

Sepsis – Aspectos moleculares

Barrios, Lilian *; Poletti, Oscar Héctor **; Acosta, Abel Hipólito ***; Bluvstein, Samuel ****.

RESUMEN

Estudios realizados en la pasada década han conducido a un importante progreso en la comprensión de los mecanismos de defensa sistémica del huésped y la fisiopatología de los cuadros infecciosos en sus estadios de gravedad creciente: infección, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), sepsis, sepsis severa y shock séptico.

En esta revisión de la literatura se examinaron los aspectos moleculares de la invasión del huésped y los mediadores del proceso inflamatorio agudo local y se describen los aspectos moleculares del mecanismo de resolución exitosa de un proceso inflamatorio. También se detallan las posibles causas a las que se atribuye el progreso de un proceso inflamatorio con respuestas sistémicas que, aún con cuidados que comprenden la internación del paciente en unidades de cuidados intensivos con apoyo de profesionales altamente capacitados, equipamientos de alta tecnología y la aplicación de los fármacos disponibles, termina con la muerte de 34 a 45 % de pacientes con sepsis severa ó shock séptico.

Por último, se detallan terapias adyuvantes derivadas de la comprensión a nivel molecular de los mecanismos patogénicos del cuadro séptico tales como anti factor de necrosis tumoral y proteína C activada, entre otros.

Palabras clave: sepsis: fisiopatogenia – inflamación - citoquinas - Shock séptico-

INTRODUCCIÓN

La sepsis es un síndrome que resulta de la respuesta inflamatoria sistémica de pacientes con infecciones severas. Según la Asociación Médica Argentina este cuadro constituye una de las tantas paradojas que se suscitan actualmente en el campo de la salud ya que no solo sigue teniendo una incidencia y una mortalidad tan elevadas como hace décadas si no que la misma está en aumento. (1)

Cuando en estos pacientes se presenta hipotensión con necesidad del uso de inotrópicos y falla multiorgánica estamos en presencia de un cuadro de shock séptico, entidad que es la causa más común de mortalidad en las unidades de cuidados intensivos. (2)

La septicemia (sepsis con bacteriemia) ha sido causa de mortalidad de 23,3/0000 personas en el año 1998 y de 25,0/0000 en el año 2002, según cifras del INDEC en Argentina (3).

El impacto médico, económico y social de la sepsis es enorme, no sólo por ejercer una intensa demanda sobre el cuerpo profesional hospitalario (equipos médicos intensivistas y las demás especialidades vinculadas directamente a su atención como infectólogos, nefrólogos, hematólogos etc.), sino también por la alta demanda de equipamiento e instalaciones para tratar este tipo de pacientes, produciendo una significativa carga en los recursos de salud, llegando a un 40% del gasto total de las Unidades de Cuidados Intensivos (4).

ETIOLOGÍA

Las infecciones bacterianas son la causa más frecuente de sepsis (5), particularmente las bacterias gram negativas y gram positivas, aunque los virus y hongos también pueden causar este cuadro. Por otro lado, cultivos sanguíneos negativos pueden presentarse en pacientes con un presunto cuadro infeccioso y en serias condiciones inflamatorias no causadas por infección (6).

* Profesora Titular de Fisiología Humana
** Profesor Adjunto de Fisiología Humana
*** Profesor Adjunto de Fisiología Humana
**** Profesor Titular de Pediatría

Cátedra N° 1 de Fisiología Humana – Carrera de Medicina
Facultad de Medicina de la Universidad Nacional del Nordeste
Correspondencia a: Lilian Barrios- lbarrios@med.unne.edu.ar

SECUENCIA DE EVENTOS EN LA SEPSIS

Los síndromes de respuesta orgánica a la infección han sido clasificados en una secuencia de cuadros de gravedad creciente. Dicha clasificación incluye a la infección, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), la sepsis, la sepsis severa y el shock séptico - Fig. 1. (7)

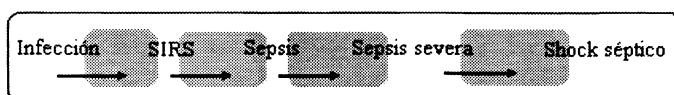


Fig. 1. Espectro de cuadros inflamatorios con severidad en incremento.

