

MEDIADORES PRÓ-INFLAMATÓRIOS E ANTINFLAMATÓRIOS NA SEPSE NEONATAL: ASSOCIAÇÃO ENTRE HOMEOSTASE E EVOLUÇÃO CLÍNICA

PRO-INFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY MEDIATORS IN NEONATAL SEPSIS: ASSOCIATION BETWEEN HOMEOSTASIS AND CLINICAL OUTCOME

Marco Antonio Cianciarullo*

Maria Esther Jurfest Ceccon**

Lidia Yamamoto***

Gilda Maria Barbaro Del Negro⁺

Thelma Suely Okay⁺⁺

Cianciarullo MA, Ceccon MEJ, Yamamoto L, Del Negro, GMB, Okay TS. Medidores Pró-inflamatórios e Antinflamatórios na Sepse Neonatal: Associação entre homeostase e evolução clínica. *Rev Bras Crescimento Desenvol Hum.* 2008; 18(2): 135-147.

Resumo: Objetivo: avaliar a utilidade de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-6) e de citocinas antinflamatórias (IL-10 e IL-1Ra) no diagnóstico da sepse neonatal, e verificar se a homeostase entre estes mediadores poderia ser determinante para a evolução clínica da doença. Método: coorte prospectiva compreendendo 31 recém-nascidos (RN) com diagnóstico de sepse neonatal, classificados em dois grupos: sepse e sepse grave, com evolução complicada (choque, falência múltipla de órgãos, óbito). Os níveis séricos de TNF- α ; IL-1 β ; IL-6; IL-10 e IL-1Ra foram mensurados nos dias 0 (diagnóstico), 3 e 7 (evolutivos). Foram calculadas as médias, desvios-padrão, medianas, e valores mínimos e máximos para cada um dos mediadores. Foram construídos gráficos dos perfis individuais dos pacientes, e o perfil médio dos dois grupos contendo os erros-padrão. Para o tratamento estatístico dos dados oriundos da avaliação das concentrações de citocinas ao longo do tempo, foi utilizado o teste ANOVA com medidas repetidas. Para todas as análises realizadas foi adotado nível de significância de 5%. Resultados: no grupo de recém-nascidos com sepse e boa evolução, os níveis séricos de TNF- α ; IL-1 β e IL-10 se apresentaram próximos aos valores mínimos detectáveis pelo método, e nos RN com sepse grave, esses níveis foram estatisticamente superiores ($p < 0,01$). As concentrações de IL-6 e IL-1Ra analisadas, de forma evolutiva (dias zero, 3 e 7 após o diagnóstico), revelaram níveis séricos sempre elevados e maiores na sepse grave em relação a sepse com boa evolução ($p < 0,01$). A relação IL-6/IL-1Ra nos RN com sepse mostrou predomínio da ação pró-inflamatória no dia 0 (razão > 1) e da resposta antiinflamatória nos dias 3 e 7 de evolução (razão < 1), enquanto na sepse grave e evolução complicada, houve predomínio da ação pró-inflamatória no dia zero e no dia 3 (razão > 1) e somente no dia 7, houve predomínio da ação antiinflamatória (razão < 1). Conclusões: as concentrações de

* Mestre em Pediatria pela FMUSP, pós-graduando nível Doutorado na FMUSP, médico assistente do Berçário do Hospital Universitário da USP.

** Livre Docente pela FMUSP. Responsável pela Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal do Instituto da Criança do HC-FMUSP e Coordenadora do Berçário do Hospital Estadual de Sapopemba. Endereço: Rua Enéas de Carvalho Aguiar, 647-CEP 05403-000, Cerqueira César, São Paulo. E-mail: maria.ceccon@icr.usp.br

*** Bióloga do LIM 36, mestre em Ciências pela Universidade Federal de São Paulo.

⁺ Farmacêutica do LIM 36, mestre em Ciências pela Universidade de São Paulo, doutoranda do programa de Pós-Graduação Senso Estrito da Pediatria (Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo).

⁺⁺ Professor Associado do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Responsável substituto do LIM 36, Coordenador do Programa de Pós-Graduação Senso Estrito e do Programa de Iniciação Científica em Pediatria.

citocinas foram efetivas para o diagnóstico de sepse neonatal e foram preditivas para a gravidade da doença, principalmente os valores da IL-6 e IL-1Ra. A sepse grave caracterizou-se por um desequilíbrio homeostático (persistência de predomínio dos fatores pró-inflamatórios no terceiro dia após o diagnóstico), enquanto na sepse com boa evolução houve equilíbrio homeostático (predomínio dos fatores inflamatórios apenas no dia zero com razão IL-6/IL-1Ra >1, com inversão nos dias 3 e 7). A persistência de predomínio das citocinas pró-inflamatórias em relação às antiinflamatórias no terceiro dia após o diagnóstico está correlacionada à evolução clínica desfavorável.

Palavras-chave: Recém-nascido; sepse; mediadores pró-inflamatórios (TNF- α ; IL- β ; IL-6); mediadores antiinflamatórios (IL-10 e IL-1Ra); relação IL-6/IL-1Ra.

INTRODUÇÃO

A sepse no recém-nascido (RN) constitui, ainda nos dias de hoje, uma das principais causas da elevada morbimortalidade nesta faixa etária. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde, dos 130 milhões de RN que nascem anualmente, quatro milhões morrem^{1,2} e os processos infecciosos respondem por 36% desses óbitos². Na fisiopatologia da sepse, mediadores da resposta inflamatória denominados de citocinas³, proteínas liberadas por células do sistema imune, desempenham papel importante atuando como mensageiros químicos^{4,5}. A concentração sérica das citocinas é indetectável em indivíduos saudáveis, sendo sua produção estimulada quando ocorre invasão do hospedeiro por microorganismos patogênicos.⁶

Existem citocinas que funcionam primariamente como indutoras de inflamação (citocinas pró-inflamatórias), enquanto outras atuam na contra-regulação (citocinas antiinflamatórias). Quando ocorre desequilíbrio entre os dois processos, com predomínio da resposta inflamatória, ou dos fatores contra-reguladores, ocorre desencadeamento de uma seqüência de eventos que têm por objetivo fazer com que essas proteínas retornem aos seus valores normais, mantendo assim a homeostase do metabolismo, uma vez que o desequilíbrio pode fazer com que o paciente evolua para sepse, sepse grave, choque séptico, coagulação intravascular disseminada, disfunção múltipla de órgãos ou óbito.^{7,8}

Assim, o objetivo é avaliar a utilidade de citocinas pró-inflamatórias, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1 beta (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6) e de citocinas antiinflamatórias,

interleucina 10 (IL-10) e inibidor do receptor da interleucina 1 (IL-1Ra) no diagnóstico da sepse neonatal. Também, de verificar se a homeostase entre estes mediadores pode estar relacionada com a evolução clínica dos pacientes.

