

Concentraciones plasmáticas de fibronectina como marcador de evolución en pacientes sépticos

Guadalupe Ruiz^a, Jorge Veiga^b, M^a Luisa Gómez-Lus^a, Santiago García-Carbajosa^c y José Prieto^a.

^aDepartamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. ^bCentro Nacional de Epidemiología. Madrid.

^cSección de Microbiología. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital General de Segovia. Segovia.

INTRODUCCIÓN. El seguimiento clínico de los pacientes sépticos presenta numerosas dificultades debido a la presencia de enfermedades de base o la aparición de complicaciones. En la práctica diaria el clínico necesita conocer lo antes posible la respuesta del organismo tras la instauración de un tratamiento antibiótico empírico. Este hecho impulsa a la búsqueda constante de nuevos biomarcadores capaces de indicar o, por lo menos orientar, sobre la situación, a tiempo real, del paciente infectado.

La fibronectina es una proteína cuya concentración plasmática ha mostrado ser una buena herramienta en el diagnóstico precoz de la sepsis; por tanto, nos planteamos su posible empleo en la monitorización clínica de este tipo de pacientes.

MATERIAL. Se diseña un estudio de seguimiento de la concentración plasmática de fibronectina en pacientes sépticos ingresados en el hospital de Segovia durante los meses de febrero a agosto de 1995. Como grupos de comparación se preparan dos: uno constituido por controles de patología variada y otro de controles sanos.

RESULTADOS. Aplicando la prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni, se muestra que la fibronectina plasmática se comporta como un reactante negativo de fase aguda cuya concentración se mantiene prácticamente indetectable en el tiempo mientras el paciente no mejora y que cuando el tratamiento es eficaz, dos días después, ya se obtienen incrementos significativos.

CONCLUSIONES. La concentración plasmática de fibronectina como determinación aislada o formando parte de un sistema de score podría tener utilidad en el seguimiento clínico de los pacientes sépticos.

Palabras clave: sepsis, evolución clínica, biomarcadores, diagnóstico precoz, fibronectina.

Plasmatic concentrations of fibronectin as marker of clinical course among septic patients

INTRODUCTION. It is difficult to follow up the patients with sepsis because of the underlying pathology or the presence of complications. The attending physician needs to know as soon as possible the response to the antibiotic therapy. It is therefore necessary to find real time biological markers that will help to understand the clinical situation of the infected patient.

It has been demonstrated that fibronectin (Fn) is an early marker of sepsis, so it seemed plausible its use in the clinical monitoring of the septic patient.

MATERIAL. We have used plasmatic concentrations of Fn in the follow up of septic patients admitted to the Hospital de Segovia from February to August, 1995. There were two control groups: one of healthy volunteers and another of varied pathology.

RESULTS. We have applied the multiple comparison rule of Bonferroni to demonstrate that plasma Fn is a negative acute phase reactant, with almost undetectable levels while the patient is in critical condition. An effective treatment prompts plasma Fn to rise significantly within two days.

DISCUSSION. Plasma Fn concentration by itself or in an score system could help in the follow up of the septic patients.

Key words: Sepsis, clinical evolution, biological markers, early marker, fibronectin.

Introducción

Se define el término sepsis como la respuesta sistémica del organismo ante la agresión provocada por un agente infeccioso. Ésta es la causa más frecuente de muerte en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) de pacientes no coronarios cuya morbilidad y mortalidad va en aumento. La reciente y masiva aparición en determinadas poblaciones de pacientes en las que antes esta entidad se presentaba esporádicamente se ha relacionado con cambios demográficos, con el empleo de fármacos inmunosupresores y con el indiscriminado consumo de nuevos antimicrobianos muy potentes y de amplio espectro, que han creado resistencias a los antibióticos clásicos.

El diagnóstico clínico de sepsis¹ progugnado por la *American College of Chest Physicians/Society of Critical*

Correspondencia: Dra. Guadalupe Ruiz Martín.
P^o Infanta Isabel, 27, 4^o Dcha
28007 Madrid.

