

**Untersuchung zur Verminderung des Protein C - Plasmaspiegels bei Patienten
mit schwerer Sepsis**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

vorgelegt von Inga Koch, geb. Schmidtke

aus Bad Soden a. Ts.

2007

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Privatdozent Dr. med. Stefan Schröder
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Th. Minor

Tag der Mündlichen Prüfung: 1.10.2007

Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Spezielle Intensivmedizin
der Universität Bonn

Direktor: Prof. Dr. med. A. Hoeft

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn
http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online elektronisch publiziert.

Meinem Mann Alexander Koch und meinem Sohn Maximilian Koch (+)

Inhaltsverzeichnis

1. Abkürzungsverzeichnis	7
2. Einleitung	
2.1. Definitionen und Pathophysiologie der Sepsis	10
2.2. Pathophysiologie der Gerinnung in der Sepsis	16
2.3. Protein C in der Sepsis	26
2.4. Fragestellung	30
3. Methodik	
3.1. Patientenauswahl und Einschlusskriterien	31
3.2. Probengewinnung und Analyse	33
3.3. Materialien und Geräte	35
3.4. Statistische Methoden	36
4. Ergebnisse	
4.1. Demographische Daten der untersuchten Patienten	37
4.2. Messergebnisse der untersuchten Gerinnungsparameter	40
4.2.1. Patienten mit systemischer Entzündungsreaktion	40
4.2.2. Patienten mit schwerer Sepsis	42
4.2.2.1. Überlebende Patienten	42
4.2.2.2. Verstorbene Patienten	43

5. Diskussion	
5.1. Gerinnung im Mittelpunkt der Pathophysiologie der Sepsis	45
5.2. Gerinnungsdiagnostische Laborparameter in der Sepsis	52
5.3. Protein C-Spiegel in der Sepsis	62
5.4. Einsatz von rekombinantem aktiviertem Protein C in der Sepsistherapie	66
6. Zusammenfassung	74
7. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen	75
8. Literaturverzeichnis	77
9. Danksagung	92

1. Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
ACCP	American College of Chest Physicians, Amerikanische Gesellschaft für Thoraxchirurgie
AIDS	Aquired immune deficiency syndrome, erworbenes Immundefizienzsyndrom
AK	Antikörper
APACHE II	Acute physiology and chronic health evaluation II Score, Score zur Bewertung der akuten Physiologie und der chronischen Gesundheit
aPC/APC	aktiviertes Protein C
aPTT	aktivierte Thromboplastinzeit
AT	Antithrombin III
CD-14	Endotoxinrezeptor auf Targetzellen für das LPS bei der gram-negativen Sepsis
DIC	Disseminated Intravasal Coagulation, disseminierte intravasale Gerinnung, Verbrauchskoagulopathie
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay, Enzym Immunoassay
EPCR	endothel protein c receptor, Endothel-Protein C-Rezeptor
F1, F2	Prothrombinfragmente 1 und 2
FgDP	Fibrinogenspaltprodukte
FiO ₂	Fraction of Inspired oxygen, inspiratorische Sauerstoff-Konzentration
GCS	Glasgow Coma Scale, Glasgow Komaskala zur Beurteilung des Schweregrades von Bewusstseinsstörungen
h	hour, Stunde
IE/kg/h	internationale Einheiten pro Kilogramm pro Stunde
IL-1	Interleukin 1
IL-6	Interleukin 6
INR	Internationale Ratio
kD	Kilodalton
KG/h	Kilogramm pro Stunde

LPS	Lipopolysaccharid
mg/dl	Milligramm pro Deziliter
mg/l	Milligramm pro Liter
mg/ml	Milligramm pro Milliliter
ml/d	Milliliter pro Tag
min	Minute
mm ³	Kubikmillimeter
mmHg	Millimeter Quecksilber
µg/kg	Mikrogramm pro Kilogramm
µg/kg/min	Mikrogramm pro Kilogramm pro Minute
µg/l	Mikrogramm pro Liter
µg/ml	Mikrogramm pro Milliliter
µl	Mikroliter
µmol/l	Mikromol pro Liter
NFκB	Nuclear Factor κB, Kernfaktor κB
ng/ml	Nanogramm pro Milliliter
NO	Stickoxid
PAI-1	Plasminogen-activator-inhibitor-1, Plasminogenaktivator-Inhibitor-1
PaO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PAR	Protease activated receptor, Protease-aktivierter Rezeptor
Pr. C	Protein C
Pr. S	Protein S
rhAPC	rekombinantes humanes aktiviertes Protein C, Drotrecogin - α
SAPS II	Simplified Acute Physiology Score II, vereinfachter SAPS II
SCCM	Society of Critical Care Medicine, Amerikanische Gesellschaft für Intensivmedizin
SIRS	Systemic inflammatory response syndrom, systemisches inflammatorisches Entzündungssyndrom
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment, Score zur Bewertung von Organausfällen
Tab.	Tabelle
TAFI	thrombin activatable fibrinolyse inhibitor, Thrombinaktivierbarer Fibrinolyseinhibitor

TAT	Thrombin-Antithrombin-Komplex
TF	tissue factor, Gewebsthromboplastin
TFPI	tissue factor pathway inhibitor, Gewebsthromboplastininhibitor
TM	Thrombomodulin
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
t-PA	tissue-Plasminogenaktivator, Gewebeplasminogenaktivator
TPZ	Thromboplastinzeit
vWF	von-Willebrand-Faktor
ZNS	zentrales Nervensystem

2. Einleitung

2.1. Definitionen und Pathophysiologie der Sepsis

Auf Schottmüller geht die erste infektiologisch-klinische Begriffsbestimmung der Sepsis aus dem Jahre 1914 zurück: „Eine Sepsis liegt dann vor, wenn sich innerhalb des Körpers ein Herd gebildet hat, von dem konstant oder periodisch pathogene Bakterien in den Blutkreislauf gelangen, und zwar derart, dass durch diese Invasion subjektive und objektive Krankheitserscheinungen ausgelöst werden (Schottmüller, 1914)“.

Spätere Sepsisdefinitionen unterscheiden sich in den Grundzügen nicht von dieser Definition. Nach dem heutigen Stand der Wissenschaft kann die Sepsis folgendermaßen definiert werden: „Sepsis ist die Gesamtheit der lebensbedrohlichen klinischen Krankheitserscheinungen und pathophysiologischen Veränderungen als Reaktion auf die Aktion pathogener Keime und ihrer Produkte, die aus einem Infektionsherd in den Blutstrom eindringen, die großen biologischen Kaskadensysteme und spezielle Zellsysteme aktivieren und die Bildung und Freisetzung humoraler und zellulärer Mediatoren auslösen (Werdan et al., 2005)“.

Bis Anfang der 90er Jahre gab es sehr viele verschiedene und teilweise sehr unscharfe Begriffsdefinitionen bezüglich Sepsis und verwandter Begriffe. Eine amerikanische Konsensuskonferenz aus Vertretern der Thoracic Society und der Society of Critical Care Medicine hat 1991 Vorschläge für Definitionen von Sepsis und SIRS (systemic inflammatory response syndrome) vorgelegt, die allgemein anerkannt wurden (Bone et al., 1992 (a), (b)).

Danach ist SIRS eine systemische Entzündungsreaktion, die eine Reaktion auf eine Vielzahl von schweren Eingriffen in den Organismus darstellt. Diese Reaktion manifestiert sich anhand zwei oder mehrerer der folgenden Kriterien: Temperatur $> 38^{\circ}\text{C}$ oder $< 36^{\circ}\text{C}$, Herzfrequenz $> 90/\text{min.}$, Atemfrequenz $> 20/\text{min.}$ oder $\text{PaCO}_2 < 32\text{mmHg}$, Leukozyten $> 12000/\text{mm}^3$ oder $< 4000/\text{mm}^3$ oder $> 10\%$ unreife Neutrophile.

Sepsis ist definiert als systemische Entzündungsreaktion auf eine mikrobiologische

Infektion. Diese systemische Infektion äußert sich ebenfalls in Form von zwei oder mehreren der oben genannten SIRS-Kriterien.

Am ehesten dem schweren, lebensbedrohlichen Krankheitsbild der Sepsis entspricht die Definition der Konsensuskonferenz der „severe sepsis“ (schwere Sepsis), die assoziiert ist mit Organdysfunktion, Hypoperfusion oder Hypotension.

Bezüglich der Inzidenz und Epidemiologie der Sepsis gab es bis Anfang des 21. Jahrhunderts nur lückenhafte Daten (Balk, 2000). Zwei Studien von Angus et al., 2001 und Martin et al., 2003 haben erstmals in größerem Umfang versucht, die Anzahl von Krankheitsfällen mit schwerer Sepsis, die jedes Jahr in den USA auftreten, zu quantifizieren. Die Festlegung der Diagnose erfolgte mittels des ICD 9 - Codes (Schwere Sepsis = Infektion kombiniert mit Organdysfunktion).

Die Arbeitsgruppe um Angus et al. von 2001 benutzte Daten aus 847 Krankenhäusern in sieben US-Staaten von 1995. Diese Daten wurden dann bezüglich Inzidenz, Kostenfaktor und „outcome“ auf die gesamte USA hochgerechnet. Diese Schätzung geht von jährlich etwa 750.000 Fällen einer schweren Sepsis aus, dies entspricht einer Inzidenz von 0,3 %. Die Inzidenz steigt in dieser epidemiologischen Studie altersabhängig um mehr als den Faktor 100 an (0,2 % bei Kindern bis zu 2,62 % bei den über 85-jährigen). Die Mortalität beträgt in dieser Studie 28,6 % (215.000 Todesfälle/Jahr). Diese steigt ebenfalls mit zunehmendem Alter an - von 10 % bei Kindern auf 38,4 % bei den über 85-jährigen. Ein wichtiger Aspekt dieser Studie ist, dass sie prognostiziert, dass die Inzidenz der Sepsis jedes Jahr um 1,5 % steigen soll. Das Krankheitsbild der „schweren Sepsis“ hat sehr hohe Kosten in der Pflege und Therapie verursacht. Sie lagen im Durchschnitt bei 22.100 US Dollar/pro Fall, das macht jährlich insgesamt 16,7 Milliarden US Dollar.

Die Arbeitsgruppe um Martin et al. von 2003 analysierte das Auftreten der Sepsis anhand von repräsentativen Daten aller Akutkrankenhäuser in den USA von 1979 - 2000. Sie werteten 10.319.418 Fälle von Sepsis aus. Das waren 1,3 % aller Krankenhauseinweisungen. Diese Daten zeigten von 1979 bis 2000 einen Anstieg der Inzidenz von 164.000 Fälle/Jahr (82,7 Fälle/100.000 Einwohner) auf 660.000 Fälle/Jahr (240,4 Fälle/100.000 Einwohner). Das Erregerspektrum wandelte sich von gram-negativen Erregern zu vorherrschend gram-positiven Erregern. Die relative Mortalitätsrate sank von 27,8 % auf 17,9 %, aber die absolute Zahl aller Todesfälle stieg kontinuierlich an.

Damit gehört die Sepsis zu den häufigsten Todesursachen von Patienten auf Intensivstationen. Die schwere Sepsis hat eine Mortalitätsrate von 30 – 56 %, bei Multiorganversagen erreicht die Mortalität nahezu 90 % (Patel et al., 2003; Wheeler et al., 1999). Die unterschiedlichen Zusammensetzungen der Patientenkollektive einzelner Studien und unterschiedliche Sepsisdefinitionen führen zu dieser Diskrepanz der prozentualen Angaben zur Mortalitätsrate, die beim septischen Schock bis auf 90 % ansteigen kann (Brun-Buisson et al., 1996; Salvo et al., 1995; Vincent et al., 1995).

In den vergangenen Jahren stieg die Inzidenz der Sepsis kontinuierlich an (Centers of Disease Control, 1990). Über 50 % der Sepsisfälle sind Folge nosokomial erworbener Infektionen, ca. 25 % entstehen auf Intensivstationen. Zu den prädisponierenden Erkrankungen gehören Tumorerkrankungen (16 %), Diabetes mellitus (15 %), Nierenerkrankungen (13 %), Lebererkrankungen (10 %), Hämoblastosen (9 %) und Keime (29 %) (Martin et al., 2003). Prädisponierende Faktoren im Bereich der operativen Intensivmedizin sind darüber hinaus Polytraumen, Verbrennungen und große risikoreiche Operationen.

Die Verteilung der infektiösen Streuherde wurde in einer Studie mit 16 Zentren beurteilt (Reinhard et al., 1996). Das Ergebnis ist in Tab. 1 dargestellt.

Tab. 1. Verteilung der infektiösen Streuherde (Reinhard et al., 1996)

Infektiöser Streuherd	Prozentangabe
Respirationstrakt	39,3 %
Intraabdominaler Fokus/Pelvis	23,0 %
Harnwege	0,8 %
Haut/Wunden	10,7 %
Fremdkörper/Katheter	1,6 %
Endokarditis	2,5 %
Zerebrospinalflüssigkeit	2,5 %
Andere	4,1 %

Die Senkung der Mortalitätsrate und der Morbidität steht damit heute noch immer im Mittelpunkt des Interesses. In den USA steht der Tod durch Sepsis an 11. Stelle der

Mortalitätsstatistik. Die Zahlen nehmen aufgrund der zunehmend älteren und multimorbiden Patienten zu. Eine wichtige Rolle nimmt die Verbesserung der intensivmedizinischen Betreuung in den letzten 20 – 30 Jahren ein.

Die verschiedenen Untersuchungen zur Pathophysiologie zeigen die Komplexität der Sepsis auf. Der septische Prozess besteht aus fünf Grundpfeilern: 1. Infektionsherd oder die Infektionsquelle (septischer Fokus), 2. Invasion pathogener Keime, 3. Bildung und Aktivierung von Mediatoren, 4. Zellschädigung, 5. Multiorgandysfunktion/Multiorganversagen. Ausgehend von einem Fokus, z.B. Wunde, Katheter, Lunge, Niere oder Abdomen, kommt es zur Invasion pathogener Keime (Bakteriämie) und Toxine aus der Bakterienzellwand mit lokaler Manifestation und ggf. systemischer Ausbreitung (Septikämie). Untersuchungen haben gezeigt, dass der Krankheitsverlauf der Sepsis nicht primär durch die Art, Anzahl, Pathogenität und Virulenz der Erreger, die zu einer Allgemeininfektion führen, sondern v.a. auch durch das Ausmaß und den Ablauf der Reaktion des Immunsystems auf die auslösende Noxe bestimmt wird. Denn eine Infektion, bzw. eine Gewebetrauma löst eine lokale Immunantwort aus. Dies ist primär ein erwünschter Teil der Abwehrreaktion des Körpers bei der Wundheilung. Bei manchen Patienten kann es allerdings zu einer unkontrollierten, überschießenden Ausbreitung des lokalen Immunprozesses kommen. Die Abwehrreaktion richtet sich dann nicht mehr nur gegen die pathogenen Keime und Noxen, sondern auch autoaggressiv gegen körpereigene Zellsysteme und ganze Organsysteme.

Epidemiologisch waren in der Zeit von 1970 bis 1980 gram-negative Bakterien die Hauptursache der Sepsis. Interessanterweise gewannen die gram-positiven Erreger die Oberhand (Martin et al., 2003). Im gleichen Zeitraum nahmen die nachgewiesenen Pilzinfektionen um über 200 % zu (Riedemann et al., 2004). Mittlerweile werden gram-positive Bakterien (34 % insgesamt, *Staphylococcus aureus* mit 12 % an erster Stelle, 8 % Enterokokken, 4 % Pneumokokken) und gram-negative Bakterien (42 % insgesamt, Enterobacteriaceae mit 29 % an erster Stelle, 13 % *E. coli*, 8 % *Pseudomonas aeruginosa*) zu etwa gleichen Anteilen bei einer Sepsis nachgewiesen. Viren, Pilze und Parasiten sind nur zu geringen Teilen Auslöser einer Sepsis. Sie spielen vor allem bei immunkompromitierten Patienten (HIV positiven Patienten, Chemotherapie-Patienten etc.) eine Rolle (Bochud et al., 2001).

Bei der gram-positiven Sepsis bindet das Peptidoglykan aus der Bakterienzellwand an membranständiges CD-14 und aktiviert immunkompetente Zellen, die finale Mediatoren, z.B. Arachidonsäuremetaboliten der Cyclooxygenase und Lipooxygenase, Proteasen, Komplement-

faktoren, Sauerstoffradikale oder Stickstoffmonoxid (NO) freisetzen. Sie binden an lösliche oder membrangebundene Zytokinrezeptoren, die sich in der Zielzelle befinden. Dort kommt es zur Transkription proinflammatorischer Zytokine, Chemokine, inflammatorischer Enzyme, Rezeptoren, Akutphaseproteine und Expression von Adhäsionsmolekülen durch Bindung des nuklearen Faktors κ B (NF κ B) an die Promotorregion der jeweiligen Genloci.

Bei der gram-negativen Sepsis bindet das Lipopolysaccharid (LPS, Endotoxin gram-negativer Bakterien) an membranständige Endotoxinrezeptoren (CD-14) der Targetzellen (z.B. Makrophagen) und führt damit zur Zytokinexpression (TNF- α , IL-1, IL-6). LPS kann auch direkt an die Endothelzelle binden und deren Funktion beeinflussen (Werdan et al., 2005). Die Endothelzelle produziert vasoaktive Substanzen, setzt sie frei und exprimiert pro- und antiapoptotische Gene. Aufgrund ihrer Beteiligung am Gerinnungs- und Fibrinolyse-System stellt die Endothelzelle den wichtigen Regulator der Hämostase dar. Durch mediatorbedingte Verletzung der Endothelzelloberfläche wird die Gerinnung initiiert und über mehrere Zwischenstufen entsteht Thrombin und schließlich Fibrin, welches polymerisiert. Es bilden sich Fibringerinnsel. Dadurch werden die endogenen Antikoagulantien Antithrombin III, Protein C und Protein S verbraucht. Das Gleichgewicht der Gerinnung wird zugunsten eines Überwiegens der prokoagulatorischen Aktivität gestört. Dies ist entscheidend für die Entwicklung einer Kapillarobstruktion durch Mikrothromben und im Verlauf kommt es gegebenenfalls zu einer Verbrauchskoagulopathie (disseminierte intravasale Gerinnung, DIC) (Jacobi, 2002; Knoebl, 2002; Weigand et al., 2003).

Ebenfalls ausgelöst durch Mediatoren kommt es zur Aktivierung des humoralen Kaskadensystems und weiterer Entzündungszellen, Thrombozyten und Endothelzellen. Dadurch kommt es zu einer Ausschüttung von Bradykinin, Histamin, Eikosanoiden (Prostaglandine und Thromboxane) etc.. Diese systemische Entzündungsreaktion führt unter anderem auch zum Kapillarleck, wobei proinflammatorische Zytokine, plättchenaktivierender Faktor und andere Mediatoren ursächlich beteiligt sind (Riess, 1998).

Die Permeabilitätsstörung im Sinne eines Kapillarlecks aufgrund der Endotheldysfunktion zum einen und die Störung der Mikro- und Makrozirkulation zum anderen können zur Organdysfunktion und im Rahmen eines Circulus Vitiosus zum Organversagen und Tod des Patienten führen (Abb. 1).

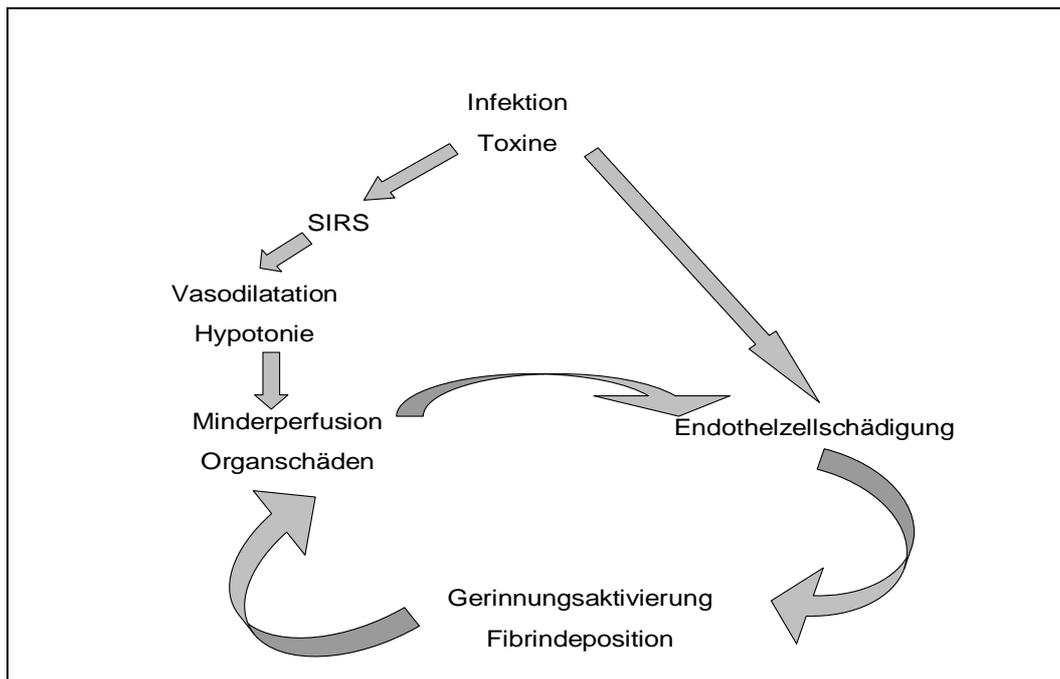
Man geht heute davon aus, dass eine solche generelle Entzündungsreaktion nicht nur durch infektiöse Stimuli, sondern auch durch nichtinfektiöse Stimuli (Traumata, Verbrennungen, Intoxikationen etc.) getriggert werden kann.

Es konnte gezeigt werden, dass unabhängig vom auslösenden Moment bestimmte Prozesse der Mediatorenausschüttung und Aktivierung von Kaskadensystemen immer vergleichbar ablaufen.

Da allerdings eine infektiöse Ursache einer Sepsis zu anderen therapeutischen Ansätzen führt als eine nichtinfektiöse Ursache, ist es aus klinischer Sicht weiterhin sinnvoll, eine Unterscheidung zwischen dem infektiös ausgelösten Krankheitsbild und dem nichtinfektiös getriggerten Krankheitsbild zu machen.

Abb. 1. Circulus vitiosus bei Infektionen, Sepsis und Multiorganversagen

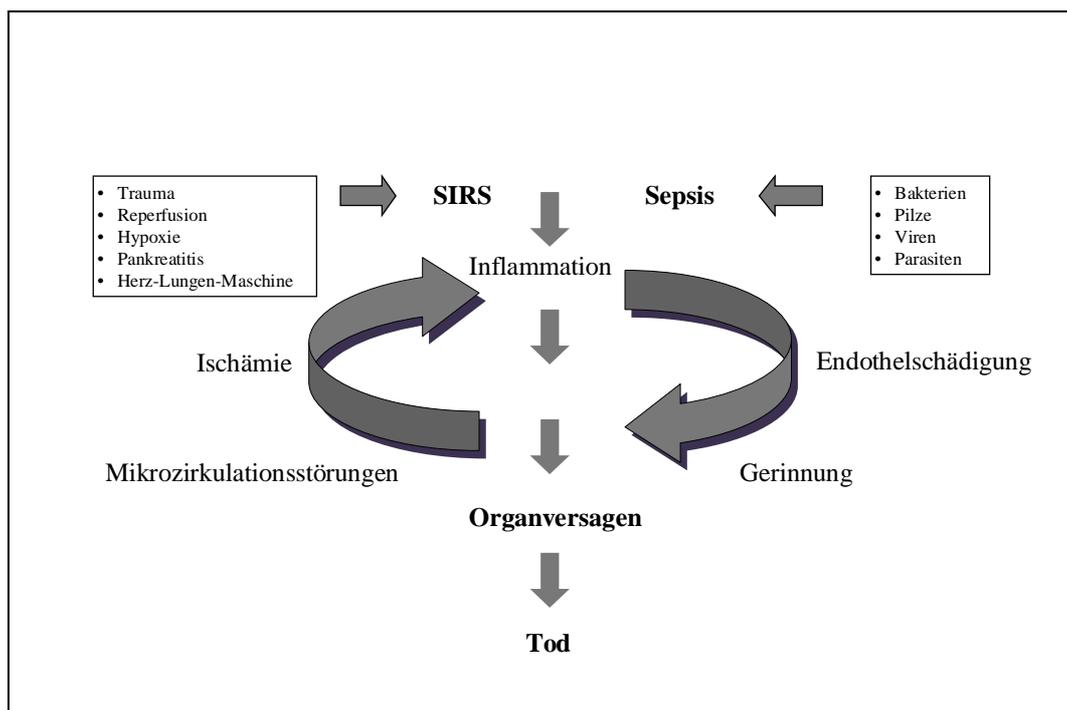
(Knöbl, 2002)



2.2. Pathophysiologie der Gerinnung in der Sepsis

Bei entzündlichen Prozessen – wie einer systemischen Entzündungsreaktion (SIRS) oder einer Sepsis – kommt es immer auch zu einer Aktivierung der Gerinnung (Abb.2). Die Sepsis stellt die häufigste Ursache einer disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) dar, umgekehrt stellt die DIC eine häufige Komplikation der Sepsis dar und ist für deren weiteren Krankheitsverlauf von prognostischer Bedeutung (Asakura et al., 2001). Normalerweise hält der Körper ein Gleichgewicht zwischen Gerinnungsaktivierung und Fibrinolyse aufrecht. In der Sepsis ist dieses Gleichgewicht gestört (Bone et al., 1997).

