

Trabajo de Revisión

Citoquinas y receptores solubles: Una ventana abierta a la resistencia y patogenia de infecciones

RECIBIDO: 14/10/2015

REVISION: 21/10/2015

ACEPTADO: 25/10/2015

Basso, B.^{1,2} • Moretti, E.^{2,3}

¹ Servicio de Neonatología, Hospital Universitario de Maternidad y Neonatología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba

² Laboratorio Córdoba, Dirección Nacional de Enfermedades Transmisibles por Vectores

³ Laboratorio Central, Hospital Italiano de Córdoba.

Dirección postal: Güemes 383, 5000 Córdoba, Argentina

Beatriz Basso: ebi@fcm.unc.edu.ar

Edgardo Moretti: eram112@live.com.ar

RESUMEN: Las citoquinas (CK) son glicoproteínas o proteínas de bajo peso molecular, que forman parte activa del sistema inmune. Se sintetizan durante la activación, amplificación y fase efectora de la inmunidad, principalmente por células del sistema inmune como Linfocitos, células NK, Macrófagos, pero también por células neurales, endoteliales, fibroblastos, entre otras. Sus funciones son múltiples, actuando en la respuesta innata y adaptativa como mensajeros intercelulares mediante la unión a receptores solubles, presentes en la superficie celular y su acción puede ser paracrina o autocrina, y excepcionalmente endocrina. Además, una misma CK puede ser producida por múltiples tipos celulares (redundancia) y

a su vez cada una de ellas puede actuar sobre células diferentes (pleiotropismo). En las últimas décadas se ha avanzado mucho en el conocimiento de estas moléculas, demostrando que juegan un rol muy importante en la respuesta a infecciones, procesos inflamatorios o tumorales, actuando además como factores inflamatorios o antiinflamatorios, de cuyo equilibrio depende en parte la evolución de estas enfermedades. El objetivo de la presente Revisión, es desarrollar temas estudiados en nuestros grupos de trabajo, sobre CK y receptores solubles involucradas en infecciones durante el embarazo, sepsis y Enfermedad de Chagas humana y experimental.

PALABRAS CLAVES: Citoquinas, infecciones ginecoobstétricas, sepsis, Chagas

SUMMARY: Cytokines (CK) are glycoproteins or proteins of low molecular weight that are an important part of immune system. They are synthesised during activation, amplification and effector phase of immune system, mainly by immune cells like lymphocytes, macrophages, NK cells, but also by neural and endothelial cells, fibroblasts, among others. Their functions are multiple, acting in innate and adaptive immunity as intercellular messengers through binding to specific cellular receptors, which are present in cell surface, and its action can be paracrine or autocrine, and exceptionally endocrine. Moreover, the same CK can be produced

by multiple cell types (redundancy), and each one of them can also act over different cells (pleiotropism). Over the last few decades, great progress has been made regarding knowledge about this molecules, demonstrating that they have a crucial role in response to infections, inflammatory or tumour processes, acting as inflammatory or anti-inflammatory factors as well, which balance partly determine the evolution of these diseases. The aim of the present review is to develop subjects studied in our research teams, about CK and soluble receptors involved in infections during pregnancy, sepsis, human and experimental Chagas' disease.

KEYWORDS: cytokines, gynecobstetric infections, sepsis, Chagas' disease

Introducción

Las Citoquinas (CK) son factores solubles liberados por células del sistema inmunocompetente, como macrófagos, NK, diferentes tipos de Linfocitos (Li), y también por otros tipos celulares. En las últimas décadas se ha logrado un importante avance en el conocimiento del rol que juegan CK, receptores y mediadores solubles, en diversas patologías ya sean tumorales, infecciosas, inflamatorias, etc, interviniendo en muchos casos en la fisiopatogenia de las mismas (1-3) Ellas pueden activar células a través de receptores específicos que estimulan a su vez la producción y secreción de diferentes CK y otros factores solubles, lo que le permite a las células blanco mayor citotoxicidad. (4)

Es conocido que las CK juegan un rol primordial en la iniciación y mantenimiento de la respuesta inmune, actuando como mensajeros para la activación, proliferación y diferenciación celular. Su actividad biológica en la respuesta inmune innata y adaptativa se ejerce principalmente en forma paracrina, sobre células vecinas, o autocrina, sobre la misma estirpe celular que las produce. Excepcionalmente, algunas CK actúan en forma endocrina, es decir a distancia de las células productoras.

Los receptores de superficie celular pueden ser constitutivos o inducibles. Uno de los ejemplos más clásicos es la acción de IL-2 sobre los Li T activados, que sintetizan el receptor para IL-2 (IL-2R). Lo propio ocurre, entre otros, con TNF- α , que actúa

a través de receptores de distinta afinidad (TNF- α R1 y TNF- α R2, también denominados P55 y P75). Estos receptores son liberados de la célula productora y pasan a circulación, pudiendo actuar como antagonistas de la acción de su CK específica, ya que compiten por la unión de la CK al receptor de superficie; ello puede tener implicancias biológicas en la regulación de la actividad de estas moléculas. (5)

Además de su efecto sobre la respuesta inmune, las CK tienen actividad proinflamatoria o antiinflamatoria. En este sentido, las sintetizadas por Macrófagos y Li TH1 son principalmente proinflamatorias (IL-1, IL-6, TNF- α) en tanto las producidas por los Li TH2 son predominantemente antiinflamatorias (IL-4, IL-10) . Existen también CK como IL-17, producidas por un tipo de Li descripto más recientemente, los Li TH 17, con potente actividad proinflamatoria. (6,7) Las mencionadas son sólo algunas de más de 100 CK descriptas, cuya completa enumeración, escapa al objetivo de la presente revisión.

Citoquinas en infecciones bacterianas

• Infecciones ginecoobstétricas

El éxito del embarazo es el resultado de estrategias inmuno-endocrinas que permite la coexistencia de la madre y el feto. De acuerdo a ensayos clínicos, experimentales y evidencias epidemiológicas, la inflamación asociada a un proceso infeccioso, puede ser considerada como una de las causas más importantes asociadas al trabajo de parto pretérmino. La coexistencia madre-feto, puede verse comprometida si el líquido amniótico es modificado por CK proinflamatorias, las cuales pueden ejercer fuerte efecto sobre ambos. Hay evidencias que indican que la placenta es una fuente de CK proinflamatorias, del tipo IL-1 β , TNF-

α , IL-6, las cuales son secretadas bajo condiciones basales y en respuesta a diferentes tipos de estímulos. (8).