Manuscrito recibido el 1-6-2000; aceptado el 29-11-2000

Enferm Infecc Microbiol Clin 2001; 19: 93-98

Care Medicine (ACCP/SCCM) se basa en la aparición de un cuadro de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) originado por la invasión sistémica de un microorganismo. Se estima que la bacteriemia se confirma mediante cultivo tan sólo en el 45%-48% de los pacientes sépticos², y que en uno de cada siete pacientes no se consigue aislar el patógeno causal de la infección debido al carácter intermitente de la bacteriemia, así como a que en muchos casos los pacientes ya han sido tratados con algún antibiótico de manera empírica con dosis capaces de inhibir el crecimiento *in vitro* sin conseguir erradicar el microorganismo *in vivo*. Asimismo, el hecho de que los cultivos microbiológicos tardan como mínimo dos días en aportar información ha provocado el caos actual en cuanto a manejo de la antibioterapia.

En el momento en el que un microorganismo lesiona un tejido se produce el desprendimiento de productos bacterianos que desencadenan una serie de acontecimientos de naturaleza inflamatoria: la cascada de las citocinas³⁻⁹, los reactantes de fase aguda¹⁰, los metabolitos activos del complemento y los sistemas de coagulación. La secreción de ciertas citocinas como la interleukina-1(IL-1) y el factor de necrosis tisular (TNF- α) hace que se modifique la resistencia y la permeabilidad vascular, el rendimiento cardíaco y la función de la médula ósea. El aumento de TNF- α e IL-1 es un fenómeno de corta duración pero estas dos citocinas proinflamatorias estimulan la producción de otras que son las encargadas de perpetuar la cascada de la inflamación. Particularmente importante es el desprendimiento local del IL-8, la cual activa a los neutrófilos que causan daño tisular y disfunción orgánica. Otros mediadores liberados son IL-6, factor activador de plaquetas, prostaglandinas y leucotrienos. Por otro lado, también se produce la salida al torrente circulatorio de sustancias anticitocinas específicas como son IL-4 e IL-10, que tienen acción fundamentalmente antiinflamatoria disminuyendo la síntesis de IL-1 y TNF- α .

Otra de las funciones de las citocinas es la de producir las señales necesarias en el hígado para que los hepatocitos comiencen a sintetizar las proteínas de fase aguda, que son la primera línea de defensa humoral antes de la reacción inmunitaria, actuando como controladores de la difusión de la inflamación.

El manejo de las citocinas presenta un problema adicional que consiste en la corta vida media que tienen, produciendo una gran variabilidad en el análisis.

La medición de estas sustancias liberadas ayuda a diagnosticar la presencia de una inflamación y monitorizar los cambios durante la actividad inflamatoria. Debido a que muchos procesos diferentes están relacionados con algún tipo de inflamación suele ser necesario el empleo de una batería de parámetros cuya interpretación es muy compleja.

Por tanto, continuamente se están investigando nuevos biomarcadores que con la mayor fiabilidad ayuden a monitorizar mediante extracciones seriadas la situación clínica de los pacientes sépticos, ya que cuando el estado clínico está muy comprometido, incluso médicos muy experimentados no pueden asegurar si la sepsis ha superado el umbral de curación¹¹.

La fibronectina (Fn) es una proteína de elevado peso molecular que desde hace más de una década se relaciona con la infección¹²⁻¹⁹. Es conocido el importante papel

que desempeña la Fn, tanto en su forma soluble en el plasma como en su forma ligada a la superficie de las células formando parte del citoesqueleto, cumpliendo numerosas funciones relacionadas con la defensa ante la agresión de agentes extraños y actuando como mediador en la fagocitosis de bacterias por parte de los macrófagos y neutrófilos²⁰. La Fn interacciona con los fagocitos en casi todas las etapas de la respuesta inflamatoria, ejerciendo un efecto atrayente principalmente frente a los neutrófilos. Posteriormente la acción de las proteasas neutrofílicas da lugar a la producción de fragmentos de Fn que son quimioatrayentes para los monocitos y los neutrófilos en presencia de ácido hialurónico. Asimismo, la Fn favorece la interacción entre las células fagocíticas y las bacterias que han sido opsonizadas por anticuerpos, lo cual aumenta la actividad bactericida de aquéllas. También colabora con el sistema retículo-endotelial en la eliminación de restos de colágeno, plaquetas dañadas y tejidos necróticos²¹. Otra función que realiza es la intervención en el mantenimiento de la integridad vascular y en la curación de heridas promoviendo el proceso de la coagulación sanguínea²².

El objetivo del estudio es mostrar la utilidad de la medición de concentraciones seriadas de Fn plasmática como marcador de evolución clínica en pacientes sépticos.