Abb. 2. Ätiopathogenese von SIRS, Sepsis und Multiorganversagen



Um die verschiedenen pathologischen Vorgänge der Gerinnung im Rahmen der Sepsis darzustellen, ist es wichtig darauf hinzuweisen, dass verschiedene Beobachtungen in den letzten Jahren zu einer grundlegenden Änderung des Verständnisses der Gerinnungsabläufe in vivo geführt haben. Es zeigte sich, dass man mit dem „alten“ Kaskadenmodell, in dem die

Gerinnungsproteine im Mittelpunkt stehen, sehr gut die Gerinnungstests, wie z.B. Prothrombinzeit (Quick-Test) und aktivierte Thromboplastinzeit (aPTT) darstellen kann. Andererseits erklärt es nur inadäquat den Ablauf der Gerinnung in vivo. Es zeigte sich, dass das bislang bekannte Kaskadenmodell der Gerinnung sich in einigen Schlüsselaspekten nicht mit klinischen Beobachtungen deckt (Hoffmann und Monroe, 2001; Roberts et al., 2006).

Wenn es in vivo wirklich separate intrinsische und extrinsische Gerinnungswege geben sollte, wie im Kaskadenmodell gezeigt, warum kann die Aktivierung von Faktor X durch den extrinsischen Weg (Faktor VIIa/Gewebsthromboplastin) (Gewebsthromboplastin = tissue factor = TF) einen Mangel an Faktor VIII oder Faktor IX bei Hämophilie-Patienten nicht kompensieren.

Ebenfalls muss die Aktivierung der Gerinnung durch einen intrinsischen Weg in vivo hinterfragt werden, da ein Mangel an Faktor XII nicht zu einer klinischen relevanten erhöhten Blutungstendenz führt.

Einige Dinge lassen sich durch das Kaskadenmodell gut erläutern, so z.B. die Tatsache, dass ein Mangel an Faktor VIII oder Faktor IX zu einer klinischen relevanten Hämophilie-Neigung führt. Ebenfalls der Mangel der Faktoren V, VII oder X führen durch das Kaskadenmodell gut erklärbar zu einer erhöhten Blutungsneigung.

Andererseits führt ein Faktor XI – Mangel viel weniger prognostizierbar zu einer erhöhten Blutungswahrscheinlichkeit als dies bei einem Faktor VIII - oder Faktor IX – Mangel der Fall ist.

Alle diese Überlegungen führten zu dem Schluss, dass es in vivo keinen separaten intrinsischen und extrinsischen Weg geben kann.

Die zentralen Argumente sind, 1. dass der Komplex aus Faktor VIIa und TF auch Faktor IX und Faktor X aktivieren kann, 2. dass Thrombin auf einer geladenen Oberfläche Faktor XI direkt aktivieren kann. Dies erklärt auch, warum ein Faktor XII - Mangel zu keinem relevanten Blutungsrisiko führt. Aber damit ist noch nicht geklärt, warum die direkte Aktivierung von Faktor X durch den Komplex aus Faktor VIIa und TF nicht den Mangel an Faktor IX oder Faktor VIII kompensieren kann. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass der Gewebsthromboplastininhibitor (TFPI = tissue factor pathway inhibitor) den Komplex aus Faktor VIIa/TF inhibiert, bevor genug Faktor X für die Gerinnung produziert werden kann.

Zentraler Punkt in diesem Konzept der Gerinnung ist der TF, der der primäre physiologische Aktivator der Gerinnung ist.

Bei dem Kaskadenmodell stehen ganz klar die Gerinnungsfaktoren im Vordergrund der Erläuterungen. Anhand der klinischen Beobachtungen und neuer Forschungsdaten zeigte sich,

dass verschiedene Zelloberflächen unterschiedliche Fähigkeiten auf den Gerinnungsprozess besitzen.

Diese verschiedenen Fähigkeiten resultieren aus einer Vielzahl von unterschiedlichen Komponenten, z.B. Proteinrezeptoren. Dadurch werden die verschiedenen Gerinnungskomponenten auf spezifische Zelloberflächen gebunden. Diese Verteilung auf die verschiedenen Zellkomponenten führt zu einer Regulation der Gerinnung.

Diese Entdeckungen führten zu einem Konzept, in dem nicht mehr die Gerinnungsfaktoren im Mittelpunkt stehen, sondern die einzelnen Zellgruppen, die in die Gerinnung *in vivo* eingreifen. Es nennt sich deshalb auch zell-basiertes Gerinnungsmodell.

Hoffmann et al., 2001 haben postuliert, dass Gerinnung *in vivo* nicht in Form einer Gerinnungskaskade abläuft, sondern in drei überlappenden Phasen. Diese drei Phasen gliedern sich in 1. Initiierungsphase, 2. Verstärkungsphase und 3. Vermehrungsphase.

Zu Beginn einer systemischen Entzündungsreaktion kommt es zur Freisetzung von verschiedenen Zytokinen wie z.B. Interleukin 1 (IL-1), Interleukin 6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor α (TNF- α). Dies führt zu einer Endothelzell- und Gerinnungsaktivierung. Dies führt zu einer Freisetzung von TF durch Monozyten im Blut und durch Endothelzellen. Gewebethromboplastin ist der primäre physiologische Initiator der Gerinnung. Er ist ein integrales Membranprotein. Er verbleibt auf der Zellmembran der Zelle, die ihn produziert hat. Er wird unter normalen Bedingungen in verschiedenen extravaskulären Zellen (wie z.B. Fibroblasten) gebildet. Eine Endothelläsion löst ebenfalls eine gesteigerte Freisetzung von Gewebethromboplastin aus. Ebenso kommt es durch Endothelläsionen zu einem Kontakt des Blutplasmas mit dem Gewebethromboplastin.

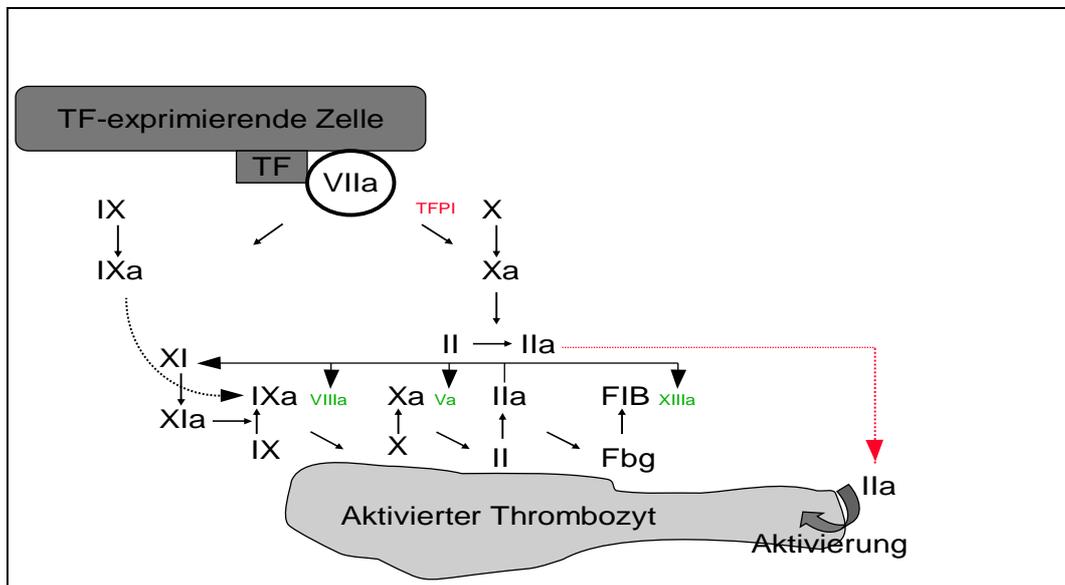
Wenn nun das Gewebethromboplastin mit dem Blutplasma in Verbindung kommt, bindet es Faktor VII und aktiviert diesen. Der Komplex aus Faktor VIIa (aktivierter Faktor VII) und Gewebethromboplastin aktiviert sowohl Faktor IX als auch Faktor X. Der aktivierte Faktor Xa kann sehr schnell durch TFPI oder Antithrombin III (AT) inaktiviert werden, wenn er die schützende Zelloberfläche verlässt. Der Anteil von Faktor Xa, der auf der Zelloberfläche verbleibt, kann mit seinem Kofaktor Faktor Va in der Initiierungsphase eine kleine Menge Thrombin aus Prothrombin herstellen. Dieses Thrombin spielt dann eine wichtige Rolle in der Aktivierung der Thrombozyten und von Faktor VIII während der Verstärkungsphase.

Diese kleine Menge Thrombin, die von den TF-präsentierenden Zellen produziert worden ist, verstärkt das initiale prokoagulatorische Signal durch verstärkte Thrombozytenadhäsion, komplette Aktivierung der Thrombozyten und Aktivierung der Faktoren V, VIII und XI.

Thrombin ist ein sehr potenter Thrombozytenaktivator. Es aktiviert diese über den Protease-aktivierenden Rezeptor (PAR). Im Rahmen dieser Thrombozytenaktivierung kommt es zu einer Ausschüttung von Faktor V auf die Zelloberfläche der Thrombozyten. Faktor V wird dann entweder durch Thrombin oder Faktor Xa aktiviert. Thrombin, das nicht an diesen Rezeptor bindet, kann andere Gerinnungsfaktoren aktivieren. So bindet der Komplex aus von-Willebrand-Faktor (vWF) und Faktor VIII an die Thrombozyten. Thrombin aktiviert Faktor VIII und löst diesen vom vWF. Faktor VIIIa bleibt an die Thrombozyten gebunden. Jetzt, nachdem die Thrombozyten aktiviert wurden und die Kofaktoren Faktor Va und Faktor VIIIa auf die Thrombozytenoberfläche gebunden sind, beginnt die Produktion von größeren Mengen Thrombin.

In der nun folgenden Vermehrungsphase exprimieren die Thrombozyten Bindungsstellen mit hoher Affinität für Faktor IXa, Xa und XI. Faktor IXa bildet einen Komplex mit seinem Kofaktor Faktor VIIIa, wenn er die Thrombozytenoberfläche erreicht. Faktor IXa kann im Gegensatz zu Faktor Xa problemlos von seiner Aktivierungsstelle, z.B. auf Endothelzellen bzw. Fibroblasten zu den Thrombozyten gelangen, da er nicht so schnell von AT III oder anderen Plasmaproteaseinhibitoren inaktiviert wird. Faktor XI bindet auch an die Thrombozyten, wird dort dann durch Thrombin aktiviert. Der Faktor XIa aktiviert dann wiederum auf der Thrombozytenoberfläche Faktor IX zu Faktor IXa. Der Komplex aus Faktor IXa/VIIIa aktiviert Faktor X. Faktor Xa bildet dann einen Komplex mit seinem Kofaktor Faktor Va. Dieser Komplex kann nun große Menge Thrombin produzieren. Thrombin führt dann zu einer Bildung von Fibrinpolymeren. Dies führt zu Fibrinablagerungen und damit zu Thrombenbildung (Abb. 3).

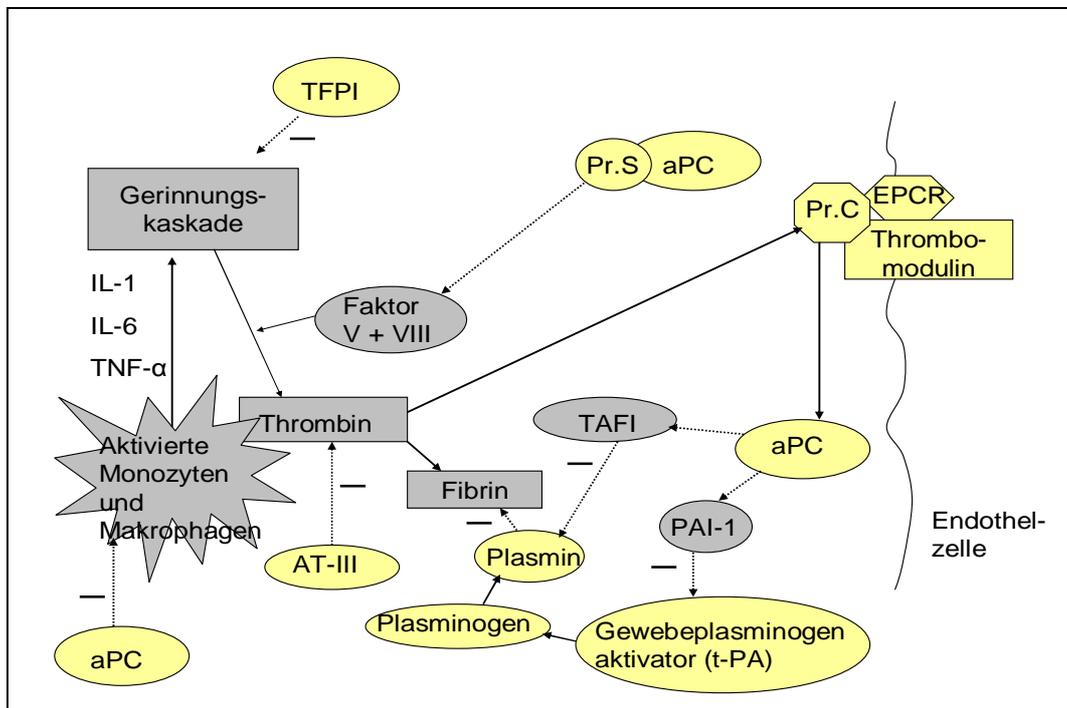
Abb. 3. Gerinnungsmodell auf Zellbasis



grün: Gerinnungsfaktoren als Kofaktoren; **rot:** inhibitorische Faktoren; **TF:** tissue factor (Gewebethromboplastin); **TFPI:** tissue factor pathway inhibitor, Gewebethromboplastininhibitor; **Fbg:** Fibrinogen; **FIB:** Fibrin

Um die genannten prokoagulatorischen Mechanismen der Gerinnung zu kontrollieren und einzudämmen, gibt es verschiedene antikoagulatorische Mechanismen. Dazu zählen einerseits nicht protease-abhängige Mechanismen wie Blutfluss und nicht-aktivierte Zelloberflächen, andererseits protease-abhängige Mechanismen. Einen Überblick über diese protease-abhängigen antikoagulatorischen Mechanismen zeigt die Abb. 4.

Abb. 4. Koagulatorische Faktoren und inhibitorische Faktoren der Gerinnung



Grau: koagulatorische Faktoren, **gelb:** inhibitorische Faktoren; **IL-1/6:** Interleukin 1/6; **Pr.S:** Protein S; **Pr.C:** Protein C; **aPC:** aktiviertes Protein C; **AT-III:** Antithrombin III; **EPCR:** endothelialer Protein C-Rezeptor; **PAI-1:** Plasminogenaktivator-Inhibitor; **TAFI:** aktivierbaren Fibrinolyseinhibitor; **TFPI:** tissue factor pathway inhibitor; (Satran et al., 2003)

Ein antikoagulatorischer Faktor ist Antithrombin III. Antithrombin III (AT) inhibiert die Gerinnung, indem es die Wirkung der Faktoren IIa, VIIa, Xa, IXa, Faktor XIIa und Plasmin einschränkt (Abb. 5).

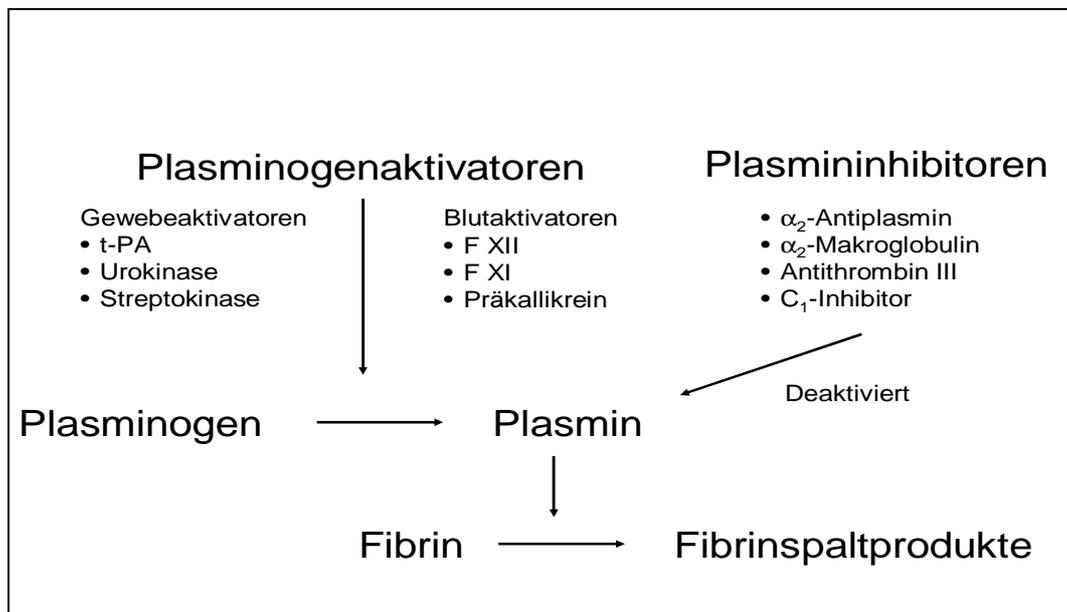
Thrombin bindet an den Endothelrezeptor Thrombomodulin und führt damit zur Aktivierung von Protein C (Pr.C) zu aktiviertem Protein C (aPC). APC führt dann zur Verminderung der Thrombinproduktion, indem es die Faktoren Va und VIIIa inaktiviert (Abb. 6). APC kann ebenfalls den aktivierbaren Fibrinolyseinhibitor (TAFI) inhibieren (Bajzar, 1996; bajzar, 2000; Rezaie, 2001). Damit wirkt es profibrinolytisch. Auch durch Inaktivierung von Plasminogenaktivator-Inhibitor-1 hat aPC profibrinolytische Funktion. APC wirkt auch antiinflammatorisch, indem es die Zytokinausschüttung von IL-1, IL-6 und TNF- α aus aktivierten Monozyten und Makrophagen vermindert (Cohen, 2002; Esmon und Taylor, 1991; Hotchkiss und Karl, 2003; Sturn et al., 2003).

TFPI inhibiert (Abb. 3 und 4) den durch TF vermittelten Beginn der Gerinnung, indem es mit dem TF und den Faktoren FVIIa und Faktor Xa eine quaternäre Struktur bildet. Dadurch können diese ihre Funktion nicht mehr wahrnehmen (Esmon, 2000 (a)).

Sollte es schon zur Bildung oder Ablagerung von Fibrin gekommen sein, greift das fibrinolytische System (Abb. 7) in die Gerinnung ein. Dieses System besteht in seiner Grundstruktur aus Plasminogen und kann durch verschiedene Faktoren zu Plasmin aktiviert werden. Plasmin führt dann zu einer Spaltung von Fibrin in Fibrinospaltprodukte.

Zu den Plasminaktivatoren gehören einerseits die Gewebeaktivatoren (Gewebeplasminogenaktivator = t-PA, Urokinase oder Streptokinase), andererseits die Blutaktivatoren (Faktor XII, Faktor XI und Präkallikrein). Plasmin wird deaktiviert durch Plasmininhibitoren, dazu gehören α_2 -Antiplasmin, α_2 -Makroglobulin, Antithrombin III und der C1-Inhibitor.

Abb. 7. Fibrinolytisches System



Im Rahmen einer Sepsis kommt es zu einer disseminierten intravaskulären Aktivierung der Gerinnung (DIG). Dadurch kommt es einerseits zu einem Verbrauch von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten mit Bildung von Mikrothromben in den Endstrombahnen verschiedener Organe (Niere, Lunge, Leber) mit entsprechender Organfunktionsstörung. Durch den hierbei

stattfindenden Verbrauch kann es zu einer hämorrhagischen Diathese kommen (Verbrauchskoagulopathie) (Abb. 8). Dieser Vorgang wird noch durch die sich einstellende „reaktive Fibrinolyse“ kompliziert, die den Abbau des intravasal entstandenen Fibrinniederschlags zum Ziel hat. Daraus wird auch häufig ein generalisierter Prozess. Es kommt in Folge dessen zu einer Verminderung der Faktoren V, VIII und Fibrinogen. Es kommt zu einer schweren Schädigung der Hämostase mit einer schweren hämorrhagischen Diathese. Das Vollbild der Verbrauchskoagulopathie läuft in 3 Stadien ab. Das erste Stadium ist gekennzeichnet durch ein Hyperkoagulabilität. Die Thrombozytenzahl und der Antithrombin-Spiegel fallen ab. Die aPTT verkürzt sich. TAT (Thrombin - Antithrombin - Komplex) und Prothrombin-Fragment 1 und 2 sind erhöht. Im Stadium II kommt es dann bei zunehmender Dekompensation der Hämostase zum Übergang von der Hyperkoagulabilität zu einer Hypokoagulabilität. Es kommt zu einer weiteren Abnahme der Thrombozyten, des Antithrombin-Spiegels, der Gerinnungsfaktoren und der Fibrinogens. Des Weiteren findet man hohe Fibrinmonomerkonzentrationen, TAT ist erhöht, aPTT und Quick-Wert sind verlängert. Das Stadium III zeigt sich dann durch einen totalen Zusammenbruch der Gerinnung und Entwicklung einer reaktiven Fibrinolyse. Es zeigt sich eine hochgradige Thrombozytopenie, ein starker Fibrinogenmangel und eine hohe Fibrinogenspaltproduktkonzentration (Abb. 9).

Abb.8. Pathophysiologie der Verbrauchskoagulopathie

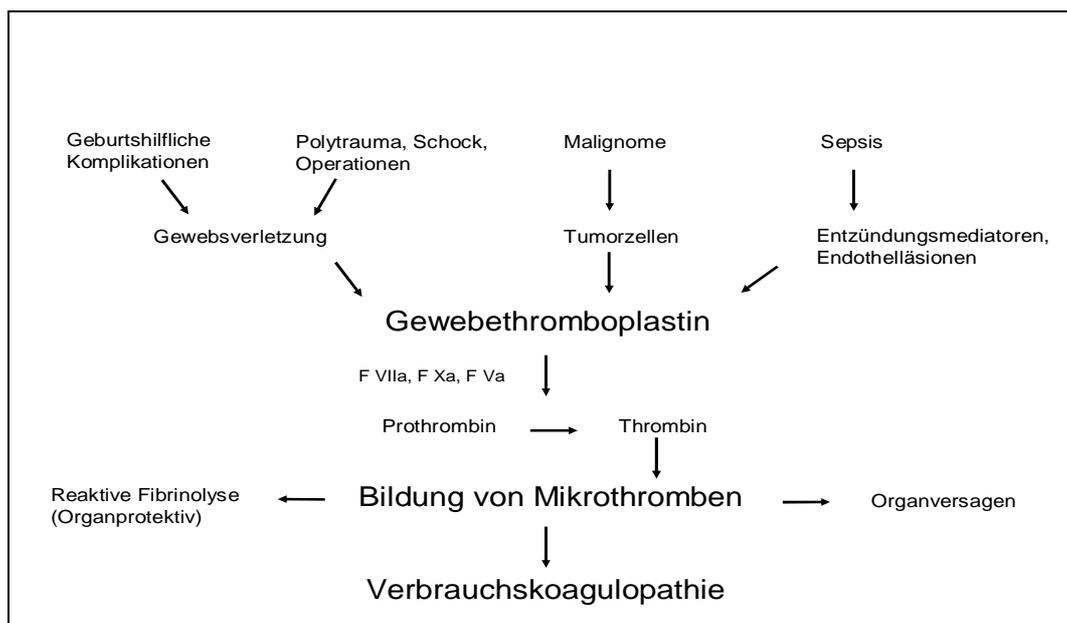
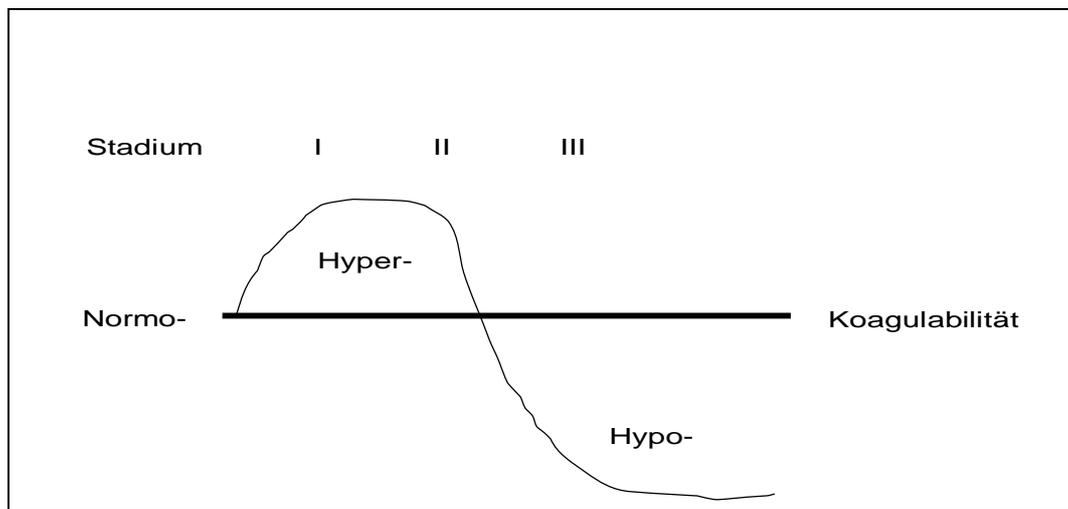


Abb. 9. Verbrauchskoagulopathie: Einteilung in klinische Stadien von I – III

2.3. Protein C in der Sepsis

Im Rahmen der Untersuchung von Gerinnung und Gerinnungsparametern kommt dem Protein C eine besondere Rolle zu. Protein C ist das Proenzym einer in der Leber Vitamin K abhängig synthetisierten Serinprotease. Es hat ein Molekulargewicht von ca. 60 kD (Thomas, 2005). Als inaktives Proenzym zirkuliert es im Plasma. Protein C gilt als einer der Hauptregulatoren der Gerinnung (Riess, 1998). Es ist neben Antithrombin III ein wichtiger Inhibitor der Gerinnung. Es besitzt antikoagulatorische, profibrinolytische und anti-inflammatorische Eigenschaften (Espana et al., 2005).

