

Diplomarbeit

**Rekombinantes humanes aktiviertes Protein C (Xigris®),
ein innovatives Medikament in der modernen
Sepsisbehandlung?**

Eingereicht von

Markus Kurbes

Geb. Dat.: 17.03.1984

Zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

Ausgeführt am

Institut für Physiologie

Unter der Anleitung von
Ao. Univ.-Prof.ⁱⁿ Dr. phil. Anna Gries

Graz, März 2012

Unterschrift

Markus KURBES

I

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, März 2012

Unterschrift

Danksagung

Ich möchte zu Beginn meiner Betreuerin, Frau Ao. Univ-Prof.ⁱⁿ Dr. Anna Gries, für ihre Unterstützung und Geduld beim Entstehen dieser Arbeit danken.

Ich danke meinen Eltern, Irmgard und Rüdiger, die mir nicht nur meine Ausbildung ermöglicht haben, sondern auch immer für mich da waren und mich zu dem Menschen gemacht haben, der ich heute bin.

Danke an meine Oma Lore, meinen Opa Norbert, und ganz besonders meiner Oma Lia, die leider im Oktober 2011 von uns gegangen ist. Vielen Dank für die Unterstützung während meiner gesamten Studienzzeit.

Besonders danke ich auch meiner lieben Freundin Bettina. Danke für deine Liebe, Geduld und Unterstützung in jeder Situation, und dass ich mich immer auf dich verlassen kann!

Ebenfalls möchte ich mich bei der Familie meiner Freundin bedanken. Ein besonderes Dankeschön an Wilfried, der mich mit seinem Fachwissen unterstützt hat.

Danke ebenfalls an alle meine Freunde, die mich während des gesamten Studiums begleitet haben.

Kurzfassung

Mit einer geschätzten Prävalenz von 11-14% ist die Sepsis eine der häufigsten Komplikationen an deutschen Intensivstationen. Die Mortalität der Sepsis wird auf etwa 20% geschätzt, die der schweren Sepsis auf etwa 55%. Wie diese Mortalitätsraten zeigen ist die Behandlung der Sepsis noch lange nicht ausgereift, da die pathophysiologischen Mechanismen, die zur Entstehung dieser Erkrankung beitragen, als ausgesprochen komplex zu bewerten sind.

Ein schon seit Jahren bekanntes und kontrovers diskutiertes Medikament stellt Drotrecogin alpha (aktiviert) - (Xigris®) - dar. Dieses rekombinante humane aktivierte Protein C soll im Rahmen der Sepsis regulatorisch auf überschießende Reaktionen einwirken und damit die Mortalität dieser Erkrankung effektiv senken.

Im Zuge dieser Diplomarbeit wird ein Einblick in die physiologischen Funktionen des Gerinnungs- sowie Entzündungssystems gegeben, um die pathophysiologischen Reaktionen im Rahmen der Sepsis besser nachvollziehen und die Angriffspunkte von Protein C besser verstehen zu können.

Den Kern dieser Arbeit bildet eine Zusammenfassung der klinischen Studien zu diesem - teilweise umstrittenen - Medikament, um möglicherweise eine Aussage über Wirkung oder Unwirksamkeit des Medikamentes treffen zu können.

Schlüsselwörter: Sepsis, schwere Sepsis, Protein C, Drotrecogin alpha aktiviert, humanes aktivierte Protein C, Sepsisbehandlung, Xigris®

Abstract

With an estimated prevalence of 11-14%, sepsis is one of the most common complications in German intensive care units. The mortality of sepsis is estimated to be approximately 20%, approximately 55% in severe sepsis. As shown by these mortality rates, the treatment of sepsis is not completely developed yet, due to the fact that the pathophysiological mechanisms that contribute to the development of this disease are assessed as extremely complex .

One drug, well-known for many years and discussed controversially, is Drotrecogin alpha (activated) - (Xigris ®). This recombinant human activated protein C should operate as a regulatory factor in the exaggerated reactions in sepsis and decrease the mortality of this disease effectively.

In this thesis, an insight into the physiological functions of the coagulation and inflammatory system are given to understand the pathophysiological responses in sepsis and better understand the targets of protein C.

The core of this thesis is a summary of clinical studies on this - sometimes controversially discussed - drug, to possibly make a statement about the effectiveness or ineffectiveness of the drug.

Keywords: sepsis, severe sepsis, protein C, drotrecogin alpha activated, human activated protein C, sepsis treatment, Xigris®

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
DAS GERINNINGSSYSTEM	1
<i>Allgemein</i>	1
<i>Komponenten des Gerinnungssystems</i>	1
<i>Physiologie der Gerinnung</i>	5
PROTEIN C	15
<i>Geschichte</i>	15
<i>Bildung und Struktur</i>	15
<i>Antikoagulatorische Wirkung von Protein C</i>	16
<i>Zytoprotektive Wirkung von Protein C</i>	18
<i>Protein C und Sepsis</i>	18
<i>Resistenz gegen aktiviertes Protein C (APC-Resistenz; Faktor V Leiden Mutation)</i>	20
SEPSIS	22
<i>Allgemein</i>	22
<i>Definition</i>	23
<i>Epidemiologie</i>	24
<i>Prävalenz</i>	25
<i>Mortalität</i>	25
<i>Inzidenz</i>	25
<i>Pathophysiologie der Sepsis</i>	26
DER APACHE SCORE	30
2. MATERIAL UND METHODEN	32
LITERATURRECHERCHE	32
3. ERGEBNISSE	33
PROWESS-STUDIE	33
(PROTEIN C WORLDWIDE EVALUATION IN SEVERE SEPSIS)	33
<i>Studiendesign</i>	33
<i>Ein- und Ausschlusskriterien:</i>	33
<i>Basis-Charakteristika des Patienten/-innengutes</i>	35
<i>Ergebnisse</i>	36
ENHANCE STUDIE	39
(EXTENDED EVALUATION OF RECOMBINANT HUMAN ACTIVATED PROTEIN C)	39
<i>Studiendesign</i>	39
<i>Ein- und Ausschlusskriterien</i>	40
<i>Basis Charakteristika des Patienten/-innengutes</i>	41
<i>Ergebnisse</i>	42
ADRESS-STUDIE	45

(ADMINISTRATION OF DROTRECOGIN ALFA [ACTIVATED] IN EARLY STAGE SEVERE SEPSIS).....	45
<i>Studiendesign</i>	45
<i>Ein- und Ausschlusskriterien</i>	45
<i>Ergebnisse</i>	45
<i>Ergebnisse des Langzeit follow ups</i>	46
XEUS-STUDIE.....	47
(XIGRIS USE IN THE US)	47
<i>Studiendesign</i>	47
<i>Ein- und Ausschlusskriterien</i>	48
<i>Basis-Charakteristika des Patienten/-innengutes</i>	48
<i>Ergebnisse</i>	49
DROTRECOGIN ALFA (ACTIVATED): REAL-LIFE USE AND OUTCOMES FOR THE UK.....	49
<i>Einführung</i>	49
<i>Methoden</i>	50
<i>Ergebnisse</i>	50
HUMAN RECOMBINANT ACTIVATED PROTEIN C FOR SEVERE SEPSIS (REVIEW).....	51
<i>Aufbau</i>	51
<i>Ein- beziehungsweise Ausgeschlossene Studien</i>	51
<i>Ergebnisse</i>	52
ZUSAMMENFASSUNG.....	54
<i>Mortalität</i>	54
<i>Blutungsrisiko</i>	55
4. DISKUSSION	56
5. FAZIT	58
6. LITERATURVERZEICHNIS	60

Abkürzungsverzeichnis

ADP	<i>Adenosindiphosphat</i>
APACHE	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation</i>
APC	<i>Aktiviertes Protein C</i>
APS	<i>Acute Physiology Score</i>
aPTT	<i>aktivierte partielle Thromboplastinzeit</i>
Arg	<i>Arginin</i>
AT	<i>Antithrombin</i>
Ca	<i>Calzium</i>
CD4	<i>Cluster of Differentiation 4</i>
COPD	<i>Chronic Obstructive Pulmonary Disease</i>
DIC	<i>Disseminated Intravascular Coagulation</i>
DrotAA	<i>Drotrecogin alfa activated</i>
EPCR	<i>Endothelzell-Protein-C-Rezeptor</i>
FSF	<i>Fibrin-stabilisierender Faktor</i>
GLA	<i>gamma-carboxy-glutamat</i>
GP	<i>Glykoprotein</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HMWK	<i>High Molecular Weight Kininogen</i>
IL	<i>Interleukin</i>
kD	<i>Kilodalton</i>
KHK	<i>koronare Herzkrankheit</i>
KK	<i>Kallikrein</i>
kPa	<i>Kilopascal</i>
Leu	<i>Leucin</i>
LPS	<i>Lipopolysaccharid</i>
mm Hg	<i>Millimeter Quecksilbersäule</i>
NO	<i>Stickstoffmonoxid</i>
PaCO ₂	<i>alveolärer CO₂-Partialdruck</i>
PAF	<i>platelet-activating-factor</i>
PAI-1	<i>Plasminogen-Activator-Inhibitor-1</i>
PAMPs	<i>Pathogen Associated Molecular Patterns</i>
PaO ₂	<i>alveolärer O₂-Partialdruck</i>
PAR-1	<i>Protease-activated receptor-1</i>
PC	<i>Protein C</i>
PDGF	<i>Platelet derived growth factor</i>
PKK	<i>Präkallikrein</i>
PL	<i>Phospholipase</i>
PMNs	<i>polymorphonuclear leucocytes</i>
PTA	<i>plasma thromboplastin antecedent</i>
rhAPC	<i>recombinant human activated protein C</i>
SIRS	<i>Systemic Inflammatory Response Syndrome</i>
SOFA	<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>
TF	<i>tissue factor</i>
TM	<i>Thrombomodulin</i>
TNF	<i>Tumornekrosefaktor</i>
t-PA	<i>tissue plasminogen activator</i>
TXA ₂	<i>Thromboxan A₂</i>
vWF	<i>von Willebrand Faktor</i>

Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Schema der endogenen Aktivierung</i>	9
<i>Abbildung 2: Schema der exogenen Aktivierung</i>	10
<i>Abbildung 3: Gemeinsame Endstrecke</i>	11
<i>Abbildung 4: Fibrinolyse</i>	13
<i>Abbildung 5: Dreidimensionale Darstellung von Protein C (8)</i>	16
<i>Abbildung 6: Antikoagulatorische Wirkung von Protein C (4)</i>	17
<i>Abbildung 7: Protein C Mechanismen, Protein C in der Sepsis und Therapie mit rhAPC(10)</i>	20
<i>Abbildung 8: Physiologie der Gerinnungskaskade und Angriffspunkte für Protein C (11)</i>	21
<i>Abbildung 9: Kaplan-Meier Schätzer des Überlebens von 850 Patienten/-innen mit schwerer Sepsis in der DrotAA Gruppe und 840 Patienten/-innen mit schwerer Sepsis in der Placebo Gruppe. (21)</i>	36
<i>Abbildung 10: Diagramm % der Todesfälle Placebo vs DrotAA bei 1 bzw ≥ 2 Organdysfunktionen</i>	38
<i>Abbildung 11 1- und 2-Fenster System (24)</i>	40
<i>Abbildung 12: Kaplan-Meier Überlebenskurven (24)</i>	42
<i>Abbildung 13: Kaplan-Meier-Schätzer für DrotAA und Placebo Patienten/-innen (25)</i>	47
<i>Abbildung 14: Vergleich APC versus Placebo, 28-Tage-Gesamtmortalität (29)</i>	52
<i>Abbildung 15: Vergleich APC versus Placebo, schwere Blutungskomplikationen (29)</i>	53

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1 Definition der Sepsis</i>	24
<i>Tabelle 2: Age Points (20)</i>	30
<i>Tabelle 3: Chronic Health Points (20)</i>	31
<i>Tabelle 4: Acute Physiology Points (20)</i>	32
<i>Tabelle 5 Basis-Charakteristika des Patienten/-innengutes der PROWESS Studie (24)</i>	35
<i>Tabelle 6 Mortalitätsraten in %, bezogen auf verschiedene Kriterien (24)</i>	37
<i>Tabelle 7 Blutungskomplikationsrate der PROWESS Studie (24)</i>	39
<i>Tabelle 8 Basis Charakteristika des Patienten/-innengutes der ENHANCE- und PROWESS-Studie (24)</i>	41
<i>Tabelle 9 Mortalitätsraten in %, Aufgeteilt nach verschiedenen Kriterien und von 2 verschiedenen Studien (24)</i>	43
<i>Tabelle 10: Blutungszwischenfälle in der PROWESS und ENHANCE Studie (24)</i>	44
<i>Tabelle 11: Blutungskomplikationen im Rahmen der ADRESS Studie (26)</i>	46
<i>Tabelle 12 Basis-Charakteristika des Patienten/-innengutes der XEUS-Studie (27)</i>	48
<i>Tabelle 13: Mortalität und Blutungskomplikationen in der XEUS-Studie (27)</i>	49
<i>Tabelle 14 Mortalitätsraten der verschiedenen Studien im Vergleich (24)(25)(26)(27)</i>	55
<i>Tabelle 15 Schwere Blutungsereignisse (absolut und prozentual) während und nach der Medikation bis Tag 28 (24)(25)(26)(27)</i>	55

1. Einleitung

Das Gerinnungssystem

Allgemein

Das menschliche Gerinnungssystem ist ein als Kaskade von Reaktionen ablaufender Prozess, der in Gang gesetzt wird, sobald Blut in Kontakt mit verletztem Gewebe tritt. Das dabei zentrale Ereignis ist die Bildung von Fibrin aus Fibrinogen. Dies wird durch eine Reihe von enzymatischen, vorwiegend proteolytischen Reaktionen erreicht. Die Reaktionen laufen schnell ab und der Energieaufwand ist gering.

Beteiligt an diesem komplexen Vorgang sind Substrate, das Gefäßendothel, Enzyme und ihre inaktiven Vorstufen, Coenzyme, Mediatoren und Thrombozyten. Entgegengestellt ist dem Gerinnungssystem das fibrinolytische System. Unter physiologischen Bedingungen überwiegt im Körper letzteres, um einen optimalen Blutfluss zu gewährleisten. Die beiden Systeme überlappen sich, sodass es im Fall einer Verletzung nicht zur systemischen Gerinnung kommt, sondern diese auf den Ort des Schadens beschränkt ist.

Im Weiteren soll ein Überblick über die einzelnen Komponenten gegeben werden.
(1)(2)

Komponenten des Gerinnungssystems

Das Endothel

Das Endothel, die innerste Schicht unserer Blutgefäße, bildet eine selektive Barriere für gelöste Substanzen, Makromoleküle und Zellen. Es reguliert den Gefäßtonus, spielt eine wichtige Rolle bei Entzündungsreaktionen, indem es mit Leukozyten interagiert, fungiert als Sensor für Veränderungen des Blutflusses, sezerniert Mediatoren. Schlussendlich ist es ein zentraler Faktor der Gerinnung,

sowohl auf der gerinnungsfördernden als auch auf der gerinnungshemmenden Seite.

Im Normalfall besteht kein Kontakt zwischen den zellulären Blutbestandteilen und dem Endothel. Das liegt daran, dass sowohl Endothel als auch Blutzellen wie Erythrozyten und Thrombozyten eine negative Ladung aufweisen und sich somit voneinander abstoßen. Unter physiologischen Bedingungen ermöglichen diese elektromagnetischen Kräfte einen laminaren Blutfluss, der im Zentrum des Gefäßes schneller ist als in den Randgebieten. Zwischen Endothel und Blutsäule besteht somit ein schmaler Plasmofilm. Außerdem besitzen die Thrombozyten keine Rezeptoren für die Glykokalix der Endothelzellen.

Kommt es zu einer Verletzung und zum Kontakt von subendothelialen Strukturen mit Blutbestandteilen, wird die Gerinnungskaskade gestartet. Das Trauma am Gefäß bewirkt:

- Vasokonstriktion
- Aktivierung der Endothelfunktionen
- Aktivierung der plasmatischen Gerinnung
- Aktivierung der Fibrinolyse
- Thrombusbildung
- Reparaturvorgänge

Dabei spielen eine Reihe von Faktoren eine Rolle, wobei es solche gibt, die die Gerinnung fördern, also thrombotisch wirken und solche, die der Gerinnung gegensteuern, die also antithrombotisch wirken.

Die thrombogenen Faktoren des Endothels führen durch ihre Freisetzung und Interaktion mit Blutbestandteilen, die Rezeptoren für diese besitzen, zunächst zur Bildung eines vorwiegend aus Thrombozyten bestehenden Thrombus. Zu ihnen zählen:

- von-Willebrand- Faktor
- Thromboplastin (Faktor III)
- Akzeleratorglobulin (Faktor V)
- PAF (platelet-activating-factor)

- HMWK (high molecular weight kininogen oder Faktor XIV)
- Kollagen
- Plasminogenaktivatorinhibitor -1 (PAI-1)

Beim **von-Willebrand-Faktor** handelt es sich um ein Multimer mit einem Molekulargewicht zwischen 500 und 20 000 kD. Er vermittelt sowohl die Adhäsion der Thrombozyten an subendotheliale Kollagenfibrillen, die im Falle einer Verletzung freiliegen, als auch die Aggregation der Blutplättchen durch Anheften an ihren GP Ib/IX Rezeptor. Der vWF bildet zusammen mit Fibronectin und Laminin eine molekulare Brücke zwischen Kollagenfasern und den Blutplättchen. Er wird von Endothelzellen und Megakaryozyten synthetisiert und entweder ins Plasma abgegeben oder in Endothelzellen (Weibel-Palade-Bodies) und Thrombozyten (alpha-Granula) gespeichert. Im Plasma liegt der vWF als Komplex mit Faktor VIII vor. Faktor VIII wird dadurch vor Degradation durch aktiviertes Protein C geschützt. Außerdem wird Faktor VIII so im Falle einer Verletzung direkt an den Ort des Geschehens transportiert, da vWF an die subendothelialen Kollagenfasern bindet. (1)(2)

Thromboplastin, Faktor III oder auch „tissue-factor“ (Gewebsfaktor) ist ein Komplex aus Phosphatiden, Lipoproteinen und Cholesterin. Er ist ein Membranprotein nichtvaskulärer Zellen und lässt sich aus fast allen Geweben isolieren, im Plasma ist er beim Gesunden nicht nachweisbar. Es handelt sich um einen von Calcium-Ionen abhängigen, nicht-enzymatischen Cofaktor, der Faktor VII aktiviert und eine Schlüsselrolle bei der Initiation des extrinsischen Gerinnungsweges spielt. (1)(2)

Akzeleratoglobulin, Faktor V, ist ein alpha-2 Globulin mit einem Molekulargewicht von 330 kD. Außer im Endothel wird er auch in der Leber und in Megakaryozyten produziert. Er ist ebenfalls ein nicht-enzymatischer Cofaktor und wirkt als Komplex mit aktiviertem Faktor X, Calcium und Phospholipiden bei der Katalyse der Umwandlung von Prothrombin in Thrombin mit. (1)(2)

Beim **Plasminogenaktivatorinhibitor-1** handelt es sich um ein Einzelkettenglykoprotein, das in den alpha-Granula der Thrombozyten

gespeichert wird. Er bindet irreversibel an t-PA (tissue plasminogen activator), einen Bestandteil der Gerinnungshemmung und an Urokinase, wodurch die Plasminaktivierung gebremst wird. Er wirkt also antifibrinolytisch. (1)(2)

HMWK, Faktor XIV oder „Fitzgerald-Faktor“ spielt im intrinsischen System eine Rolle. Er ist Cofaktor bei der Aktivierung von Faktor XII, von Präkallikrein und Faktor XI. (1)(2)

Thrombozyten

Sie sind Abschneidungen der Megakaryozyten aus dem Knochenmark und wurden 1874 von Harvey Osler als eigener Blutbestandteil identifiziert. Ihre Morphologie ist bezüglich Größe und Form heterogen, im Durchschnitt haben sie einen Durchmesser von 2-4 µm. Pro Stunde werden um die 250 Milliarden Thrombozyten gebildet, zu zwei Drittel erfolgt ihre Speicherung in der Milz. Nach einer Lebensdauer von durchschnittlich neun Tagen werden sie über das retikuloendotheliale System abgebaut.

Um am Gerinnungsprozess teilnehmen zu können, müssen Thrombozyten aktiviert werden. Die primären Aktivatoren sind Thrombin und Kollagen. Weiters, als sekundäre Aktivatoren, spielen PAF (plättchenaktivierender Faktor), ADP (Adenosindiphosphat), Thromboxan A₂, Phospholipide, Adrenalin und Calcium eine Rolle.

Die Thrombozyten enthalten Granula, in denen zahlreiche verschiedene Substrate und Mediatoren gespeichert sind und mit denen ihre Energieversorgung und die Interaktion untereinander und mit dem Endothel sowohl während der Thrombusbildung als auch während der Fibrinolyse gewährleistet wird.