La intrincada red de CK y mediadores solubles a veces dificulta determinar cuáles son las principalmente involucradas en una determinada situación clínica (2). En el caso de la mujer embarazada, pueden provocar situaciones que induzcan al parto pretérmino. (9-13). Además, se ha observado a nivel experimental que en condiciones normales los fibroblastos del cérvix serían los responsables de la síntesis de IL-8 (14,15).

Se ha demostrado asimismo que el perfil de TNF, α y sus receptores solubles R55 y R75 en líquido amniótico es diferente en parturientas a término y pretérmino, sin que medie ningún proceso infeccioso. Así, Maymon y col, (16) han demostrado que en los embarazos pretérmino, aumenta hasta 8 veces la concentración de TNF- α de las membranas.

En los procesos infecciosos, las CK pueden jugar un doble rol. En efecto, la síntesis local resulta beneficiosa para el huésped, permitiendo la eliminación de los microorganismos responsables de la infección, en cambio la hiperproducción con niveles sistémicos elevados puede inducir efectos tóxicos para el organismo (17,18). En este sentido, en un trabajo realizado en nuestro Laboratorio (19) se observó en pacientes embarazadas con infecciones gínito-uritarias, un aumento in situ de CK, las cuales no pudieron ser detectadas a nivel sistémico, probablemente por su diagnóstico precoz que permitió la administración terapéutica adecuada. En estas mujeres, existió un aumento significativo de al menos dos CK, IL-1 β e IL-8 en flujo vaginal e IL-8 también en orina. Sin embargo, el perfil que presentaron fue diferente: IL-1 β (CK que estimula

principalmente la respuesta de fase aguda) estuvo más aumentada en vaginosis bacteriana, mientras que se observaron mayores niveles de IL-8 en vaginitis. Esto se explicaría porque esta CK es una quimioquina, responsable de atraer una elevada cantidad de leucocitos al sitio de infección, característica de vaginitis. A su vez, también se observaron mayores niveles de IL-8 en las orinas de pacientes con infección urinaria por bacterias gramnegativas, las que en general presentan marcada piuria, con respecto a los obtenidos en orina con infecciones por bacterias grampositivas, que cursan con menor número de leucocitos (19). Resultados similares se han obtenido en otros estudios experimentales y clínicos (20,21). Por lo tanto la presencia de bacterias o productos bacterianos pueden generar un proceso inflamatorio en las membranas de la placenta, acompañado por la liberación de una serie de mediadores inflamatorios, principalmente CK (22-24).

Otros estudios también han revelado una respuesta inflamatoria en infecciones de líquido amniótico con aumento en los niveles de IL-6 (25-27) y alteraciones con receptores de progesterona (28). Los resultados obtenidos en nuestro trabajo (19), no revelaron aumento de IL-6 en las mujeres con infección genitourinaria, probablemente porque ninguna paciente presentó corioamnionitis.

Debido a que IL-6 e IL-8, están normalmente involucradas en el inicio del trabajo de parto y en la rotura de membranas, estos resultados indicarían que uno de los posibles mecanismos podría deberse en parte a la elevación de ambas CK, en mujeres que cursan con infecciones genitourinarias y ser responsables de estimular la producción de prostaglandinas y de enzimas proteolíticas que favorecen la ruptura prematura de

membranas y parto pretérmino. Resultados similares fueron obtenidos por Wasiela y col. (29). Sin embargo hay controversias en este sentido, ya que otros autores han observado que la presencia microbiana en líquido amniótico, no es predictora de trabajo pretérmino ni ruptura de membranas (30).

Se ha demostrado a nivel experimental, (31) que explantos de vellosidades de placenta humana pretratados con progesterona *in vitro*, y luego cultivados con LPS, produjeron un incremento significativo de TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10, con respecto a controles no estimulados con LPS. En base a ello, estos autores sostienen que la progesterona, podría ser parte de mecanismos compensatorios que limitan la inflamación inducida por efectos citotóxicos de CK proinflamatorias, asociadas con un proceso infeccioso durante la gestación. Estos hallazgos son coincidentes con los obtenidos por otros autores (27, 28)

Por su parte, como se dijo anteriormente, TNF- α es una CK esencial en la respuesta de la unión placenta - feto tanto en condiciones normales como patológicas. Así su concentración está elevada en líquido amniótico infectado de pacientes con trabajo de parto pretérmino (32). Hay fuertes evidencias que esta CK es muy potente, como otro mediador inflamatorio y que induce trabajo de parto pretérmino, daño fetal, corioamnionitis, en diferentes modelos experimentales (33,34), lo cual hace que pueda ser considerada como un biomarcador.

Además, también se han observado receptores Toll-Like 1-9, en placentas humanas a término, asociadas con trabajo de parto (35)

Durante el curso de nuestro estudio, se demostró que el tratamiento antibiótico adecuado, indujo un retorno a los niveles

normales de IL-1 β e IL-8, en forma más temprana que lo observado en la restitución de la microbiota vaginal revelado por los estudios microbiológicos. Es de interés destacar que el tratamiento realizado a tiempo es lo que probablemente evitó el riesgo de ruptura prematura de membranas o parto pretérmino, en el grupo de pacientes estudiadas (19). Estos datos revelan la importancia de los estudios microbiológicos y de medición temprana de mediadores solubles en las infecciones genitourinarias durante la gestación y la instauración inmediata de la terapéutica, a los fines de actuar precozmente y prevenir situaciones de riesgo para la madre, el feto o el neonato.

• *Citoquinas en sepsis*

La sepsis bacteriana puede definirse como síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), asociada con infección comprobada o muy probable con bacterias o, eventualmente, hongos (36). Es una de las patologías más severas en el período neonatal, con elevada morbimortalidad, fundamentalmente en niños prematuros o con bajo peso al nacer, condiciones que favorecen el estado de inmunocompromiso, con la consiguiente mayor predisposición a infecciones. Asimismo, cuando se presenta en adultos requiere internación en salas de cuidados críticos y también presenta elevada tasa de mortalidad (37,38).

