A, French LE. Toxic epidermal necrolysis. F1000Res. 2016 May 20; 5. pii: F1000 Faculty Rev-951. doi: 10.12688/f1000research.7574.1. eCollection 2016.
8. Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, Wang X. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. Annu Rev Cell Dev Biol. 1999; 15: 269–290.
9. Saeed HN, Chodosh J. Immunologic Mediators in Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis. Semin Ophthalmol. 2016; 31(1–2): 85–90. doi: 10.3109/08820538.2015.1115255.
10. Lipový B. A potential new sign in patients with toxic epidermal necrolysis. Burns. 2016; 42(7): 1618–1620. doi: 10.1016/j.burns.2016.07.014.
11. Quinn AM, Brown K, Bonish BK, Curry J, Gordon KB, Sinacore J, Gamelli R, Nickoloff BJ. Uncovering histologic criteria with prognostic significance in toxic epidermal necrolysis. Arch Dermatol. 2005; 141(6): 683–687.
12. Lyell A. Toxic epidermal necrolysis (the scalded skin syndrome): a reappraisal. Br J Dermatol. 1979; 100(1): 69–86.
13. Nassif A, Moslehi H, Le Gouvello S, Bagot M, Lyonnet L, Michel L, Boumsell L, Bensussan A, Roujeau JC. Evaluation of the potential role of cytokines in toxic epidermal necrolysis. J Invest Dermatol. 2004; 123(5): 850–855.
14. Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. Science. 2002; 296(5573): 1634–1635.
15. Correia O, Delgado L, Roujeau JC, Le Cleach L, Fleming-Torrinha JA. Soluble interleukin 2 receptor and interleukin 1alpha in toxic epidermal necrolysis: a comparative analysis of serum and blister fluid samples. Arch Dermatol. 2002; 138(1): 29–32.
16. Lasagna L. Thalidomide-a new nonbarbiturate sleep--inducing drug. J Chronic Dis. 1960; 11: 627–631.
17. Hatemi I, Hatemi G, Pamuk ON, Erzin Y, Celik AF. TNF-alpha antagonists and thalidomide for the management of gastrointestinal Behçet's syndrome refractory to the conventional treatment modalities: a case series and review of the literature. Clin Exp Rheumatol. 2015; 33(6 Suppl 94):S129–S137.
18. Wu JJ, Huang DB, Pang KR, Hsu S, Tyring SK. Thalidomide: dermatological indications, mechanisms of action and side-effects. Br J Dermatol. 2005; 153(2): 254–273.
19. Wolkenstein P, Latarjet J, Roujeau JC, Duguet C, Boudeau S, Vaillant L, Maignan M, Schuhmacher MH, Milpied B, Pilorget A, Bocquet H, Brun-Buisson C, Revuz J. Randomised comparison of thalidomide versus placebo in toxic epidermal necrolysis. Lancet. 1998; 352(9140): 1586–1589.
20. Colagrande M, Di Ianni M, Coletti G, Peris K, Fargnoli MC, Moretti L, Lapecorella M, Tabilio A. Toxic epidermal necrolysis in a patient with primary myelofibrosis receiving thalidomide therapy. Int J Hematol. 2009; 89(1): 76–79. doi: 10.1007/s12185–008–0220–2.
21. Eo WK, Kim SH, Cheon SH, Lee SH, Jeong JS, Kim YS, Chang HK, Suh KS, Kim HY. Toxic epidermal necrolysis following thalidomide and dexamethasone treatment for multiple myeloma: a case report. Ann Hematol. 2010; 89(4): 421–422. doi: 10.1007/s00277–009–0810-y.
22. Didona D, Paolino G, Garcovich S, Caposiena Caro RD, Didona B. Successful use of etanercept in a case of toxic epidermal necrolysis induced by rituximab. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2016 Oct; 30(10): e83–e84. doi: 10.1111/jdv.13330.
23. Zárate-Correa LC, Carrillo-Gómez DC, Ramírez-Escobar AF, Serrano-Reyes C. Toxic epidermal necrolysis successfully treated with infliximab. J Investig Allergol Clin Immunol. 2013; 23(1): 61–63.
24. Paradisi A, Abeni D, Bergamo F, Ricci F, Didona D, Didona B. Etanercept therapy for toxic epidermal necrolysis. J Am Acad Dermatol. 2014; 71(2): 278–283. doi: 10.1016/j.jaad.2014.04.044.
25. Mounach A, Rezqi A, Nouijai A, Ghozlani I, Achemlal L, Maghraoui AE, Bezza A. Stevens-Johnson syndrome complicating adalimumab therapy in rheumatoid arthritis disease. Rheumatol Int. 2013; 33(5): 1351–1353. doi: 10.1007/s00296–011–2212–4.
26. Owczarczyk-Saczonek A, Zdanowska N, Znajewska-Pander A, Placek W. Stevens-Johnson syndrome in a patient with rheumatoid arthritis during long-term etanercept therapy. J Dermatol Case Rep. 2016 Mar 31; 10(1): 14–16. doi: 10.3315/jdcr.2016.1224. eCollection 2016.
27. Salama M, Lawrance IC. Stevens-Johnson syndrome complicating adalimumab therapy in Crohn's disease. World J Gastronterol. 2009; 15(35): 4449–4452.
28. Bastuji-Garin S, Rzany B, Stern RS, Shear NH, Naldi L, Roujeau JC. Clinical classification of cases of toxic epidermal necrolysis, Stevens-Johnson syndrome, and erythema multiforme. Arch Dermatol. 1993; 129(1): 92–96.
29. Chen, Guoqing, and David V. Goeddel. „TNF-R1 signaling: a beautiful pathway." Science. 2002; 296(5573): 1634–1635.
30. Peter D, Amirtharaj GJ, Mathew T, Pulimood S, Ramachandran A. Role of Oxidative and Nitrosative Stress in Pathophysiology of Toxic Epidermal Necrolysis and Stevens Johnson Syndrome-A Pilot Study. Indian J Dermatol. 2015; 60(5): 427–431. doi: 10.4103/0019–5154.159617.

Příloha 7: Lipový B, Řihová H, Kaloudová Y, Mager R, Suchánek I. Use of Xe-Derma®, a novel biological cover, in a female patient with toxic epidermal necrolysis. Ann Burns Fire Disasters. 2014;27(3):136-140.

USE OF XE-DERMA®, A NOVEL BIOLOGICAL COVER, IN A FEMALE PATIENT WITH TOXIC EPIDERMAL NECROLYSIS

Lipový B.,[1,2]* Řihová H.,[1] Kaloudová Y.,[1] Mager R.,[1] Suchánek I.[1]

[1] Burn and Reconstructive Surgery Center, University Hospital, Brno, Czech Republic
[2] Medical School, Masaryk University, Brno, Czech Republic

SUMMARY. Toxic epidermal necrolysis is a rare condition involving the skin at the dermoepidermal junction, with possible inclusion of mucous membranes. The condition is associated with systemic toxicity and high mortality rates. Successful treatment requires optimization of local as well as systemic therapy. We report the case of a young woman who developed toxic epidermal necrolysis, possibly resulting from lamotrigine therapy. Local therapy included a combination of a biological cover and alginate together with a synthetic cover (Aquacel Ag®).

Keywords: Xe-Derma®, toxic epidermal necrolysis

Introduction

Toxic epidermal necrolysis (TEN), also known as Lyell's disease, is a rare and life-threatening disease with an incidence of 0.5-1.5 cases per million each year in the Czech Republic. Toxic epidermal necrolysis was first described in 1956 by Scottish dermatologist Alan Lyell, who identified it in four patients.[1] In two patients, the diagnosis was subsequently modified to staphylococcal scalded skin syndrome, which was already known by that time; the other two patients indeed had TEN. The syndrome was also described by Lang and Walker in the same year. The condition belongs to a group of diseases called burn-like syndromes.[2] Stevens-Johnson's Syndrome, as well as TEN, mimics superficial burns. The only difference is that the collection of fluid is only between the epidermis and dermis, unlike the involvement of the dermis in some cases of superficial burns.[3] Toxic epidermal necrolysis is the most severe condition of that group. It is a potentially life-threatening drug-mediated toxoallergic reaction causing extensive skin and mucosal exfoliation in the area of the dermoepidermal junction. The condition is complicated by systemic toxicity. It is an extremely rare disease with an incidence of approximately 0.5-2 cases per million each year. For reasons that are yet to be explained, the patients are predominantly women (in most epidemiological studies, the M:F ratio is about 1:1.5).[4]

Global mortality rates are reported to be somewhere between 40 and 90%. In fact, TEN is an immunological reaction to the presence of a foreign antigen. In 90% of patients, a medication inducing the development of Lyell's disease can be traced back in their medical history. The drugs associated with highest risk include antibiotics (trimethoprim/sulfamethoxazole, amoxicillin/clavulanic acid), non-steroidal anti-inflammatory drugs, antiepileptics (carbamazepin, valproate, lamotrigine), allopurinol, corticosteroids, antidepressants, anxiolytics, and other substances. However, the causative agent remains unidentified in over 10% of cases.[5]

Successful therapy requires optimization of not only systemic but local therapy, in particular. Our case report presents a young woman who developed TEN, possibly due to lamotrigine therapy. Local therapy including single application of the temporary Xe-Derma® biological cover was compared with the currently established protocols, i.e., alginate plus a synthetic cover (Aquacel Ag®).

Case report

We present the case of a young woman with polyvalent allergy, hospitalized in an alcohol rehab center. Despite her allergy, she deliberately ate a citrus fruit and subsequently developed anaphylactic shock and Quincke's edema. Emergency medical services provided acute treatment and subsequently transported the patient to the Department of Infectious Disease of the District Hospital in Jihlava. By that time, the patient was breathing spontaneously, there was already no edema involving her face and neck, and

* Corresponding author: Břetislav bin Lipový. Email: B.Lipovy@seznam.cz

she showed no signs of shock. The following day, the patient developed a skin rash, likely to have been caused by lamotrigine therapy. A consultant in dermatology, when asked his opinion, said he suspected an exfoliative disease. Corticosteroid (dexamethasone) therapy was subsequently initiated. As the disease progressed despite therapy, the patient was transferred, on day 4, to the Burn and Reconstructive Surgery Center of Brno University Hospital.

On admission, the patient was breathing spontaneously with satisfactory oxygen saturation values. Her clinical picture was dominated by extensive, coalescent bullae, particularly in the upper part of her body; her oral cavity was also involved (*Fig. 1*). The extent of exfoliation can be seen in *Figs. 2* and *3*. Because of marked tenderness, the patient had to receive primary treatment in the operating room with a central venous catheter, permanent urinary catheter, and an arterial sensor inserted. As agreed with the anaesthesiologist, the patient was on mechanical ventilation using only a face mask due to the high risk of additional mucosal injury involving the upper respiratory airways. Bronchoscopy on admission did not find injury to the lower respiratory airway lining.

Examination on admission clearly showed the patient had TEN, as Nikolsky's sign was clearly identified; the primary extent of exfoliation was estimated to be 55% of body surface area. The clinical picture deteriorated dramatically within a few hours, with exfoliation increasing to involve up to 85% of the total body surface area (TBSA) together with injury to the mucosa of the oral cavity, upper respiratory airways, vagina, and rectum.

Systemic therapy

Upon admission, the patient was already undergoing corticosteroid therapy (Solumedrol 250mg every 8 hours). During hospitalization, the dose was tapered and gradually switched to its oral presentation (methylprednisolone). Because of disease progression, the patient required cyclosporine A at an induction dose of 5mg/kg b.w. per day (the dose was split into two). As the picture progressed dramatically despite the above measure, systemic therapy had to be complemented, at 14 hours post-admission, with high-dose antithrombin (a therapeutic option in TEN not published before). High-dose antithrombin is particularly advantageous in a fulminant amplification phase, as it potently inhibits the production of intracellular adhesive molecules (ICAM) modulated by TNF-α and responsible for deterioration of the disease in this phase. The patient also required the administration of intravenous immunoglobulins (IVIG therapy). A starting dose of 0.2g/kg b.w. per day for 5 days was chosen. There was a gradual reduction in CD14+ monocyte count and the patient was developing immunoparalysis defined as a degree of CD14+ monocyte expression < 66%. After 8 days of hospitalization, CD14+ monocyte expression was 8%.

Fig. 1 - Oral cavity involvement with erosions in the hard palate area.

Fig. 2 - Extent of reddening and exfoliation on the ventral aspect of the trunk.

Fig. 3 - Extent of reddening and exfoliation on the dorsal aspect of the trunk.

During the period of hospitalization, the patient also received a combination of parenteral and enteral nutrition, with antibiotic therapy based on the results of microbiological surveillance. After 31 days, with complete re-epithelization, the patient was transferred to a catchment

hospital department because of persisting intensive care unit-acquired weakness (ICUAW), requiring intensive physical rehabilitation and physiotherapy.

Microbiology and antibiotic management

On admission, the patient was on prophylactic therapy with cephalosporin, definitely not the best therapeutic option given her documented hypersensitivity to penicillin and clinical signs. Because of this, cephalosporin was withdrawn until the results of culture tests, conducted using the impression technique (semiquantitative evaluation of the microbiological status in the exfoliated areas), bronchoalveolar lavage, and urinalysis became available. Additionally, although the patient was normothermic, blood samples were obtained for hemoculture (the normothermia may have been masked by the incipient immunoparalysis).

As blood culture revealed the presence of *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli,* the best possible therapy with tigecycline was initiated on day 3 of hospitalization. As *Proteus vulgaris* was isolated in the exfoliated areas within the next 5 days of the initiation of tigecycline therapy, a combination of tigecycline and amikacin was considered. However, given the fact the patient still had a booster dose of cyclosporine A, the combination with amikacin was deemed inappropriate because of their marked nephrotoxicity. The tigecycline was complemented with a quinolone (ciprofloxacin), albeit a less convenient combination.

Local therapy

Upon initiation of therapy, a combination of a synthetic and a biological cover was used. Given the unique properties of the biological cover, which may benefit not only burn patients but also those with non-thermal skin cover loss, Xe-Derma®, a novel biological skin cover, was applied on the left forearm. The individual phases of wound healing under Xe-Derma® are shown in *Figs. 4, 5, 6, 7, 9, 10,* and *11*, with alginate and Aquacel Ag® applied on the remaining areas. The patient had her dressing changed

Fig. 4 - Area on the left forearm prior to Xe-Derma® application.

Fig. 5 - Area on the left forearm after Xe-Derma® application.

Fig. 6 - The area on day 4 following Xe-Derma® application.

Fig. 7 - The area with spontaneously peeling off Xe-Derma® 14 days post-application.

Fig. 8 - Patient with re-epithelization on day 14 of hospitalization.

Fig. 9 - The area on day 14 following Xe-Derma® application.

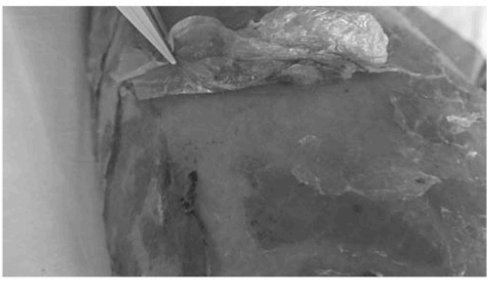


Fig. 10 - Removing Xe-Derma® on day 14 post-application (base with complete re-epithelization, separation from the base not requiring general anaesthesia).

Fig. 11 - Area following the separation of Xe-Derma® with complete re-epithelization (day 14 post-application).

every other day under general anaesthesia (changing alginate and, also, the partly used Aquacel Ag®).

Discussion and conclusion

There has been a growing number of publications with favorable reports on the use of the relatively novel Xe-Derma® biological skin cover in adult and pediatric patients sustaining thermal injury.[6] The publication by Zajíček et al.[7] refers to the possible use of a xenogenic material, that is also a skin cover in local management of patients with skin cover loss due to non-thermal causes. Still, there has been no comprehensive case report on the use of Xe-Derma® in patients with TEN in the relevant international literature to date.

Xe-Derma® represents the ideal cover for acute wounds with a potential to spontaneous re-epithelization. The biological skin cover is applied once to be followed only by regular change of the secondary cover. The skin cover is transparent allowing for monitoring of the status of the skin defect while changing the dressing; after complete re-epitelization, the cover peels off spontaneously. Additionally, the fact Xe-Derma® requires single-only application helps minimize pain and mechanical traumatization in the exfoliated areas. Further, its immediate application reduces the probability of multiplication of potentially pathogenic organisms and development of infectious complications in the skin defects.[8]

Use of a biological cover in patients with non-thermal skin loss is no doubt of advantage; however, its behaviour in interaction with the wound base differs from that with a burn area.[9] What actually matters is the overall concept of therapy, as immunosuppressive therapy also leads to prolonged wound healing. This explains why complete epithelization did not occur until after day 15 of Xe-Derma® application. Comparably deep burn areas with skin loss in the region of the dermoepidermal junction take 7-10 days to re-epithelize.[6]

The cost of Xe-Derma® to cover about 3% TBSA was 165 USD; single-only application was required with no need to repeat it or use additional cover. While the input costs are higher, no additional applications are required. Compared with our current protocol involving the use of alginate or Aquacel Ag®, the input costs are higher yet, overall, therapy with Xe-Derma is financially comparable. To cover 3% TBSA with Flaminal Hydro, about 150 ml was used (10 USD); with 7 dressing changes, the total costs climbed to 70 USD. When using Aquacel Ag, which required 3 changes during therapy to make up for the losses, the costs for covering 3% TBSA totalled USD143. Moreover, each dressing change was performed under general anaesthesia due to the pain experienced by the patient. The above sum does not include costs for anaesthetics and a complete team of anaesthesiologists. The costs of general anaesthesia were in the range of 1,196 USD (overall 8 changes under general anaesthesia for the alginate and Aquacel Ag® covers, with an average time of 60 minutes per change). When including the need for dressing under general anaesthesia, use of the Xe-Derma® biological cover is less expensive. It is also important to consider the risks associated with general anaesthesia, especially in the

critically-ill patient with extensive dermal and mucosal exfoliation.

It should be noted that Xe-Derma® use did not result in acceleration of the individual phases of wound healing, and in the other areas where routine wound management was employed, re-epithelization occurred within the same period of time. The benefits of using this biological cover were simply indisputable. In particular, the minimization of pain experienced by the patient during dressing changes, removing the requirement for general anaesthesia, improves the standard of systemic and local care of patients with this condition.

Xe-Derma® is an acellular porcine dermis made from skin grafts; once all cells have been removed, a matrix is left made up of a mesh of collagenous and elastic fibers. The biological cover is believed to accelerate, thanks to its biological nature and unique structure, the process of healing of acute and chronic defects. It also minimizes the frequency of dressing changes, and prevents the development of infectious complications in burns and/or exfoliated areas. While not containing antibacterial substances, it does suppress the growth of potentially pathogenic organisms under the cover. Xe-Derma® thus prevents a slowing down of the individual phases of wound healing, or even further deterioration of the skin defect; the latter being a most frequent fatal therapy-related complication of patients with TEN.

The main advantages of Xe-Derma® use include its bioactive action (promoting keratinocyte growth and differentiation), though partly modulated in immunosuppresed patients. There are also other advantages identical to those seen when using this cover in burn patients (excellent adherence, transparency, reduced pain, haemostatic effect, single application).

RÉSUMÉ. La nécrolyse épidermique toxique est une maladie rare touchant la peau à la jonction dermo-épidermique, avec inclusion possible des muqueuses. La condition est associée à une toxicité systémique et des taux de mortalité élevés. Le succès du traitement nécessite une optimisation de la thérapie locale ainsi que systémique. Nous rapportons le cas d'une jeune femme qui a développé une nécrolyse épidermique toxique, causée peut-être par un traitement par la lamotrigine. Le traitement local a compris une combinaison d'une couverture biologique et de l'alginate avec une couverture en matière synthétique (Aquacel Ag®).

Mots-clés: Xe-Derma®, nécrolyse épidermique toxique

BIBLIOGRAPHY

1. Lyell A: Toxic epidermal necrolysis: An eruption resembling scalding of the skin. Br J Dermatol, 68: 355-61, 1956.
2. Becker DS: Toxic epidermal necrolysis. Lancet, 351: 1417-20, 1998.
3. Atiyeh BS, Dham R, Yassin MF, El-Musa KA: Treatment of toxic epidermal necrolysis with moisture-retentive ointment: A case report and review of the literature. Dermatol Surg, 29: 185-8, 2003.
4. Murphy JT, Purdue GF, Hunt JL: Toxic epidermal necrolysis. J Burn Care Rehabil, 18: 417-20, 1997.
5. Roujeau JC, Kelly JP, Naldi L et al.: Medication use and the risk of Stevens-Johnson syndrome or toxic epidermal necrolysis. N Engl J Med, 333: 1600-7, 1995.
6. Zajicek R, Matouskova E, Broz L, Kubok R, Wandauf P, Königova R: New biological temporary skin cover Xe-Derma® in the treatment of superficial scald burns in children. Burns, 37: 333-7, 2011.
7. Zajicek R, Pintar D, Broz L, Suca H, Königova R: Toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome at the Prague Burn Centre 1998-2008. Journal of the European Academy of Dermatology and Venerology, 26: 639-43, 2012.
8. Chaloupková Z, Hokynková A, Lipový B, Kaloudová Y, Brychta P: Xe-Derma® - a temporary biological skin substitute in the treatment of burns. Hojení ran, 6: 3-5, 2012.
9. Ramakrishnan KM, Sankar J, Venkatraman J: Role of biological membranes in the management of Stevens Johnson syndrome, Indian experience. Burns, 33: 109-11, 2007.

This paper was accepted on 8 May 2014.

Příloha 8: Lipový B, Holoubek J, Řihová H, Hanslianová M, Klučková M, Suchánek I. In vitro model antimikrobiální aktivity octenidin dihydrochloridu vůči epidemiologicky nejdůležitějším patogenům pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou. XV. Celostátní kongres s mezinárodní účastí na téma: Mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů. Pardubice, 2017.

In vitro model antimikrobiální aktivity octenidin dihydrochloridu vůči epidemiologicky nejdůležitějším patogenům pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou

Lipový B.[1,2], Holoubek J.[1], Řihová H.[1], Hanslianová M.[3], Klučková M.[3], Suchánek I.[1]

1) Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno

2) Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno

3) Oddělení klinické mikrobiologie FN Brno

Úvod

Základním přístupem v terapii pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou je farmakologicky indukovaná imunosuprese. Dnes existuje několik terapeutických schémat, kterými lze tento stav navodit. Imunoparalýza/imunosuprese spolu s rozsáhlou kožní exfoliací a slizniční desintegrací způsobuje vysokou vulnerabilitu těchto pacientů vůči nejrůznějším potenciálně patogenním mikroorganismům. Kůže i sliznice selhávají jako lokální bariéra a umožňují tak velmi rychlou progresi od kontaminace, přes kolonizaci a lokální infekci až po rozvoj infekce systémové.

Antibiotická i antimykotická terapie je u pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou velmi komplikovaná. Za tímto tvrzením stojí skutečnost, že řada z antimikrobiálních preparátů vykazuje vysoký podíl na vzniku samotné toxické epidermální nekrolýzy. Tento fakt by měl být jednoznačně zohledněn také v souvislosti s indikací antimikrobiální terapie.

Podobně jako i u jiných kriticky nemocných pacientů, dochází také u této skupiny pacientů, k těžko kontrolovatelnému nárůstu počtu rezistentních patogenů k řadě antimikrobiálních preparátů. V lokálním managementu těchto pacientů představují antiseptika velmi potentní faktor v kontrole rozvoje infekčních komplikací nejen v oblasti kožních exfoliací, ale také v oblasti samotné sliznice.

Vzhledem ke skladbě našich pacientů (termické i netermické kožní ztráty/ akutní i chronické rány) je role antiseptik nezastupitelná. Nejužívanějším antiseptikem po dobu více něž deseti let je Octenisept®, jehož účinnou látkou je octenidin dihydrochlorid (chemicky *N,N*-(Decan-1,10-diyldi-1(4*H*)-pyridyl-4-yliden)bis(octylammonium)dichlorid) .

Jedná se o molekulu, která byla do klinické praxe zavedena v roce 1989. Od té doby se pro svou vysokou efektivitu, která se po dobu jejího užívání prakticky nemění, rychle rozšířila po celém světě. V současné době existuje jako součást celé produktové řady, která komplexně obsáhne všechny nejpřísnější nároky na moderní antiseptika.

Každé dva roky dochází k pravidelnému monitorování efektivity octenidin dihydrochloridu u našich pacientů. Výsledky u epidemiologicky důležitých patogenů pro pacienty s toxickou epidermální nekrolýzou jsou prezentovány níže.

