Nuevos conceptos sobre el papel de la hemostasia en la patogenia y tratamiento de la sepsis

José A. Páramo y E. Rocha

Servicio de Hematología. Clínica Universitaria. Universidad de Navarra. Pamplona.

La sepsis es una complicación de las enfermedades infecciosas que conlleva una mortalidad del 40-90%. Si el estado séptico es de suficiente entidad y duración diversos órganos vitales pueden verse afectados como consecuencia de la microtrombosis que contribuye al daño orgánico y al fracaso circulatorio.

La coagulación intravascular diseminada (CID) es un fenómeno frecuente en pacientes con sepsis, especialmente en aquellas causadas por gérmenes gramnegativos, con una incidencia que oscila entre el 20 y el 75% en las distintas series[1].

Los primeros trabajos que indicaban alteraciones en los sistemas de coagulación y cininas en estos pacientes datan de finales de los años sesenta y comienzos de los setenta[2,3]. En 1976 Bone et al[4] demuestran la existencia de una estrecha relación entre la CID y el síndrome de distrés respiratorio del adulto, que es una de las principales secuelas de la sepsis. Estudios recientes han establecido claramente la relación entre la CID y el desarrollo del síndrome de fallo multiorgánico[5]. Cómo se producen estas alteraciones y cuáles son las medidas terapéuticas que pueden aplicarse sobre una base fisiopatológica más racional es algo que estamos comenzando a comprender en los últimos años.

Uno de los principales problemas que ha contribuido a la gran variabilidad en los resultados es el de la multiplicidad de términos en este tipo de patología, lo que ha obligado a unificar las definiciones. Según Bone[6] *bacteriemia* implica presencia de hemocultivos positivos, *endotoxemia* es la presencia de endotoxina (lipopolisacárido) circulante en plasma, *sepsis* se refiere a la evidencia clínica de infección acompañada de reacción sistémica (taquipnea, taquicardia o fiebre), *el síndrome séptico* implica sepsis acompañada de perfusión alterada en uno o varios órganos (hipoxemia, oliguria, obnubilación, aumento de lactatos) y *shock séptico* se define como el síndrome séptico con hipotensión que requiere reposición de volumen y precisa tratamiento vasopresor. El término septicemia es un concepto impreciso que se ha utilizado como sinónimo de sepsis, shock séptico o bacteriemia y que en la actualidad debería abandonarse.

Las bacterias gramnegativas siguen siendo la causa principal de sepsis, con una incidencia aproximada del 60%, seguidas por las grampositivas, cuya incidencia es del 20%. Tanto la endotoxina, componente de la pared celular de las bacterias gramnegativas, como diversos componentes de la pared celular de las bacterias grampositivas pueden iniciar el shock séptico y, en menor grado, exotoxinas de grampositivos y negativos. Además de las bacterias, hongos, *Rickettsia* y virus pueden desencadenar una sepsis.

Correspondencia: Dr. J.A. Páramo.
Servicio de Hematología. Clínica Universitaria.
Avda. Pío XII, s/n. 31080 Pamplona.

Manuscrito aceptado el 23-1-1994

Med Clin (Barc) 1994; 103: 260-263.

En la sepsis causada por gérmenes gramnegativos, la serie de acontecimientos que llevan a la microtrombosis se inician por la entrada de endotoxina en el torrente circulatorio[7]. La participación celular va a ser importante, ya que tanto células endoteliales como monocitos van a tener un papel fisiopatológico relevante, bien por efecto directo de la endotoxina, o bien a través de mediadores (citocinas) que van a alterar las propiedades del endotelio e inducir modificaciones en los sistemas de coagulación y fibrinólisis[8], cuya consecuencia será la microtrombosis en la microcirculación[8]. Los granulocitos también van a tener un papel importante, no sólo en la fagocitosis de patógenos, sino por la liberación de radicales oxidativos y proteasas del tipo de la elastasa que van a contribuir al daño endotelial y, posiblemente, al consumo de activadores e inhibidores de la coagulación como consecuencia de una proteólisis inespecífica[9].

