

Síndrome da resposta inflamatória sistêmica/sepse – revisão e estudo da terminologia e fisiopatologia

M. J. C. SALLES, S. R. S. SPROVIERI, R. BEDRIKOW, A. C. PEREIRA, S. L. CARDENUTO, P. R. C. AZEVEDO, T. M. SILVA, V. GOLIN

Trabalho realizado no Serviço de Emergência da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo – Departamento de Medicina da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, SP.

UNITERMOS. SIRS. Sepse. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica. Terminologia. Fisiopatologia. Citoquinas.

KEYWORDS. SIRS. Sepsis. Systemic inflammatory response syndrome. Terminology. Pathophysiology. Cytokines.

INTRODUÇÃO

O progresso da ciência médica, que avança no sentido do entendimento das doenças e suas consequências, nos tem levado à novas técnicas diagnósticas e terapêuticas e, assim nos obriga a reavaliações de conceitos e terminologias. Várias dessas terminologias deixaram de existir, não em decorrência de medidas terapêuticas ou preventivas, mas graças aos avanços da compreensão da fisiopatologia, de tal modo que suas denominações tornaram-se obsoletas¹.

Na antiga Grécia usava-se o termo *Pepse* para designar o processo de fermentação do vinho ou digestão da comida que indicava vida e boa saúde e o termo *Sepse* para descrever casos onde havia putrefação e estava associado com doença e morte². Sepse tornou-se então uma condição clínica resultante de infecção bacteriana e a septicemia a presença desses microrganismos na corrente sanguínea. Há 50 anos, pacientes com falência de múltiplos órgãos não podiam ser mantidos vivos. Aqueles com infecções graves morriam rapidamente, já que os antimicrobianos estavam apenas começando a ser usados³.

“Falência sistêmica seqüencial” foi descrita primeiramente por Tilney *et al*⁴ em 1973, abrangendo três pacientes que evoluíram para óbito por falência orgânica após ruptura de aneurisma aórtico. Baue em 1975 descreveu três pacientes com “falência orgânica sistêmica progressiva, múltipla, ou seqüencial”⁵. Na realidade essas diferentes terminologias caracterizam condições que tornaram-se cada vez mais frequentes em serviços de emergência e unidades de terapia intensiva (UTI). Inúmeros quadros clínicos denominados de “Sepse ou

Síndrome Séptica”⁶, “Falência de múltiplos órgãos”⁷, “Falência de múltiplos órgãos e sistemas”⁸ são responsáveis por aproximadamente 80% de todos os óbitos em UTI⁹. Essas denominações descrevem, na realidade, grupos altamente heterogêneos de doenças, com diferentes causas e prognósticos.

Nos últimos 10 anos, progressos em biologia celular e molecular mostraram que a agressão bacteriana ou de seus subprodutos (endotoxinas, LPS), não são os únicos responsáveis pela deterioração clínica dos pacientes em choque e que a resposta do hospedeiro desempenha papel importante nos diferentes tipos de agressões, quer infecciosas ou não, como pancreatite ou trauma. A identificação de mediadores e dos mecanismos envolvidos na produção das alterações fisiológicas, metabólicas e celulares¹⁰, o papel das células endoteliais, das moléculas de interação célula-endotélio, do endotélio do trato intestinal¹¹ são de grande interesse, porque estão envolvidos na perda da capacidade de homeostase do organismo. O presente estudo tem por objetivo apresentar a terminologia atualmente aceita e as principais características fisiopatológicas envolvidas na Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica e da Sepse.

Terminologia

Atualmente acredita-se que doenças resultantes de lesão endotelial difusa causadas por persistente estímulo inflamatório, são responsáveis pelo comprometimento de múltiplos órgãos e sistemas. Na sepse por bactérias gram-negativas, gram-positivas, vírus e fungos e, em doenças não infecciosas, como a pancreatite, o trauma, a reação à droga, nas doenças autoimunes, no choque hemorrágico, queimaduras extensas, entre outras, ocorrem estimulação inflamatória. Estudos clínicos e terapêuticos variados têm tentado diminuir a mortalidade dessas disfunções graves, porém com pouco sucesso e com conclusões discordantes¹²⁻²³.

Muitas questões são levantadas, entre elas:

estariamos tratando pacientes com as mesmas doenças? Os estudos clínicos usam os mesmos critérios para definir pacientes com sepse ou choque séptico? Os antimicrobianos estariam sendo utilizados em pacientes sem infecção como causa destas doenças?

Em 1991, em Chicago, a American College of Chest Physician e Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM) chefiadas pelo Dr. Roger Bone, realizaram conferência com objetivo de oferecer uma definição prática da resposta inflamatória à infecção, e melhorar nossa capacidade em reconhecer, o mais precoce possível, a doença e conseqüentemente intervir com a terapêutica precocemente. Além do mais, utilizar métodos de pontuação de gravidade ("scores") da doença, permitindo avaliação consistente e determinar o prognóstico dos pacientes com sepse, estabelecendo um guia para o uso de novas terapêuticas para sepse grave.