MÉTODO

Trata-se de estudo de coorte prospectiva no qual foram analisados os dados de RN com diagnóstico de sepse neonatal, que se encontravam internados na Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da FMUSP e na Unidade Neonatal do Hospital Universitário da USP, no período de janeiro de 2004 a janeiro de 2005 e que preencheram os critérios de inclusão. Foram excluídos os pacientes que tiveram hemorragia intracraniana ou foram submetidos a procedimentos cirúrgicos.

O estudo obteve aprovação das Comissões de Ética e Pesquisa dos respectivos hospitais (CAPPesq processo número 729/03 e CEP-HU 474/04). Essa pesquisa teve auxílio da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2004/02789-1.

Foram incluídos no estudo 31 RN classificados em dois grupos de acordo com a evolução clínica: 1-grupo sepse, composto por 16 RN que apresentaram manifestações clínicas compatíveis com sepse, e evolução clínica favorável; 2-grupo sepse grave composto por 15 RN com quadro clínico de sepse e evolução desfavorável (choque séptico, coagulação intravascular disseminada, disfunção múltipla de órgãos e sistemas ou óbito). O diagnóstico de sepse foi baseado em manifestações clínicas associadas à cultura

de sangue periférico positiva e/ou proteína C reativa (PCR) superior a 10 mg/L. Nos dois grupos de estudo, as concentrações séricas de citocinas pró e antiinflamatórias foram mensuradas nos dias zero (diagnóstico), 3 e 7 (evolutivos), sendo considerados alterados valores acima dos valores de referência recomendados pelo fabricante (R & D Systems, Minneapolis, EUA).

Os resultados foram submetidos à análise estatística, com cálculo de médias, desvios-padrão, medianas, e valores mínimos e máximos para cada um dos mediadores. Foram construídos gráficos dos perfis individuais dos pacientes e, com base nestes, o perfil médio dos dois grupos com barras verticais representando os erros-padrão. Para o tratamento estatístico dos dados oriundos da avaliação das concentrações de citocinas ao longo do tempo, foi utilizado o teste ANOVA com medidas repetidas. Para todas as análises realizadas foi adotado nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Dos 31 RN considerados elegíveis foram colhidos os seguintes dados: idade à internação, idade ao início dos sintomas, idade gestacional, sexo, peso ao nascimento e as classificações de acordo com o peso. Estas características são apresentadas na Tabela 1. Em relação às médias das concentrações de citocinas pró-inflamatórias observamos que os valores de TNF- α nos RN do grupo 1 (sepse com boa evolução) encontravam-se muito próximos dos valores mínimos detectáveis pelo método (1,6 pg/ml). Quando os 15 recém-nascidos do grupo 2 (sepse grave) foram analisados, a maior média de TNF- α (216,01 pg/ml) foi observada no dia zero e as concentrações séricas apresentaram decréscimos ao longo do tempo (131,70 pg/ml e 30,06 pg/ml nos dias 3 e 7, respectivamente), porém com valores sempre acima de 1,6 pg/ml (Tabela 2). Tendo em vista que o grupo 1 (sepse) não apresentou variação ao longo do tempo, o teste ANOVA não pode ser usado para verificar possíveis diferenças entre os dois grupos, de forma evolutiva.

Em relação aos valores médios da IL-1 β podemos observar que no grupo 1 (sepse), os 16

recém-nascidos apresentaram valores próximos aos mínimos detectáveis (1,0 pg/ml), enquanto que os 15 recém-nascidos do grupo 2 (sepse grave) apresentaram a maior média (15,05 pg/ml) no dia zero e esta diminuiu de forma progressiva: 2,15 pg/ml e 1,58 pg/ml, nos dias 3 e 7, respectivamente (Tabela 3). Por meio do teste ANOVA com medidas repetidas pode-se observar que apesar da variação observada (Tabela 4), não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ao longo da avaliação.

Os valores médios de IL-6 nos 15 RN do grupo sepse grave, foram mais elevados (2.321,35 pg/ml; 1.100,02 pg/ml e 402,73 pg/ml nos dias zero, 3 e 7, respectivamente), quando comparados aos 16 RN do grupo sepse (1.150,51 pg/ml; 71,23 pg/ml e 40,21 pg/ml nos dias zero, 3 e 7, respectivamente), em todos os tempos estudados. O perfil de variação das concentrações médias de IL-6 dos dois grupos apresentou o mesmo comportamento ao longo do tempo, ou seja, em ambos os grupos, a partir do terceiro dia ocorreram decréscimo na média dos valores de IL-6. (Tabela 5). Por meio da aplicação do teste ANOVA com medidas repetidas observou-se que no dia zero, os dois grupos não se diferenciaram em relação à IL-6 ($p=0,189$). No entanto, no dia 3, o grupo sepse grave apresentou média $1.196,9 \pm 564,8$ pg/ml, superior à encontrada no grupo sepse, com diferença estatisticamente significativa ($p=0,043$). No dia 7, o grupo sepse grave também apresentou valores de IL-6 superiores aos do grupo sepse, sendo a diferença entre os grupos estatisticamente significativa ($p=0,029$), com diferença entre eles estimada em $347,4 \pm 151,4$ pg/ml.

Em relação aos valores séricos médios das citocinas antiinflamatórias, quando analisamos a IL-10 observamos que o grupo sepse não apresentou variação dessas citocinas, fenômeno muito similar ao que ocorreu com relação às citocinas pró-inflamatórias, mantendo-se próximos aos valores mínimos detectados (3,9 pg/ml), contrariamente ao que ocorreu com o grupo sepse grave que apresentou concentrações séricas médias elevadas em todos os tempos estudados (154,51 pg/ml; 85,62 pg/ml e 9,86 pg/ml nos dias zero, 3 e 7, respectivamente). No perfil de variação das concentrações médias do grupo sepse grave obser-

Tabela 1: Características Demográficas dos recém-nascidos do estudo.