INFECCIÓN

El proceso comienza con la proliferación de microorganismos patógenos o potencialmente patógenos en un sitio normalmente estéril. Los mismos pueden ser bacterias gram positivas y hongos o bacterias gram negativas conteniendo endotoxinas. El proceso se inicia con la interacción entre moléculas de la pared de los microorganismos llamadas adhesinas que se enlazan específicamente a moléculas de la célula o tejido del huésped denominadas receptor (8). Las adhesinas determinan el tropismo tisular del patógeno. Receptores y adhesinas varían dependiendo de la cepa bacteriana y el tejido huésped. (Tabla 1).

Luego de la adhesión bacteriana, el proceso de invasión del huésped puede ser ayudado por la producción por parte de los microorganismos, de proteínas con actividad enzimática denominadas invasinas. Estas moléculas le permiten a las bacterias evadir la respuesta inmune humoral y así, poder proliferar (Tabla 2). (9)

Tabla 2: Algunas proteínas bacterianas que son consideradas invasinas.

Bacteria	Invasina	Actividad de la invasina
Staphylococcus aureus	Coagulasa	Convierte fibrinógeno en fibrina
Staphylococcus aureus	Leucocidina	Altera la membrana del neutrófilo y produce descarga de lisosomas
Streptococcus sp.	Hemolisinas	Lecitinasas y fosfolipasas que lisan eritrocitos
Streptococcus sp.	Hialuronidasas	Degrada ácido hialurónico del tejido conectivo
Clostridium sp.	Colagenasa	Disuelve el colágeno de las masas musculares

La invasión de tejidos por microorganismos genera en el huésped un proceso inflamatorio agudo consistente en una cascada de mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios dependiendo el resultado final de la virulencia del microorganismo y el grado de resistencia o susceptibilidad del huésped (10). El proceso inflamatorio puede permanecer limitado a la zona cercana a la injuria (respuesta local) o comprometer a todo el organismo (respuesta sistémica).

MEDIADORES DEL PROCESO INFLAMATORIO AGUDO LOCAL

El proceso inflamatorio es una reacción de protección tisular que se produce en casos de irritación, injuria o infección. Es preciso destacar que este proceso se desencadena no solo en casos de ingreso de agentes patógenos al organismo sino también en casos de traumas múltiples, injuria por isquemia - reperfusión y estados como la pancreatitis, entre otros.

Tabla 1. Ejemplos de adhesinas bacterianas y receptores en distintas células huésped o tejidos.

Bacteria	Adhesina	Receptor	Tejido huésped	Enfermedad
Streptococcus pneumoniae	Proteína enlazada a la célula	N-acetilhexosamina-galactosa	Epitelio mucoso	Neumonía
Neisseria gonorrhoeae	N-metilfenilalanina de la fimbria	Glucosamina-galactosa	Epitelio uretral o cervical	Gonorrrea
E.Coli enteropatógeno	Tipo 1 de fimbria	Carbohidratos específicos	Epitelio intestinal	Diarrea
E.Coli uropatógeno	Tipo 1 de fimbria	Carbohidratos complejos	Epitelio uretral	Uretritis
E.Coli uropatógeno	Fimbria P	Globobiosa enlazada a ceramida	Tracto urinario superior	Pielonefritis
Bordetella pertussis	Fimbria	Galactosa sobre un glucolípido sulfatado	Epitelio respiratorio	Coqueluche
Vibrio cholerae	N-metilfenilalanina de la fimbria	Fucosa y manosa	Epitelio intestinal	Cólera
Micoplasma	Proteína de membrana	Acido siálico	Epitelio respiratorio	Neumonía

Si tomamos como ejemplo el caso de una injuria por trauma tisular de mediana intensidad, el tejido dañado emite varios tipos de respuesta. Una de estas respuestas esta dada por las células rotas del tejido dañado que liberan proteínas estimuladoras de la producción de citoquinas. Entre estas proteínas podemos mencionar a la proteína de stress por calor (o heat-shock protein), cuya presencia se incrementa cuando la célula es expuesta a altas temperaturas, y péptidos mitocondriales portando grupos N- formilos.

