



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

CITOCINAS INVOLUCRADAS
EN COMPLICACIONES DE NEUTROPENIA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA

P R E S E N T A

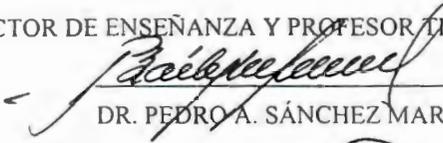
DRA. BEATRIZ GUZMÁN CISNEROS



MÉXICO, D. F., FEBRERO DEL 2004

**CITOCINAS INVOLUCRADAS
EN COMPLICACIONES DE NEUTROPENIA**

DIRECTOR DE ENSEÑANZA Y PROFESOR TITULAR DEL CURSO


DR. PEDRO A. SÁNCHEZ MARQUEZ

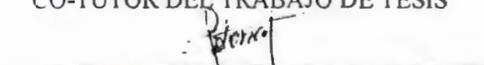
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSTGRADO


DR. LUIS HESHIKI NAKANDAKARI

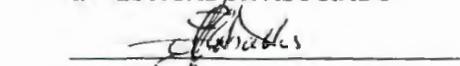
TUTOR DEL TRABAJO DE TESIS


DR. CARLOS A. CALDERÓN ELVIR

CO-TUTOR DEL TRABAJO DE TESIS


DRA. MA. DOLORES CORREA BELTRAN

INVESTIGADOR ASOCIADO


M. EN C. ELVIA COBALLASE URRUTIA

Gracias...

A **Dios...** por la valiosa oportunidad.

A **mis padres...** porque se los debo a ustedes.

A **Elena y Sofía Guzmán...** porque enorgullecerme de ustedes me compromete.

A **Pedro Cullen...** por la magia y la melodía.

A **Liz, Alejandra, Itza y Sofía Acosta...** conmigo a pesar del tiempo y la distancia.

A **Támara, Carlos Corona, Eva, Aby y Juan Carlos Ling...** más que compañeros fueron mi familia.

A **mis maestros del INP...** por enseñarme con su ejemplo una forma de trabajar, de comprometerse, de dar un poco más, especialmente a mis tutores, el **Dr. Calderón** y la **Dra. Correa** por creer en mí.

A **mis pequeños pacientes,** (Carlitos, Mariana, Miranda, Luz Mercedes y todos los niños que aún no conozco), por ustedes y para ustedes... siempre.

INDICE

I. Introducción	2
II. Justificación	3
III. Material y Métodos.....	4
IV. Marco Teórico.....	5
A. Generalidades de función inmune.....	5
1. Inmunidad innata	5
2. Inmunidad adquirida	5
3. Sistema del complemento	6
4. Citocinas	7
5. La importancia de los neutrófilos	14
B. El Endotelio en la fisiopatología de la sepsis.....	14
C. Citocinas y marcadores de inflamación	18
D. Citocinas contrarreguladoras	20
E. Factores estimulantes de colonias.....	20
F. Proteínas de fase aguda (PFA) y Proteína C Reactiva.....	22
V. Conclusiones.....	25
VI. Referencias.....	27

I. Introducción

La neutropenia es el factor de riesgo más importante asociado a sepsis en pacientes con cáncer que reciben quimioterapia mielosupresora. Los agentes quimioterapéuticos afectan diferentes fases del ciclo celular en la génesis de neutrófilos. A pesar de los grandes avances en el manejo de pacientes con fiebre y neutropenia, esta última sigue siendo la principal causa de hospitalización en pacientes con cáncer (1,2,3). La sepsis se define como la respuesta sistémica a la infección (fiebre o hipotermia, taquicardia, polipnea, leucocitosis o leucopenia o más de 10% de bandas) (4, 5) El efecto deletéreo de la infección bacteriana a los tejidos está mediado por enzimas y toxinas aunado a mediadores endógenos liberados por células inflamatorias en respuesta al proceso infeccioso. En la patogénesis de la sepsis y sus complicaciones intervienen una gran cantidad de citocinas y factores endoteliales con efectos pro y anti inflamatorios. (14). El descubrimiento y la comprensión de estos factores nos revela un extenso panorama de complejos fenómenos que generan las complicaciones más graves de los pacientes sometidos a quimioterapia mielosupresora.

II. Justificación

Las complicaciones de la neutropenia, sepsis, sepsis grave, choque séptico, y enterocolitis neutropénica, requieren un diagnóstico precoz y un manejo oportuno y preciso ya que aún son estas patologías una importante causa de muerte en pacientes con cáncer. Especialmente, cuando se trata del diagnóstico de enterocolitis neutropénica, no contamos aun con criterios que nos permitan establecer diagnóstico certero y oportuno. En el presente trabajo se expone el resultado de una revisión de las interleucinas que se han involucrado en la fisiopatología de la sepsis en pacientes con neutropenia para determinar su utilidad en el diagnóstico y el pronóstico.

Esta revisión servirá de base teórica para el protocolo “Utilidad de un panel de exámenes paraclínicos para el diagnóstico de enterocolitis neutropénica en niños con cáncer” postulando las interleucinas factibles de ser medidas como parte de los paraclínicos en niños con cáncer y enterocolitis neutropénica.

III. Material y Métodos

Se realizó una revisión de la literatura de 1990 a la fecha en lo referente a interleucinas y complicaciones de neutropenia inducida por quimioterapia en Index Medicus latinoamericano, Embase/Excerpta medica, sistema en línea LILACS, MED LINE y MD CONSULT. Se buscaron los factores que han sido medidos en pacientes con complicaciones de neutropenia, aquellos que sugieren pronóstico y los que se correlacionan con mortalidad para sugerir los que pudieran ser de utilidad en pacientes con enterocolitis neutropénica.

IV. Marco Teórico

A. Generalidades de función inmune

La inmunidad puede dividirse en innata y adquirida. Entendamos a la **inmunidad innata** como aquella con la que nacemos; depende de células **asesinas naturales (NK)** y fagocíticas, la respuesta de éstas últimas se amplifica por algunos productos de la activación del complemento que facilitan la fagocitosis (opsoninas) y atraen a las células al sitio de inflamación (quimiocinas).

1. Inmunidad innata

Las células de la **inmunidad innata** son:

1. Células fagocíticas:

- a) Neutrófilos: fagocitos móviles que circulan en la sangre listos para migrar a sitios de inflamación.
- b) Monocitos: células del sistema fagocito mononuclear, precursores de los macrófagos.
- c) Macrófagos: células titulares del sistema fagocito-mononuclear.