Variáveis	N [†]	%
Idade na Internação		
Mediana		2 horas
Mínimo – Máximo		1 hora – 28 dias
Idade de Início dos sintomas		
Mediana		11 horas
Mínimo - Máximo		1 hora - 39 dias
Idade Gestacional (semanas)		
Mediana		38 6/7
Mínimo - Máximo		26 5/7 - 41 3/7
Método da Idade gestacional		
DUM	22	73,3
Capurro	5	16,7
New Ballard	1	3,3
USG (1º trimestre)	2	6,7
Peso de Nascimento (gramas)		
Mediana		2880
Mínimo - Máximo		1000 - 4000
Classificação dos Recém-nascidos (Idade Gestacional)		
Pré-termo	15	48,4
Termo	16	51,6
Classificação dos Recém-nascidos (Tamanho x Idade Gestacional)		
PIG	4	12,9
AIG	26	83,9
GIG	1	3,2
Classificação dos Recém-nascidos (Peso de nascimento)		
Normal	20	64,5
Baixo Peso	4	12,9
Muito Baixo Peso	7	22,6
Gênero		
Masculino	16	51,6
Feminino	15	48,4

† N: número de recém-nascidos do estudo

Tabela 2: Medidas descritivas dos valores séricos de TNF- α segundo os grupos.

TNF- α (pg/ml)	Dia 0		Dia 3		Dia 7	
	Sepse	Sepse Grave	Sepse	Sepse Grave	Sepse	Sepse Grave
Média	1,60	216,01	1,60	131,70	1,60	30,06
Desvio Padrão	0,0	450,91	0,0	273,00	0,0	74,75
Mediana	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60
Mínimo	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60
Máximo	1,60	1316,00	1,60	766,50	1,60	248,80
Nº observações	16	15	16	14	16	14

Tabela 3: Medidas descritivas dos valores séricos de IL-1 β de acordo com o tipo de sepse e dias de evolução

IL-1 β (pg/ml)	Dia 0		Dia 3		Dia 7	
	Sepse	Sepse Grave	Sepse	Sepse Grave	Sepse	Sepse Grave
Média	1,59	15,05	1,00	2,15	1,44	1,58
Desvio Padrão	1,65	52,44	0,0	4,30	1,75	2,19
Mediana	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Mínimo	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Máximo	6,60	204,50	1,00	17,10	8,00	9,20
Nº observações	16	15	16	14	16	14

Tabela 4: Medidas descritivas dos valores séricos de IL-6 de acordo com o tipo de sepse e dias de evolução

IL-6 (pg/ml)	Dia 0		Dia 3		Dia 7	
	Sepse	Sepse Grave	Sepse	Sepse Grave	Sepse	Sepse Grave
Média	1150,51	2321,35	71,23	1100,02	40,21	402,73
Desvio Padrão	1216,20	3248,72	79,58	2180,22	46,99	602,75
Mediana	632,40	784,60	61,30	171,95	21,30	89,25
Mínimo	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Máximo	4166,20	9887,80	279,80	7493,60	131,90	1797,10
Nº observações	16	15	16	14	16	14

Tabela 5: Medidas descritivas dos valores séricos de IL-10 de acordo com o tipo de sepse e dias de evolução

IL-10 (pg/ml)	Dia 0		Dia 3		Dia 7	
	Sepse	Sepse Grave	Sepse	Sepse Grave	Sepse	Sepse Grave
Média	3,90	154,51	3,90	85,62	3,90	9,86
Desvio Padrão	0,0	451,31	0,0	199,15	0,0	14,13
Mediana	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90	4,00
Mínimo	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90
Máximo	3,90	1732,60	3,90	569,00	3,90	55,80
Nº observações	16	15	16	14	16	14

vou-se decréscimo na média ao longo das avaliações, o que também acompanhou os decréscimos das citocinas pró-inflamatórias neste grupo (sepsis grave). Como o grupo sepsis não apresentou variação ao longo do tempo, o teste ANOVA não pode ser usado para verificar possíveis diferenças entre os dois grupos, de forma evolutiva.

No grupo sepsis os valores médios de IL-1Ra encontravam-se elevados em todos os tempos estudados em relação aos valores de referência, tendo ocorrido decréscimo na média da IL-1Ra ao longo das avaliações, acompanhando a curva de variação dos mediadores pró-inflamatórios. Os recém-nascidos do grupo sepsis grave também apresentaram valores elevados nos dias zero, 3 e 7 (Tabela 6). O grupo sepsis grave mostrou decréscimo na média das concentrações de IL-1Ra do dia zero para o dia 3, porém do dia 3 para o dia 7 ocorreu ligeiro acréscimo. Com a utilização do teste ANOVA com medidas repetidas foi possível observar que no dia zero os dois grupos não se diferenciaram em termos da IL-1Ra ($p=0,292$); porém no dia 3 o grupo sepsis grave apresentou média da IL-1Ra maior que o grupo sepsis ($p=0,031$), com diferença entre os dois grupos estimada em $1.053,5 \pm 463,6$ pg/ml, e no dia 7, a diferença entre os dois grupos também foi estatisticamente significativa ($p=0,003$), ou seja, o grupo sepsis grave apresentou média superior à do grupo sepsis, sendo a diferença de $1.226,4 \pm 376,4$ pg/ml.

A relação IL-6/IL-1Ra foi calculada com o objetivo de se avaliar o grau de homeostase (equilíbrio ou desequilíbrio) entre a produção de mediadores pró e antiinflamatórios nos dois gru-

pos de recém-nascidos. O grupo sepsis apresentou somente no dia zero relação IL-6/IL-1Ra superior a 1, sendo que nos dias 3 e 7 os valores foram inferiores a 1. No entanto, o grupo sepsis grave apresentou relação IL-6/IL-1Ra > 1 nos dias zero e 3, com inversão apenas no dia 7 ($r=0,31$), conforme ilustra a Tabela 7. O teste ANOVA com medidas repetidas não foi capaz de detectar diferenças estatisticamente significantes entre as médias da relação IL-6/IL-1Ra quando os dois grupos foram comparados, em nenhum dos tempos avaliados ($p>0,15$). As diferenças médias estimadas da relação IL-6/IL-1Ra foram iguais a $0,43 \pm 1,18$ ($p=0,762$); $1,25 \pm 1,09$ ($p=0,159$) e $0,02 \pm 0,08$ ($p=0,727$) para os dias zero, 3 e 7, respectivamente.