Material y métodos

Diseño del estudio

Se diseña un estudio prospectivo durante los meses de febrero a agosto de 1995 en el Hospital General de Segovia según el cual todas las peticiones de hemocultivos solicitadas al laboratorio de Microbiología vienen acompañadas de una extracción de plasma heparinizado que se congela a -40°C para posterior determinación de Fn plasmática. De todos los recibidos, se seleccionan como casos los pacientes que cumplen los criterios diagnósticos de sepsis propugnados por la ACCP/SCCM¹, es decir, cuadro de SRIS de probable origen infeccioso que se evidencia cuando en un paciente se dan dos o más de los siguientes signos: a) temperatura corporal superior a 38°C o inferior a 36°C ; b) frecuencia cardíaca mayor de 90 latidos/minuto; c) frecuencia respiratoria superior a 20 respiraciones/minuto y d) recuento de leucocitos superior a $12.000/\text{mm}^3$, inferior a $4.000/\text{mm}^3$ o más de 10% de cayados en la fórmula leucocitaria.

A los pacientes seleccionados se les programa un muestreo de extracciones seriadas para medición de Fn plasmática dos días después, y posteriormente cada cuatro días hasta que se considera que el proceso séptico ha remitido o el paciente fallece.

Se excluyen del estudio todos los pacientes en los que el cuadro séptico se resuelve antes de haber realizado al menos tres extracciones (incluida la que acompaña al hemocultivo) para medición de Fn y aquéllos en los que el clínico sospeche que el cuadro de SRIS es debido a otra causa no relacionada con la infección.

En el análisis estadístico sólo se tienen en cuenta los resultados obtenidos en la primera, segunda y última extracciones de cada caso, descartando los resultados de las mediciones intermedias.

Al mismo tiempo se preparan dos grupos de controles: uno formado por individuos sanos (CS) a los que se les practica una única extracción para la cuantificación de concentraciones de Fn y un grupo de controles de patología variada (CPV) compuesto por pacientes ingresados por diferentes motivos no relacionados con la etiología infecciosa, a los que se extrae dos muestra de sangre con un intervalo de 5 días aproximadamente para conocer la variabilidad en intervalos de tiempo similares a los del muestreo que se va a utilizar en el grupo de casos sépticos.

Las muestras se centrifugan inmediatamente y se congelan a -40°C para realizar la determinación de Fn en grupos de aproximadamente 50 determinaciones, midiendo en cada ocasión pacientes completos.

Cultivos microbiológicos

1. Hemocultivos: en todos los casos se extraen hemocultivos que se procesan mediante el sistema Bactec.

2. Otros cultivos: técnicas y medios habituales en el laboratorio de Microbiología del Hospital de Segovia.

Medición de las concentraciones plasmáticas de Fn en las muestras congeladas

Las determinaciones de concentración de Fn plasmática se realizan en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid empleando un nefelómetro N100 de Behring. El límite de detección de la técnica es 80 µg/ml.

Análisis estadístico

Se emplea el paquete estadístico SPSS ver. 9.0.

La hipótesis nula planteada es “que la media de Fn plasmática obtenida en la primera extracción, es decir, en el momento del diagnóstico clínico de sepsis, es inferior a la del resto de mediciones cuando los pacientes evolucionan favorablemente, y por el contrario la concentración se mantiene permanentemente baja mientras los pacientes no responden al tratamiento instaurado”.

Se contrasta la diferencia de medias de Fn por grupos con el análisis de la varianza de un factor y se corrige la significación por la prueba de Bonferroni. Se rechaza la hipótesis nula en todas las pruebas para error $\alpha < 0,05$, expresando los resultados en media, error estándar e intervalo de confianza para el 95% (IC 95%). Las variables cualitativas se resumen en su distribución de frecuencias y se comparan con la prueba exacta de Fisher o χ^2 . Se aplica la “t” de Student para datos apareados en la dos tomas seriadas practicadas a los controles de patología variada.

Resultados

Descripción de los grupos

Controles voluntarios sanos

Grupo constituido por 22 trabajadores voluntarios sanos del Hospital General de Segovia (9 hombres y 13 mujeres) a los que se realiza una única extracción para medición de Fn plasmática.

Controles de patología variada

Se seleccionan 22 individuos (12 hombres y 10 mujeres). Se trata de pacientes ingresados en el Servicio de Medicina Interna con diferentes patologías de etiología no infecciosa como infarto agudo de miocardio, insuficiencia cardíaca, hemorragia digestiva alta, accidente cerebro-vascular agudo, insuficiencia respiratoria, pancreatitis, etc.