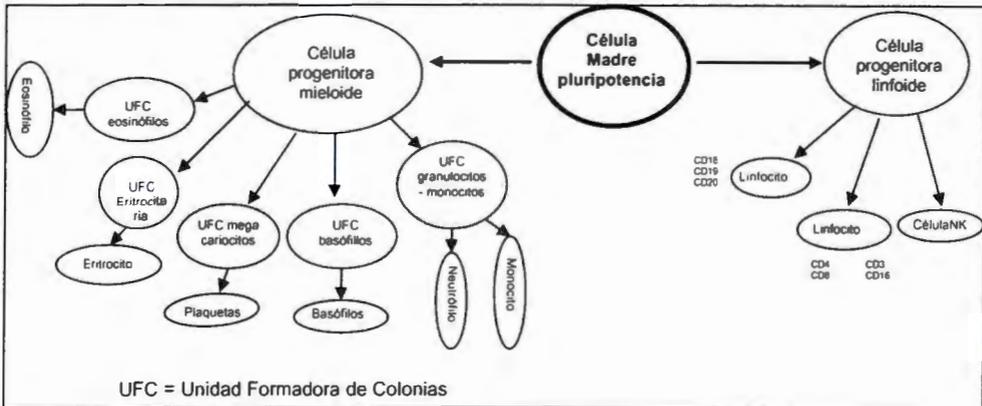
2. Células asesinas naturales o “Natural Killer” (NK) ⁽⁶⁾

2. Inmunidad adquirida

La **inmunidad adquirida** es un proceso altamente específico de reconocimiento y respuesta a sustancias extrañas (antígenos) que requiere **linfocitos** (75% linfocitos T con funciones de memoria, regulación y citotóxicos y el 25% restante está dividido de manera similar entre linfocitos B –precursores de las células plasmáticas, encargadas de la secreción de anticuerpos específicos-, células asesinas naturales (NK) y **células especializadas presentadoras de antígenos**, entre las que se encuentran las células dendríticas y los propios macrófagos. Los linfocitos reconocen un antígeno como extraño, y generan interacciones célula-célula que liberan mediadores humorales (inmunoglobulinas, hormonas o citocinas) que modulan la respuesta inmune. ⁽⁶⁾

Las **células NK** participan tanto en la inmunidad innata como en la inmunidad adquirida, además de su capacidad citolítica natural, secretan citocinas y expresan receptores de baja

afinidad para el Fc gamma (fracción constante del anticuerpo que se une al complemento) reconociendo moléculas de IgG agrupadas unidas previamente a los antígenos, entonces la célula NK, por exocitosis de gránulos (que contiene proteínas formadoras de poros, citotoxinas, esterasa de serina y proteoglicanos), lisa a las células infectadas. (6).



3. Sistema del complemento

El **sistema del complemento** consiste en una serie de proteínas séricas que al activarse en cascada incrementan la respuesta inmune por sus propiedades quimiotácticas y citotóxicas. El complemento se activa por dos vías: una no requiere anticuerpos (vía **alterna**) y la otra se activa por complejos antígeno anticuerpo (vía **clásica**).

La vía alterna se puede activar de dos maneras:

1. Directamente por **componentes de la membrana bacteriana** (a través del componente C3).
2. A través de la **proteína de unión a la manosa (MBP)** que es una molécula circulante en sangre que reconoce carbohidratos de la membrana de las bacterias y activa al complemento (a través de C3).
3. El **complejo antígeno-anticuerpo** (IgG o IgM) activan a través de la fracción constante al C1 el complemento.

Las tres vías terminan en el complejo de ataque a la membrana (C56789) que perfora las membranas bacterianas. (6). La cascada de activación genera productos opsonizantes, como el C3b, y quimiotácticos, como el C3a y el C5a.

4. Citocinas

Las **citocinas** son un grupo diverso de hormonas proteicas que transmiten señales intercelulares.

Estas señales pueden ser:

-Autócrinas: cuando es la misma célula la que produce la citocina y la que responde a ésta.

-Parácrinas: cuando la citocina se produce en una célula y la respuesta se provoca en otra.

Las citocinas comparten varias propiedades:

1. Las citocinas se producen durante las fases efectoras de la inmunidad natural y adquirida y sirven para mediar y regular las respuestas inmunitarias e inflamatorias.
2. La secreción de citocinas es breve y auto-limitada: las citocinas no se almacenan y su síntesis se inicia con la producción del RNA mensajero (mRNA) que las codifica.
3. Las diversas citocinas pueden ser producidas por muchos tipos celulares.
4. Las citocinas actúan sobre diferentes tipos celulares, a esta propiedad se le llama pleiotropismo.
5. Las citocinas pueden tener efectos diferentes sobre la misma célula blanco.
6. Las acciones de las citocinas son a menudo redundantes; muchas funciones atribuidas originalmente a una citocina se comparten con otras.
7. Las citocinas a menudo influyen en la síntesis de otras citocinas, produciendo cascadas en las que una segunda o tercera citocina puede mediar los efectos biológicos de la primera.
8. Las citocinas a menudo influyen en la acción de otras citocinas, produciendo efectos antagónicos, aditivos o sinérgicos.
9. Las citocinas, como otras hormonas polipeptídicas inician su acción uniéndose a receptores específicos en la superficie de la célula blanco.
10. La expresión de muchos receptores de citocinas está regulada por señales específicas, esta señal puede ser otra o incluso la misma citocina.
11. La mayor parte de las respuestas celulares a las citocinas precisan mRNA nuevo y síntesis proteica.
12. Para muchas células blanco, las citocinas actúan como reguladores de la división celular, es decir. como factores de proliferación. (6)

Las **interleucinas** son citocinas secretadas por leucocitos que actúan sobre otros leucocitos. Pueden dividirse a las citocinas en cuatro clases diferentes:

a) Mediadoras de la inmunidad natural:

a) **Interferones tipo I (IFN-1):** comprende dos grupos de proteínas serológicamente diferentes Interferón 1 alfa (IFN α) e Interferón 1 beta (IFN β). El IFN α se secreta principalmente por el fagocito mononuclear y el IFN β se secreta por los fibroblastos.

EL IFN 1 inhibe la replicación viral, inhibe la proliferación celular, aumenta el potencial lítico de las células NK y modula la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), por lo tanto tiene importantes funciones antivirales.

b) **Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF α)** cuya principal fuente es el fagocito mononuclear activado por el lipopolisacárido (LPS) o endotoxina de las bacterias gram negativas. El TNF α tiene importantes funciones:

- Produce la expresión en las células endoteliales de moléculas de adhesión que hacen a la superficie endotelial adherente a los leucocitos; actúa también sobre los neutrófilos para aumentar su adherencia a las células endoteliales
- Activa neutrófilos, eosinófilos y fagocitos mononucleares para matar microorganismos.
- Estimula a los fagocitos mononucleares y a otros tipos de células a producir citocinas como la IL 1, IL 6, el propio TNF α y las quimiocinas (citocinas con propiedades quimiotácticas).
- Ejerce un efecto similar al del interferón contra los virus y aumenta la expresión de moléculas de clase I del MHC.
- El TNF α y la IL 1 son "pirógenos endógenos" porque inducen la síntesis de prostaglandinas por el hipotálamo.
- El TNF α actúa sobre el hepatocito para inducir la síntesis de proteínas de fase aguda.
- Activa el sistema de coagulación alterando el equilibrio anticoagulante del endotelio.
- Suprime la división celular de la célula madre de la médula ósea, puede producir linfopenia e inmunodeficiencia.
- Produce caquexia por supresión del apetito.

Por lo tanto, el TNF α es el principal mediador de las respuestas del huésped frente a las bacterias gram negativas.

c) **Interleucina 1 (IL 1)**: su actividad reside en dos polipéptidos principales; IL 1 α e IL 1 β , se produce en el fagocito mononuclear activado, células endoteliales y epiteliales.

Su principal efecto biológico es como mediador de inflamación; actúa sobre los fagocitos mononucleares y el endotelio vascular para aumentar aún más la síntesis de IL 1 e inducir la de IL 6. Actúa sobre las células endoteliales promoviendo la coagulación y aumentando la expresión de moléculas de adhesión. Comparte con el TNF α la capacidad de producir fiebre, de inducir la síntesis de proteínas de fase aguda por el hígado y de iniciar el desgaste metabólico (caquexia).

