

Ocena aktywności białka C u niemowląt operowanych z powodu wrodzonej wady serca z użyciem krążenia pozaustrojowego – badania pilotażowe



The activity of protein C among neonates undergoing surgery for congenital heart defects with cardiopulmonary bypass

Dawid Szpecht¹, Michał Wojtalik², Wojciech Mrówczyński², Grzegorz Poprawski¹, Ewa Kempka-Dobra³

¹Studenckie Kółko Naukowe Kardiochirurgii Dziecięcej UM, Poznań

²Klinika Kardiochirurgii Dziecięcej AM, S.P. Szpital Kliniczny nr 5, Poznań

³Zespół Perfuzjonistów Kliniki Kardiochirurgii Dziecięcej UM, Poznań

Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska 2007; 4 (1): 98–103

Streszczenie

Wstęp: Czynnikiem mogącym mieć wpływ na ciężkość przebiegu pooperacyjnego u niemowląt poddanych korekcji kardiochirurgicznej z powodu wady wrodzonej serca w krążeniu pozaustrojowym (ECC) jest białko C.

Cel: Celem pracy była ocena aktywności białka C podczas zabiegów kardiochirurgicznych w krążeniu pozaustrojowym. Ponadto analizowano wpływ przed- i okołoperacyjnych czynników ryzyka infekcji na zmiany w aktywności białka C oraz oceniano profil poziomów białka C u dzieci z objawami oraz bez objawów zakażenia uogólnionego.

Materiał i metody: Do badań włączono ośmioro niemowląt operowanych w krążeniu pozaustrojowym w styczniu i lutym 2006 r. w Klinice Kardiochirurgii Dziecięcej w Poznaniu. Próbkę krwi pobierano: bezpośrednio po znieczuleniu ogólnym pacjenta, pięć minut po podłączeniu do krążenia pozaustrojowego i przed odłączeniem od niego, 15 minut po podaniu protaminy, w drugiej i trzeciej dobie po operacji. Aktywność białka C oznaczono przy użyciu koagulometru Coag Chrom 3003.

Wyniki: Zauważono istotne różnice statystyczne między średnimi aktywnościami białka C w określonych punktach czasowych (A vs B, vs C, vs D, vs E, vs F, $p < 0,0001$). Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między aktywnością białka C wśród pacjentów wysokiego i niskiego ryzyka rozwoju infekcji uogólnionej ($p = 0,3939$). Nie wykazano znamiennej statystycznie różnicy między aktywnością białka C u dzieci z infekcją uogólnioną i bez niej ($p = 0,3333$).

Wnioski: ECC znacząco wpływa na metabolizm białka C. Podczas zabiegów w krążeniu pozaustrojowym stwierdza się wyraźny spadek aktywności białka C i powrót do wartości sprzed zabiegu w trzeciej dobie po operacji.

Słowa kluczowe: aktywność, białko C, wady serca, krążenie pozaustrojowe.

Abstract

Introduction: Protein C can influence the postoperative outcome in neonates undergoing correction of congenital heart disease.

Aim: The aim of this study was to: 1. analyze the activity of protein C among neonates undergoing CPB, 2. analyze the influence of pre- and perioperative infection risk factors on C protein activity changes, and 3. investigate C protein activities in children with and without postoperative infection.

Material and methods: Eight infants were operated on using CPB in deep and moderate hypothermia (age 97.6 ± 83.8 days). Blood samples were drawn at 6 time points: before general anaesthesia, 5 minutes after the beginning of CPB, 5 minutes before disconnecting from CPB, 15 minutes after administering protamine, and on the second and third postoperative day. The activity of C protein was measured with a CoagChrom 3003 Coagulometer.

Results: The mean baseline C protein activity was below the norm, decreased immediately after the institution of CPB and gradually increased to reach starting values at the end of observation. The changes were significant ($p < 0.0001$). There were no significant statistical differences among children with and without infection risk factors. Similarly, present infection did not influence C protein activity.

Conclusions: CPB exacerbates the preoperative deficit of C protein. The subsequent recovery is visible, but C protein activities do not reach normal ranges for the age group.

Key words: activity, C protein, congenital heart diseases, cardiopulmonary bypass.