O termo *Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica* (SIRS) foi proposto para descrever a reação inflamatória desencadeada pelo organismo frente a qualquer agressão infecciosa ou não-infecciosa. *Infecção* é um fenômeno microbiano caracterizado por resposta inflamatória à presença de microrganismos ou à invasão dos tecidos normalmente estéreis. *Bacteremia* é a presença de bactérias viáveis no sangue. Sugeriu-se eliminar o termo septicemia pois, existem vários significados diferentes na literatura médica. *Sepse* é a resposta inflamatória sistêmica do organismo frente ao estímulo infeccioso, e inclui a presença de dois ou mais de alguns critérios clínicos para o diagnóstico, conforme citação da tabela 1. *Sepse grave* significa sepse associada à disfunção orgânica, hipotensão ou hipoperfusão. Perfusão anormal inclui acidose láctica, oligúria ou alteração aguda do estado mental. *Hipotensão induzida por sepse* é a presença de pressão arterial sistólica menor que 90 mmHg ou a redução de 40 mmHg ou mais da pressão arterial sistólica de base, na presença de hipotensão de causa infecciosa. *Choque séptico* é caracterizado por sepse com hipotensão arterial persistente, mesmo após adequada reposição volêmica, associado com a redução da perfusão, acidose láctica, oligúria e alteração do estado mental. Pacientes que estão recebendo drogas inotrópicas ou vasopressoras podem estar normotensos e com perfusão diminuída, o que não exclui este estado. *Síndrome de disfunção de múltiplos órgãos e sistemas* se refere à presença de função orgânica alterada em pacientes gravemente doentes na qual a homeostase não pode ser mantida sem intervenção. A terminologia "disfunção" caracteriza

o fenômeno no qual a função orgânica não é capaz de manter a homeostase.

A infecção é talvez a causa mais comum de SIRS²⁴, associado com a ação de citocinas derivada de macrófagos que agem em órgãos e sistemas com receptores específicos²⁵⁻²⁶. Em recente trabalho publicado sobre a história natural de SIRS²⁷, viu-se que em 3708 pacientes admitidos no estudo, 68% deles encontravam-se dentro dos critérios para SIRS. Desses 68%, 26% desenvolveram sepse, 18% desenvolveram sepse grave e 4% choque séptico. A taxa de mortalidade foi crescente na seguinte ordem: SIRS (7%), sepse (16%), sepse grave (20%) e choque séptico (46%).

Aspectos imunológicos - SIRS/SEPSE

SIRS e sepse ocorrem por estímulo excessivo de mediadores pró-inflamatórios ou da reação à resposta sistêmica inflamatória a uma variedade de estímulos infecciosos e não-infecciosos, como pancreatite, com liberação de enzimas proteolíticas, ativação do sistema cinina-caliceína, ativação da cascata fibrinolítica, entre outras. Goris sugere melhor entendimento da Sepse e da SIRS através da criação de modelos de resposta inflamatória e da prevenção e tratamento de todas as condições que favoreçam o desenvolvimento de SIRS²⁸. O entendimento dos principais eventos pró e anti-inflamatórios que induzem a danos teciduais é, sem dúvida, o primeiro passo na tentativa de melhorar o prognóstico dessas doenças e estabelecer a terapêutica adequada.

David Bamberger e Melissa Gurley demonstraram que uma alta porcentagem de pacientes com diagnóstico clínico de choque séptico não apresentavam na realidade, sinais clínicos e microbiológicos de infecção. Isto significa que muitos pacientes receberam antimicrobianos de largo espectro, por tempo prolongado, sem necessidade²⁹. As citocinas pró-inflamatórias desempenham papéis importantes no desenvolvimento de SIRS e da sepse, interferindo no prognóstico, evolução e intensidade do dano tecidual.

Em meados de 1970, descobriu-se o TNF (fator de necrose tumoral) como resultado de longas pesquisas sobre mecanismos que caracterizavam os efeitos autoimunes induzidos por endotoxinas³⁰⁻³¹. Entretanto, somente após a clonagem dos genes para o TNF em 1984-1985³²⁻³⁵ é que as investigações sobre seus efeitos tornaram-se mais claras. O envolvimento do TNF como mediador do choque endotóxico foi descrito inicialmente por Beutler *et al.* e Tracey *et al.*, demonstrando que a imunização passiva contra o TNF protegia ratos dos efeitos letais das endotoxinas, como hipotensão, taquicardia

e taquipnéia^{36,37}. Estudos em outros animais e em voluntários humanos, que receberam TNF, confirmaram seu potencial de induzir alterações metabólicas e disfunções parecidas com as observadas após endotoxemia^{38,39}.

Está claro atualmente que o TNF não é o único mediador inflamatório relacionado com SIRS e sepse. Outros fatores como as endotoxinas, interleucina-1 (IL-1), interleucina-2 (IL-2), fator de ativação plaquetária (PAF), óxido nítrico (NO), moléculas de adesão leucócito-endotélio (ELAM) e ativação do sistema de complemento também desenvolvem importante papel, como veremos a seguir.

