

Dissemine İnvasküler Koagülasyonlu Hastalarda Vitamin E, Selenyum ve Glutasyon Peroksidaz Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Evaluation of Vitamin E, Selenium and Glutathione Peroxidase Activity in Patients with Disseminated Intravascular Coagulation

Başak Nur AKYILDIZ¹, Musa KARAKÜKÇÜ², Mustafa KENDİRCİ³, Sabahattin MUHTAROĞLU⁴, Semiha AYDIN⁵, İbrahim YILMAZ⁶, Serkan ÖZSOYLU⁶

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Yoğun Bakım Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

²Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

³Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

⁴Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

⁵Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Kayseri, Türkiye

⁶Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye



ÖZET

Amaç: Dissemine intravasküler koagülasyon (DİK) çocuk yoğun bakım ünitesinde (ÇYBÜ) görülen en ciddi hemostatik problemlerden biridir. Tedavide ana amaç altta yatan hastalığın tedavisi olmakla birlikte antioksidan ilaçların rolü tartışmalıdır. Çalışmada DİK tespit edilen kritik hastalarda vitamin E, selenyum ve glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesini değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmaya Eylül 2011- Ekim 2013 tarihleri arasında ÇYBÜ'de DİK tanısı alan 150 hasta alındı. ÇYBÜ'ne kabul öncesi son 24 saat içinde kan transfüzyonu yapılan olgular çalışma dışı bırakıldı. DİK skorları International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) sistemine göre hesaplanarak 2 gruba (DİK <5 ve DİK ≥ 5) ayrıldı. Hastaların yaş, cinsiyet, yoğun bakıma yatış tanısı, Pediatric Risk of Mortality (PRISM) ve Pediatric Logistic Organ Dysfunction (PELOD) skorları, yoğun bakımda yatış süreleri kaydedildi.

Bulgular: Çalışmaya alınan olguların 78'si erkek, 72'si kız olup ortalama yaşları 50 ay (12-106 ay)'di. Tüm olguların vitamin E düzeyi 9.7±2.8 mg/L, selenyum düzeyi 67.8±36.5 µg/L ve GPx aktivitesi ise 82.9±44.3 U/L olarak ölçüldü. DİK ≥5 olan grupta sırasıyla vitamin E, selenyum ve GPx aktivitesi DİK< 5 olan gruba göre anlamlı düzeyde düşük bulundu (p<0.01, p<0.001, p<0.001). DİK tespit edilen hastalar sepsis ve sepsis dışı olgular olarak ikiye ayrılıp selenyum, vitamin E ve GPx aktivitesi değerlendirildiğinde ise sepsis grubunda sırasıyla anlamlı düzeyde düşük olarak saptandı (p=0.003, p=0.044, , p=0.007).

Sonuç: DİK tespit edilen kritik hasta çocuklarda plazma selenyum, vitamin E ve GPx aktivitesi düşüktür. Bu durum sepsisli hastalarda çok daha belirgindir. DİK ve sepsis tespit edilen hastalar başta olmak üzere vitamin E ve selenyum desteğinin yapılmasının yararlı olacağını düşünmekteyiz. Tedavi algoritmalarını geliştirmek için daha geniş hasta sayıları içeren prospektif klinik çalışmalar gereklidir.

Anahtar Sözcükler: Dissemine intravasküler koagülasyon, Glutasyon peroksidaz aktivitesi, Selenyum, Vitamin E

ABSTRACT

Objective: Disseminated intravascular coagulation (DIC) is one of the most serious hemostatic abnormalities in the pediatric intensive care unit (PICU). The primary treatment for DIC is correction of the underlying disease while the role of antioxidant therapy is controversial. In this study, we aimed to evaluate the levels of vitamin E, selenium and glutathione peroxidase (GPx) activity in DIC patients.

Material and Methods: Between September 2011 and October 2013, 150 patients diagnosed with DIC in the PICU were enrolled in this study. Patients who received blood transfusion within 24 hours before admission to the PICU were excluded. The DIC score was calculated according to the International Society on Thrombosis and Haemostasis diagnostic scoring system, and patients were divided into two groups according to their DIC score (DIC< 5 and DIC ≥5).

Demographic data, age, gender, initial diagnosis, Pediatric Risk of Mortality (PRISM) and Pediatric Logistic Organ Dysfunction (PELOD) scores, selenium, vitamin E levels and GPx activity, were evaluated.