Esta proteína a su vez, estimula la liberación de citoquinas, fundamentalmente interleuquina 1 (IL1), interleuquina 6 (IL 6) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) producidas principalmente por macrófagos.

Otra respuesta es el reconocimiento de productos constituyentes o secretados por las bacterias por medio de receptores tales como el Toll- like receptor de mastocitos, macrófagos y neutrófilos (11). Este tipo de receptor reconoce moléculas de los agentes patógenos que usualmente son necesarias para la sobrevivencia de los mismos en el organismo. Entre esas moléculas (que no están presentes en células eucariotas) se pueden mencionar a los lipopolisacáridos, peptidoglicanos y manosa, entre otras.

MECANISMOS DE DEFENSA ESPECÍFICOS E INESPECÍFICOS

Una vez iniciada la respuesta inflamatoria aguda, se ponen en juego los sistemas de defensa específicos e inespecíficos del organismo. Se activa el complemento y se genera C3b, C4a y C5a. Estos componentes activos del complemento degranulan los mastocitos circundantes y se libera en el medio histamina que produce vasodilatación (responsable del calor y enrojecimiento de la zona) y aumento de la permeabilidad vascular (responsable del edema). Las citoquinas IL1 y TNF α secretadas por monocitos, macrófagos, células T y NK estimulan a las células endoteliales de los capilares a expresar moléculas de adhesión celular tales como la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y la E-selectina (12). A su vez, los neutrófilos expresan L selectina e integrinas. Por interacción entre estas moléculas de adhesión el neutrófilo primero se desliza sobre el endotelio (rolling), luego se adhiere firmemente a la superficie de la célula endotelial y finalmente migra a través de la unión entre células endoteliales para acudir a la zona donde están los agentes patógenos.

El proceso de migración es estimulado por moléculas quimioatrativas tales como componentes del complemento, prostaglandinas, leucotrienos y otros mediadores inflamatorios que reciben el nombre genérico de quimioquinas (por su efecto de quimioatracción) (13).

Células ya estacionadas en los tejidos, tales como mastocitos y macrófagos también responden rápidamente a las señales que se disparan cuando hay un trauma tisular que

involucra un proceso inflamatorio. Estas células, activadas por las moléculas quimioatrativas, liberan histamina, eicosanoides, TNF, proteasa y quimioquinas. (14)

Los macrófagos y neutrófilos que han acudido a los tejidos, activados por las sustancias quimioatrativas, producen su respuesta bactericida mediante una vía dependiente del oxígeno y otra vía independiente de esta molécula.

En la vía dependiente de oxígeno estas células forman peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilos (altamente tóxicos) y en el caso del neutrófilo que contiene mieloperoxidasa, forma adicionalmente ácido hipocloroso. También en esta vía, por medio de la sintetasa de óxido nítrico (NO) inducible, se forma NO que se convierte en los aniones tóxicos peroxinitritos los cuales pueden últimamente generar también radicales hidroxilos (10).

En las células fagocíticas, especialmente los macrófagos cuando son activados (después de su contacto con bacterias, lipopolisacáridos o TNF, entre otros) se activa también el Factor nuclear κ B (NF- κ B) (15). Este factor, es un complejo heterodimérico que en condiciones normales permanece en el citoplasma celular y es inhibido de pasar al núcleo celular por su enlace con el inhibidor de NF- κ B, el I κ B. Cuando el macrófago se activa, el inhibidor I κ B es fosforilado y en ese estado libera al NF- κ B que se transloca al núcleo celular. Allí, el NF- κ B se enlaza a sitios promotores del DNA y causa estimulación de la transcripción de mediadores proinflamatorios tales como TNF α , e IL-1. (Fig. 2)

El TNF y las quimioquinas, combinadas con prostaglandina E2 (PGE2) derivada de los mastocitos y defensinas derivadas de los neutrófilos involucrados en el proceso inflamatorio reclutan linfocitos que agregarán las respuestas inmunitarias al proceso inflamatorio en marcha.