Die Aktivierung von Protein C erfolgt auf der intakten Endothelzelloberfläche durch die Bindung von Thrombin an Thrombomodulin. Dieser Prozess wird 20-fach verbessert durch die gleichzeitige Bindung an den - auf der Endothelzelloberfläche ebenfalls vorhandenen - Endothel - Protein C – Rezeptor (EPCR) (Aird, 2004). Dieser wird vorwiegend von Endothelzellen in großen Venen und Arterien exprimiert (Espana et al., 2001; Liaw et al., 2001).

Nach der Aktivierung durch Thrombin im Komplex mit den Endothelrezeptoren Thrombomodulin und Endothel - Protein C - Rezeptor entfaltet es seine inhibitorische Wirkung auf die plasmatische Gerinnung, indem es die Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa proteolytisch inaktiviert (Esmon, 2004; Jacobi, 2002). Dieser Vorgang wird verstärkt durch den Cofaktor Protein S. Protein S wird ebenfalls Vitamin K-abhängig in der Leber gebildet. Protein S muss nicht extra aktiviert werden.

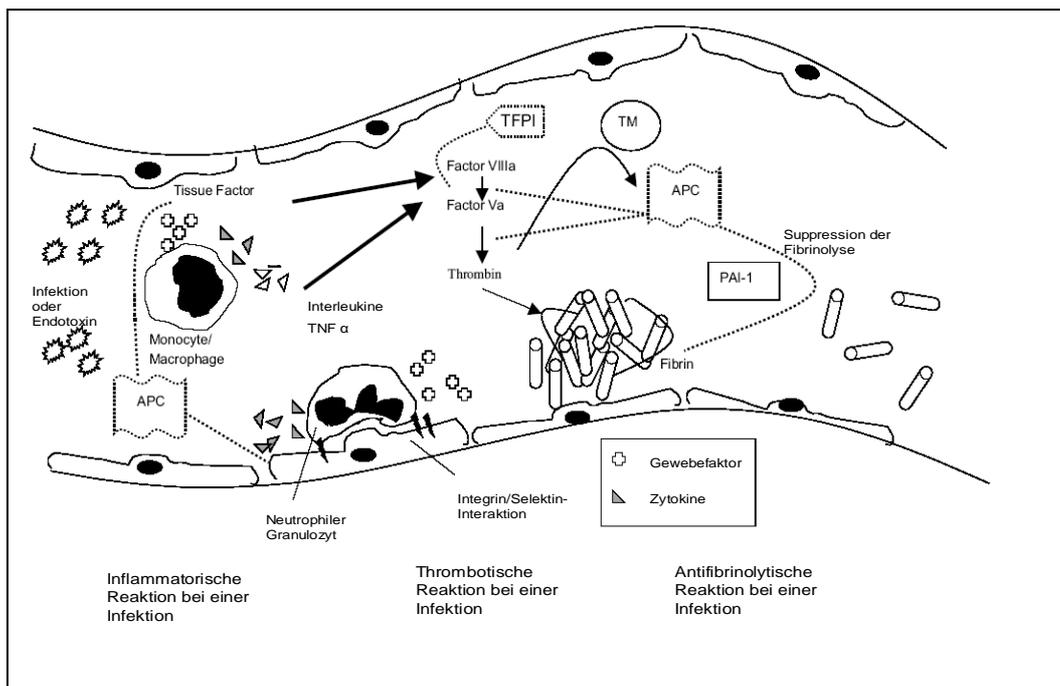
Durch die Bindung von Thrombin an Thrombomodulin verliert Thrombin seine prokoagulatorischen Eigenschaften. Das an Thrombomodulin gebundene Thrombin wirkt als Aktivator von Protein C, in dem vom Protein C-Zymogen ein 12 Aminosäuren langes Aktivierungspeptid abgespalten wird. Bei nicht ausreichend vorhandenem aktiviertem Protein C (aPC) beschleunigt sich der Gerinnungsprozess und es kann so zur Bildung von Thromben kommen.

APC unterstützt außerdem die Fibrinolyse durch Reduktion des Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 Komplexes (PAI-1) (D'Angelo et al., 1988; Bone, 1991; Bone, 1992; Brandtzaeg et al., 1989; Fourier et al., 1992; Heuer et al., 2002). Dadurch ist t-PA vermehrt aktiv und kann mehr Plasminogen in Plasmin umwandeln. Da bei einer systemischen Aktivierung der Gerinnung

ein deutlicher Überschuss von PAI-1 über t-PA besteht und die Fibrinolyse dadurch herunterreguliert ist, kommt dieser profibrinolytischen Wirkung eine protektive Bedeutung zu.

Außerdem zeichnet sich aPC durch antiinflammatorische Eigenschaften aus. Der EPCR scheint dabei anscheinend eine wichtige Rolle zu spielen (Aird, 2004). APC moduliert die Freisetzung von Zytokinen und vermindert die Leukozytenadhäsion am Endothel (Bernard, et al.; 2001). Die Freisetzung von Interleukin 1 (IL-1) und Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF- α) durch Monozyten und Makrophagen wird blockiert. Dadurch wird letztendlich die Ausbreitung der systemischen Entzündungsreaktion gehemmt (Bernard et al., 2001; Cohen, 2002; Faust et al., 2001; Esmon, 2000 (b); Iba, 2005; Joyce et al., 2001; Opal und Esmon, 2003) (Abb.10).

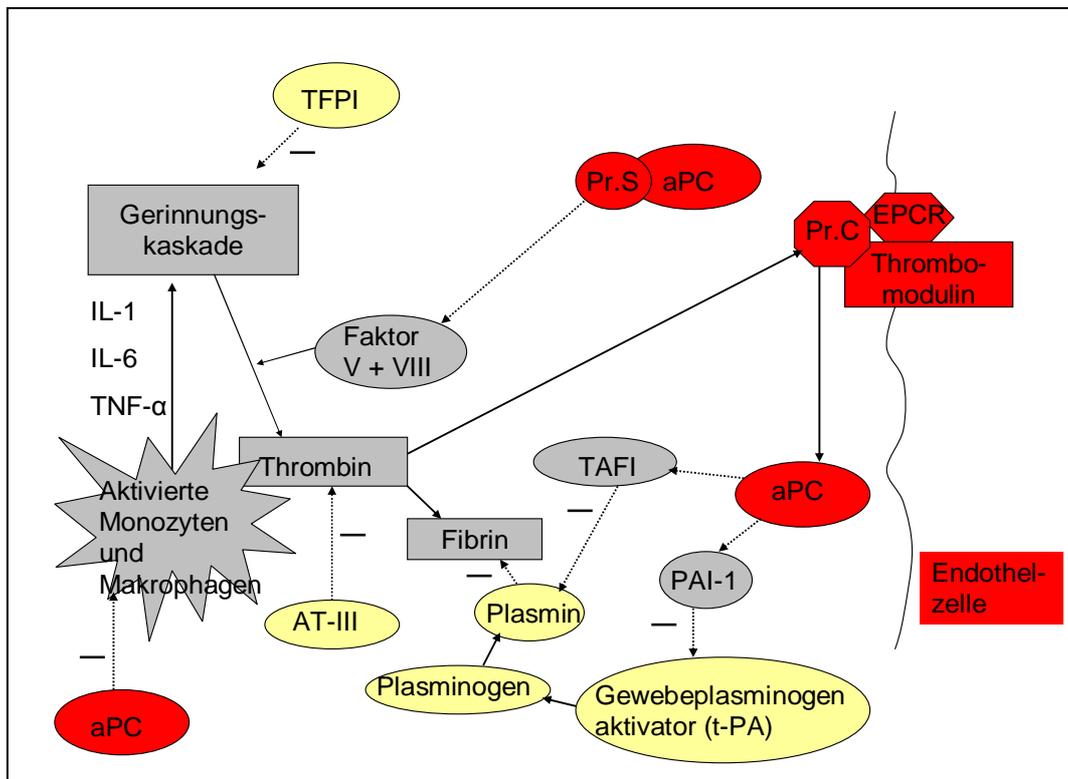
Abb. 10. Inflammatorische Antwort auf eine Infektion



Eine Infektion triggert eine inflammatorische Antwort, ausgelöst durch Zytokine (wie z.B. Interleukine und Tumor-Nekrose-Faktor α) von Monozyten und Neutrophilen. Diese inflammatorischen Mediatoren stimulieren die Freisetzung von Gewebethromboplastin (TF = tissue factor), der dann wiederum die Gerinnung aktiviert und damit zur Bildung von Thrombin und Fibrin führt. Die Fibrinolyse wird inhibiert durch Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI-1). Protein C wird aktiviert durch die Interaktion zwischen Thrombin und Thrombomodulin (TM). Aktiviertes Protein C hat antiinflammatorische Effekte, antithrombotische Effekte und profibrinolytische Effekte (Jacobi, 2002).

Die wichtigsten Angriffspunkte, bzw. Funktionen von aktiviertem Protein C im Rahmen einer Infektion sind in Abb. 11 anschaulich zusammengefasst. Es gibt bereits eine Reihe von Arbeiten zur Funktion von Protein C in der Sepsis (Bernard et al.; 2001 (a); Bone et al., 1992; Brandtzaeg et al., 1989; Dettenmeier et al., 2003; Faust et al., 2001; Satran et al., 2003).

Abb. 11. Rolle des aktivierten Protein C bei schwerer Sepsis und seine Beziehungen zu Mediatoren der Inflammation, Koagulation und Fibrinolyse



Grau: koagulatorische Faktoren, **gelb:** inhibitorische Faktoren; **rot:** Aktiviertes Protein C mit Cofaktor Protein S und Rezeptoren; **IL-1/6:** Interleukin 1/6; **Pr.S:** Protein S; **Pr.C:** Protein C; **aPC:** aktiviertes Protein C; **AT-III:** Antithrombin III; **EPCR:** endothelialer Protein C-Rezeptor; **PAI-1:** Plasminogenaktivator-Inhibitor; **TAFI:** aktivierbarer Fibrinolyseinhibitor; **TFPI:** tissue factor pathway inhibitor, Gewebsthromboplastininhibitor; (Satran et al., 2003)

Eine aPC – Resistenz von Faktor Va und Faktor VIIIa spielt dabei als Ausgangspunkt ggf. auch eine entscheidende Rolle. Es bewirkt ein erhöhtes Thromboserisiko. Als Ursache kann entweder ein Mangel von Protein C oder Protein S oder es liegt eine Inaktivierbarkeit dieser beiden Faktoren bedingt durch eine aPC-Resistenz (Faktor V-Leiden) vor. So führt z.B. ein hereditärer oder erworbene Mangel an Protein C und Protein S bei einer Sepsis zu einer Purpura fulminans (z.B. bei einer Meningokokkensepsis) (Faust, 2001). Dies sind, bedingt durch auftretende Mikrothrombosierungen von Hautgefäßen, symmetrische großflächige Hautblutungen mit zentraler Nekrose.

Es zeigte sich in Studienmodellen am Affen, dass aPC den Tod bei Affen, denen tödliche Dosen von *E. coli* injiziert worden sind, verhindern kann (Taylor et al., 1987). Da aPC zusätzlich zu einer verringerten Gerinnungsantwort auch mit einer Abnahme von Entzündungsmarkern wie z.B. Interleukin-1, Interleukin-6 und Tumornekrosefaktor- α führt, wurde postuliert, dass ein effizient funktionierendes Protein C-System möglicherweise nicht nur eine wichtige Rolle in der Gerinnungsregulation bei einer Sepsis spielt, sondern auch eine wichtige Rolle bei der körpereigenen Abwehr bei Sepsis spielt (Yan und Grinnell, 1993).

Es zeichnet sich ab, dass aPC mit seinen antikoagulatorischen, profibrinolytischen und antiinflammatorischen Fähigkeiten eine wichtige Rolle im Geschehen einer Sepsis spielt. Außerdem scheint Protein C ein wichtiger prognostischer Parameter für die Mortalität im Rahmen der Sepsis zu sein (Faust et al., 2001; Fijnvandraat et al., 1995; Fisher, 2000; Mesters et al., 2000; Yan, 2001).

2.4. Fragestellung

Ein erniedrigter Protein C- Spiegel in der schweren Sepsis scheint mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität assoziiert zu sein. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen soll geklärt werden, inwieweit sich Protein C - Plasmaspiegel bei Patienten mit einer systemischen Entzündungsreaktion oder einer schweren Sepsis im Verlauf unterscheiden. Es soll auch untersucht werden, ob Unterschiede der Protein C-Spiegel bei verstorbenen Patienten und überlebenden Patienten mit Sepsis bestehen. Des Weiteren sollen mögliche Ursachen für die verminderte Protein C - Expression in der schweren Sepsis diskutiert werden.

Dafür sollen die Protein C- Plasmaspiegel im Rahmen einer prospektiven Studie über die Dauer des gesamten Aufenthaltes auf der Intensivstation bei Patienten mit einer schweren Sepsis und Patienten mit einer systemischen Entzündungsreaktion bestimmt werden.

3. Methodik

3.1. Patientenauswahl und Einschlusskriterien

Die Untersuchung wurde von der Ethik-Kommission der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn gemäß dem Ethikvotum mit der laufenden Nummer 90/01 begutachtet und genehmigt. Der Antrag lautete „Untersuchung von Hämostasestörungen im Umfeld von systemischen Entzündungsreaktionen und Sepsis“. Vor dem Untersuchungsbeginn wurden die Patienten oder deren rechtliche Vertreter ausführlich mündlich und schriftlich informiert und die Zustimmung der Aufnahme in die Untersuchung schriftlich dokumentiert.

Es wurden Patienten nach großen chirurgischen Eingriffen von den operativen Intensivstationen der Klinik für Anästhesiologie in die Untersuchung eingeschlossen, die die Kriterien der Sepsis, schweren Sepsis bzw. systemischen Entzündungsreaktion (SIRS) gemäß den Kriterien der Konsensuskonferenz der Amerikanischen Gesellschaft für Thoraxchirurgie und Gesellschaft für Intensivmedizin von 1992 (ACCP/SCCM Consensus Conference, 1992) erfüllten (Bone et al., 1992).

Zur Beurteilung des Schweregrades der Erkrankung wurde zum Einschlusszeitpunkt in die Untersuchung der SAPS II (Simplified Acute Physiology Score II) bestimmt. Der SAPS II wurde von Le Gall und Mitarbeitern (1993) entwickelt, basierend auf einer europäisch-nordamerikanischen Multicenterstudie mit 13.000 Patienten aus 12 Ländern. Dieser Score wird innerhalb von 24 Stunden nach Aufnahme auf die Intensivstation erhoben. Es werden 17 Variablen berücksichtigt: Neben der Art der Aufnahme (internistisch, geplant oder ungeplant chirurgisch), zugrunde liegender Krankheit (AIDS, metastasierendes Carcinom, hämatologische maligne Erkrankung) und Alter gibt es 12 weitere Parameter, wie Temperatur, Harnstoff, Bilirubin, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ -Quotient, Bicarbonat, Urin, Herzfrequenz, Blutdruck, Leukozyten, Natrium, Kalium, Glasgow-Coma-Skala, die in die Berechnung des SAPS II einfließen. Je mehr die oben angeführten Parameter außerhalb der Referenzbereiche lagen, desto höher ist die zu vergebende

Punktzahl. Je höher der SAPS II, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit zu versterben (Gogos et al., 2003; Le Gall et al., 1993).

Zusätzlich wurde täglich während des gesamten Intensivaufenthaltes der SOFA-Score (Sequential Organ Failure Assessment-Score) zur Verlaufsbeurteilung der Schwere der Erkrankung erhoben. Der Sepsis Related Organ Failure Assessment-Score, entwickelt von der Europäischen Intensivmedizinischen Gesellschaft (Vincent et al., 1996), zieht die 6 Kriterien Atmung, Blutgerinnung, Leber, Kreislauffunktion, Zentralnervensystem (ZNS) und Niere zur Beurteilung heran. Es können je nach Schweregrad der Organdysfunktion jeweils zwischen 1 und 4 Punkten vergeben werden, so dass maximal 24 Punkte erreichbar sind. Die Glasgow Coma Scale (GCS) von Jennett und Tesdale (1974) für die Beurteilung des Schweregrads von Schädel-Hirn-Traumata wird hier zur Beschreibung des neurologischen Status verwendet. 3 Reaktionen müssen bewertet werden: Augen öffnen (spontan 4, auf Aufforderung 3, auf Schmerz 2, nicht 1 Punkt(e)), beste sprachliche Antwort (orientiert zur Zeit, Ort und Person 5, verwirrt 4, inadäquat 3, unverständliche Laute 2, keine Laute 1 Punkt(e)), beste motorische Reaktion (gezielt bei Aufforderung 6, gezielt bei Schmerzreiz 5, ungezielt bei Schmerzreiz 4, Beugemechanismen 3, Streckmechanismen 2, keine 1 Punkt(e)). Die höchste zu erreichende Punktzahl ist im Zusammenhang mit dem SOFA-Scores 15.

Der SOFA-Score wurde 1998 geringfügig modifiziert und umbenannt in „Sequential Organ Failure Assessment Score“, weil sich in Studien zeigte, dass er nicht spezifisch für das Krankheitsbild „Sepsis“ ist (Vincent et al., 1998). Für Normalwerte werden 0 Punkte vergeben und die GCS beinhaltet 15 erreichbare Punkte. Initial wurde der SOFA-Score zur Beurteilung der Morbidität verwendet. Basierend auf Daten aus Nordamerika und Europa konnte gezeigt werden, dass ebenfalls eine gute Korrelation zwischen dem Punktwert des SOFA-Score und der Mortalität besteht. (LeGall et al., 2003 und Hantke et al., 2000). Man kann so mit Hilfe des SOFA-Score eine Prognose für das Überleben der Patienten erstellen (Vincent et al., 1998) (Tab. 2).

Patienten mit anamnestisch bekannten Koagulopathien wurden ausgeschlossen. Die Patienten durften 24 Stunden vor den geplanten Gerinnungsanalysen keine Präparate zur Stabilisierung der Gerinnung erhalten haben.

Tab. 2. Bewertungskriterium für ein Multiorganversagen (The sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score) (Vincent et al., 1998)

	0	1	2	3	4
Atmung: PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	> 400	≤ 400	≤ 300	≤ 200 mit Beatmung	≤ 100 mit Beatmung
Blutgerinnung: Thrombozyten x 10 ³ /m ³	> 150	≤ 150	≤ 100	≤ 50	≤ 20
Leber: Bilirubin (mg/dl)/(μmol/l)	< 1.2 (< 20)	1.2-1.9 (20-32)	2.0-5.9 (33-101)	6.0-11.9 (102-204)	> 12.0 (> 204)
Kreislauffunktion : Katecholamindosierung (μg/kg/min)	keine	MAP < 70 mmHg	Dopamin ≤ 5 oder Dobutamin (jede Dosierung)	Dopamin > 5 oder Adrenalin ≤ 0.1 oder Noradrenalin ≤ 0.1	Dopamin > 15 oder Adrenalin > 0.1 oder Noradrenalin > 0.1
Zentrales Nervensystem: Glasgow Coma Scale	15	13-14	10-12	6-9	< 6
Niere: Kreatinin mg/dl (μmol/l) oder Urinmenge (ml/d)	< 1.2 (< 110) -	1.2-1.9 (< 110-170) -	2.0-3.4 (171-299) -	3.5-4.9 (300-440) oder < 500	> 5.0 (> 440) oder < 200

3.2. Probengewinnung und Analyse

Bei den Patienten sind ab dem Zeitpunkt der Diagnosestellung der schweren Sepsis bzw. dem Vorliegen einer systemischen Entzündungsreaktion bis zum Verlassen der Intensivstation zweimal wöchentlich venöses Blut entnommen worden. Es wurden Protein C, Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT), Faktor VII und das Gesamteiweiß bestimmt.

Die Analyse der Laborparameter erfolgte mittels etablierter und standardisierter Testverfahren nach den Vorgaben der Hersteller im Institut für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin der Universität Bonn.

Zur Bestimmung der Konzentration des Protein C-Antigen mittels Enzymimmunoassay (immunchemische Massenbestimmung) wurden 500 μl mit Citrat antikoaguliertem Plasma

benötigt. Das Blutplasma wurde spätestens 12 Stunden nach Blutentnahme aus Vollblut gewonnen. Die Proben wurden sofort nach Abnahme auf der ICU in das Institut für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin der Universität Bonn zur weiteren Aufbereitung und Analyse gebracht.

Der Test zur Analyse des Protein C-Antigen (chromogener Substrattest von Dade Behring, Schwalbach, Deutschland) verbindet ein herkömmliches ELISA-Verfahren, das auf einem Sandwich-Verfahren in zwei Reaktionsschritten basiert, mit einer anschließenden Fluoreszenzmessung. Der Festphasenrezeptor dient gleichzeitig als Festphase und Pipetiersystem. Die anderen Testreagenzien befinden sich gebrauchsfertig im Reagenzriegel. In der Pipettenspitze sind Antikörper gegen Protein C-Antigen gekoppelt. Im zweiten Schritt binden sich die Protein C-Antigene an den spezifischen Antikörper. Nach einem Waschschrift werden nun D-Dimer Antikörper (Antikörper gegen Fibrinogenspaltprodukte) mit einem Konjugat an das Antigen gekoppelt. Nach dieser Reaktion wird nun erneut gewaschen. Zuletzt wird der Antikörper-Antigen-Antikörper Komplex mit einem für das Konjugat spezifischen Substrat versetzt. Der dabei entstandene Farbstoff wird bei 450 nm gemessen. Der Referenzbereich liegt bei 70 – 127 %.

Zur Bestimmung des Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT) mussten ebenfalls 500 µl mit Citrat antikoaguliertem Plasma gewonnen werden. Das zur Analyse eingesetzte Plasma kann bei -40°C bis zu einem Jahr gelagert werden.

Der Thrombin-Antithrombin-III-Komplex (TAT) wurde in einem Enzymimmunoassay nach dem Sandwich-Prinzip bestimmt. Die unverdünnten Proben wurden in eine mit Antikörpern (AK) gegen Thrombin beschichtete Mikrotiterplatte pipettiert. Während der ersten Inkubation bindet sich das vorhandene TAT an die Antikörper gegen Thrombin. Nach dem Auswaschen werden in der zweiten Reaktion Peroxidase-konjugierte AK gegen Human-Antithrombin III an die freien Antithrombin III-Determinanten gebunden. Nach Inkubation und einem zweiten Waschschrift, bei dem die Überschüsse an Peroxidase-konjugierten AK herausgewaschen werden, werden die vorhandenen Komplexe durch ein chromogenes Substrat und Wasserstoffperoxid H₂O₂ angefärbt. Die Intensität des Farbstoffes ist proportional der Konzentration von TAT in der Probe. Die Normalwerte liegen bei 0,02 - 3,9 ng/ml.

Für die Faktor VII-Bestimmung (Prokonvertin) wurden 500 µl mit Citrat antikoaguliertem Plasma benötigt. Das Blutplasma muss spätestens 12 Stunden nach Blutentnahme aus Vollblut gewonnen werden. Das zur Analyse eingesetzte Plasma kann bei -20 °C für einen Zeitraum von

1 Woche gelagert werden. Ist eine längere Lagerung geplant, sollte dies bei $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ erfolgen. Proben, die mehr als einen Tag für den Transport benötigt haben, wurden ausgeschlossen.

Es wurden Modifikationen des Globaltests Quick herangezogen (Institut für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin der Universität Bonn, Bonn, Deutschland). Im Mangelplasma sind alle Faktoren, bis auf den zu bestimmenden Faktor VII, im Überschuss enthalten. Somit wird der Ablauf der Gerinnung nur über die Höhe des Faktor VII im Patientenplasma gesteuert. Das Faktor VII - Mangelplasma wird aus dem Tiefkühlschrank ($-40\text{ }^{\circ}\text{C}$) entnommen und bei $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Wasserbad für ca. 30 Minuten aufgetaut. Innovin (Dade) wird nach Vorschrift in 10 ml Aqua Dest Dispensette aufgelöst. Es werden $50\text{ }\mu\text{l}$ Michaelis Puffer mit $5\text{ }\mu\text{l}$ Patientenplasma vermischt. Zu diesem Gemisch wird $25\text{ }\mu\text{l}$ Faktor VII - Mangelplasma hinzugefügt. Dieses Gemisch wird dann bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 2 Minuten inkubiert. Zum Schluss wird $50\text{ }\mu\text{l}$ Innovin hinzugegeben. Der Referenzbereich liegt zwischen 50 % - 130 %.

Die Bestimmung des Gesamteiweißes erfolgte als Biuret-Reaktion (Dade Behring, Marburg, Deutschland).