Se ha encontrado un inhibidor natural de la IL 1 (inhibidor competitivo) se le denomina **IL 1 ra**.

d) **Interleucina 6 (IL 6)**: sintetizada por los fagocitos mononucleares, las células endoteliales vasculares, los fibroblastos y algunos linfocitos T activados en respuesta al TNF α y a la IL 1. La IL 6 induce la síntesis de proteínas de fase aguda por el hígado, sirve como factor de proliferación para las células B activadas en fases avanzadas de su diferenciación, es un coestimulador de los linfocitos T y de los timocitos y sirve como cofactor para la proliferación precoz de las células madre en la médula ósea.

e) **Quimiocinas**: citocinas con capacidad de estimular el movimiento de los leucocitos (quimioquinesis) y el movimiento dirigido (quimiotaxis). Son producidas por los fagocitos mononucleares, por células endoteliales, fibroblastos y megacariocitos. El miembro mejor caracterizado de esta familia es la **IL 8**. Sus funciones son la quimiotaxis y activación de los neutrófilos.

b) Citocinas que regulan la activación, proliferación y diferenciación leucocitaria:

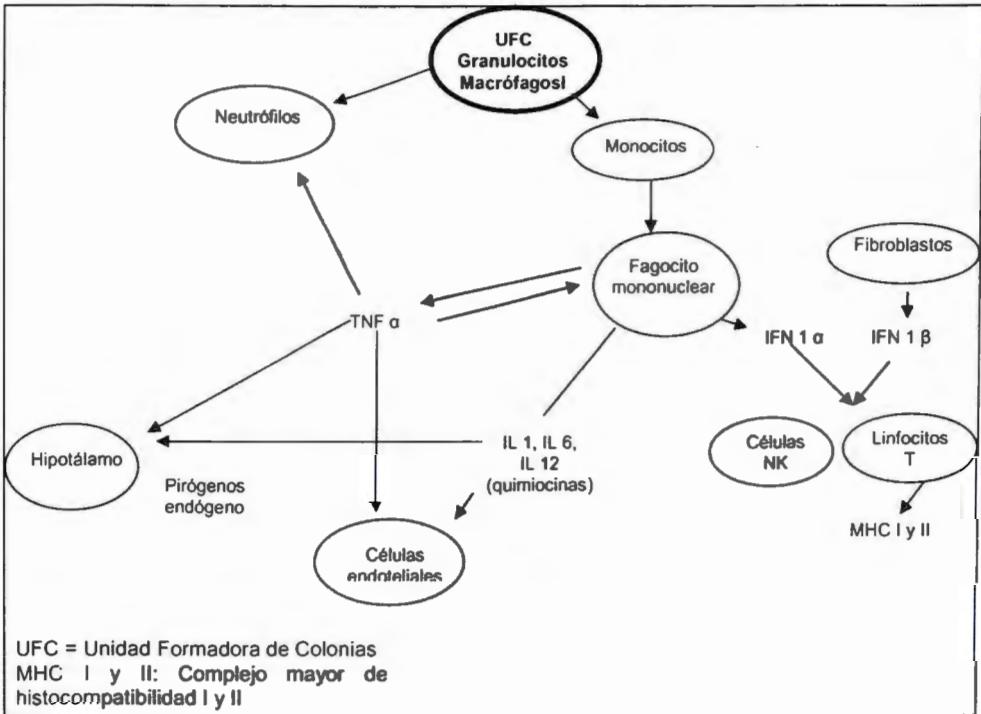
a) **Interleucina 2 (IL 2)**: originalmente llamada factor de proliferación de la célula T, producida por los linfocitos T CD4 y en menor cantidad por los linfocitos T CD8, es la principal responsable de la progresión de los linfocitos T desde la fase G₁ a la S del ciclo celular (factor de proliferación autócrino y parácrino). La IL 2 estimula la proliferación de las células NK y aumenta su función citolítica, también actúa sobre células B como factor de proliferación y como un estímulo para la síntesis de anticuerpos.

b) **Interleucina 4 (IL 4)**: su principal fuente son los linfocitos T CD4, especialmente los T_H2 (subgrupo de linfocitos T CD4 completamente diferenciado que es el principal responsable de la defensa del huésped independiente de los fagocitos), también es producida por los mastocitos, los basófilos activados y algunas células T CD8. Las funciones de la IL 4 son las siguientes:

- Es necesaria para la producción de IgE por los linfocitos B.
- Inhibe la activación del macrófago y bloquea la mayor parte de los efectos activadores del macrófago del IFN γ , incluida la producción aumentada de citocinas como la IL 1, el óxido nítrico y las prostaglandinas, estos efectos son iguales a los de la IL 10 que se produce también por las células T_H2.
- Es un factor de proliferación y diferenciación de las células T_H2.
- Estimula la expresión de ciertas moléculas de adhesión, especialmente de la molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM 1) sobre las células endoteliales, lo que produce una mayor unión de los linfocitos, los monocitos y especialmente los eosinófilos.
- De manera sinérgica con la IL 3 es un factor de proliferación para los mastocitos.

Por lo tanto, la principal función fisiológica de la IL 4 es la estimulación de reacciones alérgicas.

c) **Factor transformador del crecimiento β (TGF β)**: producido principalmente por las células T y por fagocitos mononucleares. Sus funciones están encaminadas a antagonizar muchas respuestas de los linfocitos, es un regulador en gran medida negativo. Inhibe la proliferación de la célula T frente a mitógenos policlonales, puede inhibir la activación de los macrófagos, actúa sobre neutrófilos y células endoteliales antagonizando los efectos de las citocinas pro-inflamatorias.



c) Citocinas que regulan la inflamación de origen inmunitario:

a) **Interferón gamma (IFN γ)**: Es producido por células T cooperadoras CD 4 T_H0 (Células T CD4 que se encuentran en la primera fase de diferenciación, secretan múltiples interleucinas) y T_H1 (células T CD4 que se encuentran en la segunda fase de diferenciación, secretan IL 2 e IFN γ para activar macrófagos), por casi todas las células CD 8 y por las células NK. Entre sus funciones se ha encontrado que es un potente activador de los fagocitos mononucleares y de los neutrófilos, aumenta la expresión de moléculas clase I y clase II de MHC (las moléculas clase II promueven la activación de las células T CD 4), actúa directamente sobre los linfocitos T y B para promover su diferenciación (promueve la diferenciación de las células T CD4 nativas al subgrupo T_H1 e inhibe la proliferación de las células T_H2), activa a las células endoteliales vasculares promoviendo la adhesión de los linfocitos T CD 4 para facilitar su extravasación.