Materiál a metodika

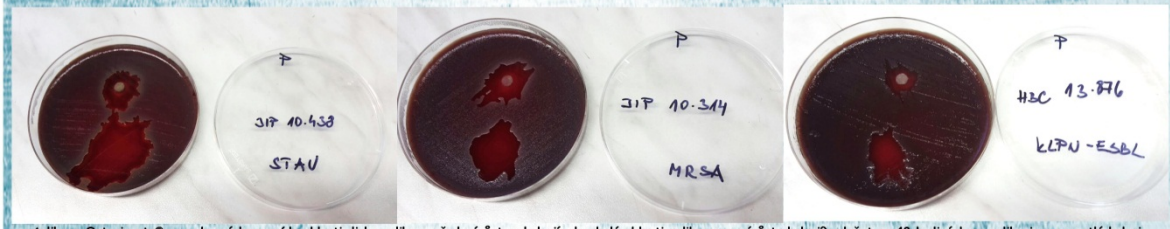
Testování probíhala ve spolupráci s Oddělením klinické mikrobiologie FN Brno, kde byly vytipovány jednotlivé kmeny (viz. Tabulka č.1). Celkem bylo testováno 12 patogenů. Tyto kmeny byly následně vyočkovány na krevní agar a byl aplikován Octenisept® (0,1g octenidin dihydrochloridu a 2g phenoxyethanolu ve 100g roztoku) v objemu 10 µl do disku ze sterilního filtračního papírku. Tento stav měl simulovat bakteriostatický efekt (efekt na narůstající kolonie). Po 48 hodinách bylo aplikováno 10 µl Octenisept® na plně narostlé kolonie (mimo disk). Ve všech případech probíhal odečet a vyhodnocení po dalších 24 a 48 hodinách. Tento stav simuloval baktericidní efekt (efekt na narostlé kolonie).

Grampozitivní bakterie	Gramnegativní bakterie	Mikromycety
Staphylococcus aureus (MSSA, MRSA)	Pseudomonas aeruginosa (wild-type, MBL+)	Candida albicans
Koagulasa-negativní Staphylococcus	Enterobacter cloacae	
Enterococcus faecalis/faecium	Klebsiella pneumoniae (ESBL+)	
	Acinetobacter baumannii	
	Escherichia coli	

Tab. č.1 Jednotlivé testované kmeny (MSSA—methicilin sensitivní *Staphylococcus aureus*, MRSA—methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*, MBL—Metallo-β-lactamase, ESBL—extended-spectrum β-lactamases.

Výsledky

Octenisept® prokázal vysokou efektivitu vůči všem testovaným kmenů bez rozdílu, jestli šlo o grampozitivní, gramnegativní kmeny bakterií nebo mikromycety. Nebyl zaznamenán také rozdíl v efektivitě vůči rezistentnějším kmenům bakterií (KLPN ESBL+, PSAE MDR).



Aplikace Octeniseptu® na vybrané kmeny (do oblasti disku aplikace před nárůstem kolonií, do zbylé oblasti aplikace po nárůstu kolonií) odečet po 48 hodinách po aplikaci na narostlé kolonie

Aplikace Octeniseptu® na vybrané kmeny (do oblasti disku aplikace před nárůstem kolonií, do zbylé oblasti aplikace po nárůstu kolonií) odečet po 48 hodinách po aplikaci na narostlé kolonie

Závěr

Vzhledem k výše popsané a laboratorně konfirmované efektivitě zůstane na našem pracovišti i nadále produktová řada obsahující octenidin dihydrochlorid preferovaným antiseptikem v lokální péči u pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou.

Příloha 9: Podmelle F, Barret JP, Lipový B, Rennekampff HO, Schumann H, Schwieger-Briel A, Zahn T, Metelmann I. Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: results of a randomized phase III clinical trials program. Burns. 2017, In press.

JBUR 5214 No. of Pages 11
ARTICLE IN PRESS
BURNS XXX (2017) XXX–XXX

Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
journal homepage: www.elsevier.com/locate/burns

Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: Results of a randomized phase III clinical trials program

Juan P. Barret [a,1], *Fred Podmelle* [b,*,1], *Břetislav Lipový* [c], *Hans-Oliver Rennekampff* [d], *Hauke Schumann* [e,f], *Agnes Schwieger-Briel* [g], *Tobias R. Zahn* [h], *Hans-Robert Metelmann* [b], *on behalf of the BSH-12 and BSG-12 study groups*

[a] *Department of Plastic Surgery and Burns, University Hospital Vall d'Hebron, Passeig de la Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain*
[b] *Department of Oral and Maxillofacial Surgery/Plastic Surgery, University Medicine Greifswald, Ferdinand-Sauerbruch-Str. DZ7, 17475 Greifswald, Germany*
[c] *Department for Burns and Reconstructive Surgery, University Hospital Brno, Jihlavská 20, Brno, Czech Republic*
[d] *Division of Plastic and Aesthetic Surgery, Burn Surgery, Klinikum Leverkusen, Am Gesundheitspark 11, 51375 Leverkusen, Germany*
[e] *Catholic University of Applied Sciences, Karlstrasse 36, 79104 Freiburg, Germany*
[f] *Department of Dermatology, University Medical Center Freiburg, Hauptstrasse 7, 79104 Freiburg, Germany*
[g] *Department of Pediatric Dermatology, University Children's Hospital Zurich, Steinwiesstrasse 75, 8032 Zurich, Switzerland*
[h] *Birken AG (An Amryt Pharma Company), Streiflingsweg 11, 75223 Niefern-Öschelbronn, Germany*

ARTICLE INFO

Article history:
Accepted 8 March 2017
Available online xxx

Keywords:
Wound healing
Topical betulin gel
Split thickness skin graft
Intra-individual comparison
Wound closure

ABSTRACT

The clinical significance of timely re-epithelialization is obvious in burn care, since delayedwound closure is enhancing the risk of wound site infection and extensive scarring. Topical treatments that accelerate wound healing are urgently needed to reduce these sequelae. Evidence from preliminary studies suggests that betulin can accelerate the healing of different types of wounds, including second degree burns and split-thickness skin graft wounds.

The goal of this combined study program consisting of two randomized phase III clinical trials in parallel is to evaluate whether a topical betulin gel (TBG) is accelerating re-epithelialization of split-thickness skin graft (STSG) donor site wounds compared to standard of care.

Two parallel blindly evaluated, randomised, controlled, multicentre phase III clinical trialswere performed in adults undergoing STSG surgery (EudraCT nos. 2012-003390-26 and 2012-000777-23). Donor site wounds were split into two equal halves and randomized 1:1 to standard of care (a non-adhesive moist wound dressing) or standard of care plus TBG consisting of 10% birch bark extract and 90% sunflower oil (Episalvan, Birken AG, Niefern-Oeschelbronn, Germany). The primary efficacy assessment was the intra-individual difference in time to wound closure assessed from digital photographs by three blinded experts.

* *Corresponding author.*
E-mail addresses: jpbarret@vhebron.net (J.P. Barret), podmelle@uni-greifswald.de (F. Podmelle).
[1] These authors contributed equally to this work and paper.

http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.03.005
0305-4179/© 2017 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://

Please cite this article in press as: J.P. Barret, et al., Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: Results of a randomized phase III clinical trials program, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.03.005

A total of 219 patients were included and treated in the two trials. Wounds closed faster with TBG than without it (15.3 vs. 16.5 days; mean intra-individual difference = −1.1 days [95% CI, −1.5 to −0.7]; $p < 0.0001$).
This agreed with unblinded direct clinical assessment (difference = −2.1 days [95% CI, −2.7 to −1.5]; $p < 0.0001$). Adverse events possibly related to treatment were mild or moderate and mostly at the application site.
TBG accelerates re-epithelialization of partial thickness wounds compared to the current standard of care, providing a well-tolerated contribution to burn care in practice.
© 2017 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

1. Introduction

Cutaneous wound healing is a complex biological process leading to re-establishment of the epidermal barrier. The clinical significance of timely wound closure is obvious in extensive wounds like burns, when delayed healing can lead to infection of the wound site and scarring. Topical treatments that accelerate wound healing are urgently needed to reduce these sequelae.

Growth factors, stem cells, nanoparticles, platelet-rich plasma, cold atmospheric pressure physical plasma [1] and many other topical treatments have been investigated [2–5], but none have proven effective in clinical trials and no treatment or pharmaceutical is currently available to accelerate the secondary closure of open superficial surgical sites or other partial-thickness wounds. Therefore, the current standard of care for open superficial surgical sites remains a moisture-regulating dressing, which promotes re-epithelialization by preventing desiccation [6,7].

Betulin is a pentacyclic triterpene found in the outer bark of white barked birches (*Betula*) [8]. Betulin has been reported to promote healing in a porcine ex vivo wound healing model and to modulate inflammatory mediators and promote keratinocyte differentiation and migration in vitro [9,10]. Evidence from preliminary studies suggests that betulin can improve the healing of different types of skin lesions, including second-degree burns [11] and necrotizing herpes [12]. A proof-of-concept phase II clinical study showed that topical betulin gel (TBG) consisting of 10% birch bark extract and 90% sunflower oil (Episalvan, Birken AG, Niefern-Oeschelbronn, Germany) significantly accelerates re-epithelialization of split-thickness skin graft (STSG) donor sites [13]. This water-free oleogel is thixotropic: when agitated TBG becomes less viscous making it easy to spread, and at rest it thickens again providing a stable occlusive cover [14,15]. Herein, we describe the results of a study program consisting of two related phase III clinical trials including a total of more than 200 patients confirming the clinical effectiveness and safety of TBG in healing of STSG donor site wounds.

2. Methods

2.1. Study design

The program design is consisting of two open, blindly evaluated, prospective, controlled, randomised, multi-centre phase III clinical trials, both using the same protocol. Study BSG-12 (EudraCT no. 2012-003390-26) was performed in Spain (6 centres), Greece (3 centres), Latvia (2 centres), and France (3 centres), and study BSH-12 (EudraCT no. 2012-000777-23) was performed in Germany (8 centres), Czech Republic (2 centres), Poland (1 centre), Finland (1 centre), Austria (2 centres), and Bulgaria (4 centres). The principal objective of the study was to examine the efficacy and tolerability of TBG. The primary efficacy endpoint was the intra-individual difference in time to wound closure (≥95% epithelialization) between two equal halves of STSG donor site wounds treated with either a standard moist wound dressing alone or a standard moist wound dressing containing TBG. The assessment was based on photo evaluation by a remote panel of three blinded experts. Study protocols were approved by the local or regional ethics committee for each centre (for the leading study centres: Ethic Committee of the Greifswald University Medicine, Greifswald, Germany and Ethic Committee of Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Spain) and the studies were performed in compliance with International Conference on Harmonisation guidelines for Good Clinical Practice and the principles in the Declaration of Helsinki. All investigators and study team members received training in the study protocol and in the standardized acquisition of photographs. Informed consent was obtained from patients before inclusion in each study.

2.2. Patients

Adults with STSG donor site wounds ≥15 cm^2 and ≥3 cm wide were considered for enrolment. As a routine safety measure all study participants had to be using a highly effective method of birth control. Exclusions included skin disorders that could affect the outcome of the trial; clinically significant hypersensitivity to any of the treatments used in the trial; multiple allergic disorders; or other diseases or conditions that could interfere with the study assessments. Women could not be pregnant or breastfeeding.

2.3. Interventions

Prior to STSG surgery, the donor site was divided into two equal halves. After STSG harvest and marking of the wound halves, an overview photo was taken with a digital camera using the same standard settings at all participating centres. Once the overview photo was uploaded, the two wound halves were randomised 1:1 to TBG (other names: Oleogel-S10, Episalvan) combined with a non-adhesive moist wound dressing as

Please cite this article in press as: J.P. Barret, et al., Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: Results of a randomized phase III clinical trials program, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.03.005

standard of care or the wound dressing alone. Dressings were trimmed to the appropriate size for the wound and then cut in half, and after cleaning, TBG was applied approximately 1 mm thick to the appropriate wound half on the wound-facing side of the dressing or directly onto the wound (Fig. 1). Every 3 or 4 days according to protocol or more frequently if medically necessary, the wound dressing was changed, the wound was cleaned, and medication was applied for the appropriate wound half. Treatment continued up to complete closure of both halves of the wound or, if complete closure of both wound halves was not observed, until day 28.

2.4. Assessments

For observer-blinded analysis of wound closure, at each wound dressing change and after cleaning the wound, photos were taken with a Nikon Coolpix P510 camera with fixed settings at all participating centres. For evaluation of long-time outcome, photos were taken 3 and 12 months after treatment. For the unblinded analysis, investigators estimated the degree of epithelialization (% of the original wound half size) for each wound half.

Investigators collected adverse events (AEs) in accordance with International Committee for Harmonisation guidelines for Good Clinical Practice. AEs were encoded using MedDRA version 16.0 (MedDRA MSSO, McLean, VA, USA). Causality as unrelated or as unknown, unlikely, possibly, or probably related to the treatment. AE severity was graded according to the National Cancer Institute Common Toxicity Criteria for Adverse Events version 4.0.

At days 7, 14, and 21 and at the end of treatment, patients and investigators answered questionnaires about the efficacy and tolerability of the two treatments on a 5-point Likert scale (which treatment was more effective/which treatment was better tolerated) [16,17].

2.5. Randomisation and masking

Randomisation was via an interactive web response system. For photo evaluations, observers were blinded by using a web-based electronic blinded read tool.

2.6. Analysis of photos

Markings were cropped from the photo, and photos were checked by investigators not involved in safety or efficacy assessments (Fig. 1). Only photos confirmed to be free of markings were considered for a blinded read of efficacy and tolerability. Eligible photographs were independently evaluated by three wound experts (experienced surgeons or dermatologists) via a web-based electronic blinded read tool. All available photos from one wound half comprising a photo series were presented to each blinded expert without information about the treatment, and the order of series was randomised. Within each series, photos were presented in chronological order but with no information on the specific treatment day at which each photo was taken. For photo series that the reader considered evaluable, readers assessed which series was the first to show wound closure (epithelialization of $\geq$95% of the wound half) or whether wound closure could not be detected in any of the photos. When wound closure was not observed, it was assumed to have closed 1 day after the last observation. Long-term outcomes were estimated using the same method and included determination of which wound half was most similar to surrounding healthy tissue in terms of texture, hair growth, pigmentation, and redness.

2.7. Sample size

Each study planned to enrol 105 subjects to reach a total of more than 200 patients for the TBG safety database. This was estimated to allow detection of a primary outcome (mean intra-individual difference in time to wound closure) of 1.9 days in each study at an alpha of 0.05 and 90% power, given a standard deviation of 6.0 days.

2.8. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SAS version 9.3 (Cary, NC). A p-value below 0.05 was considered statistically significant. Efficacy was initially analysed within the intent-to-treat analysis set, which included all patients who signed informed consent and who were treated at least once with TBG. The primary endpoint (intra-individual difference in time to wound closure) was calculated from the means of the values for each of the three blinded experts. Median time to wound closure was used for Kaplan–Meier analysis. If more than one expert considered a photo series as not evaluable, the corresponding wound half was not included in the analysis. The percentage of patients with wound closure over time was determined using a last observation carried forward approach. The percentage of wound epithelialization as assessed by investigators during dressing change was compared at each time point by a paired t-test and a non-parametric sign test. Baseline characteristics and safety were analysed within the safety analysis set, which included all patients who received at least one treatment.

3. Results

3.1. Patients and studies

Study BSG-12 was conducted between April 5 and September 25, 2013 and enrolled 113 adult patients of whom 112 were treated. Study BSH-12 was performed between August 3, 2012 and August 23, 2013 and enrolled 111 adult patients of whom 107 were treated. The patients were on average 52.6 years of age (Table 1). Nearly two-thirds (64.1%) were men. Overall, just over half of the patients (54.4%) had Fitzpatrick skin type I or II, although this was much more common in study BSH-12 (79.4%) than in study BSG-12 (30.0%), consistent with the different regions in which the studies were performed. Wounds were on average 81.5$\pm$66.4 cm^2. Mepilex (Mölnlycke Health Care, Goteborg, Sweden), a siliconized foam dressing, was selected for most (78%) patients as the standard-of-care control. For other patients, Allevyn Gentle or Allevyn Non-Adhesive (Smith & Nephew, Hull, United Kingdom) was used as the standard-of-care control.

Please cite this article in press as: J.P. Barret, et al., Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: Results of a randomized phase III clinical trials program, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.03.005

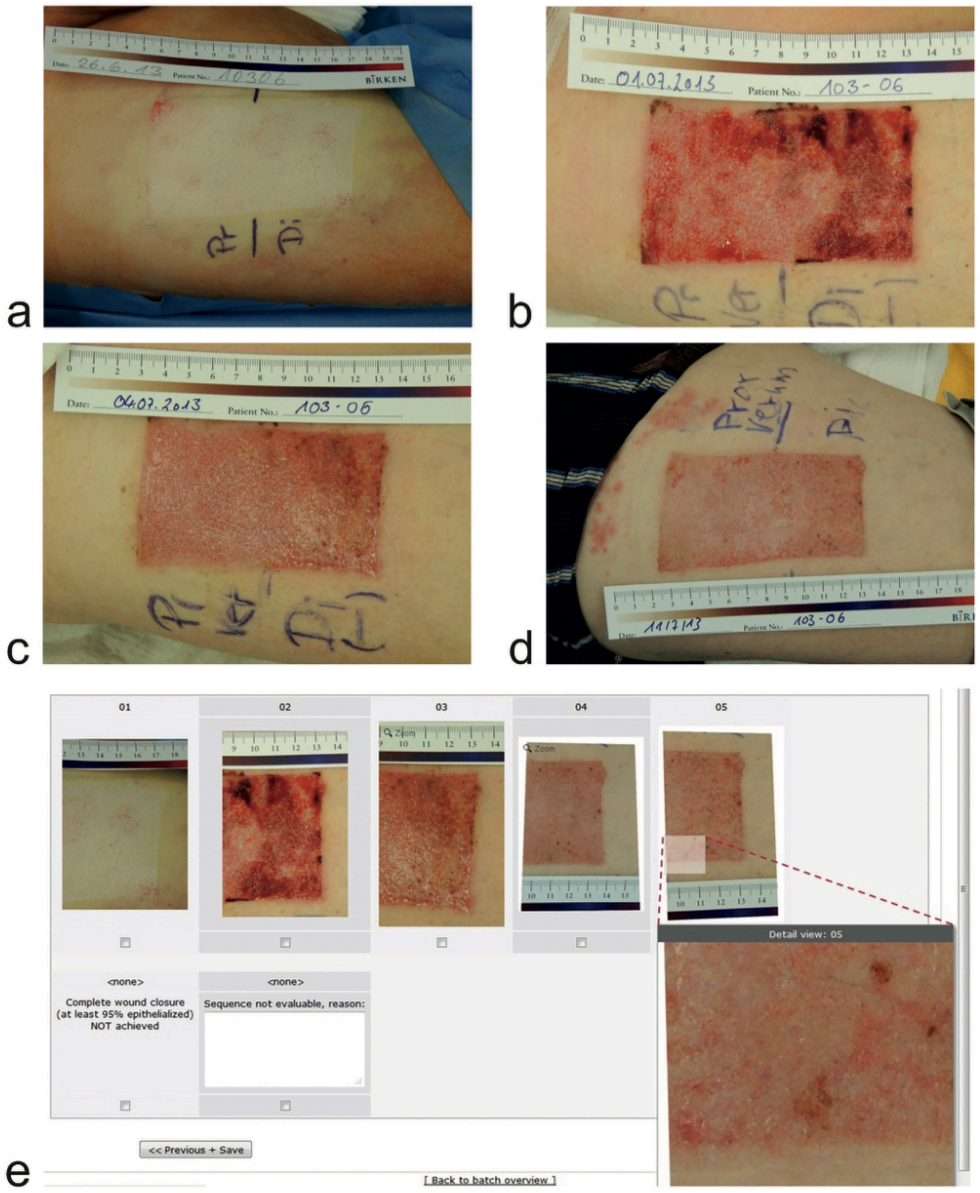


Fig. 1 – Marking, blinding, and reading of wound halves.
Original photo series taken on days 0 (a), 2 (not shown), 5 (b), 8 (c) and 15 (d). Immediately after split-thickness skin harvest, the donor site wound was divided in two halves, marked 'Pr' for proximal and 'Di' for distal (a). Randomisation then assigned treatments to the wound halves. Skin next to the wound half to be treated with topical betulin gel was marked as 'Ver' (verum) and skin next to the control wound half was marked as '-' (b-d).Prior to the blinded read, markings were cropped from the photo and checked by a medical expert. Only photos that were confirmed to be free of markings or other details that could have compromised blinding (e.g., gel residue) were considered for a blinded read. Eligible photographs were divided into two halves based on the skin markings, then photo series of separate wound halves were evaluated by three wound experts via a web-

Please cite this article in press as: J.P. Barret, et al., Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: Results of a randomized phase III clinical trials program, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.03.005

Table 1 – Baseline characteristics.

Characteristic	BSH-12 (N=107)	BSG-12 (N=110)	Pooled (N=217)
Age (y), mean±SD	54.0±18.1	51.2±17.3	52.6±17.7
Sex, n (%)			
Male	68 (63.6)	71 (64.5)	139 (64.1)
Female	39 (36.4)	39 (35.5)	78 (35.9)
Fitzpatrick skin type			
I-II	85 (79.4)	33 (30.0)	118 (54.4)
III-V	22 (20.6)	77 (70.0)	99 (45.6)
Wound size (cm^2), mean±SD	76.4±74.4	86.5±57.4	81.5±66.4

Abbreviation: SD, standard deviation.

Of the 219 patients who were treated, 174 (79.5%) completed the treatment period and achieved full wound closure by day 28 or before (Fig. 2). Seventeen patients (7.8%) discontinued early, 6 (2.7%) of whom discontinued because of AEs. The remaining 28 (12.8%) patients did not have full wound closure on both halves.

3.2. *Time to wound closure*

For about one-third of the patients (35.0%), wound closure was observed for both halves, and for another one-third (31.8%), full wound closure was not observed for either half (Table 2). More of the remaining patients had full wound closure with TBG+wound dressing (22.6%) than with the wound dressing alone (3.2%). For a few patients (7.4%), results differed between the three blinded experts, so whether closure occurred could not be established.

For the primary analysis, when wound closure was not observed, it was assumed to have closed 1 day after the last observation. Using this conservative assessment, wound closure was faster with TBG+wound dressing than with the wound dressing alone (15.3 vs. 16.5 days; mean intra-individual difference=−1.1 days [$p<0.0001$]) (Fig. 3). In addition, more patients had earlier closure of the wound half treated with TBG+wound dressing than had earlier closure of the wound half treated with wound dressing alone (73.9% vs. 26.1% of the 157 patients with a difference in time to wound closure). Faster wound closure with TBG was also found in each of the two studies, although the difference was larger for study BSH-12 (mean, 15.5 vs. 17.1; difference=−1.4 days [$p<0.0001$]) than for study BSG-12 (mean, 15.1 vs. 16.0 days; difference=−0.8 days [$p=0.0232$]). Results were also similar when the analysis was repeated using different analysis sets (e.g. all patients completing the study and patients completing according to protocol), as well as for each of the three blinded experts independently and according to country or centre (data not shown). Using a less conservative analysis, in which the mean time passed between the last observation and the day of wound closure (3.1 days) was used for cases where wound closure was not observed, the mean intra-individual difference in time to wound closure was −1.5 days ($p<0.0001$). Applying this analysis to a second blinded read of all photos (i.e., without removal of photos with ointment residue) resulted in a difference of −2.2 days ($p<0.0001$). Finally, in unblinded assessments, investigators reported wound closure to be 2.1 days faster for areas treated with TBG+wound dressing than for areas treated with the wound dressing alone ($p<0.0001$).

3.3. *Safety*

During both the treatment and follow-up periods in the two studies, AEs were reported by 86 (39.3%) patients (thereof reported by 78 patients within the treatment period), although only 17 (7.8%) patients had AEs that the investigator considered related or possibly related to the treatment, all of which were rated as mild or moderate severity (Table 3). The most common related or possibly related AEs were skin pain, pruritus, post-procedural complication, wound complication, and pain.

Thirty-nine patients (17.8%) had AEs at the application site (Tables 3 and 4). One patient (0.5%) had pruritus and one patient (0.5%) a skin infection limited to the TBG-treated wound half. Thirteen patients (5.9%) had application-site AEs limited to the standard of care-treated wound half, the most common of which was skin infection (four cases) and two cases each of skin pain and wound haemorrhage. In 27 (12.3%) patients, the AE occurred on both wound halves, the most common of which were infections (five patients with skin infections, four with wound infections).