DISCUSSÃO

O TNF- α é o primeiro mediador inflamatório a ser produzido em resposta a um estímulo infeccioso, sendo considerado um mediador primário do sistema imune inato e crucial para induzir proteção local.^{9,10} Quantidades mínimas de TNF- α contribuem para a defesa do hospedeiro por limitarem a propagação de microorganismos patogênicos para a circulação sanguínea, fato observado durante uma resposta inflamatória bem sucedida na qual a duração e a magnitude da liberação de TNF- α são limitadas.^{10,11} No entanto, quando a produção é excessiva e prolongada, o TNF- α torna-se deletério ao organismo⁶, causando desregulação da resposta imune, induzindo a ativação de outras citocinas, bem como do sistema oxidativo celular os quais promovem inflamação e lesão tecidual potencialmente le-

Tabela 6: Medidas descritivas dos valores séricos de IL-1Ra de acordo com o tipo de sepsis e dias de evolução

IL-1Ra (pg/ml)	Dia 0		Dia 3		Dia 7	
	Sepsis	Sepsis Grave	Sepsis	Sepsis Grave	Sepsis	Sepsis Grave
Média	1092,76	1567,31	312,93	1309,00	186,68	1440,61
Desvio Padrão	775,93	1576,91	201,65	1852,36	106,41	1506,75
Mediana	863,30	667,50	240,45	462,30	164,41	604,70
Mínimo	227,10	93,20	71,70	105,00	27,90	87,10
Máximo	3014,30	4548,80	674,30	6491,60	414,80	4742,70
Nº observações	16	15	16	14	16	14

Tabela 7: Medidas descritivas dos valores séricos da relação IL-6/IL-1Ra de acordo com o tipo de sepse e dias de evolução

IL-6/IL-1Ra	Dia 0		Dia 3		Dia 7	
	Sepse	Sepse Grave	Sepse	Sepse Grave	Sepse	Sepse Grave
Média	1,72	2,15	0,36	1,61	0,33	0,31
Desvio Padrão	2,79	3,66	0,20	3,93	0,17	0,15
Mediana	0,77	1,40	0,34	0,53	0,29	0,27
Mínimo	0,10	0,11	0,17	0,04	0,08	0,13
Máximo	11,17	14,44	0,82	14,64	0,62	0,63
Nº observações	15	14	10	13	9	9

tais.^{10,11} Essa situação é especialmente notada na sepse grave, onde ocorre excessiva produção desta citocina pró-inflamatória culminando com aumento da permeabilidade capilar, provocando lesão tecidual e morte por falência orgânica.^{6,10} O TNF- α é considerado um mediador necessário para que o processo infeccioso evolua para choque séptico^{10,11}, isto é comprovado na literatura por evidências tais como: 1º) É encontrado em pacientes e modelos experimentais de choque séptico. 2º) É capaz de desencadear alterações hemodinâmicas e metabólicas que provocam hipotensão, coagulação intravascular, necrose hemorrágica e lesão tecidual.^{12,13,14} 3º) A neutralização do TNF- α previne endotoxemia e bacteremia, em animais, mesmo quando endotoxinas e bactérias persistem na circulação sanguínea^{12,13,15}, porém esta terapêutica de neutralização do TNF- α não obteve bons resultados na sepse de recém-nascidos e ou adultos.¹⁰

Durante o processo infeccioso o nível sérico de TNF- α eleva-se durante os primeiros 30 a 90 minutos após a exposição ao antígeno lipopolissacáride (LPS), com pico entre três e quatro horas, apresentando boa correlação com o aparecimento da febre e/ou instabilidade térmica no recém-nascido.^{3,16} Na meningite bacteriana fulminante os níveis de TNF- α são elevados e mostram elevada correlação com a mortalidade.¹⁷ No entanto, no paciente com sepse ou com meningite não fulminante, esses níveis não se encontram tão elevados.¹⁸ Este último achado foi evidenciado por alguns trabalhos que mostraram níveis séricos de TNF- α quase indetectáveis em pacientes com sepse grave, em que o

pico de produção de TNF- α durante a sepse correlaciona-se com o desenvolvimento agudo do choque séptico, mas não com a característica progressivamente lenta da sepse grave.¹⁸

Küster et. al., em 1998¹⁹, em estudo multicêntrico com 101 recém-nascidos: 21 com sepse neonatal tardia, definida por sepse diagnosticada após 72 horas de vida; 20 recém-nascidos sem infecção e 60 recém-nascidos não classificados, compararam os valores dos mediadores IL-1Ra; IL-6 e ICAM nos dias quatro a um que antecederam o dia do diagnóstico clínico da sepse (definido como dia zero) e os dias um a cinco, após o diagnóstico. Estes concluíram que os níveis das citocinas já se encontravam elevados dois dias antes de ser feito o diagnóstico de sepse.

Na casuística apresentada observamos que nos pacientes que tiveram sepse e que evoluíram sem complicações, os níveis séricos de TNF- α , mesmo no dia zero, encontravam-se no limite de detecção do método, provavelmente devido ao fato das concentrações dessa citocina já terem retornado aos valores de referência quando o diagnóstico de sepse foi definido, e ainda devido à meia vida fugaz da mesma nos pacientes que evoluem bem, o que está de acordo com o descrito por Küster et al.¹⁹ No entanto, nos pacientes que evoluíram com sepse grave (complicada), houve elevação desse mediador, mesmo nos dias três e sete após o diagnóstico.

A IL-1 β é outra das citocinas pró-inflamatórias cuja função aparentemente é similar à do TNF- α ³, pois induz a resposta inflamatória sistêmica em resposta a agravo inicial²⁰, agindo sinergicamente com o TNF- α nesse processo.^{21,22}

A IL-1 β é responsável pela elevação da temperatura corpórea, e por esse motivo é denominada também de pirógeno endógeno. Essa elevação da temperatura é geralmente benéfica ao hospedeiro, uma vez que a maioria dos microorganismos se multiplica em temperaturas mais baixas, e a resposta imune adaptativa é mais intensa em temperaturas elevadas. Além da febre, essa citocina também induz o sono, anorexia e hipotensão²³; ativa as células endoteliais a aumentarem a expressão de moléculas de adesão, é essencial para a adesão de leucócitos e posterior diapedese²¹. Como mediador da resposta inflamatória, a IL-1 β pode, por vezes, em algumas doenças, apresentar rápida elevação enquanto em outros modelos a sua produção é lenta e intermediária²³. Por exemplo, no choque séptico, a IL-1 β age diretamente nos vasos sanguíneos, induzindo vasodilatação por intermédio da produção rápida do fator ativador de plaquetas, prostaglandinas e óxido nítrico.²³ Estas são potentes vasodilatadores e induzem o choque em animais de laboratório. Nesses animais os achados sugerem que o papel da IL-1 β é semelhante ao do TNF- α na sepse. A simples injeção endovenosa da IL-1 β , em animais, diminui a pressão arterial média e a resistência vascular sistêmica levando a hipotensão.²⁴