Die Blutplättchen stellen das Bindeglied zwischen Endothel und plasmatischer Gerinnung dar. (1)(2)(3)

Physiologie der Gerinnung

Die Thrombusbildung

Wird ein Gefäß verletzt, so kommt es zum Freiliegen der subendothelial gelegenen Kollagenfasern. Unter Vermittlung des im Plasma zirkulierenden und subendothelial gespeicherten vWF heften sich nun vorbeischwimmende Thrombozyten an diesen an. Als Rezeptor fungiert dabei Glykoprotein Ib/IX (GPIb/IX) der Thrombozytenmembran. Durch diesen ersten Prozess, als Adhäsion bezeichnet, wird die Thrombozytenaktivierung induziert.

Die Thrombozyten beginnen Stoffe zu sezernieren, die vasokonstriktorisch wirken. Dazu gehören Serotonin, PDGF (platelet derived growth factor) und TXA₂ (Thromboxan A₂). So verlangsamt sich der Blutstrom im betroffenen Gebiet und die Adhäsion weiterer Plättchen wird erleichtert. Weiters sezernieren sie Mediatoren, die die Thrombozytenaktivierung verstärken und somit weitere Thrombozyten anlocken und diese aktivieren. Dazu gehören ADP, PAF (platelet activating factor) und wiederum TXA₂.

Wie bereits erwähnt, sind Thrombozyten in ihrer Form heterogen. Aktivierte Thrombozyten ändern ihre Morphologie von Scheiben zu Kugeln mit Pseudopodien, was dazu führt, dass sie sich untereinander verhaken. Dies wird als Phase der Aggregation bezeichnet. Gefördert wird dies durch Thrombin und stabilisiert durch Glykoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa). GPIIb/IIIa wird im Zuge der Formänderung der Thrombozyten an ihrer Oberfläche exponiert und hat erstens den Zweck Fibrinogen (Vorstufe des Fibrins) zu binden und die Plättchen untereinander zu verkleben und zweitens ermöglicht es die Anheftung an subendotheliales Fibronectin, was die Adhäsion verstärkt.

Endergebnis dieser Reaktionen ist ein vorläufiger, sogenannter weißer Thrombus. Dieser primäre Wundverschluss dauert unter physiologischen Bedingungen 2-4 Minuten (normale Blutungszeit). Der primäre Thrombus ist nicht sehr stabil und läuft Gefahr weggeschwemmt zu werden. Aus diesem Grund muss er stabilisiert werden.

Gleichzeitig existieren antithrombotisch wirksame Stoffe, welche die Thrombozytenaktivierung verhindern. Dazu gehören Prostazyklin (=Prostaglandin

I₂) und Stickstoffmonoxid (NO), die der Aktivierung von Blutplättchen direkt entgegenwirken sowie das Heparin, welches die Bildung und Aktivität von Thrombin hemmt. Heparin bremst also die Thrombin-induzierte Thrombozytenaktivierung, einen Teil der plasmatischen Gerinnung. (1)(2)

Die plasmatische Gerinnung

Das komplexe Zusammenspiel der Gerinnungsfaktoren mit allen Aktivierungs- und Hemmvorgängen wird als plasmatische Gerinnung bezeichnet. Die durch sie zustande kommende Bildung von Fibrinnetzen, die den weißen Thrombus umgeben und in dem Erythrozyten hängen bleiben, führt zur Stabilisation des primären Thrombus.

Gerinnungsfaktoren sind, ausgenommen Calcium, Proteine, die in der Leber synthetisiert werden. Calcium hat die wichtige Aufgabe den Prothrombinasekomplex an die negativ geladenen Phospholipide der Zellmembranen zu binden und so dessen Aktivität um ein Vielfaches zu verstärken. Historisch bedingt existieren für die verschiedenen Faktoren mehrere Bezeichnungen, gängig ist aber ihre Bezeichnung mit römischen Ziffern, die vom 1954 gegründeten „International Committee of blood clotting factors“ eingeführt wurde. Die Durchnummerierung bezieht sich auf die Reihenfolge der Entdeckung der jeweiligen Faktoren.

- Faktor I Fibrinogen
- Faktor II Prothrombin
- Faktor III Gewebsthromboplastin
- Faktor IV ionisiertes Calcium
- Faktor V Akzeleratorglobulin
- Faktor VII Prokonvertin
- Faktor VIII antihämophiles Globulin A
- Faktor IX antihämophiles Globulin B
- Faktor X Stuart-Prower-Faktor
- Faktor XI PTA (plasma thromboplastin antecedent)
- Faktor XII Hageman-Faktor
- Faktor XIII (FSF) Fibrin-stabilisierender Faktor

Die Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X benötigen für ihre Bildung Vitamin K als Cofaktor. Dieses katalysiert die posttranslatorische Gamma-Carboxylierung von Glutamatresten. Die Gamma-Carboxyglutamatgruppen sind starke Calcium-Chelatoren und dienen der Calcium-vermittelten Verankerung dieser Gerinnungsfaktoren an Phospholipiden, vor allem an der Membran von Thrombozyten.

Bei den meisten Gerinnungsfaktoren handelt es sich um Zymogene, also inaktive Vorstufen. Im Zuge der Aktivierung werden die Moleküle aufgespalten und ihr reaktives Zentrum wird frei. Gleichzeitig werden die aktiven Faktoren aber auch empfindlich für ihre Inhibitoren und die Plasmahalbwertszeit aktiver Faktoren ist somit wesentlich kürzer als die von inaktiven.

Faktor X ist der zentrale Gerinnungsfaktor, der für die Bildung der Prothrombinase notwendig ist. Um ihn in die aktive Form überzuführen, existieren prinzipiell zwei Möglichkeiten. Der endogene und der exogene Weg der Aktivierung. Es entspricht jedoch mehr der Realität diese als zwei Phasen zu bezeichnen, da sie ineinander übergreifen. (1)(2)

Endogene Aktivierung:

Faktor XII ist als Trigger-Faktor des endogenen Weges das Bindeglied zwischen dem Ort der Gefäßverletzung und der Gerinnungskaskade. Die physiologischen Aktivatoren sind Endothel und Kallikrein. Eingeleitet wird dieser Weg durch die Gefäßverletzung, die negativ geladene, subendotheliale Kollagenfasern freilegt. Die negativ geladene Oberfläche absorbiert den Faktor XII, wodurch er in seiner Konfiguration verändert und 500fach empfindlicher gegenüber dem Kallikrein-Kininogen-System wird. Durch den Kontakt mit diesen und unter Mithilfe des HMWK wird Faktor XII aktiv.

Der aktive Faktor XII aktiviert nun Faktor XI und setzt so einerseits die Gerinnungskaskade fort, andererseits verstärkt er sich auch selbst in seiner Aktivität. Er führt nämlich, wiederum mit Unterstützung von HMWK, zur Bildung von Kallikrein aus Präkallikrein. Das Kallikrein aktiviert ebenfalls Faktor XII. Eine weitere Funktion von aktivem Faktor XII ist die Plasminogenaktivierung, die für die

Fibrinolyse wichtig ist. Aktiviertes Plasminogen führt über ein Feedback wiederum zur Aktivierung von Faktor XII. So können große Mengen an aktivem Faktor XII produziert werden.

Aktiver Faktor XI aktiviert jetzt Faktor IX. Dieser bildet zusammen mit Faktor VIIIa, Calciumionen und Phospholipiden einen Komplex mit enzymatischer Wirkung, die Tenase. Die Tenase katalysiert die Aktivierung von Faktor X, welche den Beginn der gemeinsamen Endstrecke von in- und extrinsischem System darstellt (Das Schema der endogenen Aktivierung ist in Abb. 1 visualisiert). (1)(2)

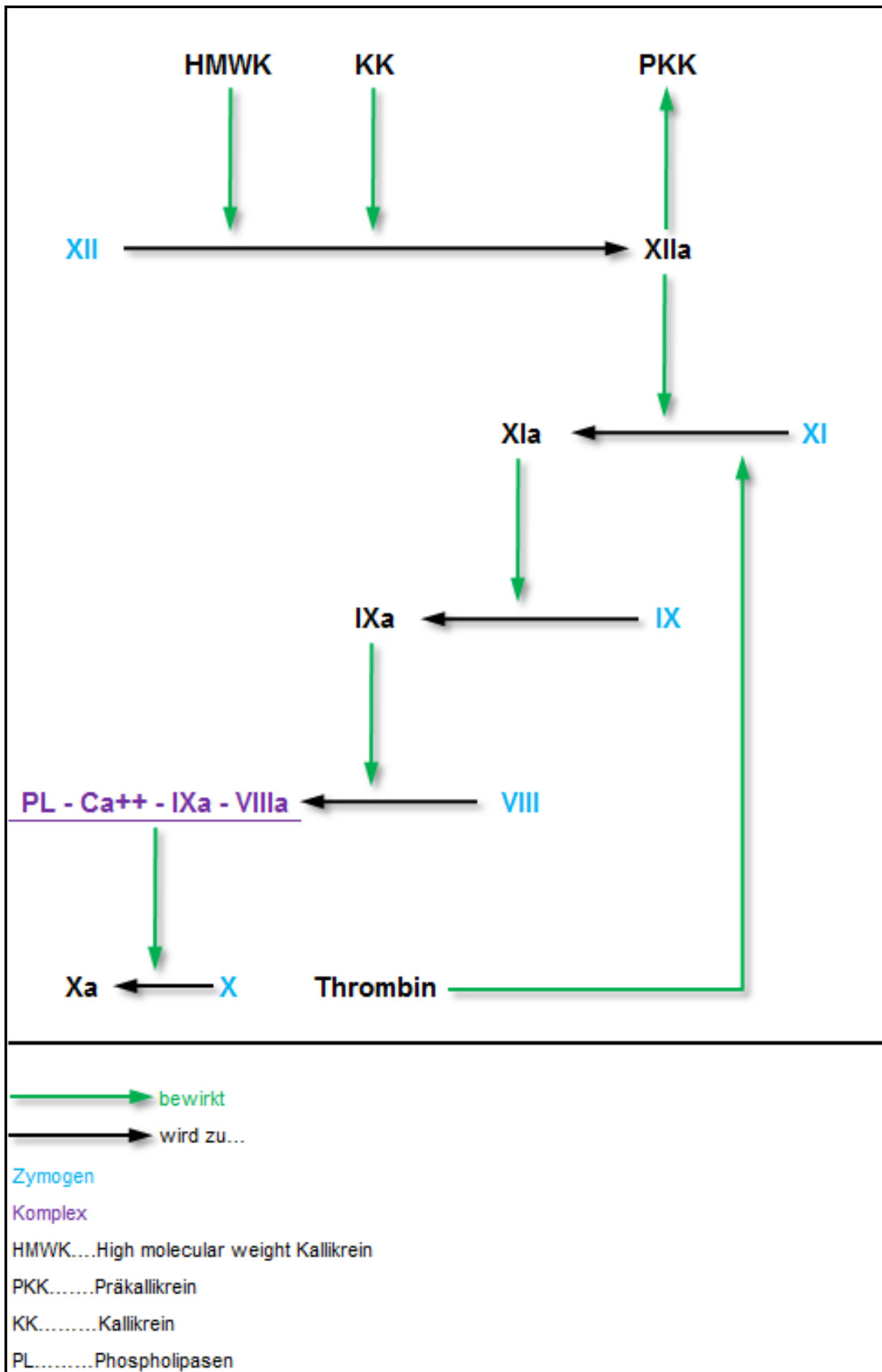


Abbildung 1: Schema der endogenen Aktivierung

Exogene Aktivierung:

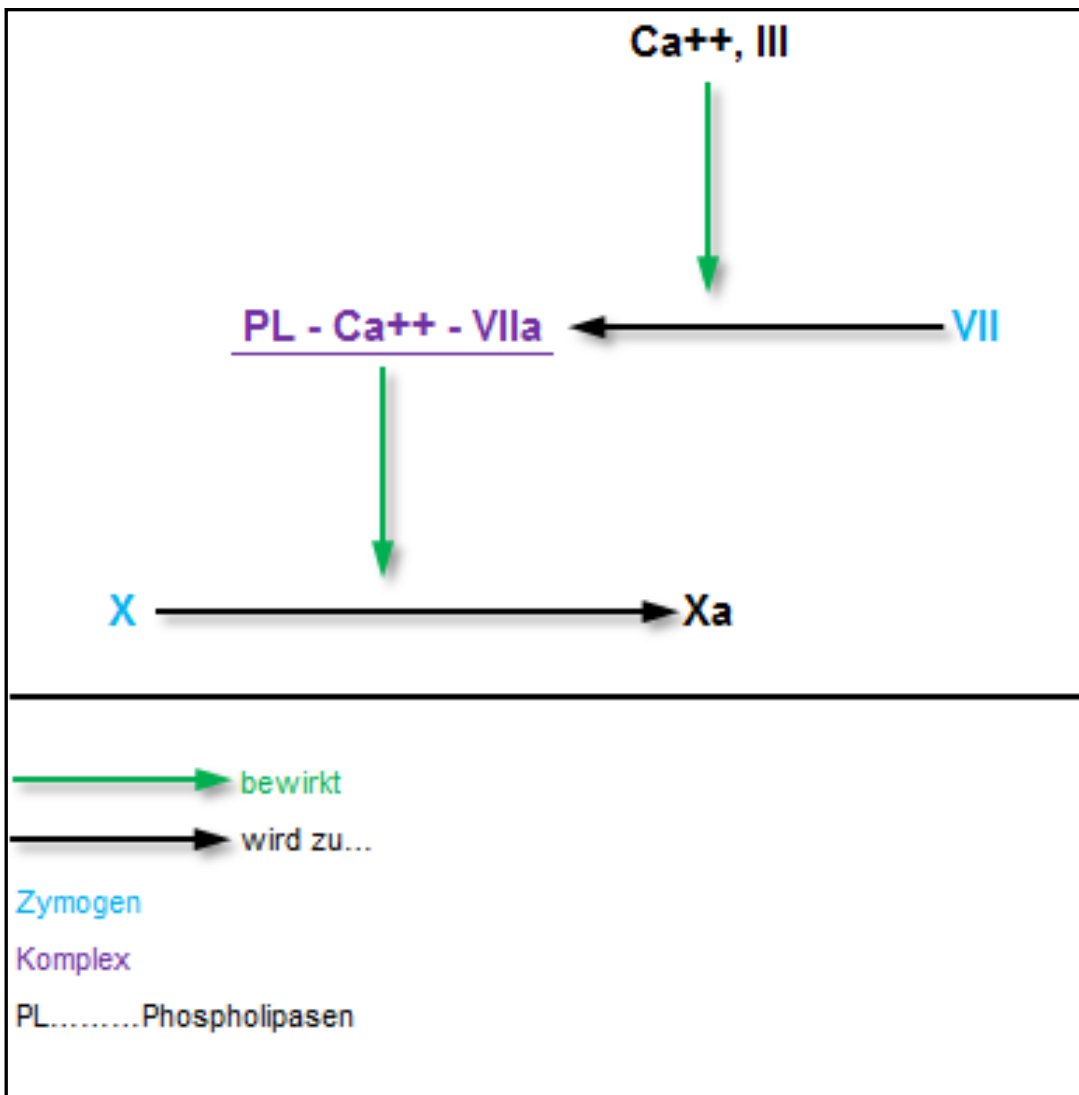


Abbildung 2: Schema der exogenen Aktivierung

Eine Gewebeläsion führt zur sofortigen Freisetzung von Faktor III, dem sog. tissue-factor. Zusammen mit Calciumionen spaltet dieser Faktor VII proteolytisch. Dieser aktive Faktor VII bildet einen Komplex mit Calciumionen und Phospholipiden welcher Faktor X aktiviert (Schema der exogenen Aktivierung: Abb.2).

Mit aktivem Faktor X beginnt nun die gemeinsame Endstrecke beider Systeme (Schema der gemeinsamen Endstrecke: Abb.3). (1)(2)

Gemeinsame Endstrecke:

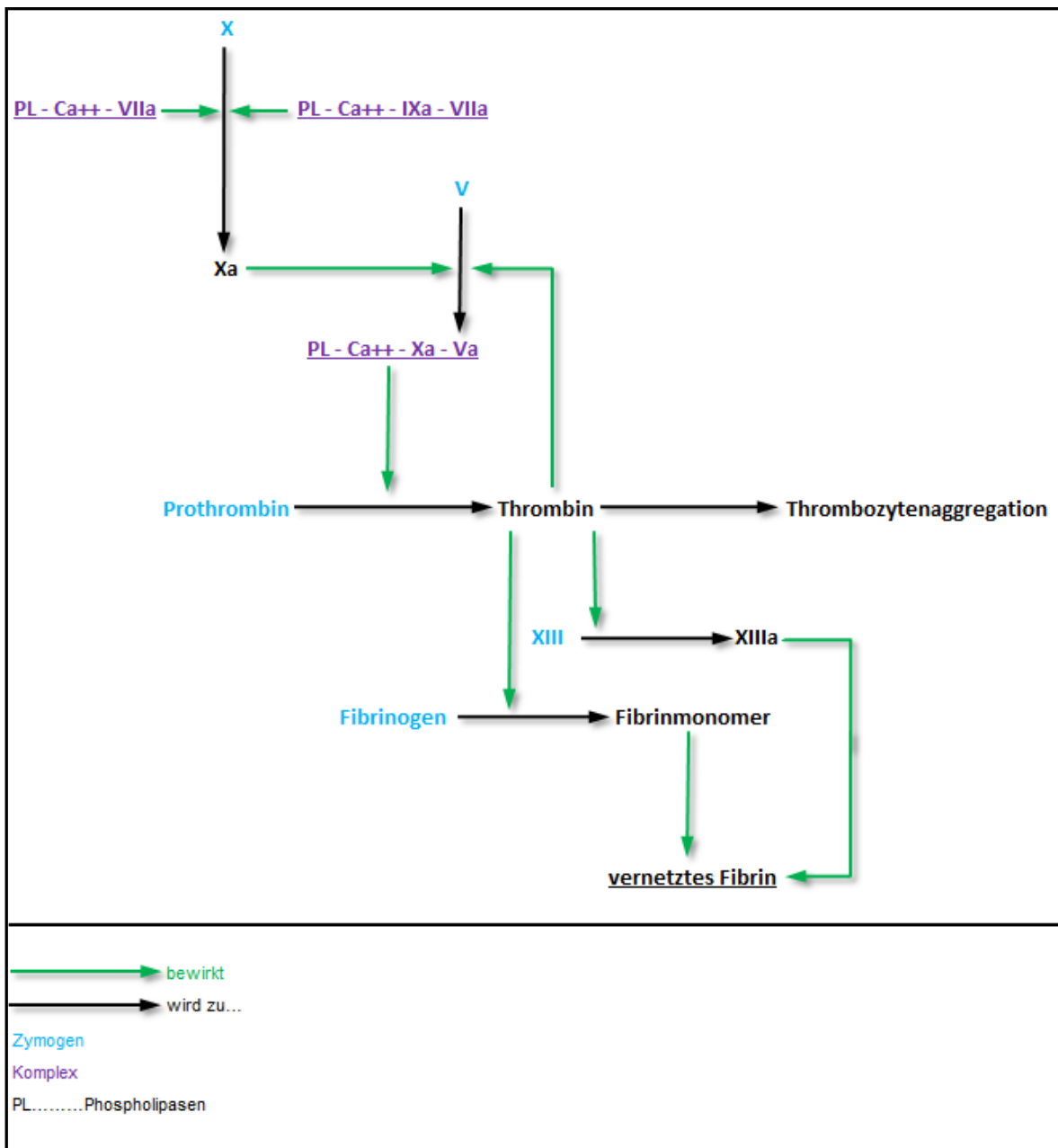


Abbildung 3: Gemeinsame Endstrecke

Faktor X, aktiviert durch endogenes und/oder exogenes System, aktiviert nun den Faktor V. Dieser bildet die Prothrombinase, einen Komplex bestehend aus den aktiven Faktoren V und X sowie Ca⁺⁺ und PL. Die Prothrombinase führt Prothrombin (Faktor II) in Thrombin (Faktor IIa) über. Bei diesem Vorgang entstehen auch die Prothrombinfragmente F1 und F2, die in der Diagnostik von Gerinnungsstörungen wie AT-III-Mangel, Protein-C-Mangel und DIC eine Rolle spielen.

Mit der Bildung von enzymatisch aktivem Thrombin ist die sogenannte Aktivierungsphase der plasmatischen Gerinnung beendet und die Koagulationsphase beginnt.

Thrombin selbst ist nun an mehreren Fronten tätig. Es aktiviert Fibrinogen zu Fibrin, aktiviert den Faktor XIII (Fibrin stabilisierender Faktor) und verstärkt sich autokatalytisch selbst, indem es über positive Rückkoppelung in die Aktivierung der Faktoren V (exogener Weg), VIII und XI (endogener Weg) eingreift.