SAEs included wound infection in two patients and bacteraemia, sepsis, post-operative wound complication, mania, bronchospasm, and diabetic foot, each in one patient. Both cases of serious wound infection, the severe post-procedural complication, and the case of mania resulted in early discontinuation of the study. None of these SAEs were considered related or possibly related to treatment.

Administration of TBG to STSG donor site wounds did not lead to plasma levels of betulin higher than natural background levels (data not shown).

3.4. *Patient and investigator assessment of efficacy and tolerability*

In most cases, investigators (60.2%) and patients (56.8%) considered TBG+wound dressing more or much more effective than wound dressing alone (Table 5). Only 6.7% of investigators and 6.3% of patients considered wound dressings alone to be more effective than wound dressings+TBG. Also, for almost half of all cases, investigators (44.8%) and patients (46.1%) considered TBG+wound dressing to be better tolerated than wound dressing alone, whereas only 1.9% of investigators and 3.9% of patients considered wound dressing alone to be better tolerated.

3.5. *Long-term outcome*

At 3 and 12 months after treatment, wound halves treated with TBG+dressing were more often similar to the surrounding skin

based electronic blinded read tool (e). Readers could magnify areas of interest using a zoom tool (e). The blinded readers assessed which of the photos in the series was the first to show full wound closure, as defined by ≥95% epithelialization.

Please cite this article in press as: J.P. Barret, et al., Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: Results of a randomized phase III clinical trials program, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.03.005

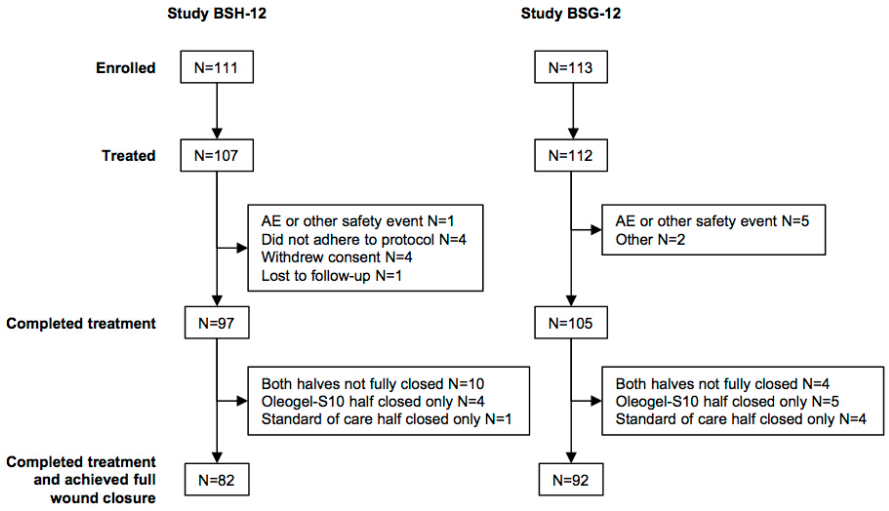


Fig. 2 – Flow diagram/disposition.
Two studies (BSG-12 and BSH-12) were performed with the same protocol. In study BSH-12, 111 patients were enrolled, and 107 were intra-individually randomized for the wound-half to be treated with TBG and treated. All 107 patients were included in the analysis (safety analysis set and intent-to-treat analysis set). In study BSG-12, 113 patients were enrolled, and 112 were intra-individually randomized for the wound-half to be treated with TBG and treated. All 112 patients were included in the safety analysis set, 2 patients were excluded from the intent-to-treat analysis set related to informed consent documentation. Of the total of 219 patients who were treated in the two studies, 219 were analysed in the safety analysis set and 217 in the intent-to-treat analysis set. 174 patients completed the treatment and achieved full wound closure for both wound halves on or before day 28.

than would halves treated with the dressing alone in terms of texture (27.5% vs. 7.1% at 3 months [p<0.001], 13.5% vs. 2.7% at 12 months [p=0.002]), redness (28.0% vs. 10.4% [p<0.001] at 3 months, 12.8% vs. 4.1% at 12 months [p=0.015]), and especially pigmentation (36.8% vs. 10.4% at 3 months [p<0.001], 23.6% vs. 8.9% at 12 months [p=0.002]) (Table 6). Hair growth was not affected by TBG (98.4% at 3 months, 98.0% at 12 months equal for both wound halves).

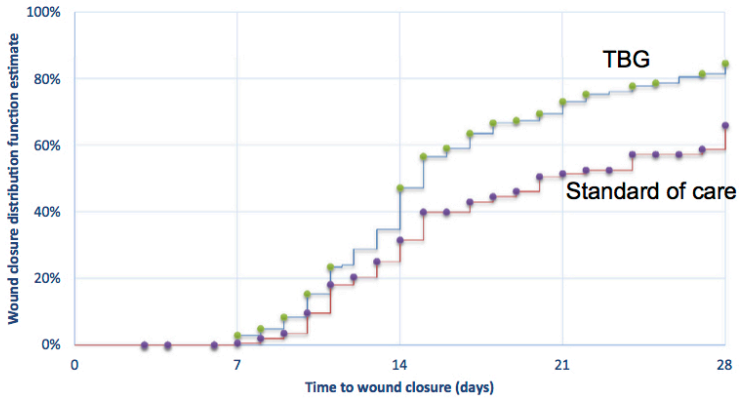


Fig. 3 – Time to first observation of wound closure.
For each patient, time to wound closure was determined from the median time to wound closure from the three blinded experts. For each of the three expert readers, the day of closure was the day on which the first photograph in the photo series showed full wound closure, as defined by ≥95% epithelialization. Results are for the intent-to-treat analysis set (N=217).

Please cite this article in press as: J.P. Barret, et al., Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: Results of a randomized phase III clinical trials program, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.03.005

Table 2 – Assessment of wound closure.

Measure	BSH-12 N=107	BSG-12 N=110	Pooled N=217
Intra-patient difference in days to wound closure[a]			
Mean (95% CI)	−1.4 (−1.8, −0.9)	−0.8 (−1.5, −0.1)	−1.1 (−1.5, −0.7)
P-value vs. no change	<0.0001	0.0232	<0.0001
Days from surgery to wound closure[a]			
TBG, mean (95% CI)	15.5 (14.2, 16.8)	15.1 (14.1, 16.1)	15.3 (14.5, 16.1)
Standard of care, mean (95% CI)	17.1 (15.8, 18.5)	16.0 (14.8, 17.1)	16.5 (15.7, 17.4)
Wound closure, n (%)			
For both wound halves	22 (20.6)	52 (47.3)	76 (35.0)
For TBG-treated half only	33 (30.8)	16 (14.5)	49 (22.6)
For standard of care-treated half only	2 (1.9)	5 (4.5)	7 (3.2)
For neither half	43 (40.2)	26 (23.6)	69 (31.8)
Inconclusive	5 (4.7)	11 (10.0)	16 (7.4)
Difference in rate of wound closure, n (%)			
No difference between wound halves	33 (30.8)	27 (24.5)	60 (27.6)
Earlier closure for TBG-treated half	66 (61.7)	50 (45.5)	116 (53.5)
Earlier closure for standard of care-treated half	8 (7.5)	33 (30.0)	41 (18.9)
Intra-patient difference in days to wound closure based on mean time between dressing changes[b]	−2.0 (−2.5, −1.4)	−1.1 (−1.9, −0.3)	−1.5 (−2.0, −1.1)
P-value vs. no change	<0.0001	0.0063	<0.0001
Intra-patient difference in days to wound closure based on mean time between dressing changes[b], secondary blinded read with all photos presented[c]	−2.7 (−3.4, −2.0)	−1.7 (−2.6, −0.8)	−2.2 (−2.8, −1.6)
P-value vs. no change	<0.0001	0.0002	<0.0001
Difference in days to wound closure according to investigator (unblinded) assessment	−2.5 (−3.3, −1.6)	−1.8 (−2.6, −1.0)	−2.1 (−2.7, −1.5)
P-value vs. no change	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Abbreviations: CI, confidence interval; TBG, topical betulin gel.

[a] For wound halves for which wound closure was observed in the blinded read, the day of the photo at which wound closure was first observed was used. For wound halves in which closure was not observed, the wound half was assumed to have closed one day after the last available photograph. For 5 patients in study BSH-12 and 2 patients in study BSG-12, data for this analysis were missing because photo series were rated as 'not evaluable' by the majority of readers (for other endpoints, intra-patient analyses, these patients were rated as no difference).

[b] A sensitivity analysis was carried out in which wound halves for which wound closure was not observed were assumed to have healed by the time of the next dressing change (3-4 days) after the last available photo.

[c] In the primary blinded read evaluation, a rigorous quality check was implemented to ensure blinding of the observers. As a result, many photographs were excluded and not presented in the primary blinded read because of apparent gel residue. The secondary blinded read was conducted with all photographs presented to the blinded observers.

4. Discussion

The physical, chemical, and pharmacological characteristics of oleogel-forming triterpenes, especially betulin, were described in 2006 [18]. Betulin has since been reported to promote healing in vivo and in vitro[9,10]. In a previous phase II study in which 24 Caucasian STSG patients were treated for 14 days with TBG plus a non-adhesive wound dressing or the wound dressing alone, re-epithelialization was more often rated as faster for the TBG-treated half than for the control half (83.3% vs. 8.3%; $p<0.0001$) [13].

The two open-label phase III clinical trials described here extend these findings and confirm that STSG donor sites heal significantly faster when TBG is added to the current standard of care, moist dressings lacking pharmacological, antimicrobial, or other agents. Efficacy was assessed in these two trials using a blinded, remote photographic analysis, which correlates well with direct clinical assessment by investigators [19,20] and is feasible for clinical studies. For the primary analysis, we used a conservative estimate of time to wound closure: when wound closure was not observed, the time to wound closure was assumed to be 1 day after the last observation, even though at least 2 or 3 days typically passed between each observation. This meant that the differences in closure times were underestimated. Indeed, when using the mean time between visits instead 1 day after the last observation, the difference increased from 1.1 to 1.5 days. Both of these calculations underestimate the real difference because some detail is lost when using photos instead of direct observation. Using investigators' direct observations of re-epithelialization, wound closure was estimated to be approximately 2 days faster with TBG. Together, the different efficacy assessments strongly support the conclusion that TBG

Please cite this article in press as: J.P. Barret, et al., Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: Results of a randomized phase III clinical trials program, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.03.005

Table 3 – Number and percentage of patients with AEs reported during treatment period and follow-up period.

Measure	BSH-12 (N=107) n (%)	BSG-12 (N=112) n (%)	Pooled (N=219) n (%)
Any AE	23 (21.5)	63 (56.3)	86 (39.3)
At the application site	12 (11.2)	27 (24.1)	39 (17.8)
Probably or possibly related to treatment	3 (2.8)	14 (12.5)	17 (7.8)
Leading to discontinuation	1 (0.9)	4 (3.6)	5 (2.3)
Probably or possibly related to treatment and leading to discontinuation	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Any SAE	6 (5.6)	10 (8.9)	16 (7.3)
Related or possibly related to treatment	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

Abbreviations: AE, adverse event; SAE, serious adverse event.

significantly and substantially accelerated wound healing compared to this state-of-the-art wound dressing material.

From the clinical point of view there are two important results of benefit for the patients: The first result is the reduction of healing time by approximately 2 days, that means more than 10% less open skin surface period, reduced risk of contamination with pathogens, and reduced treatment need. Importantly, TBG was safe and well tolerated, with no serious adverse events (SAE) or discontinuations considered related to treatment. Both clinical investigators and patients considered the tolerability of TBG+the wound dressing to be better than the wound dressing alone. Only a single patient had AEs (pruritus and a skin infection) limited to the TBG-treated wound half. This was the only patient to have early signs of SSI on the TBG-treated wound half. In contrast, four patients had early signs of SSI on the wound half treated with the wound dressing alone. This is likely due to the faster wound healing with TBG because betulin itself has only modest antimicrobial activity [21].

The second result is the for many patients even more important finding of this study, that long-term aesthetic outcome was better with TBG. In particular, texture, redness, and pigmentation were better when TBG was applied. Hair growth, in contrast, was not affected by TBG, which is not surprising because the surgical removal of the STSG left the underlying hair follicles intact.

Moist, non-adhesive dressings are the current standard of care for partial thickness wounds [7,22–25]. Topical treatments that have been reported to accelerate healing include honey [26,27] and topical growth factors [28], but the comparator is generally not the current standard of care, and the studies have mostly been limited to burn wounds. A few other treatments (e.g. aloe, MEBO®, and RGD peptide) have been shown to improve healing of burn wounds, but the comparator

Table 4 – Number and percentage of patients with application-site adverse events.

Adverse events	BSH-12 (N=107)			BSG-12 (N=112)			Overall (N=219)		
	TBG	Std of care	General[a]	TBG	Std of care	General[a]	TBG	Std of care	General[a]
Impaired healing	–	–	1 (0.9)	–	–	–	–	–	1 (0.5)
Skin infection	–	2 (1.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	2 (1.8)	4 (3.6)	1 (0.5)	4 (1.8)	5 (2.3)
Wound infection	–	1 (0.9)	1 (0.9)	–	–	3 (2.7)	–	1 (0.5)	4 (1.8)
Wound haemorrhage	–	1 (0.9)[b]	1 (0.9)	–	1 (0.9)	1 (0.9)	–	2 (0.9)	2 (0.9)
Skin pain	–	–	1 (0.9)	–	2 (1.8)	4 (3.6)	–	2 (0.9)	5 (2.3)
Pruritus	–	–	1 (0.9)	1 (0.9)	–	3 (2.7)	1 (0.5)	–	4 (1.8)
Hypersensitivity	–	–	–	–	–	1 (0.9)	–	–	1 (0.5)
Post-procedural complication	–	–	–	–	1 (0.9)	3 (2.7)	–	1 (0.5)	3 (1.4)
Procedural pain	–	–	–	–	–	2 (1.8)	–	–	2 (0.9)
Wound complication	–	–	–	–	–	2 (1.8)	–	–	2 (0.9)
Wound haematoma	–	–	–	–	–	2 (1.8)	–	–	2 (0.9)
Wound secretion	–	–	–	–	–	1 (0.9)	–	–	1 (0.5)
Dermatitis	–	–	–	–	1 (0.9)	–	–	1 (0.5)	–
Excessive granulation tissue	–	–	–	–	–	1 (0.9)	–	–	1 (0.5)
Haematoma	–	–	–	–	–	1 (0.9)	–	–	1 (0.5)
Skin ulcer	–	1 (0.9)[b]	–	–	–	–	–	1 (0.5)	–
Keratoacanthoma	–	1 (0.9)[b]	–	–	–	–	–	1 (0.5)	–
Any application site adverse event	0 (0.0)	6 (5.6)	6 (5.6)	2 (1.8)	7 (6.3)	21 (18.8)	2 (0.9)	13 (5.9)	27 (12.3)

Abbreviations: Std, standard; TBG, topical betulin gel.
[a] Not limited to a single wound half.
[b] Observed during the follow-up period.

Please cite this article in press as: J.P. Barret, et al., Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: Results of a randomized phase III clinical trials program, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.03.005

Table 5 – Investigator and patient assessment of efficacy and tolerability at the end of treatment.

Response	Efficacy, n (%)		Tolerability, n (%)	
	Investigator-assessed (N=209)[a]	Patient-assessed (N=206)[a]	Investigator-assessed (N=210)[a]	Patient-assessed (N=206)[a]
TBG much better	35 (16.7)	37 (18.0)	27 (12.9)	32 (15.5)
TBG better	91 (43.5)	80 (38.8)	67 (31.9)	63 (30.6)
No difference	69 (33.0)	76 (36.9)	112 (53.3)	103 (50.0)
Standard of care better	12 (5.7)	11 (5.3)	4 (1.9)	7 (3.4)
Standard of care much better	2 (1.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	1 (0.5)

Investigators and patients answered questionnaires about the efficacy and tolerability of the two treatments. Shown are responses at the end of treatment. Abbreviation: TBG, topical betulin gel.
[a] For some patients, the assessment was missing (intent-to-treat analysis set N=217).

Table 6 – Long-term outcome.

Measure	Wound half more similar to neighbouring untreated skin	Month 3 (N=182)[a]		Month 12 (N=148)[a]	
		n (%)	p-Value[b]	n (%)	p-Value[b]
Pigmentation	TBG-treated wound half	67 (36.8)	<0.001	35 (23.6)	0.002
	Standard of care treated wound half	19 (10.4)		13 (8.9)	
	Both sides equal	89 (48.9)		96 (64.9)	
	No majority decision or not evaluable	7 (3.8)		4 (2.7)	
Redness	TBG-treated wound half	51 (28.0)	<0.001	19 (12.8)	0.015
	Standard of care treated wound half	19 (10.4)		6 (4.1)	
	Both sides equal	105 (57.7)		123 (83.1)	
	No majority decision or not evaluable	7 (3.8)		0 (0.0)	
Texture	TBG-treated wound half	50 (27.5)	<0.001	20 (13.5)	0.002
	Standard of care treated wound half	13 (7.1)		4 (2.7)	
	Both sides equal	113 (62.1)		124 (83.8)	
	No majority decision or not evaluable	6 (3.3)		0 (0.0)	
Hair growth	TBG-treated wound half	2 (1.1)	0.5	2 (1.4)	1.0
	Standard of care treated wound half	0 (0.0)		1 (0.7)	
	Both sides equal	179 (98.4)		145 (98.0)	
	No majority decision or not evaluable	1 (0.5)		0 (0.0)	

Long-term outcomes were assessed by blinded photo evaluation. Abbreviation: TBG, topical betulin gel.
[a] All patients attending follow-up visits were included in the analysis. The difference to N=217 (intent-to-treat analysis set), N=35 at the 3-months and N=69 at the 12-months time point, represent patients lost to follow-up.
[b] P-value determined by exact binomial test for [% for the TBG-treated half ÷ % for the standard of care-treated half] >0.5.

has usually been silver sulfadiazine, which is now well known to slow healing [22,29]. Furthermore, study quality has varied widely, and with the exception of our own previous phase II study [13], no other phase II or III clinical trials have examined the ability of topical agents to enhance wound closure or re-epithelialization.

5. Conclusion

TBG is a safe topical agent that accelerates epidermal barrier closure of split-thickness skin graft donor sites with faster secondary re-epithelialization of partial thickness wounds and reduced scarring, compared to the current standard of care. TBG is providing a well-tolerated contribution to burn care in practice.

Conflicts of interest

JPB reports grants and personal fees from Birken AG; FP declares no conflict of interest; HOR reports personal fees from Birken AG and personal fees from Moelnlycke Healthcare unrelated to the submitted work; HS reports personal fees from Birken AG and personal fees from Dr Ausbüttel & Co. GmbH unrelated to the submitted work; BL and ASB

Please cite this article in press as: J.P. Barret, et al., Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: Results of a randomized phase III clinical trials program, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.03.005

report personal fees from Birken AG; TZ is an employee of Birken AG, HRM reports grants and personal fees unrelated to the submitted work from Birken AG. The study was funded by Birken AG (an Amryt Pharma company).

Acknowledgments

The patients' study participation is gratefully acknowledged. As principal investigator participated in the BSH-12 study Drs Hans-Robert Metelmann (Greifswald University Medicine, Germany), Petra Staubach-Renz (University Medical Center Mainz, Germany), Felix Bross (University Medical Center Freiburg, Germany), Henrik Menke (Klinikum Offenbach, Germany), Ingo Stoffels (University Medical Center Essen, Germany), Norman-Philipp Hoff (University Medical Center Düsseldorf, Germany), Bernd Hartmann (Trauma Hospital Berlin, Germany), Thomas Horn (Helios Klinikum Krefeld, Germany), Bohumil Zálešák (University Medical Center Olomouc, Czech Republic), Břetislav Lipový (University Medical Center Brno, Czech Republic), Pertti Aarnio (Satakunta Central Hospital, Pori, Finland), Alicja Renkielska (University Medical Center Gdansk, Poland), Josef Koller (University Medical Center Salzburg, Austria), Stephan Spendel (University Medical Center Graz, Austria), Thomas Rath (University Medical Center Vienna, Austria), Yolanda Zayakova (Military Hospital Varna, Bulgaria), Ivaylo Rachev (University Medical Center Pleven, Bulgaria), Ognyan Hadzhiyski (University Multiprofile Hospital, Sofia, Bulgaria), Ivan Traykov (University Multiprofile Hospital, Plovdiv, Bulgaria) and in the BSG-12 study Drs Juan Pedro Barret Nerín (University Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain), Jaume Masia Ayala (Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain), José Fernández-Cañamaque (University Medical Center Getafe, Madrid, Spain), José María Piqueras Perez (University Medical Center Rio Hortega, Valladolid, Spain), María Dolores Perez del Caz (University Medical Center La Fe, Valencia, Spain), Alberto Agulló Domingo (University Medical Center Miguel Servet, Zaragoza, Spain), Alexander Stratigos (Andreas Syggros Hospital, Athens, Greece), Petros Panagiotou (General Hospital of Attica, Athens, Greece), Alexander Dionyssopoulos (University General Hospital Papageorgiou, Thessaloniki, Greece), Andrejs Levins (Eastern University Hospital, Riga, Latvia), Kaspars Snipe (Riga Eastern Clinic University Hospital, Riga, Latvia), Guy Magalón (Assistance Publique Hôpitaux de Marseilles, Aix-Marseilles University, Marseille, France), Franck Duteille (University Medical Center Nantes, France), Vincent Casoli (University Medical Center Bordeaux, France) and as Doctorate Research Associate Isabella Metelmann (University Medicine Greifswald, Germany). Clinical project management was provided by Kathrin Schuth (Birken AG, Niefern-Öschelbronn, Germany) and Dr Carola Adam (FGK Clinical Research GmbH, Munich, Germany). Statistical advice was provided by Dr Rolf Fimmers (University Medical School, Bonn, Germany), Nadja Harner and Olaf Böhm (both FGK Clinical Research GmbH, Munich, Germany). The blinded read tool was developed by Michael Scholz (Trium GmbH, Munich, Germany). Wound photographs were quality checked by Zurab Koberidze (FGK Clinical Research GmbH). We also thank Dr Phillip Leventhal (4Clinics, Paris, France) for medical writing, which was funded by Birken AG.