La endotoxina es un componente de la pared con estructura de tipo lipopolisacárido, que consta de una parte hidrofílica polisacárida y una porción hidrofóbica o lípido A, que es la responsable de los efectos de la endotoxina observados en los mamíferos, tales como fiebre, activación de la coagulación y shock[10]. La mayoría de estos efectos van a ser consecuencia de la acción de la endotoxina sobre las células endoteliales al inducir cambios estructurales, metabólicos e incremento de la permeabilidad (daño endotelial), así como cambios en la expresión genética y función, haciendo que estas células participen activamente en las reacciones inflamatorias y en la trombosis (activación endotelial).

Las células endoteliales constituyen el revestimiento vascular en contacto con la luz, por lo que están estratégicamente situadas para desempeñar un papel central en la regulación de la coagulación. El endotelio vascular, lejos de ser un órgano pasivo con propiedades negativas, la más importante de las cuales es la de constituir una superficie no trombogénica, es una interfase dinámica entre los componentes sanguíneos y el tejido extravascular. Se trata de un órgano multifuncional que responde a una amplia variedad de estímulos y participa activamente en el mantenimiento del balance hemostático a través de la regulación de la expresión de factores procoagulantes y anticoagulantes, profibrinolíticos y antifibrinolíticos, proagregantes y antiagregantes en la superficie celular[11,12]. Tras su activación, ya sea por la acción del lipopolisacárido bacteriano como por la de determinadas señales intercelulares, particularmente las citocinas, se produce una reorientación de la función endotelial en el sentido protrombótico.

Las citocinas son péptidos de bajo peso molecular que actúan por medio de la interacción con receptores de superficie de alta afinidad y ejercen una acción local, bien sobre células adyacentes, bien sobre la propia célula. Su origen es muy diverso, si bien monocitos y linfocitos son las fuentes principales de las 2 citocinas clásicamente relacionadas con la sepsis: el factor de necrosis tumoral (TNF) y la interleucina 1 (IL-1)[13,14].

Las propiedades antitrombóticas de la célula endotelial se van a alterar profundamente tras su exposición a TNF, endotoxina o IL-1, cuya consecuencia va a ser la generación de factor tisular y la supresión de los mecanismos anticoagulantes en la vía proteína C-trombomodulina[15-18]. Otra acción importante va a ser la inducción de factor activador plaquetario (PAF), que es un potente activador de plaquetas y leucocitos y posee efecto vasoconstrictor. Estas sustancias también van a alterar el balance fibrinolítico endotelial al disminuir la concentración del activador tisular del plasminógeno (t-PA) y aumentar las concentraciones de PAI-1[19-24]. Finalmente, la activación endotelial conlleva la liberación de factor Von Willebrand, la producción de endotelina y la liberación de moléculas adhesivas y factores quimiotácticos para los leucocitos[8]. En conclusión, tras la activación endotelial producida por la acción de endotoxina, TNF o IL-1, se desequilibra el balance hemostático endotelial en el sentido de la generación de trombina y formación del coágulo, a través de la generación de sustancias proagregantes, procoagulantes y antifibrinolíticas y la supresión de los mecanismos anticoagulantes. Ello conduce al concepto de que la lesión vascular y la denudación endotelial son la parte final de un proceso patológico. Los diversos acontecimientos pueden iniciarse en un endotelio intacto, pero funcionalmente alterado[25]. El endotelio, además de actuar como diana de las citocinas es, a su vez, fuente de ellas, estableciéndose un circuito de amplificación[26-28].

Como hemos señalado anteriormente la coagulación se inicia por efecto directo de la endotoxina, a través de mediadores con efectos procoagulantes, como TNF o IL-1, o a través de otros mediadores más específicos, como el factor de permeabilidad vascular o una citocina derivada de los macrófagos con actividad procoagulante e inflamatoria, descubierta recientemente[29-31]. Tras la entrada de endotoxina en el torrente circulatorio se produce activación del factor XII y generación de factor tisular. Actualmente se piensa que el contacto de los elementos sanguíneos con el factor tisular es el mecanismo primario de coagulación intravascular tras la administración de endotoxina[30]. La activación del sistema contacto va a resultar en un descenso de las concentraciones plasmáticas de factor XII y precalicreína y en un aumento de la producción de calicreína que podría amplificar el efecto del factor XII, además de producir vasodilatación a través de la liberación de bradicinina y, finalmente, podría activar el sistema fibrinolítico[32]. Por otra parte, los pacientes con sepsis tienen concentraciones elevadas de factor VIII, factor XIII, fibrinógeno, fibrinopéptido A y complejos trombina-antitrombina, lo que indica activación de los mecanismos de coagulación con generación de trombina. Finalmente, además de la endotoxina, otras citocinas como el TNF, IL-1 e IL-2 pueden producir en humanos alteraciones de la coagulación similares a las encontradas en la sepsis[33-35].