Adres do korespondencji: lek. staż. Dawid Szpecht, Klinika Kardiochirurgii Dziecięcej, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań, tel. +48 61 849 12 77, e-mail: dawid.szpecht@poczta.fm

Wstęp

Zabiegi kardiochirurgiczne w krążeniu pozaustrojowym są obarczone ryzykiem wystąpienia tzw. „zespołu poperfuzyjnego”, który objawami przypomina posocznicę i jest spowodowany: kontaktem krwi ze sztucznymi powierzchniami elementów urządzeń krążenia pozaustrojowego (CPB). Powierzchnia kaniuli, oksygenatora, linii doprowadzających i odprowadzających jest odpowiedzialna za aktywację kaskady krzepnięcia, układu dopełniacza i za uwalnianie szeregu czynników immunomodulujących, tj. cytokin (IL-6, IL-8, TNF- α) leukotrienów, tromboksanów. Kontakt krwi z obcą powierzchnią skutkuje aktywacją czynnika XII i wewnątrzpodrodnej drogi układu krzepnięcia. Na skutek powyższych mechanizmów dochodzi do rozwoju uogólnionej odpowiedzi zapalnej, tzw. *systemic inflammatory response*. Szczególnym ryzykiem obarczone są dzieci operowane z powodu wad wrodzonych serca. Wystąpienie u nich niewydolności wielonarządowej w przebiegu zespołu poperfuzyjnego jest przyczyną cięższego przebiegu pooperacyjnego i wzrostu śmiertelności. Z tego względu leczenie pooperacyjne powinno uwzględniać ograniczenie nadmiernej odpowiedzi zapalnej [1, 2].

Jednym z czynników, który może mieć wpływ na stan pooperacyjny pacjentów z zespołem poperfuzyjnym, jest białko C. Należy ono do witamino-K-zależnych białek produkowanych przez wątrobę i występuje w surowicy dorosłego człowieka w stężeniu 3–5 $\mu\text{g/l}$. Stężenie białka C w surowicy zdrowego noworodka, a później niemowlęcia wynosi odpowiednio 35 i 96 U/dl [3]. Czas półtrwania tego białka wynosi od 7 do 10 godzin [4].

W literaturze wskazuje się na spadek aktywności białka C u pacjentów z zespołem uogólnionej odpowiedzi zapalnej (SIRS). Obniżona aktywność białka C skutkuje niedostateczną inaktywacją czynników VIIIa i Va (efektem jest nadmierne wykrzepianie wewnątrznaczyniowe) oraz czynnika PAI-1 (efektem jest supresja fibrynolizy). W konsekwencji dochodzi do DIC, zespołu niewydolności wielonarządowej (MODS) oraz rozwoju wstrząsu septycznego [5, 6]. W związku z powyższym wydaje się, iż białko C może odgrywać dużą rolę w poperfuzyjnych zaburzeniach hemostazy, wyrażających się uogólnioną odpowiedzią zapalną.

Cel

Celem badania była analiza aktywności białka C u niemowląt podczas zabiegów kardiochirurgicznych w krążeniu pozaustrojowym i w okresie pooperacyjnym oraz sprawdzenie, czy dzieci, u których obserwuje się cięższy przebieg pooperacyjny z objawami zakażenia uogólnionego, różnią się profilem poziomów białka C od pacjentów, u których nie obserwuje się powyższych objawów.

Ponadto przeprowadzona została analiza obrazująca, czy przed- i okołoperacyjna obecność czynników ryzyka infekcji u pacjentów ma wpływ na zmiany w profilach aktywności białka C.

Materiał i metody

Populacja badana

Do badań włączono ośmioro niemowląt, u których wykonano operację pomiędzy 1.01.2006 r. a 28.02.2006 r. w Klinice Kardiochirurgii Dziecięcej w Poznaniu. W badanej grupie stwierdzono następujące wady serca: ubytek w przegrodzie międzykomorowej (VSD) – 2, ubytek w przegrodzie międzykomorowej ze stenozą płucną (PS) – 2, ubytek w przegrodzie międzyprzedsionkowej (ASD) – 1, wspólny kanał przedsionkowo-komorowy (CAVC) – 1, wspólny pień tętnicy – 1, zespół hipoplazji lewego serca (HLHS) – 1.

Technika operacyjna

Wszystkie zabiegi wykonano w krążeniu pozaustrojowym (ECC). Wykonywano odpowiednią do danej operacji kaniulację żył głównych oraz aorty (kaniule Jostra, Diodeco).