Die gebildeten Fibrinmonomere (Fibrinfäden) sind vorerst noch löslich. Erst Faktor XIII ermöglicht die Bildung eines festen Fibrinnetzes und somit den fixen Wundverschluss durch den roten Thrombus, der so genannt wird, weil im Fibrinnetz Erythrozyten hängen bleiben. Zusätzlich findet auch noch eine Aktivierung der Aktin-Myosin-Filamente der Thrombozyten statt. Unter Zug dieser zieht sich der Thrombus zusammen und es erfolgt eine weitere Verfestigung sowie ein mechanischer Wundverschluss. (1)(2)

Hemmstoffe der Blutgerinnung

Das Plasma enthält folgende Proteaseinhibitoren, durch die die Fibrinbildung verzögert wird:

C1-Hemmer hemmt die Faktoren XIa, XIIa und Kallikrein sowie die erste Komponente des klassischen Weges des Komplement-Systems (ein Teil der Immunabwehr). Weiters das Bradykinin-Kinin-System, die Umwandlung von Plasminogen in Plasmin und die Wirkung von Plasmin auf Faktor XII. (2)

Antithrombin III ist der wichtigste Inhibitor aller Serinproteasen, also von Faktor IIa (Thrombin), VIIa, IXa, Xa, XIa und von Kallikrein. Die Wirkung von Antithrombin III allein ist relativ gering, durch seinen Cofaktor **Heparin** wird es jedoch stark beschleunigt. Endogenes Heparin wird von Endothelzellen und Mastzellen gebildet. Den stärksten Einfluss hat AT-III auf Faktor Xa und auf Thrombin. Zusammen mit Heparin kann es Thrombin sofort blockieren. (2)

Protein C ist ebenfalls ein wichtiger Gerinnungsinhibitor. Die Aufgabe von aktivem Protein C ist die proteolytische Zerstörung von Faktor Va und VIIIa. Protein C wird

Vitamin-K-abhängig in der Leber synthetisiert und benötigt sowohl für seine eigene Aktivierung als auch für die Inhibierung der Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa Protein S als Co-Faktor. Die Aktivierung selbst erfolgt durch den Thrombomodulin-Thrombin-Komplex. (2) (3)

Thrombomodulin findet sich an der Innenseite des Endothels und ist hochaffin für Thrombin. Wenn Thrombin daran bindet verliert, es seine Fähigkeit zur Spaltung der Faktoren I, V, VIII und XIII. Diese antikoagulatorische Wirkung des Komplexes findet sich nur am intakten Endothel. Wenn dieses verletzt ist, ist die Konzentration von Thrombomodulin stark erniedrigt und Thrombin überwiegt. (2)

Fibrinolyse:

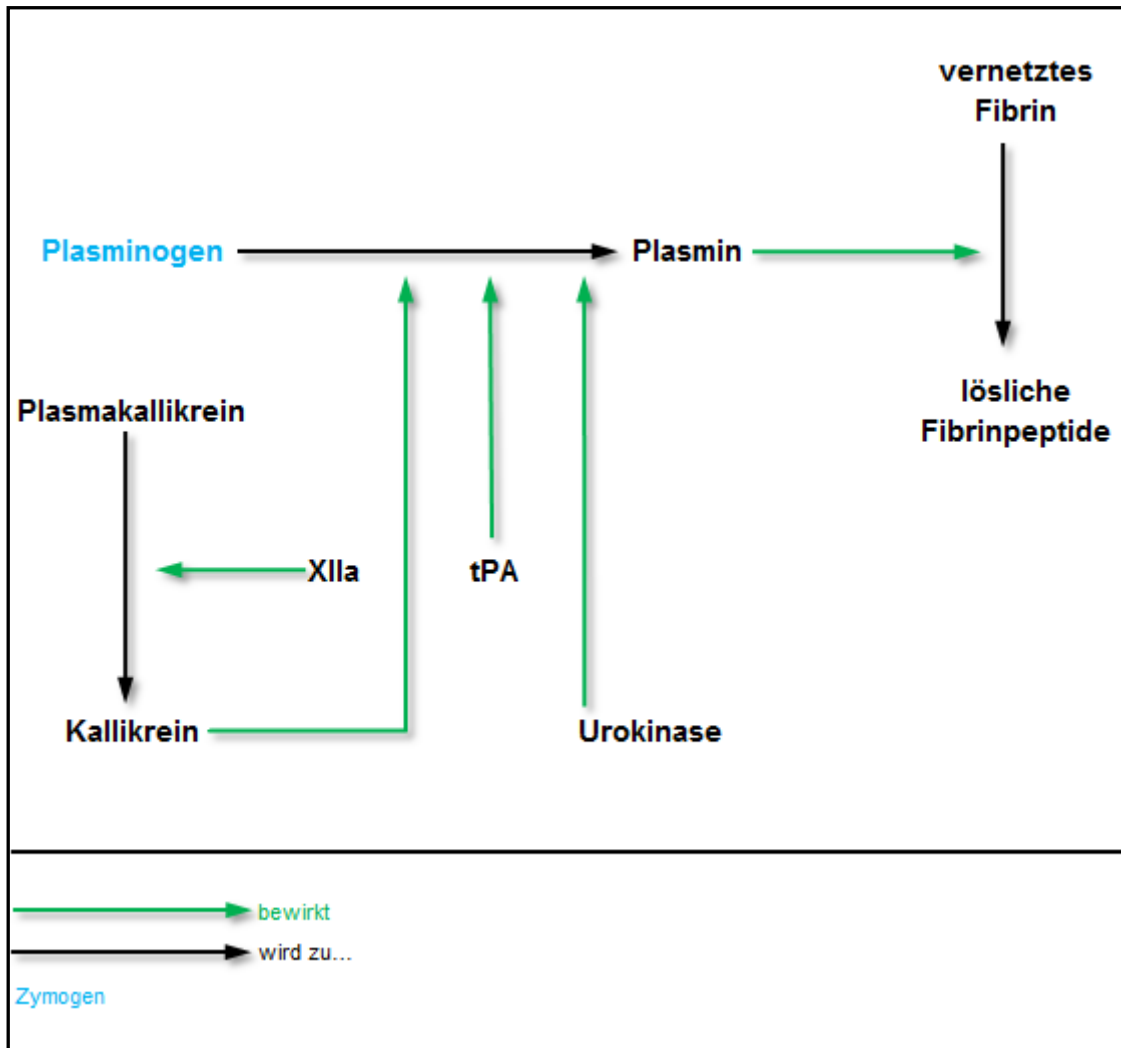


Abbildung 4: Fibrinolyse

Gegenspieler der Blutgerinnung ist ein Vorgang, der zum Auflösen von gebildetem Fibrin führt, die Fibrinolyse (Abb. 4).

Im Organismus entstehen auch unter physiologischen Bedingungen immer wieder kleine Mengen an Fibrin. Dass unser Blut nicht ständig gerinnt liegt daran, dass dieses Fibrin durch die kontinuierlich ablaufende Fibrinolyse wieder entfernt wird. Gerinnung und Fibrinolyse halten sich unter Normalbedingungen das Gleichgewicht.

Nur im Fall einer Verletzung kommt es am Ort der Schädigung zu einem Überwiegen der Fibrinbildung und damit zum Gerinnen des Blutes.

Der die Gerinnung hemmende Faktor Plasmin ist eine Serinprotease, die Faktor V und VIII, Fibrinogen und Fibrin spaltet.

Aktives Plasmin entsteht, wie viele Gerinnungsfaktoren, aus einer inaktiven Vorstufe, dem Plasminogen. Dabei handelt es sich um ein β -Globulin, das vor allem in der Leber, aber auch in eosinophilen Granulozyten und im Knochenmark synthetisiert und dort gespeichert wird. Eosinophile Granulozyten transportieren es in die Blutzirkulation bzw. an den Ort, wo es benötigt wird. Plasminogen bildet Komplexe mit Fibrinogen, somit werden im Verlauf der Gerinnung große Mengen des noch inaktiven Proenzym im Fibrin eingeschlossen. Plasminogen muss aktiviert werden.

Der wichtigste Plasminogenaktivator des Blutes ist **Faktor XIIa**. Dieser setzt **Kallikrein** aus Präkallikrein frei, welches Plasminogen in Plasmin überführt. (1)(2)

Tissue Plasminogen Aktivator (t-PA) wird im Endothel synthetisiert und, stimuliert durch Vasokonstriktion und Thrombin, ins Blut abgegeben. In seiner freien Form im Blut ist t-PA eher inaktiv, angeregt wird er erst durch seine Bindung an Fibrin. Der von Makrophagen freigesetzte t-PA hilft bei der lokalen Beseitigung von Fibrin und schafft damit eine der Voraussetzungen für die nachfolgende Gewebereparatur.

Von den Epithelien der ableitenden Harnwege wird ein weiterer Plasminogenaktivator gebildet, die **Urokinase (uPA)**.

Plasminogen als auch Plasminogenaktivatoren ist gemein, dass sie eine hohe Affinität zu polymerisiertem Fibrin haben. (1)(2)

Protein C

Geschichte

Protein C wurde erstmals 1960 von Eberhard Mammen beschrieben, damals noch als Autoprothrombin II-A. Er war davon ausgegangen, dass dieses Antikoagulanz ein kompetitiver Hemmer bei der Prothrombinaktivierung sein würde. 1976 isolierte Stenflo aus Rinderplasma Protein C. Den Namen hat das Protein aufgrund der Tatsache, dass es in der 3. Fraktion (C-Fraktion) einer DEAE-Säulenchromatographie eluierte. Im Zuge der genaueren Erforschung dieses Zymogens wurde nachgewiesen, dass es sich um die inaktive Vorstufe des beschriebenen Autoprothrombin II-A handelte.

Ebenfalls 1976 erforschte Kisiel, dass bei Einwirkung von α -Thrombin auf Protein C ein aus 12 Residuen bestehendes Peptid freigesetzt wird, bei simultaner, langsamer Aktivierung von Protein C (aPC).

1979 wurde von Walker widerlegt, dass PC in der Lage ist, bovinen Faktor Va zu zerstören. (3)(4)(5)

Bildung und Struktur

Protein C (Abb.5) ist ein Glykoprotein, das als Zymogen Vitamin K abhängig in der Leber als „single-chain-polypeptide“ synthetisiert wird und co- sowie post-translationelle Modifikationen durchläuft. Dazu gehören β -Hydroxylierung, γ -Carboxylierung, Glykosylierung und endoproteolytische Spaltung.

Das Protein besteht aus einer leichten Kette aus 155 Aminosäuren (21kDa), einer Disulfidbrücke als Verbindung und einer schweren Kette aus 262 AS (41kDa).

Protein C ist ein multimodulares Glykoprotein, welches Elemente, die auch andere Vitamin-K abhängige Gerinnungsfaktoren, wie zum Beispiel Faktor VII, IX und X aufweisen, enthält. Zu diesen Modulen gehören unter anderem ein Amino-Terminus, eine GLA-reiche Region, zwei „epidermal growth factor-like“ Module, eine Activation-Peptid Region sowie eine Serin-Protease -Domäne. Die Aktivierung von Protein C erfolgt durch die Spaltung der Arg¹⁶⁹-Leu¹⁷⁰ Peptid-

Brücke, wodurch ein Dodekapeptid von der schweren Kette abgespalten wird.

(4)(6)(7)

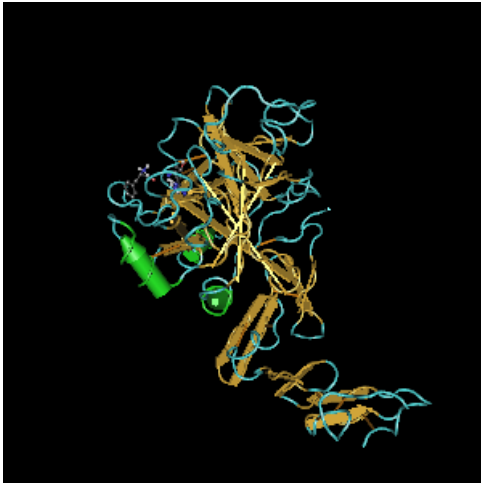


Abbildung 5: Dreidimensionale Darstellung von Protein C (8)

Antikoagulatorische Wirkung von Protein C

Das Zymogen Protein C kann durch eine durch Thrombin induzierte Spaltung in seine aktivierte Form übergeführt werden. Dieser Weg der Aktivierung ist jedoch ein sehr langsamer. Der schnellere Aktivierungsweg führt über 2 Membranrezeptoren, welche die Aktivierung effektiver ablaufen lassen, Thrombomodulin und EPCR (Endothelzell-Protein-C-Rezeptor). Thrombomodulin geht eine Bindung mit Thrombin ein und wirkt so als ein Kofaktor, welcher die Aktivierung von Protein C beschleunigt. Nochmals schneller läuft dieser Prozess ab, wenn zusätzlich Protein C an den EPCR bindet. Die Bindung führt dazu, dass EPCR das gebundene Protein C dem nächsten Thrombin-Thrombomodulin-Komplex präsentiert und somit die gesamte Reaktion um etwa das 20-fache beschleunigt. Nach der Aktivierung kann das aktivierte Protein C nun vom EPCR dissoziieren und an Protein S binden, dann beginnt es mit der proteolytischen Spaltung der Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa. Da FVa und FVIIIa Kofaktoren von FXa und FIXa sind, können aufgrund des Fehlens von FVa und FVIIIa die nachgeschalteten Zymogene nicht mehr in erforderlichem Tempo in ihre aktivierte Form übergeführt werden und so wird die gesamte Gerinnungskaskade quasi gestoppt. Neben der Aktivierung von Protein C hat der Thrombin-

Thrombomodulin-Komplex jedoch noch eine weitere Funktion, nämlich die Inaktivierung von Thrombin durch Antithrombin und Protein C-Inhibitor. Das aktivierte Protein C hat neben seinen direkten Wirkungen auf das Gerinnungssystem auch noch eine indirekte Wirkung auf die Fibrinolyse, indem es den Plasminogen Aktivator-Inhibitor-1 (PAI-1) neutralisiert. PAI-1 verhindert die Aktivierung von Plasminogen zu Plasmin, durch seine Hemmung kommt es zu einer gesteigerten Plasmin-Aktivität und somit zu einer gesteigerten Fibrinolyse (Abb.6). (4)(6)(5)

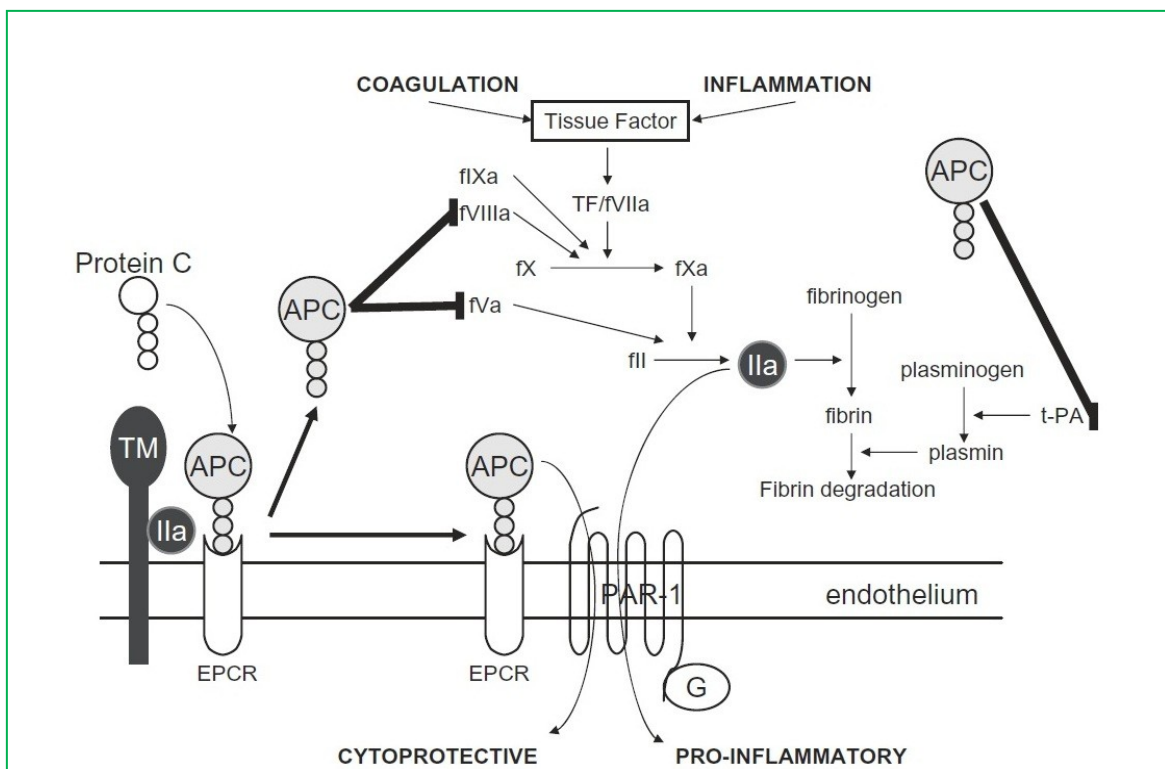


Abbildung 6: Antikoagulatorische Wirkung von Protein C (4)

Antikoagulatorische Wirkung von aPC. TF ist der Hauptauslöser der Gerinnungskaskade und kann im Rahmen einer Entzündung hoch reguliert werden. Die Aktivierung der Gerinnungskaskade führt zu einer Formierung von Thrombin (IIa) und Fibrin. Fibrin und Thrombin sind verantwortlich für die pro-inflammatorischen Effekte der Gerinnung. Thrombin signalisiert mittels PAR-1 seine nachteiligen, pro-inflammatorischen Effekte. Aus zirkulierendem Protein C wird aktiviertes Protein C durch die Bindung von Thrombin an TM. Verstärkt, beziehungsweise beschleunigt, wird dieser Effekt durch die Bindung von Protein C an EPCR. aPC inaktiviert FVa und FVIIIa durch proteolytische Spaltung. Des Weiteren inaktiviert es PAI-1 und fördert somit die Fibrinolyse. Diese antikoagulatorischen und pro-fibrinolytischen Effekte von Protein C sind verantwortlich für die indirekt protektiven Effekte von Protein C im Rahmen von inflammatorischen Erkrankungen. aPC an EPCR gebunden hat über den PAR-1 auch noch direkt cytoprotektive Effekte. aPC...aktiviertes Protein C, EPCR...Endothelzell Protein C Rezeptor, PAI-1...Plasminogen Aktivator Inhibitor-1, PAR-1...Protease-activated receptor, t-PA...tissue-type plasminogen activator, TF...tissue factor, TM...Thrombomodulin

Zytoprotektive Wirkung von Protein C

Neben seiner antikoagulatorischen und pro-fibrinolytischen Aktivität hat aPC im Zusammenspiel mit dem EPCR auch zytoprotektive Effekte. Diese Effekte beruhen auf Änderungen der Genexpression (z.B. antiapoptotischer Gene), Antiinflammation und Aufrechterhaltung zellulärer Barrieren.

Protease-aktivierte-Rezeptoren, im Speziellen PAR-1, ein G-Protein gekoppelter Rezeptor, spielen eine große Rolle im zytoprotektiven Mechanismus.

In vivo verhalten sich die Protein C-Spiegel invers zu den Thrombin-Spiegeln und deren nachgeschalteten Aktivitäten.

PAR-1 ist zum Beispiel ein Hauptrezeptor von Thrombin, jedoch kann aPC/EPCR ebenfalls eine Wirkung an diesem Rezeptor verursachen. Obwohl aPC und Thrombin diesen Rezeptor nutzen, treten in vielen Fällen gegenteilige Wirkungen auf. So löst Thrombin eher pro-inflammatorische- und aPC/EPCR eher zytoprotektive Effekte aus.

Des Weiteren zeigen in vitro Untersuchungen, dass aPC und Thrombin sich in Hinsicht auf die Aufrechterhaltung der vaskulären Endothelbarriere die Waage halten, indem aPC die Thrombin-vermittelte Steigerung der Gefäßpermeabilität inhibiert. (4)(6)(9)

Protein C und Sepsis

Die Sepsis ist ein bis heute noch nicht komplett verstandenes Phänomen, insbesondere was ihre Pathophysiologie betrifft. Klar ist, dass infektiöse Pathogene einzigartige Strukturelemente aufweisen, welche von speziellen Rezeptoren unserer Abwehr erkannt werden. Diese sogenannten PAMPs (pathogen associated molecular patterns) wie z.B Lipopolysaccharide im Fall von gram-negativen Bakterien binden an spezifische Rezeptoren der Wirtszellen, wie den an der Zelloberfläche gelegenen Toll-like-Rezeptor, oder an zytoplasmatische Rezeptoren. Durch diese Bindung startet eine Signalkaskade mit vielseitigen Effekten. Dazu zählen ein Anstieg der Transkription, Anstieg von inflammatorischen Zytokinen, Hochregulation der Expression von

Adhäsionsmolekülen, Stimulation der humoralen und zellulären Immunantwort, sowie die Aktivierung von Gefäßendothelzellen.

Eine wichtige Erscheinung in der Pathophysiologie der Sepsis ist die Entwicklung einer prokoagulatorischen Lage, das heißt einem Überwiegen des Gerinnungssystems gegenüber der Fibrinolyse. Inflammatorische Zytokine starten die Gerinnungskaskade und hemmen gleichzeitig die Fibrinolyse. Im Gegenzug haben Komponenten des Gerinnungssystems sowie des fibrinolytischen Systems wieder proinflammatorische Effekte, es entsteht ein Teufelskreis. Die DIG (disseminierte intravasale Gerinnung), eine gefürchtete Komplikation der Sepsis, ist die Manifestation dieser Inbalance zwischen den beiden Systemen.