Results: Participants included 78 boys and 72 girls with a median age of 50 months (12-106 months). In all patients, selenium, vitamin E levels, and GPx were 67.8 ± 36.5 µg/L, 9.7 ± 2.8 mg/L and 82.9 ± 44.3 U/L respectively. Vitamin E, selenium and GPx were significantly lower in the DIC ≥ 5 group ($p < 0.01$, $p < 0.001$ and $p < 0.001$, respectively). We further divided the patients with scores of DIC ≥ 5 into two groups, and the sepsis group had significantly lower selenium, vitamin E, levels and GPx activity ($p = 0.003$, $p = 0.044$, and $p = 0.007$, respectively).

Conclusion: In patients with DIC, plasma selenium and vitamin E levels and GPx activity were significantly lower in critically ill children. This was more prominent in those with sepsis. We believe that vitamin E and selenium supplementation is useful in treating critically ill patients with DIC, especially those with sepsis. In order to develop treatment algorithms, prospective clinical studies with a larger patient population are warranted.

Key Words: Disseminated intravascular coagulation, Glutathione peroxidase activity, Selenium, Vitamin E

GİRİŞ

Dissemine intravasküler koagülasyon (DİK), yaygın damar içi pıhtılaşması, tüketim koagülopatisi gibi farklı tanımları mevcut olup tromboz ve kanamalarla seyreden sistemik bir olaydır (1-3). Etiyolojide sepsis, vaskülit, hipoksi, travma, uygunsuz kan transfüzyonları, dev hemanjiomlar ve başlıca akut promiyelositik lösemi olmak üzere maligniteler yer alır (4-6). Endotelial hasar ve mikrovasküler tromboza zemin hazırlayan nedenler arasında artmış serbest oksijen radikallerinin varlığı ve lipid peroksidasyonu sonucu oluşan endotel disfonksiyonu sorumlu tutulmaktadır (7). Reaktif oksijen türlerine karşı enzimatik korumayı sağlayan, protein oksidasyonu ve DNA'daki hasarı önleyen süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz gibi çeşitli enzim sistemleri vardır. Glutasyon peroksidaz (GPx), intrasellüler mesafede lipitleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Selenyum ise glutasyon peroksidazın etkisini daha iyi gösterebilmesi için gerekli bir eser elementtir. Özellikle oksidatif stres ve sonrasında gelişen nükleer faktör-kappa B (NF-kappa B) aktivasyonu ve sitokin fırtınasını azalttığı, doku hasarını engellediği gösterilmiştir. (8,9). E vitamini ise selenyum ile etkileşerek sinerjistik etki göstermektedir (10). Fontaine ve ark.nın (5) deneysel hayvan modellerindeki incelemelerinde vitamin E ve selenyum eksikliğinin trombosit fonksiyonlarında azalma ve fibrin yıkım ürünlerinde artışa neden olduğu ve kronik DİK gelişimine neden olabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte kritik hastalarda DİK oldukça sık görülen bir durumdur ve uygun tedavi edilmediği takdirde mortalite ve morbiditesi oldukça yüksektir (11). Tedavide ana amaç altta yatan hastalığın tedavisi olmakla birlikte yardımcı metodlar olarak önerilen antioksidan ilaçların etkinliğini değerlendiren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (5,12,13). Bu noktadan yola çıkarak planladığımız çalışmamızda DİK tespit ettiğimiz hastalarda GPx aktivitesi, selenyum ve vitamin E düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışma için etik komiteden onay alınmıştır ve hastaların ailelerinden yazılı onam alınmıştır.

Bu çalışmaya Eylül 2011-Ekim 2013 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi'ne kabul edilen 476 hastadan DİK tespit edilen 150 hasta dahil edildi. Çocuk yoğun bakım ünitesine kabul öncesi son 24 saat içinde kan transfüzyonu yapılan olgular çalışma dışı bırakıldı. Hastaların yaş, cinsiyet, yoğun bakıma yatış tanısı, Pediatric Risk of Mortality (PRISM) ve Pediatric Logistic Organ Dysfunction (PELOD) skorları ve yoğun bakımda yatış süreleri kaydedildi (14). Çalışmaya alınan olgulardan yoğun bakıma yatışından sonraki ilk 24 saat içinde plazma selenyum, vitamin E ve GPx aktivitesi için kan örnekleri alınarak DİK skorlarına göre değerlendirildi. Dissemine intravasküler koagülasyon tanısı için Internal Society Thrombosis and Haemostasis (ISTH) skorlama sistemi kullanıldı (15). Skorlama sistemine göre olgular DİK ≥ 5 (belirgin DİK) ve DİK < 5 (şüpheli DİK) olarak ikiye ayrıldı. Hastalara sepsis tanısı International Consensus Conference on Pediatric Sepsis kriterlerine göre konuldu (16). Bu kriterlere uymayan olgular sepsis dışı olgular olarak sınıflandırıldı.