La antitrombina III (AT-III) y el sistema de la proteína C-proteína S son los más potentes inhibidores del sistema de coagulación. En los últimos años también ha cobrado especial relevancia el inhibidor de la vía extrínseca (TFPI) en pacientes con sepsis[36]. Los resultados de diversos estudios indican que las concentraciones de AT-III, proteína C y proteína S están disminuidos e incluso se ha sugerido que el descenso de AT-III tendría significación pronóstica. La reducción de AT-III refleja aumento del consumo, así como degradación por la elastasa leucocitaria[30,37]. Sin embargo, los resultados obtenidos son contradictorios para el TFPI, ya que nosotros y otros autores hemos encontrado concentraciones elevadas, especialmente en la sepsis que cursa con CID, probablemente como reflejo del daño endotelial[38-40]. Un caso especial lo constituye la fiebre botonosa mediterránea causada por *Rickettsia conorii,* un parásito intracelular de composición similar a las bacterias gramnegativas, que induce profundas alteraciones en el endotelio vascular, así como importantes cambios en los sistemas de la proteína C y de la fibrinólisis[41,42].

El sistema fibrinolítico se activa precozmente en el curso de la sepsis. Sin embargo, la fibrinólisis es inhibida a las pocas horas como resultado de la presencia de inhibidores. Los primeros estudios que indicaron la importancia de la inhibición de la fibrinólisis fueron realizados por Margaretten et al, quienes demostraron que la microtrombosis típica de la reacción de Schwartzmann podía ser inducida mediante la inyección de endotoxina e inhibición simultánea de la fibrinólisis con ácido E-aminocaproico[43]. Trabajos recientes han establecido claramente que el principal responsable de la inhibición de la fibrinólisis en respuesta a endotoxina es el PAI-1. El primero de ellos fue realizado por Colucci et al[44], que demostró que la endotoxina induce, tanto in vivo en conejos como in vitro en cultivos de células endoteliales, un marcado aumento de la concentración de este inhibidor. Otros autores han demostrado que, además de la endotoxina, otras citocinas como el TNF o la IL-1 producen un efecto similar[20-24,45,46].

En nuestro grupo hemos observado la formación de intensos depósitos renales de fibrina en conejos a los que se administraron 20 μg/kg/h durante 6 h de endotoxina de *Escherichia coli,* existiendo correlación entre éstos y el aumento de PAI-1, lo que sugiere que este inhibidor podría contribuir a una reducción de la actividad fibrinolítica que, a su vez, favorecería la microtrombosis[47,48]. Otro hallazgo interesante fue que la concentración de PAI-1 era significativamente mayor en los conejos que murieron espontáneamente que en los que sobrevivieron al experimento, lo que indica una relación entre PAI-1 y mortalidad. Estos resultados coinciden con estudios recientes en pacientes con sepsis que demuestran que el PAI-1 puede constituir un buen marcador pronóstico[49-51].