Protein C ist eine lösliche, Vitamin-K-abhängige Plasma-Serin-Protease und spielt eine zentrale Rolle in der endogenen Antikoagulation. Seine aktive Form (aktiviertes Protein C) entsteht, wenn Thrombin, gebunden an den Kofaktor Thrombomodulin, mit ihm interagiert und sich an das Protein C-Molekül heftet. Dieses nunmehr aktivierte Protein C ist ein potentes Antikoagulanz und profibrinolytisches Enzym, welches in der Lage ist die Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa sowie den Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 1 zu inaktivieren.

Proinflammatorische Zytokine wie TNF α induzieren einen Abfall der Aktivität von Thrombomodulin, was wiederum zu einem Abfall der Bereitstellung von aktiviertem Protein C führt.

Niedrige Spiegel von Protein C bei Patienten/-innen mit Sepsis korrelieren mit einem höheren Sterblichkeitsrisiko. Diese Beobachtung führte zu der Annahme, dass die Gabe von aktiviertem Protein C für Patienten/-innen mit Sepsis von Vorteil sein könnte (Abb.7).

Aufgrund der antikoagulatorischen, antiinflammatorischen und pro-fibrinolytischen Eigenschaften von Protein C wurde die Effektivität von Protein C in der Behandlung der schweren Sepsis in mehreren Studien getestet. (6)(9)

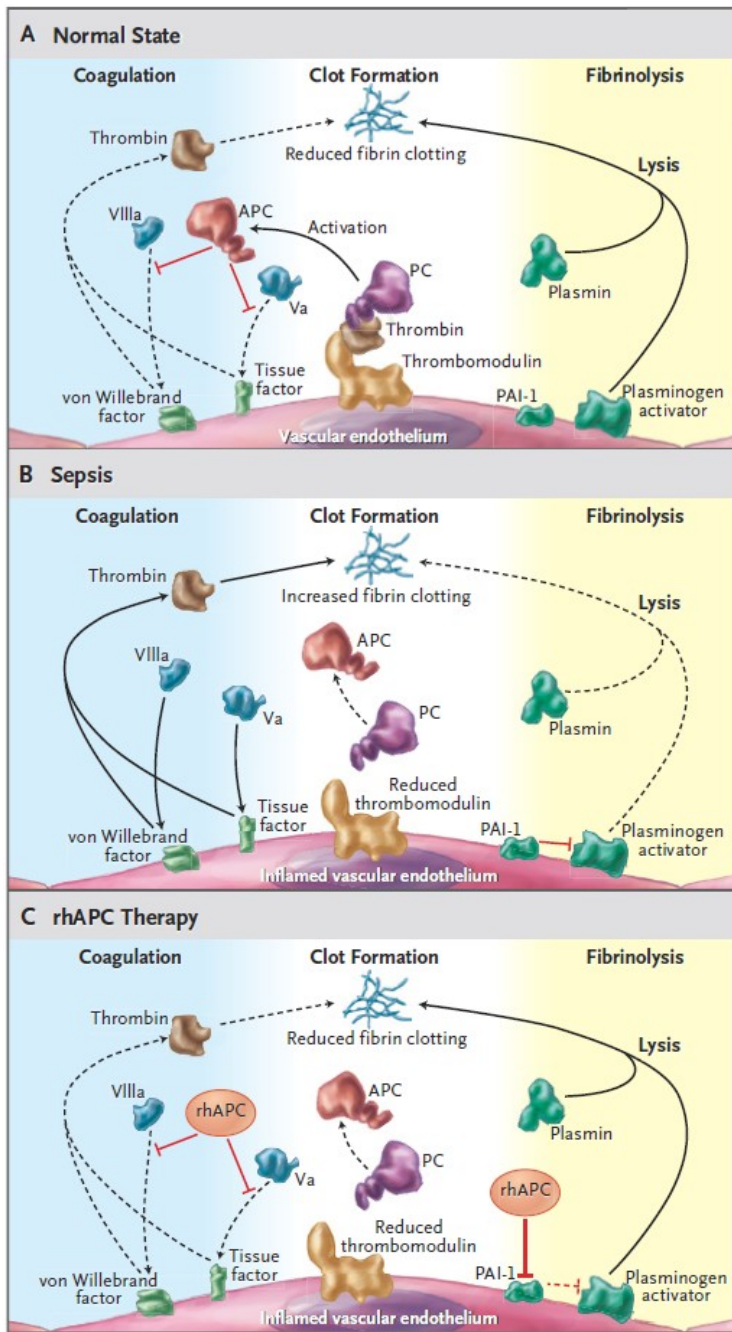


Abbildung 7: Protein C Mechanismen, Protein C in der Sepsis und Therapie mit rhAPC(10)

Resistenz gegen aktiviertes Protein C (APC-Resistenz; Faktor V Leiden Mutation)

Bei dieser Gerinnungsstörung handelt es sich um einen genetischen Defekt des Gerinnungsfaktors V. Dieser hat eine zentrale Rolle in der Endstrecke der Gerinnungskaskade. Unter physiologischen Bedingungen bildet aktivierter Faktor V (aktiviert durch Faktor Xa aus dem exogenen System und durch positive Rückkoppelung durch Thrombin) einen Komplex mit aktiviertem Faktor X, Calcium

und Phospholipasen, die sogenannte Prothrombinase. Diese bewirkt die Bildung von Thrombin (IIa) aus Prothrombin (II). Thrombin selbst bewirkt schließlich die Thrombozytenaggregation, die Bildung von Fibrinmonomeren aus Fibrinogen (I) sowie die Aktivierung von Faktor XIII zu Faktor XIIIa (= Fibrinstabilisierender Faktor). Dadurch wird das für den Wundverschluss notwendige Fibrinnetz gebildet. (2)(1)

Um eine überschießende Gerinnung zu verhindern, macht Thrombin auch noch folgendes: Es bindet an das Thrombomodulin des Gefäßendothels und aktiviert hierdurch Protein C. Dieses aktivierte Protein C wirkt nun- nach Koppelung an Protein S- antikoagulatorisch, indem es den Faktor Va und den fibrinstabilisierenden Faktor VIIIa inaktiviert (Abb. 8). (2)(1)

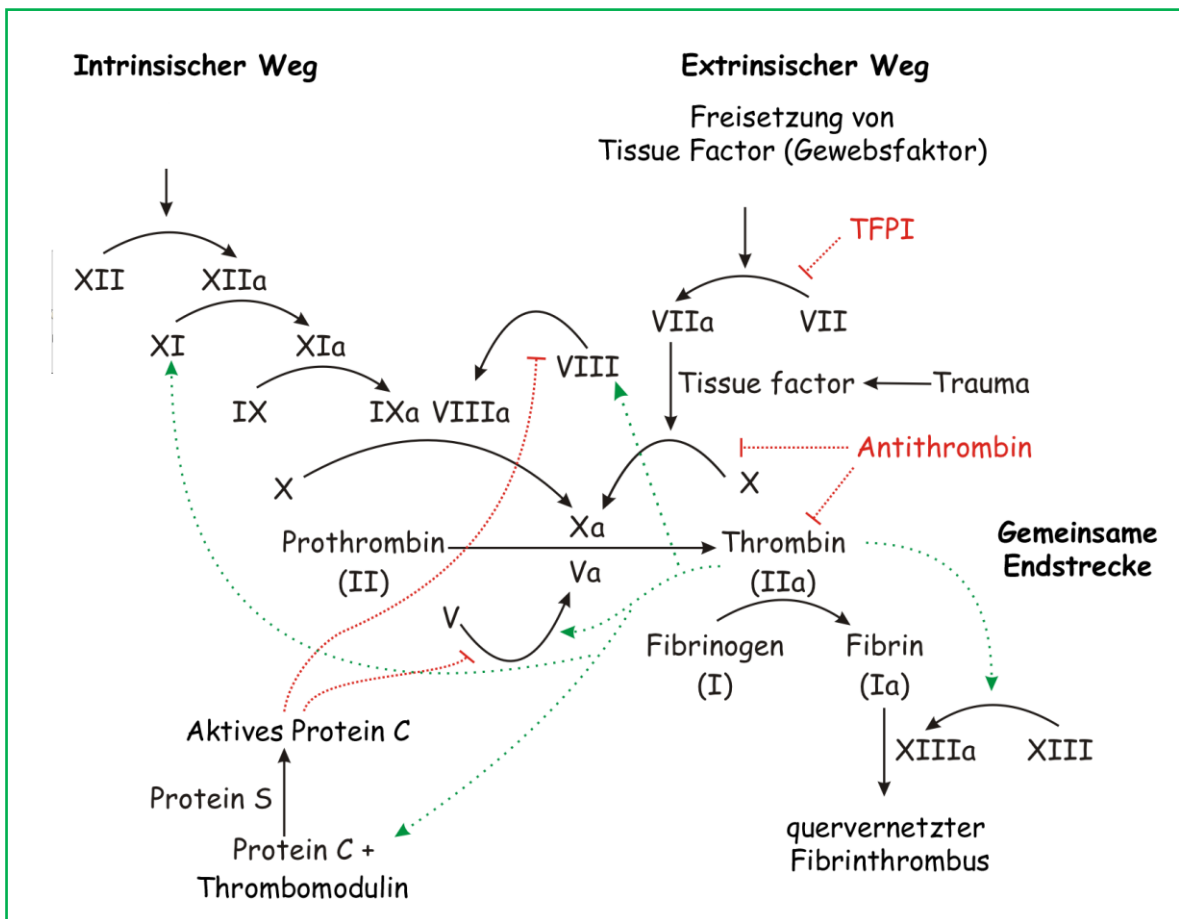


Abbildung 8: Physiologie der Gerinnungskaskade und Angriffspunkte für Protein C (11)

Der bei der APC-Resistenz vorliegende Gendefekt ist eine Punktmutation, welche zu einem Verlust der Spaltungsstelle führt, an der aktiviertes Protein C angreift. Somit ist die proteolytische Spaltung und Inaktivierung von Faktor Va nicht möglich, seine Lebensdauer ist verlängert. Dies bewirkt wiederum längere und stärkere Aktivierung des Prothrombinasekomplexes und ein Überwiegen der Gerinnung gegenüber der Fibrinolyse.

Eine APC-Resistenz wird bei 20-60% aller Thrombose-Patienten/-innen gefunden wobei die Inzidenz bei Kaukasiern mit 2-15% gegenüber anderen Ethnien vielfach höher liegt. Homozygote Merkmalsträger haben ein 50-100fach höheres Thromboserisiko als die Normalbevölkerung und bedürfen einer lebenslangen antikoagulatorischen Therapie. Bei heterozygoten Trägern des Defekts liegt das Risiko 5-10fach höher, eine lebenslange Therapie ist hier nicht notwendig. (2)(1)

Sepsis

Allgemein

Unter dem Begriff Sepsis (*griechisch* "Fäulnis") versteht man eine außer Kontrolle geratene Entzündungsreaktion, die nicht mehr lokal begrenzt auftritt, sondern sich systemisch ausbreitet.

Aufgrund der komplexen pathophysiologischen Mechanismen ist eine genaue Definition nicht ganz einfach und so unterscheidet man aktuell folgende „septische Begriffe“:

1. Bakteriämie
2. SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome)
3. Sepsis
4. schwere Sepsis
5. septischer Schock

Unter SIRS versteht man eine generalisierte hyperinflammatorische Reaktion, welche verschiedene Ursachen haben kann (z.B. Infektionen, Traumata, etc.).

Von einer Sepsis im eigentlichen Sinn spricht man dann, wenn SIRS durch eine Infektion hervorgerufen wird.

Die schwere Sepsis sowie der septische Schock sind Krankheitsbilder, welche sich aus einer Sepsis entwickeln können. (3)

Definition

In der nachfolgenden Tabelle werden die Leitlinien angegeben, anhand derer eine Unterscheidung der verschiedenen septischen Begriffe ermöglicht werden soll.

Ausgegeben wurden diese Kriterien von der Deutschen Sepsis-Gesellschaft (Tab.1).

Tabelle 1 Definition der Sepsis

Definition der Sepsis
I. Nachweis der Infektion Diagnose einer Infektion über den mikrobiologischen Nachweis oder durch klinische Kriterien
II. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) (min. 2 Kriterien) <ul style="list-style-type: none">• Fieber ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) oder Hypothermie ($\leq 36^{\circ}\text{C}$) bestätigt durch eine rektale, intravasale oder intravesikale Messung• Tachykardie: Herzfrequenz $\geq 90/\text{min}$• Tachypnoe: (Frequenz $\geq 20/\text{min}$) oder Hyperventilation ($\text{PaCO}_2 \leq 4.3 \text{ kPa} / \leq 33 \text{ mmHg}$)• Leukozytose ($\geq 12000/\text{mm}^3$) oder Leukopenie ($\leq 4000/\text{mm}^3$) oder $\geq 10\%$ unreife Neutrophile im Differentialblutbild
III. Akute Organdysfunktion (min. 1 Kriterium) <ul style="list-style-type: none">• Akute Enzephalopathie: eingeschränkte Vigilanz, Desorientiertheit, Unruhe, Delirium.• Relative oder absolute Thrombozytopenie: Abfall der Thrombozyten um mehr als 30% innerhalb von 24 h oder Thrombozytenzahl $\leq 100.000/\text{mm}^3$. Eine akute Thrombozytopenie durch akute Blutungen oder immunologische Ursachen muss ausgeschlossen sein.• Arterielle Hypoxämie: $\text{PaO}_2 \leq 10 \text{ kPa}$ ($\leq 75 \text{ mmHg}$) unter Raumluft oder ein $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$-Verhältnis von $\leq 33 \text{ kPa}$ ($\leq 250 \text{ mmHg}$) unter Sauerstoffapplikation. Eine manifeste Herz- oder Lungenerkrankung muss als Ursache der Hypoxämie ausgeschlossen sein.• Renale Dysfunktion: Eine Diurese von $\leq 0.5 \text{ ml/kg/h}$ für wenigstens 2 h trotz ausreichender Volumensubstitution und/oder ein Anstieg des Serumkreatinins $> 2\text{x}$ oberhalb des lokal üblichen Referenzbereichs.• Metabolische Azidose: Base Excess $\leq -5 \text{ mmol/l}$ oder eine Laktatkonzentration $> 1,5\text{x}$ oberhalb des lokal üblichen Referenzbereiches
<i>Sepsis</i> : Kriterien I und II <i>Schwere Sepsis</i> : Kriterien I, II und III <i>Septischer Schock</i> : Kriterien I und II sowie für wenigstens 1 Stunde ein systolischer arterieller Blutdruck $\leq 90 \text{ mmHg}$ bzw. ein mittlerer arterieller Blutdruck $\leq 65 \text{ mmHg}$ zu halten. Die Hypotonie besteht trotz adäquater Volumengabe und ist nicht durch andere Ursachen zu erklären.

Epidemiologie

Obwohl die Sepsis auf Intensivstationen eine der häufigsten Komplikationen darstellt, gibt es nur wenige aktuelle Studien, die verlässliche Daten bezüglich Häufigkeit und Mortalitätsrate liefern.

Das Kompetenznetzwerk Sepsis hat im Jahr 2003 in Deutschland eine repräsentative Querschnittstudie durchgeführt, welche Daten aus 454 Intensivstationen aus insgesamt 310 Krankenhäusern enthält. (12)

Prävalenz

Die aus den ausgewerteten Daten geschätzte Prävalenz der Sepsis auf allen deutschen Intensivstationen beträgt 12,4% (95% CI, 10,9-13,8%) (schwere Sepsis mit septischem Schock ca. 11%). Es ließ sich auch bei Patienten/-innen, welche mehr als 2 SIRS-Kriterien erfüllten, nachweisen, dass es einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Anzahl an erfüllten SIRS Kriterien (oder hinzugekommenen SIRS Kriterien) und dem Risiko für eine schwere Sepsis gibt. (12)(13)

Mortalität

Die häufigsten Infektionsherde waren Atemwegsinfektionen (62,9%) sowie intraabdominelle Infektionen (25,3%). Die häufigsten Organdysfunktionen betrafen den Respirationstrakt (52%) sowie die Nieren (42,2%). Der durchschnittliche Aufenthalt auf der Intensivstation betrug etwa 12 Tage.

Die Gesamtmortalität von Patienten/-innen mit schwerer Sepsis beträgt laut oben genannter Studie 55,2%. 415 Patienten/-innen hatten eine schwere Sepsis, davon lieferten 382 (92%) valide Informationen bezüglich Mortalität in der Intensivstation (48,8% Mortalität auf der Intensivstation) beziehungsweise der Bettenstation (6,8% Mortalität auf der Bettenstation). (12)(13)

Inzidenz

Da die Studie nicht primär auf die Erfassung von Neuerkrankungen ausgerichtet war, ließ sich die Inzidenz nur aus den vorhandenen Daten abschätzen.

Neuerkrankungsrate / Jahr:	58.000 – 79.000 (Sepsis)
Neuerkrankungsrate / Jahr:	52.000 – 75.000 (schwere Sepsis)
Neuerkrankungsrate / Jahr:	110.000-154.000 (gesamt)

Bei einer Mortalität von 55,2% für die schwere Sepsis und etwa 20% für die einfache Sepsis kann man auf etwa 40.000 – 57.000 Todesfälle schließen. Damit wäre die Sepsis in Deutschland die dritthäufigste Todesursache.

Diese Zahlen korrelieren nicht mit den Zahlen des Deutschen Statistischen Bundesamtes, welche sich auf ICD-10 basierte Krankenhausentlassungsstatistiken stützen. Laut dem Statistischen Bundesamt kommt es in Deutschland pro Jahr zu etwa 39.000 Neuerkrankungen mit etwa 6.000 Todesfällen.

Die Häufigkeit und Sterblichkeit dürfte somit etwa um ein 4 – 10faches höher sein als vom Statistischen Bundesamt angegeben. (12)(13)

Pathophysiologie der Sepsis

Historisches

Die ursprüngliche Theorie zur Mortalität der Sepsis basierte auf der Annahme, dass das Eindringen von hohen Dosen LPS (Lipopolysacchariden)- der toxischen Komponente der Wand von gramnegativen Bakterien- in den Organismus zu einer exzessiven Stimulation des Immunsystems führt. Dies konnte im Tierversuch bestätigt werden.

1985 zeigte eine Studie, dass die Neutralisation eines einzigen proinflammatorischen Zytokins (TNF α) nach der Infusion von hohen Dosen an LPS die Versuchsmäuse vor dem Tod infolge Sepsis bewahrte. Basierend auf dieser Tatsache konnte 2 Jahre später an Affen gezeigt werden, dass ein monoklonaler anti-TNF α -Antikörper zum gleichen Ergebnis führte. Auch die Neutralisation anderer proinflammatorischer Zytokine wie Interleukin I führte zur Reduktion der Mortalität infolge Infusion von LPS im Tierversuch. Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse versagte die Therapie mit anti-TNF α -Strategien oder rekombinanten IL-I-Rezeptorantagonisten in klinischen Studien an Patienten/-innen mit Sepsis. Infolge dessen wurde die Hypothese, dass die exzessive Entzündungsreaktion die Hauptursache für eine ungünstige Prognose von Sepsispatienten/-innen ist, als nicht zutreffend angenommen. (14)

Physiologische Entzündungsreaktion

Eine normale Entzündungsreaktion stellt eine lokale, abgekapselte Antwort auf eine Infektion dar. Während die auslösenden Faktoren zahlreich sein können, ist der Entzündungsprozess selbst immer ähnlich. Auf Seite der Infektion exprimiert das Endothel Adhäsionsmoleküle um Leukozyten anzulocken. Zur selben Zeit werden Granulozyten (PMNs = polymorphonuclear leukocytes) aktiviert, die Adhäsionsmoleküle exprimieren, was zu ihrer Aggregation und Margination am Endothel führt. Eine Voraussetzung für die nachfolgende Phagozytose eindringender Bakterien und Gewebebestandteile ist die Diapedese und anschließende Migration der PMNs zur Seite der Verletzung. (5)

Die Freisetzung von Mediatoren durch die PMNs auf Seite der Infektion ist für Kardinalsymptome der lokalen Entzündungsreaktion verantwortlich:

- Lokale Vasodilatation und Hyperämie (Rubor, Calor)
- Gesteigerte mikrovaskuläre Permeabilität mit konsekutiver Flüssigkeitsansammlung im Gewebe (Tumor)

Der primitive aber effektive lokale Entzündungsprozess (Adhäsion, Chemotaxis, Phagozytose, Killing) wird in hohem Maße und auf verschiedenen Ebenen reguliert, hauptsächlich durch die Produktion von Zytokinen durch Makrophagen. Ist ein Makrophage einmal durch das Eindringen von Bakterien ins Gewebe aktiviert, so sezerniert er Zytokine wie $\text{TNF}\alpha$, IL-1 und andere in die Umgebung. Die Freisetzung von $\text{TNF-}\alpha$ ist selbst-stimulierend und die Zytokin-Spiegel werden in weiterer Folge durch die Freisetzung anderer Entzündungsmediatoren (IL-1, PAF, IL-2, -6, -8, 10, Interferon, Eicosanoide) gesteigert. Dies führt zur fortlaufenden Aktivierung von Granulozyten und Makrophagen. Der Endeffekt ist die Elimination von Bakterien gefolgt von Gewebsreparatur. (1)(15)

In manchen Fällen übersteigt die Mediatorfreisetzung die lokale Begrenzung, was zu einer weitgreifenden (generalisierten) Antwort führt und auch das gesunde Gewebe betrifft. Dieser Prozess kann, wenn er im Zusammenhang mit einer Infektion auftritt, als Sepsis bezeichnet werden und als SIRS, wenn er durch nicht-infektiöse Gegebenheiten (z.B. ein schweres Trauma) induziert wurde. (3)

Entzündung ist die normale Reaktion des Körpers auf eine Infektion. Im Rahmen einer Infektion werden somit zuerst proinflammatorische Mediatoren freigesetzt,

welche die Entzündungsreaktion auslösen. Um diese Reaktion nicht unkontrolliert ausarten zu lassen, bildet der Körper gleich darauf antiinflammatorische Enzyme, die die Entzündungsreaktion dann in geordnetem Rahmen ablaufen lassen. (3)

Im Rahmen einer Sepsis kommt es jedoch zu einer hyperinflammatorischen Reaktion des Körpers. In diesem Fall kommt es zu einer massiven, systemischen, entzündlichen Reaktion, welche nicht mehr durch antiinflammatorische Mechanismen gebremst wird. So kommt es zu einer Schädigung von Gefäßen, Gewebe und Organen. (3)

Pathologische Entzündungsreaktion in der Sepsis

Die physiologische Antwort des Organismus auf eine Infektion ist ein komplexer Prozess, der dazu dient, eine bakterielle Invasion lokal zu begrenzen und zu kontrollieren sowie die Reparatur von geschädigtem Gewebe einzuleiten. Begleitet wird dieser Prozess von der Aktivierung von Phagozyten und pro- und antiinflammatorischen Mediatoren.