Tüm örnekler analiz zamanına kadar -80°C 'de saklandı. GPx için numuneler Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında Glutathione Peroxidase Assay Kit (Cayman Chemical Company, ABD) ticari kitleri kullanılarak ticari kitlerin kullanım kılavuzlarındaki bilgilere uygun olarak çalışıldı ve SynergyHT (Bio-otek) Multidetecion microplatereader ELISA cihazında okuma yapıldı. Referans aralığı 75-925 U/L olarak belirlendi. Selenyum için ölçümler Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapıldı. Örnekler mikrodalga fırınlarda (Berghof Speedwave, Almanya) konstante nitrik oksit (5 ml, %65) ile seyreltildi. Analitik teknikler ICP-MS spectrometer cihaz (Agilent 7500a, Japonya) ile yapılarak sonuçlar değerlendirildi. Referans aralığı 50-130 µg/L olarak belirlendi. Vitamin E için ölçümler Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Metabolizma Laboratuvarı'nda Agilent HPLC 1100 cihazında HPLC yöntemi ile analiz edildi. Referans aralığı 4.5-20 mg/L olarak belirlendi.

İstatistiksel analiz: İstatistiksel değerlendirmede IBM SPSS Statistics 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı kullanıldı. Frekans dağılımları sayı ve yüzde, sürekli değişkenler (ölçümler) ortalama \pm standart sapma şeklinde değerlendirildi. Verilerin normal dağılıp dağılmadığı Shapiro Wilk testi yapılarak belirlendi.

İstatistiksel değerlendirmede, ikili grupların karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren veriler için Independent Samples T-testi, normal dağılım göstermeyen veriler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare testi uygulandı. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Tüm hastaların demografik verileri ve laboratuvar analizleri Tablo I'de sunulmuştur. Çalışmaya alınan hastaların 72'si (%48) kız 78'i (%52) erkek olup ortalama yaşları 50 ay (12-106)'di. Hastalar yatış anındaki tanılarına göre değerlendirildiğinde 87 hasta sepsis, 21 hasta solunum yetmezliği, 20 hasta travma, 18 hasta

malignite ve 4 hasta da kardiyovasküler nedenler ile yatırılmıştı. Hastaların 31'i (%20.7) takipte kaybedildi. Çalışmaya alınan olguların 77'sinde (%51.4) belirgin DİK (DİK ≥ 5) tespit edildi. DİK skorlarına göre hastaların PRISM ve PELOD skorları, vitamin E, selenyum düzeyi ve GPx aktivitesinin değerlendirilmesi Tablo II'de sunulmuştur. Belirgin DİK tespit edilen hastaların 50'si (%64.9) sepsis tanısı ile 27'si (%35.1) sepsis dışı (22 hasta hematoloji/onkoloji, 5 hasta solunum yetmezliği) nedenler ile takip edildi. Belirgin DİK ile takip edilen hastaların 10'unda (%13) sadece vitamin E düzeyi, 28'inde (%36.3) sadece selenyum düzeyi ve 15'inde (%19.5) sadece GPx aktivitesi düşüktü. Bununla birlikte vitamin E ve selenyum düzeyi 8 hastada (%10.4), vitamin E düzeyi ve GPx aktivitesi 21 hastada (%27.3), selenyum düzeyi ve GPx aktivitesi ise 3 hastada (%4) düşük olarak tespit edildi. Her üç parametre düzeylerinin düşük olduğu hasta sayısı ise 38 (%49.3)'di. Belirgin DİK tespit edilen hastalarda sepsis ve diğer olguların (sepsis dışı) PRISM ve PELOD skorları, vitamin E, selenyum düzeyleri ve GPx aktivitesinin değerlendirilmesi ise Tablo III'te sunulmuştur.

Tablo I: Hastaların demografik ve laboratuvar verilerinin karşılaştırılması.