A resposta inflamatória sistêmica pode ser desencadeada por fatores infecciosos e não infecciosos, porém os modelos mais utilizados para pesquisa são com lipopolissacáride (LPS), componente da membrana externa de bactérias gram negativas, que possui grande poder imunogênico. A endotoxina, LPS, liga-se a um número diferente de carreadores moleculares, sendo o mais importante destes a proteína ligadora de lipopolissacáride (LBP). O complexo LPS-LBP é então capaz de interagir com monócitos através dos receptores de superfície celular chamado CD14⁴⁰.

A interação com outros alvos do hospedeiro, como as células endoteliais que não expressam CD14 na sua superfície, é mediado por molécula de CD14 solúvel, que então liga-se ao complexo LPS-LBP e interage com outra molécula de superfície celular ainda não conhecida⁴¹. Toxinas bacterianas com grande capacidade antigênica (superantígenos), como a toxina da síndrome do choque tóxico estafilocócico (TSST-1) e a exotoxina pirogênica estreptocócica A (spe A), causam hipotensão e falência orgânica em modelos animais⁴². Essas proteínas ativam linfócitos T e estimulam sua proliferação via interação inespecífica com moléculas da classe II do complexo de histocompatibilidade maior das células apresentadoras de antígeno e via receptores variáveis de células T de cadeia b⁴¹.

A neutralização de LPS representa a primeira tentativa na terapia anti-mediadora da sepse. Entretanto a maioria dos ensaios clínicos falharam em demonstrar a diminuição da mortalidade após a aplicação de anticorpos anti-LPS em modelos com infecção por bactérias gram negativas⁴³⁻⁵⁰. As limitações atuais no diagnóstico precoce de infecções por bactérias gram negativas, associado aos limitados benefícios terapêuticos dos anticorpos monoclonais anti-LPS e do elevado custo, desencorajam sua aplicação clínica.

Citoquinas inflamatórias

Citoquinas inflamatórias são mediadores liberados

predominantemente pelos monócitos e linfócitos. Os monócitos ativados liberam citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-1. Os linfócitos T helper obtido a partir do clone TH-0 origina 2 fenotipos diferentes de citocinas: TH-1 e TH-2. O TH-1 é expresso pela produção de linfocinas: Interferon- γ , TNF- α , IL-2, IL-3 e IL-12. Este tipo de resposta é basicamente intracelular, agindo dentro dos macrófagos, exemplo do que acontece nas infecções virais. O TH-2 é estimulado pelos linfócitos B, responsáveis basicamente contra as infecções parasitárias. É expresso pela produção de IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10, sendo que a produção de IL-5 é traduzida pela eosinofilia, de IL-3 pela proliferação dos mastócitos e da IL-4 pela produção de imunoglobulina E. A doença classicamente descrita nestes casos é a sepse por leishmaniose⁴⁹.

A resposta TH-1, com liberação de TNF- α e IL-2, pode induzir lesões semelhantes ao do choque séptico em vários modelos animais e estudos clínicos em humanos^{50,51}. Pentoxifilina e amrinone atuam em níveis pré-tradução e são inibidores da fosfodiesterase que aumenta os níveis de AMPc intracelular. Essas duas drogas diminuem a produção celular de TNF- α ⁵¹⁻⁵³. O mesmo ocorre com os corticosteróides que bloqueiam a tradução do RNAm do TNF em macrófagos, reduzindo a secreção de TNF após a endotoxemia^{54,55}.

Sabe-se que o fator de necrose tumoral (TNF) estimula a liberação de outras citocinas, como a IL-1 e IL-6, Interferon- γ e IL-12. A interleucina-1 é formada por duas moléculas diferentes; IL-1 α e IL-1 β . Quando administrada em animais ou seres humanos, produz vários dos efeitos observados semelhante ao TNF exógeno, como febre, anorexia, sonolência e hipotensão⁵⁶⁻⁶². A IL-1 produz aumento na concentração de fatores estimuladores de colônia, de IL-6, aumento das proteínas de fase aguda hepática, reabsorção óssea, inibição da lipoproteína-lipase, indução de PGE2 e da síntese do colágeno⁶³.

Mediadores secundários e produtos finais que causam dano endotelial

As células endoteliais constituem uma barreira importante entre o sangue e o espaço extra celular. É fonte também de síntese e secreção de moléculas que desempenham importante papel fisiológico e que caem na corrente sanguínea, influenciando a integridade funcional e estrutural da circulação⁶⁴. Possuem várias funções biológicas, incluindo propriedades procoagulantes, antiplaquetária, anticoagulante, fibrinolítica e metabólica. Além disto, regulam o tônus vascular, mantendo o fluxo sanguíneo

e a resposta inflamatória e imunológica^{65,66}. As células endoteliais são também alvos para as reações imunes locais e sistêmicas do organismo; estão envolvidos na adesão dos neutrófilos e dos monócitos, na indução da síntese de moléculas de adesão leucócito-endotélio 1 (ELAM-1) e fator de ativação plaquetária (PAF), no aumento da síntese e secreção de prostaglandina I-2 (PGI₂), no fator estimulador de colônia, IL-1 e fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)⁶⁷⁻⁶⁹.