La inmunidad innata, a través de las CK y otros mediadores solubles, juega un rol central en la sepsis, tanto en la defensa, ya que este tipo de infección no otorga tiempo al desarrollo de la inmunidad específica, como en la fisiopatogenia, cuando se produce un desbalance entre la producción de CK proinflamatorias y antiinflamatorias. (39-42) Las endotoxinas o exotoxinas bac-

terianas estimulan la liberación local y sistémica de mediadores inflamatorios endógenos, entre los cuales se han detectado CK, principalmente proinflamatorias, como TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-17 (43-44). La producción y liberación de estos mediadores puede inducir la respuesta inflamatoria sistémica característica de la fase inicial de la sepsis (45,46).

Además de estar involucradas en la patogenia de la sepsis y ser causantes principales del shock séptico, la determinación de los niveles plasmáticos de CK ha sido propuesta como biomarcadores de sepsis. (47,48) En nuestro grupo de trabajo (49), observamos que IL-6 se encuentra significativamente elevada a nivel sistémico en neonatos con sepsis confirmada por hemocultivo y parámetros clínicos, y en sepsis muy probable (más de tres parámetros clínicos acordes con sepsis y hemocultivo negativo) respecto a los grupos de neonatos con sepsis probable (menos de tres parámetros clínicos) y no sépticos. Además, la cinética de concentración plasmática de IL-6 se asoció significativamente a evolución clínica. En efecto, en los pacientes con elevación de IL-6 no hubo buena evolución, en cambio, cuando esta CK disminuyó sus niveles sistémicos durante las primeras 48 hs desde el momento del ingreso, los niños presentaron una buena respuesta. Para interpretar estos resultados se debe tener en cuenta la corta vida media de IL-6. Los mismos son consistentes con la descripción efectuada por Ceccon y col (50) quienes afirman que en neonatos, la sepsis severa se caracteriza por la persistencia de mediadores proinflamatorios hasta el tercer día; en cambio en los pacientes que evolucionan bien sólo se encuentran elevados el día del diagnóstico.

Respecto a la utilización como biomarcadores, los cuales se discutirán en conjunto más adelante, Ng y Lam (51) afirma que el estudio de CK proinflamatorias como las mencionadas, e incluso de CK antiinflamatorias, puede ser útil como biomarcadores diagnósticos y predictores de severidad en estadios precoces de la infección. La elevación de CK antiinflamatorias como IL-10 y TGF- β podría deberse a un intento del organismo de compensar el estado de inflamación extrema producido por TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17 entre otras (52) y así restaurar el balance inmunológico.

Otros mediadores dignos de mencionarse, estudiados en nuestro Laboratorio, fue el sistema IL-2 y su receptor soluble (sIL-2R). La cinética de los niveles de este receptor fue inversa a la mostrada con IL-6. En efecto, en los niños con buena evolución, los niveles aumentaron en las muestras tomadas a las 48 hs del diagnóstico, mientras que en los niños que tuvieron un desenlace fatal descendieron significativamente. Estos resultados pueden interpretarse en forma similar a lo expresado respecto a CK antiinflamatorias, ya que los receptores solubles, tanto de IL-2, como de TNF- α y otros, actúan como antagonistas de las respectivas CK, neutralizando su acción proinflamatoria(5,49)

En nuestro grupo también se realizó un estudio en pacientes adultos que ingresaban a la Unidad de Terapia Intensiva por sospecha clínica de sepsis. En este trabajo, orientado principalmente al análisis del estrés inducido por sepsis y su influencia sobre los valores de cortisol, se observó una clara elevación de los niveles de IL-1 β en aquellos pacientes donde se confirmó el estado de sepsis por parámetros clínicos y microbiológicos (53). Esta diferencia

en los niveles de IL-1 β entre pacientes sépticos y no sépticos sólo se observó cuando la muestra se obtuvo dentro de

las primeras 24 hs de internación. En las restantes muestras, tomadas en días subsiguientes, luego de la administración de antibióticos y con buena evolución en la mayoría de los pacientes, los niveles de IL-1 β descendieron y no mostraron diferencias significativas entre los grupos estudiados. Este resultado podría deberse también a la corta vida media de IL-1 β , la buena evolución de la generalidad de los pacientes y la demostrada influencia del cortisol sobre los niveles de IL-1 β y otras CK proinflamatorias.(54,55) Es interesante destacar que como en el caso de las CK antiinflamatorias y los receptores solubles, la elevación del cortisol puede interpretarse como la respuesta del organismo para tratar de disminuir la respuesta inflamatoria exacerbada (53,54) .

Citoquinas en infección chagásica

La Enfermedad de Chagas es una de las principales endemias que afectan a los países de América Latina, donde el número de personas infectadas oscila en 16 millones, según las fuentes, y los individuos en riesgo alcanzan a 90 millones aproximadamente (56). Además existen nuevos escenarios que incluyen la urbanización y globalización de la enfermedad (57,58) debido a migraciones y transmisión interhumana, por vía congénita (59), transfusional y trasplantes, sumado a la emergencia de la vía digestiva que está adquiriendo cada vez mayor importancia epidemiológica (60-61).

La fase aguda transcurre en la mayoría de los casos en forma asintomática u oligosintomática, aunque en algunos pacientes puede revestir gravedad, asociada generalmente a inmunocompromiso del individuo

infectado, como desnutrición y HIV principalmente. Se ha postulado que para instalarse y diseminarse en el organismo, el *Trypanosoma cruzi* induciría cierto grado de inmunosupresión aunque leve y transitoria, (62). Por otra parte, ocurren eventos inmunológicos y un estado proinflamatorio también autolimitado pero en el que están involucradas CK y otros mediadores inflamatorios (63-65).