3.3. Materialien und Geräte

Produkt	Firma	Stadt, Land
Labofuge 400 R	Heraeus Instruments	Hanau, Deutschland
Gefrierschrank GSN	Liebherr	Linz, Österreich
Tiefkälte Lagertruhe	Kryosafe	Hamburg, Deutschland
Amax C160	Sigma	Amelung, Deutschland
MRX-Reader	Dynatech Laboratories	Chantilly, USA
Enzygost TAT micro	Dade Behring	Marburg, Deutschland
Vidas	Bio-Merieux	Nürtingen, Deutschland
Microsoft Word 2000	Microsoft Deutschland	Unterschleißheim, Dt.
Excel 2000	Microsoft Deutschland	Unterschleißheim, Dt.

3.4. Statistische Methoden

Die demographischen Daten der Intensivpatienten wurden mittels deskriptiver Statistik als Median und Spannweite dargestellt. Die statistische Analyse erfolgte mit dem Kruskal-Wallis-Test.

Die Ergebnisse der Gerinnungsanalysen wurden innerhalb graphischer Darstellungen als Mittelwert und Standardfehler angegeben. Im Verlauf und Gruppenvergleich sind die Ergebnisse der Gerinnungsanalysen mittels zweifacher Varianzanalyse gefolgt von einem „post hoc“ Vergleich (Scheffé-Test) statistisch ausgewertet worden, um Gruppenunterschiede im zeitlichen Verlauf für die Protein C, TAT- und Faktor VII-Konzentrationen zu prüfen. Bei allen Tests wurde ein $p < 0,05$ als statistisch signifikant angesehen.

4. Ergebnisse

4.1. Demographische Daten der untersuchten Patienten

In die Untersuchung wurden 32 Patienten mit schwerer Sepsis und 10 Patienten mit einer systemischen Entzündungsreaktion nach großen chirurgischen Eingriffen eingeschlossen. Die erhobenen Daten werden in den Tabellen 3, 4 und 5 gezeigt.

Tab. 3. Daten der Intensivpatienten mit schwerer Sepsis und systemischer Entzündungsreaktion (SIRS)

	Sepsis Patienten (n = 32)	SIRS-Patienten (n = 10)	P-Wert
Alter (Jahre)	62,5 (20 – 79)	55,0 (28 – 72)	> 0,05
SAPS II	17,0 (10 – 31)	15,0 (8 – 26)	> 0,05
SOFA-Score	11,5 (7 – 18)	8,0 (4 – 14)	0,05
Aufenthaltsdauer (Tage)	18,5 (3 – 35)	13,0 (4 – 23)	0,03

Median (Spannweite). SAPS II, Simplified Acute Physiology Score II; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment

Das Alter der untersuchten Patienten mit Sepsis lag im Median bei 62,5 Jahren mit einer Spannweite von 20 bis 79 Jahren. Das Alter der untersuchten Patienten mit SIRS lag im Median bei 55,5 Jahren bei einer Spannweite von 28 bis 72 Jahren. Der Median des SAPS II lag bei den Patienten mit Sepsis bei 17,0 bei einer Spannweite von 10 - 31 Punkten. Der Median des SAPS II lag bei den Patienten mit SIRS bei 15,0 Punkten mit einer Spannweite von 8 bis 26 Punkten.

Der maximale SOFA-Score der Patienten mit schwerer Sepsis rangierte von 7 bis 18 Punkten bei einem Median von 11,5 Punkten. Bei den Patienten mit SIRS lag der SOFA-Score zwischen 4 bis 14 Punkten mit einem Median von 8 Punkten (Tab. 3).

Bei 13 Patienten war eine Peritonitis, bei 12 eine Pneumonie, bei 2 eine Urosepsis und bei 5 ein schweres Trauma ursächlich für die schwere Sepsis. Sechs Patienten mit systemischer Entzündungsreaktion wurden wegen eines Bauchaortenaneurysmas operiert. Ein Patient erhielt eine Gastrektomie und 3 weitere eine kolorektale Resektion (Tab. 4).

Tab. 4. Daten der Intensivpatienten aufgeschlüsselt nach Ursachen für Sepsis bzw. SIRS

Ursache	Patienten mit Sepsis	Patienten mit SIRS
Peritonitis	13	-
Pneumonie	12	-
Urosepsis	2	-
Trauma	5	-
Bauchaortenaneurysma	-	6
Gastrektomie	-	1
Kolorektale Resektion	-	3
Gesamt	$\sum n = 32$	$\sum n = 10$

Bei den Patienten mit schwerer Sepsis verstarben 13 Patienten im Verlauf ihres Aufenthaltes auf der Intensivstation. Alle Patienten mit systemischer Entzündungsreaktion konnten von der Intensivstation lebend entlassen werden. Es bestanden keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit schwerer Sepsis und Patienten mit systemischer Entzündungsreaktion hinsichtlich Alter, SAPS II und SOFA-Score. Die Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation war bei den Patienten mit schwerer Sepsis im Vergleich zu den Patienten mit systemischer Entzündungsreaktion signifikant länger (Tab.1). Im Durchschnitt lag die Aufenthaltsdauer bei den Patienten mit systemischer Entzündungsreaktion bei 13,0 Tagen, bei den Patienten mit Sepsis lag die durchschnittliche Aufenthaltsdauer bei 18,5 Tagen.

Verstorbene Patienten mit schwerer Sepsis hatten einen signifikant höheren SAPS II als Überlebende. Beim Alter, SOFA-Score und der Aufenthaltsdauer fanden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede (Tab.5).

Tab. 5. Daten der überlebenden und verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis

	Überlebende (n = 19)	Verstorbene (n = 13)	P -Wert
Alter (Jahre)	62 (20 – 79)	64 (20 – 75)	> 0,05
SAPS II	15 (10 – 30)	20 (12 –31)	0,04
SOFA-Score	10 (7 – 15)	12 (10 – 18)	> 0,05
Aufenthaltsdauer (Tage)	18 (3 –32)	20 (8 – 35)	> 0,05

Median (Spannweite). SAPS II, Simplified Acute Physiology Score II zum Einschlußzeitpunkt in die Untersuchung; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment.

4.2. Messergebnisse der untersuchten Gerinnungsparameter

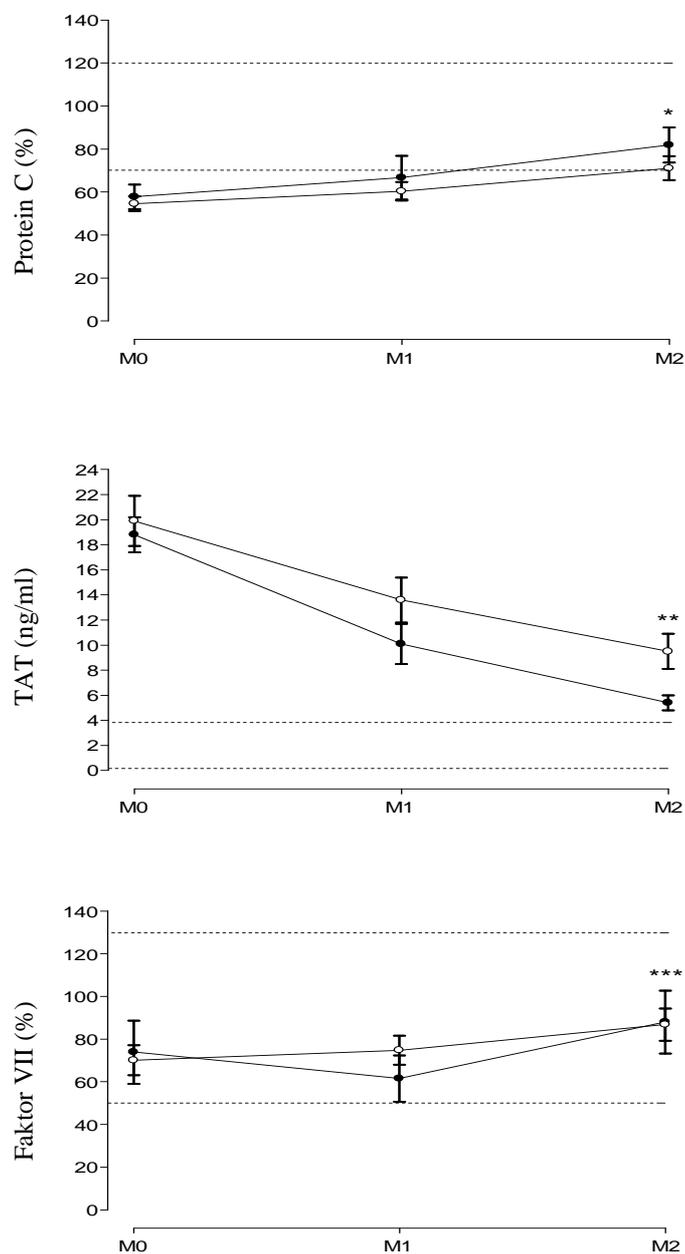
Während des Aufenthaltes auf der Intensivstation wurden wiederholte Messungen der Protein C-Spiegel, der Konzentration des Thrombin-Antithrombin-Komplexes und des Faktor VII-Spiegels durchgeführt. Dies geschah sowohl bei den 19 Überlebenden mit Sepsis ($\sum n = 171$ Messungen) und den 13 verstorbenen Patienten mit Sepsis ($\sum n = 117$ Messungen) als auch bei 10 kritisch kranken, nicht septischen Patienten (SIRS-Patienten) nach großen chirurgischen Eingriffen ($\sum n = 90$ Messungen).

4.2.1. Patienten mit systemischer Entzündungsreaktion

Die Ergebnisse der 10 Patienten mit systemischer Entzündungsreaktion sind in Abbildung 12 dargestellt. Die 10 Patienten mit systemischer Entzündungsreaktion (SIRS) unterschieden sich im Gruppenvergleich mit den 32 Patienten mit schwerer Sepsis nicht signifikant im Hinblick auf die gemessenen Plasmaspiegel von Protein C, Thrombin-Antithrombin-Komplex und Faktor VII (Abb. 12). Auch die Werte für das Gesamteiweiß waren vergleichbar (Daten nicht gezeigt).

Im zeitlichen Verlauf hatten beide Patientengruppen beim Verlassen der Intensivstation (Zeitpunkt M_2) im Vergleich zum Zeitpunkt des Einschlusses in die Untersuchung (Zeitpunkt M_0) signifikant höhere Plasmaspiegel für Protein C ($p < 0,01$) und Faktor VII ($p = 0,01$) sowie niedrigere Plasmaspiegel für Thrombin-Antithrombin-Komplex ($p < 0,01$) (Abb.12).

Abb. 12. Plasmaspiegel von Protein C, Thrombin-Antithrombin-Komplex und Faktor VII bei Patienten mit systemischer Entzündungsreaktion (n = 10) (●) und Patienten mit schwerer Sepsis (n = 32) (○)



M0, Messpunkt beim Einschluss der Patienten in die Untersuchung; M1, Messpunkt während der Hälfte der Zeit des Intensivaufenthaltes; M2, Messpunkt bei Beendigung der Untersuchung. Die gestrichelten Linien geben den Normbereich an; Mittelwert \pm Standardfehler; * M2 vs. M0 $p < 0,01$; ** M2 vs. M0 $p < 0,01$; *** M2 vs. M0 $p = 0,01$.

4.2.2. Patienten mit schwerer Sepsis

4.2.2.1. Überlebende Patienten

Von den $n = 32$ Patienten, die bei dieser Untersuchung die Einstufung „Schwere Sepsis“ bekommen haben, haben $n = 19$ überlebt. Es zeigten sich für die drei gemessenen Gerinnungsparameter (Protein C, Thrombin-Antithrombin-Komplex und Faktor VII) zu den Zeitpunkten M0, M1 und M2 für die Überlebenden Patienten folgende Ergebnisse (Tab. 6).

Tab. 6. Ergebnisse der Analysen der Gerinnungsparameter bei den überlebenden Patienten mit schwerer Sepsis ($n = 19$)

	Zeitpunkt M0	Zeitpunkt M1	Zeitpunkt M2
Protein C (%)	$58,9 \pm 5,3$	$62,4 \pm 6,2$	$88,3 \pm 6,6$
TAT (mg/ml)	$16,8 \pm 2,2$	$10,7 \pm 1,7$	$5,8 \pm 0,7$
Faktor VII (%)	$72,8 \pm 11,2$	$79,8 \pm 10,1$	$105,8 \pm 9,8$

Die Untersuchung von Überlebenden und verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis ergab, dass Überlebende signifikant höhere Plasmaspiegel für Protein C aufwiesen als Verstorbene ($p < 0,01$). Dabei war der Protein C - Spiegel bei den Überlebenden zum Zeitpunkt der Entlassung von der Intensivstation im Normbereich und höher als beim Einschluss in die Untersuchung ($88,3 \pm 6,6$ % vs. $58,9 \pm 5,3$ %; $p < 0,01$). Die Plasmaspiegel für Thrombin-Antithrombin-Komplex waren im Gruppenvergleich signifikant niedriger bei den überlebenden Patienten mit schwerer Sepsis ($p < 0,01$). Für den Faktor VII wurde kein signifikanter Unterschied im Gruppenvergleich gefunden. Allerdings zeigte sich im zeitlichen Verlauf, dass überlebende Patienten mit schwerer Sepsis im Vergleich zu verstorbenen Patienten zum Untersuchungsende signifikant höhere Faktor VII- Plasmaspiegel aufwiesen ($p < 0,01$) (Abb. 13). Das Gesamteiweiß war in beiden Gruppen wieder vergleichbar (Daten nicht gezeigt).

4.2.2.2. Verstorbene Patienten

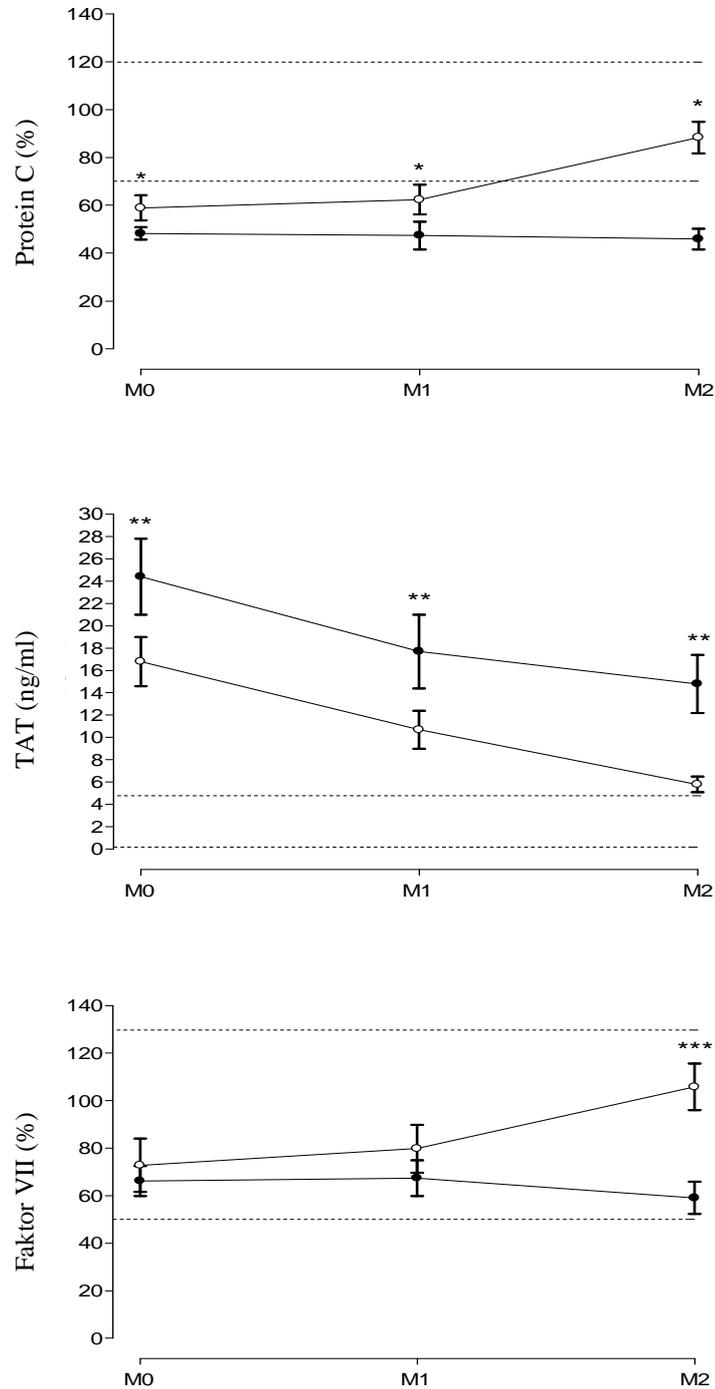
Die Untersuchung von den Überlebenden und verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis ergab, dass die verstorbenen Patienten signifikant niedrigere Plasmaspiegel für Protein C aufwiesen als überlebende Patienten ($p < 0,01$). Dabei zeigte sich bei den verstorbenen Patienten zu allen drei Messzeitpunkten ein konstant niedriger Protein C - Spiegel im Plasma. Dieser Protein C Spiegel lag immer unterhalb des unteren Grenzwertes für Protein C im Plasma von 70 %. Es zeigte sich tendenziell sogar eher zum Zeitpunkt M2 ein Abfall des Protein C - Spiegels (Tab.7).

Die Plasmaspiegel für Thrombin-Antithrombin-Komplex waren im Gruppenvergleich signifikant höher bei den verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis ($p < 0,01$). Für den Faktor VII wurde kein signifikanter Unterschied im Gruppenvergleich gefunden. Allerdings zeigte sich im zeitlichen Verlauf, dass verstorbene Patienten mit schwerer Sepsis im Vergleich zu überlebenden Patienten zum Untersuchungsende signifikant niedrigere Faktor VII - Plasmaspiegel aufwiesen ($p < 0,01$) (Abb. 13).

Tab. 7. Ergebnisse der Analysen der Gerinnungsparameter bei den verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis (n = 13)

	Zeitpunkt M0	Zeitpunkt M1	Zeitpunkt M2
Protein C (%)	48,2 ± 2,6	57,4 ± 5,8	45,9 ± 4,3
TAT (mg/ml)	24,4 ± 3,4	17,7 ± 3,3	14,8 ± 2,6
Faktor VII (%)	66,2 ± 6,4	67,5 ± 7,6	59,1 ± 6,6

Abb. 13. Plasmaspiegel von Protein C, Thrombin-Antithrombin-Komplex und Faktor VII bei verstorbenen (n = 13) (●) und überlebenden Patienten mit schwerer Sepsis (n = 19) (○)



M0, Messpunkt beim Einschluss der Patienten in die Untersuchung; M1, Messpunkt während der Hälfte der Zeit des Intensivaufenthaltes; M2, Messpunkt bei Beendigung der Untersuchung. Die gestrichelten Linien geben den Normbereich an; Mittelwert \pm Standardfehler; * Überlebende vs. Verstorbene $p < 0,01$; ** Überlebende vs. Verstorbene $p < 0,01$; *** M2 Überlebende vs. M2 Verstorbene $p < 0,01$.

5. Diskussion

5.1. Gerinnung im Mittelpunkt der Pathophysiologie der Sepsis

Das Krankheitsbild der Sepsis entwickelt sich in Folge von Inflammation und Gerinnungsaktivierung, die im Rahmen einer systemischen Infektion auftreten. Bei gesunden Menschen herrscht physiologischerweise ein Gleichgewicht zwischen den prokoagulatorischen und antikoagulatorischen Faktoren. Noch vor ein paar Jahren wurde zur Beschreibung der physiologischen oder der pathophysiologischen Abläufe der Gerinnung das Kaskadenmodell herangezogen.

Anhand von verschiedenen Beobachtungen ist allerdings ein revidiertes Modell der Gerinnung entwickelt worden (Hoffmann et al., 2001; Roberts et al., 2006). Dieses Modell betont speziell die Rolle der verschiedenen Zelloberflächen bei der Lokalisation und der Kontrolle des Gerinnungsprozesses. Im Kaskadenmodell standen die Spiegel und die Kinetiken der verschiedenen Gerinnungsproteine im Vordergrund. Das neue Modell auf Zellbasis beschreibt den Gerinnungsprozess als drei überlappende Phasen:

1. Initiierung: Diese spielt sich auf Gewebethromboplastin-präsentierenden Zellen ab. Wenn ein ausreichend starker prokoagulatorischer Stimulus vorhanden ist, werden genügend Faktor Xa, IXa und Thrombin aktiviert, um den Gerinnungsprozess in Gang zu setzen.

2. Verstärkung: Wenn die Thrombozyten am Ort der Gerinnungsaktivierung festhaften, werden sie aktiviert und akkumulieren Kofaktoren auf ihrer Oberfläche und verstärken damit den prokoagulatorischen Stimulus.

3. Fortsetzung: Aktive Proteasen verbinden sich mit ihrem Kofaktor auf der Oberfläche von aktivierten Thrombozyten. Durch die überschießende Produktion von Thrombin wird der Gerinnungsprozess weiter fortgesetzt. Dieser resultiert dann in einer Fibrinpolymerisation.

Eine Reihe von antikoagulatorischen Mechanismen dämpfen diese prokoagulatorische Reaktion im physiologischen Gerinnungsablauf. Es gibt sechs antikoagulatorische Mechanismen: 1. Blutfluß, 2. restriktiver Zugang zu negativ geladenen Phospholipiden auf der Zelloberfläche, 3. TFPI, 4. AT, 5. Protein C und 6. das fibrinolytische System (Aird, 2004). Die Wichtigkeit dieser antikoagulatorischen Mechanismen wird belegt durch klinische und experimentelle Beobachtungen. So haben Patienten mit angeborenen oder erworbenen Störungen (z.B. einer aPC-Resistenz) in einem oder mehreren dieser Mechanismen ein erhöhtes Thromboserisiko (Faust et al., 2001; Lensen et al., 1996).

Im Rahmen einer Sepsis bzw. einer systemischen Entzündungsreaktion scheinen der inflammatorische Prozess und die Gerinnung eng miteinander verknüpft zu sein (Esmon, 2000 (b); Lensen et al., 1996; Yan und Grinnell, 1993). Das Verständnis über den komplexen Prozess der Sepsis ist in den letzten 30 Jahren in wesentlichen Teilen überarbeitet und erweitert worden. Schon in den 60er Jahren wurde ein Zusammenhang zwischen der systemischen Entzündungsreaktion und der Störung im Gerinnungssystem vermutet. Dies stützte sich auf die Beobachtung, dass Abweichungen im Gerinnungssystem häufig bei Patienten mit Sepsis beobachtet werden. So ist z.B. seit 30 Jahren bekannt, dass die Aktivierung der Gerinnung positiv mit dem Schockzustand eines Sepsispatienten korreliert (Corrigan, 1968). Im Rahmen einer systemischen Entzündungsreaktion (SIRS) bzw. Sepsis kommt es zu einer Aktivierung von einer Fülle von unterschiedlichen Systemen. Darunter auch das Gerinnungssystem. Die Störung des Gerinnungssystems bei Patienten mit Sepsis tritt sehr häufig auf. Bei 30 – 50 % der Patienten mit schwerer Sepsis tritt die schwerste Form einer Gerinnungsstörung, die disseminierte intravasale Gerinnung auf (Cohen, 2002).

Die Aktivierung des Gerinnungssystems, die mit einem Verbrauch der endogenen Antikoagulantien (z.B. Protein C und Antithrombin) verbunden ist, scheint eine wichtige Rolle bei der mikrovaskulären Gerinnung und dem damit verbundenen Multiorganversagen zu spielen (Jacobi, 2002). Dies stützt sich unter anderem auf Ergebnisse von Autopsien. Bei verstorbenen

Patienten mit Sepsis konnte man diffuse Blutungen, hämorrhagische Gewebenekrosen, Mikrothromben in kleinen Blutgefäßen und Thrombosen in mittleren und großen Arterien und Venen finden. Das Auftreten der intravaskulären Thromben hat einen engen spezifischen Bezug zur klinisch beobachteten Organdysfunktion. Dies wird außerdem untermauert durch Versuche, bei den eine experimentell verursachte Bakteriämie bzw. Endotoxämie zu intra- und extravasalen Fibrinablagerungen geführt hat (Levi et al., 2003).

Bislang ging man allerdings davon aus, dass vor allem die Inflammation im Mittelpunkt des Krankheitsgeschehens der SIRS bzw. Sepsis steht. Dies zeigte sich auch in den therapeutischen Ansätzen.