En nuestro grupo hemos demostrado, así mismo, que el PAI-1 desempeña un papel relevante en la sepsis humana, al observar concentraciones elevadas en pacientes con enfermedades infecciosas, especialmente en sepsis por gérmenes gramnegativos, hecho que no es sorprendente si se tiene en cuenta que la endotoxina es un componente de la pared bacteriana de estos gérmenes[52]. Los pacientes que desarrollaron CID eran los que presentaban valores más elevados de este inhibidor, lo que indicaría un posible papel patogenético del PAI-1 en este síndrome. Finalmente, las concentraciones plasmáticas de TNF, clásicamente considerado como mediador de los efectos de la endotoxina en la sepsis, estuvieron así mismo significativamente elevadas en los pacientes sépticos[53]. Estos resultados confirmarían estudios previos realizados in vitro con cultivos de células endoteliales e indicarían que la endotoxina, actuando directamente o a través de alguno de sus mediadores, induciría un marcado aumento de la concentración de PAI-1, que contribuiría a la persistencia de los depósitos de fibrina. Además, confirmarían estudios de otros autores, tanto en pacientes con sepsis[54-58] como en voluntarios sanos a los que se administró endotoxina o TNF, en los que tras una fase inicial de aumento de actividad fibrinolítica se observó una marcada reducción de dicha actividad, coincidiendo con un aumento muy significativo de las concentraciones plasmáticas de PAI-1[59-61].

En conclusión, nuestros resultados y los de otros autores indican que la endotoxina induce un aumento significativo de PAI-1, tanto en cultivo de células endoteliales como in vivo en modelos experimentales y en pacientes con sepsis. El aumento de PAI-1 podría contribuir a la patogenia de la

coagulación intravascular diseminada a través de una reducción de la actividad fibrinolítica.

La incidencia de sepsis y shock séptico ha experimentado un aumento considerable durante los últimos 10 años, a pesar de los avances en la terapéutica antimicrobiana. Además del tratamiento antibiótico serán esenciales el restablecimiento y mantenimiento del transporte de oxígeno, el control de las variables metabólicas y las diferentes terapias dirigidas al control de la inflamación sistémica que subyace a la evolución del fracaso multiorgánico[62], siendo a este último apartado al que nos referiremos brevemente analizando trabajos recientes experimentales y clínicos.

En nuestro grupo hemos estudiado la acción de diversas pautas terapéuticas sobre la generación de PAI-1 y la reducción de los depósitos de fibrina en un modelo de CID experimental inducida en conejos tras la administración de 20 µg/kg/h durante 6 h de endotoxina de *Escherichia coli*. En el primer estudio evaluamos el efecto a diferentes dosis de heparina sola o en combinación con AT-III administradas simultáneamente con la endotoxina[47]. Observamos que dosis altas de AT-III, así como la combinación de heparina-AT-III, lograban un descenso significativo de la concentración de inhibidor y, lo que es más importante, ello se correlacionaba con una marcada disminución de los depósitos renales de fibrina y de la mortalidad. En un segundo estudio valoramos el efecto del DDAVP (análogo de la vasopresina que aumenta la concentración de factor VIII y de t-PA) en el mismo modelo experimental observando una disminución significativa de la concentración de PAI-1[63]. El tratamiento con DDAVP se asoció, así mismo, con una disminución significativa de los depósitos renales de fibrina y de la mortalidad en relación con el grupo control. A la vista de nuestros resultados puede pensarse que el control de la generación del PAI-1 puede representar una alternativa terapéutica a considerar en el futuro para el tratamiento de la sepsis.

También experimentalmente se ha observado una buena evolución de la sepsis utilizando α_1-antitripsina Pittsburg (una variante de la α_1-antitripsina que inhibe la trombina, calicreína y los factores XIa y XIIa), anticuerpos frente al factor tisular, anticuerpos monoclonales contra el factor XII, antagonistas de la bradicinina, proteína C, trombomodulina, hirudina, prostaciclina e inhibidores de la enzima tromboxano-sintetasa y de los receptores del tromboxano[30]. Lógicamente la adopción de algunas de estas nuevas estrategias terapéuticas precisa la realización de estudios controlados antes de su aplicación.

Por lo que respecta a los estudios clínicos en pacientes sépticos se ha empleado fibronectina, AT-III, C1-esterasa inhibidor, ibuprofeno, activadores del plasminógeno y plasma fresco. En la mayoría de los casos se ha tratado de ensayos no aleatorizados que han incluido escaso número de pacientes. Los resultados obtenidos parecen apuntar que la AT-III podría ser un agente prometedor en el tratamiento de la sepsis. Tampoco existen estudios controlados que hayan probado la eficacia de heparina en pacientes con sepsis, debiendo reservarse este fármaco para casos muy seleccionados y en pacientes con riesgo de embolismo pulmonar[30].