Eine Sepsis resultiert, wenn die Entzündungsreaktion nicht lokal gehalten werden kann, generalisiert wird und dann zur Schädigung von abseits gelegenen Gewebe führt, das nicht unmittelbar von der Infektion betroffen war.

Demgemäß kann die Sepsis als Prozess einer malignen (unkontrolliert, unreguliert, selbstunterhaltend) intravaskulären Entzündung bezeichnet werden. (1)(3)(16)

Wird Gewebe verletzt bzw. infiziert, so kommt es zur Freisetzung von pro- und antiinflammatorischen Elementen. Das Gleichgewicht zwischen diesen gegensätzlichen Komponenten ermöglicht schlussendlich Reparatur und Heilung. Die Schädigung von wundfernen Gewebe ergibt sich, wenn dieses Gleichgewicht verloren geht bzw. wenn die Freisetzung der Mediatoren einen systemischen Effekt nach sich zieht. (1)(3)(17)

Folgen einer systemischen proinflammatorischen Reaktion sind Endothelschädigung, mikrovaskuläre Dysfunktion, beeinträchtigte Gewebeoxygenierung und Organschaden.

Folge einer exzessiven antiinflammatorischen Antwort ist eine Immunsuppression. Zusammengefasst kommt es so zu einer Situation von destruktiver immunologischer Unstimmigkeit. (3)(18)

Demzufolge kann Sepsis als ein autodestruktiver Prozess beschrieben werden mit überschießender Reaktion auf Infektion unter Einbeziehung von gesundem Gewebe. Dies kann schlussendlich im Multiorganversagen enden.

Die Prognose einer Sepsis wird maßgeblich mitbestimmt von der Abwehrlage, der Umwelt sowie der Art des Erregers. (3)(19)

Gerinnung und Fibrinolyse in der Sepsis

Entzündung und Koagulation sind in ihrer Aktivierung eng miteinander verbunden. Im Rahmen einer Sepsis kommt es durch die körpereigene Abwehr sowie durch das infektiöse Agens selbst zu einer Endothelschädigung des Gefäßsystems. Zusätzlich zur Aktivierung der Koagulation durch Entzündungsmediatoren kommt es also auch durch die Endothelschädigung zur Aktivierung des Gerinnungsystems.

Dieser überschießenden Reaktion gegenüber steht die Fibrinolyse, die bei einem gesunden Menschen für den Abbau geronnener Blutbestandteile zuständig ist. Dieser Prozess wird jedoch im Rahmen der Sepsis unterdrückt und so führt die massive Aktivierung der Gerinnung mit gleichzeitiger Defizienz des fibrinolytischen Systems zu einer ausgeprägten Koagulopathie. (3)

Im Zustand des septischen Schocks verändert sich dieses Ungleichgewicht so zugunsten der Gerinnung, dass es zu einer so genannten Verbrauchskoagulopathie kommen kann. (3)

Der APACHE Score

Aufgrund dessen, dass der APACHE-Score in vielen Richtlinien zur Anwendung von Drotrecogin alfa [aktiviert] verwendet wird und deshalb in vielen Studien eine wichtige Rolle in der Einteilung der Patienten/-innen darstellt, wird dieser Score hier noch einmal kurz beschrieben.

Der APACHE II Score (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) ist ein Risikoscore, welcher die Überlebenswahrscheinlichkeit von Patienten/-innen angeben soll.

Er setzt sich aus 3 Datengruppen zusammen:

- Acute Physiology Score
- Age Points
- Chronic Health Points

Die **Age-Points** werden folgend vergeben:

Alter	≤ 44	45 - 54	55 - 64	65 - 74	≥ 75
Punkte	0	2	3	5	6

Tabelle 2: Age Points (20)

Die **Chronic Health Points** werden wie folgt vergeben:

Operativer Status	Gesundheitsstatus	Punkte
Nicht operiert	In der Vorgeschichte finden sich Organinsuffizienz <i>oder</i> Immunschwäche ¹⁾	+5
	Immunkompetent <i>und</i> ohne schwere Organinsuffizienz in der Vorgeschichte	+0
Postoperativer Pat. nach Notfall OP	In der Vorgeschichte finden sich Organinsuffizienz <i>oder</i> Immunschwäche ¹⁾	+5
	Immunkompetent <i>und</i> ohne schwere Organinsuffizienz in der Vorgeschichte	+0
Postoperativer Pat. nach Wahleingriff	In der Vorgeschichte finden sich Organinsuffizienz <i>oder</i> Immunschwäche ¹⁾	+2
	Immunkompetent <i>und</i> ohne schwere Organinsuffizienz in der Vorgeschichte	+0

4) Die Organinsuffizienz oder der immunsupprimierte Status muß vor dieser Krankenhausbehandlung bekannt sein und mit folgenden Kriterien übereinstimmen:

* Leber:
Durch Biopsie gesicherte Zirrhose und festgestellter portaler Hochdruck oder Obere gastrointestinale Blutungen in der Vorgeschichte, ausgehend von einem portalen Hochdruck oder Vorhergehende Episoden mit hepatischer Insuffizienz/hepatischer Enzephalopathie/hepatischem Koma

* Cardiovasculär:
New York Health Association Class IV

* Atmung:
Chronische restriktive, obstruktive oder gefäßbedingte Erkrankungen, die mit einer schweren Einschränkung bei leichten Aufgaben einhergehen (z.B. Unfähigkeit Treppen zu steigen oder Haushalt zu führen) oder oder bekannte chronische Hypoxie, Hyperkapnie, sekundäre Polyzystämie, schwere pulmonale Hypertension (>40mmHg) oder Abhängigkeit von Beatmung

* Niere:
chronische Dialyse

* Immunschwäche:
Der/die Patient/in hatte eine Therapie, welche die Abwehrkraft gegen Infektionen schwächt (z.B. Immunsuppression, Chemotherapie, Bestrahlung, langfristige oder hochdosierte Steroide) oder Erkrankungen, die mit einer Immunschwäche einhergehen (z.B. Leukämie, Lymphom, AIDS)

Tabelle 3: Chronic Health Points (20)

In der nachfolgenden Tabelle wird die Punkteverteilung des Acute Physiology Scores gezeigt. Die Daten werden über 24 Stunden ermittelt und es wird dann jeweils der schlechteste Wert zur Bewertung herangezogen. (20)

Die **Acute Physiology Points** werden wie folgt vergeben:

Erhobene Werte									
Punkte:	Abweichung nach oben					Abweichung nach unten			
	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Temp. rektal °C	≥ 41°	39 - 40,9°		38,5 - 38,9	36 - 38,4°	34 - 35,9°	32 - 33,9°	30 - 31,9°	≤ 29,9°
Art. Mitteldruck mmHg	≥ 160	130 - 159	110 - 129		70 - 109		50 - 69		≤ 49
Herzfrequenz /min	≥ 180	140 - 179	110 - 139		70 - 109		55 - 69	40 - 54	≤ 39
Atemfrequenz ¹⁾ /min	≥ 50	35 - 49		25 - 34	12 - 24	10-11	6-9		≤ 5
Oxygenierung ²⁾	≥ 500	350 - 499	200 - 349		< 200 > 70	61 - 70		55 - 60	< 55
pH	≥ 7,7	7,6 - 7,69		7,5 - 7,59	7,33 - 7,49		7,25 - 7,32	7,15 - 7,24	< 7,15
Na+	≥ 180	160 - 179	155 - 159	150 - 154	130 - 149		120 - 129	111 - 119	≤ 110
K+	≥ 7	6,6 - 6,69		5,5 - 5,59	3,5 - 5,4	3,0 - 3,4	2,5 - 2,9		≤ 2,5
Kreatinin ³⁾ mg/dl	≥ 3,5	2,0 - 3,4	1,5 - 1,9		0,6 - 1,4		< 0,6		
Hämatokrit %	≥ 60		50 - 59,9	46 - 49,9	30 - 45,9		20 - 29,9		< 20
Leukozyten (x1000)	≥ 40		20 - 39,9	15 - 19,9	3 - 14,9		1 - 2,9		< 1
Glasgow Coma Scale (GCS)	Punkte = 15 - aktueller GCS								

1) Beatmung oder Spontanatmung
2) Wenn der FiO₂ ≥ 0,5 ist, dann ist die Alveolo-arterielle Sauerstoffdifferenz AaDO₂ zu berücksichtigen. Diese berechnet sich aus AaDO₂ (mmHG) = pAO₂ - paO₂ (alveolärer Sauerstoffpartialdruck - arterieller Sauerstoffpartialdruck) alternativ kann der Wert auch beim BGA-Gerät abgelesen werden. Bei einem FiO₂<0,5 wird der arterielle Sauerstoffdruck (paO₂ mmHg) berücksichtigt. Der erste Wert entspricht dem AaDO₂, der zweite dem paO₂
3) Bei akutem Nierenversagen (ANV) müssen die Punkte verdoppelt werden.

Tabelle 4: Acute Physiology Points (20)

2. Material und Methoden

Literaturrecherche

Für die Literaturrecherche in dieser Diplomarbeit wurde sowohl auf PubMed sowie auch auf Fachbücher zum entsprechenden Thema zurückgegriffen. An erster Stelle stand die Recherche und Aufarbeitung des erweiterten Grundwissens zu diesem Thema. Somit begann ich mich mit dem Gerinnungssystem und dem Krankheitsbild der Sepsis und dessen Pathophysiologie auseinanderzusetzen. Ebenso wurden die physiologischen Funktionen von Protein C erarbeitet. Daraufhin konnte ich meine Suche nach Fachliteratur zum Thema Protein C (Drotrecogin alfa [aktiviert], Xigris[®]) in der Sepsisbehandlung ausweiten, wofür ich größtenteils PubMed verwendete. Die Ergebnisse der Suche in PubMed wurden zuerst immer durch das Lesen der Titel grob vorsortiert, danach las ich die jeweiligen Abstracts der Artikel und konnte so eine überschaubare Anzahl an Artikeln herausfiltern, welche ich danach für meine Diplomarbeit verwenden konnte.

3. Ergebnisse

Folgend möchte ich einige Studien präsentieren, die die Grundlage für die nachfolgende Diskussion bilden. Im Rahmen der Präsentation der verschiedenen Studien werden jeweils die wichtigsten Daten angegeben, unter anderem die Art des Studiendesigns, Ein- und Ausschlusskriterien, Basis-Charakteristika des Patienten/-innengutes sowie die relevanten Ergebnisse.

PROWESS-Studie

(Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis)

Studiendesign

Hierbei handelt es sich um eine randomisierte, doppelblinde, Placebo-kontrollierte Phase-3 -Studie, die im Zeitraum zwischen 1998 und 2000 in 164 Kliniken in 11 Ländern durchgeführt wurde. (21)

Ein- und Ausschlusskriterien:

Die Einschlusskriterien für diese Studien waren:

- Nachgewiesene oder vermutete Infektion
- Und innerhalb von 24h zusätzlich:
 - 3 oder mehr Zeichen einer systemischen Entzündung
 - Mindestens 1 Sepsis-induziertes Organversagen, welches nicht bereits länger als 24 Stunden bestand
- Bei den Patienten/-innen, welche die Einschlusskriterien erfüllten musste innerhalb von 24 Stunden nach Erfüllung der Einschlusskriterien mit der Behandlung begonnen werden.

Die Ausschlusskriterien waren folgende:

- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Alter <18 Jahre oder Gewicht >135 kg

- Thrombozyten $<30,000/\text{mm}^3$
- Umstände, die das Blutungsrisiko erhöhen (Operationen, Aneurysmen,..)
- Bekannte Hyperkoagulation (z.B: APC-Resistenz,...)
- Familie des/der Patienten/in, Arzt oder beide nicht einverstanden mit der Behandlung
- Patienten/-innen, die aufgrund ihrer schwerwiegenden Begleiterkrankung höchstwahrscheinlich die nächsten 28 Tage nicht überleben werden
- Sterbende Patienten/-innen, bei denen der Eintritt des Todes in Kürze erwartet wird
- HIV- Patienten/-innen mit einer CD4-Anzahl $\leq 50/\text{mm}^3$
- Knochenmarks-, Lungen-, Leber-, Pankreas- oder Dünndarmtransplantation in der Anamnese
- Akute Pankreatitis ohne bekannte Infektionsquelle
- Dialysepflichtige, chronische Niereninsuffizienz
- Bekannter oder vermuteter portosystemischer Hochdruck, chronischer Ikterus, Leberzirrhose oder chronischer Aszites
- Teilnahme an einer anderen Studie innerhalb von 30 Tagen vor Studienbeginn
- Bestimmte Medikamente sowie Behandlungen

Die Behandlung der Patienten/-innen in der Medikamenten-Gruppe erfolgte durch eine 96-stündige Infusion von DrotAA mit einer festgelegten Dosierung von $24\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$.

Nach Aufnahme in die Studie wurden die Patienten/-innen nach Infusionsbeginn 28 Tage lang oder bis zum Tod beobachtet (Blutanalysen von Tag 1 bis 7 sowie an den Tagen 14 und 28 nach Infusionsbeginn).

In diesem Zeitraum wurden auch die D-Dimer- und IL-6-Werte beobachtet.

Diese Studie war für 2280 Patienten/-innen ausgelegt, die Interims fanden nach 760 und 1520 Patienten/-innen statt. Beim zweiten Interim wurde die Studie aufgrund des signifikanten Unterschiedes der Todesraten zwischen den beiden Gruppen abgebrochen. Zum Zeitpunkt des Abbruchs befanden sich 1690 Patienten/-innen in der Studie. (21)(22)(23)

Basis-Charakteristika des Patienten/-innengutes

Die Basis-Charakteristika des Patienten/-innengutes der PROWESS Studie sind in der nachfolgenden Tabelle (Tab. 5) zusammengefasst. (21)(24)

Variable	PROWESS	
	Placebo (n=840)	DrotAA (n=850)
Geschlecht, % männlich (n)	58.0 (487)	56.1 (477)
Durchschnittsalter, Jahre (n)	60.6 (±16.5)	60.5 (±17.2)
% Kaukasier (n)	82.0 (689)	81.8 (695)
Vermutete Lokalisation der Infektion, % (n)		
Blut	5.0 (42)	5.3 (45)
Lunge	54.5 (458)	54.2 (461)
Intraabdominal	19.9 (167)	20.0 (170)
Harntrakt	10.2 (86)	10.0 (85)
Andere	10.4 (87)	10.5 (89)
Bakterienklassifizierung nach Gram, % (n)		
nur gram +	25.1 (211)	25.8 (219)
nur gram -	23.3 (196)	21.8 (185)
gemischt	13.9 (117)	15.6 (133)
andere	37.6 (316)	36.8 (308)
Operation, % ja (n)	32.6 (274)	30.4 (258)
Grad der Erkrankung		
Vasopressoren, % ja (n)	64.4 (541)	60.7 (516)
Mechanische Ventilation, % ja (n)	77.6 (652)	73.3 (623)
APACHE II Score, Durchschnitt (SD)	25.0 (±7.8)	24.6 (±7.6)
APS, Durchschnitt (SD)	20.5 (±7.1)	20.2 (±7.1)
Chronic Health Points, Durchschnitt (SD)	1.0 (±2.0)	1.0 (±2.0)
Protein C Klassen, % (n)		
>80% von normal	13.5 (105)	11.3 (90)
61-80% von normal	20.4 (158)	17.4 (139)
41-60% von normal	29.3 (227)	30.0 (240)
≤41% von normal	36.8 (285)	41.3 (330)
Durchschnittliche Anzahl an Organdysfunktionen (SD)	2.4 (±1.1)	2.4 (±1.1)
Organdysfunktionsklassen, % (n)		
<2	24.2 (203)	25.4 (216)
≥2	75.8 (637)	74.6 (634)
Total SOFA Score, Durchschnitt, SD (n)	9.2 ±3.3 (746)	9.0 ±3.3 (764)

Tabelle 5 Basis-Charakteristika des Patienten/-innengutes der PROWESS Studie (24)

Ergebnisse

28 Tage nach Beginn mit der Infusion waren in der Placebo Gruppe 259 von 840 Patienten/-innen (30,8%) und in der DrotAA Gruppe 210 von 850 Patienten/-innen (24,7%) verstorben. Dieser Unterschied war signifikant ($P=0,005$).

Auch eine Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse führte zu ähnlichen Ergebnissen (Abb. 8).

Somit ergab sich eine absolute Reduktion der Todesrate um 6,1% und eine Reduktion der relativen Todesrate um 19,4% (95% CI: 6,6 – 30,5). (21)

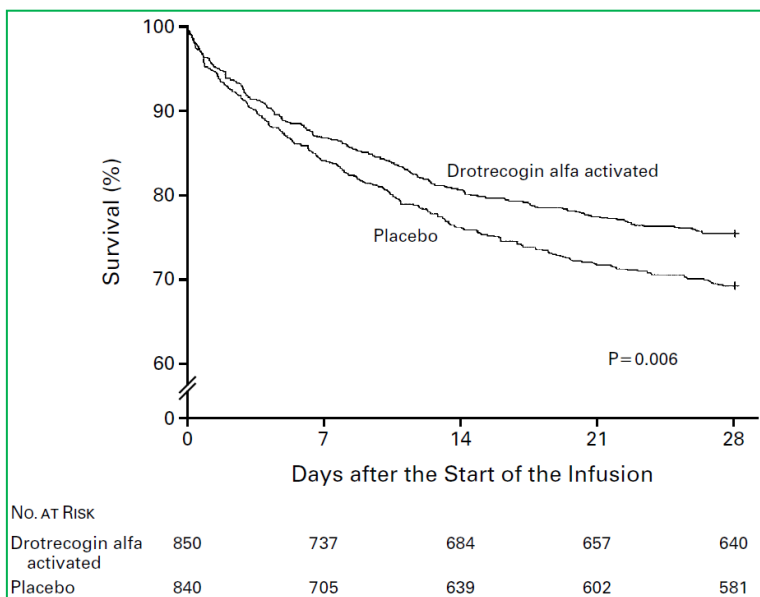


Abbildung 9: Kaplan-Meier Schätzer des Überlebens von 850 Patienten/-innen mit schwerer Sepsis in der DrotAA Gruppe und 840 Patienten/-innen mit schwerer Sepsis in der Placebo Gruppe. (21)
Die Behandlung mit DrotAA ist mit einer signifikant höheren Überlebenswahrscheinlichkeit assoziiert ($P=0,006$).