RESOLUCIÓN DEL PROCESO INFLAMATORIO

La infección se resuelve exitosamente cuando se produce una apropiada respuesta del huésped con reclutamiento de leucocitos fagocitos, activación de macrófagos y producción de mediadores que llevan a la regeneración celular

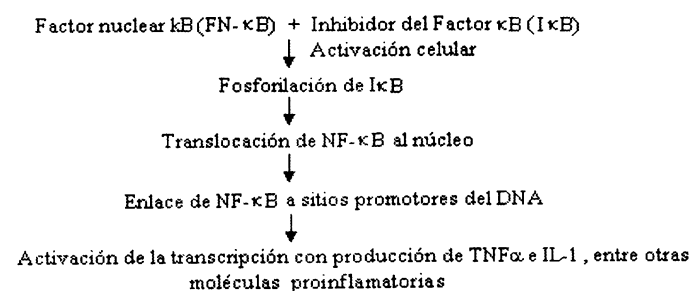


Fig. 2 . Esquema de la vía de activación del Factor nuclear κ B (NF- κ B).

y cicatrización de heridas. Se han detectado mediadores endógenos que controlan la inflamación y producen la resolución organizada del proceso inflamatorio. Entre ellos podemos mencionar a las lipoxinas (LXs), las lipoxinas formadas por estimulación por aspirina (ATLs) y las resolvinas. Todas estas moléculas son de naturaleza lipídica y sus acciones biológicas han generado la denominación de: “mediadores lipídicos protectores” para designar a las moléculas que sirven de base para su síntesis, fundamentalmente los ácidos araquidónico y eicosapentaenoico (EPA).

El mecanismo de biosíntesis es un proceso complejo ya que moléculas proinflamatorias como PGE2 y PGD2 estimulan a monocitos y neutrófilos a producir una 15 lipooxigenasa (LO) primero y luego a una 5 LO para usar el ácido araquidónico de la membrana celular para sintetizar lipoxina A4 (LXA4). Adicionalmente una 5 LO leucocitaria junto a una 12-LO sintetizan LXB4 a partir del mismo precursor (16) (Fig. 3).

En condiciones experimentales estos mediadores antiinflamatorios han mostrado inhibir tanto la producción de citoquinas proinflamatorias (TNF α , IL1, etc), como la infiltración de neutrófilos y el aumento de permeabilidad vascular, entre otros (Tabla 3). (17).

La acción de las resolvinas, por otro lado, coadyuva al efecto antiinflamatorio de las lipoxinas

Inhibiendo la activación y migración de leucocitos fagocitos y el factor nuclear kB. (18)

Otras citoquinas que han demostrado acción antiinflamatoria son IL-10; IL-13; IL-4; IL-6 e IL-12 (en general, todas ellas disminuyen el nivel de TNF α). (19).

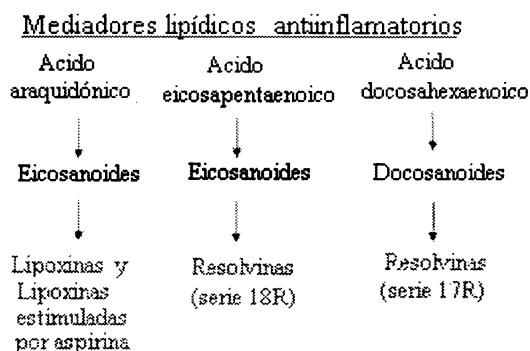


Fig. 3. Espectro de mediadores lipídicos endógenos con acción antiinflamatoria.

PROGRESO DEL PROCESO INFLAMATORIO

Sin embargo, el organismo puede no resolver el proceso inflamatorio debido a que responde a la invasión microbiana con la generación de una respuesta caracterizada por la producción no regulada de los

Tabla 3: Acciones de lipoxinas y lipoxinas sintetizadas por acción de aspirina, para estimular la resolución de un proceso inflamatorio.

Célula	Efecto
Neutrófilo	Inhibición de quimiotaxis, migración, degranulación
Macrófago	Fagocitosis, no inflamatoria, de neutrófilos apoptóticos
Eosinófilos	Inhibición de quimiotaxis y movilización inducida por alérgenos
Células dendríticas	Inhibición de la producción de IL1 e IL2 y de la migración

mediadores proinflamatorios (20). Esta respuesta, más que el efecto directo de los microorganismos invasores, lleva a cuadros de gravedad incrementada que involucran respuestas sistémicas.