Uma das alterações mais importantes na SIRS, sepse e no choque séptico é a adesão de leucócitos nas células endoteliais. Esta interação é regulada por cargas elétricas e pela presença de receptores específicos da membrana das células envolvidas. A adesão leucocitária é estimulada pela ação das citocinas inflamatórias, especialmente IL-1 e TNF- α ⁷⁰. Quando as células endoteliais são expostas às citocinas ou acometidas por isquemia, expressam glicoproteínas chamadas moléculas de adesão leucócito-endotélio (ELAM), moléculas de adesão intracelular (ILAM) ou moléculas de adesão intracelular vascular, que são responsáveis pela ligação dos receptores nos leucócitos⁷¹⁻⁷².

Os polimorfonucleares (PMN) também expressam moléculas de adesão na membrana celular (β 2-integrina e L-selectina). Os neutrófilos circulantes de pacientes com SIRS possuem significativamente menor expressão de L-selectina do que os dos pacientes controles. O TNF- α pode atuar como mediador parácrino, causando diminuição da expressão de L-selectina nos neutrófilos⁷³.

Outros estudos sugerem que estímulos dirigidos as células endoteliais são mais importantes para produzir aumento da aderência e citotoxicidade das células endoteliais do que os estímulos de PMN com LPS⁷⁴. O resultado da expressão das moléculas de adesão endotelial, é o de aumentar a migração e manutenção da atividade celular no tecido lesado, levando por conseguinte à perda da capacidade homeostática do endotélio e passagem de líquido, células e proteínas para o espaço intersticial, formando o edema. Os mediadores e produtos liberados da atividade dos neutrófilos e das células endoteliais incluem os metabólitos do ácido aracdônico, radicais livres de oxigênio, óxido nítrico e fator de ativação plaquetária.

Metabólitos do ácido aracdônico

São produtos da via da lipoxigenase e ciclooxigenase. Possuem potente efeito vasoregulador, influenciam a redução da resistência vascular sistêmica e a hipotensão que ocorre no choque séptico.

Os lipopolissacárideos (LPS), fator de necrose

Tabela – Dois ou mais dos 4 critérios clínicos são necessários para o diagnóstico de sepse.

1. Temperatura corporal > 38o C ou < 36o C.
2. Freqüência respiratória >20 movimentos/min ou pCO₂<32 mmHg.
3. Freqüência cardíaca >90 batimentos/min.
4. Leucocitose > 12 000 células/mm³ ou < 4 000 células/mm³, ou mais que 10% de células imaturas na periferia.

tumoral (TNF) e interleucina-1(IL-1) induzem a liberação de PGI₂ das células endoteliais, que são potentes vasodilatadores.

Radicais livres de oxigênio

O metabolismo de oxigênio está comprometido na sepse. A reperfusão ou a reoxigenação causam aumento da produção de radicais livres e está associada à dano tecidual.

Óxido nítrico

O óxido nítrico (NO) está normalmente presente tanto no coração como na parede dos vasos, e apresenta papel fisiológico, sendo gerado pela enzima, denominada NO sintetase constitutiva. Após exposição à endotoxina lipopolissacáride ou TNF, em nível de células endoteliais e musculatura lisa da parede vascular, ocorre indução da isoforma cálcio-independente NO sintetase, denominada NO sintetase induzida. Esta indução leva a grande produção de NO, contribuindo assim para a vasodilatação e resistência à vasoconstritores característico do choque séptico⁷⁵. A endotoxina também induz síntese de NO no músculo liso venoso, além do miocárdio e endocárdio, contribuindo para a diminuição do retorno venoso e disfunção do miocárdio.

Em indivíduos com choque séptico, baixas doses de N^G-monometil-L-arginina (inibidor NO sintetase), associado à terapia básica, reverte a hipotensão⁷⁶⁻⁷⁹. Experiências em animais sugerem que a administração de arginina em altas doses leva a abolição completa da produção de NO pela inibição das NO sintetase induzida e constitutiva, gerando vasoconstrição intensa, lesão de órgão alvo e morte rápida⁸⁰⁻⁸⁴.

Portanto, a descoberta do óxido nítrico (NO) como mediador de hipotensão, LPS e TNF-induzida, foi considerada uma grande descoberta, que levaria a rápida solução para o problema da hipotensão na sepse. No entanto, o NO é considerado uma molécula com propriedades tanto protetoras como e deletérias. O NO sintase atua como mensageiro molecular e parece ser ativador

endógeno do GMPc, que é responsável por vasodilatação, inibição da agregação plaquetária e modulação da adesão dos leucócitos no endotélio.