Casos sépticos

Se estudia un total de 43 casos (28 hombres y 15 mujeres) que cumplen los criterios de selección.

Los servicios que aportan el mayor número de casos (fig. 1) son Medicina Interna (32%), UCI (21%), Hematología (18%) y Cirugía (15%). El 58% padecían enfermedades de base como neoplasias, leucemias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, diabetes mellitus dependiente de insulina, insuficiencia renal crónica, etc. En cuanto al estadio de gravedad (fig. 2), valorado según las recomendaciones de la ACCP/SCCM¹, el 38% son diagnosticados de sepsis leve (SL), el 41% de sepsis grave (SG) y el 21% de los casos de shock séptico o fracaso multiorgánico (FMO). El 86% son dados de alta y el 14% falle-

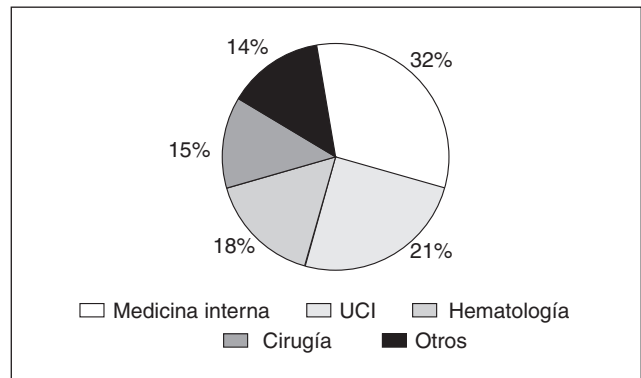


Figura 1. Servicios que aportan los casos. UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.

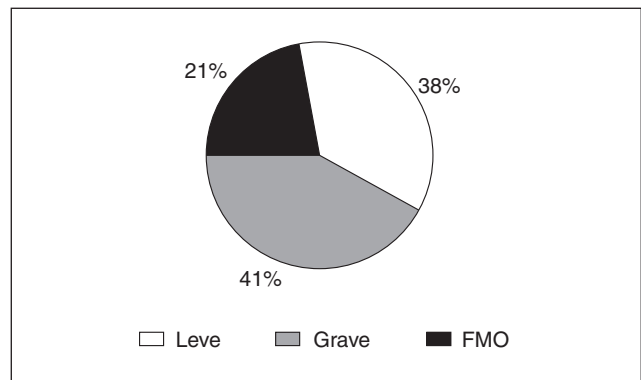


Figura 2. Estado de gravedad de los casos. FMO: fracaso multiorgánico.

cen por complicaciones relacionadas con el proceso séptico. El 63% de los casos cursan con cultivos microbiológicos positivos constatándose que cuanto mayor es la gravedad del paciente se obtiene mayor rendimiento en los cultivos: 46% en casos de SL, 62% en casos con SG y 88% en los pacientes con FMO.

Los focos de infección más frecuentes (fig. 3) son el tracto respiratorio (TR) (31%), tracto gastrointestinal (TGI) (28%), tracto genito-urinario (TGU) (16%) y fiebre de ori-

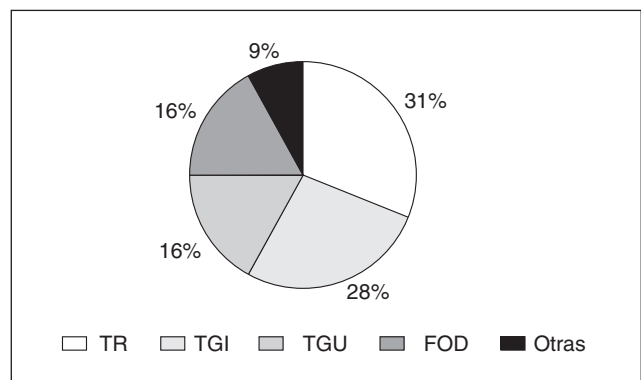


Figura 3. Focos de infección en los casos. TR: tracto respiratorio; TGI: tracto gastrointestinal; TGU: tracto genitourinario; FOD: fiebre de origen desconocido.

gen desconocido (FOD) (16%). En cuanto al rendimiento en los cultivos, en el grupo TR se obtiene un 60% con predominio del género *Haemophilus*. En aquellos pacientes que el foco es el TGI, los cultivos son positivos en el 85% de los casos con predominio de enterobacterias. En el grupo cuyo origen era el TGU se obtiene un 70% de cultivos positivos con predominio de aislamiento de enterobacterias. En el grupo de casos con FOD tan sólo el 14% cursa con cultivos positivos.