La etapas de gravedad incrementada de respuesta sistémica a la inflamación son secuencialmente: el síndrome de respuesta inflamatoria sistémico (SIRS); la sepsis, la sepsis severa y el shock séptico (21).

Se describe con el nombre de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS).

la respuesta clínica a un proceso inflamatorio no específico que incluye dos o más de los siguientes signos: 1) temperatura > 38°C o menor de 36°C; 2) frecuencia cardíaca > 90 por minuto; 3) frecuencia respiratoria > 20 x minuto o PCO2 < 32 mmHg y 4) conteo de leucocitos > 12000 x uL ó < 4000 x uL ó 10 % o más de formas inmaduras de neutrófilos (22).

Cuando estos síntomas se presentan en un proceso infeccioso documentado el cuadro se define como sepsis. En este último cuadro se suman, a los signos arriba señalados, alteraciones en la función/perfusión de algunos órganos y se puede agregar al menos 1 de las siguientes manifestaciones: 1) alteraciones del estado mental; 2) hipoxemia (PaO2 < 72 mmHg) no producida por enfermedad pulmonar; 3) lactacidemia elevada; 4) oliguria (23).

Si la sepsis se acompaña de hipotensión o manifestaciones de hipoperfusión sistémica (con la consiguiente falla orgánica) el cuadro recibe la denominación de sepsis severa (24).

El cuadro mas grave de respuesta inflamatoria sistémica se corresponde a un grupo de pacientes con sepsis severa que desarrolla hipotensión aún con un adecuado aporte de fluidos. Esta hipotensión está asociada con graves anomalías de hipoperfusión tisular con falla multi-orgánica, que incluyen pero no están limitados a acidosis láctica, oliguria y aguda alteración del estado mental y resulta en una alta tasa de mortalidad (~ 40 a 50 %). Este cuadro recibe el nombre de shock séptico (25).

MEDIADORES DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA

Se adjudica a las citoquinas TNF α e IL-1 un rol central en la fisiopatología de la inflamación sistémica.

El TNF α aumenta en sangre circulante después de la infusión de endotoxina en humanos (26). Por otro lado, pacientes sépticos presentan niveles circulantes aumentados de IL-1 β (27). IL-1 y TNF, cuando están elevados, inducen enzimas que afectan la vasculatura y el microambiente tisular, vía mediadores tales como prostaglandinas, leucotrienos y óxido nítrico.

IL-1 y TNF a través de su efecto de aumento de expresión de los genes de fosfolipasa A2 y ciclooxigenasa 2 (28), aumentan la síntesis de prostaglandinas, sobre todo PGE2, que produce síntomas tales como fiebre, dolor de cabeza, mialgias y artralgias. Estos síntomas se reducen o desaparecen cuando se administran inhibidores de ciclooxigenasa.

Por otro lado, IL-1 y TNF cuando aumentan por efecto de endotoxina, estimulan la transcripción y la translación de las formas inducibles de la NO sintetasa y aumento de liberación de NO de origen constitutivo (29). Se estima que en los cuadros de shock séptico experimental, la caída de la presión arterial media y la disminución de la resistencia vascular sistémica con la falla multiorgánica consiguiente, serían mediados por la inducción de la síntesis de NO en las células musculares lisas vasculares.

Adicionalmente, IL-1 y TNF actúan sobre el endotelio vascular produciendo su activación (30).

La activación del endotelio vascular transforma a esta estructura de una superficie no coagulante en una superficie procoagulante, produce la aparición en su superficie de moléculas de adhesión e incrementa la síntesis de mediadores proinflamatorios y sustancias vasoactivas.

En los enfermos sépticos las células endoteliales activadas por las citoquinas proinflamatorias comienzan a sintetizar Factor tisular, se pierde antitrombina III, hay muy bajos niveles de proteína C y en los vasos; vía la interacción del Factor tisular con el Factor VII, se activa la vía extrínseca de la coagulación (31). En la sepsis no solo se produce activación de la vía extrínseca de la coagulación con atenuación de la función anticoagulante, sino que también hay una fibrinólisis alterada llevando el balance hacia la formación de trombina y generación de fibrina. La naturaleza de este desbalance varía de un lecho vascular a otro por lo cual el compromiso de los órganos en el paciente séptico puede variar (32). Estas alteraciones contribuyen a generar hipoxia tisular y falla multiorgánica, causa última de muerte en el paciente séptico.