Quizás el tratamiento más innovador de la sepsis se basa en la utilización de sustancias que interrumpen o moderan la inflamación subyacente, las cuales se encuentran en fase de investigación clínica. Los resultados iniciales, tanto experimentalmente como en clínica humana, son prometedores si bien es preciso señalar que ninguno de los agentes utilizados aisladamente será totalmente eficaz, sino que deberá combinarse con otras sustancias y complementarse con la terapéutica estándar empleada en la sepsis[64].

La inmunización pasiva utilizando anticuerpos contra epítopos de la molécula de la endotoxina ha conseguido una mejoría de la supervivencia en un estudio clínico[65]. Recientemente, Ziegler et al realizaron un estudio multicéntrico a doble ciego en el que demostraron que un anticuerpo monoclonal humano antiendotoxina (HA-1A) era capaz de mejorar la supervivencia en pacientes con sepsis por gérmenes gramnegativos[66]. Otros estudios están evaluando la utilidad de anticuerpos frente al TNF-α, antagonistas de receptores frente a IL-1, antagonistas del PAF, antioxidantes y pentoxifilina (fármaco que suprime las acciones inflamatorias de los neutrófilos e inhibe el TNF)[67-71].

Si bien la utilidad de los anticuerpos contra los mediadores de la inflamación en pacientes con sepsis deberá ser contrastada mediante estudios controlados, parece claro que es un área de gran potencial en el futuro de la que puede derivarse una disminución de la mortalidad causada por este frecuente síndrome. Para Bone[30] el tratamiento moderno de la sepsis requerirá un cóctel de agentes que incluirá, además del tratamiento estándar (antibioterapia, fluidoterapia u oxigenoterapia) un anticuerpo monoclonal frente a la endotoxina, un anticuerpo monoclonal o antagonista de los receptores de TNF o IL-1, un antagonista del PAF u otro inhibidor del metabolismo del ácido araquidónico, un inhibidor de los neutrófilos y un modulador del mecanismo hemostático. Pensamos que el control de la generación del PAI-1 puede ser otra alternativa terapéutica a considerar en el futuro en el tratamiento de la sepsis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bone RC. Sepsis and coagulation. An important link. Chest 1992; 101:594-595.
2. Corrigan JJ, Ray WL, May N. Changes in the blood coagulation system associated with septicemia. N Engl J Med 1968; 279:851-856.
3. Mason JW, Kleesberg U, Dolan P, Colman RW. Plasma kallicrein and Hageman factor in gram-negative bacteremia. Ann Intern Med 1970; 73:545-551.
4. Bone RC, Francis PB, Pierce AK. Intravascular coagulation associated with the adult respiratory distress syndrome. Am J Med 1976; 61:585-589.
5. Hack CE, Thijs LG. The orchestra of mediators in the pathogenesis of septic shock: a review. En: Vincent JL, editor. Update in intensive care and emergency medicine. Berlín: Springer Verlag, 1991; 232-246.
6. Bone RC. Sepsis, the sepsis syndrome, multiorgan failure: a plea for comparable definitions. Ann Intern Med 1991; 114:332-333.
7. Morrison DC, Ryan JL. Endotoxins and disease mechanisms. Ann Rev Med 1987; 38:417-432.
8. Mantovani A, Bussolino F, Dejana E. Cytokine regulation of endothelial cell function. FASEB J 1992; 6:2.591-2.599.
9. Egbring R, Schmidt W, Fuchs G, Havemann K. Demonstration of granulocytic proteases in plasma of patients with acute leukemia and septicemia with coagulation defects. Blood 1977; 49: 219-231.
10. Galanos C, Luderitz O. Lipopolysaccharide: properties of an amphiphatic molecule. En: Rietschel ET, editor. Handbook of endotoxin. Vol. 1. Chemistry of endotoxin. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1984; 46-58.
11. Nawroth P, Stern D. A pathway of coagulation on endothelial cells. J Cell Biochem 1985; 28:253-264.
12. Stern D, Nawroth P, Handley D, Kisiel W. An endothelial cell-dependent pathway of coagulation. Proc Natl Acad Sci USA 1985; 82:2.523-2.527.
13. Mantovani A, Dejana E. Cytokines as communication signals between leukocytes and endothelial cells. Immunol Today 1989; 10:370-375.
14. Pober J, Cotran RS. Cytokines and endothelial cell biology. Physiol Rev 1990; 70:427-451.
15. Bevilacqua MP, Pober JS, Majeau GR, Cotran RS, Gimbrone MA Jr. Interleukin 1 (IL-1) induces byosynthesis and cell surface expression of procoagulant activity in human vascular endothelial cells. J Exp Med 1984; 160:618-623.
16. Nawroth PP, Handley DA, Esmon CT, Stern DM. Interleukin 1 induces endothelial cell procoagulant while supressing cell-surface anticoagulant activity. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83:3.460-3.464.
17. Bevilacqua MP, Pober JS, Majeau GR, Fiers W, Cotran RS, Gimbrone MA Jr. Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: Characterization and comparison with the actions of interleukin-1. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83:4.533-4.537.