A utilização da IL-1 β como citocina para o diagnóstico de sepse é pequena devido aos relatos conflitantes da concentração sérica desta citocina ora elevada, ora diminuída, em associação à sepse.^{25,26} Apesar dos níveis séricos de IL-1 β serem frequentemente indetectáveis quando medidos na sepse (e por essa razão a literatura relata pouca correlação com a gravidade da doença)²⁰, em alguns pacientes são observados níveis elevados e, quando isto acontece, existe correlação com a gravidade do quadro séptico.²⁷ Resumidamente, as razões que propiciam valores frequentemente indetectáveis desta citocina são: 1º) Concomitantemente ao estímulo da produção da IL-1 β há estímulo à síntese de IL-1Ra, que por sua vez, bloqueia sua produção por mecanismo de “feedback” negativo. E como a IL-1 β é uma citocina, com meia-vida muito efêmera, seus níveis séricos diminuem rapidamente. 2º) A citocina IL-1Ra, um inibidor natural da

IL-1, apresenta estrutura homóloga e é biologicamente inativa, ligando-se ao receptor da IL-1 e inibindo a ligação desta citocina por mecanismo competitivo.²⁸ 3º) Outras citocinas tais como IL-4, IL-10 e TGF- β , em algum momento do processo inflamatório, diminuem a produção de IL-1 β e estimulam a produção de IL-1Ra.

Analisando os dois grupos estudados nesta pesquisa, observamos que no grupo sepse grave, os valores médios sempre foram superiores aos valores médios do grupo sepse. Na interpretação da figura 2 vale a premissa do estudo de Küster et al,¹⁹ com um adendo: a IL-1Ra, que é um antagonista natural da IL-1 β , está aumentada e inibe esta última, ou seja, no grupo sepse provavelmente já estaria ocorrendo a resolução do processo infeccioso, enquanto que no grupo sepse grave, o processo encontrava-se ainda indefinido quanto a evolução favorável ou não. Na maioria dos trabalhos publicados, a IL-1 β raramente é detectada porque a IL-1Ra constitui, de fato, potente inibidor.³

A IL-6 é considerada importante marcador da resposta inflamatória sistêmica, pois frente a um agravo infeccioso alcança rapidamente picos de concentração sérica caracterizando-se como citocina “de alarme” da infecção.^{27,29} Aparentemente, a IL-6 não é um mediador direto da sepse, pois reflete os efeitos sequenciais da produção prévia da IL-1 β e TNF- α .^{27,30} Embora existam pesquisas correlacionando a IL-6 com a mortalidade de pacientes com sepse, a infusão isolada de IL-6 pode causar febre, mas não produz alterações hemodinâmicas ou outras alterações sugestivas de sepse ou falência múltipla de órgãos.^{27,30}

Ao contrário da TNF- α , os níveis séricos de IL-6 estão significativamente elevados na maioria dos pacientes sépticos²⁰ e são sustentados por tempo maior, refletindo a intensidade da resposta inflamatória, agindo como “hormônios” que sintonizam todo o processo.²⁰ Portanto, essa interleucina é frequentemente utilizada como marcador no diagnóstico de sepse neonatal^{3,31} pela acurácia no diagnóstico precoce³² e também pode ser utilizada para verificar a resposta evolutiva ao tratamento.^{18,29} Valores superiores a 1.000 pg/ml de IL-6 têm sido relatados como

preditivos de sepse e valores superiores a 7.000 pg/ml associados com aumento da mortalidade.^{18,33} A IL-6 é o principal indutor da síntese da proteína C-reativa pelos hepatócitos, sendo ainda capaz de ativar células T e atrair neutrófilos aos sítios de infecção.³

Em contraste aos efeitos pró-inflamatórios, a IL-6 também promove efeitos antiinflamatórios^{5,20,28} de maneira diretamente proporcional à sua concentração sérica, inibindo a IL-1 e o TNF- α , além de estimular a síntese de IL-1Ra.³⁴

Nos pacientes dos dois grupos, sepse e sepse grave, observamos que as médias dos níveis séricos do grupo sepse grave foram sempre superiores às do grupo sepse, refletindo a intensidade do processo séptico naquele grupo. No entanto, pudemos verificar que a curva evolutiva de IL-6 nos dois grupos foi muito semelhante.

O grupo sepse grave apresentou valores séricos médios bem superiores aos relatados na literatura^(18,33) como preditivos de sepse, principalmente no dia do diagnóstico – D0 (2.321,35 pg/ml) e no dia três de evolução (1.100,02 pg/ml), declinando no dia sete (402,73 pg/ml). No grupo sepse os valores séricos médios apresentados foram, no dia zero (1.150,51 pg/ml), muito próximo aos citados por aqueles autores, mas nos dias três (71,30 pg/ml), e 7 (40,21 pg/ml), houve diminuição acentuada com a resolução do processo inflamatório.

A IL-10 é a principal citocina contra-reguladora da resposta imune inata.³⁵ Atua como citocina antiinflamatória agindo por “feedback” negativo, ou seja, inibindo a síntese de citocinas pró-inflamatórias.^{27,36} Elevadas concentrações de IL-10 reduzem a produção de TNF- α ; IL-1; IL-6 e IL-8 pelos monócitos, enquanto ativam (por “feedback” positivo) a produção de IL-1Ra.³⁷ A supressão de IL-10 resulta em aumento dos níveis séricos circulantes de TNF- α e IL-6, o que sugere que esta citocina possua grande poder antiinflamatório⁽³⁾, tanto que quando a IL-10 endógena é neutralizada por anticorpos monoclonais, observa-se mortalidade aumenta.³⁶

Oberholzer et al.(2002)³⁵ sugeriram que a magnitude da resposta da IL-10 parece correlacionar-se com a gravidade do processo inflamatório e a concentração de citocinas pró-inflama-

tórias, com a ativação da TNF- α . Existe, de fato, um mecanismo homeostático que envolve a IL-10 e as citocinas pró-inflamatórias. Enquanto o TNF- α e outras citocinas estimulam a síntese de IL-10, na vigência de estímulo inflamatório, esta bloqueia a síntese de TNF- α de forma diretamente proporcional à resolução do processo inflamatório levando à normalização dos níveis séricos das citocinas⁽³⁴⁾, e restaurando a homeostase.³⁸

A normalização da IL-10 também é importante, pois a sua manutenção em níveis séricos elevados propicia o desenvolvimento da falência múltipla de órgãos.³⁶ Desta maneira, no processo de homeostase, a IL-10 acompanha a evolução dos mediadores pró-inflamatórios e paralelamente estimula a IL-1Ra para a manutenção da ação antiinflamatória e, posterior diminuição dos seus níveis séricos com a resolução do processo inflamatório.