Una característica de la Enfermedad de Chagas es que luego la fase aguda, transcurren muchos años, décadas habitualmente, durante los cuales el parásito y el huésped coexisten sin síntomas ni daños aparentes para este último. Sin embargo, el 30% de los infectados, desarrolla patología fundamentalmente a nivel cardíaco, o digestivo alrededor de la cuarta década de vida (66). Este rasgo distintivo ha dado lugar a dos hipótesis principales: la patología autoinmune, por anticuerpos y Li T dirigidos contra epitopes compartidos entre el *T. cruzi* y el huésped, y la hipótesis de que el daño es ocasionado por el propio parásito (67). Posiblemente lo que ocurra sea una combinación de ambos factores, pero lo que se ha comprobado es una alteración del sistema inmune y un estado inflamatorio con participación de varias CK. Así diferentes grupos de investigación reportan un perfil que incluye niveles significativamente elevados de CK proinflamatorias IFN- γ , IL-6, TNF- α , e incluso IL-10 en pacientes con severa cardiomiopatía de origen chagásico (68-71).

a- CK en infección chagásica humana

En estudios realizados in vitro, cocultivando tripomastigotes de *T. cruzi* con Li humanos normales observamos que el parásito inhibe la expresión de IL-2R en Li activados y que, aparentemente, esta inhibi-

ción no se debería al incremento en la liberación del receptor desde la superficie celular, sino a inhibición de su síntesis (72). Esta hipótesis, sin embargo, no fue corroborada en niños con infección chagásica aguda, en los cuales obtuvimos un resultado contradictorio. En efecto, encontramos un significativo incremento de sIL-2R en sangre periférica (73). Ello demuestra una vez más que las conclusiones obtenidas en ensayos "in vitro" no siempre pueden extrapolarse a lo que ocurre realmente durante la infección humana, ya que las condiciones son totalmente diferentes, dentro de una placa de cultivo con células aisladas, con respecto a lo que ocurre en el organismo, en un microambiente donde se producen innumerables interacciones regulatorias entre células y mediadores solubles, que direccionan el resultado de la interacción huésped-parásito.

En el mismo trabajo realizado en niños con infección chagásica, demostramos que durante el período agudo de la infección existe un incremento significativo de CK proinflamatorias, específicamente IL-6 y TNF- α , respecto a niños con infección crónica y no infectados. El tratamiento antiparasitario se asoció a normalización de los niveles séricos tanto de las CK estudiadas como del receptor soluble para IL-2.

b- CK en infección chagásica experimental

Citoquinas proinflamatorias y su relación con la evolución de la infección con *T. cruzi*, en ratones vacunados o no con *T. rangeli*:

Se ha demostrado que en la infección experimental con *T. cruzi* a ratones, como en la mayoría de los procesos infecciosos, existe una gran movilización de CK, principalmente proinflamatorias como IL-1, IL-6, IFN- γ , TNF- α , las cuales tienen efectos infla-

matorios, caquexia, y muchas veces participan en la fisiopatogenia de la Enfermedad de Chagas. Asimismo, se ha observado que otras CK como IL-12 e IL-10, están disminuidas, lo cual facilita la evolución desfavorable de la infección, llegando en algunos casos a ocasionar la muerte de los animales (74).

En nuestro Laboratorio también hemos demostrado que en modelos de vacunación de ratones con *Trypanosoma rangeli*, parásito no patógeno para el hombre, se previene la infección contra *T. cruzi*, despertando una importante respuesta inmune innata y adaptativa, con una significativa modulación de los niveles de CK, con respecto al grupo control sólo infectado. Estos resultados se observaron tanto a nivel plasmático, como en líquido peritoneal (sitio de la infección) ya desde las primeras horas post infección (75). En efecto, la vacunación indujo respuesta inmune innata, humoral y celular frente a antígenos del *T. cruzi* y confirió protección con memoria frente a la infección contra este parásito, medida por disminución de parasitemia, ausencia de lesiones histopatológicas y alta tasa de sobrevivencia (76-77). Esta protección se asocia con disminución de CK proinflamatorias (IL-6 y TNF- α) e incremento de IL-10, CK antiinflamatoria (74) Además, la elevación de esta última se correlacionó con bajos niveles de parasitemia. Este mismo esquema de inmunización preservó la producción de IFN- γ , CK involucrada en la protección en la Enfermedad de Chagas experimental y un incremento de la relación molar IFN- γ /IL-10, (predominio de TH1), además de un aumento de receptores solubles R I y R II de TNF- α . Esto último, como ya ha sido mencionado, indujo una neutralización de la acción deletérea del TNF- α .

Además también fue observado en el grupo de ratones vacunados un incremento significativo de IL12 (76), considerando que los altos niveles de esta CK en los animales vacunados, puede ser un posible puente entre la respuesta inmune innata y adaptativa. Ambas respuestas están acompañadas de una intrincada red de CK y receptores Solubles, cuyo balance fue modulado por la vacunación, permitiendo la resolución de la infección (78,79).

Es de destacar que los niveles de CK observados en el curso de la infección en los ratones solo infectados con *T. cruzi*, permiten predecir el curso que va a seguir la infección, hecho ya observado en sepsis bacterianas.

Asimismo, es importante señalar que la protección inducida en este modelo experimental fue observada con tres cepas de *T. rangeli* de diferente origen (80). y en tres especies de animales, ratones, cobayos y perros, reservorios del *T. cruzi* (81,82). Además, la protección no fue alterada por el estrés inducido en los animales. (Datos no publicados)

En resumen, la vacunación con *T. rangeli* en ratones, previo a la infección con *T. cruzi* está asociada a un perfil característico de CK, receptores y mediadores solubles, con un adecuado equilibrio entre las CK TH1 y TH2.

Citoquinas como biomarcadores

Un aspecto complementario en el estudio de CK es su posible utilización como biomarcadores diagnósticos y evolutivos de infecciones. En este sentido, para que un biomarcador sea de utilidad clínica en infectología debe reunir una serie de requisitos, entre los cuales se pueden citar:

- Ser dosable en materiales biológicos, principalmente plasma o suero, por métodos confiables, de realización simple y costo accesible

- Poseer una vida media adecuada. Si la vida media es muy breve dificulta la detección de sus variaciones en relación a la clínica.