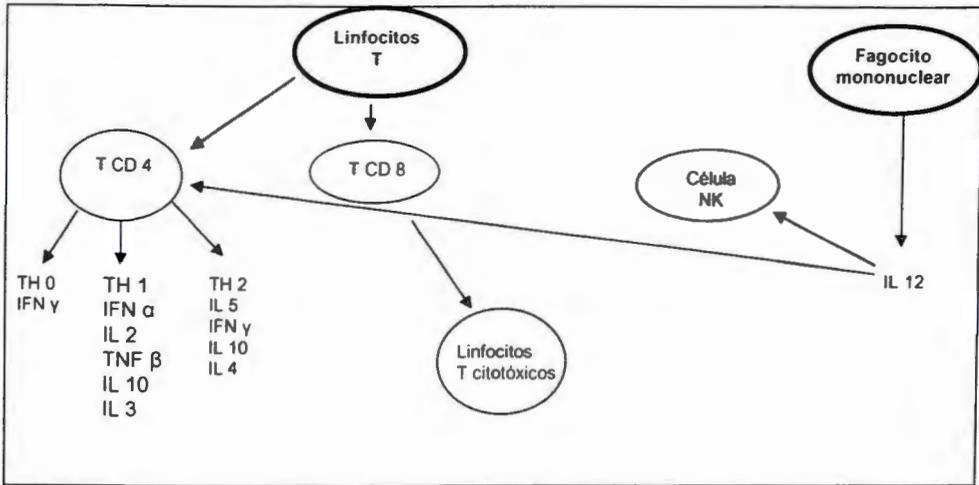
El efecto neto del IFN γ es promover las reacciones inflamatorias ricas en T_{H1} y macrófagos a la vez que suprimen las reacciones ricas en T_{H2} y esto trae como consecuencia un estado antiviral y antiproliferativo.

b) **Factor de Necrosis Tumoral β o linfoxina (TNF β):** lo produce exclusivamente los linfocitos T activados. Es un activador potente de neutrófilos.

c) **Interleucina 10 (IL 10):** producida por linfocitos T CD4. Las dos actividades principales de la IL 10 son inhibir la producción de citocinas (TNF α , IL 1, IL 2 y quimiocina) por los macrófagos e inhibir las funciones accesorias de los macrófagos en la activación de la célula T. El efecto neto de estas acciones es inhibir la inflamación mediada por la célula T.

d) **Interleucina 5 (IL 5):** es producida por el subgrupo TH2 de las células T CD 4 y por los mastocitos activados. La principal acción de la IL 5 es estimular la proliferación y diferenciación de los eosinófilos y activar a los eosinófilos maduros para que puedan matar helmintos. La actividad de la IL 5 se complementa con las de la IL 4 y las de la IL 10 contribuyendo a las respuestas alérgicas mediadas por el TH2. La IL 5 también actúa como co estimulador para la proliferación de las células B y puede incrementar la síntesis de inmunoglobulinas, especialmente IgA.

e) **Interleucina 12 (IL 12):** producida por los macrófagos, es el más potente activador conocido de las células NK, estimula la diferenciación de las células T CD4 al subgrupo TH1, estimula la diferenciación de las células T CD8 a linfocitos T citotóxicos activos y maduros. Por lo tanto, la IL 12 es un importante regulador de las reacciones inmunitarias mediadas por células.



d) Citocinas que estimulan la hematopoyesis:

a) Interleucina 3 (IL 3): también conocida como factor estimulante de múltiples líneas (**multi-CSF**) es un producto de los linfocitos T CD4 que actúa sobre la mayor parte de los progenitores de la médula ósea inmaduros, y que promueve la expansión de células que se diferencian en todos los tipos de células plasmáticas maduras conocidas.

b) Factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF): sintetizado por los linfocitos T activados y por los fagocitos mononucleares activados, las células endoteliales y los fibroblastos. Promueve la proliferación de células madre, aún de las que todavía no se han comprometido en evolucionar a leucocitos, también activa leucocitos maduros. El GM-CSF no se detecta en la circulación y probablemente actúa localmente en los lugares en que se produce.

c) Factor estimulante de colonias de monocitos macrófagos (M-CSF): es sintetizado por los macrófagos, las células endoteliales y los fibroblastos. El M-CSF actúa sobre aquellos progenitores ya comprometidos en el desarrollo a monocitos estimulando su maduración. El M-CSF no circula en sangre y su efecto es local.

d) Factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF): sintetizado por los linfocitos T activados y por los fagocitos mononucleares activados, las células endoteliales y los fibroblastos. Actúa sobre progenitores de la médula ósea ya comprometidos en el desarrollo a granulocitos, madura a los neutrófilos aún a distancia ya que el G-CSF circula en sangre.

e) **Interleucina 7 (IL 7)**: secretada por las células estromales de la médula ósea, actúa sobre progenitores hematopoyéticos precursores de los linfocitos B, puede también estimular la proliferación de los linfocitos T CD4 y T CD8. (31)

5. La importancia de los neutrófilos

Los neutrófilos son el prototipo de la célula fagocítica. Se valen de moléculas de adhesión y quimiotácticos para moverse al sitio de infección, al llegar fagocitan y destruyen microorganismos infectantes. Este proceso depende de receptores de superficie que reconocen componentes de la pared celular bacteriana, y se ve marcadamente incrementado por IgG específica y algunos componentes del complemento (Ej. **C3a, C5a**) -opsoninas-.

Los productos de los neutrófilos (peróxido de hidrógeno, superóxido, proteasas, fosfolipasas y defensinas) son tóxicos para muchas bacterias y hongos, por lo tanto, la **deficiencia** en el número o en la función de los neutrófilos **resulta** en infecciones recurrentes, bacterianas y fúngicas. (7).

B. El Endotelio en la fisiopatología de la sepsis

El endotelio es un tejido clave en la fisiopatología de la sepsis. La activación y el daño del endotelio ocurren tempranamente durante la sepsis y desempeñan un papel importante en la fisiopatología de la inflamación sistémica. (8,9)

El endotelio es la superficie de contacto entre la sangre y los tejidos, en humanos adultos la superficie total de este tipo de células se ha estimado en 1,000 m². Sus funciones normales incluyen prevención de la coagulación, regulación de la migración de las células sanguíneas a los tejidos (por expresión de factores de adhesión), producción de factores quimiotácticos, regulación de la microcirculación (dictando el tono de las arteriolas), regulación de la presión sanguínea y de la vasopermeabilidad. (9)

La estimulación por varias citocinas (**IL-1 α , IL-1 β , TNF α**) y otros mediadores inflamatorios como el complemento activado alteran las funciones del endotelio, este fenómeno se conoce como **activación del endotelio**. El endotelio "activado" pierde sus propiedades anticoagulantes y se convierte en una superficie "procoagulante".

Bajo condiciones fisiológicas, las células endoteliales inhiben la cascada de la coagulación por varios mecanismos:

-Expresan trombomodulina: proteína transmembranal anticoagulante que se une a la trombina para favorecer su unión con la proteína C anticoagulante.

-Las células endoteliales tienen en su superficie proteoglicanos como el sulfato de heparán que se unen a la antitrombina III y el factor tisular potenciando sus propiedades anticoagulantes.

-Liberan prostaciclina y óxido nítrico (NO) que inhiben la agregación plaquetaria.

La sepsis es la causa más común de un estado de **coagulación intravascular diseminada (CID)** y lleva a un estado de hipercoagulabilidad. El rasgo clínico más común de la **CID** es la falla orgánica. El sistema de la coagulación tiene varios mecanismos inhibitorios importantes como la antitrombina III, el sistema del sulfato de heparán y la vía de la proteína C anticoagulante.

La **proteína C**, una proteasa dependiente de vitamina K, se activa en la sangre por los complejos plaquetarios trombina-trombomodulina. La **proteína C activada**, junto con su cofactor no enzimático, la **proteína S**, actúa como un anticoagulante natural inactivando por proteólisis los factores **Va** y **VIIIa**, disminuyendo la formación de trombina y por último reduciendo la formación de coágulos de fibrina. (10).

Cuando el endotelio se "activa" por **TNF- α** , **IL 1**, o la **endotoxina**, las células endoteliales pierden trombomodulina y sulfato de heparán y empiezan a sintetizar factor tisular que después de un par de horas aparece en la superficie de las células. Como consecuencia, las células endoteliales no activan a la **proteína C**, se pierden los factores que inhiben la coagulación y la **antitrombina III** y por interacción del factor tisular con el factor VII de la coagulación se activa la vía extrínseca de la coagulación.