Concentración plasmática de fibronectina

Al explorar los resultados obtenidos de Fn plasmática se detectan cinco valores extremos: tres de ellos pertenecen a un paciente que desarrolló un proceso de colestasis, otro valor fuera de rango corresponde a la primera medición realizada a un paciente con colestasis alcohólica; ambos pacientes fallecieron. El quinto pertenece a la primera determinación en un paciente que es dado de alta. Se descartan los tres pacientes para el análisis estadístico.

Resultados en los Grupos Control

La media de Fn plasmática obtenida en el grupo constituido por controles sanos es de 260,6 µg/ml (IC 95% 229,2-292,0).

En el grupo de CPV la concentración plasmática de Fn en la primera extracción es de 180,9 µg/ml (IC 95% 151,1-210,8). En la segunda extracción realizada 5 días después la media en las concentraciones de Fn hallada es de 198,8 µg/ml (IC 95% 162,4-235,1). Aplicando la prueba "t" de Student para datos apareados no se detecta diferencia estadísticamente significativa entre las dos mediciones de Fn plasmática ($p>0,05$).

Resultados en los casos sépticos

Desde el punto de vista etiológico, el comportamiento de la concentración plasmática de Fn en el momento del diagnóstico es inespecífico, ya que no se detectan diferencias estadísticamente significativas en función de que el microorganismo aislado sea grampositivo, gramnegativo o los cultivos sean negativos ($p>0,05$).

Tampoco parece que la Fn distinga, al inicio del cuadro, el estado de gravedad, dado que es un marcador muy sensible y la concentración desciende en muchos casos hasta cifras indetectables con extrema rapidez, independientemente de la gravedad que presente ($p>0,05$).

Para analizar los resultados de evolución obtenidos y, según el planteamiento de nuestra hipótesis nula, se

estudian por separado los casos sépticos que superan satisfactoriamente el proceso séptico de los que fallecen.

Casos sépticos que evolucionan favorablemente y son dados de alta. Una vez descartado el paciente que presenta un valor fuera de rango, este grupo queda formado por 36 sujetos.

Si se aplica la prueba de Bonferroni a los resultados de la concentración de Fn correspondientes a los controles sanos, CPV y las tres extracciones de los casos (primera, segunda y última antes de ser dados de alta), se detecta la presencia de diferencia estadísticamente significativa ($p<0,001$ para el ANOVA) al enfrentar la media de la primera extracción en los casos (110,4 µg/ml) frente al resto de grupos de medición, tanto controles como segunda y última extracción de casos (179,8 µg/ml y 205,8 µg/ml respectivamente). Asimismo, se constata que en la extracción realizada a los dos días ya se detectan incrementos significativos ($p<0,01$) cuando el paciente mejora el estado clínico, alcanzando concentraciones similares a los de los CPV.

En la tabla 1 presentamos un resumen de los datos estadísticos de todos los grupos incluyendo el porcentaje de concentraciones indetectables obtenido en cada uno de ellos. Al comparar el porcentaje de indetectables en el grupo de casos 1ª extracción respecto al resto de los grupos mediante la prueba exacta de Fisher (χ^2) se alcanza una $p<0,001$, ya que este grupo presenta un elevado porcentaje de indetectables.