REFERENCES

[1] Metelmann HR, Thom Vu , Tung Do H, Nguyen Binh Le T, Ha Anh Hoang T, Thu Trang Phi T, et al. et al. Scar formation of laser skin lesions after cold atmospheric pressure plasma (CAP) treatment: a clinical long term observation. Clin Plasma Med 2013;1(1):30-5.
[2] Ennis WJ, Sui A, Bartholomew A. Stem cells and healing: impact on inflammation. Adv Wound Care (New Rochelle) 2013;2(7):369-78.
[3] Friedman A. Wound healing: from basic science to clinical practice and beyond. J Drugs Dermatol 2011;10(4):427–33.
[4] Lacci KM, Dardik A. Platelet-rich plasma: support for its use in wound healing. Yale J Biol Med 2010;83(1):1–9.
[5] Rozman P, Bolta Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries. Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat 2007;16(4):156-65.
[6] Dressings and care of skin graft sites: a review of clinical evidence and guidelines. Ottawa, Canada: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 2013.
[7] Alsbjorn B, Gilbert P, Hartmann B, Kazmierski M, Monstrey S, Paloa R, et al. Guidelines for the management of partial-thickness burns in a general hospital or community setting—recommendations of a European working party. Burns 2007;33 (2):155-60.
[8] Jager S, Trojan H, Kopp T, Laszczyk MN, Scheffler A. Pentacyclic triterpene distribution in various plants—rich sources for a new group of multi-potent plant extracts. Molecules 2009;14(6):2016-31.
[9] Ebeling S, Naumann K, Pollok S, Wardecki T, Vidal-Y-Sy S, Nascimento JM, et al. From a traditional medicinal plant to a rational drug: understanding the clinically proven wound healing efficacy of birch bark extract. PLoS One 2014;9(1): e86147.
[10] Woelfle U, Laszczyk MN, Kraus M, Leuner M, Kersten A, Simon-Haarhaus B, et al. Triterpenes promote keratinocyte differentiation in vitro, ex vivo and in vivo: a role for the transient receptor potential canonical (subtype) 6. J Invest Dermatol 2010;130(1):113-23.
[11] Schempp C, Huyke C. Behandlung von Verbrennungen 2. Grades mit Birkencreme. Der Merkurstab 2005;5:402.
[12] Weckesser S, Laszczyk MN, Muller ML, Schempp CM, Schumann H. Topical treatment of necrotising herpes zoster with betulin from birch bark. Forsch Komplementmed 2010;17 (5):271-3.
[13] Metelmann HR, Brandner JM, Schumann H, Bross F, Fimmers R, Boettger K, et al. Accelerated reepithelialization by triterpenes: proof of concept in the healing of surgical skin lesions. Skin Pharmacol Physiol 2015;28(1):1-11.
[14] Laszczyk M, Jäger S, Simon-Haarhaus B, Scheffler A, Schempp CM. Physical, chemical and pharmacological characterization of a new oleogel-forming triterpene extract from the outer bark of birch (betulae cortex). Planta Med 2006;72(15):1389-95.
[15] Grysko M, Daniels R. Evaluation of the mechanism of gelation of an oleogel based on a triterpene extract from the outer bark of birch. Pharmazie 2013;68:572-7.
[16] Likert R. A technique for the measurement of attitudes. Arch Psychol 1932;22(140):55.
[17] Metelmann B, Metelmann C. M-health in prehospital emergency medicine: experiences from the EU funded project LiveCity. In: Moumtzoglou A, editor. Innovations for

Please cite this article in press as: J.P. Barret, et al., Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: Results of a randomized phase III clinical trials program, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.03.005

Patient-Centered Care Hershey, PA. IGI Global; 2016. p. 197–212.
[18] Laszczyk M, Jager S, Simon-Haarhaus B, Scheffler A, Schempp CM. Physical, chemical and pharmacological characterization of a new oleogel-forming triterpene extract from the outer bark of birch (betulae cortex). Planta Med 2006;72(15):1389–95.
[19] Bloemen MC, Boekema BK, Vlig M, van Zuijlen PP, Middelkoop E. Digital image analysis versus clinical assessment of wound epithelialization: a validation study. Burns 2012;38(4):501–5.
[20] Rennekampff HO, Fimmers R, Metelmann HR, Schumann H, Tenenhaus M. Reliability of photographic analysis of wound epithelialization assessed in human skin graft donor sites and epidermolysis bullosa wounds. Trials 2015;16:235.
[21] Haque S, Nawrot DA, Alakurtti S, Ghemtio L, Yli-Kauhaluoma J, Tammela P. Screening and characterisation of antimicrobial properties of semisynthetic betulin derivatives. PLoS One 2014;9(7):e102696.
[22] Wasjak J, Cleland H, Campbell F, Spinks A. Dressings for superficial and partial thickness burns Cochrane Database Syst Rev 2013;3:CD002106.
[23] Voineskos SH, Ayeni OA, McKnight L, Thoma A. Systematic review of skin graft donor-site dressings. Plast Reconstr Surg 2009;124(1):298–306.
[24] Wiechula R. The use of moist wound-healing dressings in the management of split-thickness skin graft donor sites: a systematic review. Int J Nurs Pract 2003;9(2):S9–S17.
[25] Best practice guidelines: effective skin and wound management of non-complex burns. Wounds Int 2014.
[26] Jull AB, Cullum N, Dumville JC, Westby MJ, Deshpande S, Walker N. Honey as a topical treatment for wounds. Cochrane Database Syst Rev 2015;3:CD005083.
[27] Wijesinghe M, Weatherall M, Perrin K, Beasley R. Honey in the treatment of burns: a systematic review and meta-analysis of its efficacy. N Z Med J 2009;122(1295):47–60.
[28] Zhang Y, Wang T, He J, Dong J. Growth factor therapy in patients with partial-thickness burns: a systematic review and meta-analysis. Int Wound J 2016;13(3):354–66.
[29] Rashaan ZM, Krijnen P, Klamer RR, Schipper IB, Dekkers OM, Breederveld RS. Nonsilver treatment vs. silver sulfadiazine in treatment of partial-thickness burn wounds in children: a systematic review and meta-analysis. Wound Repair Regen 2014;22(4):473–82.

Please cite this article in press as: J.P. Barret, et al., Accelerated re-epithelialization of partial-thickness skin wounds by a topical betulin gel: Results of a randomized phase III clinical trials program, Burns (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.03.005

Příloha 10: Lipový B, Matejovičová M, Řihová H, Štikarovská M, Novotná L, Hlaváčová M, Paulová H, Suchánek I, Brychta P. The application of comet assay in monitoring of the immunosuppression level in patient with toxic epidermal necrolysis: a case report. Burns open. 2017, In press.

Burns Open xxx (2017) xxx–xxx

Contents lists available at ScienceDirect

Burns Open

journal homepage: www.burnsopen.com

Case Report

The application of comet assay in monitoring of the immunosuppression level in a patient with toxic epidermal necrolysis: A case report

Lipový B.[a,b,*], Matejovičová M.[c], Řihová H.[a], Štikarovská M.[d], Novotná L.[c], Hlaváčová M.[c], Paulová H.[c], Suchánek I.[a], Brychta P.[a,b]

[a] Department of Burns and Reconstructive Surgery, University Hospital Brno, Czech Republic
[b] Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic
[c] Department of Biochemistry, Masaryk University, Brno, Czech Republic
[d] Department of Clinical Immunology and Allergology, St. Anne's Faculty Hospital, Brno, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:
Received 23 March 2017
Received in revised form 23 May 2017
Accepted 24 May 2017
Available online xxxx

Keywords:
Toxic epidermal necrolysis
Immunosuppression
Comet assay

ABSTRACT

Toxic epidermal necrolysis (TEN) represents the most serious affection within the SCARs group (Severe Cutaneous Adverse Reactions). It is an autoimmune disease manifested by extensive epidermal and mucosal exfoliation. The basic approach in the therapy of patients suffering from toxic epidermal necrolysis is the administration of immunosuppressive medications. Comet assay is a fast, sensitive and relatively easy method used to detect DNA damage levels. We present a case report of a woman with toxic epidermal necrolysis treated with cyclosporine A. During the therapy, comet assay was used to detect the level of DNA damage of circulating lymphocytes and it helped us to reveal qualitative abnormalities in these cells.

© 2017 The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

1. Introduction

Toxic epidermal necrolysis (TEN) belongs to a larger group of SCARs – Severe Cutaneous Adverse Reactions. TEN was described for the first time in 1956 by Scottish dermatologist Alan Lyell [1]. A basic clinical manifestation is skin exfoliation of various extension (30% of total body surface area minimally) that is usually accompanied by mucosal infliction. It is a reaction of the immune system to the presence of an unknown element (usually medicament) [2].

Although the complete pathophysiological background of the autoimmune process has not been identified yet, the use of immunosuppressive drugs is the basis for therapeutic approach in patients with TEN. These drugs can mostly stop the propagation of a clinical manifestation; however their usage is associated with many side effects. The patients are confronted daily with a number of potentially pathogenic microorganisms, including opportunistic pathogens.

As a supplementary method for determination of the level of immunosuppression during the treatment with cyclosporine A, comet assay was used. It is a suitable method for monitoring of defective nuclear DNA of circulating lymphocytes. Comet assay, or in other words single cell gel electrophoresis (SCGE), is an electrophoresis method for the detection of nuclear DNA damage in single cells. This method was used for the first time in 1984 in the work of Ostling and Johanson [3].

The main goal of the routine implementation of this methodology into the overall approach to patients with TEN is the optimization of immunosuppressive dosing regimens (cyclosporine A) and a better understanding of their relationship to DNA lymphocyte damage. Values obtained by measuring DNA damage may enable individualization of immunosuppressive dosing regimens and reduction of the risk of developing fatal infectious complications.

2. Material and methods

2.1. Leukocyte isolation

2.7 or 5 ml of anticoagulated blood collected in a Sarstedt EDTA collection system was used for leukocyte isolation. Blood was diluted 1:1 with phosphate buffered saline (PBS) and 5 ml of suspension was layered on 2 ml of the polysaccharide solution Histopaque (Sigma–Aldrich) with density of 1.077 kg/l. The test tubes were centrifuged with a gradient at 500 g in the Eppendorf centrifuge 5804R. After centrifugation plasma was separated above Histopaque layer, on the bottom of the test tubes was the sediment

* Corresponding author at: Department of Burns and Reconstructive Surgery, University Hospital Brno, Czech Republic.
E-mail address: b.lipovy@seznam.cz (B. Lipový).

http://dx.doi.org/10.1016/j.burnso.2017.05.007
2468-9122/© 2017 The Author(s). Published by Elsevier Ltd.
This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Please cite this article in press as: Lipový B et al. The application of comet assay in monitoring of the immunosuppression level in a patient with toxic epidermal necrolysis: A case report. Burns Open (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burnso.2017.05.007

of erythrocytes and blood platelets and in the interlayer were leukocytes (monocytes and lymphocytes). The interlayer was collected, remaining erythrocytes were removed and leukocytes were counted under microscope in a Bürker chamber. Subsequently the fraction of isolated leukocytes was diluted to reach the concentration 5×10^5 cells per ml in solution PBS-EDTA. The leukocytes suspension was incubated *in vitro* for 30 min at laboratory temperature (22 °C) with 50 μM and 200 μM of hydrogen peroxide in order to assess the sensitivity of cell nuclei to oxidative stress; the control sample was divided into two parts – without incubation and with 30 min of incubation.

2.2. Comet assay

An alkaline-neutral method modification was used for comet assay. The cells in PBS were mixed with 0.8% low melting agarose (Invitrogen, Great Britain) and applied to a microscope slide. After polymerization, the slides were inserted into lysis solution (0.5x Tris/Borate/EDTA –TBE–buffer, 2.5% SDS) for 60 min at 4 °C, that was followed by 20 min incubation in a denaturing solution (0.3 M NaOH, 5 mM EDTA, pH 13.5) at the laboratory temperature. After denaturation, the slides were incubated for 5 min in electrophoretic buffer (1× TBE, pH 8.3). Electrophoresis was carried out for 20 min in electrophoretic buffer (1× TBE) at 1 V/cm in horizontal electrophoretic tank BioRadSubcell-GT. After electrophoresis, the dry slides were fixed (15% w/v trichloroacetic acid; 5% w/v zinc sulfate and 5% w/v glycerol). Silver staining was performed the next day according to the modified procedure that was originally published by Garcia et al. [4]. The comets were evaluated by image analysis with the aid of the program LUCIA (L.I.M., Ltd., Prague), module Comet Assay Single Stain, and camera Vosskühler CCD 1300B connected to the optical microscope Zeiss Primo Star.

The amount of DNA in the head of the comet (undamaged DNA) and in the tail was chosen as the evaluation parameter for DNA damage. Tail-located DNA represents damaged parts of DNA released as a result of single-stranded or double-stranded breaks in the native molecule which denature during the comet assay. Unlike native undamaged DNA, short sections of DNA move in agarose gel at the electrophoresis and create a typical comet tail. Higher relative representation of DNA in the tail means more serious nuclear DNA damage.

2.3. Therapeutic protocol

Due to disease progression, cyclosporine A at 5 mg/kg/day was administered for 5 days and intravenous immunoglobulins were reduced to 0.2 g/kg/day for 5 days [5,6]. Methylprednisolone was gradually reduced from the dose of 10 mg/kg/day to 0.3 mg/kg/day during hospitalization in the Burn Unit, and corticosteroids were completely withdrawn after transfer of the patient to the neurological clinic in the relevant catchment area.

The study design was approved by the local ethics committee and the patient signed informed consent.

3. The case report

We present a case report of an 81-year-old woman, who was primarily hospitalized at the neurological clinic with generalized convulsions. Dominant comorbidities included atrial fibrillation, diabetes mellitus and hypothyroidism. Already after admission, the patient was intubated because of development of acute respiratory insufficiency. The performed brain CT was negative, examination of the cerebrospinal fluid was repeatedly negative. An increasing frequency of paroxysmal activity was observed during weaning, therefore, a loading dose of valproate and phenytoin was successively applied (20 mg/kg/day for valproate and 15 mg/kg/day for phenytoin). After four days, ventilator-associated purulent tracheobronchitis and sepsis occurred. Antibiotics (oxacillin and ceftriaxone) were administered empirically. *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* were cultivated from tracheobronchial aspirate. Within 9 days since the beginning of hospitalization and anticonvulsant therapy, and within 5 days after the introduction of the antibiotic therapy, there was a gradual development of redness and bullous formation predominantly in the trunk area and the proximal parts of the upper and lower extremities. Gradually, there was progression, coalescing with skin defects and epidermis separation. According to the advice of the consultant dermatologist, corticosteroid therapy was introduced on the 10th day after admission (methylprednisolone at the dose of 10 mg/kg/day), and intravenous immunoglobulin therapy was added on the 12th day (IVIg at the dose of 0.8 g/kg/day). In spite of this, there was further progression, so the patient was transferred to the Burn Unit on the 13th day from the start of hospitalization. Throughout hospitalization, the patient was first on controlled ventilation (PRVC – Pressure Regulated Volume Control), followed by a tracheostomy on the 7th day of hospitalization and the patient was then transferred to a support ventilation regime (SIMV – synchronized intermittent mandatory ventilation).

The primary evaluation of extent and localization of exfoliated surfaces was done in the operating room. Numerous coalescent skin defects on the back and dorsal parts of both arms and legs were present (Fig. 1). The blisters were filled with serous fluid, the pseudo-Nikolsky sign and Asboe-Hansen sign were positive. The total extent of exfoliation was evaluated as 33% TBSA (total body surface area), histological examination of two skin samples proved apoptotic induction in the area of dermo-epidermal junction and necrotic epidermis. The damage of mucous membranes was not found. The bronchoscopic examination showed deposits in all lung fields. *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia* was cultivated from bronchoalveolar lavage. SCORTEN (SCORe of Toxic Epidermal Necrolysis) was set as 5 upon reception of patient.

Subsequently regular wound dressings were performed in the operating room under general anaesthesia. During the first week of hospitalization in the Burn Unit, further promotion of dermal defects and induce re-epithelizing potential in exfoliated surfaces (Fig. 2) was managed to be stopped. On the 28thday of hospitalization at the Burn Unit the patient was transferred back to a local Neurology department with residual defects in the range of about 6% of TBSA to conservative treatment. The total length of artificial lung ventilation at the neurological clinic and in the Burn Unit was 26 days (7 days for controlled ventilation, 19 days for support ventilation).

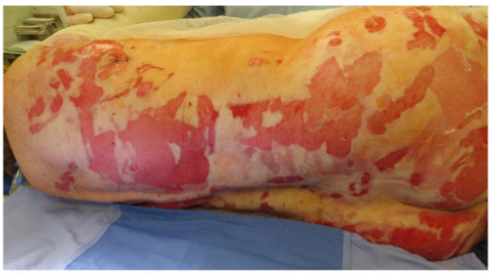


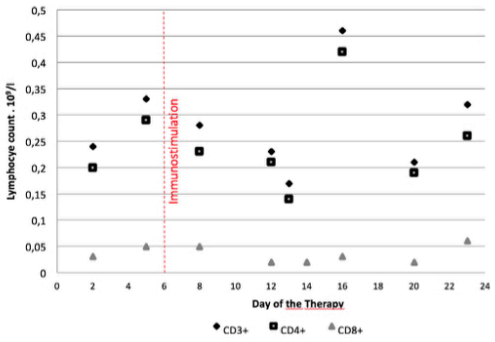
Fig. 1. The range of exfoliated surfaces on the back.

Please cite this article in press as: Lipový B et al. The application of comet assay in monitoring of the immunosuppression level in a patient with toxic epidermal necrolysis: A case report. Burns Open (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burnso.2017.05.007

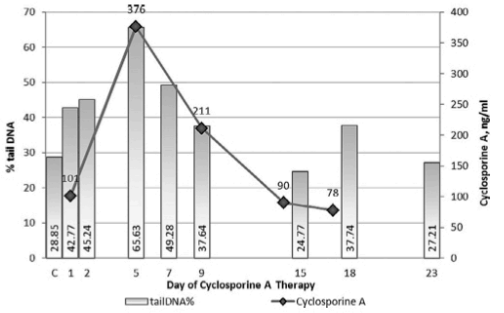
Fig. 2. Residual defects in back with the re-epithelisation potential.

3.1. Immunomodulatory therapy and comet assay

Into established immunosuppressive therapy, cyclosporine A was added in the dosing regimen of 5 mg/kg/day divided into two doses for 5 days. Regular monitoring of plasma concentration of cyclosporine A was performed. Corticosteroids were administered in a reduced dose (methylprednisolone 3 g/kg/day) during hospitalization in the Burn Unit. In order to potentiate the immunosuppressive effect and the primary application of IVIg therapy in the dose of 0,8 g/kg/day (during the hospitalization in the local neurology) was reduced to 0,2 g/kg/day for 5 days. With respect to high risk of infectious complications individual and precise microbiological surveillance were performed. The key immunologic parameters were regularly monitored during the therapy, mainly the levels of CD4+ and CD8+ lymphocytes and plasma concentration of NK cells, supplemented by regular monitoring of CD14+ monocytes values. From the 10th day, the immunostimulatory formulation Transferendi factor suillus in a dose of 5 mg each 3rd day was administrated with effect on increase of mainly CD4+ lymphocytes values (Graph 1). The increase of lymphocytes simultaneously correlates with the increase of DNA damage expressed as increase of relative content of DNA in the comet tail. It may mean that damage of nuclear DNA mainly corresponds to newly released CD4+ lymphocytes. After 22 days of hospitalization, a repeated increase of absolute and relative number of CD4+ lymphocytes already with normally composed DNA was occurred, without accompanied increase of CD8+ lymphocytes (cytotoxic T lymphocytes). The relation of lymphocyte DNA damage and cyclosporine A concentration is shown in the Graph 2. The maximal DNA damage was recorded on the 6th day of hospitalization and correlated with the highest plasma concentration of cyclosporine A which was the expected effect of



Graph 1. The numbers of lymphocytes in blood at different stages of the immunomodulatory therapy.



Graph 2. Relation of DNA damage of circulated lymphocytes and plasma concentration of cyclosporine A. (C-control).

cyclosporine A administration. The DNA damage of the circulating lymphocytes begun to drop after cyclosporine A withdrawal and reached values found in healthy volunteers at day 14.

4. Discussion

TEN represents the most serious form within the group of SCARs. The cause for such severity is frequently very fast progress of extension of originally small exfoliation which is accompanied with general toxicity. For correct treatment of this syndrome the suitable primary diagnostics is absolutely essential, in other words it is histopathological confirmation of the clinical diagnosis [7]. The diagnosis is followed by targeted therapy, pharmacologically induced immunoparalysis or even immunosuppression. This fact has been heavily discussed recently. There is still no general consensus on a standard therapeutic approach. Treatment protocols for TEN show substantial variation over time and between individual Burn Units. Over the last several years, reports advocating the benefits of cyclosporine A, corticosteroids, and intravenous immunoglobulin in TEN have shown variable results.

The defensive mechanisms of the patients with extensive skin exfoliation, frequently with the damage of mucous membranes, are often compromised which leads to potential invasion of pathogenic microorganisms and increases the risk of infectious complications in various compartments. Nowadays only a limited number of publications deal with the issue of infectious complications [8]. Moreover, most of them deal only with infectious complications in the area of exfoliated surfaces and the infections in other compartments are rather neglected. The corticosteroid therapy is presented as the most frequent cause for development of infectious complications in patients with TEN [9]. In view of the fact that corticosteroid therapy is not very selective, in numerous publications it is definitely not recommended to treat patients with these preparations. Intravenous immunoglobulin therapy is unequivocal first choice for a number of authors today [10]. Yet even IVIg failed to reduce mortality to less than satisfactory values. For that reason, the effort to change the therapeutic approach has been intensified presently. The publications declaring the successful treatment of patients with TEN using anti-TNFα preparations like etanercept or infliximab appeared [11]. The role of TNFα not only in the initial but also in the amplification stage is indisputable nowadays; nevertheless the anti-TNFα concept may be questioned. There is still lack of robust data to prove its efficiency.

The dominant problem in the course of TEN are indisputably lymphocytes, whether T lymphocytes (CD3+ lymphocytes) or NK cells. CD4+ lymphocytes have the key role as T-helpers which initiate either CD8+ lymphocytes (cytotoxic T lymphocytes) or NK

Please cite this article in press as: Lipový B et al. The application of comet assay in monitoring of the immunosuppression level in a patient with toxic epidermal necrolysis: A case report. Burns Open (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burnso.2017.05.007

cells to direct destruction of keratinocytes. Activation of leukocytes increases the oxidative stress to which the keratinocytes react by higher activity of inducible nitric oxide synthase (stimulated mainly with TNFα and INFγ). Also upregulation of FAS ligand resulting in apoptosis appears. Therefore the influence of TNFα itself cannot be the ultimate key to the successful therapy in patients suffering from TEN, but it is necessary to modulate the activity of CD4+ lymphocytes. One of the most potent preparations in this modulation is definitely cyclosporine A. The patient in the presented case study was treated with it for 5 days in an amount of 5 mg/kg/day. The therapy was also supplemented with IVIg at a dose of 0.2 g/kg/day for 5 days. The important element in the fight against infectious complications is an attempt to quickly return to immunocompetence. For that reason, after stopping the progression of exfoliation and occurring of a sign re-epithelialization, the immunostimulative scheme (Transferendi factor suillus 5 mg p.o.) was applied. The stimulation effect of this transfer factor on immunocompetent cells is now already well known [12,13]. There has been no publication describing the use of this transfer factor in patients with TEN so far.

This scheme of treatment was implemented and successfully used in four patients with TEN in our Burn Unit. For the first time the immunomodulatory strategy with comet assay was applied, very unique in this indication, so that not only the number of leucocytes but their quality (function) as well could be monitored.

The method of comet assay, implemented in the 1980's and refined over the years is commonly used in many fields, for example for testing the effects of medications and natural substances or cosmetics, screening of environmental burden and in the food industry [14]. Comet assay can be also used in the clinical diagnosis of various pathological conditions but its potential is still employed infrequently. Comet assay is an available and cheap method, relatively quick, not requiring special equipment (actually more expensive fluorescence microscope may be replaced with an optical microscope in the case when silvering is used for staining).

Although the method has certain limitations, it is suitable to implement this method successfully. Especially in the case of monitoring the dynamics in DNA damage during the treatment in a single patient as in the presented case study. Even if the method does not allow quantifying basal DNA damage of leukocytes in this patient, it is possible to compare relative changes of values in DNA damage over time and to evaluate the dynamics of changes in DNA damage in time. The increase of damage in lymphocytes' DNA correlates closely with the increase of cyclosporine A concentration in the plasma a vice versa. The DNA damage increased slightly again after immunostimulation and it corresponds to the increase of CD3+ a CD4+ lymphocytes.

5. Conclusion

Patients mortality with TEN is still unsatisfactorily high even nowadays. Despite the understanding of the substantial part of pathophysiological background of this syndrome, it is still very difficult to find an optimal therapeutic choice. Our concept of immunomodulation control was completed with the unique possibility of monitoring DNA damage of lymphocytes, which definitely contributes to higher therapy individualization in both the immunosuppressive and immunostimulatory phases.

Comet assay as a tool for monitoring DNA damage of lymphocytes fraction seems to be suitable supplementary method for monitoring the therapy results or monitoring the changes of pathologic condition in the individual patients in the cases when it is possible to expect higher risk of damaged nuclear DNA, for example in the case of diseases accompanied with increased oxidative stress.