Fator de ativação plaquetária

O fator de ativação plaquetária (PAF) é um potente mediador inflamatório fosfolipídico que aumenta a adesão celular e ativa as células endoteliais por efeito direto ou através da formação de radicais tóxicos de oxigênio ou metabólitos do ácido aracônico. É liberado pelos macrófagos, leucócitos PMN, plaquetas e células endoteliais. Existem indícios que o PAF esteja associado com os efeitos tóxicos do TNF- α e IL-1, ou seja, essas citocinas interagem com o PAF levando a um aumento da liberação de mediadores no choque séptico.

Anormalidades trombofibrinolíticas

Doenças trombohemorrágicas, geralmente produzindo CIVD, acontecem comumente após sepse ou trauma grave⁸⁷⁻⁸⁸. Esse processo reflete as múltiplas ações da trombina e a falência de mecanismos inibitórios naturais, como a antitrombina, proteína S, proteína C, que agravam o estado de hipercoagulabilidade ao permitirem a completa expressão da atividade da trombina⁸⁷. Além disso, inibidores plasmáticos da fibrinólise, como o inibidor do ativador do plasminogênio 1, contribuem para o início e gravidade deste processo. Baixos níveis de antitrombina III, proteína C e altos níveis de inibidor do ativador do plasminogênio 1, podem ser fatores agravantes durante sepse ou trauma⁸⁹.

Intestino: alvo importante no choque

A barreira imunológica intestinal inclui a ecologia da população bacteriana entérica, camada mucosa com produção local de IgA, barreira epitelial mecânica, tecido linfático intestinal e barreira endotelial capilar^{85,86}. Essas barreiras separam o lumen intestinal do meio interno para prevenir a invasão da circulação sistêmica por bactérias entéricas ou suas toxinas.

Nas fases mais precoces do choque, a hipoxemia e lesões de perfusão causam necrose dos enterócitos e danos endoteliais, permitindo a translocação bacteriana e de seus subprodutos, graças ao aumento da permeabilidade. É provável que durante esta fase o tecido linfático intestinal seja ativado, liberando mediadores como IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , histamina e lisosima.

CONCLUSÃO

Nesta revisão, objetivamos oferecer bases para

o entendimento das alterações celulares e bioquímicas que ocorrem em pacientes com Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica e Sepse, e talvez com isso, as novas propostas de tratamento sejam mais facilmente assimiladas. A compreensão dos mecanismos básicos, envolvidos na resposta inflamatória do hospedeiro, é necessária para que o clínico faça a escolha correta da terapêutica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nathens AB, Marshall, JC. Sepsis, SIRS, and MODS: What's in a Name?. *World J Surg* 1996; 20: 386-91.
2. Majno G. The ancient riddle of sepsis. *J Infect Dis*.1991;163: 937.
3. Bone RC. Immunologic Dissonance: A Continuing Evolution in Our Understanding of the Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) and the Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS). *Annals of Internal Medicine*. 1996;125(8): 680-87.
4. Tilney NL, Bailey GL, Morgan AP. Sequential system failure after rupture of AAA: an unsolved problem in postoperative care. *Ann Surg* 1973;178: 117-22.
5. Baue AE. Multiple, progressive or sequential systems failure: a syndrome of the 1970s. *Arch Surg*1975;110: 779-81.
6. Bone RC, Fisher CJ, Clemmer TP, et al. Sepsis syndrome: a valid clinical entity. *Crit Care Med* 1989;17: 389.
7. Eiseman B, Beart R, Norton L. Multiple organ failure. *Surg Gynecol Obst* 1977;144: 323.
8. Fry DE, Pearlstein L, Fulton RL, Polk HC. Multiple system organ failure: the role of uncontrolled infection. *Arch Surg* 1980;115(2): 136-40.
9. Ditch EA. Multiple organ failure: pathophysiology and potential future therapy. *Ann Surg* 1992;216: 117.
10. Darville T, Giroir B, Jacobs R. The Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS): Immunology and Potential Immunotherapy. *Infection* 1993; 21(5): 279-89.
11. Wang XD, Andersson R. The Role of Endothelial Cells in the Systemic Inflammatory Response Syndrome and Multiple System Organ Failure. *Eur J Surg* 1995;161: 703-13.
12. Dinarello CA, Gelfand JA, Wolff SM. Anticytokine Strategies in the Treatment of the Systemic Inflammatory Response Syndrome. *JAMA* 1993;269(14): 1829-35.
13. McCutchan JA, Wolff JL, Ziegler EJ, Braude AL. Ineffectiveness of singledose human antiserum to core glycolipid (E. coli J5) for prophylaxis of bacteria, gram-negative infection in patients with prolonged neutropenia. *Schweiz Med Wochenschr Suppl* 1983;14: 40-5.
14. Baumgartner JD, Glauser MP, McCutchan JA, Ziegler EJ, van Melle G, Klauber MR, et al. Prevention of gram-negative shock and death in surgical patients by antibody to endotoxin core glycolipid. *Lancet* 1985;2: 59-63.
15. JV Study Group. Treatment of severe infections purpura in children with human plasma from donors immunized with Escherichia coli J5: a prospective double-blind study. *J Infect Dis* 1992;165: 695-701.
16. Calandra T, Glauser MP, Schellekens J, Verhoef J. Treatment of gram-negative septic shock with human IgG antibody to Escherichia coli J5: a prospective, double-blind randomized trial. *J Infect Dis* 1988;158: 312-19.
17. The intravenous Immunoglobulin Collaborative Study Group. Prophylactic intravenous administration of standard immune globulin as compared with core-lipopolysaccharide immune globulin in patients at high risk of postsurgical infection. *N Engl J Med* 1992;327(4): 234-40.