Yaş (ay),ort.(en düşük-en yüksek)	50 (12-106)
Cinsiyet	
Kız	72 (%48)
Erkek	78 (%52)
PRISM	15.8±9.5
PELOD	16.0±9.5
Yoğun bakım yatış günü	11.8±7.8
Tanı	
Sepsis	87 (%58)
Solunum yetmezliği	17 (%11.3)
Travma	20 (% 13.3)
Hematoloji/onkoloji	22 (% 14.6)
Kardiyovasküler	4 (%2.6)
Mortalite	31 (%20.7)
Selenyum ($\mu\text{g/L}$)	67.8±36.5
Vitamin E (mg/L)	9.7±2.8
GPx (U/L)	82.9±44.3

PRISM: Pediatric Risk of Mortality, **PELOD:** Pediatric Logistic Organ Dysfunction Score, **MV:** Mekanik ventilasyon, **GPx:** Glutatyon peroksidaz Değişkenler ortalama±standart sapma veya n (%) değer olarak tanımlanmıştır.

TARTIŞMA

Çalışmamızda DİK gelişimi üzerine etkisini araştırdığımız antioksidan ajanların sağlıklı çocuklardaki ortalama kan değerleri sırasıyla vitamin E için 5-16 mg/L, selenyum için 63-106 $\mu\text{g/L}$ ve GPx için ise 180-250 U/L olarak bildirilmiştir (17,18). Sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırmalı değerlendirme imkanımızın olmadığı bu çalışmada belirgin DİK (DİK ≥ 5) tespit ettiğimiz hastalarda diğer gruba göre (DİK < 5) selenyum, vitamin E düzeyleri ve GPx aktivitesini anlamlı ölçüde düşük ve mortalitenin de yüksek olduğunu tespit ettik. Bunun yanı sıra DİK gelişen hastalarda PRISM ve PELOD gibi hastalık ciddiyetini değerlendirmede kullandığımız skorlar da yüksek tespit edildi. Sonuçlarımız Beale ve ark.nın (6) da belirttiği gibi vitamin C, vitamin E ve selenyum replasmanının erken dönemde uygulanması ile gelişebilecek organ yetmezliklerinin ve mortalitenin azaltılabileceği fikrini desteklemektedir.

Dissemine intravasküler koagülasyon etiolojisinde birçok neden belirtilmekle birlikte en fazla bilineni sepsistir. Özellikle

Tablo II: DİK skorlarına göre grupların karşılaştırılması.

Değişken	DIC Skoru		p
	<5 (n=73)	≥ 5 (n=77)	
PRISM	8.1±0.7	23.1±0.7	<0.001*
PELOD	8.5±0.7	23.0±0.7	<0.001*
Selenium ($\mu\text{g/L}$)	92.5±3.2	44.8±3.1	<0.001*
Vitamin E (mg/L)	11.0±0.3	8.5±0.3	<0.01*
GPx (U/L)	113.7±3.8	53.7±3.7	<0.001*
Mortalite	6 (%8.2)	25 (%32.4)	0.002**

Değişkenler ortalama±standart sapma veya n (%) değer olarak tanımlanmıştır.

*: Independent Sample T-test, ** χ^2 : ki-kare testi.

Tablo III: Belirgin DİK (DİK ≥ 5) tespit edilen sepsis ve diğer olguların (sepsis dışı) değerlendirilmesi.

Değişken	Sepsis n=50 (% 64.9)	Sepsis dışı n=27(%35.1)	p
PRISM	24.6±1.9	15.6±0.8	0.038*
PELOD	21.9±2.4	14.6±1.5	0.002*
Selenyum (µg/L)	58.2±7	81.0±4.4	0.003*
Vitamin E (mg/L)	9.1±0.3	10.5±0.3	0.044*
GPx (U/L)	72.5±4.6	97.3±5.4	0.007*
Mortalite	20 (%40)	5 (%18.5)	<0.001**

Değişkenler **Ort±SS**: ortalama±standart sapma veya n (%) değer olarak tanımlanmıştır. * : Independent Samples T-test, ****χ2**: ki-kare testi.