Stosowano wstępne wypełnienie aparatu do ECC z użyciem krwi. Przed podłączeniem pacjenta do krążenia pozaustrojowego podawano heparynę w dawce 3 mg/kg m.c. oraz wcześniej 20 mg do *primingu* ECC. Utrzymywano ACT powyżej 400 sekund. Działanie heparyny neutralizowano siarczanem protaminy w dawce 1:1 w stosunku do zastosowanej heparyny. Kardioplegię krystaliczną podawano do naczyń wieńcowych przez opuszkę aorty.

Metoda badania

Próbki krwi (2 ml) pobierano do monowet zawierających cytrynian sodu (z dościa centralnego lub aparatu do CPB:

- bezpośrednio po znieczuleniu ogólnym pacjenta (A),
- pięć minut po podłączeniu do krążenia pozaustrojowego (B),
- pięć minut przed odłączeniem od krążenia pozaustrojowego (C),
- 15 minut po podaniu protaminy (D),
- w drugiej dobie po operacji (E),
- w trzeciej dobie po operacji (F).

Następnie próbki odwirowywano przez sześć minut z prędkością 3600 obrotów/min i magazynowano w temperaturze -70°C .

Do oznaczenia aktywności APC zastosowano metodę pomiaru czasu zmiany gęstości optycznej, zachodzącej podczas reakcji wykrzepiania z jednoczesną analizą kinetyki tej reakcji, przy użyciu koagulometru Coag Chrom 3003. Wartość referencyjna aktywności białka C dla noworodków i niemowląt wynosi od 70% do 140%.

Wykładniki infekcji uogólnionej stwierdzano na podstawie podwyższonej liczby leukocytów, podwyższonego poziomu CRP, obniżonych poziomów antytrombiny III oraz dodatniego posiewu krwi.

Analiza statystyczna

W analizie statystycznej uwzględniono następujące zmienne:

- przedoperacyjne – wiek, wzrost, wagę i powierzchnię ciała pacjenta,
- okołoperacyjne – czas perfuzji, czas trwania operacji.

Pacjentów podzielono na dwie grupy w zależności od obecności czynników ryzyka infekcji uogólnionej:

- grupa wysokiego ryzyka rozwinięcia infekcji uogólnionej: powierzchnia ciała ($0,3 \text{ m}^2$), długi czas operacji ($>330 \text{ min}$), długi czas perfuzji ($>100 \text{ min}$) [7],
- grupa niskiego ryzyka rozwinięcia infekcji uogólnionej – bez wspomnianych czynników ryzyka.

Do grupy ryzyka rozwoju infekcji uogólnionej włączono pacjentów, u których suma czynników ryzyka była ≥ 2 .

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programów GraphPad InStat 3. Badanie normalności rozkładu wykonano testem Kołmogorowa-Smirnova. Analizę statystyczną wykonano testem Manna-Whitneya oraz analizą wariancji ANOVA (podczas analizy porównawczej więcej niż dwóch grup). Test ANOVA wykonano dla grup z zachowaną normalnością rozkładu i gdy wariancje nie różniły się od siebie. W pozostałych przypadkach wykorzystano nieparametryczny test ANOVA – Kruskala-Wallisa. Za znamienne statystycznie uznano różnice, dla których wartość p obliczona w odpowiednich testach była $<0,05$.

Wyniki

W badanej grupie było sześć dzieci płci żeńskiej (75%) i dwoje dzieci płci męskiej (25%). W tabeli I przedstawiono wartości średnie analizowanych zmiennych.

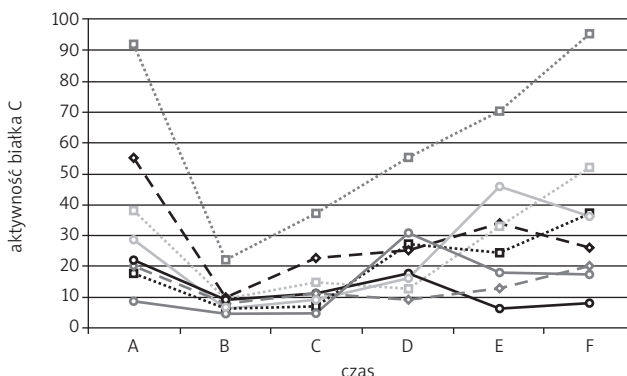
Zauważono istotne różnice statystyczne między średnimi aktywnościami białka C w określonych punktach czasowych (A vs B, vs C, vs D, vs E, vs F, $p < 0,0001$) (ryc. 1). W teście Manna-Whitneya wykazano istotne statystycznie różnice między średnimi aktywnościami białka C w punktach czasowych: A vs B ($p=0,0054$), A vs C ($p=0,0460$), B vs D ($p=0,0063$), B vs E ($p=0,0136$), B vs F ($p=0,0074$), C vs F ($p=0,0460$). Różnice między średnimi aktywnościami