- Tener adecuada sensibilidad, especificidad diagnóstica y valor predictivo

- Mostrar modificaciones en su concentración que se asocien al estado clínico, en el caso de biomarcadores evolutivos

Respecto a la posible utilidad de las CK como biomarcadores, tienen la desventaja de su corta vida media, por lo cual, en caso de utilizarse, debe tenerse en cuenta esta propiedad, que disminuye su sensibilidad y valor predictivo y puede arrojar falsos resultados negativos. Sin embargo, de resultados obtenidos por otros autores y nuestros estudios, algunos de los cuales fueron expuestos en esta revisión, surge que su empleo puede ser de utilidad en ciertos casos como vaginosis y vaginitis en embarazadas (19), sepsis (49,53,83,84), si bien existen algunos biomarcadores como procalcitonina (85) que actualmente son más utilizados. Asimismo, en algunos casos especiales podrían ser de utilidad como marcadores evolutivos en Enfermedad de Chagas (73,76)

Si bien hasta el presente las CK no son todavía empleadas rutinariamente, ya que no reúnen todavía todas las condiciones enumeradas, el trayecto está abierto para algunas de ellas.

Conclusiones

El sistema inmune innato, a través de las CK y otras células y moléculas, puede actuar, como lo hace la inmunidad adapta-

tiva en las enfermedades autoinmunes, en contra del individuo que las produce. En efecto, en patologías infecciosas, las CK intervienen activamente en la patogenia de la enfermedad siendo a veces, su excesiva producción y actividad inflamatoria causa de desenlace fatal.

Es importante, además de la administración de la terapéutica correspondiente, tratar de modular la actividad de las CK para que éstas cumplan su función en la respuesta inmune innata y adaptativa, favoreciendo al huésped y de esa forma impedir la producción excesiva de CK proinflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α entre otras, e inducir la síntesis de CK antiinflamatorias.

En resumen, los resultados observados en las infecciones humanas y experimentales, estimulan a proseguir con investigaciones de CK involucradas en los procesos infecciosos. De esta forma, se podrá avanzar en el conocimiento de su rol en la resistencia como así también en la patogénesis de estas enfermedades, y quizá explorar la posible utilidad de las mismas y sus receptores solubles como biomarcadores evolutivos de infección.

Referencias bibliográficas

1. Fresno, M.; Kopf, M.; Rivas, L., 1997. Cytokines and infectious diseases. *Immunol. Today*. **18**: 56-58.
2. Raghupathy, R.; Kalinka, J., 2008. Cytokine imbalance in pregnancy complications and its modulation. *Front Biosci*.13: 985-994. doi: 10.2741/2737.
3. Wilson, M.; Seymour, R.; Henderson, B., 1998. Bacterial perturbation of cytokine networks. *Infect. Immun.* **66**: 2401-2409.
4. Olson, I.; Gatanaga, T.; Gulberg, U.; Lantz, M.; Granger, G.A., 1993. Tumor necrosis fac-

- tor (TNF) binding proteins (soluble TNF receptor forms) with possible roles in inflammation and malignancy. *Eur. Cytokine Netw.* **4**: 169-180.
- 5.** Moretti, E.; Basso, B., 2005. Enfermedad de Chagas. Los receptores solubles como reguladores de la actividad biológica del Factor de Necrosis Tumoral. Publicación como Expertos Invitados en Temas Maestros, Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC). Web sitio siic.com
- 6.** Weaver, C. T.; Hatton, R. D.; Mangan, P. R.; Harrington, L. E., 2007. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annual Review of Immunology.* **25**: 821–852.
- 7.** Flierl, M. A.; Rittirsch, D.; Gao, H.; Hoesel, L.M.; Nadeau, B.A.; Day, D.E.; Zetoune, F.S.; Sarma, J.V.; Huber-Lang, M.S.; Ferrara, J.L.; Ward, P.A., 2008. Adverse functions of IL-17A in experimental sepsis. *FASEB Journal.* **22**: 2198–2205.
- 8.** Garcia-Ruíz G., Flores-Espinosa P, Preciado-Martínez E.; Bermejo-Martínez, L.; Espejel-Nuñez, A.; Estrada-Gutierrez, G.; Maida-Claros, R.; Flores-Pliago, A.; Zaga-Clavellina, V., 2015. In vitro progesterone modulation on bacterial endotoxin-induced production of IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8, IL-10, MIP-1 α , and MMP-9 in pre-labor human term placenta. *Reprod Biol Endocrinol.* **13**: 115-22.
- 9.** Gomez, R.; Ghezzi, F.; Romero, R.; Munoz, H.; Tolosa, J.E.; Rojas, I., 1995. Trabajo de parto prematuro e infección intraamniótica. Aspectos clínicos y función de las citoquinas en el diagnóstico y la fisiopatología. *Clin. Perinatol. Norteam.* **2**: 257-326.
- 10.** Gomez, R.; Romero, R.; Ghezzi, F.; Yoon, B.H.; Mazor, M.; Berry, S., 1998. The fetal inflammatory response syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **179**: 194-202.
- 11.** Romero, R.; Gomez, R.; Ghezzi, F.; Yoon, B.H.; Mazor, M.; Edwin, S.; Berry, S., 1998. A fetal systemic inflammatory response is followed by the spontaneous onset of preterm parturition. *Am.J.Obstet. Gynecol.* **179**: 186-193.
- 12.** Romero, R.; Dey, S.K.; Fisher, S.J., 2014. Preterm labor: one syndrome, many causes. *Science.* **345**: 760–765. doi: 10.1126/science.
- 13.** Yoon, B.H.; Romero, R.; Moon, J.B.; Shim, S.S.; Kim, M.; Kim, G.; Jun, J.K., 2001. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **185**: 1130–1136.
- 14.** Ito, A.; Imada, K.; Sato Tkubo, T.; Matsushima, K.; Mori, Y., 1994., Suppression of IL-8 production by progesterone in rabbit uterine cervix. *Biochem. J.* **301**: 183-186.
- 15.** Winkler, M.; Rath, W.; Van Der Leur, E.; Haubeck, H.D., 2000. Regulation of IL-8 synthesis in human lower uterine segment fibroblasts by cytokines and growth factors. *Obstetrics & Gynecology.* **94**: 584-588.
- 16.** Maymon, E.B.; Ghezzi, F.; Edwin, S.; Mazor, M.; Yoon, B.H.; Gomez, R.; Romero, R., 1999. The tumor necrosis factor α and its soluble receptor profile in term and preterm parturition. *Am.J.Obstet. Gynecol.* **181**: 1142-1148.
- 17.** Menon, R.; Peltier, M.R.; Eckardt, J.; Fortunato, S.J., 2009. Diversity in cytokine response to bacteria associated with preterm birth by fetal membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **201**: 306 e301–306.
- 18.** Peltier, M.R.; Faux, D.S.; Hamblin, S.D.; Silver, R. M.; Esplin, M.S., 2010. Cytokine production by peripheral blood mononuclear cells of women with a history of preterm birth. *J. Reprod. Immunol.* **84**: 111–116.
- 19.** Basso, B.; Gimenez, F.; Lopez, C., 2005. IL-1 beta, IL-6 and IL-8 levels in gynecobstetric infections. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* **13**: 207-211.
- 20.** Romero, R.; Gomez, R.; Chaiworapongsa, T.; Conoscenti, G.; Kim, J.C.; Kim, Y.M. 2001. The role of infection in preterm labour and delivery. *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* **15**: 41–56.
- 21.** Agrawal, V.; Hirsch, E., 2012. Intrauterine