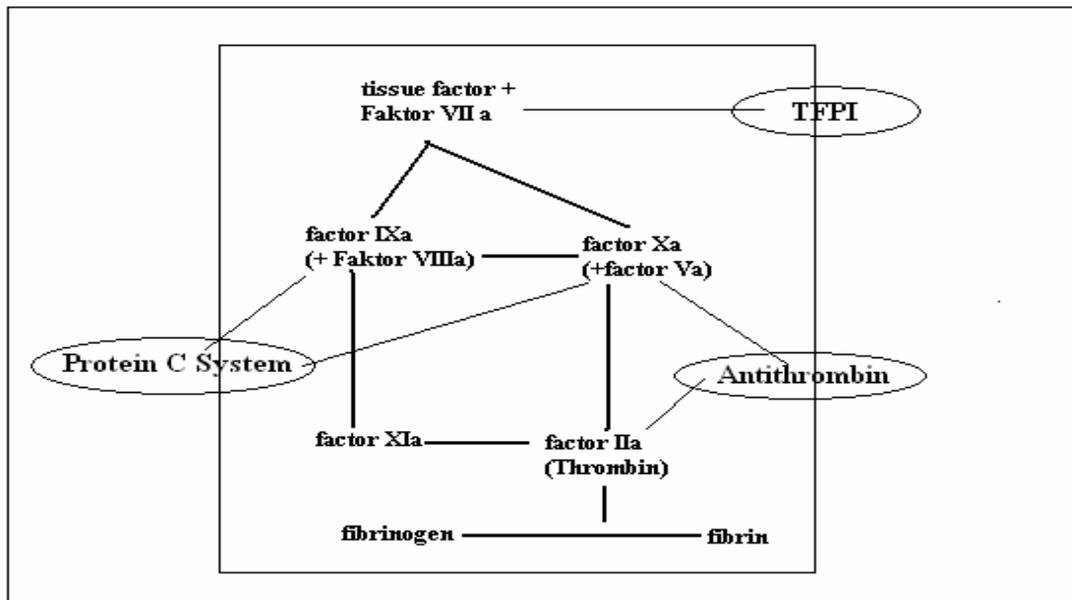
Erst in den letzten Jahren wird zunehmend deutlicher, dass die Interaktionen zwischen Infektion, dem inflammatorischen Prozessen und dem Gerinnungssystem, die eine Antwort auf eine schwere Infektion darstellen, von zentraler pathophysiologischer Bedeutung sind.

Im Rahmen der akuten Entzündungsreaktion, die als Antwort auf eine schwere Infektion bzw. ein schweres Trauma entsteht, kommt es zu einer systemischen Aktivierung des Gerinnungssystems (Levi et al., 1999; Esmon et al, 1991; Satran, 2003; Hoffmann, 2001; Dettenmeier, 2003). Im Rahmen der inflammatorisch-induzierten Gerinnungsaktivierung spielen unterschiedliche Mechanismen eine Rolle.

Dazu gehören Gewebethromboplastin (tissue factor = TF), die Gerinnungsfaktoren VIIIa, Va, Xa, IXa, die physiologisch antikoagulatorisch wirkenden Systeme, die Fibrinolyse, die Endothelzellen und die Thrombozyten. TF ist ein Membran gebundenes 4,5 kDa schweres Protein, das auf einer ganzen Anzahl von Zellen im menschlichen Körper exprimiert wird. Diese Zellen sind in der Regel in Geweben eingefügt, die im physiologischen Zustand des menschlichen Körpers keinen direkten Kontakt zum Blut haben. So kommt TF gehäuft im subkutanen Gewebe der Blut-Gewebe-Barrieren vor. TF kann aber bei Zerstörung dieser Barriere mit Faktor VII interagieren. Der entstandene aktive Faktor VIIa/TF - Komplex katalysiert die Aktivierung von Faktor IX und Faktor X zu Faktor IXa und Faktor Xa, was letztendlich die Thrombingeneration fördert. Andere Zellen, auf denen TF exprimiert wird, sind die Monozyten und Makrophagen. In Blutgefäßen kann die Expression von TF durch Zytokine wie IL-1, Il-6 und TNF- α aktiviert werden.

Der systemischen Gerinnungsaktivierung durch den Entzündungsreiz wirken verschiedene antikoagulatorische Systeme entgegen. Dies sind TFPI, AT und das Protein C/S-System (Esmon, 2000 (b)).

Abb. 14 Infektion, Entzündung und das Gerinnungssystem (Levi et al., 2003)



TFPI wird in Endothelzellen und in der Leber synthetisiert. Er kommt in verschiedenen Systemen des menschlichen Körpers vor. So ist er z.B. assoziiert mit Endothelzellen oder gebunden an Lipoproteine im Plasma. TFPI inhibiert indirekt die Wirksamkeit von Gewebethromboplastin, indem er Faktor VIIa blockiert. Dazu ist der Kofaktor Faktor Xa erforderlich. Dies zeigt eine der vielfältigen gegenläufigen Regulationsmechanismen der Gerinnung. So aktiviert der Komplex aus Faktor VIIa und TF Faktor Xa. Faktor Xa aktiviert über eine Rückkopplungsschiene Faktor VIIa. Andererseits ist aber Faktor Xa Kofaktor für TFPI bei der Inaktivierung von Faktor VIIa. TFPI ist ebenfalls in der Lage Endotoxin zu binden. Es interagiert mit CD 14 und hat einen abschwächenden Effekt auf die Produktion von IL-6 und IL-8 im Tiermodell. Wie wichtig die Rolle von TFPI als Inhibitor der Gerinnung und der Inflammation bei der Sepsis ist, ist noch unklar. So ist bei einer Sepsis in der Regel der Plasmaspiegel von TFPI nicht signifikant verändert (ten Cate, 2000).

Antithrombin wird in der Leber gebildet. Es hemmt die Wirkung von verschiedenen Gerinnungsfaktoren, wobei die Wirkung gegen Thrombin (Faktor IIa) am stärksten ist. Auch die Faktoren Xa, IXa und XIa werden von Antithrombin gehemmt. Die Antithrombinwirkung ist von Heparin und heparinähnlichen Substanzen abhängig, wobei diese als Katalysatoren wirken und die 1:1 Bindung von Antithrombin an Thrombin ermöglichen. Antithrombin und Thrombin

bilden unter Vermittlung von Heparin feste Komplexe, die mittels geeigneter Testsysteme nachgewiesen werden können. Diese Thrombin-Antithrombin (TAT) - Komplexe zeigen an, dass die Blutgerinnung aktiviert und Thrombin gebildet wurde. Diese können somit klinisch wertvolle Informationen geben.

Die erniedrigten Antithrombin-Spiegel im Rahmen einer Sepsis lassen sich aber nicht nur durch diese Komplexierung, sondern auch durch eine reduzierte Protein-Synthese und durch eine reduzierte Verfügbarkeit von Glycosaminoglykanen, die wie ein heparin-ähnlicher Kofaktor wirken sollen, erklären. (Levi et al., 2003). Allerdings wird vermutet, dass Antithrombin einen negativen Effekt auf die Fibrinolyse hat. Levi et al. gehen von einem direkten negativen Effekt von Antithrombin auf die Freisetzung von Gewebefibrinolyseaktivator (t-PA) aus dem Endothel aus. Ausgehend von der Betrachtung dieses negativen Effekts auf die Fibrinolyse und der Tatsache, dass in Studien bei Sepsis nur hohe Dosen von Antithrombin eine Gerinnungsprotektion zeigten, scheint das therapeutische Potential von Antithrombin bei Sepsis limitiert zu sein (Levi et al., 2003).

Das dritte antikoagulatorische System ist das Protein C/S-System. Protein C reguliert die Bildung von Thrombin in kleinen Gefäßen und beugt mikrovaskulärer Thrombose vor. Es zirkuliert in einer inaktiven Form im Blut. Zur Aktivierung bindet Thrombin an das zellmembranassoziierte Molekül Thrombomodulin. Dieser Komplex wandelt dann Protein C in aktiviertes Protein C um. Das aktivierte Protein C inaktiviert dann die Faktoren Va und VIIIa durch proteolytische Spaltung. Endothelzellen, vor allem in großen Gefäßen, exprimieren an ihrer Zelloberfläche einen weiteren Rezeptor, den Endothel-Protein C-Rezeptor (EPCR). Dieser führt zu einer verstärkten Aktivierung von Protein C. Aktiviertes Protein C hat aber zusätzlich zu der antithrombotischen Eigenschaft auch antiinflammatorische und profibrinolytische Eigenschaften (Esmon, 2000 (a); Mosnier et al., 2004; Smith et al., 1997; Smith und White, 1999). Aktiviertes Protein C inhibiert die Zytokinausschüttung (z.B. TNF- α) aus Monozyten (Blockade der Produktion von NF- κ B) und reduziert die Adhäsion von neutrophilen Granulozyten an das Endothel durch verminderte Expression von Adhäsionsmolekülen von Endothelzellen (Amaral, 2004). Seine profibrinolytischen Eigenschaften übt das aktivierte Protein C aus, in dem es die Konzentration der Inhibitoren der Fibrinolyse verringert (Bernard, 2001; Esmon, 2001; Matthey, 2001). Aktiviertes Protein C inhibiert den Plasminogen-Aktivator-Inhibitor Typ 1 (PAI-1). Damit wird die Blockade des endogenen Gewebefibrinolyseaktivators (t-PA) verhindert. Außerdem wird die Aktivierung des thrombinaktivierbaren Fibrinolyseinhibitors (TAFI) indirekt gehemmt

(Fisher, 2000). Im Rahmen einer Sepsis kommt es zu einer Abnahme der Expression von Thrombomodulin durch Endothelzellen (Brueckmann et al., 2005; Faust, 2001). Dadurch ist die Aktivierung von Protein C gestört, und die Patienten können nicht von den protektiven Eigenschaften von aktiviertem Protein C profitieren.

Anhand von verschiedenen Studien (Fisher et al., 2000; Yan, 2001; Gogos et al., 2003), in denen gezeigt werden konnte, dass niedrige Protein C Spiegel mit einer erhöhten Mortalität verbunden sind, konnte die große Wichtigkeit des Protein C Systems auf die Abwehr des Organismus gegen Sepsis und der Einfluss auf die Gerinnungsaktivierung gezeigt werden.

Es hat sich gezeigt, dass das Endothel bei Sepsis eine zentrale Rolle im Rahmen der Entzündungsreaktion, der Thrombosenbildung und der defekten Fibrinolyse einnimmt (Mahidhara et al., 2000). Normales Endothel hat antikoagulative Eigenschaften. Bei einer Sepsis kommt es durch die Freisetzung von Entzündungsmediatoren zu einer Veränderung des Endothels. Die Endothelzellen setzen die Synthese und Expression von antithrombotischen Molekülen (Thrombomodulin, EPCR und TFPI) herab. Außerdem schütten Endothelzellen dann ebenfalls Zytokine aus, bilden Adhäsionsmoleküle und Wachstumsfaktoren, die die inflammatorische Reaktion und die Gerinnungsantwort beeinflussen.

Eine zusätzliche Rolle in der Pathogenese der inflammatorisch induzierten Gerinnung spielen die Thrombozyten. Endotoxin kann nämlich Thrombozyten auf direktem Weg aktivieren. Auch Thrombin aktiviert Thrombozyten. Viele Zytokine können durch den Sphingosin-Weg und den Thrombozyten-aktivierenden-Faktor (PAF) ebenfalls zur Thrombozytenaktivierung führen. Durch Aktivierung von Thrombozyten, z.B. im Rahmen einer Sepsis, kommt es zu einer Ausschüttung der α -Granula. Diese beinhalten auch Plasminogen-Aktivator-Inhibitor Typ 1 (PAI-1), der antifibrinolytisch wirkt. Außerdem bewirkt die Thrombozytenaktivierung, dass sich die Thrombozytenoberfläche so verändert, dass sich dort Komplexe von aktivierten Gerinnungsfaktoren (Faktor Xa und Faktor Va, Prothrombin und Calcium) bilden können. Damit beschleunigen aktivierte Thrombozyten die plasmatische Gerinnung.

Im Rahmen einer normalen Reaktion auf eine Gerinnungsaktivierung kommt es konsekutiv zu einer Aktivierung der Fibrinolyse. Bei einer Sepsis kommt es allerdings nach einer anfänglichen Aktivierung der Fibrinolyse zu einer Hemmung dieses Systems. Es kommt initial zu einer Aktivierung von Plasminogen gefolgt von einer Beeinträchtigung durch vermehrt ausgeschütteten Plasminogen-Aktivator-Inhibitor Typ 1 (PAI-1). PAI-1 wird produziert durch Endothelzellen und Thrombozyten. Er ist der wichtigste Inhibitor des Gewebepasminogen-

aktivator (t-PA). TNF- α und IL-1 verursachen einen Konzentrationsabfall von freiem Gewebeplasminogenaktivator (t-PA) und eine erhöhte Produktion von PAI-1. Eine ebenfalls hemmende Funktion auf das fibrinolytische System übt der thrombinaktivierbare Fibrinolyseinhibitor (TAFI) aus. Im Rahmen einer Sepsis kommt es zu erhöhten Spiegeln dieser beiden Inhibitoren. Dadurch kommt es zu einer vermehrten Ablagerung von Fibringerinnseln in den Gefäßen.

Diese Wechselwirkungen zwischen Inflammation und Gerinnung zeigen sich also einerseits durch die prokoagulatorische Wirkung von Zytokinen (IL-1, TNF- α , IL-6) als Mediatoren im Gerinnungssystem. Andererseits können aktivierte Gerinnungsfaktoren, wie z.B. Thrombin neben Thrombozyten auch Endothelzellen, Leukozyten und damit die inflammatorische Reaktionen stimulieren (Iqbal et al., 2002; Iba et al., 2005 (b); Werdan et al., 2005). Dies führt zu intravaskulären Fibrinablagerungen. Zusätzlich wird durch die Zytokine die PAI-1 vermittelte Hemmung der Fibrinolyse heruntergeregelt. Dies führt zu einem insuffizientem Abbau von Fibrin. Am Ende all dieser Vorgänge steht die intravasale Fibrinablagerung mit Mikrozirkulationsstörungen bis hin zur Organdysfunktion.

Viele Mechanismen im Rahmen einer Sepsis aktivieren und begünstigen die Gerinnung. Somit stellt sich im Rahmen einer Sepsis ein abnormer Aktivierungszustand der Gerinnung dar. Anhand verschiedener Untersuchungsergebnisse konnte gezeigt werden, dass Entzündungsreaktion und Gerinnung eng miteinander verknüpft sind (Esmon, 1991). Dieser Aktivierungszustand kann als Reaktion des Gefäßsystems und damit des Gesamtorganismus auf Bakterientoxine etc. gewertet werden.

Zusammenfassend lässt sich die Organdysfunktion bei der schweren Sepsis pathophysiologisch vor allem durch eine Verschiebung des hämostaseologischen Gleichgewichts zur prokoagulatorischen Seite hin erklären. Die endotheliale Dysfunktion ist eng in diesen Ablauf eingebunden. In Folge droht ein ischämiebedingtes Organversagen, das die Prognose der schweren Sepsis maßgeblich beeinflusst. So führt die Entwicklung einer mikrovaskulären Koagulopathie oder einer disseminierten intravasalen Gerinnung bei Patienten mit Sepsis zu einer Verdopplung des Mortalitätsrisiko (Fisher et al., 2000).

5.2. Gerinnungsdiagnostische Laborparameter in der Sepsis

Die Sepsis geht laboranalytisch einher mit einer Koagulopathie. Während Laborparameter zur Erfassung der Entzündungsreaktion in der Klinik weit verbreitet sind, wird die Gerinnung zumeist bislang nur basisdiagnostisch überwacht. Diese intensivmedizinischen gerinnungsdiagnostischen Basisuntersuchungen umfassen die globalen Gerinnungstests (Quicktest = Thromboplastinzeit; aPTT = aktivierte partielle Thromboplastinzeit, Fibrinogen und die Thrombozytenzahl) (Abb. 15 und 16). Berücksichtigen muss der Kliniker dabei die niedrige Spezifität dieser basisdiagnostischen Laborparameter hinsichtlich des Nachweises der sepsisinduzierten Koagulopathie.

Abb. 15. Thromboplastinzeit (Quick-Test)

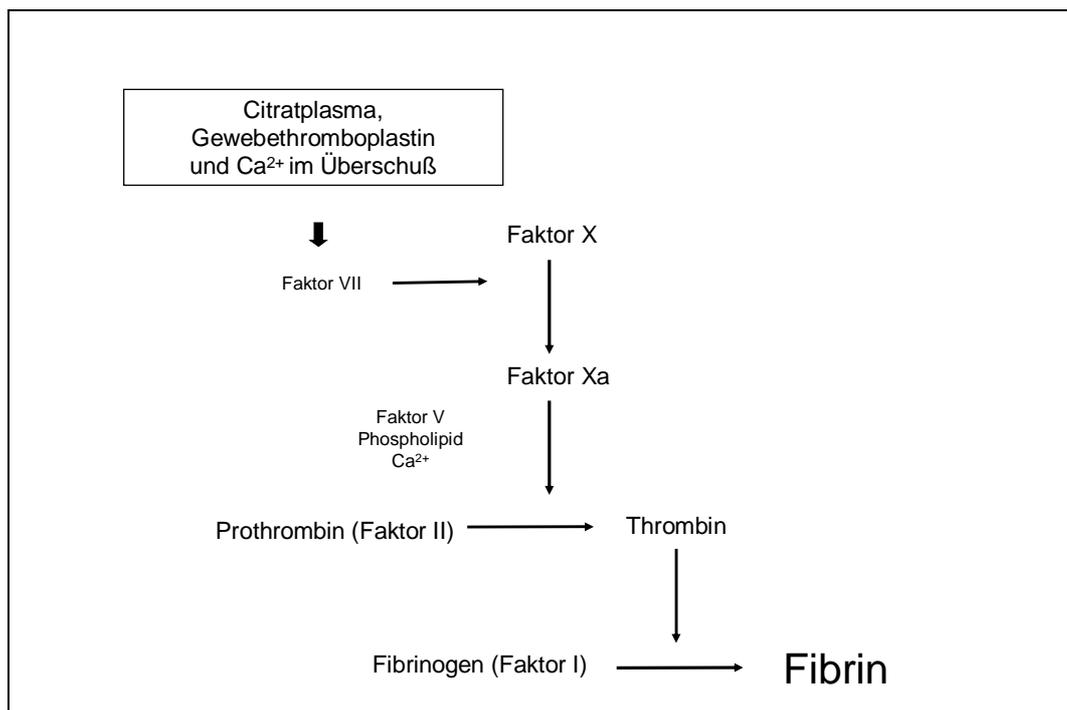
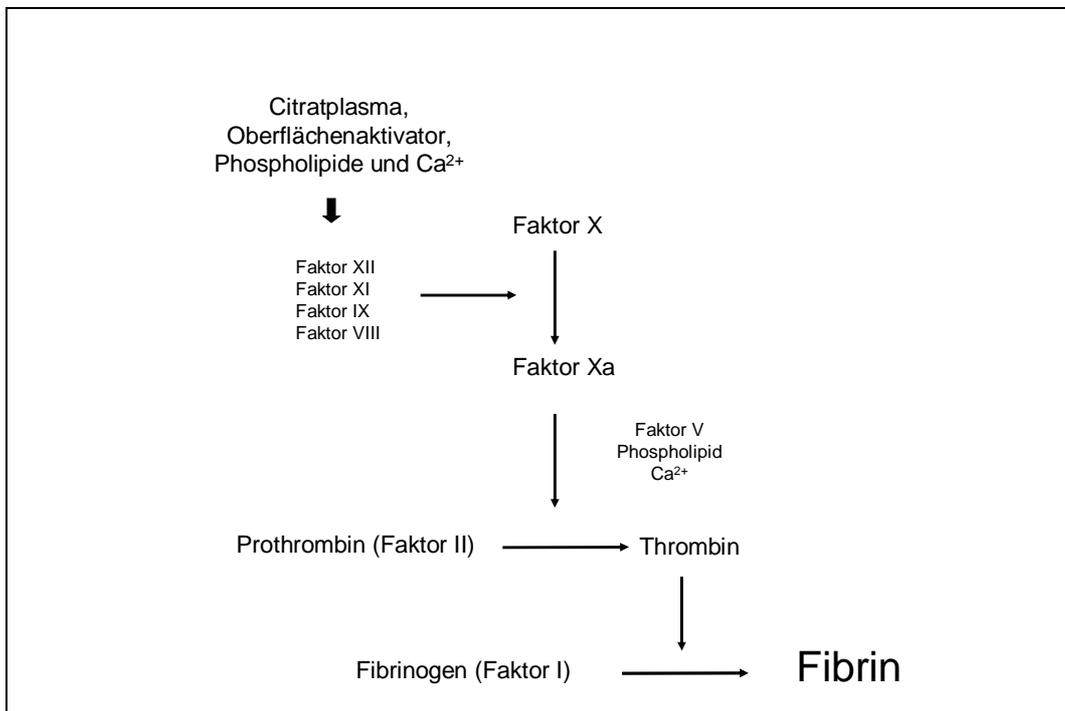


Abb. 16. Aktivierte Thromboplastinzeit (aPTT)

Allgemein müssen bei den sepsisassoziierten Gerinnungsveränderungen v.a. durch Verlust oder Verdünnung bedingte Hämostasestörungen differentialdiagnostisch bedacht werden.

Deshalb ist eine erweiterte Gerinnungsdiagnostik erforderlich, wenn der klinische Befund oder die Laborergebnisse an die Möglichkeit einer Gerinnungsstörung denken lassen. Sie umfasst Aktivierungsparameter der Gerinnung bzw. der Fibrinolyse. Die Tabellen 8 und 9 zeigen eine Auswahl einiger in Frage kommender Parameter.

Tab. 8. Labordiagnostik entsprechend der Phaseneinteilung der disseminierten intravasalen Gerinnung

Phase Klinisches Bild	I Hyper- koagula- bilität	II Fibrin- bildung	III Mikro/Makro- thrombosie- rung, Blutung	IV Organver- sagen, Blutung
Quickwert	↔	↔	↓	↓↓
PTT	↔	↔	↑	↑↑
Fibrinogenwert	↔↑	↔	↓	↓↓
Thrombozytenzahl	↔↓	↓	↓↓	↓↓↓
Thrombin-Anti- Thrombin-Komplex	↑		↑↑↑	↑↑↑
F1+F2	↑		↑↑↑	↑↑↑
Fibrinmonomere	↑		↑↑	↑↑↑
D-Dimere	↔↑	↑	↑↑	↑↑↑
FgDP	↔	↑	↑↑	↑↑↑
Protein C	↓	↓	↓↓	↓↓↓
Antithrombin	↔↓	↓	↓↓	↓↓↓

F1, F2 Prothrombinfragmente 1 und 2; **FgDP** Fibrinogenspaltprodukte (Werdan et al., 2005)

Tab. 9. Gerinnungsphysiologische Veränderungen von gerinnungsdiagnostischen Laborparametern bei Sepsis (Werdan et al., 2005)

Anstieg	Abfall
Thrombin-Antithrombin-Komplex	Protein C-Antigen
Gewebethromboplastin	Faktor VII
Fibrinopeptid A	Antithrombin
Prothrombinfragmente 1 und 2	Protein C-Inhibitor
Plasmin- α 2-Antiplasmin-Komplex	Protein S
D-Dimere	Faktor XII
Thrombomodulin	
tPA-Aktivität	
tPA-Antigen	
Plasminogenaktivatorinhibitor 1	
v.-Willebrand-Faktor	
v.-Willebrand-Faktor-Propeptid	
Plättchenthrombospondin	

Im Rahmen der Gerinnungsdiagnostik bei Patienten bei Sepsis ist es nicht notwendig oder sinnvoll alle diese Parameter zu ermitteln (Boldt et al., 2000). Das war im Rahmen dieser Untersuchung auch nicht notwendig. So haben wir uns für drei Parameter entschieden, die für den Ablauf der Gerinnung im Rahmen der Sepsis und für die Diagnostik hinsichtlich der Fragestellung von entscheidender Bedeutung waren. Diese drei Parameter sind 1. Protein C-Spiegel, 2. Thrombin-Antithrombin-Komplex und 3. Faktor VII - Spiegel.

Das Protein C-System ist ein wichtiges inhibitorisches System der plasmatischen Gerinnung. Protein C wird Vitamin K-abhängig in der Leber gebildet. Protein C ist eine inaktive Vorstufe, die von Thrombin aktiviert wird, wobei das Thrombin an den endothelzellständigen Rezeptor Thrombomodulin gebunden sein muss. Die Bildungsrate von aktiviertem Protein C ist vor allem von der Menge an Protein C-Zymogen abhängig, aber auch von der endogenen Thrombingenerierung und der Thrombomodulin- und EPCR-Konzentration (Esmon, 2002, Esmon, 2003). Aktiviertes Protein C hat nur eine geringe Überlebenszeit im Plasma von ca.

20 Minuten, da es sofort durch spezifische und unspezifische Inaktivatoren abgebaut wird. Die Hauptinhibitoren von aPC sind der Protein C- Inhibitor (PCI), α 1-Protease-Inhibitor (früher: α 1-Antitrypsin) und α 2-Makroglobulin. Zu den Komponenten des Protein C-Systems gehört auch der Kofaktor Protein S. Beide zusammen inaktivieren proteolytisch Faktor Va und Faktor VIIIa. Protein S wird ebenfalls Vitamin K-abhängig in der Leber synthetisiert. Die physiologische Aufgabe des Protein C/S-Systems ist vor allem die Hemmung der plasmatischen Gerinnung. Eine Verminderung der Menge und der Aktivität ist klinisch relevant. Physiologische Konzentrationen liegen zwischen 70 – 120 %.

Indikationen zur Bestimmung des Protein C-Spiegels bestehen zur differential-diagnostischen Abklärung im Rahmen einer Störung im Gerinnungssystem z.B. bei einer disseminierten intravasalen Gerinnung im Rahmen einer Sepsis, rezidivierenden Thrombembolien, tiefen Beinvenenthrombosen und schweren Lebererkrankungen. Ein Mangel von Protein C gilt ebenfalls als Maß für den Aktivierungsgrad der Gerinnung, sein Plasmaspiegel gilt als Verlaufsparemeter und prognostische Marker für die Sepsis. Bei der Beurteilung dieses Parameter muss bedacht werden, dass Protein C Vitamin K-abhängig in der Leber synthetisiert wird, so dass auch ein Vitamin-K-Mangel (z.B. durch Malabsorption) zu einem Protein C-Mangel führen kann, was auch für den Kofaktor von Protein C, nämlich Protein S gilt, während Antithrombin III Vitamin K-unabhängig synthetisiert wird.