Die Signifikanz dieser Werte war vor allem bei Patienten/-innen mit schwererer Ausprägung der Sepsis zu sehen (Patienten/-innen mit mindestens 2 Organdysfunktionen zu Beginn der Studie), während bei Patienten/-innen mit nur einer Organdysfunktion lediglich Tendenzen zu sehen waren. Des Weiteren kann man deutliche Unterschiede der Mortalitätsraten ab einem APACHE II Score ≥ 25 sehen (Tab. 6). (21)(24)

Charakteristika	PROWESS (n=1,690)	
	Placebo (n=840) % Mortalität	DrotAA (n=850) % Mortalität
Alter		
<65 Jahre, % (n)	20.9 (449)	15.6 (437)
≥65 Jahre, % (n)	42.2 (391)	34.4 (413)
APACHE II Score, % (n)		
<25 (n)	19.0 (437)	18.8 (436)
≥25 (n)	43.7 (403)	30.9 (414)
APACHE II Quartilen, % (n)		
Erste (0-16 Punkte)	12.1 (116)	16.0 (119)
Zweite (17-21 Punkte)	18.0 (189)	15.7 (189)
Dritte (22-26 Punkte)	28.2 (206)	23.3 (227)
Vierte (≥27 Punkte)	46.5 (329)	34.2 (319)
Operation, % (n)		
Nein	30.9 (563)	23.3 (584)
Ja	30.7 (274)	28.3 (258)
Anzahl an Organdysfunktionen, % (n)		
1	21.2 (203)	19.5 (215)
2	26.0 (273)	20.7 (270)
3	34.4 (218)	26.2 (214)
4	46.6 (116)	38.7 (119)
5	53.3 (30)	32.3 (31)
SOFA-Score Quartilen, % (n)		
Erste (0-7 Punkte)	21.4 (229)	13.8 (247)
Zweite (8-9 Punkte)	28.7 (178)	25.3 (182)
Dritte (10-12 Punkte)	35.3 (224)	27.6 (214)
Vierte (≥13 Punkte)	49.6 (115)	39.7 (121)
Vasopressoren, % (n)		
Nein	26.1 (299)	21.0 (334)
Ja	33.5 (541)	27.1 (516)
Mechanische Ventilation, % (n)		
Nein	22.9 (188)	17.6 (227)
Ja	33.1 (652)	27.3 (623)

Tabelle 6 Mortalitätsraten in %, bezogen auf verschiedene Kriterien (24)

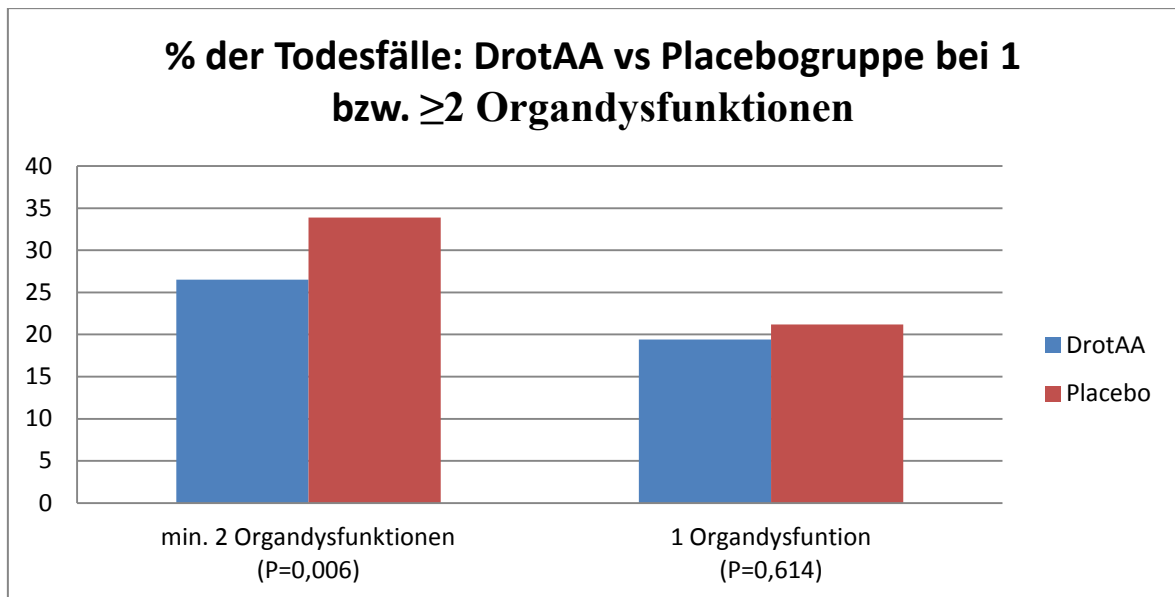


Abbildung 10: Diagramm % der Todesfälle Placebo vs DrotAA bei 1 bzw ≥ 2 Organdysfunktionen

Ebenfalls wurde ein signifikant niedrigerer D-Dimer Wert an den Tagen 1 bis 7 nach Beginn der Infusion bei den Patienten/-innen, die DrotAA erhielten gemessen.

Auch die IL-6 Werte waren bei Patienten/-innen, welche DrotAA erhielten an den Tagen 1,4,5,6 und 7 erniedrigt.

Komplikationen traten vor allem als schwere Blutungskomplikationen gehäuft bei der Gruppe, welche DrotAA erhielt, auf. Im 28-Tage Studienzeitraum ergab sich folgende Rate an schweren Blutungskomplikationen: 3,5% bei DrotAA und 2,0% bei Placebo; $P=0,06$. (21)

Als schwere Blutung wurden definiert:

- Jede intrakranielle Blutung
- Jede als lebensbedrohlich oder tödlich eingestufte Blutung
- Jede Blutung, die mit mindestens 3 Erythrozytenkonzentraten pro Tag an 2 aufeinander folgenden Tagen behandelt werden musste
- Jede vom Prüfarzt als schwerwiegend beurteilte Blutung

Diese Häufung an schweren Blutungskomplikationen trat vor allem im Zeitraum während der 96-stündigen Infusion auf. Nach Abschluss der Infusionstherapie war keine besondere Blutungstendenz mehr zu beobachten.

Bei Patienten/-innen, die neben der Therapie mit DrotAA auch Heparin erhielten, gab es keine signifikanten Unterschiede bezogen auf das Blutungsrisiko (3,7% und 3,5%).

In beiden Gruppen traten schwere Blutungen vor allem bei Patienten/-innen auf, die diesbezüglich prädisponierende Faktoren (z.B. gastrointestinale Ulcera, aPTT >120sek,...) aufwiesen (Tab.7). (21)(24)

PROWESS			
	DrotAA (n=850)	Placebo (n=840)	P
	Absolut (%)	Absolut (%)	
Infusionsperiode			
schwere Blutung	20 (2,4)	8 (1,0)	0,02
intrakranielle Blutung	2 (0,2)	0 (0)	-
Postinfusionsperiode			
schwere Blutung	10 (1,2)	9 (1,1)	-
intrakranielle Blutung	0 (0)	1 (0,1)	-
28-Tage-Studienzeitraum			
schwere Blutung	30 (3,5)	17 (2,0)	0,06
intrakranielle Blutung	2 (0,2)	1 (0,1)	-

Tabelle 7 Blutungskomplikationsrate der PROWESS Studie (24)

ENHANCE Studie

(Extended Evaluation of recombinant human activated protein C)

Studiendesign

Die ENHANCE Studie wurde im Anschluss an die PROWESS Studie begonnen, um die Wirksamkeit und Sicherheit von Drotrecogin alpha (aktiviert) weiter zu erfassen.

Die Daten dieser Studie wurden ebenfalls dazu verwendet, verschiedene Scoring Kriterien zu untersuchen, um den Einsatz von DrotAA zu optimieren.

Aufgrund der durch die vorhergehende Studie widerlegte positive Wirkung von DrotAA gab es bei dieser Studie keine Placebo-Gruppe. (24)

Die Studie fand in 25 Ländern in 361 verschiedenen Krankenhäusern statt und es wurden 2434 Patienten/-innen in die Studie aufgenommen, von denen 2375 das Protokoll vollständig beendeten.

Somit handelt es sich bei dieser Studie um eine multiple-country, single-arm, open-label Phase-3B-Studie. (24)(25)

Ein- und Ausschlusskriterien

Die Einschlusskriterien der ENHANCE-Studie entsprechen denen der PROWESS-Studie und werden deshalb hier nicht nochmals erläutert.

Im Gegensatz zur PROWESS-Studie, bei welcher die Einschlusskriterien innerhalb von 24h vom/von der Patienten/-in erfüllt werden mussten und dann noch weitere 24h zur Verfügung standen, um die Patienten/-innen zu randomisieren, in die Studie aufzunehmen und die Infusionstherapie zu beginnen (2-Fenster-System), wurde in der ENHANCE-Studie ein Ein-Fenster-System gewählt, bei dem es ein 48h-Fenster gibt, in dem die Einschlusskriterien erfüllt werden müssen und mit der Infusionstherapie begonnen werden muss (Abb.11).

Die Ausschlusskriterien entsprechen ebenfalls denen der PROWESS-Studie. (24)

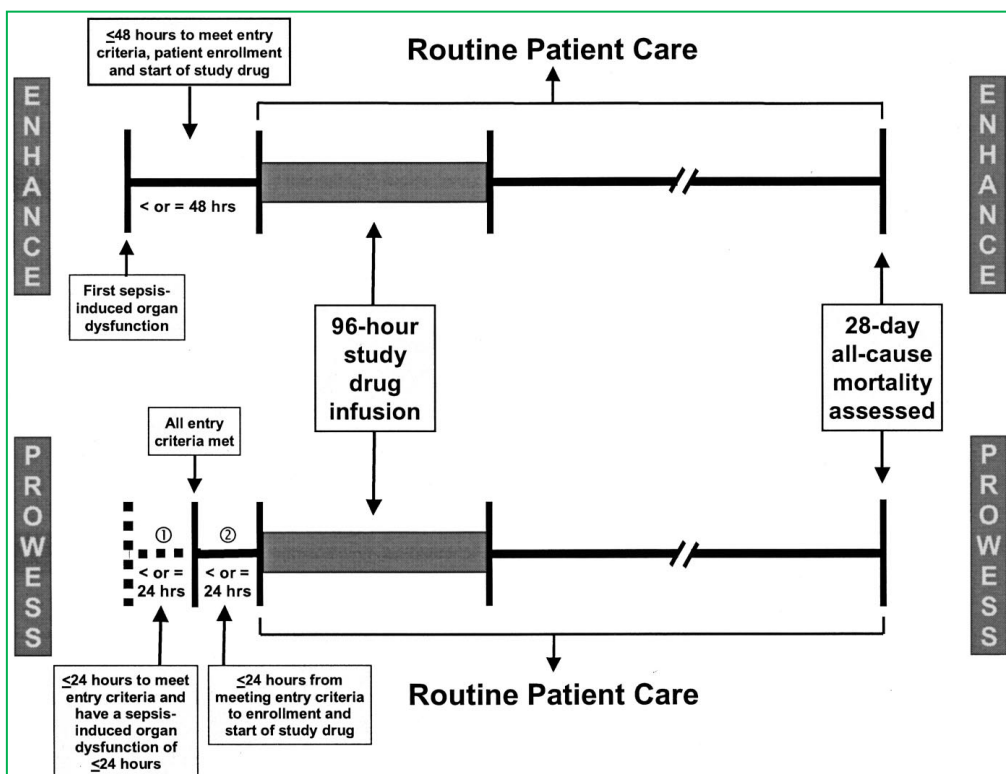


Abbildung 11 1- und 2-Fenster System (24)

Basis Charakteristika des Patienten/-innengutes

Variable	PROWESS		ENHANCE
	Placebo (n=840)	DrotAA (n=850)	DrotAA (n=2,378)
Geschlecht, % männlich (n)	58.0 (487)	56.1 (477)	58.2 (1,383)
Durchschnittsalter, Jahre (n)	60.6 (\pm 16.5)	60.5 (\pm 17.2)	59.1 (\pm 16.9)
% Kaukasier (n)	82.0 (689)	81.8 (695)	90.6 (2,154)
Vermutete Lokalisation der Infektion, % (n)			
Blut	5.0 (42)	5.3 (45)	6.9 (164)
Lunge	54.5 (458)	54.2 (461)	46.8 (1,112)
Intraabdominal	19.9 (167)	20.0 (170)	24.7 (588)
Harntrakt	10.2 (86)	10.0 (85)	8.6 (204)
Andere	10.4 (87)	10.5 (89)	13.0 (310)
Bakterienklassifizierung nach Gram, % (n)			
nur gram +	25.1 (211)	25.8 (219)	26.6 (633)
nur gram -	23.3 (196)	21.8 (185)	22.9 (544)
gemischt	13.9 (117)	15.6 (133)	13.3 (316)
andere	37.6 (316)	36.8 (308)	37.2 (885)
Operation, % ja (n)	32.6 (274)	30.4 (258)	41.0 (973)
Grad der Erkrankung			
Vasopressoren, % ja (n)	64.4 (541)	60.7 (516)	73.7 (1,750)
Mechanische Ventilation, % ja (n)	77.6 (652)	73.3 (623)	82.0 (1,948)
APACHE II Score, Durchschnitt (SD)	25.0 (\pm 7.8)	24.6 (\pm 7.6)	22.0 (\pm 7.4)
APS, Durchschnitt (SD)	20.5 (\pm 7.1)	20.2 (\pm 7.1)	18.6 (\pm 7.1)
Chronic Health Points, Durchschnitt (SD)	1.0 (\pm 2.0)	1.0 (\pm 2.0)	0.1 (\pm 0.8)
Protein C Klassen, % (n)			
>80% von normal	13.5 (105)	11.3 (90)	12.6 (242)
61-80% von normal	20.4 (158)	17.4 (139)	17.7 (340)
41-60% von normal	29.3 (227)	30.0 (240)	28.4 (545)
\leq 41% von normal	36.8 (285)	41.3 (330)	41.4 (795)
Durchschnittliche Anzahl an Organdysfunktionen (SD)	2.4 (\pm 1.1)	2.4 (\pm 1.1)	2.7 (\pm 1.1)
Organdysfunktionsklassen, % (n)			
<2	24.2 (203)	25.4 (216)	15.6 (370)
\geq 2	75.8 (637)	74.6 (634)	84.4 (2008)
Total SOFA Score, Durchschnitt, SD (n)	9.2 \pm 3.3 (746)	9.0 \pm 3.3 (764)	9.7 \pm 3.5 (2,156)

Tabelle 8 Basis Charakteristika des Patienten/-innengutes der ENHANCE- und PROWESS-Studie (24)

Ergebnisse

Die 28-Tage Gesamtmortalitätsrate betrug 25,3% (95%CI: 23,5 bis 27,1) und war somit ähnlich der Gesamtmortalitätsrate in der PROWESS-Studie. Der Vergleich der Kaplan-Meier Überlebens-Kurven in Abb.12 zeigt den Vergleich der Überlebensraten in den beiden Studien.

In der ENHANCE Studie wurde auch nachgewiesen, dass es sich beim APACHE II Score um einen geeigneten Score handeln dürfte, um die Anwendung von DrotAA auf ein Patienten/-innengut zu beschränken, welches einen APACHE II Score ≥ 25 hat, da erst ab diesem Score eine deutliche Senkung der Mortalitätsrate nachzuweisen war.

Anderen Scores beziehungsweise Kriterien, wie z.B. Anzahl an Organdysfunktionen, SOFA-Score, mechanische Ventilation ja/nein, Vasopressoren ja/nein, konnte im Rahmen dieser Studie im Vergleich zu den Placebo-Daten der PROWESS-Studie kein relevanter Zusammenhang nachgewiesen werden.

Der Vergleich der Mortalitätsraten bezogen auf die verschiedenen Scoring-Kriterien ist in Tabelle 9 dargestellt. (22)(24)(26)

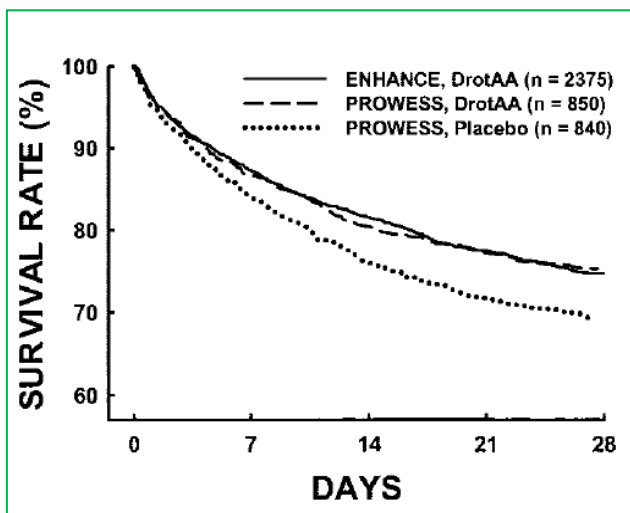


Abbildung 12: Kaplan-Meier Überlebenskurven (24)

Vergleich der Überlebenskurven der beiden Studien PROWESS und ENHANCE. Die beiden Kurven der Medikamentengruppe sind beinahe ident und heben sich beide deutlich von der Placebo-Gruppe ab.

Charakteristika	PROWESS (n=1,690)		ENHANCE (n=2,375)
	Placebo (n=840) % Mortalität	DrotAA (n=850) % Mortalität	DrotAA % Mortalität
Alter			
<65 Jahre, % (n)	20.9 (449)	15.6 (437)	18.5 (1,321)
≥65 Jahre, % (n)	42.2 (391)	34.4 (413)	33.7 (1,054)
APACHE II Score, % (n)			
<25 (n)	19.0 (437)	18.8 (436)	18.8 (1,513)
≥25 (n)	43.7 (403)	30.9 (414)	36.7 (862)
APACHE II Quartilen, % (n)			
Erste (0-16 Punkte)	12.1 (116)	16.0 (119)	14.4 (571)
Zweite (17-21 Punkte)	18.0 (189)	15.7 (189)	18.8 (626)
Dritte (22-26 Punkte)	28.2 (206)	23.3 (227)	29.2 (541)
Vierte (≥27 Punkte)	46.5 (329)	34.2 (319)	38.0 (637)
Operation, % (n)			
Nein	30.9 (563)	23.3 (584)	24.6 (1,396)
Ja	30.7 (274)	28.3 (258)	25.8 (972)
Anzahl an Organdysfunktionen, % (n)			
1	21.2 (203)	19.5 (215)	15.4 (370)
2	26.0 (273)	20.7 (270)	17.7 (706)
3	34.4 (218)	26.2 (214)	27.3 (703)
4	46.6 (116)	38.7 (119)	39.0 (436)
5	53.3 (30)	32.3 (31)	35.0 (160)
SOFA-Score Quartilen, % (n)			
Erste (0-7 Punkte)	21.4 (229)	13.8 (247)	13.9 (581)
Zweite (8-9 Punkte)	28.7 (178)	25.3 (182)	25.3 (470)
Dritte (10-12 Punkte)	35.3 (224)	27.6 (214)	26.2 (645)
Vierte (≥13 Punkte)	49.6 (115)	39.7 (121)	37.0 (457)
Vasopressoren, % (n)			
Nein	26.1 (299)	21.0 (334)	18.1 (625)
Ja	33.5 (541)	27.1 (516)	27.9 (1,748)
Mechanische Ventilation, % (n)			
Nein	22.9 (188)	17.6 (227)	14.7 (428)
Ja	33.1 (652)	27.3 (623)	27.0 (1,946)

Tabelle 9 Mortalitätsraten in %, Aufgeteilt nach verschiedenen Kriterien und von 2 verschiedenen Studien (24)

Im Rahmen der ENHANCE-Studie wurde im Vergleich zur PROWESS-Studie eine deutlich erhöhte Rate an Blutungskomplikationen festgestellt (6.5% vs. 3.5%). Die höhere Rate an Blutungskomplikationen tritt während der Infusionsperiode sowie in der Postinfusionsperiode auf. Auch die als Subgruppe beobachteten intrakraniellen Blutungen kommen in der ENHANCE-Studie häufiger vor (1.5% vs.

0.2%). Bei intrakraniellen Blutungen mit fatalem Ausgang ist die Differenz jedoch nur gering erhöht (0.5% vs. 0.2%).

Die Komplikationsraten an schweren Blutungen sind in Tabelle 10 tabellarisch dargestellt. (24)

	PROWESS		ENHANCE
	Placebo (n=840) %, 95% CI (n)	DrotAA (n=850) %, 95% CI (n)	DrotAA (n=2378) %, 95% CI (n)
Infusionsperiode			
Gesamt	1.0, 0.4-1.9 (8)	2.4, 1.4-3.6 (20)	3.6, 2.9-4.4 (85)
Intrakranielle Blutungen			
Total	0.0, 0.0-0.4 (0)	0.2, 0.0-0.8 (2)	0.6, 0.4-1.0 (15)
Fatal	0.0, 0.0-0.4 (0)	0.2, 0.0-0.8 (2)	0.2, 0.1-0.5 (5)
Postinfusionsperiode			
Gesamt	1.1, 0.5-2.0 (9)	1.2, 0.6-2.2 (10)	3.2, 2.5-4.0 (76)
Intrakranielle Blutungen			
Total	0.1, 0.1-0.7 (1)	0.0, 0.0-0.4 (0)	0.8, 0.5-1.3 (20)
Fatal	0.1, 0.1-0.7 (1)	0.0, 0.0-0.4 (0)	0.3, 0.1-0.6 (7)
28-Tage Periode			
Gesamt	2.0, 1.2-3.2 (17)	3.5, 2.4-5.0 (30)	6.5, 5.6-7.6 (155)*
Intrakranielle Blutungen			
Total	0.1, 0.1-0.7 (1)	0.2, 0.0-0.8 (2)	1.5, 1.0-2.0 (35)
Fatal	0.1, 0.1-0.7 (1)	0.2, 0.0-0.8 (2)	0.5, 0.3-0.9 (12)

*Die Prozentsätze basieren darauf, dass die Patienten/-innen mindestens einen Blutungszwischenfall hatten. Es war möglich, dass ein Patient mehrere Blutungszwischenfälle in verschiedenen Perioden hatte. 6 Patienten/-innen hatten Blutungszwischenfälle in der Infusions- sowie Postinfusionsperiode, was hier in der 28-Tages Mortalität berücksichtigt wurde.