Tab. I. Wartości średnie analizowanych zmiennych

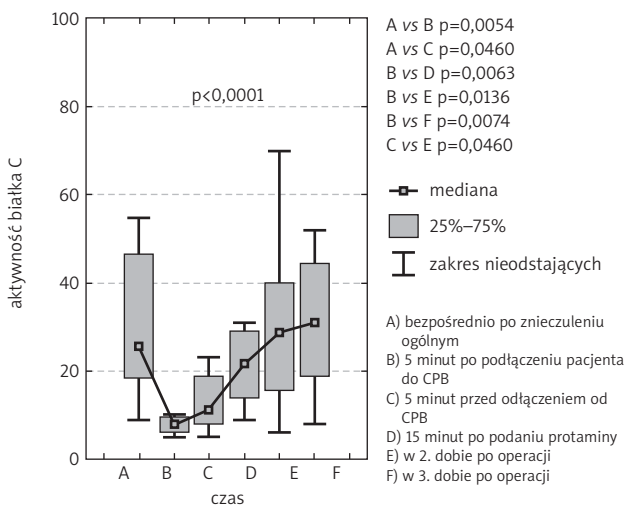
Zmienne	Średnie \pm SD
wiek	97,6 \pm 83,8 dni
masa ciała	4,7 \pm 1,2 kg
wzrost	0,59 \pm 0,07 m
powierzchnia ciała	0,27 \pm 0,05 m^2
czas perfuzji	101,1 \pm 52,1 min
czas zabiegu	272,5 \pm 75,5 min

białka C nie były znamienne statystycznie w punktach czasowych A vs D, A vs E, A vs F, B vs C, C vs D, C vs E, D vs E, D vs F, E vs F. Na rycinie 2. przedstawiono wartości średnie aktywności białka C u wszystkich pacjentów w określonych punktach czasowych.

W badanej populacji było troje (37,5%) pacjentów z wysokim ryzykiem rozwoju infekcji uogólnionej i pięcioro (62,5%) z niskim ryzykiem. Wśród trojga (37,5%) pacjentów stwierdzono infekcję uogólnioną, z których dwoje należało do grupy wysokiego ryzyka jej rozwoju. W tabeli II przedstawiono wartości średnie analizowanych zmiennych (1)



Ryc. 1. Wartości aktywności białka C u poszczególnych pacjentów w określonym czasie



Ryc. 2. Średnie wartości aktywności białka C w określonym czasie

Tab. II. Wartości średnie analizowanych zmiennych w grupie wysokiego ryzyka i niskiego ryzyka rozwoju infekcji uogólnionej oraz wśród pacjentów z infekcją uogólnioną i bez niej

Zmienne	Średnie \pm SD			
	pacjenci z czynnikami ryzyka rozwoju infekcji uogólnionej N=3	pacjenci bez czynników ryzyka rozwoju infekcji uogólnionej N=5	pacjenci z infekcją uogólnioną N=3	pacjenci bez infekcji uogólnionej N=5
powierzchnia ciała	0,24 \pm 0,05 m^2	0,3 \pm 0,05 m^2	0,26 \pm 0,05 m^2	0,28 \pm 0,06 m^2
czas perfuzji	143 \pm 69,9 min	75,8 \pm 12,8 min	99 \pm 7,5 min	102,4 \pm 68,7 min
czas zabiegu	353,3 \pm 36,2 min	224 \pm 38,3 min	300 \pm 56,3 min	256 \pm 86,4 min

w grupie wysokiego ryzyka i niskiego ryzyka rozwoju infekcji uogólnionej oraz (2) wśród pacjentów z infekcją uogólnioną i bez niej.