18. Nawroth PP, Stern DM. Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. J Exp Med 1986; 163:740-745.
19. Bussolino F, Breviario F, Tetta C, Aglietta M, Mantovani A, Dejana E. Interleukin-1 stimulates platelet activating factor production in cultured human endothelial cells. J Clin Invest 1986; 77:2.027-2.033.
20. Bevilacqua MP, Schleff RR, Gimbrone MA, Loskutoff DJ. Regulation of the fibrinolytic system of cultured human vascular endothelium by interleukin 1. J Clin Invest 1986; 78:587-591.
21. Emeis JJ, Koistra T. Interleukin 1 and lipopolysaccharide induce an inhibitor of tissue-type plasminogen activator in vivo and in cultured endothelial cells. J Exp Med 1986; 163:1.260-1.266.
22. Nachman RL, Hajjar KA, Silverstein RL, Dinarello CA. Interleukin 1 induces endothelial cell synthesis of plasminogen activator inhibitor. J Exp Med 1986; 163:1.565-1.600.
23. Schleef RR, Bevilacqua MP, Sawdey M, Gimbrone MA, Loskutoff DJ. Cytokine activation of vascular endothelium. Effects on tissue-type plasminogen activator and type 1 plasminogen activator inhibitor. J Biol Chem 1988; 263:5.797-5.803.
24. Van Hinsberg VWM, Koistra T, Van de Berg EA, Princen HMG, Fiers W, Emeis JJ. Tumor necrosis factor increases the production of plasminogen activator inhibitor in human endothelial cells in vitro and rats in vivo. Blood 1988; 72:1.467-1.473.
25. Stern DM, Esposito C, Gerlach H, Gerlach M, Ryan J, Handley D et al. Endothelium and regulation of coagulation. Diabetes Care 1991; 14 Supl. 1:160-166.
26. Stern DM, Bank I, Nawroth PP, Cassimeris J, Kisiel W, Fenton JW et al. Self-regulation of procoagulant events on endothelial cell surface. J Exp Med 1986; 162:1.123-1.235.
27. Nawroth PP, Bank I, Handley D, Cassimeris J, Stern DM. Tumor necrosis factor/cachectin interacts with endothelial cell receptors to induce release of interleukin 1. J Exp Med 1986; 163:1.363-1.375.
28. Libby P, Ordovas JM, Auger KR, Robbins AH, Birinyi LK, Dinarello CA. Endotoxin and tumor necrosis factor induce interleukin-1 gene expression in adult human vascular endothelial cells. Am J Pathol 1986; 124:179-185.
29. Clauss M, Gerlach M, Gerlach H, Brett J, Wang F, Familletti PC et al. Vascular permeability factor: A tumor-derived poplypeptide that induces endothelial cell and monocyte procoagulant activity, and promotes monocyte migration. J Exp Med 1990; 172:1.535-1.545.
30. Bone RC. Modulators of coagulation. A critical appraisal of their role in sepsis. Arch Intern Med 1992; 152:1.381-1.389.
31. Billiau A, Vandekerckhove F. Cytokines and their interactions with other inflammatory mediators in the pathogenesis of sepsis and septic shock. Eur J Clin Invest 1991; 21:559-573.
32. Martínez Brotons F, Oncins JR, Mesres J, Amargós V, Reynaldo C. Plasma kallicrein-kinin system in patients with uncomplicated sepsis and septic shock. Comparison with cardiogenic shock. Thromb Haemostas 1987; 58:709-713.
33. Bauer KA, Ten Cate H, Barzegar S, Spriggs DR, Sherman ML, Rosenberg RD. Tumor necrosis factor infusions have a procoagulant effect on the hemostatic mechanism of humans. Blood 1989; 74:165-172.
34. Van der Poll, Buller HR, Ten Cate CH, Wortel CH, Bauer KA, Van Deventer SHJ et al. Activation of coagulation after administration of tumor necrosis factor to normal subjects. N Engl J Med 1990; 322:1.622-1.627.