ASPECTOS TERAPÉUTICOS

El gran desarrollo en el conocimiento de la fisiopatología de la sepsis ha permitido algunas aproximaciones terapéuticas adyuvantes basadas en la actuación sobre las moléculas mediadoras del proceso inflamatorio (agregados a las determinadas por la sintomatología y datos de laboratorio: terapia antimicrobiana, moderadas dosis de corticoides, altas dosis de insulina, agentes vasoactivos, administración de eritrocitos, agentes inotrópicos, ventilación mecánica si correspondiere, entre otros) (33).

Detallamos a continuación terapias adyuvantes basadas en estos aspectos moleculares ya probadas en ensayos clínicos en pacientes.

A pesar de que hay múltiples evidencias de que el TNF α está fuertemente involucrado en la fisiopatología de la sepsis, el uso de inhibidores de esta molécula (adalimumab) solo ha demostrado una mejora de 3 a 6 % en la sobrevivencia de 2634 pacientes estudiados en el ensayo clínico MONARCS (34), resultado coincidente con otros ensayos clínicos.

Encarando otro aspecto de la fisiopatología y, dado que virtualmente todos los pacientes con sepsis presentan desórdenes de la coagulación se han estudiado terapias que apuntan a actuar sobre dicho mecanismo (32).

Ensayos clínicos usando inhibidores del mecanismo de la coagulación activado a partir del Factor tisular en pacientes sépticos no han mostrado tendencia a disminuir la mortalidad en el ensayo clínico OPTIMIST con 1955 pacientes (35) y sí, han presentado como efecto colateral el riesgo de hemorragias.

El uso de antitrombina III en múltiples ensayos clínicos no había mostrado significativo beneficio terapéutico (36), hasta un ensayo realizado en 2006 con altas dosis de esta droga (37) que mostró efectos beneficiosos en pacientes sépticos con moderado riesgo de muerte.

Por último, una droga mas promisorio, aunque costosa, es la Proteína C activada (drotrecogin alfa) que ha demostrado efecto beneficioso significativo en pacientes sépticos en múltiples ensayos clínicos, entre ellos el PROWESS realizado en 2001 (38), y el ENHANCE (39) realizado en 2005 que confirmó los hallazgos del año 2001.

BIBLIOGRAFIA

1. www.ama-med.org.ar/publicaciones_revistas3.asp?id=214
2. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med. 2001; 29:1303-10
3. <http://www.indec.gov.ar/>
4. Yu TD, Black E, Sands, KE et al. Severe sepsis: variation in resource and therapeutic modality use among academic centers. Crit Care. 2003; 7: R24-R34.