References

[1] Lyell A. Toxic epidermal necrolysis: an eruption resembling scalding of the skin. Br J Dermatol 1956;68:355–61.
[2] McDermott AJ, Taylor BM, Bernstein KM. Toxic epidermal necrolysis from suspected Mycoplasma pneumoniae infection. Mil Med 2013;178:e1048–50. http://dx.doi.org/10.7205/MILMED-D-13-00139.
[3] Ostling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. Biochem Biophys Res Commun 1984;123:291–8.
[4] Garcia O, Mandina T, Lamadrid AI, Diaz A, Remigio A, Gonzalez Y, et al. Senzitivity and variability of visual scoring in the comet assay. Results of an inter-laboratory scoring exercise with the use of silver staining. Mutat Res 2004;556:25–34.
[5] Valeyrie-Allanore L, Wolkenstein P, Brochard L, Ortonne N, Maître B, Revuz J, et al. Open trial of ciclosporin treatment for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Br J Dermatol 2010;163:847–53.
[6] Viard I, Wehrli P, Bullani R, Schneider P, Holler N, Salomon D, et al. Inhibition of toxic epidermal necrolysis by blockade of CD95 with human intravenous immunoglobulin. Science 1998;282:490–3.
[7] Elston DM, Stratman EJ, Miller SJ. Skin biopsy: Biopsy issues in specific diseases. J Am Acad Dermatol. 2016;74:1–16. http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2015.06.033.
[8] Mahar PD, Wasiak J, Cleland H, Paul E, Gin D, Watters DA, et al. Secondary bacterial infection an empirical antiobiotic use in toxic epidermal necrolysis patients. J Burn Car Res 2014;35:518–24. http://dx.doi.org/10.1097/BCR.0000000000000062.
[9] Castelain F, Humbert P. Toxic epidermal necrolysis. Curr Drug Saf 2012;7:332–8.
[10] Huang YC, Li YC, Chen TJ. The efficacy of intravenous immunoglobulin for the treatment of toxic epidermal necrolysis: a systemic review and meta-analysis. Br J Dermatol 2012;167:424–32.
[11] Paradisi A, Abeni D, Bergamo F, Ricci F, Didona D, Didona B. Etanercept therapy for toxic epidermal necrolysis. J Am Acad Dermatol 2014;71:278–83.
[12] Arnaudov A, Kostova Z. Dialysable leukocyte extracts in immunotherapy. Biotechnol Biotechnol Equip 2015;29:1017–23.
[13] Hromas J, Vacek A, Hofer M, Lukšíková E, Svoboda J, Schneiderová H. Hemopoiesis-stimulating effects and enhanced survival of irradiated mice after peroral or intraperitoneal administration of ultrafiltered pig leukocyte extract (UPLE, IMUNOR®). Immunopharmacol Immunotoxicol 2002;24:651–64.
[14] Hartmann A, Agurell E, Beevers C, Brendler-Schwaab S, Burlinson B, Clay P, et al. Recommendations for conducting the in vivo alkaline comet assay. Mutagenesis 2003;18:45–51.

Please cite this article in press as: Lipový B et al. The application of comet assay in monitoring of the immunosuppression level in a patient with toxic epidermal necrolysis: A case report. Burns Open (2017), http://dx.doi.org/10.1016/j.burnso.2017.05.007

Příloha 11: Lipový B, Cvanová M. The role of antithrombin in patients with toxic epidermal necrolysis. Burns. 2017 Aug;43(5):1135-1137. doi: 10.1016/j.burns.2017.01.031.

Letter to the Editor

The role of antithrombin in patients with toxic epidermal necrolysis☆

Dear Sir,

Toxic epidermal necrolysis (TEN) is a rare systemic disease, which is predominantly manifested in the skin and mucous membranes [1]. Its indicated incidence in the population is 0.5-1.5 cases per million inhabitants a year [2]. It is the most severe syndrome from the SCARs group (Severe Cutaneous Adverse Reactions) with mortality around 30-50% [3]. The basis for development of this syndrome is especially the interaction between T lymphocytes (CD4+, CD8+), NK cells, and keratinocytes dominantly in the dermoepidermal junction. This leads to apoptosis of keratinocytes and loosening in this area [4]. Keratinocyte apoptosis in patients with toxic epidermal necrolysis is triggered by a number of caspase and non-caspase mechanisms. The caspase mechanism includes binding of a ligand to a receptor of keratinocytes (TNFR—tumor necrosis factor receptor, CD95R), which leads to activation of a number of initiation and subsequently also effector caspases [5]. The non-caspase mechanism, which is currently very frequently mentioned, is a direct cytotoxic effect of especially CD8+ T lymphocytes and NK cells on keratinocytes through granzyme B [6].

Recent works have also shown a possible role of nitrosative and oxidative stress in the development of TEN [7].

The most important and absolutely essential factor for the development and further progression of TEN is the role of T cells, both in the initiation and in the amplification phase of the disease itself. Their role is also facilitated due to ICAM (Intracellular Adhesive Molecules), which enable and potentiate T cell transmigration into the interstitial space and further into dermis especially in the amplification phase [8]. Antithrombin is a nonvitamin K-dependent protease that inhibits coagulation by lysing thrombin and factor Xa. Antithrombin (AT) is also one of the most potent inhibitors of ICAM, therefore patients could benefit from the administration of higher doses of AT. In total, we monitored plasmatic levels of antithrombin in 14 patients with TEN. 7 patients from this group died (mortality 50.0%). All patients, who had a plasmatic value of antithrombin of at least 100% on the day of admission, survived. The mean baseline plasmatic value of antithrombin was 73% in the patients, who died, and 117% in the patients, who survived (p=0.010).

The plasmatic level of AT on the day of admission proved to be a powerful prognostic parameter in the group of patients. ROC analysis was carried out to determine the optimum threshold of plasmatic level as a parameter for predicting patient survival. The predictive power of a variable is determined by calculating the area under the curve (AUC) (Table 1).

In the case of four patients in the group, when the primary therapy failed, a rescue concept was applied by administering high-dosage AT and maintaining its target plasmatic level above 100%. All patients in the rescue concept were also given cyclosporin A in the dosage of 5mg/kg and day and IVIg (0.2 g/kg and day), both were administered for 5 days. Although baseline SCORTEN was 3.8 in this patient group, as compared with the patients who died, where it was 3.6, all patients who were treated with the rescue concept and administration of higher doses of antithrombin survived. The patients with the rescue concept during the first week of hospitalization were given on average 7125 j AT, the patients, who died, were given 857 j AT (p=0,006), see Table 2.

This is the first ever mention that the baseline plasmatic level of AT may be a strong predictor of mortality in patients with TEN. It also shows that patients with TEN can

☆ Feedback to the article: Weinand C, Xu W, Perbix W, Lefering R, Maegele M, Rathert M, Spilker G. 27 years of a single burn centre experience with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: analysis of mortality risk for causative agents. Burns. 2013 Nov;39(7):1449-55. 10.1016/j.burns.2013.03.011.

Table 1 – The value of plasmatic concentration on admission as a predictor of survival.

	AUC (95% CI)[a]	p[a]	Cut-off[b]	Sensitivity[c]	Specificity[c]
Plasmatic level of AT on admission	1000 (1000; 1000)	0.004	**96.5%**	100.0%	100.0%

[a] Area under the curve supplemented by 95% confidence interval and statistical significance.
[b] Cut off for plasmatic concentration binarization (the maximum value of the patients who died was 93 and the lowest value of the patients who survived was 100).
[c] Sensitivity and specificity for the given cut-off.

Table 2 – Comparison of selected parameters in patients with TEN, who died and survived with the rescue concept, along with patients, who survived TEN without the RC.

		In total (N=11)	Died (N=7)	Survived with RC (N=4)	Died vs. survived with RC: p-value[a]	Survived without RC (N=3)
Age		52 (20; 81)	53 (20; 77)	50 (20; 81)	1.000	42 (30; 66)
SCORTEN on admission		3.6 (2; 5)	3.6 (2; 5)	3.8 (2; 5)	0.788	2.3 (2; 3)
Amount of FFP 1st week[b]		10 (0; 25)	10 (0; 25)	11 (3; 18)	0.610	10 (0; 17)
Amount of AT 1st week		3 136 (0; 12 000)	857 (0; 3 000)	7 125 (4 500; 12 000)	**0.006**	167 (0; 500)
Plasmatic level of AT in %[c,d]		91 (55; 134)	73 (55; 93)	117 (100; 134)	**0.010**	101 (100; 102)
Mean PL from the days 2–7 in %[c,d]		83 (52; 109)	68 (52; 90)	105 (97; 109)	**0.010**	86 (77; 95)
The difference between the mean PL from the days 2–7 and 1st day in %[c,d]		−8 (−38; 8)	−5 (−30; 5)	−12 (−38; 8)	0.476	−15 (−24; −7)
The maximum dose of corticoids	less than 1g	5 (45%)	1 (14%)	4 (100%)	**0.015**	3 (100%)
	1g and more	6 (55%)	6 (86%)	0		0

Continuous parameters are described by a mean (minimum, maximum); categorical absolute and relative frequency.
Used abbreviations: FFP=fresh-frozen plasma, AT=antithrombin, RC=rescue concept, PL=plasmatic level.
[a] Statistical evaluation was done with Mann–Whitney test, except for the evaluation of the maximum dose of corticoids, which is evaluated by Fisher's exact test.
[b] The evaluation excludes a deceased female patient, who underwent plasmapheresis.
[c] In one patient, who died, the measurement from the first day is missing and the patient is therefore excluded. Also one patient without the rescue concept is missing.
[d] Mean plasma concentrations are calculated for each patient individually for all his/her measurements from days 2 to 7 after admission.

significantly benefit from higher doses of AT during the actual therapy and that maintaining plasma activity above 100% clearly improves survival in patients with TEN.

REFERENCES

[1] Lissia M, Mulas P, Bulla A, Rubino C. Toxic epidermal necrolysis (Lyell's disease). Burns 2010;36(March (2)):152–63, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2009.06.213.
[2] Harr T, French LE. Toxic epidermal necrolysis and Stevens–Johnson syndrome. Orphanet J Rare Dis 2010;5(December):39, doi:http://dx.doi.org/10.1186/1750-1172-5-39.
[3] Mockenhaupt M. The current understanding of Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Expert Rev Clin Immunol 2011;7(November (6))814–5, doi:http://dx.doi.org/10.1586/eci.11.66 quiz 814-5.
[4] Paul C, Wolkenstein P, Adle H, Wechsler J, Garchon HJ, Revuz J, et al. Apoptosis as a mechanism of keratinocyte death in toxic epidermal necrolysis. Br J Dermatol 1996;134(April (4)):710–4.
[5] Chave TA, Mortimer NJ, Sladden MJ, Hall AP, Hutchinson PE. Toxic epidermal necrolysis: current evidence, practical management and future directions. Br J Dermatol 2005;153(August (2)):241–53.
[6] Schwartz RA, McDonough PH, Lee BW. Toxic epidermal necrolysis: part I. Introduction, history, classification, clinical features, systemic manifestations, etiology, and immunopathogenesis. J Am Acad Dermatol 2013;69(August (2))173.e1–173.e13, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2013.05.003 quiz 185–6.
[7] Peter D, Amirtharaj GJ, Mathew T, Pulimood S, Ramachandran A. Role of oxidative and nitrosative stress in pathophysiology of toxic epidermal necrolysis and Stevens Johnson syndrome—a pilot study. Indian J Dermatol 2015;60(September–October (5)):427–31, doi:http://dx.doi.org/10.4103/0019-5154.159617.

[8] Nassif A, Moslehi H, Le Gouvello S, Bagot M, Lyonnet L, Michel L, et al. Evaluation the potential role of cytokines in toxic epidermal necrolysis. J Invest Dermatol 2004;123(November (5)):850-5.

Břetislav Lipový[a,b,*]
[a]Department of Burns and Reconstructive Surgery, University Hospital Brno, Czechia

[b]Medical Faculty, Masaryk University Brno, Czechia

Michaela Cvanová
Institute of Biostatistics and Analyses at the Faculty of Medicine of the Masaryk University, Brno, Czechia

* Corresponding author at: Jihlavská 20, Brno 625 00, Czechia.
E-mail address: bretalipovy@gmail.com (B. Lipový).

http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.01.031
0305-4179/© 2017 Elsevier Ltd and ISBI. All rights reserved.

Příloha 12: Lipový B, Holoubek J, Hanslianová M, Cvanová M, Klein L, Grossová I, Zajíček R, Bukovčan P, Koller J, Baran M, Lengyel P, Eimer L, Jandová M, Košťál M, Brychta P; CELESTE Study Group. Toxic epidermal necrolysis data from the CELESTE multinational registry. Part I: Epidemiology and general microbiological characteristics. Burns. 2017, In review.

Toxic epidermal necrolysis data from the CELESTE multinational registry. Part I: Epidemiology and general microbiological characteristics

Lipový B.[1,2], Holoubek J.[1], Hanslianová M.[3], Cvanová M.[4], Klein L.[5,6], Grossová I.[7], Zajíček R.[7], Bukovčan P.[8], Koller J.[8], Baran M.[9], Lengyel P.[9], Eimer L.[10], Jandová M.[11], Košťál M.[12], Brychta P.[1,2]; CELESTE Study Group

1) Department of Burns and Reconstructive Surgery, Teaching Hospital Brno, Czech Republic
2) Faculty of Medicine, Masaryk University Brno, Czech Republic
3) Department of Clinical Microbiology, Teaching Hospital Brno, Czech Republic
4) Institute of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic
5) Division of Plastic Surgery and Burns Treatment, Department of Surgery, Charles University, Faculty of Medicine and Teaching Hospital, Hradec Králové, Czech Republic
6) Department of Military Surgery, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Hradec Králové, Czech Republic
7) Prague Burn Center, Charles University, 3rd Faculty of Medicine and Teaching Hospital Královské Vinohrady, Prague, Czech Republic
8) Department of Burns and Reconstructive Surgery, Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava, Slovakia.
9) Department of Burns and Reconstructive Surgery, 1st private hospital Košice-Šaca, Slovakia
10) Department of Paediatrics, Charles University, Faculty of Medicine and Teaching Hospital, Hradec Králové, Czech Republic
11) Department of Dermatovenerology, Charles University, Faculty of Medicine and Teaching Hospital, Hradec Králové, Czech Republic
12) IV. Internal Haematology Department, Charles University, Faculty of Medicine and Teaching Hospital, Hradec Králové, Czech Republic

Příloha 13: Lipový B, Holoubek J, Hanslianová M, Cvanová M, Klein L, Grossová I, Zajíček R, Bukovčan P, Koller J, Baran M, Lengyel P, Eimer L, Jandová M, Košťál M, Brychta P; CELESTE Study Group. Toxic epidermal necrolysis data from the CELESTE multinational registry. Part II: Specific systemic and local risk factors for development of infectious complications. Burns. 2017, In review.

Toxic epidermal necrolysis data from the CELESTE multinational registry. Part II: Specific systemic and local risk factors for development of infectious complications

Lipový B.[1,2], Holoubek J.[1], Hanslianová M.[3], Cvanová M.[4], Klein L.[5,6], Grossová I.[7], Zajíček R.[7], Bukovčan P.[8], Koller J.[8], Baran M.[9], Lengyel P.[9], Eimer L.[10], Jandová M.[11], Košťál M.[12], Brychta P.[1,2]; CELESTE Study Group

13) Department of Burns and Reconstructive Surgery, Teaching Hospital Brno, Czech Republic
14) Faculty of Medicine, Masaryk University Brno, Czech Republic
15) Department of Clinical Microbiology, Teaching Hospital Brno, Czech Republic
16) Institute of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic
17) Division of Plastic Surgery and Burns Treatment, Department of Surgery, Charles University, Faculty of Medicine and Teaching Hospital, Hradec Králové, Czech Republic
18) Department of Military Surgery, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Hradec Králové, Czech Republic
19) Prague Burn Center, Charles University, 3rd Faculty of Medicine and Teaching Hospital Královské Vinohrady, Prague, Czech Republic
20) Department of Burns and Reconstructive Surgery, Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava, Slovakia.
21) Department of Burns and Reconstructive Surgery, 1st private hospital Košice-Šaca, Slovakia
22) Department of Paediatrics, Charles University, Faculty of Medicine and Teaching Hospital, Hradec Králové, Czech Republic
23) Department of Dermatovenerology, Charles University, Faculty of Medicine and Teaching Hospital, Hradec Králové, Czech Republic
24) IV. Internal Haematology Department, Charles University, Faculty of Medicine and Teaching Hospital, Hradec Králové, Czech Republic

Příloha 14: Lipový B, Řihová H, Wilková M, Hanslianová M, Kyclová J, Brychta P. První případ nitrofurantoinem indukované toxické epidermální nekrolýzy? Dermatol praxi. 2016;10(4):197-200.

První případ nitrofurantoinem indukované toxické epidermální nekrolýzy?

MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D.[1, 2], MUDr. Hana Řihová[1], MUDr. Michaela Wilková[1, 2], MUDr. Markéta Hanslianová[3], MUDr. Jitka Kyclová[4], prof. MUDr. Pavel Brychta, CSc.[1, 2]

[1]Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno
[2]Lékařská fakulta Masarykovy univerzity Brno
[3]Oddělení klinické mikrobiologie FN Brno
[4]Ústav patologie FN Brno

Nitrofurantoin zaznamenává v poslední dekádě výraznou renezanci v používání. Za touto skutečností stojí zejména narůstající rezistence potenciálně patogenních mikroorganizmů způsobující infekci močového systému. Toxická epidermální nekrolýza představuje vystupňovanou alergickou reakci, která se dominantně manifestuje v oblasti kůže a sliznic rozsáhlou exfoliací. Ve většině případů je tento stav navozen užíváním některého z medikamentů. Dnes je známo již více než 150 preparátů, které mohou indukovat rozvoj toxické epidermální nekrolýzy. I přes důkladnou analýzu dostupných databází (Pubmed, Scopus, Web of Science) se nám nepodařilo nalézt ucelenou kazuistiku, která by rozvoj tohoto syndromu po požití nitrofurantoinu popisovala.

Klíčová slova: toxická epidermální nekrolýza, nitrofurantoin.

The first case of nitrofurantoin-induced toxic epidermal necrolysis?

Nitrofurantoin has experienced a significant renaissance in use in the past decade. This is particularly due to the increasing resistance of potentially pathogenic microorganisms causing urinary tract infection. Toxic epidermal necrolysis represents an escalated allergic reaction that is predominantly manifested by extensive exfoliation in the area of the skin and mucosae. In the majority of cases, this condition is brought about by the use of some of the medications. Currently, there are over 150 products which are known to be capable of inducing the development of toxic epidermal necrolysis. Despite a thorough analysis of available databases (Pubmed, Scopus, Web of Science), we have failed to find a single case report that would describe the development of this syndrome following the use of nitrofurantoin.

Key words: toxic epidermal necrolysis, nitrofurantoin.

Úvod

Toxická epidermální nekrolýza (TEN) představuje nejzávažnější polékovou toxoalergickou reakci patřící do skupiny tzv. Burn-like syndromů. Základním klinickým projevem TEN je různě rozsáhlá kožní a slizniční exfoliace na minimálně 30 % TBSA (total body surface area), která je způsobena masivní indukcí apoptózy v oblasti dermo-epidermální junkce (1). Tato reakce je podkladem jednoho z nejdůležitějších klinických projevů tohoto onemocnění, tzv. pseudo-Nikolského fenoménu (2). Jedná se o volný pohyb dvou vrstev prosti sobě (epidermis a dermis) způsobený pouze drobným tlakem na kůži. Poprvé tento syndrom popsal v roce 1956 Alan Lyell, proto se pro TEN používá také pojmenování Lyellův syndrom.

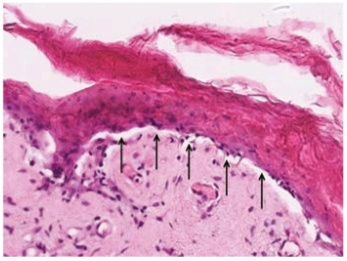
Dnes je známo okolo 200 preparátů, které mohou vyvolat toto onemocnění, přesto existuje asi 5–10 % případů, u kterých se nepodaří identifikovat žádný medikament v anamnéze pacienta. V rozsáhlých epidemiologických studiích jsou z pohledu antimikrobiálních preparátů nejčastěji zmiňovány *trimetoprim-sulfamethoxazol* nebo aminopeniciliny (3). Naopak relativně bezpečnější preparáty z pohledu rozvoje TEN jsou např. tetracykliny. U antifungálních preparátů je největší množství případů zaznamenáno po podání flukonazolu, nicméně recentní studie popisuje případ rozvoje TEN v průběhu terapie vorikonazolem (4).

Co se týká samotného nitrofurantoinu, je situace značně nepřehledná. Tento přípravek byl

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA: MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D.
Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno

Cit. zkr: Dermatol. praxi 2016; 10(4): 197–200
Článek přijat redakcí: 10. 12. 2015
Článek přijat k publikaci: 1. 8. 2016

Obr. 1. *Histologický obraz TEN: postupné rozvolňování v oblasti dermoepidermální junkce způsobené apoptózou*



doposud popsán v rozvoji Stevens-Johnsonova syndromu, což je syndrom, který mnozí autoři označují jako mírnější kontinuum pro TEN a také v případě tzv. DRESS syndromu (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms) (5). V rámci FDA (Food and Drug Administration) byl za období 2004–2012 byl hlášen rozvoj TEN po podání nitrofurantoinu pouze v jednom případě. V rámci Evropy TEN v souvislosti s terapií nitrofurantoinem nebyl doposud jednoznačně zaznamenán. V následující kazuistice prezentujeme případ rozvoje TEN u pacientky medikující nitrofurantoin pro močovou infekci. I když primární stratifikace rizika úmrtí dosahovala 58,3 % dle SCORTEN, podařilo se pacientku cílenou imunomodulací, precizní mikrobiologickou surveillance a aplikací tzv. moderních krytů ve wound-managementu zachránit.

Kazuistika

V průběhu června 2015 byla na naši kliniku přeložena pacientka s primárním podezřením na toxickou epidermální nekrolýzu. Podle detailního studia jednotlivých preparátů, které pacientka medikovala v daném období, byl jediný preparát, který mohl způsobit rozvoj tohoto syndromu, nitrofurantoin.

Při primárním ošetření byly během celkové anestezie na operačním sále zajištěny invazivní vstupy, celkový rozsah primární exfoliace byl 40 % TBSA (total body surface area). Dominantně byly plochy lokalizovány na dorzálních partiích těla. V době přijetí byly již plochy v postupné progresi hloubky s velmi sporným kapilárním návratem (ten je při čerstvých lézích u pacientů s TEN zachován, vzhledem k dobré perfuzi v oblasti subdermálního a subpapilárního plexu). Rovněž byla vzhledem k absenci jakéhokoliv krytu velmi suspektní lokální kolonizace/infekce. Současně byl proveden odběr 2 bioptických vzorků na histologickou konfirmaci postižení (Obr. 1).

Klinicky se jevila TEN jako velmi pravděpodobná, byl přítomen pseudo-Nikolského fenomén. Během prvních dní hospitalizace dochází, díky systémové toxicitě, i přes terapii k progresi onemocnění a rozšíření exfoliovaných ploch na 60 % TBSA. Je také postižena sliznice dutiny ústní a pochvy. Dle primárního skórovacího systému dosáhla pacientka na SCORTEN 4. Podle tohoto skórovacího systému je mortalita 58,3 %.

Vzhledem k intenzitě propagace čerstvých lézí byla TEN již v amplifikační fázi, proto bylo nutné promptní zahájení imunosupresivní terapie a aplikace IVIG (intravenózní imunoglobuliny). Pacientka při přijetí již medikovala kortikosteroidy, imunosupresivní terapie byla doplněna cyklosporinem A v dávce 5 mg/kg a den. V kortikosteroidech bylo pokračováno s postupnou redukcí jejich dávky. Pravidelnou imunologickou monitorací bylo dosaženo cílové redukce CD4+ subpopulace lymfocytů. Následně se cyklosporin A spolu s IVIG vysadily a započala fáze imunostimulace preparátem Imunor (transferendi factor suillus). Imunostimulační fáze je velmi důležitá zejména z pohledu redukce počtu potenciálně patogenních mikroorganizmů, a tedy frekvenci výskytu infekčních komplikací.

Infekční komplikace

Při přijetí u pacientky dominovala infekce močového systému (UTI) způsobená kmenem *Enterobacter cloacae*. Tento infekt byl sanován meropenemem. Dále byla opakovaná pozitivita hemokultur (CR-BSI), jako patogen byl identifikován koaguláza negativní *Staphylococcus*. Po nasazení vankomycinu byl stav postupně upraven. V oblasti exfoliovaných ploch probíhala mikrobiologická surveillance kombinací otiskové a stěrové metody. Byla detekována multipatogenní kolonizace/infekce kmeny *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Candida albicans*. Do medikace se zařadil také flukonazol, i když byly hodnoty mannanu opakovaně negativní. Infekce gramnegativními tyčkami byly zvládnuty meropenemem.

Lokální péče

Lokální péče představuje minimálně stejně důležitou část léčby jako systémová imunosuprese. Správně volená lokální péče redukuje množství infekčních epizod v oblasti exfoliovaných ploch a podpoří adekvátní fázový posun v hojení rány. Nutno podotknout, že plocha se hojí většinou pomaleji než podobně hluboká popálenina, což je zapříčiněno zejména podáváním kortikosteroidů. Přesto při adekvátním wound-managementu bezprostředně po vytvoření primárních lézí je délka reepitelizace okolo 12–15 dní. Převazy je nutno provádět pro výraznou bolestivost v celkové anestezii.