Nie stwierdzono istotnej zależności statystycznej między aktywnością białka C w punktach czasowych A, B, C, D, E, F wśród pacjentów wysokiego i niskiego ryzyka rozwoju infekcji uogólnionej (test Manna-Whitneya, $p=0,3939$) (ryc. 3.).

Nie wykazano znamiennej statystycznie różnicy między aktywnością białka C w punktach czasowych A, B, C, D, E, F u dzieci z infekcją uogólnioną i bez niej (test Manna-Whitneya, $p=0,3333$) (ryc. 4.).

U dwójga dzieci aktywność białka C w trzeciej dobie po operacji była niższa niż przed zabiegiem. U niemowląt (wiek $108,5 \pm 82,7$ dni, powierzchnia ciała $0,31 \pm 0,01$ m²) tych dokonano zamknięcia ASD i VSD. Należały one do grupy niskiego ryzyka rozwoju infekcji (czas perfuzji $72 \pm 5,6$ min; czas zabiegu $250 \pm 42,4$ min).

Dyskusja

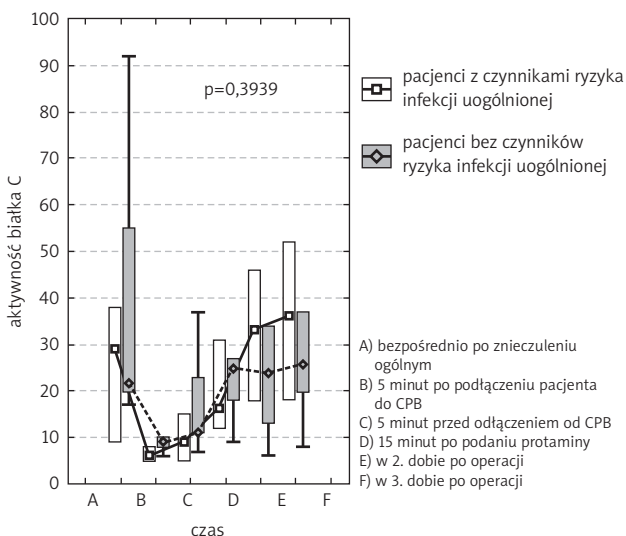
Do oceny aktywności białka C użyto koagulometru Coag Chrom 3003. Błąd pomiaru dla tej metody wynosi $\pm 1\%$. Do oznaczenia stężenia APC może być zastosowana także metoda immunoenzymatyczna (ELISA) z wykorzystaniem przeciwciał opłaszczających antybiałko C. Wydaje się, że ocena aktywności ma większe znaczenie kliniczne od określenia stężenia białka C. Poprzez określenie aktywności białka C bada się całkowitą wydolność układu białka C (białko C, białko S, trombomodulina). Powszechnie stosuje się obie metody.

Prawidłową aktywność białka C przed operacją stwierdzono u jednego (12,5%) dziecka, najstarszego w badanej grupie (wiek = 255 dni), u którego wykonano zamknięcie VSD. U pozostałych pacjentów obserwowano przedoperacyjną aktywność białka C poniżej wartości fizjologicznych ($<70\%$). W literaturze wskazuje się na fakt, iż stężenie i aktywność białka C poniżej wartości referencyjnych może

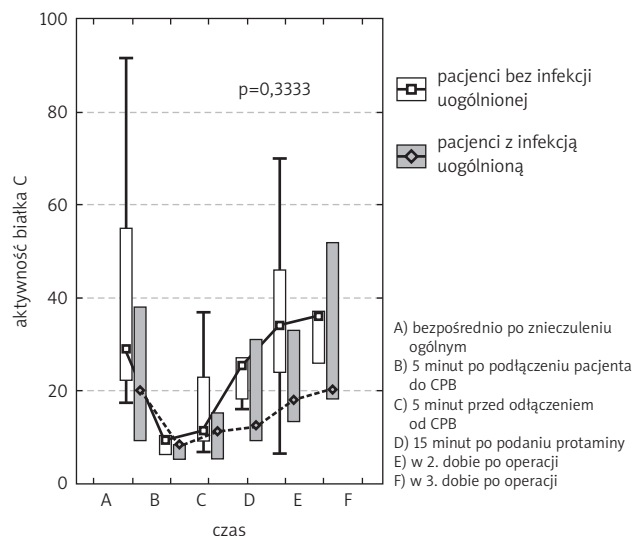
występować u niemowląt z wadami wrodzonymi serca ze zmniejszonym rzutem lewej komory. Wiąże się to z niedostateczną perfuzją wątroby, a w efekcie z obniżoną czynnością tego narządu [8]. Po zabiegach z zastosowaniem CPB stwierdza się także spadek stężenia i aktywności innych czynników krzepnięcia: czynnika II, V, VII, X, białka S, plazminogenu. Obniżone stężenie i aktywność białka C, zarówno w okresie przed-, jak i pooperacyjnym spotyka się u dzieci poddanych operacji Fontana. Wynika to z faktu, iż krążenie płucne i systemowe zaopatrywane jest przez wspólną komorę, co w konsekwencji może być przyczyną niedostatecznych przepływów w krążeniu systemowym, wpływających na czynność wątroby [9–13].