5. Cisneros-Herreros JM, Sanchez-Gonzalez M et al. Blood cultures in the emergency department. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005;23: 135-9.
6. Goris RJA. MODS/SIRS: Result of an overwhelming inflammatory response?. *World Journal of Surgery*, 1996; 20: 418 - 421
7. Bone RC, Balk RA, Cerra FB et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992; 101: 1644-1655.
8. Soto GE and Hultgren SJ. Bacterial adhesins: common themes and variations in architecture and assembly. *J Bacteriol* 1999; 181: 1059-1071
9. Hartmut HN, Wolf-Dieter S, Dir kW.. Adhesins and invasins of pathogenic bacteria: a structural view. *Microbes and Infection* 2004; 6: 101-12.
10. Ward P, Letsch AB. The acute inflammatory response and its regulation. *Arch Surg* 1999; 134: 666-669.
11. Underhill DM, Ozinsky A. Toll-like receptors: key mediators of microbe detection. *Curr Opin Immunol*. 2002; 14:103-10.
12. Albelda SM, Smith CW, Ward PA. Adhesion molecules and inflammatory injury. *The FASEB Journal* 1994; 8: 504-512.
13. Craig M and Adam F. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood* 2000; 95: 3032-3043
14. Nathan C. Point of control of inflammation. *Nature* 2002; 420: 846 - 852.
15. Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF-kappa B in the immune system. *Annu Rev Immunol*. 1994;12:141-79.
16. Serhan CN, Chiang N. Novel endogenous small molecules as the checkpoint controllers in inflammation and resolution. *Rheum Dis Clin N Am* 2004; 30: 69-95.
17. Levy BD, Clish CB, Schmidt B et al- Lipid mediators class switching during acute inflammation; signals in resolution . *Nat Immunol* 2001; 2: 612 - 619.
18. Roderick J. Flower RJ, Perretti M. Controlling inflammation : a fat chance? *JEM* 2005; 201, 671-674.
19. Mulligan MS, Warner RL, Foreback JL et al. Protective effects of IL-4, IL-10, IL-12, and IL-13 in IgG immune complex-induced lung injury: role of endogenous IL-12. *The Journal of Immunology*; 1997; 159: 3483-3489.
20. Ward PA, Letsch AB. The acute inflammatory response and its regulation. *Arch Surg* 1999; 134: 666-69.
21. Pittet D, Rangel-Frausto S, Li N, Tarara D et al. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, severe sepsis and septic shock: Incidence, morbidities and outcomes in surgical ICU patients. *Intensive Care Medicine* 1995; 21: 302 - 309.
22. Rangel - Frausto MS, Pittet M, Costigan T et al. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *JAMA* 1995; 273; 117-23
23. American College of Chest Physicians-Society of Critical Care Medicine. Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med*. 1992; 20: 864-875.
24. Wheeler AP, Gordon RB. Treating patients with severe sepsis. *N Eng J of Med* 1999; 340: 207-213.
25. Parrillo JE. Pathogenetic mechanism of septic shock. *N Eng J of Med* 1993; 328: 1471-1478.
26. van Deventer SJ, Buller HR, ten Cate JW et al. Experimental endotoxemia in humans: analysis of cytokine release and coagulation, fibrinolytic, and complement pathways . *Blood* 1990; 76 : 2520-2526
27. Cannon JG, Tompkins RG, Gelfand JA et al. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experimental endotoxin fever. *J Infect Dis* 1990 ;161:79-84.
28. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996; 87: 2095-2147.
29. Graier WF, Myers PR, Rubin LJ et al. Escherichia coli endotoxin inhibits agonist-mediated cytosolic Ca²⁺ mobilization and nitric oxide byosynthesis in cultured endothelial cells. *Cir Res* 1994; 75: 659-668.
30. Lopez-Bojorquez LN, Arechavaleta-Velasco F, Vellido-Ortega F et al . NF-kappaB translocation and endothelial cell activation is potentiated by macrophage-released signals co-secreted with TNF-alpha and IL-1beta. *Inflamm Res*. 2004 ;53:567-75.
31. HackEEC, Zeerleder S. The endothelium in sepsis: Source of and a target for inflammation. *Crit Care Med* 2001; 29: 21-27.
32. Aird WC. Vascular bed-specific hemostasis: Role of endothelium in sepsis pathogenesis. *Crit Care. Med* 2001; 29: 28-35.
33. Rivers EP, McIntyre L, Morro DC, Rivers KK. Early and innovative interventions for severe sepsis and septic shock: taking advantage of a window of opportunity. *CMAJ*. 2005 ;173 :1054-65.
34. MacArthur RD, Miller M, Albertson T et al. Adequacy of early empiric antibiotic treatment and survival in severe sepsis: experience from the MONARCS trial. *Clin Infect Dis*. 2004; 38: 284-8.
35. Abraham E, Reinhart K, Opal S et al; OPTIMIST Trial Study Group. Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003 ;290: 256-8.
36. Minneci PC; Deans KJ; Cu X et al. Antithrombotic therapies for sepsis: A need for more studies. *Crit Care Med* 2006; 34: 538-42
37. Wiedermann CJ, Hoffmann JN, Juers M et al. High-dose anti-thrombin III in the treatment of severe sepsis in patients with a high risk of death: Efficacy and safety . *Crit Care Med* 2006; 34: 285-92.
38. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF et al. 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.
39. Vincent JL, Bernard GR, Beale R et al. Drotrecogin alfa (activated) treatment in severe sepsis from the global open-label trial ENHANCE: further evidence for survival and safety and implications for early treatment. *Crit Care Med*. 2005 ; 33: 2266-77.