Einem angeborenen Mangel an Protein C liegen unterschiedliche genetische Veränderungen zugrunde. Die Mutationen betreffen das Protein C-Gen, das auf Chromosom 2 lokalisiert ist. Je nachdem ob die Mutation an einem oder beiden Chromosomen vorliegt, besteht ein heterozygoter, homozygoter oder doppelt heterozygoter Protein C-Mangel (Tab. 10) (Reitsma, 1997). Es handelt sich hauptsächlich um Punktmutationen. Die Mutationen können Störungen der Protein C-Funktionen bewirken, die sich auf verschiedenste Art klinisch manifestieren können (Tab.11).

Der klassische Typ I-Protein C-Mangel entsteht durch Mutationen im hydrophoben Kern des Proteins, was eine parallele Reduktion von Protein C-Aktivität und Antigenkonzentration zur Folge hat. Beim Typ-II Protein C-Mangel betreffen die Mutationen das aktive Zentrum, das für die Protein-Protein- oder Protein-Phospholipid-Interaktionen verantwortlich sind. Er ist durch eine reduzierte Protein C-Aktivität bei normaler Antigenkonzentration gekennzeichnet.

Wie stark das Auswirkungen auf die verminderte Protein C-Aktivität bzw. Protein C-Antigenkonzentration hat, ist in Tabelle 11 dargestellt.

Tab.10. Verschiedene Formen des hereditären Protein C-Mangels. Analyse von 320 Patienten aus der Reitsma-Datenbank des Protein C-Mangels (Reitsma 1997)

Genetische Form	Frequenz
Typ I heterozygot	76 %
Typ II heterozygot	12 %
Typ I homozygot	5 %
Typ II homozygot	0,6 %
Typ I doppelt heterozygot	3 %
Typ II doppelt heterozygot	0,6 %
Typ I/II doppelt heterozygot	1,5 %
Unbekannt	1,3 %

Tab. 11. Labordiagnostik des hereditären Protein C-Mangels (Knöbl, 2005)

Defizienz	Protein C-Aktivität (Funktionsmessung)	Protein C-Antigen (Konzentrationsbestimmung)
heterozygot		
Typ I	Vermindert (ca. 50 %)	Vermindert (ca. 50 %)
Typ II	Vermindert (ca. 50 %)	normal
homozygot		
Typ I	Stark vermindert (< 1 %)	Stark vermindert (< 1%)
Typ II	Stark vermindert (< 1 %)	Normal/leicht vermindert

Einem erworbenen Mangel an Protein C können verschiedene Ursachen zu Grunde liegen. Da Protein C Vitamin K-abhängig in der Leber produziert wird, kann eine Therapie mit Phenprocoumon (Cumarin), im Rahmen einer verminderten Synthese, zu einem Abfall der Protein C-Konzentration auf 40 – 50 % führen. Die gerinnungsphysiologische Aktivität liegt dann noch einmal um ein Drittel bis ein Viertel niedriger, da bei der immunchemischen

Bestimmung auch die inaktiven PIVKA-Proteine (bei Vitamin K-Mangel gebildete funktionsuntüchtige Vorstufen der Gerinnungsfaktoren II, VII, IX, X, Protein C und S) mitbestimmt werden. Unter Cumarintherapie sind deshalb immer die gerinnungsphysiologischen Aktivitätsbestimmungen erforderlich.

Bei einer akuten bzw. chronischen Lebererkrankung (akute Hepatitiden, chronisch-aktivierte Hepatitiden, Leberzirrhose) kommt es auch im Rahmen einer verminderten Synthese zu einer Abnahme der Protein C-Konzentration. Bei einer Hepatitis kann die Protein C-Konzentration bis auf 60 % abfallen, bei einer Leberzirrhose sogar bis auf Werte von 30 %.

Ein starker Abfall von Protein C-Aktivität und Konzentration tritt auch bei einer DIC durch vermehrten Verbrauch auf. Dieser Abfall begünstigt die Thrombosierung in der Mikrozirkulation.

Erniedrigte Protein C-Aktivität und Konzentration werden auch bei entzündlichen Erkrankungen gemessen. Dieser Abfall ist auf verschiedene Ursachen zurückzuführen. Zunächst ist der Plasmaspiegel von Protein C mehr oder weniger stark vermindert, was durch eine gestörte Synthese und durch einen direkten Abbau durch proteolytische Enzyme, z.B. Granulozytenelastase, verursacht wird. Andererseits führen proinflammatorische Zytokine, wie z.B. TNF- α und IL-1 zu einer verminderten Produktion und vermehrten Abspaltung von Thrombomodulin von der Endothelzelle, was zu einer verminderten Protein C-Aktivität führt.

Verminderte Inhibitorspiegel bei Sepsis sind nicht nur auf einen erhöhten Verbrauch und eine verminderte Synthese zurückzuführen, sondern müssen auch an einen allgemeinen Proteinverlust im Rahmen eines Kapillarlecks oder eine verminderte Synthese denken lassen.

Die durch Gewebethromboplastin initiierte Gerinnung geht mit einer Thrombinaktivierung aus Prothrombin einher. Entsprechend lassen sich Thrombin und Thrombin-Antithrombin-Komplex früh in der Sepsis aber auch nach Trauma nachweisen. Thrombin ist das zentrale Enzym des Gerinnungssystems. Es spaltet Fibrinogen in Fibrin, aktiviert Thrombozyten, Faktor II, Faktor VIII und Faktor XIII sowie Protein C.

Thrombin selbst lässt sich aufgrund eines hohen Aktivitätsüberschusses von Antithrombin III (AT), einem der bekanntesten Inhibitoren der Gerinnung, und wegen seiner raschen Komplexierung mit AT in freiem Zustand nicht nachweisen.

Der Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT) entsteht bei der Inaktivierung von Thrombin durch Komplexierung mit Antithrombin III. Diese Komplexbildung ist abhängig von Heparin und heparinähnlichen Substanzen, wobei diese als Katalysator wirken und die Bindung

von Thrombin an AT ermöglichen. Er ist ein indirekter Marker der Thrombenbildung, d.h. der Gerinnungsaktivierung in vivo und wird auch als Aktivierungsmarker bezeichnet.

Die entstehenden Thrombin-Antithrombin-Komplexe (TAT) gelten allerdings als sehr empfindlicher Parameter für den Nachweis der Thrombinbildung bzw. Thrombinämie und damit für die Dynamik der Gerinnungsaktivierung. Sie besitzen eine hohe Sensitivität, aber eine geringe Spezifität bei der Bestimmung der Gerinnungsaktivierung (Leonhardt u. Engelmann, 2001). Sie sind sehr häufig falsch-positiv. Der Referenzbereich für TAT liegt bei 0,02-3,9 ng/ml. Die Halbwertszeit liegt bei 10 – 15 min.

Der TAT-Spiegel dient zum Erkennen von hyperkoagulablen Zuständen, die mit unterschiedlichen Grunderkrankungen, z.B. bei akuter und chronischer disseminierter intravasaler Gerinnung (DIC) im Rahmen einer Sepsis, einhergehen. Erhöhte TAT-Konzentrationen deuten somit auf eine vorliegende Hyperkoagulabilität hin. Somit besteht ein erhöhtes Risiko für thromboembolische Komplikationen. Der TAT-Spiegel gibt keine Auskunft darüber, inwieweit das gebildete Thrombin auch aktiv war bzw. eine Fibrinbildung bewirkt hat. TAT-Komplexe sind schon vor dem Auftreten klinischer Zeichen einer DIC nachweisbar, und die TAT-Spiegel fallen innerhalb weniger Stunden nach Beendigung der intravasalen Thrombinaktivierung ab. Auch im Verlauf der Sepsis sind die TAT-Spiegel früh erhöht.

Bei einem Großteil von Patienten mit Sepsis liegt ein erworbener Antithrombin III - Mangel vor. Man unterscheidet dabei eine verminderte Synthese im Rahmen einer Leberfunktionsstörung, einen erhöhten Verbrauch z.B. im Rahmen einer Verbrauchskoagulopathie und einen erhöhten Verlust z.B. bei einer Aszitis, einem nephrotischen Syndrom oder einer exsudativen Enteropathie. Dabei muss die Relation zum allgemeinen Proteinverlust beurteilt werden. Ein Vitamin-K-Mangel spielt für den Spiegel von Antithrombin III keine Rolle, da es Vitamin K-unabhängig synthetisiert wird.

Ein angeborener Antithrombin III - Mangel kommt nur bei 0,5 ‰ der Bevölkerung als autosomal-dominanter Erbgang vor. Man unterscheidet zwei verschiedene Typen. Typ 1 ist ein zahlenmäßiger AT - Mangel; Typ 2 geht mit der Produktion eines abnormen AT - Moleküls einher (Knöbl, 2005; Thomas, 2005).

Sollte der Verdacht auf einen angeborenen oder erworbenen Mangel oder Defekt eines oder mehrerer Gerinnungsfaktoren bestehen oder sollten die Globaltests der Gerinnung, wie die Thromboplastinzeit (TPZ) und die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), erste Hinweise auf eine Gerinnungsstörung geben, ist weiterführend gegebenenfalls auch die Bestimmung von

Einzelfaktoren der Gerinnung erforderlich. Man unterscheidet angeborene Faktorendefekte und erworbene Verminderungen. Bei den angeborenen Faktorendefekten unterscheidet man Dys- und Apoproteinämien. Während im ersten Fall eine Punktmutation einer Aminosäure vorliegt, ist im zweiten Fall die genetische Information so verändert, dass sie entweder überhaupt nicht gelesen werden kann oder die fehlerhafte mRNA sofort wieder abgebaut wird.

Erworbene Verminderungen von Gerinnungsfaktoren kommen häufiger vor. Ursachen für eine Verminderung von Faktor VII kann ein Vitamin K-Mangel (Cumarintherapie, mangelnde Vitamin K-Zufuhr, Antibiotikatherapie oder eine Vitamin K-Resorptionsstörung), ein Leberparenchymschaden (Hepatitis, Leberzirrhose, toxisches Leberversagen, Schockleber), eine Verbrauchskoagulopathie, eine Verlustkoagulopathie im Sinne eines Kapillarlecks (Aszites, nephrotisches Syndrom, Amyloidose) oder eine erhöhte Fibrinolyse sein. Eine Therapie mit Cephalosporinen und Valproinsäure muss auch in die Überlegung der Differentialdiagnostik eines erniedrigten Faktor VII – Spiegels einbezogen werden. Bei Neugeborenen kommt ein erniedrigter Faktor VII – Spiegel auch sehr häufig vor.

Ein Faktor VII-Mangel zeigt sich vor allem in der Initialphase eines Vitamin K-Mangels oder eines Leberparenchymschadens, da Faktor VII eine sehr kurze Halbwertszeit von 2 – 3 h besitzt. Faktor VII steht in dieser Untersuchung als Parameter exemplarisch für alle in der Leber produzierten Vitamin K-abhängigen Gerinnungsfaktoren. Außerdem spielt er bei der Gerinnungsaktivierung im Zusammenspiel mit Gewebsthromboplastin eine zentrale Rolle. Der Referenzbereich für Faktor VII liegt bei 70 – 120 % der Norm.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen sollte geklärt werden, inwieweit sich die Protein C - Plasmaspiegel bei Patienten mit einer systemischen Entzündungsreaktion oder einer schweren Sepsis im Verlauf unterscheiden, oder ob Unterschiede der Protein C-Spiegel bei verstorbenen Patienten und überlebenden Patienten mit Sepsis bestehen. Des Weiteren sollten mögliche Ursachen für die verminderte Protein C- Expression in der schweren Sepsis diskutiert werden.

Bei einer Sepsis kommen verschiedene Ursachen für Gerinnungsstörungen in Betracht. Der TAT-Komplex wurde bestimmt, um zu klären, ob es im Verlauf der Sepsis zu einer Gerinnungsaktivierung bei den Patienten gekommen ist. Das würde für einen Verbrauch von Protein C als endogenem Inhibitor sprechen. Protein C ist bestimmt worden, um zu sehen, ob sich anhand der Höhe des Protein C - Spiegels eine prognostische Aussage für das Überleben treffen lässt. Der Faktor VII ist ausgewählt worden, da er bei vielen Leberfunktionsstörungen der erste

Parameter ist, der erniedrigt ist. Somit kann man auch etwas über den Einfluss einer etwaigen akuten Leberfunktionsstörung aussagen. Niedrige Faktor VII-Spiegel könnten damit für eine Protein C - Synthesestörung sprechen.

Ein Verdünnungseffekt bei einer Sepsis muss bei der Betrachtung von erniedrigten Laborparametern auch immer mitberücksichtigt werden. Deshalb wurde das Gesamteiweiß mitbestimmt. Anhand der gemessenen Laborparameter kann allerdings eine genetische Ursache für verminderte Protein C - Spiegel nicht nachgewiesen werden, aber auch nicht ausgeschlossen werden. Allerdings ist die Relevanz von Protein C - Polymorphismen für die Häufigkeit des Auftretens einer verminderten Protein C-Expression nicht vollständig geklärt (Couture, 1998; Gladson, 1988; Millar, 2000; Reitsma, 1997; Riess, 1998; Tait et al., 1995). Bislang wurden mehr als 300 Patienten mit verschiedenen Mutationen beschrieben. Die Durchführung von genetischen Untersuchungen für die Routinediagnostik von Gerinnungsstörungen im Rahmen einer Sepsis wäre zu aufwendig. Die Diagnose des Protein C-Mangels durch Aktivitäts- und/oder Antigenbestimmung ist für klinische Belange bei den meisten Patienten aussagekräftig genug, um die Diagnose zu stellen und die klinische Relevanz abschätzen zu können. Bei der Betrachtung von Gerinnungsstörungen bei Patienten mit Sepsis kommt nur die Betrachtung eines einfach heterozygoten Mangels in Frage, da ein homozygoter oder ein doppelt heterozygoter Mangel bereits bei Neugeborenen bzw. Säuglingen klinisch manifest wird. Diese Neugeborenen haben eine disseminierte intravasale Gerinnung mit schweren Hautnekrosen, arteriellen und venösen Thrombosen.

5.3. Protein C – Spiegel in der Sepsis

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, dass überlebende Patienten mit schwerer Sepsis im Vergleich zu verstorbenen Patienten höhere Protein C - Plasmaspiegel aufwiesen. Dabei war der Protein C-Spiegel bei den Überlebenden zum Zeitpunkt der Entlassung von der Intensivstation im Normbereich und signifikant höher als beim Einschluss in die Untersuchung.

Verminderte Protein C - Plasmaspiegel im Rahmen der schweren Sepsis können unterschiedliche Ursachen haben. Zum einen kann eine Synthesestörung der Leber ursächlich für verminderte Protein C - Spiegel sein. In der vorliegenden Untersuchung lagen die Plasmaspiegel von Faktor VII, des Faktors mit einer der kürzesten Halbwertszeiten von 2 – 3 Stunden, innerhalb des Referenzbereiches von 70 – 120 % und es fand sich kein signifikanter Unterschied beim Vergleich der verschiedenen Patientengruppen. Allerdings zeigte sich im zeitlichen Verlauf, dass überlebende Patienten mit schwerer Sepsis im Vergleich zu verstorbenen Patienten zum Untersuchungsende signifikant höhere Faktor VII-Plasmaspiegel aufwiesen, so dass eine mögliche Synthesestörung der Leber bei verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis als Ursache einer verminderten Protein C-Expression nicht auszuschließen ist.

Andererseits kann auch ein Verdünnungseffekt für die verminderten Protein C - Plasmaspiegel ursächlich sein. Dies erscheint in dieser Untersuchung eher unwahrscheinlich, da die Bestimmung des Gesamteiweiß im Gruppenvergleich und Verlauf keinen signifikanten Unterschied ergab.

Verminderte Protein C - Plasmaspiegel können auch genetisch bedingt sein. Es gibt mehr als 160 verschiedene bekannte Mutationen auf dem Protein C-Gen. Dabei gibt es verschiedene Genotypen mit einer verminderten Protein C-Expression. Allerdings ist die Relevanz von Protein C-Genpolymorphismen für die Häufigkeit des Auftretens einer verminderten Protein C-Expression in der Gesamtbevölkerung nicht vollständig geklärt (Couture et al., 1998; David et al., 2000; Gladson et al., 1988; Millar et al., 2000; Reitsma et al., 1997; Riess, 1998; Tait et al., 1995; Tuddenham et al., 1989). Allerdings gilt heute als unbestritten, dass ein heterozygoter Protein C – Mangel einen Risikofaktor für die Entstehung von venösen Thrombosen darstellt. Das relative Risiko, dass mit einem solchen heterozygoten Mangel verbunden ist, liegt bei sieben. D.h., dass Personen mit einem heterozygoten Protein C - Mangel im Durchschnitt siebenmal häufiger eine

venöse Thrombose bekommen können als gesunde Individuen. Zusätzliche Risiken spielen bei der Entstehung einer venösen Thrombose ebenfalls eine Rolle. So führt z.B. die Kombination eines Protein C – Mangels mit einer Faktor-V-Leiden Mutation zu einem wesentlichen höheren Risiko für eine venöse Thrombose als eine dieser Konditionen alleine. Auch sind nicht alle Protein C-Genmutationen als gleichwertig hinsichtlich der klinischen Manifestation zu betrachten. Es gibt Mutationen, die zu stärkeren Symptomen führen als andere Mutationen. So zeigte sich, dass eine geringe Reduktion des Protein C – Spiegels mit einem geringen Risiko für die Entstehung von venösen Thrombosen verbunden ist. Ein Protein C – Mangel wird in der Regel mittels einer Bestimmung des Protein C - Antigenpiegels oder der Protein C-Aktivität untersucht. Mit einer alleinigen Konzentrationsbestimmung, wie in dieser Untersuchung durchgeführt, kann nicht auf die Funktionalität der Protein C – Moleküle geschlossen werden. Es können also nur Typ I - Mängel erkannt werden. Mittels eines Protein C-Aktivitätstests könnte man auch den Typ II – Protein C Mangel erfassen. Diese Möglichkeit lag zum Zeitpunkt der Untersuchung noch nicht vor. Allerdings liegt die Frequenz für den heterozygoten Typ I – Mangel mit 76 % deutlich höher als für den heterozygoten Typ II – Mangel mit 12 % (Tab. 10).

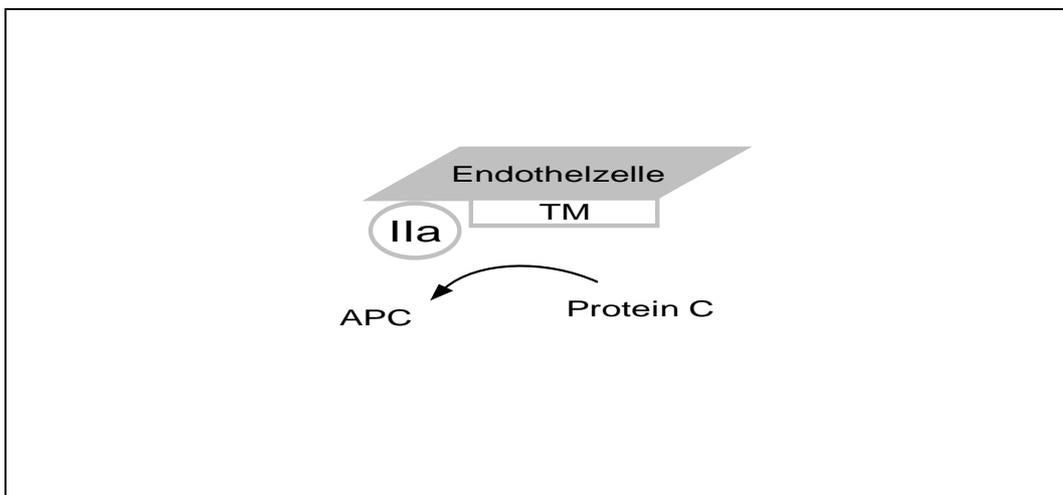
Diese Untersuchungsergebnisse unterliegen aber auch verschiedenen Einflüssen (z.B. einer Behandlung mit oralen Antikoagulantien, Entzündungsreaktionen). Für die genaue Differenzierung eines zugrunde liegenden angeborenen Protein C – Mangels im Rahmen einer Sepsis wäre somit die Verfügbarkeit eines einfachen Gentest notwendig. Solch ein Test steht aber aufgrund der starken Heterogenität der Mutationen derzeit nicht zur Verfügung (Texerau et al., 2004).

Die verminderten Protein C - Plasmaspiegel in der schweren Sepsis können ebenfalls durch einen erhöhten Verbrauch bedingt sein. Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse zeigen, dass die Aktivierung der Gerinnung, die mit der Messung des Thrombin-Antithrombin-Komplexes bestimmt wurde (Thomas, 2005), bei den Überlebenden im Vergleich zu den Verstorbenen signifikant geringer war. Das könnte daraufhin deuten, dass bei den verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis im Rahmen der vermehrten Gerinnungsaktivierung auch mehr Protein C als endogener Inhibitor der Gerinnung verbraucht worden ist.

Es nicht auszuschließen, dass das präfinale Stadium der verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis zum Zeitpunkt der letzten Bestimmungen der Gerinnungsparameter einen Einfluss auf den Inhibitoren-Spiegel hat und damit bei der kleinen Fallzahl die Aussagekraft der vorliegenden Ergebnisse beeinträchtigt ist.

Den erniedrigten Protein C - Plasmaspiegeln bei den verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis kann auch eine reduzierte Aktivierbarkeit von Protein C zu aPC zu Grunde liegen. Protein C wird durch den am Endothel lokalisierten Thrombin-Thrombomodulin-Komplex (Abb. 17) und den ebenfalls am Endothel lokalisierten EPCR aktiviert.

Abb. 17. Aktivierung von Protein C zu aktiviertem Protein C (aPC) durch den an der Endothelzelle lokalisierten Thrombin (IIa) - Thrombomodulin-Komplex



Aktiviertes Protein C (aPC) besitzt antikoagulatorische, antiinflammatorische und profibrinolytische Eigenschaften. Es inaktiviert die Faktoren Va und VIIIa und damit die beiden entscheidenden Faktoren der Gerinnung (Hoffmann et al., 2001). Zusätzlich entfaltet aPC profibrinolytische Eigenschaften, da eine Komplexinaktivierung des Plasminogen-Aktivator-Inhibitors-1 erfolgt, der dadurch nur noch in vermindertem Maße zur Inaktivierung von Plasminogenaktivatoren zur Verfügung steht (Hoffmann et al., 2001). APC vermindert damit zum einen die Bildung intravasaler Gerinnsel und fördert zum anderen durch die Stimulation der reaktiven Fibrinolyse die Thrombolyse. Des Weiteren vermindert aPC die Leukozytenadhäsion (Grinnell und Yan, 1998) am Endothel und die Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren durch Endothelzellen, Monozyten und Makrophagen, wodurch die systemische Entzündungsreaktion gehemmt wird (Bernhard et al., 2001; Brueckmann et al., 2005; Dhainaut et al., 2005, Esmon, 2004; Fourrier et al., 1992; Joyce et al., 2001; Riewald u. Ruf, 2003). Die Aktivierbarkeit von Protein C kann durch eine reduzierte Expression der Endothelrezeptoren

Thrombomodulin (Riess, 1998) und EPCR eingeschränkt sein. In der Studie von Faust et al. von 2001 zeigte sich, dass sich bei Kindern mit einem frühen Stadium einer Meningokokkensepsis (Tag 1) eine deutlich reduzierte Expression von Thrombomodulin und EPCR auf Endothel sowohl in thrombosierten als auch nicht thrombosierten Hautgefäßen fand. Diese Reduktion konnte nicht nur durch den Verlust von Endothelzellen erklärt werden. Es wird vermutet, dass diese Reduktion zusätzlich dadurch erklärt werden könnte, dass es unter dem Einfluss von Zytokinen und Endotoxin zu einer Herabregulierung der Gene, die für Thrombomodulin und EPCR kodieren, und zu einer enzymatischen Spaltung dieses Protein C-Aktivierungskomplexes kommen kann. Es zeigte sich, dass proinflammatorische Entzündungsmediatoren wie IL-1 und TNF- α die Thrombomodulinexpression herunterregulieren können (Bone, 2001; Brandtzaeg et al., 1989; Faust et al., 2001; Fourrier et al., 1992; Heuer et al., 2002).

Eine alternative Erklärung für einen niedrigen Protein C - Spiegel in der Sepsis ist, dass aktiviertes Protein C vermehrt an Zelloberflächen gebunden wird, durch Proteasen inaktiviert oder irgendwie in anderer Form aus der Blutzirkulation entfernt wird.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung waren die überlebenden und verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis hinsichtlich Alter, SOFA-Score und der Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation vergleichbar. Nur der bei der Aufnahme auf die Intensivstation erhobene SAPS II war bei den verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis knapp signifikant höher als bei den überlebenden Patienten. Das bedeutet, dass beide Gruppen im Hinblick auf den Schweregrad der Erkrankung weitestgehend vergleichbar waren (Tab. 5). Dies schließt allerdings eine höhere proinflammatorische Aktivität und damit eine verminderte Aktivierbarkeit von Protein C bei den verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis nicht aus.