Analiza aktywności białka C podczas zabiegów wykonywanych w krążeniu pozaustrojowym z powodu wrodzonej wady serca wskazuje na wyraźny spadek jego aktywności pięć minut po podłączeniu pacjenta do ECC w stosunku do aktywności białka C przed operacją. Tłumaczy się to m.in. osadzaniem się białka C na ścianach kaniuli aparatu do ECC [14]. Z piśmiennictwa wynika, że heparyna nie ma wpływu na aktywność białka C. Z tego względu spadek aktywności białka C pięć minut po podłączeniu pacjenta do ECC nie może być tłumaczony podaniem heparyny u pacjentów operowanych w krążeniu pozaustrojowym [15, 16].

Aktywność białka C podczas całego zabiegu utrzymywała się na niskim poziomie, następnie stopniowo wzrastała i wróciła do wartości sprzed zabiegu w trzeciej dobie po operacji u sześciorga (75%) pacjentów. Chan i wsp. oraz Boldt i wsp. obserwowali również spadek stężenia białka C podczas zabiegów w ECC u dzieci. Za powód tego wskazują koagulopatię ze zużycia w odpowiedzi na wyprodukowaną podczas CPB trombinę [17] oraz hemodilucję [18–20]. Ze względu na krótki okres półtrwania białka C (około sześciu godzin) prawidłowa funkcja hepatocytów powinna zapewnić szybkie przywrócenie zużywanego ilości tego białka. Wydaje się jednak, że czas, w jakim aktywność białka C powraca do wartości sprzed zabiegu, zależy przede wszystkim od



Ryc. 3. Średnia aktywność białka C u dzieci z czynnikami ryzyka rozwoju infekcji uogólnionej i bez nich



Ryc. 4. Średnia aktywność białka C u dzieci z infekcją uogólnioną i bez niej

rodzaju wady serca, stopnia wydolności lewej komory przed zabiegiem i po zabiegu [8], intensywności aktywacji kaskady krzepnięcia przez CPB [20] i zastosowania hipotermii (spadek aktywności białka C podczas zabiegów w krążeniu pozaustrojowym w hipotermii jest większy niż podczas operacji w normotermii [21]). Aktywacja kaskady krzepnięcia po operacjach w krążeniu pozaustrojowym utrzymuje się przez co najmniej trzy dni [20], z tego powodu powrót aktywności białka C u niektórych pacjentów można zaobserwować najwcześniej po trzech dniach od CPB.

Wśród dzieci z grupy ryzyka obserwowano niższe średnie wartości aktywności białka C w okresie przed- i okołoperacyjnym w stosunku do dzieci bez czynników ryzyka infekcji, jakkolwiek nie stwierdzono istotnych różnic statystycznych. Może być to związane z małą liczebnością analizowanych grup. W piśmiennictwie zwraca się uwagę na następujące czynniki ryzyka infekcji u dzieci operowanych z powodu wrodzonej wady serca: okres niemowlęcy, mała powierzchnia ciała, długi czas operacji i perfuzji, długi czas intubacji, długa hospitalizacja, nadciśnienie płucne [7], odroczone zamknięcie mostka [22]. Płeć oraz rodzaj operacji nie stanowią czynników ryzyka rozwoju infekcji [7].

W grupie dzieci z dodatnimi posiewami krwi i objawami infekcji uogólnionej obserwowano niższe wartości aktywności białka C w okresie przed-, około- i pooperacyjnym w stosunku do pacjentów bez bakteriemii. Nie stwierdzono jednak znamienych różnic statystycznych w tych dwóch populacjach, co może mieć związek z małą liczebnością analizowanych grup. Pacjenci z infekcją w badanej populacji byli operowani z powodu: HLHS, VSD, VSD z PS. dwoje z trojga należało do grupy wysokiego ryzyka rozwoju infekcji uogólnionej.