35. Van Deventer SJH, Buller HR, Ten Cate JW, Aarden LA, Hack CA, Sturk A. Experimental endotoxemia in humans: analysis of cytokine release and coagulation, fibrinolytic, and complement pathways. Blood 1990; 76:2.520-2.526.
36. Páramo JA, Rocha E. Trombosis y estados hipercoagulables. Sangre 1991; 36:477-486.
37. Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrix S, Caron C, Rime A et al. Septic shock, multiple organ failure and disseminated intravascular coagulation. Compared patterns of antithrombin III, protein C, and protein S deficiencies. Chest 1992; 101:816-823.
38. Sandset M, Roise O, Aasen AO, Abildgaard U. Extrinsic pathway inhibitor (EPI) in postoperative/postraumatic septicemia. Increased levels in fatal cases. Haemostasis 1989; 19:189-195.
39. Brandtzaeg P, Sandset PM, Joo GB, Ovstebo R, Abilgaard U, Kieruff P. The quantitative association of plasma endotoxin, antithrombin, protein C, extrinsic pathway inhibitor and fibrinopeptide A in systemic meningococcal disease. Thromb Res 1989; 55:459-470.
40. Montes R, Páramo JA, Collados MT, Sarra J, Prosper F, Rocha E. Inhibidor de la vía extrínseca y factor de necrosis tumoral en pacientes con sepsis [resumen]. Rev Iberoamer Tromb Hemost 1992; 5 Supl. 1:45.
41. Vicente V, España F, Tabernero D, Estellés A, Aznar J, Hendl S et al. Evidence of activation of the protein C pathway during acute vascular damage induced by Mediterranean spotted fever. Blood 1991; 78:416-422.
42. Vicente V, Estellés A, Moraleda JM, España F, Aznar J. Fibrinolytic changes during acute vascular damage induced by Mediterranean spotted fever. Fibrinolysis 1993; 7:324-329.
43. Margaretten W, Zunker HO, Mckay DG. Production of the generalized Shwartzman reaction in pregnant rats by intravenous infusion of thrombin. Lab Invest 1964; 13:552-559.
44. Colucci C, Páramo JA, Collen D. Generation in plasma of a fast-acting inhibitor of plasminogen activator in response to endotoxin stimulation. J Clin Invest 1985; 75:818-824.
45. Crutchley DJ, Conanan LB. Endotoxin induction of an inhibitor of plasminogen activator in bovine pulmonary artery endothelial cells. J Biol Chem 1986; 261:154-159.
46. Medina R, Soche SH, Hang JH, Friedman PA. Interleukin 1, endotoxin or tumor necrosis factor/cachectin enhance the level of plasminogen activator inhibitor messenger RNA in bovine aortic endothelial cells. Thromb Res 1989; 54:41-52.
47. Gómez C, Páramo JA, Colucci M, Rocha E. Effect of heparin and/or antithrombin III on the generation of endotoxin-induced plasminogen activator inhibitor. Thromb Haemostas 1989; 62:694-698.
48. Gómez C, Páramo JA, Rocha E. Efecto de la heparina y/o antitrombina III en un modelo de coagulación intravascular diseminada inducida por endotoxina en conejos. Sangre 1992; 37:5-16.
49. Pralong G, Kalandra T, Glauser MP, Schellekens J, Verhoef J, Bachmann F et al. Plasminogen activator inhibitor 1: a new prognostic marker in septic shock. Thromb Haemostas 1989; 61:459-462.
50. Hesselvik JF, Blomback M, Brodin B, Maller R. Coagulation, fibrinolysis, and kallicrein systems in sepsis: Relation to outcome. Crit Care Med 1989; 17:724-733.
51. Lorente JA, García-Frace LJ, Landin L, De Pablo R, Torrado C, Renes E et al. Time course of hemostatic abnormalities in sepsis and its relation to outcome. Chest 1993; 103:1.536-1.542.