In dieser Untersuchung hatten verstorbene Patienten im Vergleich zu überlebenden Patienten mit schwerer Sepsis signifikant niedrigere Protein C - Plasmaspiegel. Die verminderten Protein C - Plasmaspiegel in der schweren Sepsis können durch einen erhöhten Umsatz bei gleichzeitig gestörter Neusynthese bedingt sein. Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse zeigen, dass die Aktivierung der Gerinnung bei den Überlebenden im Vergleich zu den Verstorbenen im Verlauf signifikant abgenommen hatte. Daher dürfte bei den verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis im Rahmen der vermehrten Gerinnungsaktivierung auch mehr Protein C als endogener Inhibitor der Gerinnung verbraucht worden sein. Ob Protein C als Biomarker für die Prognose der Erkrankung bei Patienten mit schwerer Sepsis verwendbar ist, lässt sich anhand der geringen Fallzahl dieser Untersuchung nicht abschließend klären.

5.4 Einsatz von rekombinantem aktiviertem Protein C in der Sepsistherapie

Die Therapie der Sepsis besteht aus verschiedenen therapeutischen Strategien. Bei der Behandlung von septischen Patienten können drei grundlegende therapeutische Ansätze unterschieden werden. Dazu gehört 1. die kausale Therapie, 2. die supportive Therapie und 3. die adjuvanten Therapieansätze.

Bei der kausalen Therapie der Sepsis geht es um die Beseitigung der Ursache einer Sepsis durch die chirurgische Sanierung eines Entzündungsherdes, wie z.B. die Entfernung infizierten Fremdmaterials oder die Entfernung von infiziertem avitalem Gewebe. Auch eine resistenzgerechte antibiotische Therapie ist ein kausaler Ansatz in der Sepsistherapie. Wichtig ist, dass die potenziellen Therapiemaßnahmen möglichst rasch ergriffen werden. Eine Verzögerung kann die Prognose entscheidend verschlechtern. Die kausale Therapie ist somit der wichtigste therapeutische Ansatz und erfordert eine enge Zusammenarbeit von Intensivmedizinern mit den operativen Disziplinen.

Unter supportiver Therapie versteht man die intensivmedizinischen Maßnahmen, die zu einer Korrektur bzw. Herstellung gestörter Organfunktionen führen. Hierzu gehören die Therapie der Störung der Hämodynamik, lungenprotektive Beatmungsstrategien, eine intensivierete Insulintherapie, eine frühestmögliche enterale Ernährung, Nierenersatzverfahren bei akutem Nierenversagen, eine Thromboseprophylaxe und eine Stressulkusprophylaxe.

Die kausale Therapie und die supportive Therapie stellen die Basistherapie der schweren Sepsis da (Dhainaut et al., 2005; Dellinger et al., 2004; Doig et al., 2003; Meier-Heilmann, 2003). Sie dürfen auch angesichts neuer Therapieansätze nicht vernachlässigt werden.

Zu den adjuvanten Therapieansätzen rechnet man die Substitutionstherapie mit Hydrocortison bei Vasopressorbedarf im Rahmen eines septischen Schocks und die Behandlung mit Protein C, bzw. mit rekombinantem aktiviertem Protein C (rhAPC = Xigris®).

Die Bedeutung von Protein C als wichtigem Modulator der Gerinnung, der Fibrinolyse und der Entzündung in der schweren Sepsis wurde in den letzten Jahren zunehmend erkannt (Bernard et al., 2001; Bernard et al., 2003; Bernard et al., 2004; Brueckmann et al., 2003; Dempf, 2002; Murgu et al., 2003). Aktiviertes Protein C gehört zur Gruppe der Gerinnungshemmer. Niedrigere Protein C - Plasmaspiegel finden sich bei der Mehrzahl aller

Patienten mit Sepsis und sind mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko verbunden (Fisher et al., 2000; Fourrier et al, 1992; Gogos et al, 2003; Yan, 2001).

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung können ebenfalls zeigen, dass überlebende Patienten mit schwerer Sepsis signifikant höhere Protein C - Plasmaspiegel hatten als die Patienten, die im Rahmen der schweren Sepsis verstorben waren. Dabei wurde bei den verstorbenen Patienten im Rahmen der gesteigerten Gerinnungsaktivierung offensichtlich auch mehr Protein C als endogenes Antikoagulant verbraucht.

Deshalb wird postuliert, dass die Gabe von Protein C bzw. rhAPC, mit seinen antikoagulatorischen, profibrinolytischen und antiinflammatorischen Eigenschaften, die Gerinnung und das Überleben bzw. die Überlebensqualität von Patienten mit schwerer Sepsis verbessern kann.

Im Rahmen von experimentellen Studien wurden Paviane, denen intravenös eine letale Dosis von E.coli appliziert wurde, Protein C infundiert (Taylor et al., 1987). Alle so behandelten Tiere überlebten, während die Kontrolltiere alle verstarben. Die Verabreichung im Tiermodell zeigt eine ausgeprägte antikoagulatorische Wirkung. In diesen tierexperimentellen Untersuchungen waren die Blutungskomplikationen vernachlässigbar.

Die ersten Phase I-Studien wurden 1995 am Menschen durchgeführt. Ein Jahr darauf begann die Phase II-Studie bei Patienten mit schwerer Sepsis. Rekombinantes aktiviertes Protein C (Drotrecogin - α) führte zu einer signifikanten Senkung des D-Dimer-Antigenspiegels im Blut (Hartman et al., 1998).

Bernard et al. führten initial eine prospektiv randomisierte Phase-II-Studie zur Dosisfindung bei dem Einsatz von aktiviertem Protein C durch. Untersucht wurde die Auswirkung unterschiedlicher Dosen von Drotrecogin – α auf D-Dimer- und IL-6-Spiegel. Diese stellen Marker für die Gerinnungsaktivierung und den inflammatorischen Prozess bei Patienten mit schwerer Sepsis dar (Bernard, et al., 2001). 131 Patienten erhielten 0, 12, 18, 24 oder 30 μ g Drotrecogin – α /kg KG/h kontinuierlich über 48 oder 96h. Diese Studie zeigte, dass die Dosierung mit 24 μ g/kg KG/h Drotrecogin – α bei Patienten mit schwerer Sepsis über 96 h sicher war und zu einer deutlichen Reduktion von D-Dimer- und IL-6-Spiegeln führte. Es zeigte sich ebenfalls eine relative nicht signifikante Reduktion der 28-Tages-Mortalität um 15 %.

Im Anschluss an diese sehr viel versprechenden Ergebnisse der Phase-II-Studie wurde 1998 mit einer prospektiven, randomisierten, placebokontrollierten und multizentrischen Phase-III-Studie (PROWESS = Rekombinant Human Activated Protein C Worldwide Evaluation in

Severe Sepsis) begonnen. Primäres Studienziel war es, die Wirksamkeit von Drotrecogin – α (aktiviert) (rhAPC = rekombinantem humanen aktivierten Protein C) auf die 28-Tage-Mortalität bei Patienten mit schwerer Sepsis zu untersuchen. Einschlusskriterium waren Patienten mit einer schweren Sepsis, deren erstes sepsis-induziertes Organversagen nicht länger als 24 Stunden bestanden hat. Die Studie wurde im Jahre 2000 abgeschlossen.

In die PROWESS-Studie wurden gemäß einer umfangreichen Liste von Ein- und Ausschlusskriterien 1690 Patienten aus 164 Kliniken in 11 Ländern eingeschlossen. Aufgrund einer Zwischenanalyse, die einen eindeutigen Überlebensvorteil der Studien- gegenüber der Placebogruppe zeigte, wurde die Studie abgebrochen. Die Behandlung erfolgte doppelblind, entweder mit NaCl oder mit Drotrecogin – α . Die Studiengruppe (850 Patienten) erhielten 24 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG/h Drotrecogin – α kontinuierlich über 96 Stunden. Der APACHE II-Score der Patienten betrug in beiden Gruppen durchschnittlich 25. Das mittlere Alter lag bei 60 Jahren.

Das entscheidende ermutigende PROWESS-Studienergebnis war, dass die Gabe von aktiviertem Protein C verbunden gewesen ist mit einer signifikanten Reduktion der 28-Tage-Mortalität. Von den Patienten, die mit aktiviertem Protein C behandelt wurden, starben innerhalb von 28 Tagen 24,7 %, verglichen mit 30,8 % bei Patienten, die das Placebo erhielten ($p = 0,005$) (Bernard, et al. 2001). Dies entspricht einer absoluten Reduktion der Gesamtletalität um 6,1 %. Das relative Risiko zu sterben konnte um 19,4 % gesenkt werden. Die Zahl der Patienten mit Sepsis, die mit Drotrecogin – α behandelt werden müssen, um einen Todesfall zu verhindern, lag bei 16,4 Patienten („Number needed to treat“).

Auffallend ist auch die Beobachtung, dass die mit aktiviertem Protein C behandelten Patienten signifikant niedrigere D-Dimer- und IL-6-Spiegel hatten, was die beschriebenen antikoagulatorischen und antiinflammatorischen Effekte von aktiviertem Protein C auch im klinischen Einsatz betont (Derhaschnig, 2003; Satran et al., 2003; Smith et al., 1997; Smith und White, 1999).

Mit der Applikation der aktivierten Form des antikoagulanten Proteins deutet sich damit ein neuer adjuvanter Therapieansatz an, der sich von der reinen Substitution eines Gerinnungsinhibitors unterscheidet.

Eine Subgruppenanalyse zeigte, dass der Überlebensvorteil bei PROWESS am ausgeprägtesten bei schwerkranken Sepsispatienten mit einem APACHE II-Score von ≥ 25 bzw. bei dem Auftreten von mindestens 2 sepsisinduzierten Organversagen war (Doig et al., 2003; Parillo, 2005; Pastores, 2003; Siegel, 2002; Warren et al., 2002).

Dies führte zu einer Zulassung von Drotrecogin – α in den USA (2000) zur Behandlung von Patienten mit schwerer Sepsis und hohem Mortalitätsrisiko und in Deutschland bzw. der EU (2002) zur zusätzlichen intensivmedizinische Behandlung erwachsener Patienten mit schwerer Sepsis und multiplen Organversagen. Aktiviertes Protein C ist als Ergänzung der Behandlung der schweren Sepsis von erwachsenen Patienten zugelassen, bei denen ein hohes Risiko besteht, die Sepsis nicht zu überleben. Solche Patienten lassen sich am besten anhand geeigneter Punktesysteme identifizieren, beispielweise dem APACHE II-Score. So sind gemäß der PROWESS-Studie v.a. Patienten mit einem APACHE II-Score von ≥ 25 geeignet für eine Behandlung mit aktiviertem Protein C (Bernhard et al., 2001).

Allerdings zeigte sich auch, dass der Gebrauch von rhAPC mit einem größeren Blutungsrisiko (3,5 % vs. 2,0 %; $p = 0,06$) verbunden war (Bernhard et al., 2001; Garber et al., 2000; McCoy, 2004). Patienten mit Begleiterkrankungen, die ein erhöhtes Blutungsrisiko aufwiesen, wurden nicht in PROWESS eingeschlossen, so dass Kontraindikationen und Warnhinweise besonders beachtet werden sollten.

Absolute Kontraindikationen für eine Behandlung mit aktiviertem Protein C sind grundsätzlich alle Situationen, in denen ein erhöhtes Blutungsrisiko besteht. Folgende Situationen stellen eine absolute Kontraindikation für eine Therapie mit Drotrecogin – α dar: eine aktive innere Blutung, Operationen mit Vollnarkose oder Spinalanästhesie, die vor < 12 h stattgefunden haben oder unmittelbar bevorstehen, Traumata mit einem stark erhöhten Blutungsrisiko, gastrointestinale Blutungen mit einer Indikation zur Bluttransfusion, ein hämorrhagischer zerebraler Insult, Epiduralkatheter, eine bekannte Blutungsneigung (mit Ausnahme einer durch die Sepsis bedingten akuten Gerinnungsstörung), Thrombozytenzahl $< 30000/l$, eine gleichzeitige Heparintherapie (> 15 IE/kg/h), das Vorliegen einer Indikation zur hochdosierten gerinnungshemmenden oder fibrinolytischen Therapie, Patienten mit intrakraniellen pathologischen Veränderungen, vaskuläre Malformationen, ein Neoplasma oder der Hinweis auf eine zerebrale Herniation, eine schwere chronische Lebererkrankung und eine bestehende Schwangerschaft oder Stillzeit (Knöbl, 2005).

Relative Kontraindikationen bestehen bei einem INR > 3 , einer Therapie mit GPIIb/IIIa-Antagonisten oder fibrinolytisch wirkenden Substanzen 72 h vor Therapiebeginn mit Drotrecogin – α , einer hochdosierten Therapie mit unfraktioniertem oder niedermolekularem Heparin sowie direkten Thrombin-Inhibitoren 72 h vor Therapiebeginn mit Drotrecogin – α , einer Therapie mit Acetylsalicylsäure, Clopidogrel oder anderen Thrombozytenhemmstoffen sieben Tage vor

Therapiebeginn mit Drotrecogin – α , einer Therapie mit Antithrombinkonzentrat (> 10000 Einheiten) 12 h vor Therapiebeginn mit Drotrecogin – α , einer schweren chronischen Lebererkrankung mit einer portalen Hypertension, bekannte angeborene oder erworbene Blutungen und eine akute Pankreatitis (Knöbl, 2005; Morris et al., 2002).

Unklar ist jedoch, inwieweit eine Substitution von nicht aktiviertem Protein C zur Behandlung von Patienten mit schwerer Sepsis ebenfalls geeignet sein könnte. Erste Daten aus der Anwendung von nicht aktiviertem Protein C bei Meningokokkensepsis mit Purpura fulminans in einer prospektiven „open-label“- Studie ergaben ebenfalls positive Ergebnisse mit einer deutlichen Senkung der prädiktiven Mortalität von 50 % auf 8 % (White et al., 2000). Kontrovers wird derzeit im Hinblick auf diese Daten diskutiert, ob substituiertes natives Protein C bei einer schweren Sepsis wie einer Meningokokkensepsis hinreichend aktiviert werden kann (Aird, 2004; Conway et al., 1988; de Kleijn et al., 2003; Esmon, 2002; Faust et al., 2001; Kleinpell, 2003; Yan et al., 2001). Die Aktivierung von Protein C zu aktiviertem Protein C ist abhängig von einem Komplex aus Thrombin, Thrombomodulin, einem integralen Endotheloberflächenrezeptor. Die Aktivierung wird durch den EPCR verstärkt. Bei Patienten mit schwerer Sepsis liegt eine Endothelzell dysfunktion vor, so konnte z.B. Faust et al., 2001 zeigen, dass sich bei Patienten mit schwerer Meningokokkensepsis niedrigere Thrombomodulinspiegel auf dem Endothel von kleinen Hautgefäßen darstellen ließen. Conway et al., 1988 konnten zeigen, dass inflammatorische Zytokine wie z.B. IL-1 und TNF- α die Produktion von Thrombomodulin und EPCR auf der Ebene der Transkription herabregulieren können. Allerdings führte die Therapie mit nicht aktiviertem Protein C in einer Phase II – Studie an 40 Kindern mit Meningokokkensepsis und Purpura fulminans zu einem Anstieg des aktivierten Protein C und zu einer Reduktion der D-Dimere (Dempfle, 2005; de Kleijn et al., 2003; Lignell et al., 2003). Weitere Studien müssen folgen, um abschließend beurteilen zu können, ob auch eine Therapie mit nicht aktiviertem Protein C in der Therapie bei Patienten mit schwerer Sepsis in Frage kommt.

Vorteile der Gabe von nicht aktiviertem Protein C bei Patienten mit schwerer Sepsis sind die Korrektur des Verlusts bei schwerer Sepsis, die Tatsache, dass es erst an der Region des Risikos aktiviert wird. Dadurch kommt es lokal zu höheren Konzentrationen als systemisch. Höhere Dosen scheinen für eine optimale antiinflammatorische Funktion von Protein C notwendig zu sein. Die Aktivierung von Protein C wird bei einem Abfall des Thrombinspiegels ebenfalls fallen (Esmon, 2003).

Nachteilig bei einer Infusion mit nicht aktiviertem Protein C ist, dass der endogene Aktivierungskomplex im Rahmen einer schweren Sepsis möglicherweise kein funktionstüchtiges aktiviertes Protein C produzieren kann. Ebenfalls problematisch ist, dass möglicherweise der endogene Komplex bei Patienten mit schwerer Sepsis heruntergeregelt ist.

Auf der Grundlage, dass bei einer Sepsis eine Endotheldysfunktion mit verminderter Expression von Thrombomodulin vorliegt und damit die Aktivierung von Protein C bei Sepsis eingeschränkt ist, entwickelte man die Therapiestrategie bei schwerer Sepsis Protein C in aktivierter Form zu substituieren. Aktiviertes Protein C liegt heute als humanes rekombinantes Protein C (rhAPC = Drotrecogin - α) vor.

Die Vorteile bei der Therapie mit rhAPC sind, dass eine Dosisanpassung an die wirklich benötigte Dosis möglich ist, und dass therapeutische Dosen auch erreicht werden können, wenn der Aktivierungskomplex heruntergeregelt ist.

Demgegenüber steht, dass aktiviertes Protein C nicht so effektiv wie Protein C die Aktivierung von TAFI blockiert, dass die lokale Konzentration von aktiviertem Protein gleich der systemischen Konzentration sein wird. Damit besteht ein höheres Risiko für Blutungskomplikationen. Außerdem gibt es keine endogene Kontrolle, um genau an den Stellen, an denen das aktivierte Protein C benötigt wird, eine hohe lokale Konzentration zu erzeugen (Esmon, 2003).

Alternative Therapieformen zu einer Therapie mit Protein C bzw. aktiviertem Protein C sind die Therapie mit TFPI, Antithrombin III, TNF- α -Antikörpern und mit Immunglobulinen. Eine Therapie mit TFPI und AT konnte ebenfalls in kleineren Studien potenziell günstige Effekte zeigen. Aber lediglich für rhAPC konnte bislang in großen, multizentrischen Untersuchungen eine Effektivität bewiesen werden (O'Brien u. Abraham, 2003).

In der Untersuchung von Warren et al. von 2001 an 2300 Patienten konnte für hochdosiertes AT keine Überlegenheit bezüglich der 28-Tage Mortalität im Vergleich zu Placebo gezeigt werden. Lediglich ein Subkollektiv von Patienten, die keine niedrig dosierte Heparintherapie erhielten, schienen von der Therapie zu profitieren.

Eine große Multicenterstudie zur Effektivität von TFPI zeigte auch keinen letalitätssenkenden Effekt.

Der Einsatz von Drotrecogin - α ist mit erheblichen Kosten verbunden. Die Therapiekosten liegen pro Patient zurzeit bei ca. 7.500 Euro (Reinhart et al., 2003). Die Kosteneffektivität einer solchen Behandlung wurde von Manns et al. von 2002 untersucht. Sie haben festgestellt,

dass man für ein zusätzlich gewonnenes Lebensjahr für mit Drotrecogin – α (aktiviert) behandelte Patienten durchschnittlich 27.936 \$ aufwenden muss. Die Kosten waren mit 24.484 \$ pro gewonnenem Lebensjahr bei Patienten mit einem hohen Letalitätsrisiko (APACHE II-Score ≥ 25) geringer als bei solchen mit einem niedrigen Letalitätsrisiko (APACHE II-Score < 25 : 35.632 \$ pro gewonnenem Lebensjahr). Aus ökonomischer Sicht schlossen Manns et al., 2003 daher, dass Drotrecogin - α (aktiviert) bevorzugt bei Patienten mit einem APACHE II-Score von mindestens 25 Punkten unter Ausschluss prognostisch ungünstiger Nebenerkrankungen eingesetzt werden sollte. Beschränkt man den Einsatz auf diese Patienten, so liegt die durchschnittliche Anzahl an Patienten, die behandelt werden müssen, um bei einem Patienten ein ungünstiges Ereignis (Todesfall) zu verhindern bei acht Patienten („number needed to treat“).

In den letzten Jahren allerdings werden die Ergebnisse der PROWESS-Studie auf der Basis der ADDRESS-Studie (Abraham, 2005) stärker hinterfragt und Limitierungen der PROWESS-Studie aufgezeigt (Friedrich, 2006). So wurde z.B. die Rolle des Sponsors bei der Datenerhebung nicht explizit beschrieben. Auch die Maßnahmen für die Verblindung wurden nicht weiter beschrieben oder kontrolliert. Der „konsistente Effekt“ von Drotrecogin - α in allen Subgruppenanalysen wurde nicht mit exakten Zahlen belegt.

Eine weitere Limitierung der PROWESS-Studie war die sehr inhomogene Verteilung der Erkrankungen in der Drotrecogin-Gruppe verglichen mit der Placebogruppe. In der Placebo-Gruppe waren 8 verschiedene Vorerkrankungen häufiger vertreten als in der Drotrecogin-Gruppe. Einzelne Unterschiede waren sogar statistisch signifikant. Diese Schwächen sind in der Originalpublikation nicht diskutiert worden. Als problematisch wird auch der gewählte primäre Endpunkt der Studie (signifikante Senkung der 28-Tage Mortalität) angesehen, da eine Berücksichtigung der Lebensqualität der Patienten über diese 28 Tage hinaus nicht betrachtet wird.

Die Auswertung der PROWESS-Studie hatte gezeigt, dass Patienten mit einem APACHE II-Score < 25 weniger von einer Therapie mit Drotrecogin – α profitieren als Patienten mit einem APACHE II-Score ≥ 25 . Daher wurde eine neue Studie begonnen, die sich speziell mit Patienten mit APACHE II Score < 25 beschäftigt. Die ADDRESS-Studie konnte keinen Vorteil von Drotrecogin - α (aktiviert) bei Patienten mit schwerer Sepsis und eines niedrigen Mortalitätsrisikos zeigen. Sie zeigte sogar eine höhere Mortalität in der mit Drotrecogin - α behandelten Subgruppe bei einem APACHE II-Score von < 25 . So dass Abraham et al. die Empfehlung

ausgesprochen, Drotrecogin - α nur bei Patienten mit schwerer Sepsis (APACHE II-Score ≥ 25) einzusetzen (Dellinger et al., 2004; Meier-Heilmann, 2003; Zeerleder et al., 2005).

6. Zusammenfassung

Die schwere Sepsis ist eine häufige und trotz aufwendiger und intensiver Forschung eine nach wie vor mit einer hohen Morbidität und Letalität assoziierte Erkrankung. Die Forschung zur Sepsis der letzten Jahre hat zunehmend die Gerinnung in den Mittelpunkt der pathophysiologischen und therapeutischen Überlegungen gestellt. Einige Substanzen sind im Rahmen von verschiedenen Studien unter prognostisch-diagnostischen als auch therapeutischen Aspekten untersucht worden. Protein C bzw. aktiviertes Protein C scheint ein gut verwertbarer prognostisch-diagnostischer Parameter für die Mortalität der schweren Sepsis zu sein.

Diese Arbeit untersuchte, inwieweit sich Protein C-Plasmaspiegel bei Patienten mit einer systemischen Entzündungsreaktion oder einer schweren Sepsis im Verlauf unterscheiden. Es sollte auch untersucht werden, ob Unterschiede der Protein C-Spiegel bei verstorbenen Patienten und überlebenden Patienten mit Sepsis bestehen.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurden die Protein C - Plasmaspiegel prospektiv über die Dauer des gesamten Aufenthaltes auf der Intensivstation bei Patienten mit einer schweren Sepsis und Patienten mit einer systemischen Entzündungsreaktion bestimmt.

Patienten mit einer systemischen Entzündungsreaktion (SIRS) unterschieden sich im Vergleich zu Patienten mit schwerer Sepsis nicht bezüglich der gemessenen Plasmaspiegel von Protein C.

Verstorbene Patienten hatten im Vergleich zu überlebenden Patienten mit schwerer Sepsis signifikant niedrigere Protein C – Plasmaspiegel.

Die verminderten Protein C – Plasmaspiegel deuten daraufhin, dass bei den verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis im Rahmen der vermehrten Gerinnungsaktivierung offensichtlich auch mehr Protein C verbraucht worden zu sein scheint. Die Untersuchungsergebnisse lassen vermuten, dass Protein C als Biomarker für die Prognose der Erkrankung bei Patienten mit schwerer Sepsis verwendbar ist.

Aufgrund der vorliegenden Untersuchung und der aktuellen Studienlage zur Diagnostik und Therapie der Sepsis könnte Protein C bzw. aktiviertes Protein C einen wichtigen prognostischen Parameter und die Substitution einen sinnvollen adjuvanten Therapieansatz in der Sepsis darstellen.

7. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

Tabellen

Tab. 1	Verteilung der infektiösen Streuherde
Tab. 2	Bewertungskriterien für ein Multiorganversagen (The Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) -Score)
Tab. 3	Daten der Intensivpatienten mit schwerer Sepsis und systemischer Entzündungsreaktion (SIRS)
Tab. 4	Daten der Intensivpatienten aufgeschlüsselt nach Ursachen für Sepsis bzw. SIRS
Tab. 5	Daten der überlebenden und verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis.
Tab. 6	Ergebnisse der Analysen der Gerinnungsparameter bei den überlebenden Patienten mit schwerer Sepsis (n = 19)
Tab. 7	Ergebnisse der Analysen der Gerinnungsparameter bei den verstorbenen Patienten mit schwerer Sepsis (n = 13)
Tab. 8	Labordiagnostik entsprechend der Phaseneinteilung der disseminierten intravasalen Gerinnung
Tab. 9	Gerinnungsphysiologische Veränderungen bei Sepsis - Gerinnungsdiagnostische Laborparameter
Tab. 10	Verschiedene Formen des hereditären Protein C-Mangels. Analyse von 320 Patienten aus der Reitsma-Datenbank des Protein C-Mangels
Tab. 11	Labordiagnostik des hereditären Protein C-Mangels

Abbildungen

Abb. 1	Circulus vitiosus bei Infektionen, Sepsis und Multiorganversagen
Abb. 2	Ätiopathogenese von SIRS, Sepsis und Multiorganversagen
Abb. 3	Gerinnungsmodell auf Zellbasis
Abb. 4	Koagulatorische Faktoren und inhibitorische Faktoren der Gerinnung
Abb. 5	Gerinnungsmodell auf Zellbasis – Einfluss von Antithrombin III
Abb. 6	Gerinnungsmodell auf Zellbasis – Einfluss von Protein C

- Abb. 7 Fibrinolytisches System
- Abb. 8 Pathophysiologie der Verbrauchskoagulopathie
- Abb. 9 Verbrauchskoagulopathie: Einteilung in klinische Stadien von I – III
- Abb. 10 Inflammatorische Antwort auf eine Gerinnung
- Abb. 11 Rolle des aktivierten Protein C bei schwerer Sepsis und seine Beziehungen zu Mediatoren der Inflammation, Koagulation und Fibrinolyse
- Abb. 12 Plasmaspiegel von Protein C, Thrombin-Antithrombin-Komplex und Faktor VII bei Patienten mit systemischer Entzündungsreaktion und Patienten mit schwerer Sepsis
- Abb. 13 Plasmaspiegel von Protein C, Thrombin-Antithrombin-Komplex und Faktor VII bei verstorbenen und überlebenden Patienten mit schwerer Sepsis
- Abb. 14 Infektion, Entzündung und das Gerinnungssystem
- Abb. 15 Thromboplastinzeit (Quick-Test)
- Abb. 16 aktivierte Thromboplastinzeit (aPTT)
- Abb. 17 Aktivierung von Protein C zu aktiviertem Protein C (aPC) durch den an der Endothelzelle lokalisierten Thrombin (IIa) – Thrombomodulin-Komplex

8. Literaturverzeichnis

1. Abraham E, Laterre RF et al. Dotrecogin alfa (activated) for adults with severe sepsis and a low risk of death. *N Engl J Med* 2005; 353: 1332-1341
2. Aird WC. Natural anticoagulant inhibitors: activated Protein C. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2004; 17: 161-182
3. Amaral A, Opal SM, Vincent JL. Coagulation in sepsis. *Intensive Care Med* 2004; 30: 1032-1040
4. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29: 1303-1310
5. D'Angelo A, Vigano-D'Angelo S, Esmon CT, Comp PC. Acquired deficiencies of protein S. Protein S activity during oral anticoagulation, in liver disease, and disseminated intravascular coagulation. *J Clin Invest* 1988; 81: 1445-1454
6. Asakura H, Ontachi Y, Mizutani T, Kato M, Ito T, Saito M, Morishita E, Yamazaki M, Aoshima K, Takami A, Yoshida T, Suga Y, Miyamoto K. Decreased plasma activity of antithrombin or protein C is not due to consumption coagulopathy in septic patients with disseminated intravascular coagulation. *Eur J Haematol* 2001; 67: 170-175
7. Bajzar L, Nesheim ME, Tracy PB. The profibrinolytic effect of activated Protein C in clots formed from plasma is TAFI-dependent. *Blood* 1996; 1996: 2093-2100
8. Bajzar L. Thrombin activatable Fibrinolysis Inhibitor and an antifibrinolytic pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2511-2518

9. Balk RA. Severe sepsis and septic shock. Definitions, epidemiology, and clinical manifestation. *Crit Care Clin* 2000; 16: 179-192
10. Bernard GR, Ely EW, Wright TJ, Fraiz J, Stasek JE, Russell JA, Mayers I, Rosenfeld BA, Morris PE, Yan SB, Helterbrand JD. Safety and dose relationship of recombinant human activated protein C for coagulopathy in severe sepsis. *Crit Care Med* 2001; 29: 2051-2059
11. Bernard GR, Margolis BD, Shanies HM, Ely EW, Wheeler AP, Levy H, Wong K, Wright T. Extended Evaluation of Recombinant Protein C United States Trial (ENHANCE US). *Chest* 2004; 125: 2206-2216
12. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, Steingrub JS, Garber GE, Helterbrand JD, Ely EW, Fisher CJ Jr. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Eng Med* 2001; 344: 699-709
13. Bernard GR, Macias WL, Joyce DE, Williams MD, Bailey J, Vincent JL. Safety assessment of drotrecogin alfa (activated) in the treatment of adult patients with severe sepsis. *Critical Care* 2003;7: 155-163
14. Boldt J, Papsdorf M, Rothe A, Kumle B, Piper S. Changes of the hemostatic network in critically ill patients – Is there a difference between sepsis, trauma, and neurosurgery patients? *Crit Care Med* 2000; 28: 445-450
15. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991;115: 457-469
16. Bone RC. Modulators of coagulation. A critical appraisal of their role in sepsis. *Arch Intern Med* 1992; 152: 1381-1389

17. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al.. ACCP/SCCM Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Medicine* 1992; 20: 864-874
18. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992; 101: 1644-1655.
19. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 1997; 112: 235-243
20. Brandtzaeg P, Sandest PM, Joo GB, Ovstebo R, Abildgaard U, Kierulf P. The quantitative association of plasma endotoxin, antithrombin, protein C, extrinsic pathway inhibitor and fibrinopeptide A in systemic meningococcal disease. *Thromb Res* 1989; 55: 459-470
21. Brueckmann M, Wizemann J, Hoffmann U, Seeger M, Bewig B. Clinical and laboratory effects of recombinant human activated protein c in the treatment of a patient with sepsis-induced multiple organ failure. *Thromb Res* 2003; 109: 259-263
22. Brueckmann M, Horn S, Lang S, Fukudome K, Schulze-Nahrup A, Hoffmann U, Kaden JJ, Boggrefe M, Haase KK, Huhle G. Recombinant human activated Protein C upregulates cyclooxygenase-2 expression in endothelial cells via binding to endothelial C receptor and activation of protease-activated receptor-I. *Thromb Haemost* 2005; 93: 743-750
23. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J and the French Bacteremia-Sepsis Study Group. Bacteremia and Severe Sepsis in Adults: A multicenter Prospective Study in ICUs and Wards of 24 Hospitals. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 617-624

24. Brun-Buisson C. The epidemiology of the systemic inflammatory response. *Intensive Care Med* 2000; 26: S64-S74
25. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 2002; 420: 885-891
26. Conway EM, Rosenberg RD. Tumor Necrosis Factor suppresses transcription of the thrombomodulin gene in endothelial cells. *Molecular and Cellular Biology* 1988; 8: 5588-5592
27. Couture P, Demers C, Morissette J, Delage R, Jomphe M, Couture L, Simard J. Type I protein C deficiency in French Canadians: evidence of a founder effect and association of specific protein C gene mutations with plasma protein C levels. *Thromb Haemost* 1998; 80: 551-556
28. David M, Losonczy H, Sas G, Nagy A, Kutscher G, Meyer M. Identification of mutations in 15 Hungarian families with hereditary protein C deficiency. *British Journal of Haematology* 2000; 111: 129-135
29. de Kleijn ED, de Groot R, Hack CE, Mulder PG, Engl W, Moritz B, Joosten KF, Hazelzet JA. Activation of protein C following infusion of protein c concentrate in children with severe meningococcal sepsis and purpura fulminans: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, dose-finding study. *Crit Care Med* 2003; 31: 1839-47
30. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H. Surviving sepsis campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 2004; 30: 536-555
31. Dempfle CE. Diagnose Sepsis: Hämaostatische Imbalance und Rolle des aktivierten Protein C. *Krankenpflege Journal* 2002; 40:316
32. Dempfle CE. Gerinnungsstörungen bei Sepsis. *Haemostaseologie* 2005; 25: 183-189

33. Derhaschnig U, Reiter R, Knöbl P, Baumgartner M, Keen P, Jilma B. Recombinant human activated protein C (rhAPC; drotrecogin alfa [activated]) has minimal effect on markers of coagulation, fibrinolysis, and inflammation in acute human endotoxemia. *Blood* 2003;102:2093-2098
34. Dettenmeier P, Swindell B, Stroud M, Arkins N, Howard A. Role of activated protein C in pathophysiology of severe sepsis. *Am J Crit Care* 2003; 12: 518-524
35. Dhainaut JF, Shorr AF, Macias WL, Kollef MJ, Levi M, Reinhart K, Nelson DR. Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: Relationship with mortality and organ failure. *Crit Care Med* 2005; 33: 341-348
36. Doig CJ, Laupland KB, Zygun DA, Manns BJ. The epidemiology of severe sepsis syndrome and its treatment human activated protein C. *Expert Opin Pharmacother* 2003; 4: 1789-1799
37. Esmon CT, Taylor FB Jr, Snow TR. Inflammation and coagulation: linked processes potentially regulated through a common pathway mediated by protein C. *Thromb Haemost* 1991; 66: 160-165
38. Esmon CT. Introduction: are natural anticoagulants candidates for modulating the inflammatory response to endotoxin? *Blood* 2000 (a); 95: 1113-1116
39. Esmon CT. The protein C pathway. *Crit Care Med* 2000 (b); 28: S44-8
40. Esmon CT. Protein C pathway in sepsis. *Ann Med* 2002; 34: 598-605
41. Esmon CT, The Protein C Pathway. *Chest* 2003; 124: 26-32
42. Esmon CT. Structure and functions of the endothelial cell protein C receptor. *Crit Care Med* 2004; 32: 298-301

43. Esmon CT. Crosstalk between inflammation and thrombosis. *Maturitas* 2004;24: 305-314
44. Espana F, Medina P, Navarro S, Zorio E, Estelles A, Aznar J. The multifunctional protein C system. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 2005; 3: 119-131
45. Faust SN, Levin M, Harrison OB, Goldin RD, Lockhart MS, Kondaveeti S, Laszik Z, Esmon CT, Heyderman RS. Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis. *N Engl J Med* 2001; 345: 408-416
46. Fijnvandraat K, Derkx B, Peters M, Bijlmer R, Sturk A, Prins MH, van Deventer SJH, ten Cate JW. Coagulation activation and tissue necrosis in meningococcal septic shock. *Thrombosis and Hemostasis* 1995; 73: 15-20
47. Fisher Jr CJ, Yan SB. Protein C levels as a prognostic indicator of outcome in sepsis and related diseases. *Crit Care Med* 2000; 28: S49-S56
48. Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrycs S, Caron C, Rime A, Marey A, Letavel P. Septic shock, multiple organ failure, and disseminated intravascular coagulation. Compared patterns of antithrombin III, protein C, and protein S deficiencies. *Chest* 1992; 101: 816-823
49. Friedrich J O. Dotrecogin alfa (activated) in severe sepsis. *N Engl J Med* 2006; 354: 94-95
50. Garber K. Protein C may be sepsis solution. *Nature Biotechnology* 2000; 18: 917-918
51. Gladson CL, Scharrer I, Hach V, Beck KH, Griffin JH. The frequency of type I heterozygous protein S and protein C deficiency in 141 unrelated young patients with venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1988; 59: 18-22

52. Gogos CA, Lekkou A, Papageorgiou O, Siagris D, Skoutelis A, Bassaris HP. Clinical prognostic markers in patients with severe sepsis: a prospective analysis of 139 consecutive cases. *Journal of Infection* 2003; 47: 300-306
53. Grinnell BW, Yan SB. Novel antithrombotics based on modulation of the protein C pathway. *Coronary artery disease* 1998;9: 89-97
54. Hantke M, Holzer K, Thöne S, Schmandra Th, Hanisch E. Der SOFA-Score in der Beurteilung septischer Krankheitsbilder. *Chirurg* 2000; 71: 1270-1276
55. Heuer L, Blumenberg D. Rekombinanter Faktor VIIa (NovoSeven®) Ein Überblick über aktuelle und mögliche zukünftige Indikationen. *Anaesthesist* 2002; 51: 388-399
56. Hoffmann M, Monroe DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Hemost* 2001; 85: 958-65
57. Hotchkiss RS, Karl IE. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348: 138-150
58. Iba T, Kidokoro A, Fukunaga M, Sugiyama K, Sawada T, Kato H. Association between the severity of sepsis and the changes in hemostatic molecular markers and vascular endothelial damage markers. *Shock* 2005 (a); 23: 25-29
59. Iba T, Kidokoro A, Fukunaga M, Nagakari K, Shirahama A, Ida Yukiko. Activated protein C improves the visceral microcirculation by attenuating the leukocyte-endothelial interaction in a rat lipopolysaccharide model. *Crit Care Med* 2005 (b); 33: 368-372
60. Iqbal O, Messmore H, Fareed J, Ahmad S, Hoppenstaedt D, Shadid H, Tobu M, Aziz S, Wehrmacher W. *Expert Opin. Emerging Drugs* 2002; 7 (1):111-139
61. Jacobi J. Pathophysiology of sepsis. *Am J Health Syst Pharm* 2002; 59: S3-S8

62. Joyce DE, Gelbert L, Ciaccia A, DeHoff B, Grinell BW. Gene expression profile of antithrombotic protein c defines new mechanisms modulating inflammation and apoptosis. *J Biol Chem* 2001; 276:11199-203
63. Kanji S, Devlin JW, Piekos KA, Rocine E. Recombinant human activated protein C, dotrecogin alfa (activated): a novel therapy for severe sepsis. *Pharmacotherapy* 2001; 21: 1389-1402
64. Kleinpell R. Advances in Treating Patients with Severe Sepsis: Role of Drotrecogin Alfa (Activated). *Crit Care Nurse* 2003, 23: 16-29
65. Knöbl P. Pathophysiologie und Therapie von Sepsis-assoziierten Gerinnungs-störungen. *WMW* 2002; 21/22: 559-563
66. Knöbl P (2005) Protein C – Aktuelle Bedeutung in der Intensivmedizin. 1. Auflage; UNI-MED-Verlag AG Bremen
67. Kunsdorf-Wnuk A, Marzec-Lewenstein E, Arct-Danielak D, Musiol E, Bohatryrewicz R, Becht R. The use of recombinant human activated protein C (rhAPC) in the treatment of severe sepsis in immunosuppressed patients in the course of hematologic disease. *Med Sci Monit* 2005;11: CS49-55
68. Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on European/North American multicenter study. *JAMA* 1993; 270: 2957-2963
69. Lensen RPM, Rosendaal FR, Kosler T, Allaart CF, de Ronde H, Vandenbroucke JP, Reitsma PH, Bertina RM. Apparent different thrombotic tendency in patients with factor V Leiden and protein C deficiency due to selection of patients. *Blood* 1996; 88: 4205-4208
70. Leonhardt U, Engelmann L. Diagnostik und Therapie der disseminierten intravasalen Gerinnung. *Medizin im Dialog* 2001; 2: I-VI

71. Levi M, van der Poll T, ten Cate H, van Deventer SJH. The cytokine-mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanisms in sepsis and endotoxaemia. *European Journal of Clinical Investigation* 1997; 27: 3-9
72. Levi M, ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *NEJM* 1999;341: 586-592
73. Levi M, Keller T, van Gorp E, ten Cate H. Infection and inflammation and the coagulation system. *Cardiovascular research* 2003; 60: 26-39
74. Levi M. Current understanding of disseminated intravascular coagulation. *British Journal of Hematology* 2004;124: 567-576
75. Liaw PC, Mather T, Oganessian N, Ferrell GL, Esmon CT. Identification of the Protein C/Activated Protein C Binding Sites on the Endothelial Cell Protein C Receptor. *J Biol Chem* 2001; 276: 8364-8370
76. Liaw PC. Endogenous protein C activation in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 2004; 32: S214-218
77. Liaw PCY, Esmon CT, Kahnamoui K, Schmidt S, Kahnamoui S, Ferrell G, Beaudin S, Julian J A, Weitz J I, Crowther M, Loeb M, Cook D. Patients with severe sepsis vary markedly in their ability to generate activated protein C. *Blood* 2004; 104: 3958-3964.
78. Lignell A, Siegbahn A, Stridsberg M, Pauksen K, Gedeborg R, Sjolín J. Low utilisation of unactivated protein C in a patient with meningococcal septic shock and disseminated intravascular coagulation. *Acta Anaesthesiol Scand* 2003; 47: 897-900
79. Mahidhara R, Billiar T. Apoptosis in sepsis. *Crit Care Med* 2000; 28: N105-N115
80. Manns BJ, Lee H, Doig CJ, Johnson D, Donaldson C. An economic evaluation of Activated Protein C Treatment for Severe Sepsis. *N Engl J Med* 2002; 347: 993-1000

81. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003; 348: 1548-1554
82. Matthay MA. Severe Sepsis – a new treatment with both anticoagulant and inflammatory properties. *N Engl Med* 2001; 344: 759-762
83. McCoy Ch. Safety of dotrecogin alfa (activated) in the treatment of patients with severe sepsis. *Expert Opin Drg Saf* 2004; 3: 625-637
84. Meier-Hellmann A. Standards in der Diagnostik und Therapie der Sepsis. *Anästhesiol Intensivmed Schmerzth* 2003; 38: 107-135
85. Mesters RM, Helterbrand J, Utterback BG, et al.. Prognostic value of protein C levels in neutropenic patients at high risk of severe septic complications. *Crit Care Med* 2000; 28: 2209-2216
86. Millar DS, Johansen B, Berntorp E, Minford A, Bolton-Maggs P, Wensley R, Kakkar V, Schulman S, Torres A, Bosch N, Cooper DN. Molecular genetic analysis of severe protein C deficiency. *Hum Genet* 2000;106: 646-653
87. Morris PE, Light RB, Garber GE, Identifying patients with severe sepsis who should not be treated with dotrecogin alfa (activated). *The American Journal of Surgery* 2002; 184: 19S-24S
88. Mosnier LO, Gale AJ, Yegneswaran S, Griffin JH. Activated Protein C variants with normal cytoprotective but reduced anticoagulant activity. *Blood* 2004; 104: 1740-1744
89. Murgo M, Adamson H, Boyle M. The use of activated protein C (drotrecogin alfa (activated) in the treatment of severe sepsis). *Aust Crit Care* 2003; 16: 133-143

90. O'Brien JM Jr, Abraham E. New approaches to the treatment of sepsis. *Clin Chest Med* 2003; 24: 521-548
91. Opal SM, Esmon CT. Bench-to-bedside review: Functional relationship between coagulation and the innate immune response and their respective roles in the pathogenesis of sepsis. *Critical Care* 2003;7: 23-88
92. Parillo JE. Severe sepsis and therapy with activated Protein C. *N Engl J of Med* 2005; 335;13: 1398-1400
93. Pastores SM. Dotrecogin alfa (activated): a novel therapeutic strategy for severe sepsis. *Postgraduate Medical Journal* 2003;79: 5-10
94. Patel GP, Gurka DP, Balk RA. New treatment strategies for severe sepsis and septic shock. *Curr Opin Crit Care* 2003; 9: 390-396
95. Reinhart K, Brunkhorst FM, Bloos F. Fortschritte in der Therapie der Sepsis. *Deutsches Ärzteblatt* 2003; Jg. 100, 31-32: A 2080-2086
96. Reitsma PH. Protein C deficiency: from gene defects to disease. *Thromb Haemost* 1997; 78: 344-350
97. Rezaie AR. Vitronectin functions as a cofactor for rapid inhibition of activated protein C by plasminogen activator Inhibitor 1. *J Biol Chem* 2001; 276: 15567-15570
98. Riedemann NC, Krettek C. Aktuelle Aspekte zur Pathophysiologie der Sepsis. *Kliniker* 2004; 33:162-166
99. Riess H. Hämostasestörungen im Umfeld von Sepsis und SIRS. *Internist* 1998; 39: 479-484

100. Riewald M, Ruf W. Science review: Role of coagulation protease cascades in Sepsis. *Critical Care* 2003; 7: 123-129
101. Roberts HR, Hoffmann M, Monroe DM. A cell-based model of thrombin generation. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2006; 32: S32-S38
102. Salvo I, de Cian W, Musicco M, Langer M, Piadena R, Wolfler A, Montani C, Magni E. The italian sepsis study: Preliminary results on the incidence and evolution of SIRS, sepsis, severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 1995; 21: S244-S249
103. Satran R, Almog Y. The coagulopathy of sepsis: pathophysiology and management. *IMAJ* 2003; 5 :516-520
104. Siegel JP. Assessing the use of activated protein C in the treatment of severe sepsis. *N Engl Med* 2002; 347: 1030-1034
105. Smith OP, White B, Vaughan D, Rafferty M, Claffey L, Lyons B, Casey W. Use of protein C, heparin, and hemofiltration in meningococcos-induced purpura fulminans. *The Lancet* 1997; 350: 1590-1593
106. Smith OP, White B. Infectious purpura fulminans: Diagnosis and treatment. *Brit J Haematol* 1999; 104: 202-207
107. Stefanec T. Endothelial Apoptosis. Could it have a role in the Pathogenesis and Treatment of Disease? *Chest* 2000; 117: 841-854
108. Sturn DH, Kaneider NC, Feistritzer C, Djanani A, Fukudome K, Wiedemann CJ. Expression and function of the endothelial protein C receptor in human neutrophils. *Blood* 2003;102: 1499-1505

109. Tait RC, Walker ID, Reitsma PH, Islam SI, McCall F, Poort SR, Conkie JA, Bertina RM. Prevalence of protein C deficiency in the healthy population. *Thromb Haemost* 1995; 73: 87-93
110. Taylor Jr FB, Chang A, Esmon CT, D'Angelo A, Vigano-D'Angelo S, Blick KE. Protein C Prevents the Coagulopathic and Lethal Effects of Escherichia coli Infusion in the Baboon. *J Clin Invest* 1987; 79: 918-925
111. ten Cate H. Pathophysiology of disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med* 2000; 28: S9-S11
112. Texerau J, Pene F, Chiche JD, Rousseau C, Mira JP. Importance of hemostatic gene polymorphism for susceptibility to and outcome of severe sepsis. *Crit Care Med* 2004; 32: S313 – S319
113. Thomas L (2005) *Labor und Diagnose*. 6. Auflage; Th Books Verl. GmbH Frankfurt/Main : 849-852; 871-877
114. Tuddenham EG, Takase T, Thomas AE, Awidi AS, Madanat FF, Abu Hajir MM, Kernhoff PB, Hoffbrand AV. Homozygous protein C deficiency with delayed onset of symptoms at 7 to 10 months. *Thromb Res* 1989; 53: 475-484
115. Vincent JL, Bihari D, Suter PM, et al.. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe – The results of the EPIC study. *JAMA* 1995; 274: 639-644
116. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of the Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 1996; 22: 707-710

117. Vincent JL, De Mendonca A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, Sprung CL, Colardyn F, Blecher S. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med* 1998; 26: 1793-1800
118. Warren HS, Suffredini AF, Eichhacker PQ, Munford RS. Risks and benefits of activated Protein C treatment for severe sepsis. *N Engl Med* 2002; 347: 1027-1030
119. Weigand MA, Bardenheuer HJ, Böttiger BW. Klinisches Management bei Patienten mit Sepsis. *Anästhesist* 2003; 53: 3-22
120. Werdan K, Schuster H-P, Müller-Werdan U. Sepsis und MODS. Springer-Verlag, 4.Auflage 2005
121. Wheeler AP, Bernhard GR. Treating patients with severe Sepsis. *N Engl J Med* 1999; 340: 207-214
122. Whitte B, Livingstone W, Murphy C, Hodgson A, Rafferty M, Smith OP. An open-label study of the role of adjuvant hemostatic support with protein C replacement therapy in purpura fulminans-associated meningococemia. *Blood* 2000; 96: 3719-3724
123. Yan SB, Grinnell BW. Recombinant human protein C, protein S, and thrombomodulin as antithrombotics. *Perspect Drug Discovery Des* 1993; 1: 503-520
124. Yan SB, Dhainaut JF. Activated protein C versus protein C in severe sepsis. *Crit Care Med* 2001;29: S69-S74
125. Yan SB, Helterbrand JD, Hartmann DL, Wright TJ, Bernard GR. Low levels of protein C are associated with poore outcome in severe sepsis. *Chest* 2001; 120: 915-922.

126. Zeerleder S, Hack C, Willemin A. Disseminated intravascular coagulation in sepsis. Chest 2005; 128: 2864-2875

9. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt an erster Stelle Herrn Privatdozent Dr. med Stefan Schröder für die Überlassung des Themas und die unermüdliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit. Seine fachliche Beratung und konstruktive Kritik führten zu einer Bereicherung während der Erstellung der vorliegenden Arbeit.

Für die Begleitung in der Anfangsphase möchte ich außerdem Herrn Privatdozent Dr. med. Frank Stüber herzlich danken.

Bei Herrn Professor Dr. med. Andreas Hoefft bedanke ich mich für die freundliche Überlassung seiner labortechnischen Einrichtung und die Möglichkeit, die Patienten auf den operativen Intensivstationen betreuen zu dürfen.

Bei Herrn Dr. Dr. Hertfelder bedanke ich mich bezüglich der Unterstützung bei den hämostaseologischen Untersuchungen.

Meiner Familie danke ich sehr herzlich für das mir entgegengebrachte Verständnis und die außergewöhnliche Unterstützung, die von unschätzbarem Wert für mich waren.

Dem Georg Thieme Verlag KG danke ich für die Erlaubnis, die Abbildungen aus der Publikation zu meinem Promotionsthema mit dem Titel „Untersuchungen zur verminderten Protein-C-Expression in der schweren Sepsis. Manekeller S, Hertfelder HJ, von Spiegel T, et al. Zentralbl Chir. 2005; 130: 362-367“ zu übernehmen.