Debemos distinguir entre activación y disfunción endotelial. En la activación muchas funciones del endotelio, como la permeabilidad permanecen intactas mientras que en la disfunción pueden estar alteradas.

Las células **NK** o los **linfocitos T activados** por citocinas pueden adherirse al endotelio dañado resultando en un incremento de la permeabilidad capilar por los siguientes mecanismos:

-En modelos de perfusión se ha demostrado que los neutrófilos activados se adhieren a las células endoteliales por moléculas de adhesión dañándolas por producción de radicales de oxígeno y proteinasas como la elastasa.

-Los neutrófilos también incrementan los efectos del TNF- α resultando en incremento de la permeabilidad capilar.

Se ha sugerido que estos mecanismos causan el síndrome de fuga capilar inducido por altas dosis de **IL-2** que comparte muchas manifestaciones con la sepsis. (9)

Las células endoteliales **activadas** desempeñan dos importantes funciones: amplificar la respuesta inmune y activar la cascada de la coagulación. La **disfunción endotelial** es crucial en la respuesta a la infección resultando en fuga capilar, hipotensión y trombosis microvascular, que generan hipoxia y finalmente disfunción orgánica y muerte (9)

El endotelio activado expresa **selectina E** (molécula de adhesión soluble que circula en plasma), así como moléculas de adhesión endotelial a leucocitos; **ELAM 1**, moléculas de adhesión intercelular; **ICAM 1** y moléculas de adhesión a las células vasculares; **VCAM 1**. (8)

Los niveles de **selectina E** son dependientes de la dosis de endotoxinas, de aquí el interés de esta molécula como marcador cuantitativo de inflamación y activación endotelial. La selectina E se produce exclusivamente por células endoteliales y su niveles alcanzan el máximo a las 6 h de exposición a la endotoxina regresando a la normalidad a las 24 h. Aunque los niveles de selectina E en pacientes con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) por causas no infecciosas son similares a los de pacientes con SIRS por causas infecciosas, en los pacientes con cultivos positivos los niveles de selectina E son tres a ocho veces más altos que en aquellos pacientes con cultivos negativos. Se han documentado niveles más altos de selectina E en pacientes críticamente enfermos que no **sobrevivieron** comparados con aquellos que sí. (8,11)

La **ELAM 1** es una glicoproteína transmembranal endotelial de 115 kDa, mediador temprano de la adhesión de leucocitos al endotelio en estados de inflamación. Alcanza el máximo a las 12-24 horas y permanece elevada durante 48 horas. (8)

La **ICAM 1** es una glicoproteína de 80 a 115 kDa que deriva de la superfamilia de las inmunoglobulinas. Junto con el ELAM 1 es un mediador de la unión entre leucocitos y células endoteliales, y promueve la diapédesis. En los pacientes con choque séptico se han encontrado niveles plasmáticos más altos de ICAM 1 que en aquellos sin choque (8).

Se ha demostrado que la elevación de **ELAM 1**, **VCAM 1** e **ICAM 1** es más importante en pacientes con SIRS de origen infeccioso (sepsis) en comparación con aquellos con SIRS de

origen no infeccioso (trauma o quemaduras). Más aun, en pacientes con sepsis los niveles de **ELAM 1**, **VCAM 1** e **ICAM 1** se correlacionan con la severidad. (8.11)

Los niveles incrementados de **ICAM 1** y **VCAM 1** predicen la aparición de falla orgánica múltiple (MODS) y muerte. De las tres moléculas de adhesión, la de mayor valor predictivo para MODS es el **VCAM 1**. (8)

La **trombomodulina (TM)** es una glicoproteína transmembranal anticoagulante encontrada en la superficie de las células endoteliales que interactúa con la trombina haciendo que esta última pierda sus propiedades pro-coagulantes (por unión con la proteína C anticoagulante). Se han documentado niveles incrementados de TM en pacientes con sepsis y MODS y después del trauma, aunque las concentraciones que se elevan de 1.5 a 5 veces no son de utilidad para diagnosticar y discriminar entre sepsis, sepsis grave y choque séptico. (8.10)

El **factor de von Willebrand (vWF)** es sintetizado por las células endoteliales. Se han documentado concentraciones hasta seis veces más altas en pacientes con sepsis comparado con pacientes sanos. Sin embargo no hay diferencias significativas en las concentraciones de vWF en pacientes con sepsis comparado con otras enfermedades inflamatorias agudas de origen no infeccioso. (8.9,10, 11)

La **Proteína C anticoagulante** es una glicoproteína dependiente de vitamina K que circula en el plasma como zimógeno y se activa por complejos trombina-trombomodulina y requiere proteína S como cofactor para sus funciones anticoagulantes. Se ha demostrado una disminución del 85% en los niveles de proteína C anticoagulante en pacientes con sepsis severa. Más aún, los niveles bajos de **proteína C anticoagulante** se han asociado a un incremento en la mortalidad. Un nivel inicial de proteína C menor al 30% se ha encontrado como marcador pronóstico de sepsis y muerte con una especificidad de 0.86 y una sensibilidad de 0.6. Después de 28 días de tratamiento con proteína C humana recombinante 24.7% de los pacientes murieron comparados con 30.8% del grupo placebo (reducción del riesgo relativo de morir en 19.4% y del riesgo absoluto en 6.1%). (8)

Algunos experimentos en animales han demostrado que la administración exógena de proteína C anticoagulante previene los efectos coagulopáticos y hepatotóxicos así como la mortalidad cuando se infunden concentraciones letales de *Escherichia coli*. Mas aún, si se bloquea la proteína C (usando anticuerpos específicos) se produce una respuesta patológica más severa ante concentraciones subletales de *E. coli*. (12)

La **antitrombina III (ATIII)** es una glicoproteína plasmática de 58 kDa sintetizada en el hígado y con vida media prolongada (más de 48 h), inactiva a la trombina e inhibe varias proteasas incluidos los factores IXa, Xa, XIa, XIIa, la plasmina, la calicreína y la tripsina^(4,14). Las concentraciones de ATIII bajan en las fases tempranas de sepsis grave y una depleción rápida de los niveles de ATIII en choque séptico habla de mal pronóstico. Los sobrevivientes muestran incrementos en los niveles de ATIII durante su evolución, mientras que en los no sobrevivientes no se observan cambios.

La **procalcitonina (PCT)** es un polipéptido de 116 aminoácidos precursor de la hormona calcitonina y predictor importante de inflamación por sepsis. Se han demostrado concentraciones elevadas en pacientes neutropénicos que desarrollan SIRS, sepsis, choque séptico y especialmente en falla orgánica múltiple, incluso puede ser más específico que la IL 6^(8,13,14). En un estudio realizado por Harbarth en Suiza se midió prospectivamente en 78 pacientes con SIRS, sepsis, sepsis severa y choque séptico los niveles de **PCT, IL 6 e IL8**. Las concentraciones de **PCT** medias fueron de 0.6 µg/L para SIRS, de 3.5 µg/L para sepsis, de 6.2 µg/L para sepsis severa y de 21.3 µg/L para choque séptico. De los tres parámetros medidos, la **PCT** mostró el mayor valor discriminativo, enseguida la IL 6 y la IL 8. Las concentraciones elevadas de **PCT** parecen ser promisorios indicadores de sepsis en pacientes que ingresan en estado crítico.^(13,14)

C. Citocinas y marcadores de inflamación

En el curso de una infección aparecen de forma temprana incrementos en los niveles circulantes de **IL 1, IL 6, IL8 y TNF-α** indicando una rápida serie de respuestas en el huésped como fiebre y quimiotaxis de leucocitos. Las concentraciones elevadas de estas citocinas se han asociado con choque séptico y falla orgánica múltiple^(9,10,15,16,17).