Z piśmiennictwa wynika, że u pacjentów z objawami infekcji uogólnionej stężenie i aktywność białka C jest wyraźnie niższa w stosunku do pacjentów bez objawów infekcji. Jednocześnie obserwuje się spadek stężenia i aktywności innych markerów krzepnięcia: białka S, czynnika II, V, VII, X. W literaturze wskazuje się również na wyraźny związek niskich aktywności białka C z ryzykiem rozwoju infekcji oraz cięższym ich przebiegiem, proponując suplementację białka C w tych przypadkach [23–28]. Rekomenduje się suplementację białka C pacjentom po zabiegach operacyjnych z ciężką posocznicą i wstrząsem septycznym, mimo istniejącego większego ryzyka krwawień u pacjentów, u których podano rekombinowane ludzkie białko C [29, 30].

Konieczne są dalsze badania nad aktywnością białka C u większej liczby dzieci operowanych z powodu wrodzonej wady serca w krążeniu pozaustrojowym, w celu dalszej weryfikacji wpływu na ciężkość przebiegu pooperacyjnego w tej grupie pacjentów.

Wnioski

1. U niemowląt z wadami wrodzonymi serca aktywność białka C jest poniżej wartości fizjologicznych, co może mieć związek z niedostateczną perfuzją wątroby.
2. ECC znacząco wpływa na metabolizm białka C.

3. Podczas zabiegów w krążeniu pozaustrojowym stwierdza się wyraźny spadek aktywności białka C i powrót do wartości sprzed zabiegu w trzeciej dobie po operacji.

Członkowie Studenckiego Koła Naukowego przy Klinice Kardiologii Dziecięcej Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu serdecznie dziękują Opiekunowi Koła dr. n. med. Wojciechowi Mrówczyńskiemu za bezcenne uwagi podczas przygotowywania pracy.

Projekt badawczy był realizowany ze środków uzyskanych od Komisji Studenckich Badań Naukowych Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu oraz dzięki uprzejmości sponsorów: Baxter Poland Sp z o. o. oraz Bio-Ksel.

Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Kardiologii Dziecięcej Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu serdecznie dziękuje sponsorom: Baxter Poland Sp z o. o. oraz Bio-Ksel za pomoc w realizacji projektu badawczego.

Piśmiennictwo

1. Edmunds LH Jr. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1998; 66: S12-S16.
2. Miller BE, Levy JH. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *J Cardiovasc Vasc Anesth* 1997; 11: 355-366.
3. Petaja J, Manco-Johnson MJ. Protein C pathway in infants and children. *Semin Thromb Hemost* 2003; 29: 349-362.
4. Esmon CT. The protein C pathway. *Chest* 2003; 124 (3 Suppl): 26S-32S.
5. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, Steingrub JS, Garber GE, Helterbrand JD, Ely EW, Fisher CJ Jr; Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) study group. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001; 344: 699-709.
6. Weigand MA, Horner C, Bardenheuer HJ, Bouchon A. The systemic inflammatory response syndrome. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2004; 18: 455-475.
7. Mrowczynski W, Wojtalik M, Zawadzka D, Sharma G, Henschke J, Bartkowski R, Pawelec-Wojtalik M, Wodzinski A, Westerski P. Infection Risk Factors in Pediatric Cardiac Surgery. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2002; 10: 329-333.
8. Macdonald PD, Gibson BE, Brownlie J, Doig WB, Houston AB. Protein C activity in severely ill newborns with congenital heart disease. *J Perinat Med* 1992; 20: 421-427.
9. Jahangiri M, Kreutzer J, Zurakowski D, Bacha E, Jonas RA. Evaluation of hemostatic and coagulation factor abnormalities in patients undergoing the Fontan operation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 120: 778-782.
10. Tomita H, Yamada O, Ohuchi H, Ono Y, Arakaki Y, Yagihara T, Echigo S. Coagulation profile, hepatic function, and hemodynamics following Fontan-type operations. *Cardiol Young* 2001; 11: 62-66.
11. Odegard KC, McGowan FX Jr, Zurakowski D, DiNardo JA, Castro RA, del Nido PJ, Laussen PC. Coagulation factor abnormalities in patients with single-ventricle physiology immediately prior to the Fontan procedure. *Ann Thorac Surg* 2002; 73: 1770-1777.
12. Cheung EW, Chay GW, Ma ES, Cheung YF. Systemic oxygen saturation and coagulation factor abnormalities before and after the fontan procedure. *Am J Cardiol* 2005; 96: 1571-1575.
13. Jahangiri M, Shore D, Kakkar V, Lincoln C, Shinebourne E. Coagulation factor abnormalities after the Fontan procedure and its modifications. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997; 113: 989-992.
14. Speekenbrink RG, Bertina RM, Espana F, Wildevuur C, Eijssman L. Activation of the protein C system during cardiopulmonary bypass with and without aprotinin. *Ann Thorac Surg* 1998; 66: 1998-2002.
15. Boldt J, Schindler E, Welters J, Wittstock M, Stertmann WA, Hempelmann G. The effect of the anticoagulation regimen on endothelial-related coagulation in cardiac surgery patients. *Anaesthesia* 1995; 50: 954-960.