- infection and preterm labor. *Semin. Fetal Neonatal Med.* **17**: 12–19.
- 22.** Gomez, R.; Ghezzi, F.; Romero, R.; Munoz, H.; Tolosa, J.E.; Rojas, I. 1995. Trabajo de parto prematuro e infección intraamniótica. Aspectos clínicos y función de las citoquinas en el diagnóstico y la fisiopatología. *Clin. Perinatol. Norteam.* **2**: 257-326.
- 23.** Stephen, F.; Menom, R.; Lombardi, S., 1998. The effect of transforming growth factor and IL10 on IL8 release by human amniochorion may regulate histologic chorioamnionitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **179**: 794-799.
- 24.** Wenstrom, K.D.; Andrews, W.W.; Hauth, J.C.; Goldenberg, R.L.; DuBard, M.B.; Cliver, S.P., 1998. Elevated second-trimester amniotic fluid interleukin-6 levels predict preterm delivery. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **178**: 546–550.
- 25.** Figueroa-Damian, R.; Arredondo-Garcia, J.L.; Mancilla-Ramirez, J., 1999. Amniotic fluid IL6 and the risk of early – onset sepsis among preterm infants. *Arch. Med. Res.* **30**: 198-202.
- 26.** Rizzo, G.; Capponi, A.; Rinaldo, D.; Tedeschi, D.; Arduini, D.; Romanini, C., 1996. IL6 concentrations in cervical secretions identify microbial invasion of the amniotic cavity in patients with preterm labor and intact membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **175**: 812-817.
- 27.** Romero, R.; Gomez, R.; Ghezzi, F.; Yoon, B.H.; Mazor, M.; Edwin, S.S.; Berry, S.M., 1998. A fetal systemic inflammatory response is followed by the spontaneous onset of preterm parturition. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **179**: 186-193.
- 28.** Zhuang, Y.; Cui, H.; Liu, S.; Zheng, D.; Liu, C., 2015. Progesterone receptor B promoter hypermethylation in human placenta after labor onset. *Reprod. Sci.* **22**: 335–342.
- 29.** Wasielea Krzemiński, Z.; Kalinka, J.; Brzezińska-Błaszczyk, E., 2005. Correlation between levels of selected cytokines in cervico-vaginal fluid of women with abnormal vaginal bacterial flora *Med Dosw Mikrobiol.* **57**: 327-33.
- 30.** Cobo, T.; Kacerovsky, M.; Holst, R.M.; Hougaard, D.M.; Skogstrand, K.; Wennerholm, U.B.; Hagberg, H.; Jacobsson, B., 2012. Intra-amniotic inflammation predicts microbial invasion of the amniotic cavity but not spontaneous preterm delivery in preterm prelabor membrane rupture. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica.* **91**: 930–935.
- 31.** Zaga-Clavellina, V.; Flores-Espinosa, P.; Pineda-Torres, M.; Sosa-González, I.; Vega-Sánchez, R.; Estrada-Gutierrez, G.; Espejel-Núñez, A.; Flores-Pliego, A.; Maida-Claros, R.; Estrada-Juárez, H.; Chávez-Mendoza, A., 2014. Tissue-specific IL-10 secretion profile from term human fetal membranes stimulated with pathogenic microorganisms associated with preterm labor in a two-compartment tissue culture system. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **27**: 1320–1327.
- 32.** Romero, R.; Manogue, K.R.; Mitchell, M.D.; Wu, Y.K.; Oyarzun, E.; Hobbins, J.C.; Cerami, A., 1989. Infection and labor. IV. Cachectin-tumor necrosis factor in the amniotic fluid of women with intraamniotic infection and preterm labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **161**: 336–341.
- 33.** Sadowsky, D.W.; Adams, K.M.; Gravett, M.G.; Witkin, S.S.; Novy, M.J., 2006. Preterm labor is induced by intraamniotic infusions of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha but not by interleukin-6 or interleukin-8 in a nonhuman primate model. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **27**: 1320-1327.
- 34.** Gravett, M.G.; Witkin, S.S.; Haluska, G.J.; Edwards, J.L.; Cook, M.J.; Novy, M.J., 1994. An experimental model for intraamniotic infection and preterm labor in rhesus monkeys. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **171**: 1660–1667.
- 35.** Patni, S.; Wynen, L.P.; Seager, A.L.; Morgan, G.; White, J.O.; Thornton, C.A., 2009. Expression and activity of Toll-like receptors 1-9 in the human term placenta and changes associated with labor at term. *Biol. Reprod.* **80**: 243–248.
- 36.** Goldstein, B.; Giroir, B.; Randolph, A., 2005. International pediatric sepsis consensus con-

ference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics, *Pediatric Critical Care Medicine*. **6**: 2–8.

37. Rangel-Frausto, M. S.; Pittet, D.; Costigan, M.; Hwang, T.; Davis, C.S.; Wenzel, R.P., 1995. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS): a prospective study. *J. Am. Med. Association*. **273**: 117–123.