Algunos estudios han publicado ya la utilidad de medir **IL 8** para identificar infecciones severas en pacientes con neutropenia; se ha asociado a lactacidemia, coagulación intravascular diseminada (CID), hipoxemia severa y mortalidad^(4, 15, 18, 19, 20). Otros han investigado el significado de los niveles circulantes de moléculas de inmunidad innata, como la **proteína de**

unión a la manosa (MBP) que se incrementa en la fase aguda de inflamación. La **MBP** es una molécula que reconoce carbohidratos complejos en la superficie de los patógenos y activa al complemento. Los niveles de MBP se incrementan por **IL 6**. (15). La aparición rápida de choque séptico se caracteriza por concentraciones altas de **IL 6** con leucopenia transitoria. (4)

El **receptor gamma tipo III del Fc soluble (sFc)** es un receptor para IgG de la superficie de los neutrófilos cuya forma soluble se incrementa en los sitios de inflamación (15). En el estudio de Lehmbecher donde se incluyeron 56 niños con neoplasia y neutropenia se midió **IL 6** e **IL 8**, **sFc gamma R III** y **MBP** así como **proteína C reactiva (PCR)**, encontrándose que los niveles más altos de **IL 6** e **IL 8** medidos al ingreso en pacientes con bacteremia asociada a Gram-negativos (comparado con fiebre sin foco evidente, infección documentada, bacteremia por Gram-positivos e infección por hongos) (6)

Los niveles de **IL 6** e **IL 8** son de utilidad para distinguir entre bacteremias por Gram-negativos y Gram-positivos. Sin embargo esto no se observa en pacientes sin neutropenia. Una explicación posible puede estar relacionada con el hecho de que las bacterias Gram-negativas liberan endotoxinas que activan a los monocitos por el receptor CD14, mientras que los Gram-positivos requieren la intervención de los linfocitos T que pueden estar deficientes o defectuosos en pacientes que reciben quimioterapia citorreductiva. (10,15,21)

Los valores de **IL 6** se han encontrado de 200 a 2000 veces más altos en pacientes con choque séptico comparados con pacientes con sepsis sin choque y controles sin choque ni sepsis. (17,18,20,22) La **IL 6** es la citocina que más alto valor predictivo tiene en muerte por sepsis (especialmente con valores arriba de 1000 pg/mL) . (8,11,15, 16, 19, 20, 21)

Los niveles de PCR, MBP y sFc gamma RIII se sobreponen entre los diferentes grupos por lo que no son útiles para discriminar entre los diferentes tipos de infecciones, la fiebre sin foco evidente y las bacteremias asociadas a catéter.

Después de las primeras 24 h de la exposición al antígeno, los niveles de **IL 6** e **IL 8** tienden a disminuir, mientras que los niveles de **PCR** se elevan, especialmente en los pacientes con bacteremia por Gram-negativos (15)

IL 1: Se han detectado elevaciones de **IL 1 β** en pacientes con sepsis; sin embargo, esto es menos frecuente que las elevaciones del **TNF- α**

IL 1 y **TNF- α** actúan de forma sinérgica; estimulan la producción de **PGE2**, **IL 6** e **IL 8**, y la liberación de fosfolipasa A2. (4,20,23) Mas aún, la **IL 1** y el **TNF- α** inducen nuevas

transcriptasas en las células para que se expresen ciertos genes sólo durante la enfermedad (que codifican para otras citocinas, óxido nítrico y mediadores de pequeño peso molecular).

Durante la inflamación sistémica se liberan grandes cantidades de **IL1** y **TNF- α** que producen hipotensión y choque. Los humanos son particularmente sensibles a los efectos pirogénico e hipotensor de estas citocinas. Sin embargo, la **IL 1** frecuentemente es indetectable y cuando está presente tiene poco valor predictivo. (20,21)

D. Citocinas contrarreguladoras

La IL 10 junto con la IL 4 y la IL 13, suprime los genes de expresión y síntesis de IL 1, TNF- α y otras interleucinas *in vitro* reduciendo su producción hasta en 90%. En animales se ha demostrado la reducción de endotoxemia letal con IL 10, IL 4 e IL 13 y en humanos sanos la infusión de IL 10 no tiene efectos tóxicos (16,21).

En el estudio de Takumi se midió IL 6 e IL 10 comparando sus concentraciones y el índice IL 6/IL 10. Se encontró que las concentraciones de IL 6 disminuyeron en sobrevivientes de choque séptico mientras que en pacientes que no sobrevivieron no se observaron cambios. El índice IL 6/ IL 10 en sobrevivientes se mantuvo estable, pero en pacientes que no sobrevivieron se observó un incremento de 5.5 ± 3.1 a 18.7 ± 2.8 . El incremento en el índice IL 6/ IL 10 puede predecir evolución desfavorable en choque séptico y MODS. Se sugiere a la IL 10 como citocina “anti-inflamatoria” (10,16)

E. Factores estimulantes de colonias

Los factores estimulantes de colonias (CSF) son glicoproteínas ácidas necesarias para la proliferación y diferenciación de las células hematopoyéticas. El factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) es una proteína de 174 o 177 aminoácidos codificados por un gen único localizado en el segmento cromosomal 17q. Su receptor es un homodímero de 140 kDa con similitudes en estructura con los receptores de eritropoyetina, algunas interleucinas y la

hormona del crecimiento. Los neutrófilos poseen entre 300 y 1000 receptores en su superficie y los efectos del G-CSF ocurren con niveles bajos de receptores ocupados.

El TNF- α y la IL 1 inducen la activación de las células endoteliales, los fibroblastos, los fagocitos mononucleares y las células estromales de la médula ósea para incrementar la expresión del mRNA para G-CSF y promover su secreción. Desempeña una importante función al mantener la cuenta normal de polimorfonucleares en sangre y al determinar la respuesta de los neutrófilos a la inflamación e infección.^(22,24) En estudios con animales se ha demostrado que la ausencia de G-CSF genera neutropenia, infecciones más severas e incremento en la mortalidad (esto no ocurre con GM-CSF). En humanos sanos los niveles de G-CSF se encuentran generalmente por debajo de los límites de detección de los inmunoensayos más sensibles y cuando son detectables las concentraciones son menores a 100 pg/mL. ⁽²⁵⁾ Cuando se activa la cascada inflamatoria se liberan múltiples señales que incluyen endotoxina, IFN- α , e IL 3 así como IL 1 y TNF- α . Estas citocinas inducen la producción de GM-CSF, G-CSF y M-CSF por las células estromales de la médula ósea. Bajo estas condiciones las concentraciones de G-CSF se incrementan dramáticamente y pueden exceder los 2000 pg/mL. Cuando la infección cede, los niveles de G-CSF vuelven a los valores basales. Se conoce mucho menos acerca de los cambios fisiológicos en las concentraciones de los factores estimulantes de colonias durante la quimioterapia citotóxica. En un estudio se midió G-CSF, IL 6, M-CSF y GM-CSF en pacientes con neutropenia sin fiebre, en pacientes con neutropenia y fiebre y en controles encontrándose que el G-CSF se elevaba en pacientes con neutropenia pero la IL 6 y el M-CSF se elevan sólo durante los episodios febriles. ^(3,25) En animales se ha demostrado que los niveles de G-CSF se incrementan abruptamente después de la introducción de bacterias alcanzando su pico máximo a las 5 a 6 hrs volviendo a la normalidad a las 8 hrs.