18. Greenman RL, Schein RM, Martin MA, Wenzel RP, MacIntyre NR, Emmanuel G, *et al*. A controlled clinical trial of E5 murine monoclonal IgM antibody to endotoxin in the treatment of gram-negative sepsis. The XOMA Sepsis Study Group. *JAMA* 1991;266: 1.097-102.
19. Bone RC, Balk RA, Fein AM, Perl TM, Wenzel RP, Reines HD, *et al*. A second large controlled clinical study of E5, a monoclonal antibody to endotoxin: results of a prospective, multicenter, randomized, controlled trial. The E5 Sepsis Study Group. *Crit Care Med* 1996;23: 994-1006.
20. Ziegler EJ, Fisher CJ. Jr, Sprung CL, Straube RC, Sadoff JC, Foulk GE, *et al*. Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Chess Trial Study Group. *N Engl J Med* 1991;324: 429-36.
21. McCloskey RV, Straube RC, Sanders C, Smith SM, Smith CR. Treatment of septic shock with human monoclonal antibody HA-1A. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. CHES Trial Study Group. *Ann Intern Med* 1994;121: 1-5.
22. The Veterans Administration Systemic Sepsis Cooperative Study Group. Effect of high-dose glucocorticoid therapy on mortality in patients with clinical signs of systemic sepsis. *N Engl J Med* 1987;317: 659-65.
23. Bone RC, Fisher CJ Jr, Clemmer TP, Slotnick GJ, Metz CA, Balk RA. A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 1987;317: 653-58.
24. Bone CR, Balk RA, *et al*. The ACCP/SCCM consensus conference committee. Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest* 1992;101(6): 1644-55.
25. Parrillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med* 1992;328: 1471-77.
26. Nathan CF. Secretory macrophages. *J Clin Invest* 1987;79: 319-26.
27. Frausto MSR, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The Natural History of the Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS). *JAMA* 1995;273(2): 117-23.
28. Goris RJA. MODS/SIRS: Result of an Overwhelming Inflammatory Response? *World J Surg* 1996;20: 418-21.
29. Bamberger DM, Gurley MB. Microbial Etiology and Clinical Characteristics of Distributive Shock. *Clinical Infectious Diseases* 1994;18: 726-30.
30. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 1975;72: 3666-70.
31. Old LJ. Tumor necrosis factor. *Sci Am* 1988;258: 59-75.
32. Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS, Seeburg PH, Derynck R, Palladino MA, Kohr WJ, Aggarwal BB, Goeddel DV. Human tumor necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature* 1984;312: 724-29.
33. Wang AM, Creasey AA, Ladner MB, Lin LS, Strickler J, van Arsdell JN, Yamamoto R, Mark DF. Molecular cloning of the complementary DNA for human tumor necrosis factor. *Science* 1985;228: 149-54.
34. Fransen L, Müller R, Marmenout A, Tavernier J, Van der Heyden J, Kawashima E, Chollet A, Tizard R, Van Heuversweyn H, Van Vliet A, Ruyschaert MR, Fiers W. Molecular cloning of mouse tumor necrosis factor cDNA and its eukaryotic expression. *Nucleic Acids Res* 1985;13: 4417-29.
35. Marmenout A, Fransen L, Tavernier J, Van der Heyden J, Tizard R, Kawashima E, Shaw A, Johnson MJ, Semon D, Müller R, Ruyschaert MR, Van Vliet A, Fiers W. Molecular cloning and expression of human tumor necrosis factor and comparison with mouse tumor necrosis factor. *Eur J Biochem* 1985;152: 515-22.
36. Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan YC, Mathison J, Ulevitch R, Cerami A. Identity of tumor necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature* 1985;316: 552-54.
37. Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, Merryweather J, Wolpe S, Milsark IW, Hariri RJ, Fahey TJIII, Zentella A, Albert JD, Shires GT, Cerami A. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* 1986;234: 470-74.
38. Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factor: an updated review of its biology. *Crit Care Med* 1993;21: S415-S422.
39. Beutler B, Grau GE. Tumor necrosis factor in the pathogenesis of infectious diseases. *Crit Care Med* 1993;21: S423-S435.
40. Lynn WA, Golenbock D. Lipopolysaccharide antagonists. *Immunol. Today* 1992;13: 271-76.
41. Sriskandan S, Cohen J. The Pathogenesis of Septic Shock. *Journal of Infection* 1995;30: 201-6.
42. Kim YB, Watson DW. A purified group A streptococcal pyrogenic exotoxin. *J Exp Med* 1970;131: 611-28.
43. Ziegler EJ, McCutchan JA, Fierer J. Treatment of gram-negative bacteremia and shock with human antiserum to a mutant E. coli. *N Engl J Med* 1993;307: 1225-30.
44. J 5 Study group. Treatment of severe infectious purpura in children with human plasma from donors immunized with E. coli J5: a prospective double-blind study. *J Infect Dis* 1992; 165: 695-701.
45. Calandra T, Glauser MP, Schellekens J. Treatment of gram-negative septic shock with human IgG antibody to E.coli J5. *J Infect Dis* 1988;158: 312-19.
46. Baumgartner JD, Glauser MP, McCutchan JA. Prevention of gram-negative shock and death in surgical patients by an antibody to endotoxin core glycolipid. *Lancet* 1985;2(8446): 59-63.
47. McCutchan JA, Wolff JL, Ziegler EJ. Ineffectiveness of single-dose human antiserum to core glycolipid (E. coli J5) for prophylaxis of bacteremic, gram-negative infection in patients with prolonged neutropenia. *Schweiz Med Wochenschr* 1983; 113(14): 40.
48. Greenman RL, Schein RMH, Martin MA. A controlled clinical trial of E 5 murine monoclonal IgM antibody to endotoxin in the treatment of gram-negative sepsis. *JAMA* 1991;266: 1097-102.
49. Roitt IM. Different CD4 T-cell subsets can make different cytokines patterns. In Roitt IM eds. *The essential immunology*, 9th ed. London, 1997; 184-200.
50. Marks JD, Marks CB, Luce JM, *et al*. Plasma tumor necrosis factor in patients with septic shock. *Am Rev Respir Dis* 1990;141: 94-7.
51. Schade UF. Pentoxifylline increases survival in murine endotoxin shock and decreases formation of tumor necrosis factor. *Circ Shock* 1990;31: 171-81.
52. Giroir BP, Beutler B. Effect of amrinone on tumor necrosis factor production in endotoxin shock. *Circ. Shock* 1992;36: 200-7.
53. Beutler B, Krochin N, Milsark I W. Control of cachectin (tumor necrosis factor) synthesis: mechanisms of endotoxin resistance. *Science* 1986;232: 977-80.
54. Kass EH, Finland M. Corticosteroids and infections. *Adv Intern Med* 1958;16: 422-30.
55. Griesman EG. Experimental gram-negative bacterial sepsis: optimal methylprednisolone requirements for prevention of mortality not preventable by antibiotics alone. *Proc Exp Biol Med* 1982;170: 436-42.
56. Libert C, Brouckaert P, Shaw A, Fiers W. Induction of interleukin 6 by human and murine recombinant interleukin 1 in mice. *Eur J Immunol* 1990;20: 691-94.
57. Lowry SF, Moldawer LL, Calvano SE. Cytokine markers of