16. Mattsson C, Menschik-Lundin A, Nylander S, Gyzander E, Deinum J. Effect of different types of thrombin inhibitors on thrombin/thrombomodulin modulated activation of protein C in vitro. *Thromb Res* 2001; 15: 475-486.
17. Tanaka K, Wada K, Morimoto T, Shomura S, Satoh T, Yada I, Yuasa H, Kusagawa M, Deguchi K. The role of the protein C-thrombomodulin system in physiologic anticoagulation during cardiopulmonary bypass. *ASAIO Trans* 1989; 35: 373-375.
18. Chan AK, Leaker M, Burrows FA, Williams WG, Gruenwald CE, Whyte L, Adams M, Brooker LA, Adams H, Mitchell L, Andrew M. Coagulation and fibrinolytic profile of paediatric patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Thromb Haemost* 1997; 77: 270-277.
19. Boldt J, Zickmann B, Schindler E, Welters A, Dapper F, Hempelmann G. Influence of aprotinin on the thrombomodulin/protein C system in pediatric cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107: 1215-1221.
20. Petaja J, Peltola K, Sairanen H, Leijala M, Kekomaki R, Vahtera E, Siimes MA. Fibrinolysis, antithrombin III, and protein C in neonates during cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 112: 665-671.
21. Boldt J, Knothe C, Welters I, Dapper FL, Hempelmann G. Normothermic versus hypothermic cardiopulmonary bypass: do changes in coagulation differ? *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 130-135.
22. Levy I, Ovadia B, Erez E, Rinat S, Ashkenazi S, Birk E, Konisberger H, Vidne B, Dagan O. Nosocomial infections after cardiac surgery in infants and children: incidence and risk factors. *J Hosp Infect* 2003; 53: 111-116.
23. Gando S, Kameue T, Nanzaki S, Nakanishi Y. Disseminated intravascular coagulation is a frequent complication of systemic inflammatory response syndrome. *Thromb Haemost* 1996; 75: 224-228.
24. Silvani P, Camporesi A, Licari E, Wolfler A. Use of protein C concentrate in pediatric patients with sepsis. *Minerva Anesthesiol* 2005; 71: 373-378.
25. Amaral A, Opal SM, Vincent JL. Coagulation in sepsis. *Intensive Care Med* 2004; 30: 1032-1340.
26. Fisher CJ Jr, Yan SB. Protein C levels as a prognostic indicator of outcome in sepsis and related diseases. *Crit Care Med* 2000; 28 (9 Suppl): S49-S56.
27. Macias WL, Nelson DR. Severe protein C deficiency predicts early death in severe sepsis. *Crit Care Med* 2004; 32 (5 Suppl): S223-S228.
28. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6: 2-8.
29. Spies C, Otter H, Zuckermann-Becker H, Kox WJ. Focal surgery, antibiotic therapy and then? The role of rhAPC in sepsis. *Kongressbd Dtsch Ges Chir Kongr* 2002; 119: 834-843.
30. Barie PS, Williams MD, McCollam JS, Bates BM, Qualy RL, Lowry SF, Fry DE. Benefit/risk profile of drotrecogin alfa (activated) in surgical patients with severe sepsis. *Am J Surg* 2004; 188: 212-220.