Em relação aos pacientes dos grupos sepse e sepse grave do presente estudo, o trabalho de Küster et al.¹⁹ aplica-se novamente nos casos de sepse sem complicações, onde podemos observar que o nível sérico desta citocina não se encontrava aumentado de forma significativa provavelmente devido à resolução do quadro séptico, enquanto no grupo sepse grave, os valores de IL-10 acompanharam rigorosamente a curva da TNF- α e IL-6.

O antagonista do receptor da IL-1 β tem estrutura homóloga à da IL-1, e encontra-se normalmente sob forma inativa. Esta interleucina, como citado anteriormente, se liga ao receptor da IL-1 agindo como inibidor competitivo.^{28,39,40} Com aproximadamente 5% dos receptores da IL-1 ocupados há indução da resposta biológica, sugerindo que a elevação de IL-1Ra possa ter efeito modulador.³⁹ Sua produção é subsequente à síntese de IL-1 e outras citocinas, tais como IL-10, IL-4 e TGF- β as quais estimulam a produção do antagonista do receptor da IL-1 β , ao passo que inibem em algum momento a produção de IL-1 β .²³ Enquanto os níveis séricos de IL-1 β estão frequentemente indetectáveis²⁰, as concentrações de IL-1Ra mostram-se consistentemente elevadas em pacientes sépticos, tanto em adultos como em recém-nascidos, podendo ser superiores em até 100 vezes os valores de IL-1 β .^{19,39,41,42}

Fisher et al. (1992)⁴³ relataram que a concentração de IL-1Ra correlaciona-se com a magnitude da resposta inflamatória. A sua produção modula os efeitos potencialmente deletérios da IL-1 β e o curso natural da inflamação.³⁴ Nos pacientes dos grupos sepse e sepse grave observamos que os valores médios do último grupo foram sempre superiores aos do grupo sepse. Além disso, os dois grupos refletem a premissa que a concentração da IL-1Ra modula a resposta inflamatória seguindo as curvas dos mediadores pró-inflamatórios, mostrando que o processo séptico foi controlado, evoluindo para a cura, enquanto no grupo sepse grave o desequilíbrio no controle do processo infeccioso corrobora para que ocorra exacerbação da síntese de IL-1Ra.

De Bont et al.(1995)⁴⁴ analisaram a concentração sérica de IL-1Ra em 47 recém-nascidos subdivididos em 3 grupos: Grupo 1: 11 recém-nascidos com quadro clínico de sepse associado à positividade de culturas (9 com cultura de sangue periférico positiva e 2 com urocultura positiva) e que apresentaram infecção bacteriana grave; Grupo 2: 28 recém-nascidos com suspeita de infecção, mas com culturas de sangue periférico negativas e Grupo 3: grupo controle com 8 recém-nascidos saudáveis admitidos na unidade por outras razões que não doenças infecciosas e imunológicas. A IL-1Ra foi mensurada e observou-se que os recém-nascidos do grupo 1 tiveram concentrações de IL-1Ra elevadas (5.635 ± 411 ng/L) à semelhança daqueles da nossa casuística, do grupo sepse grave, e o grupo 2 desses pesquisadores apresentou valores inferiores (2.597 ± 433 ng/L), fato que também ocorreu na pesquisa apresentada. No grupo controle, aqueles autores observaram valores bem inferiores aos outros grupos (273 ± 88 ng/L) e concluíram que a concentração de IL-1Ra não contribuiu para o aumento da morbidade e mortalidade dos recém-nascidos com sepse, o que também está de acordo com os resultados deste estudo.

Traduzir a homeostase ou seu desequilíbrio em números constitui trabalho árduo. Loise et al²⁰ relataram que a relação entre a resposta das citocinas pró e antiinflamatórias na sepse é inconsistente e variável. Muitas das relações entre citocinas pró e antiinflamatórias são estudadas com base

em suas propriedades biológicas, porém a análise realizada de acordo simplesmente com as concentrações séricas é, por vezes, inconclusiva. Na literatura, foram estudadas algumas relações entre mediadores pró e antiinflamatórios como a IL-1 β /IL1Ra, que, a princípio, pareceu promissora, no entanto não apresentou valores preditivos em relação à mortalidade.³⁹ Outra relação estudada foi a TNF- α /IL-10 e durante algum tempo esta relação foi utilizada como fator preditivo de gravidade, uma vez que na sepse grave a produção de TNF- α ocorre em larga escala, e é deletéria para o hospedeiro, enquanto a IL-10, por ser um potente inibidor, promove resposta antiinflamatória compensatória. Com base nesses dados, uma concentração sérica de TNF- α baixa, promoveria risco fatal para pacientes com sepse e meningococemia (lembrando que elevados níveis de IL-10 induzem a falência múltipla de órgãos e sistemas). Desta forma, um estado antiinflamatório traduzido por relação IL-10/TNF α elevada também estaria associado a evolução fatal⁽⁶⁾. Van Dissel et al.(1998)⁴⁵ concluíram que pacientes que apresentaram relação IL-10/TNF α elevada não sobreviveram. No entanto, esta relação é difícil de interpretar, pois o TNF- α possui meia vida sérica curta, e nos casos com evolução benigna pode ser indetectável, não refletindo necessariamente a homeostase ou o desequilíbrio.

Taniguchi et. al (1999)⁴⁶ analisando 25 pacientes graves com Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS), observaram que tanto os sobreviventes quanto os que evoluíram a óbito apresentaram níveis séricos elevados de IL-10, os quais declinaram durante a internação na UTI. Entretanto, a relação IL-6/IL-10 foi mais elevada nos não sobreviventes, o que os levou a concluir que a falência do mecanismo antiinflamatório pode ter papel importante na fisiopatologia da sepse.