Tabelle 10: Blutungszwischenfälle in der PROWESS und ENHANCE Studie (24)

ADRESS-Studie

(Administration of Drotrecogin Alfa [Activated] in Early Stage Severe Sepsis)

Studiendesign

Bei dieser Studie handelt es sich um eine randomisierte, doppelblinde, Placebo-kontrollierte, klinische Studie.

Die Studie fand in 34 Ländern statt und es waren 516 Zentren daran beteiligt. Ziel der Studie war es, einen positiven Effekt von DrotAA bei einem Patienten/-innengut mit schwerer Sepsis und einem geringen Sterberisiko nachzuweisen. Aufgrund der schlechten Ergebnisse musste die Studie jedoch abgebrochen werden und somit konnten anstatt der geplanten 11.444 Patienten/-innen nur Daten von 2613 Patienten/-innen ausgewertet werden. (25)(26)

Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien für diese Studie waren eine schwere Sepsis und entweder das Versagen eines Organes oder ein APACHE II Score <25.

Patienten/-innen wurden von der Studie ausgeschlossen, wenn DrotAA aufgrund der im aufnehmenden Land verwendeten Richtlinien für DrotAA das Medikament kontraindiziert war, es ein erhöhtes Blutungsrisiko gab, der Patient moribund und ein 28-Tage Überleben unwahrscheinlich war oder es keine Zustimmung zu einer aggressiven Behandlung gab. (25)(26)

Ergebnisse

Das Ergebnis dieser Studie war, dass es keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Mortalitätsrate in der 28-Tage-Beobachtungsperiode in der DrotAA und der Placebogruppe gab (17.0% in der Placebo Gruppe gegenüber 18.5% in der Medikamentengruppe). Es wurde jedoch nachgewiesen, dass die

Blutungskomplikationen in der DrotAA-Gruppe signifikant erhöht waren. Dies traf auf die Infusionsperiode (2.4% gegenüber 1.2%, P=0.02), sowie auf die 28-Tage Beobachtungsperiode zu (3.9% gegenüber 2.2%, P=0.01) (Tab.11). (25)(26)

ADDRESS			
	DrotAA (n=1317)	Placebo (n=1293)	P
	Absolut (%)	Absolut (%)	
Infusionsperiode			
schwere Blutung	31 (2,4)	15 (1,2)	0,02
intrakranielle Blutung	4 (0,3)	3 (0,2)	0,72
28-Tage-Studienzeitraum			
schwere Blutung	51 (3,9)	28 (2,2)	0,01
intrakranielle Blutung	6 (0,5)	5 (0,4)	0,79

Tabella 11: Blutungskomplikationen im Rahmen der ADDRESS Studie (26)

Ergebnisse des Langzeit follow ups

Von dieser Studie gab es auch eine Langzeitverfolgung der eingeschlossenen Patienten/-innen, um ein Sicherheitsprofil von DrotAA über einen längeren Zeitraum zu erstellen.

Die Ergebnisse sind in Abb. 13 festgehalten. Es zeigte sich keine signifikante Wirkung von DrotAA in den unterschiedlichen Subgruppen in der 28-tägigen Periode sowie in dem Beobachtungszeitraum über ein Jahr. Es traten jedoch auch keine vermehrten Komplikationen in dem Zeitraum zwischen Entlassung aus dem Krankenhaus und einem Jahr auf. DrotAA scheint also ein akzeptables 1-Jahres-Sicherheitsprofil bei Patienten/-innen mit schwerer Sepsis und geringem Sterberisiko zu haben. (25)

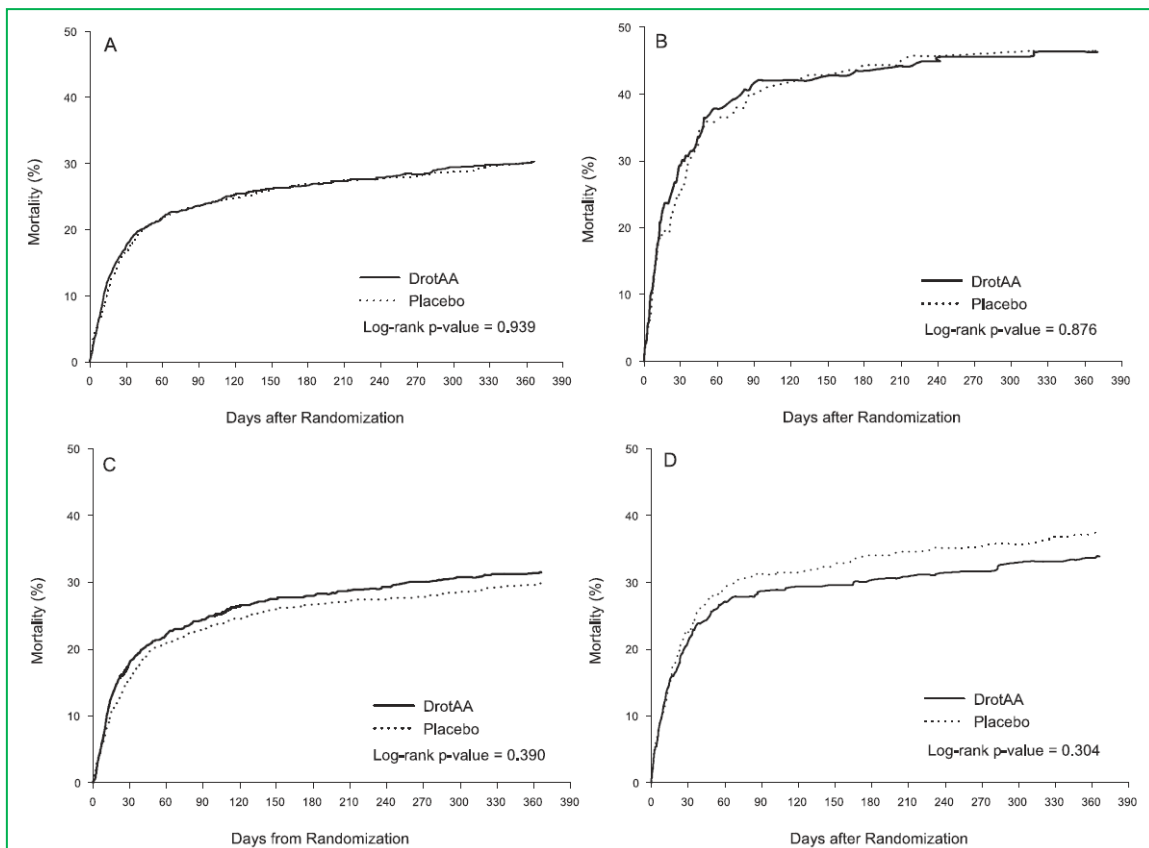


Abbildung 13: Kaplan-Meier-Schätzer für DrotAA und Placebo Patienten/-innen (25)

Kaplan-Meier-Schätzer für DrotAA und Placebo Patienten/-innen, die in verschiedene Subgruppen unterteilt wurden. In keiner der Subgruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der 1-Jahres Mortalität festgestellt werden. **A** Ausgangs APACHE II Score <25 (DrotAA n=1,168; Placebo n=1,147), **B** Ausgangs APACHE II ≥25 (DrotAA n=165, Placebo n=159), **C** 1 Organversagen (DrotAA n=864, Placebo n=891), **D** Organversagen ≥2 Organe (DrotAA n=460, Placebo n=412)

XEUS-Studie

(Xigris use in the US)

Studiendesign

Die XEUS Studie war eine prospektive, multizentrische, in einem Land durchgeführte Beobachtungsstudie. Sie wurde in 61 nicht-universitären beziehungsweise lehrenden Krankenhäusern in den USA durchgeführt. (27)

Ein- und Ausschlusskriterien

Für die Aufnahme in diese Studie mussten Patienten/-innen eine schwere Sepsis haben und mit DrotAA behandelt worden sein. (27)

Basis-Charakteristika des Patienten/-innengutes

Variablen	XEUS gesamt (n=548)
Durchschnittsalter ±SD (Jahre)	58 ±17
Männlich (%)	51.8
Rasse (%)	
Kaukasier	74.3
Afroamerikaner	18.1
Lateinamerikaner	5.6
Andere	2.0
Komorbiditäten (%)	
Hypertension	51.6
Diabetes	28.6
KHK	25.9
COPD	21.4
Aktiver Krebs	18.9
Nierenerkrankung	14.1
Kardiomyopathie	12.1
Neurologische Erkrankung	11.4
Lebererkrankung	7.7
Infektionslokalisation (%)	
Lunge	54.7
Abdomen	23.9
Harntrakt	15.3
Andere	19.5
Positive Blutkultur (%)	43.6
Organdysfunktionen (%)	
Kardiovaskulär	85.0
Respiratorisch	78.8
Renal	57.9
Metabolisch	37.4
Hämatologisch	22.3
(Hepatisch)	27.2
≥2 Organe* (%)	85.4
Vasopressoren (%)	84.3
Mechanische Ventilation (%)	84.5

* Multiple Organdysfunktionen kalkuliert basierend auf der Auflistung der Organdysfunktionen mit Ausnahme der hepatischen.

Tabelle 12 Basis-Charakteristika des Patienten/-innengutes der XEUS-Studie (27)

Ergebnisse

In der XEUS Studie war die 28-Tage Mortalität im Gegensatz zur Hochrisikogruppe der PROWESS Studie deutlich erhöht (36,7% vs. 30,9% P=0,062). Jedoch hatten die Patienten/-innen in dieser Studie mehr Komorbiditäten und mehr Sepsis-induzierte Organdysfunktionen als in der Medikamentengruppe der PROWESS Studie.

Das Sicherheitsprofil des Medikamentes entsprach jedoch dem in der PROWESS Studie (Blutungskomplikationen während der Infusionsperiode (2,7% vs. 2,2% P=0,579, in der 28-Tage Periode 3,1% vs. 3,9% P=0,52) (Tab.13). (27)

Mortalität und Blutungskomplikationen	
	XEUS (n=548)
Mortalität	
28-Tage Mortalität, % (n)	36.7% (201)
Blutungskomplikationen	
Infusionsperiode	2.7 (15)
28-Tage Periode	3.1 (17)
28-Tage Periode intrakranielle Blutungen	0.2 (1)

Tabelle 13: Mortalität und Blutungskomplikationen in der XEUS-Studie (27)

Drotrecogin alfa (activated): real-life use and outcomes for the UK

Einführung

Diese zusammenfassende Analyse der Anwendung von DrotAA in Englischen Intensive Care Units wurde durchgeführt, nachdem einige Kontroversen bezüglich der großen PROWESS-Studie aufkamen. Daher sollte in England mittels einer Datenbank die tatsächliche Anwendung und Wirksamkeit von DrotAA analysiert werden. (28)

Methoden

Im Dezember 2002 wurden 197 Intensive Care Units in England dazu eingeladen, an einer Überprüfung von DrotAA teilzunehmen. Die Daten jeder Anwendung von DrotAA wurden aufgezeichnet und die Anwendung von DrotAA beschrieben und ein nicht-randomisierter Effektivitätsvergleich wurde durchgeführt. (28)

Ergebnisse

In die Analyse aufgenommen wurden letztendlich 112 Units. Insgesamt wurden 1292 DrotAA-Infusionen verabreicht, was einem Durchschnitt von 5.3 Infusionen/Jahr/Unit entspricht. Insgesamt wurde DrotAA jedoch nur in einem von 16 Fällen, die die Kriterien für die Anwendung erfüllten, angewendet. Die Infusionen wurden mehrheitlich innerhalb der ersten 24 Stunden verabreicht (60,7%), aber nahezu ein Drittel der Infusionen wurde nicht über den gesamten Zeitraum von 96 Stunden durchgeführt (Verschlechterung bis zum Tod machte etwa die Hälfte davon aus, aktuelle Blutung oder ein vorhandenes Risiko nochmals ein Viertel).

Etwa ein Viertel der Infusionen wurde unterbrochen, wobei die durchschnittliche Dauer der Unterbrechung circa 5 Stunden betrug.

Bei 104 (8,1%) Patienten/-innen wurden schwere Zwischenfälle aufgezeichnet, 80 (76,9%) davon waren schwere Blutungskomplikationen, 10 (9,6%) waren thrombotische Ereignisse und 19 (18,3%) andere Ereignisse.

Unter Anwendung zweier verschiedener statistischer Ansätze (individual case matching und propensity model matching) und Einbeziehung von vier verschiedenen Kontrollgruppen kam man bei dem nicht-randomisierten Vergleich der Effektivität von DrotAA zu acht verschiedenen Ergebnissen, von welchen 7 Ergebnisse mit den 28-Tage Ergebnissen von PROWESS konsistent waren. (28)

Human recombinant activated Protein C for severe sepsis (Review)

Aufbau

Bei diesem Review der Cochrane Collaboration handelt es sich um eine Metaanalyse verschiedener Studien um die Effektivität von aktiviertem Protein C bei der Behandlung von Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock zu überprüfen. Im Rahmen dieser Metaanalyse wurden 5 Studien mit insgesamt 5101 Patienten untersucht. (29)

Ein- beziehungsweise Ausgeschlossene Studien

Einschlusskriterien

Es wurden nur randomisierte, kontrollierte Studien mit Parallel- oder Cross-over design, unabhängig von Publikationsstatus oder Sprache aufgenommen.

Es wurden keine Studien über Neugeborene aufgenommen, da dieses Thema bereits im Rahmen eines anderen Reviews behandelt wurde. (29)

Eingeschlossen wurden folgende 5 RCT's (randomized controlled trials):

- ADDRESS 2005
- Dhainaut 2009
- PROWESS 2001
- RESOLVE 2007
- rhAPC Sepsis Study 2001

Ausgeschlossen, da sie die Einschlusskriterien nicht erfüllen konnten, wurden folgende Studien:

Barton 2004; Bearden 2002; Bernard 2004; Bertolini 2007; Casey 2002; Costa 2007; Decruyenaere 2009; Ferrer 2009; Freeman 2003; Goldstein 2006; Green 2005; Gullo 2005; Heslet 2004; Higgins 2005; Hodder 2009; Houston 2009; Kanji 2007; Kubler 2006; Levi 2008; Lucioni 2002; Mackenzie 2006; Marraro 2009;

McCoy 2003; McCoy 2004; Neilson 2003; Riou 2006; van Doorn 2008; Vincent 2005; Wheeler 2008; Wiedermann 2005. (29)

Ergebnisse

28-Tage Mortalität

Bezüglich der 28-Tage-Mortalität konnte keine Risikoreduktion für Erwachsene Patienten mit schwerer Sepsis nachgewiesen werden (gepooltes RR 0.97%, 95% CI 0.78 bis 1.22, P=0.82, I²=68%). Es konnte jedoch bei Patienten die mit APC behandelt wurden ein erhöhtes Blutungsrisiko nachgewiesen werden (RR 1.47, 95% CI 1.09 bis 2.00, P=0.01, I²=0%). Siehe ebenfalls unten angeführte vergleichende Statistiken. (29)

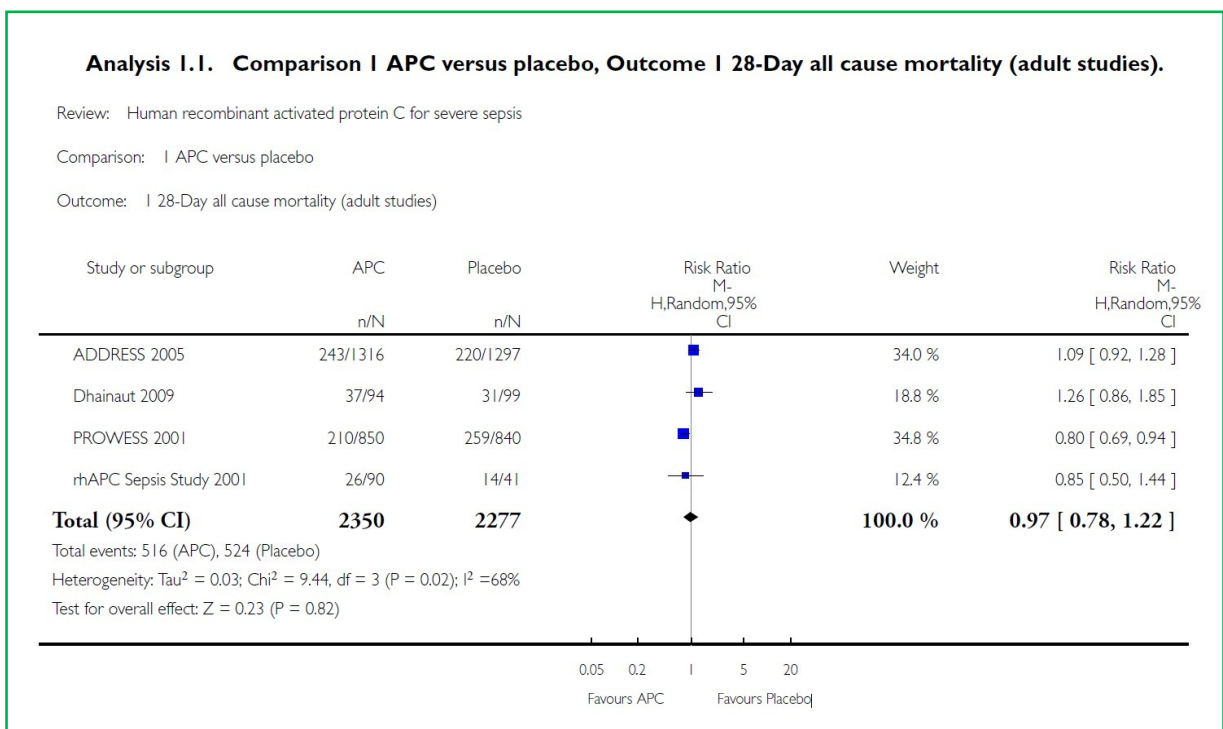


Abbildung 14: Vergleich APC versus Placebo, 28-Tage-Gesamtmortalität (29)

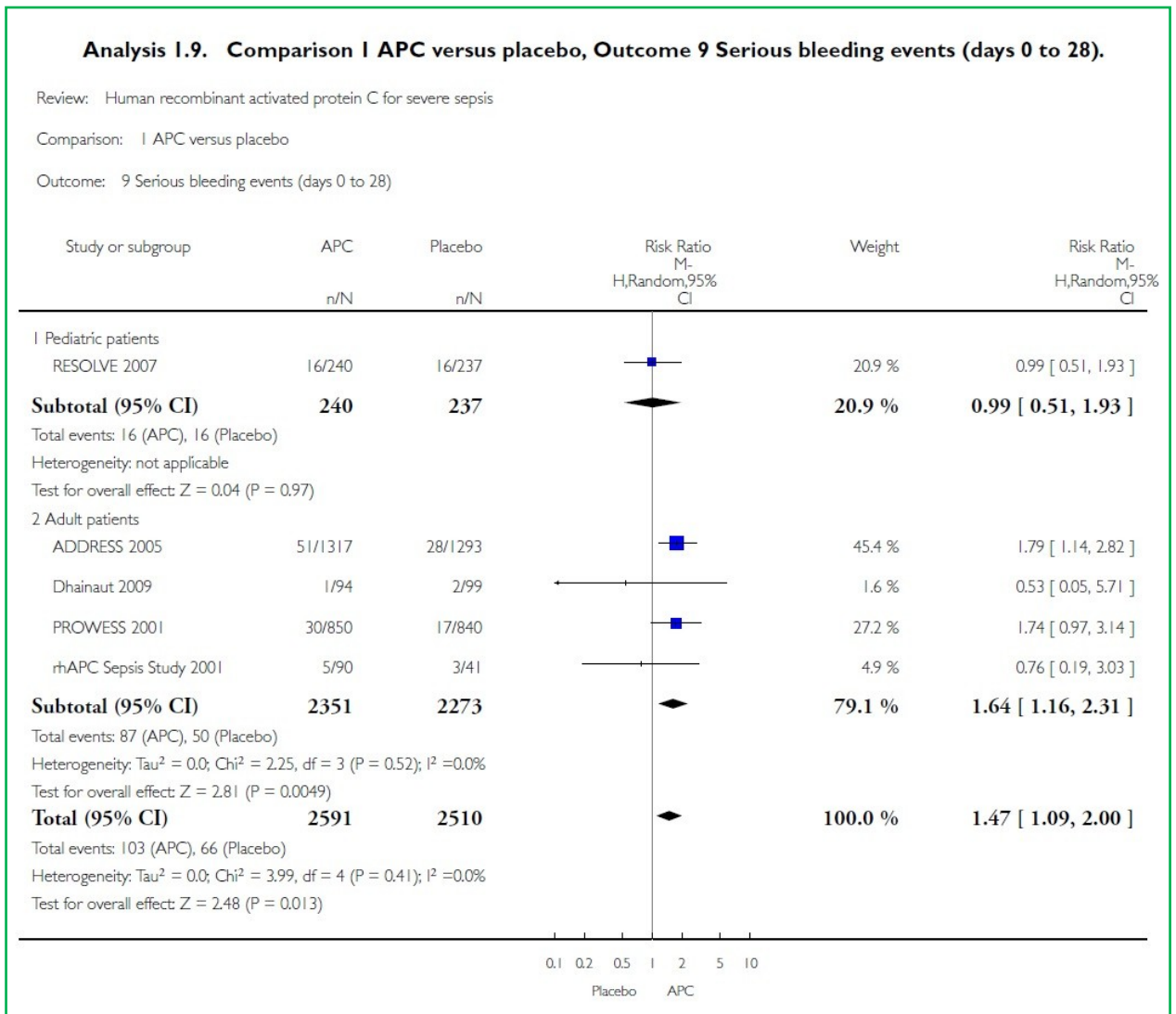


Abbildung 15: Vergleich APC versus Placebo, schwere Blutungskomplikationen (29)

Qualität der Evidenz

Die Hauptursache von Bias in den inkludierten Studien waren fehlende Beschreibungen der Generierung der Randomisierungssequenz sowie der Verblindung. Abgesehen davon waren die Studien adäquat verblindet und frei von outcome reporting biases.