- the human response to sepsis. In: *Vincent J-L (ed) Yearbook of intensive care and emergency medicine*. Springer, Berlin Heidelberg New York 1994;14-23.
58. Trinchieri G. Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity. *Annu Rev Immunol* 1995;13: 251-76.
 59. Gately MK, Warriar RR, Honasong S, Carvajal DM, Faherty DA, Connaughton SE, Anderson TD, Sarmiento U, Hubbard BR, Murphy M. Administration of recombinant IL-12 to normal mice enhances cytolytic lymphocyte activity and induces production of IFN- γ in vivo. *Int Immunol* 1994;6: 157-67.
 60. Farrar M, Schreiber R. The molecular cell biology of interferon- γ and its receptor. *Annu Rev Immunol* 1993;11: 571-611.
 61. Keogh C, Fong Y, Seniuk S, He W, Barber A, Minei JP, Felson D, Lowry SF, Moldawer LL. Identification of a novel tumor necrosis factor alpha/cachectin from the livers of burned and infected rats. *Arch Surg* 1990;125: 79-85.
 62. Kriegler M, Perez C, DeFay K, Albert I, Lu SD. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell* 1988;53: 45-53.
 63. Fischer E, Marano MA, Barber AE, Hudson A, Lee K, Rock CS, Hawes AS, Thompson RC, Hayes TJ. Comparison between effects of interleukin-1 alpha administration and sublethal endotoxemia in primates. *Am J Physiol* 1991;261: R442-R452.
 64. Jaffe EA. Cell Biology of endothelial cells. *Hum Pathol* 1987;18: 234-39.
 65. Davies MG, Hagen PO. The vascular endothelium: A new horizon. *Ann Surg* 1993;218: 593-609.
 66. Fajardo LF. The complexity of endothelial cells. *Am J Clin Pathol* 1989;92: 241-50.
 67. Bevilacqua MP, Pober JS, Mendrick DL, Cotran RS, Gimbrone MA. Identification of an inducible endothelial-leukocyte adhesion molecule. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84: 9238-42.
 68. Cotran RS. New role for the endothelium in inflammation and immunity. *Am J Pathol* 1987;129: 407-13.
 69. McMillen MA, Huribal M, Sumpio B. Common pathway of endothelial-leukocyte interaction in shock, ischemia, and reperfusion. *Am J Surg* 1993;166: 557-62.
 70. Pober JS, Bevilacqua MP, Mendrick DL, Lapierre LA, Fiers W, Gimbrone MA. Two distinct monokines, interleukin-1 and tumor necrosis factor, each independently induce biosynthesis and transient expression of the same antigen on the surface of cultured human vascular endothelial cells. *J Immunol* 1986;136: 1680-87.
 71. Ricem GE, Munro JM, Corless C, Bevilacqua MP. Vascular and nonvascular expression of INCAM-110: a target for mononuclear leukocyte adhesion in normal and inflamed human tissue. *Am J Pathol* 1991;138: 385-93.
 72. Vedder NB, Winn RK, Rice CL, Chi EY, Arfors KE, Harlan JM. Inhibition of leukocyte adherence by anti CD 18 monoclonal antibody attenuates reperfusion injury in the rabbit ear. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87: 2643-46.
 73. Ahmed NA, Yee J, Giannias B, Kapadia B, Christou NV. Expression of Human Neutrophil L-Selectin During the Systemic Inflammatory Response Syndrome Is Partly Mediated by Tumor Necrosis Factor α . *Arch Surg* 1996;131: 31-5.
 74. Chen X, Christou NV. Relative Contribution of Endothelial Cell and Polymorphonuclear Neutrophil Activation in their Interactions in Systemic Inflammatory Response Syndrome. *Arch Surg* 1996;131: 1148-53.
 75. Kilbourn RG, Gross SS, Jubran A, Adams J, Griffith OW, Levi R, Lodato RF. N-methyl-L-arginine inhibits tumor necrosis factor-induced hypotension: implications for the involvement of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87: 3629-32.
 76. Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern Med* 1993;119: 771-78.
 77. Thiemermann C, Vane J. Inhibition of nitric oxide synthesis reduces the hypotension induced by bacterial lipopolysaccharides in the rat in vivo. *Eur J Pharmacol* 1990;182: 591-95.
 78. Petros A, Bennet D, Vallance P. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock. *Lancet* 1991;338: 1557-58.
 79. Geroulanos S, Schilling J, Cakmakci M, Jung HH, Largiader F. Inhibition of NO synthesis in septic shock. *Lancet* 1992; 339 (8790): 434-35.
 80. Cobb JP, Natanson C, Hoffman WD, Lodato RF, Banks S, Koev CA, Solomon MA, Elin RJ, Hosseini JM, Danner RL. N-aminol-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthetase, raises vascular resistance but increases mortality rates in awake canines challenged with endotoxin. *J Exp Med* 1992;176: 1175-82.
 81. Evans TJ, Carpenter A, Silva A, Cohen J. Inhibition of nitric oxide synthetase in experimental gram-negative sepsis. *J Infection Disease* 1994;169: 343-49.
 82. Wright C E, Rees DD, Moncada S. Protective and pathological roles of nitric oxide in endotoxin shock. *Cardiovasc Res* 1992;26: 48-57.
 83. Shultz PJ, Raj L. Endogenously synthesized nitric oxide prevents endotoxin-induced glomerular thrombosis. *J Clin Invest* 1992;90: 1718-25.
 84. Harbrecht BG, Billiar TR, Stadler J, Demetris AJ, Ochoa JB, Curran RD, Simmons RL. Nitric oxide synthesis serves to reduce hepatic damage during acute murine endotoxemia. *Crit Care Med* 1992;20: 1568-74.
 85. Wang XD, Andersson R. Intestinal brush border membrane function. *Scand. J. Gastroenterol* 1994;26: 289-99.
 86. Wang XD, Andersson R, Solterz V, Guo W, Bengmark S. Water-soluble ethylhydroxyethyl cellulose prevents bacterial translocation induced by major liver resection in the rat. *Ann Surg* 1993;217: 155-67.
 87. Lynn WA, Cohen J. Microbiological requirements for studies of sepsis. In: Sibbald, W.J., Vincent, J.L., ed. Update in intensive care and emergency medicine 19: Clinical trials for the treatment of sepsis. Berlin: Springer-Verlag 1995;71-85.
 88. Greenwood D. Lacking blood for culture. *Lancet* 1993;342: 1006.
 89. Mermel LA, Maki DG. Detection of bacteremia in adults: consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Ann Intern Med* 1993;119: 270-72.