DİK ve sepsis birlikteliği saptanan olgularda mortalite % 35-45 olup oldukça yüksektir (19,20). Sepsis ve DİK gelişen olgularda fizyopatolojide aktive edilmiş immün sistem hücreleri tarafından aşırı miktarda üretilen serbest oksijen radikallerinin rol oynadığı bilinmektedir (21,22). Aynı zamanda oluşan sitokin fırtınası, oksidatif strese bağlı oluşan serbest oksijen radikalleri multiorgan yetmezliğine neden olmaktadır. Yine sepsisli hastalarda oksidatif ajanların miktarındaki artmaya paralel olarak çoklu organ yetmezliği oranının da daha yüksek olduğu gösterilmiştir (23). Çalışmamızda DİK tespit ettiğimiz hastalarda PRISM ve PELOD skorları anlamlı düzeyde yüksek olmakla birlikte hastaların büyük çoğunluğunu sepsis tanısı alan hastalar oluşturmaktaydı. Bununla birlikte sepsis tanısı alan hastalarda PRISM ve PELOD skorları da diğer hastalara göre daha yüksek bulundu. Sepsisli hastalarda vitamin E, selenyum düzeyleri ve GPx aktivitesi açısından baktığımızda ise literatürde her üç parametreyi değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızda DİK ve sepsis tanısı alan alt grupta da vitamin E, selenyum düzeyleri ve GPx aktivitesi sepsis dışı gruba göre anlamlı düzeyde düşük olarak tespit edildi. Sepsis tanısı ile takip edilen hastalarda da mortalite oranlarımızı anlamlı düzeyde yüksek tespit ettik. Goode ve ark. (24) sepsisin başlangıç aşamasında antioksidan seviyenin düşük olduğunu ve bu seviyenin normale dönmediği hastalarda mortalitenin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yine Yoshikawa ve ark. (25) deneysel modelle endotoksemi ve DİK oluşturulan ratlarda E vitamini seviyesi düşük olan grupta DİK gelişiminin çok daha belirgin olduğunu göstermişlerdir. Diğer taraftan kritik hastalarda selenyum düzeylerinin düşük olması ile hastalık ciddiyeti arasında bir ilişki olduğu üzerinde durulmaktadır. Kritik hastalarda düşük selenyum düzeyleri ile infeksiyon, organ yetmezliği ve yoğun bakımda kalış süresinin belirgin olarak arttığını bildiren yayınlar mevcuttur (23). Angstwurm ve ark. (26) yaptığı bir erişkin çalışmasında tedavide 1000 µg başlangıç ve 14 gün boyunca 1000 µg/gün dozunda selenyum verilmesinin GPx-3 aktivitesinde artış ve mortalitede azalma sağladığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise farklı dozlarda selenyum uygulanması ile mortalite ve morbidite oranlarında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunmadığı ve destek tedavisi olarak uygulanan selenyum dozu ve başlama zamanı, çalışmaya alınan hastaların heterojenitesinin de sonucu etkileyebileceğini bildirmişlerdir (23,27).

Sonuç olarak aşikar DİK tespit edilen olgularda plazma selenyum, vitamin E düzeyleri ve GPx aktivitesi düşük olmakla birlikte sepsisin eşlik ettiği durumlarda çok daha belirgindir. Bu nedenle sepsis tespit edilen hastalar başta olmak üzere vitamin E ve selenyum desteğinin yapılması DİK gelişimini önleyerek mortalite ve morbiditeyi azaltmak açısından önemli olabilir. Kritik hasta çocuklarda bu konu ile ilgili algoritmaların net ortaya konulması için geniş olgu serilerinde yapılacak çalışmaların daha iyi olacağı düşünülmektedir.

Finansal Destek: Bu çalışma Erciyes Üniversitesi BAP Kurulu tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Saba HI, Morelli GA. The pathogenesis and management of disseminated intravascular coagulation. Clin Adv Hemato Oncol 2006;4:919-26.
2. Favaloro EJ. Laboratory testing in disseminated intravascular coagulation. Semin Thromb Hemost 2010;36:458-67.
3. Salvemini D, Cuzzocrea S. Oxidative stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation. Free Radic Biol Med 2002;33:1173-85.
4. Millad K, Racz O, Sipulova A. Effect of vitamin E and selenium on blood glutathione peroxidase and some immunological parameters in sheep. Vet Med Czech 2001;46:1-5.
5. Fontaine M, Valli VE, Young LG. Studies on vitamin E and selenium deficiency in young pigs. IV Effect on coagulation system. Can J Comp Med 1977;4:64-76.
6. Beale RJ, Sherry T, Lei K, Campbell-Stephen L, McCook J, Smith J, et al. Early enteral supplementation with key micronutrients improves Sequential Organ Failure Score in critically ill patients with sepsis: Outcome of a randomized, controlled, double-blind trial. Crit Care Med 2008;36:131-44.
7. Soundar EP, Jariwala P, Nyugen TC, Eldin KW, Teruya J. Evaluation of the Internal Society on Thrombosis and Haemostasis and institutional diagnostic criteria of disseminated intravascular coagulation in pediatric patients. Am J Clin Pathol 2013;139:812-16.
8. Cheeseman KH, Slater TF. 1993. An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull 1993;49:481-93.
9. Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of Action. Am J Med 1994; 97 (Suppl 3A):5S-13S.