38. Aziz, M.; Jacob, A.; Yang, W. L.; Matsuda, A.; Wang, P., 2013. Current trends in inflammatory and immunomodulatory mediators in sepsis. *J. Leukocyte Biology*. **93(3)**: 329–342.

39. Ng, P.C.; Li, K.; Wong, R.P.O.; Chui, K.; Wong, E.; Li, G.; Fok, T.F., 2003. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine responses in preterm infants with systemic infections. *Arch. Disease Childhood: Fetal and Neonatal Edition*, **88**: F209–F213.

40. Cohen, J., 2002. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*. **420**: 885–891.

41. Gentile, L. F.; Nacionales, D.C.; Lopez, M.C.; Vanzant, E.; Cuenca, A.; Cuenca, A.G.; Ungaro, R.; Szpila, B.E.; Larson, S.; Joseph, A.; Moore, F.A.; Leeuwenburgh, C.; Baker, H.V.; Moldawer, L.L.; Efron, P.A., 2014. Protective immunity and defects in the neonatal and elderly immune response to sepsis. *J. Immunol*. **192**: 3156–3165.

42. Schulte, W.; Bernhagen, J.; Bucala, R., 2013. Cytokines in sepsis: potent immunoregulators and potential therapeutic targets—an updated view. *Mediators of Inflammation*, Article ID 165974, 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/165974>

43. Junger, W.G.; Hoyt, D.B.; Liu, F.C.; Loomis, W.H.; Coimbra, R., 1996. Immunosuppression after endotoxin shock: the result of multiple anti-inflammatory factors. *J. Trauma: Injury Infection & Critical Care*. **40**: 702–708.

44. de Jong, H.K.; van der Poll, T.; Wiersinga, W.J., 2010. The systemic pro-inflammatory response in sepsis. *Journal of Innate Immunity*. **2**: 422–430.

45. Reis Machado, J.; Figueiredo Soave, D.; da Silva, M.V.; Borges de Menezes, L.; Etchebere, R.M.; Gonçalves dos Reis Monteiro, M.L.; dos Reis, M.A.; Miranda Corrêa, R.R.; Nunes Celes, MR., 2014. Neonatal Sepsis and Inflammatory Mediators. *Mediators of Inflammation* Vol. 2014, Article ID 269681. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/269681>.

46. Simonsen, K. A.; Anderson-Berry, A.L.; Delair, S.F.; Dele Davies, S.F., 2014. Early-onset neonatal sepsis. *Clin. Microbiol Rev*. **27**: 21–47.

47. Prashant, A.; Vishwanath, P.; Kulkarni P.; Sathya Narayana, P.; Gowdara, V.; Nataraj, S.M.; Nagaraj, R., 2013. Comparative assessment of cytokines and other inflammatory markers for the early diagnosis of neonatal sepsis—a case control study. *PLoS ONE*, vol 8, no. 7, Article ID e68426, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0068426.

48. Bloos, F.; Reinhart, K., 2014. Rapid diagnosis of sepsis. *Virulence*. **5**: 154–160.

49. Moretti, E.; Baigorria, S.; Manzanares, L.; Moya, P.; Basso, B., 2000. Interleuquina 6, Receptor soluble de Interleuquina 2 y Proteína C Reactiva como marcadores de Sepsis neonatal. *Acta Bioq. Clin. Latinoam*. **1**: 5–18.

50. Ceccon, M. E., 2008. Novas perspectivas na sepse neonatal. *Pediatria*. **30**: 198–202.

51. Ng, P.; Lam, H.S., 2010. Biomarkers for late-onset neonatal sepsis: cytokines and beyond. *Clinics in Perinatology*. **37**: 599–610.

52. Cohen J. 2002. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*. **40**: 885–891.

53. Gaydou, L.; Bertuzzi, R.; Moretti, E., 2009. La sepsis como estresor: asociación con los niveles séricos de Cortisol, Proteína C Reactiva e Interleuquina 1beta. *Acta Bioq. Clín. Latinoam*. **43**: 299–305.

54. Chrousos, G., 1995. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune mediated inflammation. *New Eng, J, Med*. **332**: 1351–63.