Neste trabalho, optou-se por estudar a relação IL-6/IL-1Ra em razão de se considerar a IL-6 como marcador de sepse e sua elevação caracteriza a magnitude do processo inflamatório. Desta maneira, esta citocina se mantém elevada por período prolongado, facilitando sua mensuração seriada, o mesmo acontecendo com a IL-1Ra. O valor da relação (IL-6/IL1-Ra) igual a 1 seria representativo de equilíbrio das ações

pró-inflamatórias e antiinflamatórias. Desta forma, quando a relação mostra-se superior a 1 caracteriza predomínio da ação pró-inflamatória, enquanto a inferior a 1 o predomínio da ação antiinflamatória.

No grupo sepse a relação IL-6/IL-1Ra começa com predomínio da ação pró-inflamatória, porém já no dia 3 após o diagnóstico há predomínio da ação antiinflamatória, que se mantém no dia 7 de evolução. No grupo sepse grave, a relação IL-6/IL-1Ra mostra a persistência da inflamação com predomínio da ação pró-inflamatória por mais tempo (dias zero e 3).

Desta maneira, as citocinas pró-inflamatórias, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1 beta (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6) e de citocinas antiinflamatórias, interleucina 10 (IL-10) e inibidor do receptor da interleucina 1 (IL-1Ra) são úteis ao diagnóstico da sepse neonatal e preditivos de gravidade, principalmente as citocinas IL-6 e IL-1Ra.

No grupo de recém-nascidos que tiveram sepse sem complicações observou-se homeostase entre os mediadores pró e antiinflamatórios, com predomínio da resposta pró-inflamatória apenas no dia do diagnóstico, com inversão posterior, enquanto no grupo sepse grave pareceu haver um desequilíbrio da homeostase com predomínio da resposta inflamatória por mais tempo. Apenas um paciente desta casuística evoluiu para óbito, e neste o desequilíbrio homeostático (relação IL-6/IL-1Ra >1) persistiu até o final. Assim, pareceu que a homeostase entre estes mediadores pode estar relacionada com a evolução clínica dos pacientes.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP - Fundação Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (processo nº 2004/02789-1), pelo apoio financeiro para a execução desta pesquisa.

Abstract: Objectives: to evaluate the utility of pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , and IL-6) and anti-inflammatory cytokines (IL-10 and IL-1Ra) for the diagnosis of neonatal sepsis, and to verify if the homeostasis of these mediators might determine the clinical outcome. Method: prospective cohort study including 31 newborns with neonatal sepsis whose diagnosis was made on the basis of clinical signs and positive blood culture, or high C-reactive protein. Newborns were classified in two groups: sepsis and favorable outcome, and severe sepsis with unfavorable outcome (septic shock and/or DIVC and/or FMOS and/or death). On days 0 (diagnosis), 3 and 7 after diagnosis, serum levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, and IL-1Ra were measured. Statistical analysis included mean values, standard deviation, median, and minimum and maximum values of all mediators, as well as the construction of mean profiles for each patient and then for both groups (with standard errors). The ANOVA with repetitive measures was used to compare cytokines variation according to time. The significance level for all statistical analyses was 5%. Results: the newborns who evolved favorably presented serum levels of TNF- α , IL-1 β and IL-10 very close to the minimum levels detectable by the method, whilst in the newborns with severe sepsis, these cytokine levels were significantly higher ($p < 0.01$). IL-6 and IL-1Ra serum levels were always high irrespective of the day analyzed, and even higher in the group with unfavorable outcome ($p < 0.01$). IL-6/IL-1Ra ratio in the group with sepsis and favorable outcome showed predominance of anti-inflammatory response ($r > 1$) on day 0, and inversion on days 3 and 7. On the contrary, IL-6/IL-1Ra ratio was > 1 on day 0 and 3, and < 1 only on day 7 in the group of sepsis and unfavorable outcome. Conclusions: the analyzed mediators were effective to diagnose neonatal sepsis, and also as predictive factors of disease severity, mainly with regard to IL-6 and IL-1Ra. There was a homeostatic equilibrium represented by the IL-6/IL-1Ra in the group with sepsis and favorable outcome, in which pro-inflammatory factors were predominant on day 0 ($r > 1$), and there was a ratio inversion on days 3 and 7 ($r < 1$), and a homeostatic imbalance in the other group ($r > 1$ on days 0 and 3). In the latter group the persistence of pro-inflammatory predominance versus anti-inflammatory factors on day 3 after diagnosis of sepsis was correlated to clinical outcome.

Keywords: Newborn; sepsis; pro-inflammatory mediators (TNF- α , IL-1 β , IL-6); anti-inflammatory mediators (IL-10, IL-1Ra); ratio IL-6/IL-1Ra.