Varios análisis han mostrado que las concentraciones disminuidas de G-CSF se correlacionan con fiebre, neutropenia, e infección por Gram-negativos. Está claro que el G-CSF promueve la recuperación del huésped ante infecciones locales o sistémicas, sus niveles se correlacionan con menos complicaciones y mayor supervivencia en pacientes críticamente enfermos e incluso se ha usado con éxito de manera experimental en infecciones neonatales.^(22,23,24,26) El G-CSF tiene propiedades contrarreguladoras ya que disminuye la secreción de TNF- α , IL 2, IL 12, IFN- γ , leucotrieno B4 y tromboxano B2 ⁽²⁴⁾.

G-CSF y los neutrófilos: el G-CSF incrementa la movilidad de los neutrófilos *in vitro* a concentraciones bajas y a concentraciones altas inhibe su motilidad lo que podría servir para atraer y luego inmovilizar a los neutrófilos en el sitio de infección. El G-CSF incrementa la actividad fagocítica de los neutrófilos. (23)

F. Proteínas de fase aguda (PFA) y Proteína C Reactiva

Las proteínas de fase aguda, producidas y secretadas principalmente por el hígado tienen una importante función en la respuesta inmune a la infección. Se denominan proteínas de fase aguda positivas a aquellas que se incrementan durante la infección: **Proteína C reactiva (PCR), alfa 1 antitripsina, fibrinógeno, protrombina, haptoglobina, ceruloplasmina, ferritina, amiloide sérico A, glicoproteína ácida alfa 1, proteína de unión al lipopolisacárido y fibronectina.** Las proteínas de fase aguda positivas contribuyen a la respuesta pro-coagulante y a la inhibición de la fibrinólisis observada en la sepsis, especialmente inhibiendo a la **proteína C anticoagulante** y disminuyendo su síntesis así como disminuyendo la síntesis de **antitrombina** (proteínas de fase aguda negativas) (27). Las proteínas de fase aguda negativas son las que disminuyen durante procesos infecciosos: **albúmina, properdina, lipoproteína de alta densidad, proteína C anticoagulante y antitrombina.** (27)

De las proteínas de fase aguda positivas la **proteína C reactiva (PCR)** es la que se ha usado como herramienta para el diagnóstico de infecciones bacterianas o fúngicas y como marcador de severidad. (15,18)

La sepsis induce alteraciones en la función hepática involucrando tres líneas celulares: las células de Kupffer, los hepatocitos y las células endoteliales de los sinusoides. Las células de Kupffer expuestas a endotoxina producen grandes cantidades de **TNF- α** e **IL 6** que inducen la expresión de genes que codifican para proteínas de fase aguda positivas (27).

El **dímero D** es un producto de degradación de la fibrina, cuando se eleva en sangre indica que se ha activado la cascada de la coagulación. Se usa como marcador para diagnosticar coagulopatías de consumo (especialmente coagulación intravascular diseminada). Es un marcador de daño endotelial por lo que se ha medido en SIRS, sepsis, sepsis grave y choque séptico, encontrándose niveles incrementados entre 80 y 250% en pacientes con choque séptico y sepsis grave. Sin embargo, se encontraron concentraciones significativamente más altas en pacientes con choque séptico comparado con pacientes con sepsis grave y estos últimos

pacientes tuvieron concentraciones más altas del dímero D comparado con el grupo de pacientes que sólo presentaba fiebre (asociada a neutropenia). (28)

Se ha demostrado que el incremento de factor VII, antitrombina III y fragmentos 1 y 2 de protrombina induce la aparición del estado de hipercoagulabilidad aun antes de la aparición de parámetros clínicos de sepsis severa o choque séptico. (29)

El **TNF- α** es uno de los principales mediadores del estado séptico: está bien demostrada su elevación en sepsis y choque séptico (17,20,30). Genera anomalías difusas de la coagulación en el sistema vascular. Concomitantemente con la actividad procoagulante del **TNF- α** se ha encontrado que suprime la actividad de la vía de la proteína C anticoagulante por dos vías: inhibe la activación de la proteína C mediada por trombina e inhibe la activación funcional del complejo proteína C- proteína S en la superficie celular, esto asociado a los "leucocitos pro coagulantes" puede ser un importante mecanismo fisiopatológico del estado trombotico asociado a sepsis. (12,30).

El Factor Activador de Plaquetas (PAF) es un fosfolípido que activa mecanismos intracelulares claves de la inmunidad innata y del sistema de homeostasia en neutrófilos, monocitos y plaquetas. Es el componente principal de un sistema que transmite señales yuxtácrinas y parácrinas entre algunas células. El PAF es un punto de convergencia donde los estímulos patológicos pueden desencadenar y amplificar las cascadas inflamatoria y trombotica. Esto es de particular importancia en sepsis, choque y lesiones tisulares. Las funciones del PAF incluyen la activación y agregación plaquetaria, la activación de **ELAM 1**, que induce la adhesión entre polimorfonucleares (PMN) y células endoteliales, además de acumularse en el coágulo de fibrina y plaquetas. La activación de los PMN vía PAF induce a las integrinas β 2 (CD 11/CD18) con la consecuente adhesividad, agregación, polarización, quimiotaxis, degranulación y generación de radicales libres de oxígeno, lo que genera una importante amplificación de la respuesta inmune. El PAF estimula a los monocitos para producir proteína quimiotáctica de los monocitos-1, IL 8 y **TNF- α** .

La infusión de PAF en animales de experimentación causa plaquetopenia, neutropenia, hipotensión, anafilaxia, clínica similar a choque séptico, erosiones de la mucosa gástrica, necrosis de la mucosa intestinal e isquemia cerebral. Se han demostrado concentraciones plasmáticas incrementadas de PAF en pacientes con sepsis, mas aún, su actividad de

acetilhidroxilasa se reporta baja en pacientes críticamente enfermos y esta disminución se correlaciona con falla orgánica múltiple y mortalidad. (31)

V. Conclusiones

Se ha demostrado la elevación de diversos factores en complicaciones de neutropenia, con valor diagnóstico, pronóstico e incluso terapéutico.