10. Weber SU, Lehmann LE, Schewe JC, Thiele JT, Schröder S, Book M, Hoefl A et al. Low serum α -tocopherol and selenium are associated with accelerated apoptosis in severe sepsis. *Biofactors* 2008;33:107-19.
11. Parker RI, Nichols DG. Coagulation issues in PICU. In: Nichols DG, Shaffner DH (eds). *Roger's Textbook of Pediatric Intensive Care*. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2016:1946-68.
12. Yoshikawa T, Furukawa Y, Murakami M, Watanabe K, Kondo M. Effect of vitamin E on endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb Haemost* 1982;48:235-237.
13. Salvemini D, Cuzzocrea S. Oxidative stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation. *Free Radic Biol Med* 2002;33:1173-85.
14. Weiss SL, Han YY, Shanley TP. Multiple organ dysfunction score. In: Nichols DG, Schaffner DH (eds). *Roger's Textbook of Pediatric Intensive Care*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2016:286-302.
15. Soundar EP, Jariwala P, Nguyen TC, Eldin KW, Teruya J. Evaluation of the International Society on Thrombosis and Haemostasis and institutional diagnostic criteria of disseminated intravascular coagulation in pediatric patients. *Am J Clin Pathol* 2013;139:812-6.
16. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International consensus conference on pediatric sepsis. *Pediatr Crit Care Med* 2005;6:2-8.
17. Safaralizadeh R, Kardar GA, Pourpak Z, Moin M, Zare A, Teimourian S. Serum concentration of selenium in healthy individuals living in Tehran. *Nutr J* 2005;32:1-4.
18. El-Melegy NY, Mohamed NA, Sayed MM. Oxidative modification of low-density lipoprotein in relation to dyslipidemia and oxidant status in children with steroid sensitive nephrotic syndrome. *Pediatr Res* 2008;63:404-9.
19. Warren BL, Eid A, Singer P, Pillay SS, Carl P, Novak I, et al. Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis. A randomized controlled trial. *JAMA* 2001;286:1869-78.
20. Okamoto K, Wada H, Hatada T, Uchiyama T, Kawasugi K, Mayumi T, et al. Frequency and hemostatic abnormalities in pre-DIC patients. *Thromb Res* 2010;126:74-8.
21. Nguyen HB, Rivers EP, Abrahamian FM, Moran GJ, Abraham E, Trzeciak S, et al. Severe sepsis and septic shock: Review of the literature and emergency department management guidelines. *Ann Emerg Med* 2006;48:28-54.
22. Goode HF, Webster NR. Free radicals and antioxidants in sepsis. *Crit Care Med* 1993;21:1770-6.
23. von Dessauer B, Bongain J, Molina V, Quilodr n J, Castillo R, Ramón Rodrigo R. Oxidative stress as a novel target in pediatric sepsis management. *J Crit Care* 2011;26:103.e1-103.e7.
24. Goode HF, Cowley HC, Walker BE, Howdle PD, Webster NR. Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction. *Crit Care Med* 1995;23:646-51.
25. Yoshikawa T, Murakami M, Kondo M. Endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in vitamin E deficient rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984;74:173-78.
26. Angstwurm MW, Engelmann L, Zimmermann T, Lehmann C, Spes CH, Abel P, et al. Selenium in intensive care: Results of a prospective randomized, placebo-controlled, multiple-center study in patients with severe systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and septic shock. *Crit Care Med* 2007;35:118-26.
27. Forceville X, Laviolle B, Annane D, Vitoux D, Bleichner G, Korach JM, et al. Effects of high doses of selenium, as sodium selenite, in septic shock: A placebo-controlled, randomized, double-blind, phase II study. *Crit Care Med* 2007;11:R73.