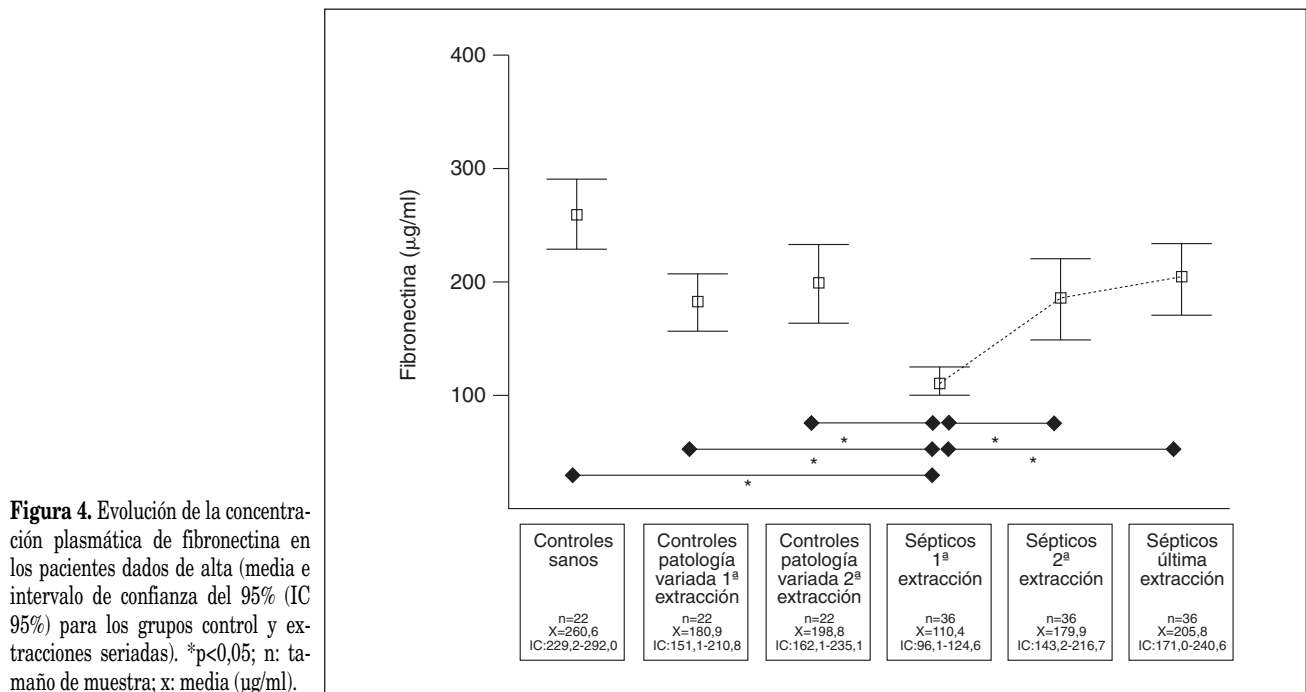
En la figura 4 representamos la media y el IC 95% para la media de la concentración de Fn en los distintos grupos controles y las tres mediciones realizadas a los casos dados de alta (primera, segunda y última). Con un asterisco se indica que existe diferencia estadísticamente significativa al comparar el grupo de casos de primera extracción respecto al resto de los grupos.

Casos sépticos que no responden al tratamiento y fallecen. El número de pacientes que fallecen es muy pequeño ($n=6$). Dos de ellos se eliminan porque presentan concentraciones de Fn plasmática extremadamente elevados. En sendos casos se confirma la presencia de un cuadro de colestasis lo que, según la literatura existente²³⁻²⁴, podría justificar las elevaciones de Fn plasmática probablemente debido a un defecto en la eliminación de la misma (acumulación retrógrada) o por un aumento en la síntesis por el estrés a que está sometido el hepatocito.

TABLA 1. Descripción estadística de los grupos control y extracciones seriadas en los pacientes dados de alta

	Controles Sanos	Controles de patología variada 1ª extracción	Controles de patología variada 2ª extracción	Casos sépticos 1ª extracción	Casos sépticos 2ª extracción	Casos sépticos última extracción
Tamaño	22	22	22	36	36	36
Media(µg/ml)	206,6*	108,9†	198,8‡	110,4	179,9§	205,8*
(prueba de Bonferroni) ^a						
Error estándar	15,1	14,4	17,5	7,0	18,1	17,1
IC 95%	229,2-292,0	151,1-210,8	162,4-235,1	96,1-124,6	143,2-216,7	171,0-240,6
Máximo (µg/ml)	390	346	378	254	520	510
Mínimo (µg/ml)	135	80	80	80	80	80
Indetectables(%)	0*	9*	9*	39	19*	14*
(prueba de Fisher- χ^2)						

IC 95%: intervalo de confianza 95%; ^aPanova <0,001; *: $p<0,001$; †: $p<0,05$; ‡: $p<0,005$; §: $p<0,01$.



En la figura 5 se representa la evolución de la concentración de Fn plasmática en los cuatro pacientes fallecidos. Las concentraciones se mantuvieron prácticamente indetectables en todas las extracciones realizadas. No obstante, este pequeño tamaño muestral no es representativo estadísticamente.