Es gibt jedoch 2 Probleme, die nicht vernachlässigbar sind, und das Gesamtergebnis der Metaanalyse beeinflussen könnten.

Alle untersuchten Studien wurden von Ely Lilly gesponsert und enthielten Autoren, welche Beteiligungen an Ely Lilly hatten oder Angestellte des Unternehmens waren. Eine große Anzahl an Studien belegt, dass durch Pharma-Industrie

gesponserte Studien mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit zu statistisch signifikanten Ergebnissen führen.

Ein weiteres Problem war, dass die meisten inkludierten Studien Beschränkungen bezüglich der Vollendung der ursprünglich designten Protokolle hatten.

So wurden die beiden Studien PROWESS und ADDRESS vor Abschluss des Protokolls wegen Zwecklosigkeit eingestellt. Dhainaut 2009 musste seine Einschlusskriterien aufgrund von Problemen bei der Rekrutierung ändern und reduzierte den Studenumfang um 25%. Die Änderung der Stichprobengröße und die starke Reduktion könnten in dieser Studie zu einem falsch negativem Ergebnis geführt haben.

Die PROWESS Studie war jedoch die Studie, bei der die Änderungen die größte Auswirkung hatten. Das originale Studienprotokoll wurde nach 720 Patienten abgeändert. Dabei wurde die Placebo-Zusammensetzung geändert, einige Ausschlusskriterien abgeändert und eine neue Prozedur zur Produktion von APC eingeführt. Die Studie nahm noch weitere 970 Patienten auf bevor sie aufgrund der guten Ergebnisse vorzeitig beendet wurde. Die Sensitivitätsanalyse für den primary outcome dieses Reviews zeigte auf, dass die Daten der zweiten Phase der PROWESS Studie die Hauptursache für die Uneinheitlichkeit der gepoolten Analyse waren. (29)

Zusammenfassung

Mortalität

In der folgenden Tabelle (Tab. 14) werden die Mortalitätsraten der Studien PROWESS, ENHANCE, ADDRESS und XEUS nebeneinander dargestellt.

Im Rahmen dieses Vergleichs scheinen die Mortalitätsraten der PROWESS und der ENHANCE Studie gut miteinander vergleichbar zu sein, wohingegen die Raten der ADDRESS und der XEUS Studie stark abweichen.

Eine mögliche Erklärung für die Divergenz der Daten der ADDRESS Studie stellt der Umstand dar, dass in dieser Studie Patienten/-innen mit schwerer Sepsis und einer geringen Wahrscheinlichkeit zu sterben beobachtet wurden (was die deutlich niedrigere Mortalitätsrate erklären könnte).

Die höheren Mortalitätsraten der XEUS Studie könnten mit den veränderten Rahmenbedingungen zusammenhängen, da in dieser Studie nur nicht-universitäre Kliniken vertreten waren.

Mortalitätsraten im Vergleich			
Studien	DrotAA	Placebo	P
PROWESS	(n=850) % (absolut)	(n=840) % (absolut)	
	24,7 (210)	30,8 (259)	0,005
ENHANCE	(n=2375) % (absolut)	-	
	25,3 (601)	-	-
ADDRESS	(n=1317) % (absolut)	(n=1293) % (absolut)	
	18,5 (244)	17 (220)	n.s.
XEUS	(n=548) % (absolut)	-	
	36,7 (201)	-	-

Tabelle 14 Mortalitätsraten der verschiedenen Studien im Vergleich (24)(25)(26)(27)

Blutungsrisiko

In nachfolgender Tabelle (Tab. 15) werden die aufgetretenen schweren Blutungsereignisse der verschiedenen Studien absolut sowie prozentual dargestellt.

	PROWESS			ADDRESS			ENHANCE	XEUS
	DrotAA (n=850)	Placebo (n=840)	P	DrotAA (n=1317)	Placebo (n=1293)	P	DrotAA (n=2378)	DrotAA (n=548)
	Absolut (%)			Absolut (%)			Absolut (%)	Absolut (%)
Während der Infusion								
schwere Blutung	20 (2,4)	8 (1,0)	0,02	31 (2,4)	15 (1,2)	0,02	85 (3,6)	15 (2,7)
intrakranielle Blutung	2 (0,2)	0 (0)	-	3 (0,2)	3 (0,2)	0,72	15 (0,6)	-
28-Tage Studienzeitraum								
schwere Blutung	30 (3,5)	17 (2,0)	0,06	51 (3,9)	28 (2,2)	0,01	155 (6,5)	17 (3,1)
intrakranielle Blutung	2 (0,2)	1 (0,1)	-	6 (0,5)	5 (0,4)	0,79	35 (1,5)	1 (0,2)

Tabelle 15 Schwere Blutungsereignisse (absolut und prozentual) während und nach der Medikation bis Tag 28 (24)(25)(26)(27)

Wie in der Tabelle zu sehen ist, besteht in erster Linie während der Infusionsperiode ein signifikant höheres Risiko ($P=0,02$), eine schwere Blutung zu erleiden. Bezüglich der Komplikationsrate an schweren Blutungen im 28-Tage Studienzeitraum weisen die Daten der PROWESS Studie im Gegensatz zur ADDRESS Studie kein signifikant höheres Risiko auf. Zu beachten ist bei dieser Gegenüberstellung, dass diese Studien aufgrund ihres unterschiedlichen Patienten/-innengutes nicht unbedingt miteinander vergleichbar sind. In der ADDRESS Studie wurde lediglich die Anwendungssicherheit von DrotAA an Patienten/-innen mit einer schweren Sepsis und einer geringen Sterbewahrscheinlichkeit getestet, damit ist das Patienten/-innengut mit dem der PROWESS Studie nicht direkt vergleichbar.

Die XEUS Studie weist eine ähnliche Komplikationsrate wie PROWESS und ADDRESS auf, lediglich die ENHANCE Studie fällt mit ihrer hohen Rate (6,5%) an schweren Blutungskomplikationen im 28-Tage-Zeitraum aus der Reihe.

4. Diskussion

Die Sepsis ist mit einer geschätzten Prävalenz von 11-14% eine häufige Komplikation auf Intensivstationen, besonders die hohe Mortalitätsrate der schweren Sepsis von 55% stellt ein Problem dar. Deshalb bedarf es einer entsprechend effektiven Therapie für diese Komplikation. Leider lieferten die bisher getesteten Therapieansätze keine eindeutigen Erfolge.

Xigris® lieferte im Rahmen der großen PROWESS Studie einen Teilerfolg in der Behandlung der schweren Sepsis, der durch eine absolute Reduktion der Todesrate um 6,1% gekennzeichnet war.

Ein Problem, das sich bei der Behandlung mit Xigris® auftat, war jedoch das gehäufte Auftreten von Blutungskomplikationen. Im Rahmen des 28-tägigen Untersuchungszeitraumes traten bei Xigris® Patienten/-innen 3,5% schwere Blutungskomplikationen auf, in der Placebogruppe nur 2,0%. Diese Differenz war mit einem P-Wert von 0,06 allerdings gerade noch nicht signifikant.

Weitere Studien mit unterschiedlichem Studienaufbau folgten.

Eine der folgenden Studien war die ENHANCE Studie, welche nochmals Wirksamkeit und Sicherheit von Xigris® untersuchte, aufgrund der nachgewiesenen Wirksamkeit des Medikamentes in der PROWESS Studie wurde diese Studie nicht Placebo-kontrolliert durchgeführt. Die Gesamtmortalität von 25,3% entsprach in etwa den Ergebnissen der PROWESS Studie, welche eine Gesamtmortalitätsrate von 24,7% in der Medikamentengruppe aufwies. Im Rahmen der ENHANCE Studie wurden noch weitere verschiedene Kriterien überprüft, die den gezielten Einsatz von Xigris® erleichtern sollten. Aus diesen Daten ergab sich, dass der APACHE II Score der am besten geeignete Score war, um die Zielgruppe für das Medikament einzugrenzen.

Bezüglich der Blutungskomplikationen im Rahmen der 28-Tage-Untersuchungsperiode war aus dieser Studie eine deutlich erhöhte Rate an Blutungskomplikationen hervorgegangen (6,5% versus 3,5%).

Die ADDRESS Studie sollte über Wirkung und Sicherheitsprofil von Xigris® bei Patienten/-innen mit schwerer Sepsis und einer geringen Wahrscheinlichkeit zu versterben Aufschluss geben. Die Studie wurde aufgrund der schlechten Ergebnisse früh abgebrochen. Es ergab sich keine signifikante Senkung der Mortalität bei diesem Patienten/-innengut. Auch in dieser Studie konnte jedoch eine signifikant höhere Rate an Blutungskomplikationen im Bezug zur Placebo-Gruppe nachgewiesen werden (3,9% vs. 2,2% P=0,01).

In den USA wurde die XEUS Studie durchgeführt, welche ausschließlich an nicht universitären oder lehrenden Kliniken durchgeführt wurde. Die Mortalität in dieser Studie war mit 36,7% deutlich höher als in der PROWESS Studie (30,9%). Hierzu ist jedoch anzumerken, dass das Patienten/-innengut in dieser Studie aufgrund vermehrter Komorbiditäten und Sepsis-induzierter Organdysfunktionen nicht mit dem Patienten/-innengut der PROWESS Studie vergleichbar war.

Die Rate an Blutungskomplikationen in der Studie entsprach jedoch in etwa der der PROWESS Studie (3,5% XEUS vs. 3,1%PROWESS).

Eine weitere Studie, die im Rahmen der Diplomarbeit betrachtet wurde, ist jene über die Anwendung von Xigris® in Großbritannien. Diese Studie wurde vor allem gezeigt, um einige Daten über den tatsächlichen Einsatz von Xigris® darzustellen.

In dieser Studie wurden Problematiken im praktischen Einsatz von Xigris® ersichtlich, zum Beispiel die geringe Anwendungsrate (nur 1 von 16 Patienten/-innen, die die Kriterien erfüllten), die Einhaltung des optimalen Zeitfensters zur Verabreichung (lediglich 60,7% innerhalb der ersten 24h) sowie viele Unterbrechungen in der Infusionstherapie und eine hohe Rate an schweren Blutungskomplikationen (6,2%).

Ein weiteres Thema bei der Behandlung mit Xigris® stellen natürlich die Kosten dar. Obwohl sich diese Diplomarbeit nicht mit den Kosten der Behandlung auseinandersetzt, sollte meines Erachtens trotzdem erwähnt werden, wie viel eine Behandlung mit Xigris® in etwa kostet. Laut meinen Recherchen belaufen sich die Kosten des Medikamentes für eine 96-stündige Infusion auf etwa 8.000-10.000 € (nur Medikamentenkosten).

Im April 2011 veröffentlichte die Cochrane Library einen Review bezüglich der Effektivität und Sicherheit von aktiviertem Protein C in der Sepsisbehandlung. In diesem Review wurden 5 randomisierte kontrollierte Studien mit einem Patienten/-innengut von insgesamt 5101 Patienten/-innen ausgewertet, mit ernüchternden Ergebnissen. Es ergab sich keine signifikante Reduktion des Sterberisikos (zusammengefasstes RR 0,97%, 95% CI: 0,78-1,22, P=0,82), dafür jedoch ein signifikant erhöhtes Blutungsrisiko (RR 1,47, 95% CI: 1,09-2,00, P=0,01). Somit soll aktiviertes Protein C nicht mehr verwendet werden, bis neue Daten diesen Stand widerlegen.

5. Fazit

Im Rahmen meiner Diplomarbeit habe ich mich mit dem Medikament Drotrecogin alpha (aktiviert) - (Xigris®), sowie den physiologischen Abläufen, die Protein C beeinflusst, auseinandergesetzt. In der Theorie wirkt der Einsatz von Drotrecogin alpha (aktiviert) - (Xigris®) auch schlüssig und die Daten der großen PROWESS Studie zeichnen das Bild eines durchaus wirksamen Medikamentes in der Behandlung der Sepsis. Studien, die auf die PROWESS Studie folgten, konnten jedoch teilweise nicht mehr an die vielversprechenden Zahlen dieser Studie

anknüpfen, vielmehr tat sich das Problem auf, dass in einigen Studien nachgewiesen wurde, dass signifikant häufiger Blutungskomplikationen bei der Anwendung des Medikamentes auftraten. Dieser Umstand, zusammen mit den nicht konklusiven Daten anderer Studien über die Wirksamkeit von Drotrecogin alpha (aktiviert) - (Xigris®) führten dazu, dass sich für ein zu Beginn als Lichtblick in der Sepsisbehandlung gesehenes Medikament im Laufe der Jahre eine immer größer werdende Schar an Kritikern des Medikamentes zu bilden begann. Im Oktober 2011 wurde das Medikament letztendlich vom Markt genommen. So kann ich am Ende meiner Arbeit auf eine durchaus interessante Entwicklung eines einst vielversprechenden Medikamentes zurückblicken, die es in so einer Art und Weise wohl nicht sehr häufig zu beobachten gibt.

6. Literaturverzeichnis

1. **Silbernagl, S. und Despopolus, A.** Taschenatlas der Physiologie. Stuttgart : Georg Thieme Verlag, 2003.
2. **Neumann, H.A.** Das Gerinnungssystem. Berlin : ABW Wissenschaftsverlag GmbH, 2008.
3. **Werdan und Müller-Werdan, Schuster.** Sepsis und MODS. Heidelberg : Springer Medizin Verlag, 2005.
4. **Neyrinck, A.P., et al.** Protective mechanisms of activated protein C in severe inflammatory disorders. British Journal of Pharmacology. 2009, Vol.158; S.1034-1047.
5. **Marlar, R. A., Kleiss, A.J. und Griffin, J.** Mechanism of Action of Human Activated Protein C, a Thrombin-Dependent Anticoagulant Enzyme. Blood. 1982, 59.
6. **Castellino, F.J. und Ploplis, V.A.** The protein C pathway and pathologic processes. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2009, Vol.7; S.140-145.
7. **Sarangji, P.P., Lee, H. und Kim, M.** Activated protein C action in inflammation. British Journal of Haematology. 2009, Vol.148; S.817-833.
8. **Foster, D. und Davie, E.W.** Characterization of a cDNA coding for human protein C. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1984, 81, S. 4766-4770.
9. **Esmon, C. T.** The Protein C Pathway. CHEST Vol.124. 2003, S. 26-32.
10. **Toussaint, S. und Gerlach, H.** Activated Protein C for Sepsis. The New England Journal of Medicine. 2009, Vo.361; S.2646-2652.
11. **D, Joe.** Commons wikimedia. [Online] 2007.
http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Coagulation_full.svg.
12. **Engel, Christoph, et al.** Diagnose und Epidemiologie der Sepsis. Ärzteblatt Thüringen. 2007 Vol.7-8, S. 414-417.
13. **Engel, Cristoph, et al.** Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. Intensive Care Med. . 2007 Vol.33, 606-618.
14. **Anas, A. A., Wiersinga, W.J. und de Vos, A. F., van der Poll, T.** Recent insights into the pathogenesis of bacterial sepsis. The Netherlands Journal of Medicine. 2010, 68, S. 147-152.

15. **Movat, HZ, et al.** *Acute inflammation in gram negative infection: endotoxin, interleukin 1, TNF and neutrophils.* Fed Proc. 1987, 46, S. 97.
16. **Pinsky, MR und Matuschak, GM.** *Multiple system organ failure: failure of host defense haemostasis.* Critical Care Clinical Medicine. 1989, 5, S. 199-220.
17. **Bone, RC.** *The pathogenesis of sepsis.* Annals of Internal Medicine. 1991, 115, S. 680.
18. —. *Immunological dissonance: a continuing evolution in our understanding of the SIRS and the MODS.* Annals of Internal Medicine. 1996, 125, S. 690-701.
19. **Miller, PJ und Wenzel, RP.** *Etiologic organisms as independent predictors of death and morbidity associated with bloodstream infections.* Journal of Infectious Diseases. 1987, 156, S. 471.
20. **Kanus, William A.** *APACHE 1978-2001: The development of a quality assurance system based on Prognosis.* Archives of Surgery. 2002, 137, S. 37-41.
21. **Bernard, G. R., et al.** *Efficiency and safety of recombinant human activated Protein C for severe Sepsis.* The New England Journal of Medicine. 2001, Vol.344; S.699-709.
22. **Laterre, P.-F.** *Clinical trials in severe sepsis with drotrecogin alfa (activated).* Critical Care. 2007, Vol.11; S.5.
23. **Wiedermann, C.J. und Kaneider, N.C.** *A meta-analysis of controlled trials of recombinant human activated protein C therapy in patients with sepsis.* BMC Emergency Medicine. 2005, Vol.5:7.
24. **Vincent, Jean-Lois, et al.** *Drotrecogin alfa (activated) treatment in severe sepsis from the global open-label trial ENHANCE: Further evidence for survival and safety and implication for early treatment.* Critical Care Medicine. 2005, Vol.33 S.2266-2277.
25. **Laterre, P.-F., et al.** *ADDRESS (ADministration of DRotrecogin alfa (activated) in Early stage Severe Sepsis) long-term follow-up: One year safety and efficacy evaluation.* Critical Care Medicine. 2007, Vol.35, No.6, S.1457-1463.
26. **Cobas Meyer, M., et al.** *PROWESS, ENHANCE und ADDRESS: Klinische Konsequenzen für die Behandlung mit Drotrecogin alfa (aktiviert).* Der Anaesthesist. 2006, Vol.55 S.16-23.
27. **Steingrub, J.S., et al.** *A prospective, observational study of Xigris Use in the United States (XEUS).* Journal of Critical Care. 2010, Vol.25, S.660.e9-660.e16.

28. **Rowan, K. M., et al.** Drotrecogin alfa (activated): real-life use and outcomes for the UK. *Critical Care*. 2009, Vol.12 S.1-12.
29. Human recombinant activated protein C for severe sepsis. **Marti-Carvajal, Arturo J, et al.** Issue 4, s.l. : *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2011.
30. **Wheeler, Arthur, et al.** A retrospective observational study of drotrecogin alfa (activated) in adults with severe sepsis: Comparison with a controlled clinical trial. *Critical Care Medicine*. 2008, Vol.36; No.1; S.14-23.
31. **Vangerow, B., et al.** The protein C pathway: implications for the design of the RESPOND study. *Critical Care*. 2007, Vol.11; S.4.
32. **Tillotson, G.S.** Drotrecogin alfa on trial. *The Lancet*. 2009, Vol.9.
33. **Shorr, A.F., et al.** Randomized trial evaluating serial protein C levels in severe sepsis patients treated with variable doses of drotrecogin alfa (activated). *Critical Care*. 2010, Vol.14.
34. **Sandrock, C.E. und Albertson, T.E.** Controversies in the Treatment of Sepsis. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 2010, Vol.31; No.1.
35. **Nilsson, G., Höjgard, S. und Berntorp, E.** Treatment of the critically ill patient with protein C: Is it worth the cost? *Thrombosis Research*. 2010, Vol.125; S.494-500.
36. **Horn, F., et al.** *Biochemie des Menschen*. Stuttgart : Georg Thieme Verlag, 2005.
37. **Hodder, R.V., et al.** Early drotrecogin alfa (activated) administration in severe sepsis is associated with lower mortality: a retrospective analysis of the Canadian ENHANCE cohort. *Critical Care*. 2009, Vol.13.
38. **Finfer, S., et al.** Design, conduct, analysis and reporting of a multi-national placebo-controlled trial of activated protein C for persistent septic shock. *Intensive Care Medicine*. 2008, Vol.34; S.1935-1947.
39. **Esmon, C.T.** The interactions between inflammation and coagulation. *British Journal of Haematology*. 2005, Vol.131; S.417-430.
40. **Bernard, G.R., et al.** Extended Evaluation of Recombinant Human Activated Protein C United States Trial (ENHANCE US): A Single-Arm; Phase 3B, Multicenter Study of Drotrecogin Alfa (activated) in Severe Sepsis. *CHEST*. 2004, Vol.125; No.6; S2206-2216.

41. **Angus, D.C., et al.** *The effect of drotrecogin alfa (activated) on long-term survival after severe sepsis.* Critical Care Medicine. 2004, Vol.32; No.11; S.2199-2206.