52. Páramo JA, Fernández FJ, Rocha E. Plasminogen activator inhibitor activity in bacterial infection. Thromb Haemostas 1988; 59:451-454.
53. Páramo JA, Pérez JL, Serrano M, Rocha E. Types 1 and 2 plasminogen activator inhibitor and tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis. Thromb Haemostas 1990; 64:3-6.
54. Girardin E, Grau GE, Dayer JM, Roux-Lombard P, Lambert PH, the J5 study group. Tumor necrosis factor and interleukin 1 in the serum of children with severe infectious purpura. N Engl J Med 1988; 319:397-403.
55. Waage A, Espevik T, Halstensen A. Association between tumour necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. Lancet 1987; 1:355-357.
56. De Groote MA, Martin MA, Densen P, Pfaller MA, Wenzel RP. Plasma tumor necrosis factor levels in patients with presumed sepsis. JAMA 1989; 262:249-251.
57. Voss R, Matthias FR, Borkowski G, Reitz D. Activation and inhibition of fibrinolysis in septic patients in an internal intensive care unit. Br J Haematol 1990; 75:99-105.
58. Philippe J, Offner F, Declerck PJ, Leroux-Roels G, Vogelaerts D. Fibrinolysis and coagulation in patients with infectious disease and sepsis. Thromb Haemostas 1991; 65:291-295.
59. Michie HR, Manogue KR, Spriggs DR, Revhang A, O'Dwyer S, Dinarello CA et al. Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. N Engl J Med 1988; 318:1.481-1.486.
60. Suffredini AF, Harpel PC, Parrillo JE. Promotion and subsequent inhibition of plasminogen activation after administration of intravenous endotoxin to normal subjects. N Engl J Med 1989; 320:1.165-1.172.
61. Van der Poll T, Levi M, Buller HR, Van Deventer SHJ, De Boer JP, Hack E et al. Fibrinolytic response to tumor necrosis factor in healthy subjects. J Exp Med 1991; 174:729-732.
62. Bone RC. Fracaso multiorgánico y sepsis. Hospital Practice (ed. esp.) 1992; 7:43-52.
63. Paloma MJ, Páramo JA, Rocha E. Effect of DDAVP on endotoxin-induced intravascular coagulation in rabbits. Thromb Haemostas 1992; 68:306-309.
64. Parker MM, Fink MP. Septic Shock. J Intensive Care Med 1992; 7:90-100.
65. Ziegler EJ, McCutchan JA, Fierer J, Glauser MP, Sadoff JC, Douglas H et al. Treatment of gram-negative bacteremia and shock with human antiserum to a mutant *Escherichia coli*. N Engl J Med 1982; 307:1.225-1.230.
66. Ziegler EJ, Fisher CF, Sprung CL, Strabe RC, Sadoff JC, Foulke GE et al. Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin. N Engl J Med 1991; 324:429-436.
67. Beutler B, Milsark IW, Cerami AC. Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effects of endotoxin. Science 1985; 229:868-871
68. Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GG et al. Anticachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteremia. Nature (Lond) 1987; 330:662-664.
69. Stevens JH, O'Hanley P, Shapiro JM, Mihm FG, Satoh PS, Collins JA et al. Effect of anti-C5a antibodies on the adult respiratory distress syndrome in septic primates. J Clin Invest 1986; 77:1.812-1.816.
70. Wakabayashi G, Gelfand J, Burke JF, Thompson RC, Dinarello CA. A specific receptor antagonist for interleukin 1 prevents Escherichia coli-induced shock in rabbits. FASEB J 1991; 5:338-343.
71. Dinarello CA, Gelfand JA, Wolff SM. Anticytokine strategies in the treatment of the systemic inflammatory response syndrome. JAMA 1993; 269:1.829-1.835.