Discusión

La patología infecciosa es una de las causas de mayor mortalidad, y a su vez es una enfermedad que en la inmensa mayoría de los casos se puede curar fácilmente, en algunas ocasiones basta con retirar un catéter infectado o instaurar de manera empírica un tratamiento antibiótico.

En la práctica clínica se necesitan marcadores de evolución de fácil medición que reflejen la respuesta del paciente al tratamiento sin la necesidad de esperar el resultado de los cultivos, que en un elevado porcentaje de casos son negativos a pesar de que el paciente esté infectado. Debemos tener en cuenta que en determinadas situaciones se pueden encontrar alteradas las concentraciones de Fn plasmática, tal es el caso de los pacientes con criofibrinogenemia y coagulopatía intravascular diseminada, en los que se observan valores disminuidos debido a la incorporación de ésta al coágulo de fibrina²². También se han asociado aumentos en la concentración en pacientes con colestasis, independientemente de su etiología²³⁻²⁴.

La conclusión del estudio es que la concentración de Fn plasmática es un buen indicador de evolución para pacientes sépticos.

Se recomienda que se realice una primera medición en el momento del diagnóstico y una segunda medición dos días después en la que, si el paciente está respondiendo

bien al tratamiento, ya se observará un aumento significativo en la concentración de Fn plasmática. La ausencia de modificación de concentraciones permanentemente bajas es un signo de mal pronóstico siempre que los valores medidos en los pacientes fallecidos permanezcan disminuidos durante todo el período de estudio, aunque dado el pequeño tamaño de muestra no es posible verificarlo estadísticamente.

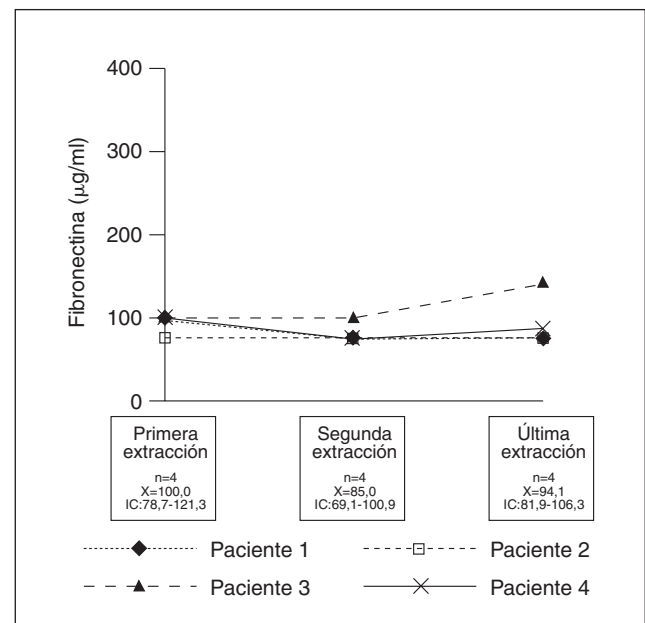


Figura 5. Evolución de la concentración plasmática de fibronectina en los pacientes fallecidos (media e intervalo de confianza (IC) del 95% ($\mu\text{g/ml}$)). n: tamaño de muestra; x: media ($\mu\text{g/ml}$).

A falta de estudios más complejos proponemos la medición de la concentración de Fn como marcador aislado de evolución en pacientes sépticos, aunque tal vez aumentaría su eficacia de manera combinada con otros parámetros tanto clínicos como de laboratorio formando parte de un *score* del tipo APACHE III²⁵ o SAPS II²⁶.

Agradecimientos

Me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a todo el personal del Hospital de Segovia, tanto facultativo, enfermería, técnicos especialistas de laboratorio, auxiliares y celadores, por su desinteresada colaboración. Quisiera hacer una mención especial a los doctores Reverte, Moreno-Palomares, Macías, González-Landa y Guinea del Hospital de Segovia por su inestimable contribución en la elaboración del proyecto. A Ricardo Mesanza de Laboratorios Behring por su asistencia técnica y al doctor Daoud y doctora Romero por su apoyo incondicional.