- 55.** O'Neill, L.A.J. 2008. The interleukin-1 receptor/toll-like receptor superfamily: 10 years of progress. *Immunological Reviews*. **226**: 10–18.
- 56.** Coura, J.R., 2007. Chagas disease: what is known and what is needed - A background article. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. **102**: 113-122.
- 57.** Basso, B.; Moretti, B., 2012. Enfermedad de Chagas: de exótica patología tropical a enfermedad globalizada. *Rev. Medicina y cine*. **8**: 4-11.
- 58.** Franco-Paredes, C.; Bottazzi, M.; Hotez, P., 2009. The unfinished public health agenda of Chagas disease in the era of globalization. *Plos* **3**(7). e 470.
- 59.** Moretti, E.; Basso, B.; Moya, P.R., 2007. Enfermedad de Chagas congénita: Avances y perspectivas. *La Enfermedad de Chagas a la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral*. Editorial Organización Panamericana de la Salud. Pag 167 – 178.
- 60.** Yoshida, N., 2008. *Trypanosoma cruzi* infection by oral route: how the interplay between parasite and host components modulates infectivity. *Parasitol. Int*. **57**: 105.109.
- 61.** De Meis, J.; Barreto de Albuquerque, J.; Silva dos Santos, D.; Farias-de-Oliveira, D.A.; Berbert, L.R.; Cotta-de-Almeida, V.; Savino, W., 2013. *Trypanosoma cruzi* entrance through systemic or mucosal infection sites differentially modulates regional immune response following infection in mice. *Frontiers in Immunology* **4**: 216-221.
- 62.** Kierszenbaum, F.; Moretti, E.; Szein, M., 1991. *Trypanosoma cruzi* induces suppression of DNA synthesis and inhibits expression of interleukin-2 receptors by stimulated human B lymphocytes. *Immunology*. **74**: 317-322.
- 63.** Abrahamsohn, I.A.; Coffman, R.L., 1996. *Trypanosoma cruzi*. IL-10, TNF, IFN- γ , and IL-12 Regulate Innate and Acquired Immunity to Infection. *Exp. Parasitol.* **84**: 231–44.
- 64.** Basso, B.; Cervetta, L.; Moretti, E., 2002. Experimental Chagas disease :The protection induced by immunization with *Trypanosoma rangeli* is associated with down-regulation of IL-6, TNF and IL-10 synthesis. *Acta Parasitológica*. **47**: 73-78.
- 65.** Perez Vazquez, B.; Perez Vazquez, T.; Botelho, M. C.; Wellington, F.R.; Tays Mendes, M.; Freire de Oliveira, C.J.; Lazo Chicaet, J.E.; 2015. Inflammatory responses and intestinal injury development during acute *Trypanosoma cruzi* infection are associated with the parasite load. *Parasit. Vectors* **8**: 206-211.
- 66.** Manual de Chagas. Enrique Manzullo. <http://enfermedadchagas.com.ar>.
- 67.** Tarleton, R.L.; Zhang, L., 1999. Chagas disease etiology: autoimmunity or parasite persistence?. *Parasitology today*. **15**: 94-99.
- 68.** Keating, S.M.; Deng, X.; Fernandes, F.; Cunha-Neto, E.; Ribeiro, A.L.; Adesina, B.; Beyer, A.I.; Contestable, P.; Custer, B.; Busch, M. P.; Sabino, E.C., 2015. Inflammatory and cardiac biomarkers are differentially expressed in clinical stages of Chagas disease. *Int. J. Cardiol.* **199**: 451-459.
- 69.** Vasconcelos, R. H.; Azevedo, E. de A.; Diniz, G.T.; Cavalcanti, Mda. G.; de Oliveira, W. Jr.; de Moraes, C.N.; Gomes, Y. de M., 2015. Interleukin-10 and tumour necrosis factor-alpha serum levels in chronic Chagas disease patients. *Parasite Immunol.* **37**: 376-379.
- 70.** Golgher, D.; Gazzinelli, R.T., 2004. Innate and acquired immunity in the pathogenesis of Chagas disease. *Autoimmunity*. **37**: 399-409.
- 71.** Rodriguez, D.B.; dos Reis, M.A.; Romano, A.; de Lima Pereira, S.A.; Antunes Teixeira, V. de P.; Tostes, S. Jr.; Virmondos Rodrigues, V. Jr., 2012. In situ expression of regulatory cytokines by heart inflammatory cells in Chagas' disease patients with heart failure. *Clin. Develop. Immunology*. 2012. Article ID 361730. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/361730>
- 72.** Kierszenbaum, F.; Moretti, E.; Szein, M., 1993. Molecular basis of *Trypanosoma cruzi* induced immunosuppression. Altered expression

by activated human lymphocytes of molecules which regulate antigen recognition and progression through the cell cycle. *Biological Research*. **26**: 197-207.

73. Moretti, E.; Basso, B.; Cervetta, L.; Brigada, A.; Barbieri, G., 2002. Patterns of cytokines and soluble cellular receptors in the serum of children with acute Chagas' disease *Clinical Diagn. Lab. Immunology*. **9**: 1324-1327.

74. Marini, V.; Basso, B., 2010. Mediadores solubles liberados por la infección con *Trypanosoma cruzi* podrían desencadenar mecanismos de fisiopatogenia en la enfermedad de Chagas experimental. *Archivos de Alergia e Inmunología Clínica*. **41**: 61-87.

75. Marini, V.; Moretti, E.; Bermejo, D.; Basso, B., 2011. Vaccination with *Trypanosoma rangeli* modulates the profiles of immunoglobulins and IL-6 at local and systemic levels in the early phase of *Trypanosoma cruzi* experimental infection. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. **106**: 32-37.

76. Basso, B.; Cervetta, L.; Moretti, E.; Carlier, Y.; Truyens, C., 2004. Acute *T. cruzi* infection: IL-12, IL-18, TNF, sTNFR and NO in *T. rangeli*-vaccinated mice. *Vaccine*. **22**: 1868-1872.

77. Basso, B.; Marini, V., 2014. Experimental Chagas disease. Innate immune response in Balb/c mice previously vaccinated with *Trypanosoma rangeli*. I. The macrophage shows immunological memory: Reality or fiction? *Immunobiology*. 275-84. doi: 10.1016/j.imbio.2013.10.012. Epub 2013 Nov 8.

78. Basso, B.; Marini, V., 2015. The innate immune response shows immunological memory. Reality of fiction?. *Immunobiology*. **220**: 428-436.

79. Basso, B.; Moretti, E.; Fretes, R., 2008. Vaccination with fixed epimastigotes of different strains of *Trypanosoma rangeli* protects mice against *Trypanosoma cruzi* infection. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. **103**: 370-374.

80. Basso, B.; Castro, I.; Introini, V.; Gil, P.; Truyens, C.; Moretti, E., 2007. Vaccination with *Trypanosoma rangeli* reduces the parasite burden of dogs infected with *Trypanosoma cruzi*, leading to lower infection rate of the vector *Triatoma infestans*. *Vaccine* **25**: 3855-3858.

81. Basso, B.; Moretti, E.; Fretes, R., 2013. Vaccination with *Trypanosoma rangeli* induces resistance of guinea pigs to virulent *Trypanosoma cruzi*. *Vet. Immunol. Immunopathol*. **157**: 119-123.

82. Basso, B., 2013. Modulation of immune response in experimental Chagas disease. *World J Exp. Med*. **20**: 1-10.

83. Henriquez-Camacho, C.; Losa, J., 2014. Biomarkers for sepsis. *BioMed Research. International*. Doi:10.1155/2014/547818.

84. Downes, K.J.; Shah, S., 2012. Biomarkers in infectious diseases. doi:10.1093/jpids/pis099.

85. Karlsson, S.; Heikkinen, M.; Pettilä, V.; Alila, S.; Väisänen, S.; Pulkki, K.; Kolho, E.; Ruokonen, E., 2010. Predictive value of procalcitonin decrease in patients with severe sepsis: a protective observational study. *Critical care*. **14** (6, Article R 205) doi: 10.1186/cc9327