Vzhledem k suspektní lokální infekci, která se také konfirmovala při semikvantitativní mikrobiologické surveillance v oblasti exfoliovaných ploch, byla při primárním ošetření aplikována lokálně 3% mast s chloramfenikolem. Při dalších převazech již bylo toto antibiotikum nahrazeno pokročilými kryty s obsahem stříbra (Mepilex® Ag, Mölnlycke Health Care). To umožnilo nejen eradikovat PPM z oblasti ploch, ale také lepší mikrobiologickou kontrolu v období mezi jednotlivými převazy. Postup v hojení během jednotlivých převazů je znázorněn na obrázku 2–4.

Interní komplikace

Během hospitalizace se u pacientky i přes chronicky medikující betablokátory rozvinula fibrilace síní s rychlou odpovědí komor, vzhledem k nově zjištěné subklinické tyreotoxikóze byl před podáním amiodaronu upřednostněn digoxin. U pacientky nasazena také tyreostatika. Nedochází ovšem k verzi rytmu, nicméně pacientka byla dále eufrekvenční.

Diskuze

Nitrofurantoin je chemoterapeutikum ze skupiny nitrofuranů, do klinické praxe byl zaveden v roce 1953, tedy dříve než byl popsán syndrom toxické epidermální nekrolýzy. Již tehdy byl výhradně používán v terapii močových infekcí. Stejná indikace mu zůstala dodnes, jeho použití je tedy v terapii nekomplikovaných infekcí močových cest a jako profylaxe u pacientů s rekurentními infekcemi močových cest. Jeho použití v případě jiných typů infekcí je prakticky nemožné pro jeho malou prostupnost do tkání a nedosažitelnost účinných plazmatických koncentrací (6).

Dnes je postupně zaznamenáván zvýšený zájem o toto antibiotikum. Za jeho „znovuobjevení" k používání stojí skutečnost, že je každoročně zaznamenáván nárůst počtu rezistentních kmenů potenciálně patogenních mikroorganizmů zejména k flourochinolonům.

Důvodem jakési renezance používání nitrofurantoinu je jeho mechanizmus účinku, který je unikátní v porovnání s jinými antibiotiky. Nitrofurantoin inhibuje enzymy, které se účastní metabolizmu cukrů a syntézy nukleových kyselin v bakteriální buňce. Toto působení na více místech metabolizmu bakterií je pravděpodobně příčinou nízké rezistence bakteriálních patogenů k jeho účinku, a to i u bakterií, které jinak vykazují rezistenci k více skupinám antibiotik (7).

Tak jako i jiné antimikrobiální preparáty je i užívání nitrofurantoinu zatíženo vedlejšími účinky. Velká metaanalýza všech doposud provedených studií byla publikována Huttnerem a kol. (8). Zahrnuje 27 studií a celkem 4 807 pacientů léčených nitrofurantoinem. 17 studií se také zabývá problematikou toxicity a vedlejších účinků. V závěru je konstatováno, že vedlejší účinky jsou méně časté (5–16 % pacientů), mírné a reverzibilní. V žádné ze studií nebyla sledována hypersenzitivní reakce, jako je plicní fibróza nebo hepatotoxicita. Mezi nejčastější vedlejší účinky při použití nitrofurantoinu patří zejména bolest hlavy a nauzea. Dále dle FDA (Food and Drug Administration) se v souvislosti s užíváním tohoto antibiotika zmiňují i méně časté vedlejší účinky (udávané u méně než 1 % pacientů). Z gastrointenstinálních potíží jsou to dyspepsie, zácpa nebo průjem, kolitidy vyvolané toxigenními kmeny *Clostridium difficile*, ale nebývají ve spojitosti s podáváním nitrofurantoinu popisované. V souvislosti s užíváním nitrofurantoinu byly zaznamenány také případy akutní plicní hypersenzitivní reakce. Z dermatologických vedlejších účinků je nejčastěji zmiňována alopecie, která je ovšem dočasná a po ukončení terapie se růst vlasů obnoví. Jsou popisovány také pruritus a urtikárie. Z tohoto pohledu je vidět, že nitrofurantoin má vliv na rozvoj hypersenzitivní či alergické reakce. O polékových toxoalergických kožních reakcích je v literatuře v souvislosti s užíváním nitrofurantoinu velmi málo informací. Jiná situace je v případě rozvoje Stevens-Johnsonova syndormu, erythema multiforme a tzv. DRESS (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms). Je pochopitelné, že větší množství vedlejších účinků po podání nitrofurantoinu bylo publikováno v době, kdy byl daleko frekventněji používán, tzn. do konce 80. let minulého století. Chapman v roce 1986 publikoval případ rozvoje drug-induced lupus erythematosus associated with erythema multiforme (9). Fitzgerald et. al publikovali již v roce 1993 případ rozvoje SJS po podání nitrofurantoinu spolu s toxickou hepatitidou (10). Nyní se objevují další práce, které souvisí s jeho frekventnějším znovuzavedením do klinické praxe.

Obr. 2. *Pohled na záda během příjmu a po reepitelizaci (horní snímek je pořízen 1. den hospitalizace, dolní snímek z 21. dne hospitalizace).*

Obr. 3. *Pohled na dorzální stranu pravé dolní končetiny – fázový postup v reepitelizaci během hospitalizace (snímky pořízeny 1. den, 10. den, 21. den hospitalizace)*

Obr. 4. *Pohled na plochy kryté Mepilexem® Ag v průběhu hojení kožních defektů*

DRESS je vedlejší reakce způsobená opožděným typem IVb hypersenzitivity s mortalitou kolem 10 %. Základními klinickými a laboratorními projevy jsou horečka, kožní rash, lymfadenopatie, hematologické abnormality a poškození vnitřních orgánů. Na rozdíl od prvních dvou syndromů se v souvislosti s rozvojem DRESS po nitrofurnatoinu zabývají pouze dvě relativně recentní práce. Velema et al. publikovali první případ rozvoje DRESS po nitrofurantoinu v roce 2009 (11). V roce 2013 na tuto práci navázal Leão et al. s popisem druhého případu (12). Od té doby nebyl publikován žádný další známy případ.

První zmínka o možném spojení TEN a nitrofurantoinu je v obsáhlé práci Chan et al. z roku 1990 (13). V práci jsou prezentována retrospektivní data z let 1972–1986, která se zaměřují na nežádoucí kožní projevy po podání nitrofurantoinu. Z článku není ovšem jasné, jestli nitrofurantoin způsoboval nějakou TEN nebo šlo opět pouze o případy SJS nebo EM. Přesnější data o hlášení kožních vedlejších účinků po podání nitrofurantoinu můžeme získat z databází FDA. V období 2004–2012 byl hlášen pouze jeden případ rozvoje TEN po nitrofurantoinu (14). Celkem v tomto období bylo hlášeno 2 656 vedlejších účinků po podání nitrofurantoinu. Naopak ve stejném období bylo hlášeno celkem 6 105 případů rozvoje toxické epidermální nekrolýzy různé etiologie. Pravdou zůstává, že tento jediný případ byl sice hlášen jako vedlejší účinek, nicméně nebyl dále publikován. I přes důkladnou review v databázích Web of Science, Scopus nebo Pubmed stále chybí jednoznačná publikace popisující rozvoj TEN po nitrofurantoinu.

Závěr

I když se jedná o velmi raritní syndrom a ještě raritnější komplikaci po podání nitrofurantoinu, musí být již i toto antibiotikum zahrnuto do skupiny tzv. rizikových preparátů a s rozvojem polékové toxoalergické reakce se musí počítat. Renezance v používání nitrofurantoinu může vést k dalšímu, zvyšujícímu se riziku rozvoje tohoto syndromu.

LITERATURA

1. Paul C, Wolkenstein P, Adle H, Wechsler J, Garchon HJ, Revuz J, Roujeau JC. Apoptosis as a mechanism of keratinocyte death in toxic epidermal necrolysis. Br J Dermatol. 1996; 134(4): 710–714.
2. Polifka M, Krusinski PA. The Nikolsky sign. Cutis. 1980; 26(5): 521–525, 526.
3. Mockenhaupt M, Viboud C, Dunant A, Naldi L, Halevy S, Bouwes Bavinck JN, Sidoroff A, Schneck J, Roujeau JC, Flahault A. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: assessment of medication risks with emphasis on recently marketed drugs. The EuroSCAR-study. J Invest Dermatol. 2008; 128(1): 35–44. Epub 2007 Sep 6.
4. Gomulka J, Wilson BD, Joyce JC. Toxic epidermal necrolysis due to voriconazole: case report and review. Dermatol Online J. 2014 Sep 16;20(9). pii: 13030/qt2pt32578. Review.
5. Kardaun SH, Sekula P, Valeyrie-Allanore L, Liss Y, Chu CY, Creamer D, Sidoroff A, Naldi L, Mockenhaupt M, Roujeau JC; RegiSCAR study group. Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS): an original multisystem adverse drug reaction. Results from the prospective RegiSCAR study. Br J Dermatol. 2013; 169(5): 1071–1080. doi: 10.1111/bjd.12501.
6. Kashanian J, Hakimian P, Blute M Jr, Wong J, Khanna H, Wise G, Shabsigh R. Nitrofurantoin: the return of an old friend in the wake of growing resistance. BJU Int. 2008; 102(11): 1634–1637. doi: 10.1111/j.1464-410X.2008.07809.x. Epub 2008 Jul 24.
7. McOsker CC, Fitzpatrick PM. Nitrofurantoin: mechanism of action and implications for resistance development in common uropathogens. J Antimicrob Chemother. 1994; 33 Suppl A: 23–30.
8. Huttner A, Verhaegh EM, Harbarth S, Muller AE, Theuretzbacher U, Mouton JW. Nitrofurantoin revisited: a systematic review and meta-analysis of controlled trials. J Antimicrob Chemother. 2015; 70(9): 2456–2464. doi: 10.1093/jac/dkv147. Epub 2015 Jun 11.
9. Chapman JA. An unusual nitrofurantoin-induced drug reaction. Ann Allergy. 1986; 56(1): 16–18.
10. Fitzgerald DA, Smith AG, Suarez V, Daggett PR. Stevens-Johnson syndrome and toxic hepatitis induced by nitrofurantoin: a case report. J Dermatol Treat 1993; 4: 211–213.
11. Velema MS, Voerman HJ. DRESS syndrome caused by nitrofurantoin. Neth J Med. 2009; 67(4): 147–149.
12. Leão RN, Barreto P, Leão RR, Ribeiro JV. Nitrofurantoin: cause of DRESS syndrome. BMJ Case Rep. 2013 May 8;2013. pii: bcr2013008991. doi: 10.1136/bcr-2013-008991.
13. Chan HL, Stern RS, Arndt KA, Langlois J, Jick SS, Jick H, Walker AM. The incidence of erythema multiforme, Stevens-Johnson syndrome, and toxic epidermal necrolysis. A population-based study with particular reference to reactions caused by drugs among outpatients. Arch Dermatol. 1990 Jan;126(1):43-7.
14. MedsFacts. Philadelphia PA.Study of possible correlation between TOXIC EPIDERMAL NECROLYSIS and NITROFURANTOIN. Available from: http://drugline.se/questions/en/23370/?query=mesh:%22nitrofurantoin%20-%20AE%22.

Příloha 15: Lipový B, Řihová H, Hanslianová M, Suchánek I, Brychta P. Stenotrophomonas maltophilia as the cause of ventilator-associated pneumonia in a female patient with toxic epidermal necrolysis and Clostridium colitis: time for off-label tigecycline? Epidemiol Mikrobiol Imunol. 2016;65(3):177-181.

PŮVODNÍ PRÁCE

Stenotrophomonas maltophilia jako původce ventilátorové pneumonie u pacientky s toxickou epidermální nekrolýzou a klostridiovou kolitidou: čas na off-label podání tigecyklinu?

Lipový B.[1, 2], Řihová H.[1], Hanslianová M.[3], Suchánek I.[1], Brychta P.[1, 2]

[1]Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno, Czech Republic
[2]Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity Brno, Czech Republic
[3]Oddělení klinické mikrobiologie, FN Brno, Czech Republic

SÚHRN

Toxická epidermální nekrolýza (TEN) je autoimunitní onemocnění, způsobené většinou medikamenty, projevující se dominantně v oblasti kůže a sliznic. Jedná se o vzácné onemocnění s vysokou mortalitou. Dominantní podíl na mortalitě pacientů s TEN mají infekční komplikace. Vzhledem k tomu, že antimikrobiální přípravky, mohou indukovat rozvoj tohoto syndromu, je antimikrobiální management velmi komplikovaný. Tigecyklin je stále relativně nové antibiotikum, které je v Evropě schváleno pro komplikované nitrobřišní infekce a komplikované infekce kůže a měkkých tkání. Mezi základní výhody použití tigecyklinu u pacientů s TEN patří jeho dobrá prostupnost do tkání, široké spektrum umožňující v řadě případů monoterapii a v neposlední řadě, v porovnání s jinými antimikrobiálními přípravky, minimální provokační potenciál z pohledu zhoršení závažnosti základního onemocnění další stimulací imunitního systému. V kazuistice prezentujeme případ úspěšné terapie 81leté pacientky s TEN a mnohočetnými infekčními komplikacemi v různých kompartmentech, z nichž byla nejzávažnější ventilátorová pneumonie způsobená *Stenotrophomonas maltophilia*. Celkový stav byl dále zdramatizován současným rozvojem klostridiové kolitidy. Jako jedno z terapeutických možností bylo podání tigecyklinu, byť v souvislosti s léčbou ventilátorové pneumonie šlo o „off-label" podání.

KLÍČOVÁ SLOVA

toxická epidermální nekrolýza – tigecyklin – „off-label" indikace – klostridiová kolitida

ABSTRACT

Lipový B., Řihová H., Hanslianová M., Suchánek I., Brychta P.: *Stenotrophomonas maltophilia* as the cause of ventilator-associated pneumonia in a female patient with toxic epidermal necrolysis and Clostridium colitis: time for off-label tigecycline?

Toxic epidermal necrolysis (TEN) is an autoimmune disease which is usually caused by a reaction to drugs. It affects mainly the skin and mucous membranes. It is a rare condition with a high mortality rate. Fatal outcomes in patients with TEN are mostly due to infectious complications. As antimicrobial drugs may induce this syndrome, the management of this condition is very complicated. Tigecycline is still a relatively new antibiotic approved in Europe for use in complicated intra-abdominal infections and complicated skin and soft tissue infections. Among major advantages of tigecycline in patients with TEN are its good penetrability into tissues, wide spectrum of activity that makes it suitable for use as monotherapy, and last but not least, in comparison with other antimicrobials, a very low potential for exacerbation of the severity of the underlying disease by further stimulation of the immune system. A case report is presented of a successful management of an 81-year-old woman with TEN and multiple infectious complications in different anatomic locations, the most serious of which was ventilator-associated pneumonia caused by *Stenotrophomonas maltophilia*. Her general condition was further aggravated by Clostridium colitis. Tigecycline was used as the therapeutic option for ventilator-associated pneumonia, although prescribed off-label.

KEYWORDS:

toxic epidermal necrolysis – tigecycline – off-label indications – Clostridium colitis

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 65, 2016, č. 3, s. 178–182

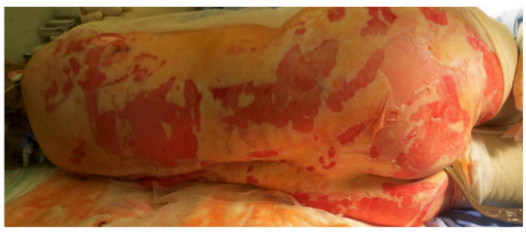
ÚVOD

Toxická epidermální nekrolýza (TEN) je vzácné systémové onemocnění, které se dominantně manifestuje v oblasti kůže a sliznice. TEN je nejzávažnější onemocnění ze skupiny tzv. Burn-like syndromů, mortalita se pohybuje okolo 25–35 %. Výskyt v populaci se udává někde mezi 0,5–1,5 případů na 1 milion obyvatel za rok [1]. Základem pro rozvoj tohoto syndromu je CD4+

mediovaná T lymfocytární toxicita indukující apoptózu v oblasti dermoepidermální junkce. Dochází tak k různě rozsáhlé kožní a slizniční exfoliaci. Vzhledem k tomu, že se jedná o autoimunitní onemocnění, je základem v terapeutickém přístupu podávání imunosupresiv a tzv. symptomatická doplňková terapie (celková i lokální). Vzhledem ke ztrátě kožního krytu a tedy kompromitaci funkce lokální bariéry, spolu s farmakologicky indukovanou imunosupresí, představují tito pacienti jednu z nejohroženějších skupin z pohledu rozvoje infekčních komplikací nejrůznějšími potenciálně patogenními mikroorganismy (PPM) včetně oportunních zástupců [2].
Precizní a individualizovaná mikrobiologická surveillance, spolu s antimikrobiální terapií, představuje dnes nejdůležitější část léčby, která mnohdy rozhoduje o přežití pacientů s TEN. Z pohledu dodatečné senzibilizace představuje terapie infekčních komplikací u pacientů s TEN jednu z nejnáročnějších kapitol vůbec. Každý antimikrobiální přípravek musí být podroben velmi kritickému zhodnocení nejen z pohledu citlivosti, eventuálně rezistence PPM, ale také u pohledu dodatečné provokace imunitního systému.
V kazuistice prezentujeme případ úspěšné terapie 81leté pacientky s TEN a mnohočetnými infekčními komplikacemi v různých kompartmentech, z nichž byla nejzávažnější ventilátorová pneumonie způsobená *Stenotrophomonas maltophilia*. Celkový stav byl dále zdramatizován současným rozvojem klostridiové kolitidy. Jako jedno z terapeutických možností bylo podání tigecyklinu, byť v souvislosti s léčbou ventilátorové pneumonie šlo o „off-label" podání.

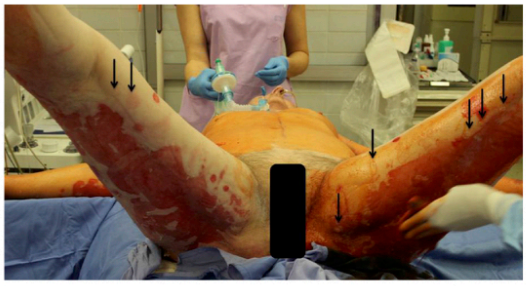
KAZUISTIKA

81letá pacientka byla primárně hospitalizovaná v únoru 2015 na neurologické klinice pro ztrátu vědomí a následně generalizované konvulze. Bylo provedeno CT vyšetření mozku bez nálezu krvácení nebo ischémie. Pro pokračující záchvaty u pacientky dochází k zavedení terapie antikonvulzivy – valproát a fenytoin. Během 4 dní dochází k rozvoji hnisavé tracheobronchitidy a sepse. Primárně nasazen oxacilin a ceftriaxon. Za 9 dní od začátku hospitalizace dochází k postupnému výsevu exfoliativních lézí v oblasti zad a dorzální strany horních i dolních končetin. I přes vysazení všech medikamentů podezřelých z indukce kožních erupcí, a nasazení kortikosteroidů spolu s terapií intravenózními imunoglobuliny, dochází k další propagaci, proto byla pacientka přeložena na naši kliniku.
Primární evaluace rozsahu a lokalizace exfoliovaných ploch byla provedena na operačním sále, pacientka měla provedenu tracheostomii. Početné splývající defekty kůže na zádech a dorzálních partiích obou horních i dolních končetin (obr. 1, 2). Přítomné buly byly vyplněny serózní tekutinou, klinicky byl pozitivní Nikolského fenomén. Celkový rozsah exfoliace byl zhodnocen na 33 % TBSA (total body surface area), histologické vyšetření dvou kožních odběrů (obr. 3) potvrdilo apoptotickou indukci v oblasti dermo-epidermální junkce. Nebylo shledáno postižení sliznic. SCORTEN (SCORe of Toxic Epidermal Necrosis) při přijetí byl 5, což představuje více než 90% mortalitu.[3]



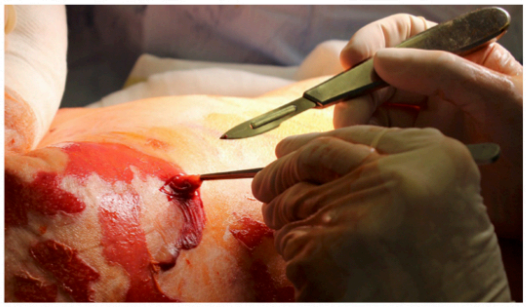
Obr. 1. Rozsah exfoliovaných plochy v oblasti zad

Fig.1. Extent of exfoliated surfaces in the back areas



Obr. 2. Rozsah exfoliovaných plochy v oblasti dorzální strany stehen
Černé šipky označují čerstvě vznikající buly.

Fig. 2. Extent of exfoliated surfaces on the posterior thighs
Black arrows indicate freshly formed bullae.



Obr. 3. Odběr kožní biopsie v histologickému vyšetření a potvrzení diagnózy TEN

Fig. 3. Collection of a skin biopsy specimen for histopathologic examination and confirmation of the diagnosis of TEN

Do zavedené imunosupresivní terapie byl přidán cyklosporin A v dávkovacím schématu 5 mg/kg rozděleného do dvou dávek po dobu 5 dní. Bylo prováděno pravidelné monitorování plazmatické koncentrace cyklosporinu A. Pro potenciaci imunosupresivního efektu byly ponechány kortikosteroidy v redukované dávce (methylprednisolon

Obr. 4. Zbytkové defekty v oblasti zad s potenciálem reepitelizace

Fig. 4. Residual defects in the back area with potential for re-epithelialisation

80 mg á 8 hod) a první aplikace IVIG terapie v dávce 60 g/den (při hospitalizaci na spádové neurologii) byla redukována na 15 g/den po dobu 5 dní. V průběhu terapie byly pravidelně monitorovány klíčové imunologické parametry, zejména hodnoty CD4+ lymfocytů. Vzhledem k vysokému riziku rozvoje infekčních komplikací byla prováděna individuální a precizní imunologická surveillance, doplněná o pravidelné monitorování hodnot CD14+ monocytů.

Následně byly prováděny pravidelné převazy na operačním sále v celkové anestezii. Během prvního týdne hospitalizace se podařilo zastavit další propagaci kožních defektů a navodit reepitelizační potenciál v oblasti exfoliovaných ploch (obr. 4). Pacientka byla po 28 dnech hospitalizace přeložena na spádovou neurologii se zbytkovými defekty v rozsahu cca 6 % TBSA ke konzervativnímu dohojení.

MIKROBIOLOGIE

Semikvantitativní otisková metoda v oblasti exfoliovaných ploch identifikovala několik PPM (potenciálně patogenních mikrobů), které byly vykultivovány v koncentraci svědčící pro lokální infekci (*Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* s produkcí širokospektré betalaktamázy typu AmpC, *Escherichia coli*). V této fázi vzhledem k imunosupresi a redukci počtu leukocytů klasické známky lokální infekce chybí nebo jsou alterovány.

Po vstupním bronchoskopickém vyšetření byla z bronchoalveolární laváže vykultivována *P. aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae* v koncentraci 10^4 CFU (colony-forming unit)/ml z levé plíce a *P. aeruginosa* a *E. cloacae* rovněž s produkcí betalaktamázy AmpC z pravé plíce. Závažnost kultivačního nálezu potvrzoval i mikroskopický preparát se záplavou leukocytů a gramnegativních tyček. U *P. aeruginosa* šlo tzv. wild-type s dobrou citlivostí k antibiotikům, *K. pneumoniae* nebyla producentem širokospektré betalaktamázy, ale pro citlivost, respektive rezistenci kmene *E. cloacae* byl do terapie zvolen meropenem. Po 7 dnech terapie byla kontrolní bronchoskopie bez nálezu PPM v oblasti dolních dýchacích cest. Po dalších 3 dnech došlo ke zhoršení stavu pacientky a z bronchoalveolární laváže byl ze všech plicních polí vykultivován kmen již rezistentní k většině antimikrobiálních přípravků – *S. maltophilia* v koncentraci >10^4 CFU/ml. Do terapie byl zařazen ciprofloxacin. Bohužel i přes probiotika po třech dávkách tohoto flourochinolonu došlo k rozvoji průjmovitých stolic a identifikaci původce komplikací – *Clostridium difficile* (toxigenní kmen).

S. maltophilia je bakteriální druh přirozeně rezistentní k řadě antibiotik, vzhledem k anitibiogramu přicházela v úvahu pouze terapie chloramfenikolem nebo tigecyklinem. Chloramfenikol vzhledem k jeho nežádoucím účinkům by nadále zhoršoval situaci rizikem útlumu hematopoézy, proto padla volba na tigecyklin. V případě „off-label" indikace tigecyklinu, zejména v terapii nozokomiálních pneumonií, je preferována dvojnásobná dávka. Přesto jsme se rozhodli podat standardizovanou dávku, tedy 100mg iniciálně a dále 50 mg á 12 hodin. Tigecyklin v této fázi byl nejen jedinou terapeutickou možností, ale navíc v kombinaci s perorálním vankomycinem (125 mg á 6 hod) byl s výhodou použit v terapii klostridiové kolitidy, ale také v eradikaci PPM na epitelizujících kožních defektech (koaguláza negativní stafylokok, *E. coli*), což bylo zásadní pro správný a úspěšný postup v hojení rány.