Bibliografía

1. American College Of Chest Physicians/Society Of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20: 864-874.
2. Definitions of sepsis-have we reached a consensus? (editorial). *Crit Care Med* 1991; 19: 849-851.
3. Tellado JM, Goyanes A, Jiménez J. Modulaci6n de la respuesta inflamatoria en sepsis. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995; 13: 44-59.
4. Farrah T, Smith CA. Emerging cytokine family. *Nature* 1992; 358: 26.
5. Debets JMH, Kampmeijer R, Van Der Linden MP, Buurman WA, van der Linden CI. Plasma Tumor Necrosis Factor and mortality in critically ill septic patients. *Crit Care Med* 1989; 17: 489-494.
6. Damas P, Reuter A, Gysen P, Demonty J, Lamy M, Franchimont P. Tumor Necrosis Factor and Interleukin-1 serum levels during severe sepsis in humans. *Crit Care Med* 1989; 17: 795-798.
7. Calandra T, Baumgartner JD, Grau GE, Wu MM, Lambert PH, Schellekens J, et al. Prognostic values of Tumor Necrosis Factor/Cachectin, Interleukin-1, Interferon-alfa, and Interferon-gamma in the serum of patients with septic shock. *J Infect Dis* 1990; 161: 982-987.
8. Moldawer LL. Biology of proinflammatory cytokines and their antagonist. *Crit Care Med* 1994; 22: S3-S7.
9. Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern Med* 1993; 119: 771-778.
10. Diaz J, Arribas JM, Vallina E, Maradona JA, Hevia C, Blanco F. Reactantes de fase aguda en la sepsis. *Rev Clin Esp* 1992; 191: 473-477.
11. Dominioni L, Dionigi R, Zanella M, Monico R, Cremaschi R, Dionigi R, et al. Sepsis score and acute-phase protein response as predictor of outcome in septic surgical patients. *Arch Surg* 1987; 122: 141-146.
12. Riordan FA, Bestwick K, Thomson AP, Sills JA, Hart CA. Plasma fibronectin levels in meningococcal disease. *Eur J Pediatr* 1997; 156: 451-453.
13. Biolo G, Toigo G, Ciocchi B, Situlin R, Iscra F, Gullo A, Guarnieri G. Metabolic response to injury and sepsis: changes in protein metabolism. *Nutrition* 1997; 13(9Suppl): 52S-57S.
14. Kocak U, Ezer U, Vidinlisan S. Serum fibronectin in neonatal sepsis: is it valuable in early diagnosis and outcome prediction? *Acta Paediatr Jpn* 1997; 39: 428-432.
15. Stevens LE, Clemmer TP, Laub RM, Miya F, Robbins L. Fibronectin in severe sepsis. *Surg Gyn Obs* 1986; 162: 222-228.
16. Proctor RA. The staphylococcal fibronectin receptor: evidence for its importance in invasive infections. *Rev Infect Dis* 1987; 9(Suppl 4): S335-S340.
17. Aly R, Levit S. Adherence of *Staphylococcus aureus* to squamous epithelium: role of fibronectin and teichoic acid. *Rev Infect Dis* 1987; 9(Suppl 4): S341-S350.
18. Proctor RA, Christman G, Mosher DF. Fibronectin-induced agglutination of *S. aureus* correlates with invasiveness. *J Lab Clin Med* 1984; 104: 455-469.
19. Woods DE. Role of fibronectin in the pathogenesis of gram-negative bacillary pneumonia. *Rev Infect Dis* 1987; 9(Suppl 4): S386-S390.
20. Proctor RA. Fibronectin: An enhancer of phagocyte function. *Rev Infect Dis* 1987; 9(Suppl 4): S412-S419.
21. Saba TM, Jaffe E. Plasma fibronectin (opsonic glycoprotein): its synthesis by vascular endothelial cells and role in cardiopulmonary integrity after trauma as related to reticuloendothelial function. *Am J Med* 1980; 68: 577-594.
22. Mosher DF. Cross-linking of a major fibroblast surface associated glycoprotein (fibronectin) catalyzed by blood coagulation factor XIII. *Cell* 1976; 9: 29-35.
23. Stathakis N, Fountas A, Tesianos E. Plasma Fibronectin in normal subjects and in various diseases states. *J Clin Pathol* 1981; 34: 504-508.
24. Forkman B, Ganrot PO, Gennser G, Rannevik G. Plasma protein pattern in recurrent cholestasis of pregnancy. *Scand J Clin Lab Invest* 1972; 124: 89-96.
25. Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, Zimmerman JE, Bergner M, Bastos P, et al. The APACHE III prognostic system. *Chest* 1991; 100: 1.619-1.636.
26. Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A new simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA* 1993; 270: 2.957-2.963.