La presente revisión nos lleva a las siguientes conclusiones:

- El endotelio “activado” desempeña un papel fundamental en la fisiopatología de la inflamación. Los factores que activan el endotelio son: TNF- α , IL 1 α y β , IL 4, IL 6 e IL 8. La IL 1, IL6, IL 8 y el TNF- α se han asociado a choque séptico y falla orgánica múltiple, sus concentraciones tienen valor pronóstico en pacientes neutropénicos. La IL 2 se ha asociado con el “síndrome de fuga capilar”.
- El endotelio activado secreta selectina E, ELAM 1, VCAM 1, ICAM 1, marcadores cuantitativos de inflamación que si bien no son específicos para causas infecciosas son sensibles para predecir la aparición de complicaciones (SIRS, choque séptico, MODS y muerte).
- La trombosmodulina y el factor de von Willebrand se elevan en sepsis y choque séptico, mostrando pronóstico desfavorable.
- La proteína C anticoagulante y la anti-trombina bajan en sepsis y choque séptico y el grado de disminución sugiere el pronóstico.
- La pro-calcitonina se eleva en pacientes con SIRS, sepsis y choque séptico, incluso puede ser más específica que la IL 6.
- La IL 10 es una citocina con propiedades “anti-inflamatorias” y el incremento en el índice IL 6/IL 10 es de mal pronóstico.
- El G-CSF se incrementa dramáticamente en inflamación, incluso en pacientes neutropénicos promoviendo la recuperación del huésped.
- La proteína C reactiva (PCR) se usa como herramienta diagnóstica y marcador de severidad en infecciones bacterianas y fúngicas.
- El dímero D es un marcador de daño endotelial con valor pronóstico en sepsis.
- El factor activador de plaquetas (PAF) es un punto de convergencia entre la cascada inflamatoria y trombótica, se han demostrado concentraciones elevadas de PAF en pacientes con sepsis, choque séptico y MODS. La infusión de PAF en animales de

experimentación produce, entre otras cosas, necrosis de la mucosa intestinal. Su medición podría resultar de particular importancia en pacientes con enterocolitis neutropénica.

Esto nos lleva a sugerir la medición de los factores mencionados anteriormente, especialmente de IL1, IL 6, IL8, IL 10, procalcitonina, G-CSF, PCR y PAF en pacientes con enterocolitis neutropénica.

VI. Referencias

1. Chanock S, Pizzo P, **"Infectious Disease Emergencies: Fever in the Neutropenic Host"**, *Infect Dis Clin North Am*, 1996; 10, 4: 762-78.
2. Pizzo P, **"Management of fever in patients with cancer and treatment induced neutropenia"**, *N Engl J Med*. 1993; 328: 1323-35.
3. Cebon J, Layton JE, Maher D, Morstyn G, et al, **Endogenous haemopoietic growth factors in neutropenia and infection**. *B J Haematol*, 1194; 86: 265-73.
4. Damas P, Canivet J, De Groote D, et. al, **"Sepsis and serum cytokine concentrations"**, *Crit Care Med*, 1997; 25 , 3: 405-412.
5. Abraham E, Matthay M, Dinarello C. y cols. **"Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: time for a reevaluation"**, 2000; 28,1: 232-37.
6. Abbas A, Lichtman A, Pober J, **"Inmunología Celular y Molecular"**, Interamericana. 1995; 4, 10, 268-91, 308-10, 329-32.
7. Fleisher T, Blesing J, **"Primary Immune deficiencies: presentation, diagnosis and management. Immune function"**. *Ped Clin North Am*, 2000; 47,6: 295-306.
8. Reinhart K, **"Markers of endotelial damage in organ dysfunction and sepsis"**, *Crit Care Med*. 2002; 30, 5 Suppl: 302-12.
9. Hack C, Zeerlerder S, **"The endothelium in sepsis: source of and a target of inflammation"**, *Crit Care Med*, 2001; 29, 7: 294-310.
10. Marshall J. **"Inflammation, coagulopathy, and the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome"**, *Crit Care Med*, 2000; 29, 7: 1323-36.
11. Kayak S, **"Elevated circulating E selectin, intercellular adhesion molecule 1, and von Willebrand factor in patients with severe infection"**, *American Journal of Respiratory and Crit Care Med*, 1998; 157, 3: 776-84
12. Mesters R, Helterbrand J, Utterback B, et. al, **"Pronostic values of protein C concentrations in neutropenic patients at high risk of severe septic complications"**, *Crit Care Med*, 2000; 28, 7: 2209-16.
13. Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, **"Diagnostic value of procalcitonin , interleukin 6, and interleukin 8 in critically ill patients admitted**

- with suspected sepsis”, *American Journal of Respiratory and Crit Care Med*, 2001; 164, 3: 396-402.
14. Boucher BA, “Procalcitonin: Clinical tool or laboratory curiosity?”, *Crit Care Med*, Abril 2000; 28, 4: 1224-32.
15. Lehmbecher Th, Venzon D, De Haas M, Chanock S, “Assesment of Measuring Circulating levels of interleukin 6, Interleukin 8, C reactive protein, Soluble FC gamma receptor type III, and Mannose Binding protein in febrile children with cancer and neutropenia”, *Clin Infect Dis*, 1999, 29: 414-419.
16. Taniguchi T, Koido Y, Jyunichi A et. al, “Change in the ratio of interleukin 6 to interleukin 10 predicts a poor outcome in patients with systemic inflammatory response síndrome”, *Crit Care Med*, 1999; 27, 7: 1262-65.
17. Borreli E, Roux P, Grau G, et. al, “Plasma concentrations of cytokines, their soluble receptors and antioxidant vitamins can predict the development of multiple organ failure in patients at high risk”, *Crit Care Med*, Marzo 1996; 24, 3: 227-42.
18. Rintala E, “Endotoxin, interleukin 6 and phospholipase A2 as markers of sepsis in patients with hematological malignancies”, *Scand J Infect Dis*, 1995; 27, 1: 39-43.
19. Friedland J, Daryanani J, Bland J, et. al. “Plasma proinflammatory cytokine concentrations, Acute Physiology and Crhonic Health Evaluation (APACHE) III scores and survival in patients in an intensive care unit”, *Crit Care Med*, 1996; 24, 11: 1775-82.
20. Barriere S, Lowry S, “An overview of mortality risk prediction in sepsis”, *Crit Care Med* , 1995; 23, 2: 376-95.
21. Dinarello Ch, “Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the patogénesis of Septic Shock”, *Chest*, 1997; 112, 6: 329-332.
22. Presneill J, Waring P, Layton J, et. al, “Plasma Granulocyte colony-stimulating factor levels in critical illness including sepsis and septic shock: Relation to disease severity, multiple organ dysfunction and mortality”, *Crit Care Med*, 2000; 28, 7: 587-96.

23. Nelson S, Bagby G, "Granulocyte Colony-Stimulating factor and modulation of inflammatory cells in sepsis", *Clin Chest Med*, 1996; 17, 2: 319-32.
24. Whalen D. "Contrarregulatory control of the acute inflammatory response: Granulocyte colony-stimulating factor has antiinflammatory properties", *Crit Care Med*, Mayo 1999; 27, 5: 1999, 1019-21.
25. Kim S, Demetri G, et al, "Haematologic Complications of Cancer, Chemotherapy and Neutropenia", *Haematol/oncol Clin North Am*, Abril 1996; 10, 2: 377-95.
26. Gross-Weege W, Dumon K, Dahmen A, "Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) serum levels in surgical intensive care patients", *Infection* 1997; 25: 213-16.
27. Dhainaut J. "Hepatic response to sepsis: interaction between coagulation and inflammatory processes", *Crit Care Med*, Julio 2001; 29, 7; 1632-47.
28. Shorr A, Thomas S, Alkins S, et al. "D-dimer correlates with proinflammatory cytokine levels and outcome in Critically Ill Patients", *Chest*, 2002; 121,4: 1024-1036.
29. Mesters RM, Manucci PM, Coppola R, et al, "Factor VIIa and antitrombin III activity during severe sepsis and septic shock in neutropenic patients", *Blood* 1996; 88: 881-886.
30. Nawroth P, Stern D, "Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor", *J Exp Med*, 1986; 163, 3: 740-45.
31. Zimmerman G, McIntyre T, Prescott S, "The platelet-activating factor signaling system and its regulators in syndromes of inflammation and thrombosis". *Crit Care Med*, 2000; 30, 5: 758-72.