Díky tigecyklinu dochází k úplné eradikaci stenotrofomonády, ale na ranných plochách se opět objevuje kultivační záchyt kmene *P. aeruginosa*, která si ponechává citlivost k cefalosporinům IV. generace. Do kombinace s tigecyklinem byl proto dále přidán cefepim (2 g á 12 hod). Následně dochází k úplné eradikaci všech PPM v oblasti dolních dýchacích cest a exfoliovaných ploch, kombinace tigecyklinu spolu s vankomycinem navíc zajistila ústup klinických příznaků klostridiové kolitidy.

DISKUSE

Rozvoj infekce v různých kompartmentech představuje jednu z nejobávanějších komplikací v průběhu terapie pacientů s TEN. Přítomnost farmakologicky indukované imunoparalýzy, eventuálně imunosuprese, zhoršuje u pacientů možnosti konvenční antimikrobiální terapie. Dochází velmi rychle ke kontaminaci exfoliovaných ploch a poté přes kolonizaci a lokální infekci k rozvoji sepse. Selhání terapeutických postupů poté mohou mít fatální následky, zejména pokud jde o infekci v oblasti krevního řečiště nebo dolních dýchacích cest.

Infekční komplikace v oblasti dolních dýchacích cest se dají rozdělit na dvě nozologické jednotky s odlišným průběhem a prognózou – tracheobronchitida, pneumonie. Ventilátorová pneumonie je definována jako pneumonie, která se vyvine minimálně 48 hodin po intubaci a zahájení umělé plicní ventilace. Na rozdíl od ventilátorové tracheobronchitidy pro diagnostiku pneumonie je nezbytný pozitivní RTG nález [4]. Diagnostika ventilátorové pneumonie je založena na třech nosných pilířích. Systémové známky infekce, nový nebo progrese stávajícího plicního infiltrátu a pozitivní kultura materiálu odebraného z dolních dýchacích cest. U pacientů s TEN mohou někdy známky systémové infekce chybět nebo být neadekvátně redukované, zejména díky imunosupresivní terapii. Podobně také pro tvorbu samotného infiltrátu v oblasti plic je nezbytná součinnost imunitního systému, proto u léčených pacientů s TEN nemusí být infiltrát tak intenzivně manifestován jako u jiné skupiny kriticky postižených pacientů. Za

standard v odběru materiálu k mikrobiologické diagnostice se v dnešní době považuje bronchoalveolární laváž [5]. Ventilátorová pneumonie je zatížena vysokou mortalitou. Závažnost ventilátorové pneumonie je dána zejména infekčním agens, které etiologicky participuje na jejím rozvoji. Gramnegativní kmeny bakterií mají horší prognózu než grampozitivní koky. *S. maltophilia* patří mezi nejobávanější PPM v intenzivní péči vůbec, zejména pro svoji vysokou úroveň rezistence k řadě antibiotik. Problematikou antimikrobiální terapie u multirezitentních kmenů *S. maltophilia* se zabývá řada prací. Betts et al. ve své práci popisují výhody potenciace účinku tigecyklinu, eventuálně rifampicinu, spolu s kolistinem právě proti multirezistentním kmenům *S. maltophilia* [6]. Tekçe et al. se naopak zabývají problematikou alternativního přístupu k pacientům, kteří mají infekční komplikaci způsobenou *S. maltophilia*, a nemohou být léčeni trimethoprim-sulfamethoxazolem [7]. Během 3 let srovnávali základní ukazatele, jako mortalitu a klinickou efektivitu, u populace pacientů léčených trimethoprim-sulfamethoxazolem (26 pacientů) a pacientů léčených tigecyklinem (19 pacientů). Závěry potvrdily skutečnost, že tigecyklin je více než dobrá alternativa v terapii nozokomiálních infekcí způsobených *S. maltophilia* u pacientů, kteří nemohou být léčeni trimethoprim-sulfamethoxazolem.

Tigecyklin stále patří do skupiny novějších antimikrobiální přípravků. Jedná se o první zástupce ze skupiny glycylcyklinů. Tento přípravek obdržel povolení od Food and Drug Administration (FDA) a European Medicines Agency (EMEA) k terapii komplikovaných infekcí kůže a měkkých tkání (SSTIs) a komplikované intraabdominální infekce (IAIs) [8, 9]. FDA také povolila používat tento přípravek v terapii komunitní pneumonie (CAP) [10]. V Evropě povolení pro terapii ať již komunitní tak i nozokomální pneumonie chybí. Přesto narůstá počet popsaných případů, kdy „off-label" použití tigecyklinu vedlo k záchraně života pacienta.

V rámci retrospektivní analýzy pacientů, kteří dostali minimálně jednu dávku tigecyklinu v Univerzitní nemocnici del Mar v Barceloně bylo zaznamenáno celkem 150 pacientů [11]. Ovšem z těchto pacientů pouze 104 pacientům (69,3 %) byl podán tigecyklin ve schválené indikaci FDA a EMEA 59 (56,7 %) pro SSTI a 45 (43,3 %) pro IAI). Celkem u 46 pacientů (30,7 %) byl podán tigecyklin v „off-label" indikaci. Z tohoto počtu bylo celkem 20 pacientů s nozokomiální pneumonií (14 pacientů, 70 %) byli pacienti s ventilátorovou pneumonií).

V této skupině byla off-label indikace tigecyklinu závislá také na potenciálně patogenním mikroorganismu (PPM). Zejména infekce kmeny *S. maltophilia* vykazovaly statisticky signifikantní rozdíl (10, 21,7 %) v „off-label" indikaci vs. 2 (1,9 %) ve schválené indikaci) $p < 0,001$).

Curcio et al. analyzovali preskripci tigecyklinu u 209 pacientů z 23 centrech Latinské Ameriky [12]. Z tohoto počtu pouze 66 pacientů (31,5 %) obdrželi tigecyklin ve schválené indikaci. Zbylý počet 143 pacientů (68.5%) mělo podání tigecyklinu „off-label". Nejčastěji byl tigecyklin podán v „off-label" indikaci u pacientů s VAP (76 pacientů). Pouze u 88 pacientů byl stanoven původce infekčních komplikací. V tomto souboru byly nejčastější patogeny, u kterých byla indikována terapie tigecyklinem, *Acinetobacter spp.* (54,5 %, v 65 % případů – karbapenem rezistentní kmeny), methicillin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (12 %), a Enterobacteriaceae produkující širokospektrou betalaktamázu (10 %).

Mouloudi et al. ve své studii poukazují na efektivitu podávání tigecyklinu u pacientů s infekčními komplikacemi způsobenými karbapenem-rezistentní *K. pneumoniae* po transplantaci jater [13]. Z celkem 18 pacientů byl tigecyklin předepsán v „off-label" indikaci u 10 pacientů (7 BSI, 1 UTI, 2 VAP). U 5 pacientů ze souboru se v průběhu terapie tigecyklinem objevila superinfekce způsobená *P. aeruginosa*. Guner et al. popisují použití tigecyklinu u jiného multirezitentního kmene bakterií, *Acinetobacter spp.* [14]. Opět se jednalo o karbapenem rezistentní formu. Celkem bylo v souboru 33 pacientů. Klinická odpověď byla pozorována u 23 pacientů (69,7 %). U 10 pacientů (30 %) nebylo podání tigecyklinu efektivní. Ve skupině byli pacienti s BSI a VAP, tedy tigecyklin byl podán „off-label" indikaci. U 13 pacientů (43,3 %) byla zaznamenána superinfekce, opět se nejčastěji jednalo o kmeny *P. aeruginosa*. U obou článků autoři popisují jako základní důvod podávání tigecyklinu v „off-label" indikaci absenci jiných terapeutických možností.

V případě průjmu způsobeného *C. difficile* začíná přibývat počet pacientů, kteří byli úspěšně léčení tigecyklinem [15]. I když pro iniciální terapii těchto pacientů se stále doporučuje vankomycin a metronidazol, u rekurentních infekcí jednoznačná strategie chybí. Vzhledem k tomu, že mnoho studií demonstruje výbornou in vitro aktivitu tigecyklinu proti kmenům *C. difficile*, může být právě tento antimikrobiální přípravek účinný i in vivo. Tigecyklin má zjištěnou nízkou minimální inhibiční koncentraci (MIC) i pro multirezistentní kmeny *C. difficile* (průměr MIC90 0,25 mg/L; rozmezí ≤ 0,06–2 mg/l) [16]. Navíc byla zaznamenána také jeho aktivita vůči toxinům, které produkují kmeny *C. difficile* [17].

Antimikrobiální terapie u pacientů s TEN je stále velmi komplikovaná, protože právě antibiotika a chemoterapeutika patří k jedné z nejrizikovějších skupin léků, které mají za následek rozvoj TEN. Rozhodování o použití daného antimikrobiálního přípravku proto musí respektovat také jeho potenciál v dodatečné provokaci alergické reakce na kůži vedoucí ke zhoršení lokálního i celkového stavu. Relevantní data o antimikrobiálních přípravcích způsobující rozvoj TEN jsou vzhledem k raritnosti tohoto onemocnění velmi obtížně dohledatelná. Přesto existuje práce, která hodnotí základní epidemiologická data, včetně užívaných léků, u kohorty čítající i několik stovek pacientů s TEN. Jedná se EuroSCAR studii (SCAR-Severe Cutaneous Adverse Reactions) [18]. V této multicentrické studii, která byla provedena u 379 pacientů v jednotlivých evropských zemích, byla také hodnocena jednotlivá antibiotika a chemoterapeutika. Bylo zjištěno, že i mezi jednotlivými antibiotiky existuje podstatný rozdíl v riziku rozvoje TEN. Nejrizikovějším přípravkem mezi antiinfektivy je podle této studie trimetoprim/sulfamethoxazol (6,3 % pacientů užívalo tento přípravek před rozvojem TEN), následovaný cefalosporiny (5 %), aminopeniciliny a makrolidy (shodně 4,8 %) a chinolony (3,4 %). Naopak nejbezpečnější skupinou z pohledu rozvoje TEN byly tetracykliny (1,9 %).

ZÁVĚR

V kazuistice prezentujeme případ pacientky s multifokální infekcí různými PPM, navíc se základním onemocně-

ním, u kterého je použití kombinací antimikrobiálních přípravků spojeno s vyšším rizikem zhoršení stavu. Prakticky beznadějná situace byla úspěšně řešena „off-label" podáním tigecyklinu.

LITERATURA

1. Harr T., French LE. Toxic epidermal necrolysis and Steven-Johnson syndrome. Orphanet J Rare Dis 2010;5: 39–50.
2. de Prost N, Ingen-Housz-Oro S, Duong T et al. Bacteremia in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: epidemiology, risk factors, and predictive value of skin cultures. Medicine (Baltimore). 2010;89(1):28–36.
3. Bastuji-Garin S, Fouchard N, Bertocchi M, et al. SCORTEN: a severity-of-illness score for toxic epidermal necrolysis. J Invest Dermatol. 2000;115(2):149–153.
4. Craven DE, Hjalmarson KI. Ventilator-associated tracheobronchitis and pneumonia: thinking outside the box. Clin Infect Dis. 2010;51(Suppl 1):S59–66.
5. Vélez L, Correa LT, Maya MA, et al. Diagnostic accuracy of bronchoalveolar lavage samples in immunosuppressed patients with suspected pneumonia: analysis of a protocol. Respir Med. 2007;101(10):2160–2167.
6. Betts JW, Phee LM, Woodford N, Wareham DW. Activity of colistin in combination with tigecycline or rifampicin against multidrug-resistant Stenotrophomonas maltophilia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014;33(9):1565–1572.
7. Tekçe YT, Erbay A, Cabadak H, Sen S. Tigecycline as a therapeutic option in Stenotrophomonas maltophilia infections. J Chemother. 2012;24(3):150–154.
8. Fomin P, Beuran M, Gradauskas A, et al. Tigecycline is efficacious in the treatment of complicated intra-abdominal infections. Int J Surg. 2005;3(1):35–47.
9. Breedt J, Teras J, Gardovskis J, et al. Safety and efficacy of tigecycline in treatment of skin and skin structure infections: results of a double-blind phase 3 comparison study with vancomycin-aztreonam. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49(11):4658–4666.
10. Dartois N, Cooper CA, Castaing N, et al. Tigecycline versus levofloxacin in hospitalized patients with community-acquired pneumonia: an analysis of risk factors. Open Respir Med J. 2013;7:13–20.
11. Conde-Estévez D, Grau S, Horcajada JP et al. Off-label prescription of tigecycline: clinical and microbiological characteristics and outcomes. Int J Antimicrob Agents. 2010;36(5):471–472.
12. Curcio D, Vargas SW, Ugarte Ubiergo S, et al. Tigecycline treatment of critically ill patients: the LatinUser experience. Curr Clin Pharmacol. 2011;6(1):18–25.
13. Mouloudi E, Massa E, Piperidou M, et al. Tigecycline for treatment of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infections after liver transplantation in the intensive care unit: a 3-year study.Transplant Proc. 2014;46(9):3219–3221.
14. Guner R, Hasanoglu I, Keske S, et al. Outcomes in patients infected with carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii and treated with tigecycline alone or in combination therapy. Infection. 2011;39(6):515–518.
15. Theriot CM, Schumacher CA, Bassis CM, et al. Effects of tigecycline and vancomycin administration on established Clostridium difficile infection. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(3):1596–1604.
16. Britt NS, Steed ME, Potter EM, et al. Tigecycline for the Treatment of Severe and Severe Complicated Clostridium difficile Infection. Infect Dis Ther. 2014;3(2): 321–331.
17. Aldape MJ, Heeney DD, Bryant AE, et al. Tigecycline suppresses toxin A and B production and sporulation in Clostridium difficile. J Antimicrob Chemother. 2015;70(1):153–159.
18. Mockenhaupt M, Viboud C, Dunant A, et al. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: assessment of medication risks with emphasis on recently marketed drugs. The EuroSCAR-study. J Invest Dermatol. 2008;128(1):35–44.

Do redakce došlo dne 6. 1. 2016.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D.
Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: b.lipovy@seznam.cz

Příloha 16: Dokument upravující podmínky před a během transferu pacientů s TEN do popáleninových center.

Doporučené postupy pro diagnostiku a transfer pacientů s toxickou epidermální nekrolýzou do popáleninového centra

Autor: MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D. Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno

Spoluautoři: MUDr. Robert Zajíček, Ph.D. Klinika popáleninové medicíny FN Královské Vinohrady
Prof. MUDr. Pavel Brychta, CSc.
Prim. MUDr. Zdeněk Pavlovský Ústav patologie FN Brno
MUDr. Eva Sticová, Ph.D. Ústav patologie FN Královské Vinohrady

Gesce: Společnost popáleninové medicíny ČLS JEP

Definice a patofyziologie: Toxická epidermální nekrolýza (TEN) je nejzávažnější onemocnění ze skupiny tzv. Burn-like syndromů. Jedná se o akutní většinou polékovou reakci, která se dominantně projevuje v oblasti kůže, ale velmi často se manifestuje také v oblasti sliznic. Za rozvoj tohoto syndromu je zodpovědná indukce apoptózy v oblasti dermo-epidermální junkce. Z patofyziologického pohledu není doposud toto onemocnění spolehlivě vysvětleno. Z dosud publikovaných dat vyplývá, že za rozvojem tohoto onemocnění stojí minimálně 3 patofyziologické dráhy. První je interakce mezi Fas-R (CD95R) a Fas-L (CD95L) keratinocytů (lymfocytů), která spouští apoptózu prostřednictvím kaspázy 8. Ve druhé patofyziologické dráze hraje důležitou roli TNFα přímo nebo prostřednictvím ICAM (intracellular adhesive molecule) a VCAM (vascular cell adhesion molecule). Třetí dráhou je přímé působení CD8+ i CD4+ lymfocytů spolu s NK buňkami na buněčnou stěnu keratinocytů prostřednictvím granzymu B, perforinu a granulysinu. Výsledkem je narušení homeostázy keratinocytů a apoptóza. Zatím ne zcela objasněná je role oxidativního a nitrosativního stresu u pacientů s TEN.

Epidemiologie: Jedná se o velmi raritní onemocnění, které má v České republice incidenci kolem 0,5-1 případů na milión obyvatel a rok. Vzhledem k absenci provádění adekvátní diagnostiky může být reálná incidence ještě nižší.

Příčina rozvoje TEN: Nejčastější příčinou rozvoje tohoto syndromu je defektní metabolizace medikamentu a kumulace toxických metabolitů. Dnes je známo na 200 léků, které mohou rozvoj TEN iniciovat. Mezi nejrizikovější skupiny léků patří antibiotika a chemoterapeutika (biseptol, aminopeniciliny), dále antikonvulziva (karbamazepin, lamotrigin, fenytoin) dále paracetamol a nesteroidní antiflogistika aj. V literatuře se udává, že asi u 10 % případů není nalezena asociace mezi užitím medikamentu a rozvojem tohoto onemocnění. V těchto případech je velmi důležité pátrat pro virových onemocněních, zejména HSV-1 nebo HIV.

Rizikové faktory určující prognózu pacientů s TEN: Nejdůležitější rizikové faktory jsou shrnuty do dodnes nejpoužívanějšímu schématu určenému pro skórování SCORTEN.

Určení rozsahu kožní exfoliace: Pro určení rozsahu kožní exfoliace platní totožná pravidla jako je tomu v případě určení rozsahu popálení.

Klinická manifestace: Onemocnění se projevuje dominantně v oblasti kůže, minimální rozsah exfoliace nutný pro diagnózu toxické epidermální nekrolýzy je 30 % TBSA (total body surface area). Pacienti s rozsahem kožní exfoliace menším než 30 % TBSA nesplňují základní

kritérium pro diagnózu L512 dle MKN, tedy toxickou epidermální nekrolýzu! Pro diagnostiku a diferenciální diagnostiku je také důležitá velmi častá přítomnost postižení sliznic (dýchací cesty, trávicí trakt, urogenitální oblast). Precizní diagnostika je kruciálním bodem v rámci dalšího transferu pacientů a také v samotnému terapeutickému přístupu.

Doporučení pro transfer a směřování pacientů s netermální ztrátou kožního krytu

1. **Každý pacient před transferem do popáleninového centra musí mít přesně stanovenou diagnózu toxické epidermální nekrolýzy, dále pouze TEN.** Není v materiálních a personálních kapacitách popáleninových center v České republice léčit pacienty, kteří nesplňují kritéria pro TEN.

2. **Při odlišných diagnózách, které jsou klinicky podobné s TEN jako např. pemfigus vulgaris, bulózní pemfigoid, stafylokokový syndrom opařené kůže aj. může být popáleninové centrum kontaktováno z pohledu doporučení v lokální terapii.**

3. **Všichni pacienti, kteří splňují klinická kritéria pro diagnostiku TEN, by měli mít, před samotným transferem do popáleninového centra, provedenu histopatologickou konfirmaci.** Jedině histopatologické vyšetření dokáže přesně odlišit jednotlivé „Burn-like syndromy“ mezi sebou. Pacienti, u kterých by adekvátní histopatologická diagnostika neúměrně prodloužila dobu nutnou pro transfer do popáleninového centra, nebo pacienti hospitalizovaní v zařízeních nedisponující patřičným diagnostickým komplementem, mohou být transferováni, po předchozí domluvě, do popáleninového centra ČR. V tomto případě je na samotném popáleninovém centru, jestli umožní příjem pacientů s TEN diagnostikovanou pouze klinicky, nikoliv histopatologicky.

   Pro snazší komunikaci před transferem pacientů s TEN do popáleninových center uvádíme doporučení pro provedení histopatologického vyšetření k definitivní diagnostice tohoto syndromu.

   a. Odběr bioptického materiálu je možno realizovat excizí nebo tzv. „punch“ biopsií (pokud je odběr proveden touto metodou je minimální doporučovaný průměr odběrové jehly 6 mm).
   b. Při odběru materiálu vždy volíme oblast mezi přechodem kožního defektu a intaktní kůží (odebraný materiál by měl vždy obsahovat nekrotickou dermis – důležitý parametr v rámci diferenciální diagnostiky).
   c. Preferován je počet 2 odběrů bioptického materiálu u každého pacienta.
   d. První odběr proveden bez fixace, odeslán na zmrzlo k okamžitému zpracování a možnosti včasné interpretace. Druhý odběr poté fixován do formaldehydu a dále zpracován.
   e. V případě jakýchkoliv nejasností možno kontaktovat konzultační centra.
   f. Konzultační centra v rámci interpretace histopatologického nálezu jsou

      MUDr. Eva Sticová, Ph.D.
      Ústav patologie FNKV, Šrobárova 50, Praha 10, 100 34,
      tel: 267 163 280, 267 162 500 e-mail: eva.sticova@fnkv.cz

      Prim. MUDr. Zdeněk Pavlovský
      Ústav patologie FN Brno, Jihlavská 20, Brno, 625 00

tel: 532 233 435 e-mail: pavlovsky.zdenek@fnbrno.cz

g. V případě nejasností možno doplnit klasické histopatologické vyšetření o vyšetření imunohistochemické.

4. TEN je onemocnění, které se manifestuje mnohdy velmi fulminantním průběhem. Vzhledem k tomu, že transport může trvat delší dobu, je nutné pacienta během transferu komplexně monitorovat. Transfer by měl být vždy v doprovodu lékaře! Vždy je nutno během transferu myslet na rozvoj akutní dechové nedostatečnosti, která si vyžádá zajištění dýchacích cest.

5. Neinvazivní měření krevního tlaku je preferované v oblasti, která není postižena kožní exfoliací. I samotná insuflace tlakové manžety je pro pacienty velmi bolestivá.

6. Pacienti s exfoliovanými plochami nedokáží adekvátně obstarávat vlastní termoregulaci. Proto je nutno na tuto skutečnost během transferu myslet a zabránit hypotermii, která může ve výsledku vést k prohloubení exfoliovaných ploch a zhoršení prognózy pacientů.

7. **Zajištění periferních vstupů – pokud je to možné preferovány jsou oblasti bez zjevného postižení (exfoliace, erytém, buly).**

8. U pacientů s TEN je rovněž vyšší potřeba tekutin. Určujícím faktorem pro kalkulaci potřeby tekutin je rozsah exfoliace. V literatuře se udává v průměru u pacienta s rozsahem exfoliace 50 % TBSA zhruba 3-4 litry krystaloidů za den. Preferují se iontově balancované roztoky. Role koloidů, ať již syntetických nebo přirozených, je dnes stále diskutována. V případě rozvoje hypotenze je dnes preferovanější podávání vyššího objemu krystaloidů (kontinuálně i ve formě bolusového podání) před aplikací katecholaminů. Vyšší dávky katecholaminů mohou způsobit kompromitaci možnosti spontánní re-epitelizace kožních defektů.

9. Transfer pacienta s TEN v nejrychlejší možné době. Zkrácení doby mezi diagnostikou a transferem do popáleninového centra redukuje rozvoj infekce, délky hospitalizace a také mortality takto postižených pacientů.

10. Zajištění vitálních funkcí – pokud to není nezbytně nutné, je vhodné pacienta ponechat bez intubace, při intubaci je vždy nutno myslet na postižení sliznic s následující krvácivostí v oblasti dýchacích cest. Intubace může být pro krvácení a slizniční deskvamaci obtížná.

11. Jakákoliv manipulace je pro pacienta velmi bolestivá. Základní úrovní, ve které dochází k exfoliaci ploch, je dermo-epidermální junkce. Senzitivní funkce je tedy zachována. **V případě bolestivosti by měla být během transferu pacientovi podávány analagetika. Vzhledem k intenzitě bolestivosti je preferováno podávání opioidních analgetik.**

12. Během transferu je nutno se vyvarovat podávání dalších medikamentů s rizikem dodatečné senzibilizace. Ze stejného důvodu není v žádném případě doporučováno profylaktické, či preemptivní podávání antibiotik, či chemoterapeutik.

13. Wound management – pokud se stane, že během transferu bude u pacienta nutná lokální péče opět, platí pravidlo, že méně je více. Tedy vhodné pouze sterilní krytí v primární vrstvě neadhezivní kryt (mastný tyl, Grassolind® apod.) a v sekundární vrstvě sterilní, krytí zabraňující mechanické traumatizaci a ztrátě tepla.