REFERÊNCIAS

1. Zupan J, Aahman E. *Perinatal mortality for the year 2000: estimates developed by WHO*. Geneva: World Health Organization; 2005.
2. Lawn JE, Cousens S, Zupan J, for the Lancet Neonatal Survival Steering Team. 4 million neonatal deaths: when? Where? Why? *Lancet*. 2005;365:891–900.
3. Cunneen J, Cartwright M. The puzzle of sepsis. Fitting the pieces of the inflammatory Response with treatment. *AACN Clinical Issues*. 2004;15:18–44.
4. Hageman JR, Caplan MS. Introduction the structure and function of inflammatory mediators for clinician. *Clin Perinatol*. 1995;22:251–61.
5. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Cytokine signaling: regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med*. 2000;28:3–12.
6. Netea MG, Van Der Meer JWM, Van Deuren M, Kullberg BJ. Proinflammatory cytokines and sepsis syndrome: not enough, or too much of a good thing? *Trends immunol*. 2003;24:254–8.
7. Bellanti JA, Kadlec JV, Escobar-Gutierrez A. Cytokines and the immune response. *Pediatr Clin North Am*. 1994;41:597–621.
8. Anderson MR, Blumer JL. Advances in the therapy for sepsis in children. *Pediatr Clin North Am*. 1997;44:179–205.
9. Van Deventer SJ, Buller HR, Ten Cate JW, Aarden LA, Hack CE, Sturk A. Experimental endotoxemia in humans: analysis of cytokine release and coagulation, fibrinolytic and complement pathways. *Blood*. 1990;76:2520–6.
10. Ulloa L, Tracey KJ. The ‘cytokine profile’: a code for sepsis. *Trends Mol Med*. 2005;11:56–63.
11. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 2002;420:853–9.
12. Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factor, others cytokines and disease. *ANNU Rev Cell Bio*. 1993;9:317–43.
13. Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factor: a pleiotropic cytokine and therapeutic target. *ANNU Rev Med*. 1994;45:491–503.
14. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med*. 2003;348:138–50.
15. Gea-Banacloche JC, Opal SM, Jorgensen J, Carcillo JA, Sepkowitz KA, Cordonnier C. Sepsis associated with immunosuppressive medications: an evidence-based review. *Crit Care Med*. 2004;32;(Suppl. 11):S578–S590.
16. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*. 2002;420:885–91.
17. Waage A, Halstensen A, Espevik T. Association between tumour necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *Lancet*. 1987;1:355–7.
18. Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with sepsis syndrome. *Ann Intern Med*. 1993;119:771–8.
19. Küster H, Weiss M, Willeitner AE, Detlefsen S, Jeremias I, Zbojan J, Geiger R, Lipowsky G, Simbruner G. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. *Lancet*. 1998;352:1271–7.
20. Loise P, Rinne T, Laine S, Hurme M, Kaukinen S. Anti-inflammatory cytokine response and the development of multiple organ failure in severe sepsis. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2003;47:319–25.
21. Dinarello CA. Impact of basic research on tomorrow’s medicine. Pro-inflammatory cytokines. *Chest*. 2000;118:503–8.
22. Del Vecchio A, Laforgia N, Capasso M, Lolascon A, Latini G. The role of molecular genetics in the pathogenesis and diagnosis of neonatal sepsis. *Clin Perinatol*. 2004;31:53–67.
23. Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med*. 1993;328:106–13.
24. Okusawa S, Gelfand JA, Ikejima T, Connolly RJ, Dinarello CA. Interleukin-1 induces a shock like state in rabbits: synergism with tumor necrosis factor and effect of cyclooxygenase inhibition. *J Clin Invest*. 1988;81:1162–72.
25. Reyes CS, García-Muñoz Reyes DF, González G, Dominguez C, Domenech, E. Role of cytokines (interleukin-1 β ; 6; 8; tumour necrosis factor- α , and soluble receptor of interleukin-2) and C-reactive protein in the diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr*; 2003;92:221–7.
26. Mishra UK, Jacobs SE, Doyle LW, Garland S. Newer approaches to the diagnosis of early onset neonatal sepsis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*. 2006;91:F208–F212.
27. Casey LC. Immunologic response to infection and its role in septic shock. *Crit Care Clin*. 2000;16:193–213.
28. Abbas AK, Lichtman AH. Cytokines. In: Abbas AK, Lichtman AH. *Cellular and molecular immunology*. 5th ed. Philadelphia: Elsevier; 2005. p.243-74.

29. Ceccon MEJR. *Análise do uso das interleucinas 6 e 8 e proteína C reativa para diagnóstico e seguimento terapêutico de recém-nascido com sepse tardia internados na Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal* [Livro Docência]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2002
30. Dinarello CA. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest*. 1997;112:321–9.
31. Ng PC. Diagnostic markers of infection in neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*. 2004;89:F229–F235.
32. Gonzalez BE, Mercado CK, Johnson L, Brodsky NL, Bhandari V. Early markers of late onset sepsis in premature neonates: clinical, hematological and cytokine profile. *J Perinat Med*. 2003;31:60–8.
33. Hack CE, De Groot ER, Felt-Bersma RJF, Nuijens JH, Strack Van Schinjndel RJMS, Eerenberg–Belmer AJM, Thisjs LG, Aarden LA. Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood*. 1989;74:1704–10.
34. Borish LC, Steinke JW. Cytokines and Chemokines. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(Suppl.):S460–S475.
35. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Interleukin 10: A complex role in the pathogenesis of sepsis syndromes and its potential as an antiinflammatory drugs *Crit Care Med*. 2002;30:S58–S63.
36. Doughty L, Carcillo JA, Kaplan S, Janosky J. The compensatory anti-inflammatory cytokine interleukin10 response in pediatric sepsis induced multiple organ failure. *Chest*. 1998;113:1625–31.
37. Howard M, O'garra A, Ishida H, Malefyt RW, Vries J. Biological properties of interleukin 10. *J Clin Immunol*. 1992;12:239–47.
38. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest*. 1997;112:235–43.
39. Goldie AS, Fearon KCH, Ross JA, Barclay GR, Jackson RE, Grant IS, Ramsay G, Blyth AS, Howie JC. Natural cytokine antagonists and endogenous antiendotoxin core antibodies in sepsis syndrome. *JAMA*. 1995;274:172–7.
40. Kilpatrick L, Harris MC. Cytokines and the inflammatory response. In: Polin RA, Fox WW. *Fetal and neonatal physiology*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 1998. p.1967–79.
41. Dollner H, Vatten L, Linnebo I, Zanussi GF, Laerdal A, Austgulen R. Inflammatory mediators in umbilical plasma from neonates who develop early onset sepsis. *Biol Neonate*. 2001;80:41–7.
42. Carrigan SD, Scott G, Tabrizian M. Toward resolving the challenges of sepsis diagnosis. *Clin Chem*. 2004;50:1301–14.
43. Fischer E, Van Zee KJ, Marano MA, Rock CS, Kenney JS, Poutsika DD, Dinarello CA, Lowry SF, Moldawer LL. Interleukin-1 receptor antagonist circulates in experimental inflammation and in human disease. *Blood*. 1992;79:2196–200.
44. De Bont ESJM, De Leij LHF, Okken A, Baarsma R, Kimpen JLL. Increased plasma concentrations of interleukin-1 receptor antagonist in neonatal sepsis. *Pediatr Res*. 1995;37:626–9.
45. Van Dissel JY, Van Lange Velde P, Westendorp RG, Kwappenberg K, Frölich M. Anti-inflammatory cytokines profile and mortality in febrile patients. *Lancet*. 1998;351:950–3.
46. Taniguchi T, Koido Y, Aiboshi J, Yamashita T, Suzaki S, Kurokawa A. Change in the ratio of interleukin-6 to interleukin-10 predicts a poor outcome in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med*. 1999, jul; 27(7):1262-1264.

Recebido em: 08/05/2008
Modificado em: 20/06/2008
Aprovado em: 12/08/2008