14. U pacientů s TEN dochází k rovněž postižení v oblasti konjunktivy. Proto by mělo být na tuto skutečnost myšleno. V případě, že pacient nemá doporučenu oftalmologickou péči a během transferu pociťuje dyskomfort, je možno aplikovat oftalmologika (kapky nebo masti), která jsou k dispozici - optimálně obsahující kortikoid (Maxitrol aj.).

Nejdůležitější body během transferu pacientů s TEN jsou shrnuty v následující tabulce:

Zajištění dostatečného objemu tekutin
Prevence tepelných ztrát
Podávání adekvátní analgézie
Zabránění sekundární infekce

Příloha 17: Lipový B, Řihová H, Hanslianová M, Chaloupková Z, Hromaníková M, Pavlovsky Z, Kempný T, Suchanek I, Brychta P. Fatal progression of multifocal infection of Aspergillus sp. and multi-resistant Pseudomonas aeruginosa in a patient with toxic epidermal necrolysis and renal cancer. Epidemiol Mikrobiol Imunol. 2017;66(3):128-132.

PŮVODNÍ PRÁCE

Fatal progression of multifocal infection of *Aspergillus sp.* and multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a patient with toxic epidermal necrolysis and renal cancer

Lipový B.[1,2], Řihová H.[1], Hanslianová M.[3], Chaloupková Z.[1,2], Hromaníková M.[1,2], Pavlovsky Z.[4], Kempný T.[1], Suchánek I.[1], Brychta P.[1,2]

[1]Department of Burns and Reconstructive Surgery, University Hospital Brno, Czech Republic
[2]Medical Faculty of Masaryk University Brno, Czech Republic
[3]Department of Clinical Microbiology, University Hospital Brno, Czech Republic
[4]Department of Pathology, University Hospital Brno, Czech Republic

ABSTRACT

Toxic epidermal necrolysis is an autoimmune disease expressed predominantly on the skin and mucous membranes. It is a serious bullous disease manifesting itself by induction of apoptosis in the dermo-epidermal junction. In most cases,it is attributable to the use of some drug. The basic approach to stopping progression of the disease is immunosuppression. Unfortunately, patients with such extensive loss of epidermis and defective mucosa are confronted by a variety of opportunistic, potentially pathogenic microorganisms. Unsurprisingly, infectious complications are today a predominant cause of death in patients thusly affected. Despite thorough review of the literature, we found no comprehensive case report concerning the development of multifocal *Aspergillus* infection in patients with this disease
.

KEYWORDS:

toxic epidermal necrolysis – *Pseudomonas aeruginosa* – *Aspergillus sp.*

SOUHRN

Lipový B., Řihová H., Hanslianová M., Hromaníková M., Pavlovský Z., Kempný T., Suchánek I., Brychta P.: Fatální průběh multifokální infekce *Aspergillus sp.* a multirezistentní *Pseudomonas aeruginosa* u pacienta s toxickou epidermální nekrolýzou a renální malignitou

Toxická epidermální nekrolýza je autoimunitní onemocnění, které se dominantně projevuje v oblasti kůže a sliznic. Jedná se o závažné bulózní onemocnění, při kterém dochází k indukci apoptózy v oblasti dermo-epidermální junkce. U většiny případů byla popsána souvislost s předchozím užitím nějakého farmaka. Základním přístupem k zastavení progrese onemocnění je imunosuprese. Bohužel pacienti s rozsáhlou ztrátou kožního krytu a mnohdy defektní sliznicí jsou konfrontováni s celou řadou často i oportunních potenciálně patogenních mikroorganismů. Nepřekvapí proto, že v dnešní době jsou infekční komplikace dominantní příčinou úmrtí u takto postižených pacientů. I přes důslednou literární revizi jsme nenašli ucelenou kazuistiku týkající se rozvoje multifokální aspergilové infekce u pacienta s tímto onemocněním.

KLÍČOVÁ SLOVA:

toxická epidermální nekrolýza – *Pseudomonas aeruginosa* – *Aspergillus* sp.

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 66, 2017, č. 3, s. 128–132

INTRODUCTION

Toxic epidermal necrolysis (TEN) was first described in 1956 by Scottish dermatologist Alan Lyell. It is a life--threatening, drug-induced toxoallergic reaction causing extensive skin and mucous exfoliation in the dermo-epidermal junction (induction of apoptosis). The condition is also complicated by systemic toxicity [1]. Toxic epidermal necrolysis syndrome is the most serious of the SCARS (Severe Cutaneous Adverse Reactions) group. Incidence in the population is very rare, and it ranges from 0.5–2 cases per million habitants per year. The disease is associated with a high mortality rate (30–50%) [2]. Unlike in the case of Stevens-Johnson syndrome (SJS), a minimume-xfoliation range of 30% of total body surface area (TBSA) must be present for diagnosis of TEN. An important clinical feature is the pseudo-Nikolsky sign, wherein slow pulling of the affected skin leads to its exfoliation. This is the immunological response to the presence of a foreign antigen [3]. In the case of TEN, an association with the start of using special drugs is often evident. It is not always easy to determine the causative agent. It is reported that in about 5% of patients no drug association can be detected [4]. Increasingly, the importance of a vi-

rus (HSV, HIV) or mycoplasma infection is mentioned in connection with the development of TEN [5].
Due to the nature of this disease, the basic therapeutic approaches include immunoparalysis, immunosuppression, or such other procedures as intravenous immunoglobulin or plasmapheresis. Consequently, therapy often leads to the development of infectious complications caused by opportunistic, potentially pathogenic microorganisms. It is therefore absolutely necessary to conduct precise microbiological surveillance and react promptly to the results. In our case report, we present that even constant microbiological monitoring and administration of targeted antimicrobial therapy do not always guarantee success. Despite regression of the local state, the patient developed combined multifocal infection caused by multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Aspergillus sp.* (the second was not detected until the autopsy, because the symptoms had been masked by pseudomonas infection).

CASE REPORT

A male patient who had been hospitalized primarily in the internal department for acute coronary syndrome and bilateral cardiac decompensation was admitted to the Department of Burns and Reconstructive Surgery at University Hospital Brno. Echocardiography detected diastolic dysfunction of the left ventricle with restrictive filling character and haemodynamically significant mitral regurgitation. The ejection fraction was estimated to be 30–40%. Angiography for peripheral arterial disease was performed on the patient, and in doing so a tumour was found on the lower pole of the right kidney (renal cell carcinoma of size 7 x 8 x 5.5cm). The urologist indicated nephrectomy. During hospitalization, the patient developed nosocomial bilateral bronchopneumonia. According to the results from microbiological surveillance of the respiratory tract andantibiotic sensitivity, amoxicillin/clavulanate therapy was indicated. Toxoallergic exanthema developed six days after the beginning of boosted aminopenicillin therapy. At that time, the patient was also medicated with nadroparin and omeprazole with amlodipine as part of chronic medication. A consulting dermatologist indicated therapy with corticosteroids (methylprednisolone in dose 125-0-80 mg) and expressed suspicion of the potential development of TEN. Despite the therapy, the disease progressed to 35% exfoliation of TBSA. The patient was transferred to our department seven days after the onset of symptoms. Upon admission, the patient was medicated with vancomycin in a dose of 500 mg/8 hours to identify gram-positive bacteria in the exfoliated areas. According to the results and clinical findings, the primary scoring severity of TEN (SCORTEN – SCORe of Toxic Epidermal Necrosis) was evaluated as 3 points [6]. Such score prognoses 35.3% mortality. One of the calculated risk factors for mortality was the presence of malignancy. Nephrectomy was indicated in the patient, although he had no oncological treatment other than surgical therapy.
Primary treatment was performed under general anaesthesia in the operating room, where the overall extent and localization of the infection was evaluated. The mucosa was primarily affected only in the conjunctiva and nofurther mucosal impairment was found. Photographic documentation from the primary treatment at the department is shown in Figure 1.

Figure 1. Extent of exfoliated surfaces on the ventral trunk

We increased the amount of corticosteroids (methylprednisolone at 125-80-80mg) to the patient. Alginate (Flaminal® Hydro) was applied topically to affected surfaces and the patient was re-dressed under general anaesthesia every two days. An antiseptic containing octenidine dihydrochloride was used for secondary cover. Despite the slow phase process, wounds progressively epithelized and were partially healed by the 22nd day of hospitalization. About 10% of TBSA continued to show deep defects due to the infection. The quality of the granulation tissue weakened due to the corticosteroid therapy. When taking dermo-epidermal graft we would create further skin defects in the donor sites. Moreover, with the disturbed granulation tissue it would be very difficult to heal the recipient site itself.
Despite balanced enteral and parenteral nutrition, this led to gradual deterioration of cachexia and the patient died on the 42nd day due to severe sepsis of multi-pathogen aetiology.

Microbiology

Gram-positive cocci (coagulase-negative *Staphylococcus*) and *Klebsiella pneumoniae*, which produced a broad spectrum beta-lactamase (Extended Spectrum Beta Lactamase = ESBL +) were isolated already upon primary microbiological surveillance of material from exfoliated surfaces obtained by semi-quantitative imprint method. At the same time, several potentially pathogenic microorganisms (*Morganella morganii* and *Escherichia coli*) were also isolated from primary examination of the urine. Only normal flora was isolated from the respiratory tract, and the blood culture was primarily sterile.
Coagulase-negative *Staphylococci* and *Klebsiella pneumoniae* producing ESBL from the exfoliated surfaces were repeatedly isolated during hospitalization. *Klebsiella pneumoniae* ESBL+ was detected in blood cultures after three weeks of hospitalization. Later, the state of the patient was complicated by pseudomonas infection of the surfaces (multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with proven sensitivity only to colistin and intermediate sensitivity to

Table 1. Compartments and detection of various pathogens during hospitalization

	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
Exfoliated surfaces	KLPN ESBL+ CNS	KLPN ESBL+	–	**PSAE-MDR** KLPN ESBL+
Bloodstream	–	–	KLPN ESBL+ CNS	**PSAE-MDR**
Lower respiratory tract	–	–	**PSAE-MDR** KLPN ESBL+	**PSAE-MDR**
Urinary system	MOMO ESCO CA	PRMI	**PSAE-MDR**	PRMI **PSAE-MDR**

(KLPN ESBL+ = *Klebsiella pneumoniae* producing ESBL, CNS = coagulase-negative*Staphylococcus,* MOMO = *Morganella morganii,* ESCO = *Escherichia coli,* CA = *Candida albicans,* PRMI = *Proteus mirabilis,* PSAE-MDR = multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa)*

amikacin), also with a response in blood cultures. This strain was also the originator of chorioretinitis, which developed on the 40th day of hospitalization (Fig. 2). Detection of potentially pathogenic microorganisms in different compartments and periods of hospitalization is reported in Table 1.

Throughout the hospitalization period, all biological material sent for culture was examined for the presence of bacterial pathogens as well as for the presence of yeasts and moulds. Except for the first examination at the beginning of hospitalization, when *Candida albicans* was isolated from the end of the excavated urinary

Figure 2. Chorioretinitis of the right eye of endogenous aetiology verified by ultrasonography and laboratory Originating from multi-resistant strain of *Pseudomonas aeruginosa.*

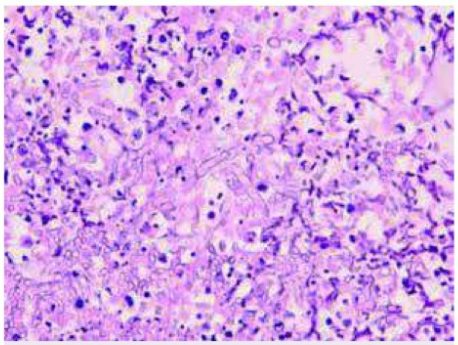


Figure 4 *Aspergillus* sp. in the right frontal lobe of the brain (haematoxylin-eosin staining, 800x magnification)

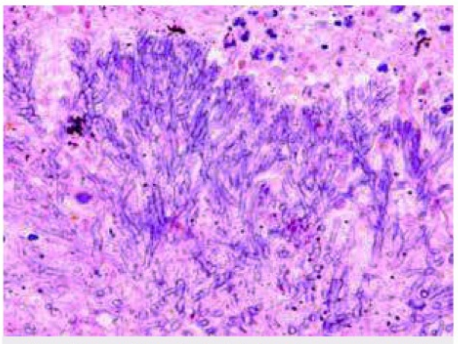


Figure 3 *Aspergillus* sp.in the right lung (haematoxylin-eosin staining, 800x magnification)

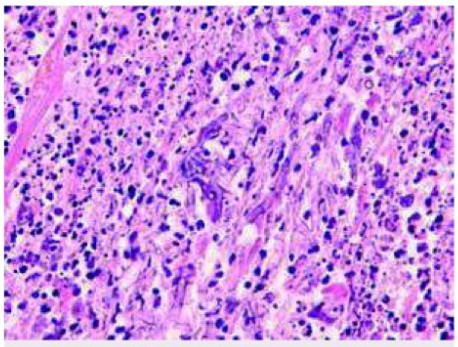


Figure 5 *Aspergillus* sp. in myocardium (haematoxylin-eosin staining, 800x magnification)

catheter, no yeasts or fungi were detected in any biological material.
At admission, vancomycin dosage was modified to 1 g/12 hours. For culture of *Klebsiella pneumoniae* ESBL+ from the exfoliated areas and *Morganella morganii* and *Escherichia coli* from the urinary system, meropenem at an initial dosage of 2 g/8 hours was also introduced for the patient. To isolate *Candida albicans* from the urinary system, the therapy was also supplemented with fluconazole at 400 mg/day. Administration of meropenem in the patient was extended to the third week of hospitalization because *Klebsiella pneumoniae* ESBL+ was also isolated from the lower respiratory tract and bloodstream. Due to cultures of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from various compartments, and because according to the antibiogram this pseudomonad is resistant to all available antibiotics except for colistin, colistin was introduced on the fourth week of hospitalization (2,000,000 IU/8 hours). In this period, *Proteus mirabilis* was also cultivated, but only from the permanent urinary catheter. This finding was resolved by replacing the catheter.

Histopathology
Metastatic renal cell carcinoma, bilateral pyelonephritis, and trachea-bronchitis were found during autopsy. The focus of abscessed mycotic bronchopneumonia was found in the upper lobe of the right lung (Fig. 3) and the focus of mycotic encephalitis in the right frontal lobe (Fig. 4). Mycotic myocarditis was also detected (Fig. 5). In all cases *Aspergillus* sp. was isolated.

DISCUSSION

In our case report, we present a rare case of a patient with a combination of malignancy and TEN. One would assume that patients with malignancy generally have a poorer prognosis. This is reflected also in the most versatile scoring scheme (SCORTEN) for patients with TEN, where the presence of any malignancy is burdened with a higher mortality rate.
Gravante et al. focused in their work on describing basic epidemiological data of patients with TEN and of TEN patients with a malignancy [7]. They compared 32 patients with histological confirmation of TEN, of which 9 patients were simultaneously diagnosed with a malignancy. Based on their results, the authors reached the interesting conclusion that patients with both TEN and malignancy were far more likely to develop infectious complications than were patients with TEN but without malignancy. Sepsis was identified in patients with TEN and malignancy in 77.7% of cases (7/9 patients), while in non-oncological patients it was identified in only 47.8% (11/23 patients). Similar results were obtained, however, when comparing isolations and targeted microbiological surveillance of exfoliated surfaces. Positive culture was recorded in 77.7% of oncological patients (7/9 patients) and in 74% of non-oncological patients (17/23 patients). Surprisingly, this fact was not reflected in the actual length of hospitalization or in mortality. The average length of hospitalization for oncological patients was 16.5 days and 2/9 patients died (22% mortality rate). In patients without malignancy, the average length of hospitalization was 16.8 days and 9/23 patients died (39% mortality rate).

A series of case statements describing the development of TEN in patients with breast cancer has been published. These detail the development of clinical symptoms of TEN induced by drugs targeted directly against tumours and supportive drugs. In their case report, Chia et al. described the development of TEN in a patient with breast cancer taking the non-steroid aromatase inhibitor letrozole [8]. Among supporting therapy drugs, anticonvulsants, which are used for protection in brain radiotherapy, are blamed in particular for the development of TEN. For example, Vincenzi et al. described precisely such a case when the patient took phenobarbital during radiotherapy of the brain and subsequently developed TEN [9]. Similar cases of severe bullous reaction were published at the turn of the millennium. Cockey et al. described the development of Stevens-Johnson syndrome (SJS) after radiotherapy in 1996, in which case the patient had developed SJS after taking phenytoin [10]. A similar case was documented by Eralp et al. in 2001 [11].
The literature has also described the development of SJS or TEN in patients treated for other types of malignancies. Ikeda et al. described a case in which SJS developed after administration of sorafenib for metastatic renal cell carcinoma [12]. Cases of TEN development in patients with non-small cell lung cancer after treatment with pemetrexed and cisplatin have also been reported, as have cases of TEN in patients with head and neck cancer or colon cancer after cetuximab therapy [13, 14, 15].
The presence of malignancy does not play an essential role in the context of mortality during the treatment period, mainly due to the short (about 2–3 weeks) length of this phase and the fact that today infectious complications play the dominant role in the mortality of patients with TEN. This assertion is supported by several factors. The first very important factor is the actual clinical manifestation – the development of skin (sometimes mucosal) exfoliations in various sizes. Even though there is a cutaneous "de-attachment" of the dermo-epidermal junction, and therefore the surface has the potential of complete spontaneous re-epithelialization, a merely local infection in exfoliated surfaces may deepen the defect itself and can stop the optimum phase process of wound healing. The only option then is to solve the definitive closure of the defect surgically, thus by auto-transplantation with skin grafts. This conversion further extends hospitalization and the increasing risk of developing infectious complications also raises the risk of mortality. Another important factor causing dramatic increase in the development of infectious complications in patients with TEN stems from immunosuppressive therapy. The most common potentially pathogenic microorganisms which play an important role in the development of infectious complications are Gram-positive bacteria (*Staphylococcus* sp., *Enterococcus* sp.) and particularly Gram-negative bacilli (e.g., *Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter cloacae, Acinetobacter baumannii, Klebsiella pneumoniae*). Due to the nature of the patient and the disease, it is not surprising that yeasts, moulds and other opportunistic infectious agents also play a significant role in the development of infectious complications.
As already mentioned, infectious complications in patients with TEN are a frequent cause of mortality or lead to prolongation of hospitalization. Lee et al. describe a case of severe pneumonia caused by *Pneumocystis jiro-*

veci, *parainfluenza virus type 3*, *cytomegalovirus* and *Aspergillus fumigatus* in a patient with SJS/TEN overlap syndrome [16]. This syndrome differs from TEN particularly in the range of the lesions (in TEN 30% TBSA, in overlap TEN 10–30% TBSA). In this patient, clinical symptoms developed after using allopurinol. The patient was treated with a combination of intravenous immunoglobulin and corticosteroids. The authors suggest that the main reason for the development of pneumonia caused by some potentially pathogenic microorganisms may have been due in particular to corticosteroid use.

On the other hand, cases of TEN's development in patients with aspergillosis have also been described. Curigliano et al. reported cases wherein TEN developed during voriconazole therapy for pulmonary aspergillosis in patients after receiving chemotherapy.[17]

In the presented patient, a total of 166 samples from various compartments were sent for microbiological examination during the hospitalization period. In all materials, culture was made also for yeasts and moulds. With the exception of a positive urinary culture from the first week of hospitalization, no micromycete was isolated from the patient. Nevertheless, there still was increased risk for the patient to develop a micromycetal infection (corticotherapy, antibiotic therapy). This risk, however, was not as high as, for example, in haemato-oncological patients or patients with sarcoidosis. In patients with TEN, we have always relied therefore on cultivation/microscopic examination in cases of micromycetal infections and used serological diagnostics only for monitoring the therapeutic effect of antimycotics. Due to the development of nosocomial pneumonia, for which the multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* was repeatedly isolated, the symptoms of aspergillus infection were masked. Considering that no adequate response to the administered anti-infectives occurred and no fibrous fungus was detected by culture from any material, the dominant clinical symptomatology was assigned to the pseudomonads.

CONCLUSION

In our case report, we present a unique case of multi-pathogen and multifocal infection in a patient with renal cancer and TEN. Due to the character of the disease and the therapeutic approach, patients with TEN are at substantial risk of infection complications, including infections caused by micromycetes. Although there exists no general recommendation concerning serological diagnostics (detection of fungal antigens) in patients with TEN, the presented casuistry demonstrates that relying on only culture/microscopic detection can fail. Introduction of complementary serological diagnostics in patients with TEN is absolutely essential for precise microbiological surveillance.

REFERENCES

1. Paul C, Wolkenstein P, Adle H, et al. Apoptosis as a mechanism of keratinocyte death in toxic epidermal necrolysis. *Br J Dermatol*, 1996;134(4): 710–714.
2. Harry T, French LE. Toxic epidermal necrolysis and Steven-Johnson syndrome. *Orphanet J Rare Dis*, 2010;5: 39–50.
3. Chantaphakul H, Sanon T, Klaewsongkram J. Clinical characteristics and treatment outcome of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Exp Ther Med*, 2015;10(2): 519–524.
5. Schwartz RA, McDonough PH, Lee BW. Toxic epidermal necrolysis: Part I. Introduction, history, classification, clinical features, systemic manifestations, etiology, and immunopathogenesis. *J Am Acad Dermatol*, 2013;69(2): 173.e1–13; quiz 185–186.
5. Knight L, Muloiwa R, Dlamini S, et al. Factors associated with increased mortality in a predominantly HIV infected population with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *PLoS One*, 2014;9(4): e93543. doi: 10.1371 / journal.pone.0093543.
6. Bastuji Garin S, Fouchard N, Bertocchi M, et al. SCORTEN: and severity-of-illness score for toxic epidermal necrolysis. *J Invest Dermatol*, 2000;115(2): 149–153.
7. Gravano G, Delogu D, Marianetti M, et al. Toxic epidermal necrolysis and Steven-Johnson syndrome in oncologic patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2007;11(4): 269–274.
8. Chia WK, Lim YL, Greaves MW, et al. Toxic epidermal necrolysis in patient with breast cancer receiving letrozole. *Lancet Oncol*, 2006;7(2): 184–185.
9. Vincenzi B, Santini D, Grilli C, et al. Complications of therapy in cancer patients: Case 3. Toxic epidermal necrolysis induced by oral phenobarbital and whole-brain radiotherapy in a breast cancer patient. *J Clin Oncol*, 2004;22(22): 4649–4651.
10. Cockey GH, Amann ST, Reents SB, et al. Stevens-Johnson syndrome resulting from whole-brain radiation and phenytoin. *Am J Clin Oncol*, 1996;19(1): 32–34.
11. Eralp Y, Aydiner A, Taş F, et al. Stevens-Johnson syndrome in a patient receiving anticonvulsant therapy during cranial irradiation. *Am J Clin Oncol*, 2001;24(4): 347–350.
12. Ikeda M, Fujita T, Amoh Y, et al. Stevens-Johnson syndrome induced by cell sorafenib for metastatic renal carcinoma. *Urol Int*, 2013; 91(4): 482–483. doi: 10.1159 / 000351918th.
13. Then C, von Einem JC, Muller D, et al. Toxic epidermal necrolysis after pemetrexed cisplatin for and non-small cell lung cancer in a patient with sharp syndrome. *Oncology*, 2012;35(12): 783–786. doi: 10.1159 / 000345109th.
14. Lee SS, Chu PY. Toxic epidermal necrolysis caused by cetuximab plus minocycline in head and neck cancer. *Am J Otolaryngol*, 2010;31(4): 288–290. doi: 10.1016 / j.amjoto.2009.02.021
15. Lin WL, Lin WC, Yang JY, et al. Fatal toxic epidermal necrolysis associated with cetuximab in a patient with colon cancer. *J Clin Oncol*, 2008;26(16): 2779–2780. doi: 10.1200 / JCO.2007.15.7883.
16. Lee T, Bae YJ, Park SK, et al. Severe pneumonia caused by combined infection with Pneumocystis jiroveci, parainfluenza virus type 3, cytomegalovirus, and Aspergillus fumigatus in a patient with Stevens-Johnson syndrome / toxic epidermal necrolysis. *Acta Derm Venereol*, 2010;90(6): 625–629. doi: 10.2340 / 00015555-0977.
17. Curigliano G, Formica V, De Pas T, et al. Life threatening toxic epidermal necrolysis during voriconazole therapy for invasive aspergillosis after chemotherapy. *Ann Oncol*, 2006;17(7): 1174–1175.

Do redakce došlo dne 10. 9. 2016.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D.

Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: b.lipovy@seznam.cz