

Sistemik Yangısal Yanıt Sendromu veya Sepsis Tanı ve İzleminde Laboratuvar

Hale Aral

Sağlık Bakanlığı, İstanbul Fatih Kamu Hastaneler Birliği, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Bölümü

Bu çalışma Türk Klinik Biyokimya Derneği tarafından 23-26 Nisan 2015 tarihleri arasında Fethiye'de düzenlenen XV. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi'nde, 'SIRS-Sepsis tanı ve izleminde laboratuvar' başlıklı konferansta sunulmuştur.

Eur J Basic Med Sci 2015;5(1): 10-20

Received: 08-05-2015

Accepted: 28-12-2015

Correspondence (Yazışma Adresi):

Hale Aral

Sağlık Bakanlığı, İstanbul Fatih Kamu Hastaneler Birliği, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Tıbbi Biyokimya Bölümü Eğitim Sorumlusu
Fatih / İSTANBUL
E-mail: drhalearal@yahoo.com
Tel:0 532 2200150

Laboratory in Diagnosis and Monitoring of Systemic Inflammatory Response Syndrome or Sepsis

ABSTRACT

Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) is a delocalized, dysregulated inflammatory response of high intensity to various stimuli. It leads to disorders of microcirculation, organ perfusion and finally to secondary organ dysfunction. When infection is also added, sepsis is a condition that affects not only the immune system but also other biological systems, such as the coagulation system and the autonomic nervous system. Laboratory analysis of blood gasses, electrolytes indicating water-electrolyte and acid-base balance; glucose and lactate related with metabolic status; complete blood count and indices appeared in the early phase systemic inflammation; coagulation tests and thromboelastographic examination; biomarkers of CRP, cytokines, procalcitonin and serum creatinine levels may be requested for diagnosis and follow-up of SIRS, sepsis. The aim of this review is to call attention to the variations during the interpretation of the results of conventional (routine) laboratory tests, and to discuss the importance of some novel tests in recognizing patients at high risk and so increasing the efficiency of the therapy.

Key Words: Systemic inflammatory response syndrome, routine laboratory tests, novel markers

ÖZET

Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS), değişik uyaranlar karşısında lokalize edilemeyen, kontrolsüz, yoğun inflamatuvar cevaptır. Mikrodolaşım bozukluğu, organ perfüzyon bozukluğu ve sonunda organ fonksiyon kaybına yol açar. Enfeksiyon da eklendiğinde, sepsis sadece immün sistemi değil, koagülasyon sistemi ve otonomik sinir sistemi gibi diğer biyolojik sistemleri de etkileyen bir durumdur. Su-elektrolit ve asit-baz dengesini gösteren kan gazı, elektrolitler; metabolik durumla ilgili glukoz, laktat; sistemik inflamasyonun erken döneminde görülen tam kan sayımı ve indeksleri; koagülasyon testleri ve tromboelastografik inceleme; CRP, sitokinler prokalsitonin belirteçleri ve serum kreatinin düzeyleri gibi laboratuvar analizleri SIRS, sepsis tanı ve takibi için istenebilir. Bu derlemenin amacı, alışılmış (rutin) laboratuvar testlerinin yorumunda dikkat edilmesi gereken değişkenleri hatırlatmanın yanı sıra, yüksek riskli hastanın fark edilmesi ve tedavinin etkinliğinin artırılmasında güncel belirteçlerin önemini tartışmaktır.

Anahtar kelimeler: Sistemik inflamatuvar cevap sendromu, rutin laboratuvar testleri, güncel belirteçler

1. Giriş

Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS) değişik uyaranlar karşısında vücudun verdiği generalize, kontrolsüz inflamatuvar cevaptır. Klinik veya mikrobiyolojik olarak dökümanente enfeksiyon da eklendiğinde, sepsis olarak tanımlanır. Sepsiste enfeksiyon etkenlerine karşı vücudun verdiği bu tür yanıtta mikroorganizma ve ürünleri, monositler, sitokinler ve endotel hücreleri (fonksiyon bozukluğunda) başrolü oynar; vücut kendi doku ve organlarına zarar verir. Sepsis, kanser gibi lokal bir odaktan başlar, çevreye ve vücudun diğer uzak bölgelerine yayılır ve kanser gibi hücresel düzeyde kompleks moleküler etkileşimlerden kaynaklanır (1).

Sepsisin kanser ile benzer yanları (yayılım, yüksek mortalite, tıbbi ve cerrahi tekniklerle tedavi, hücresel düzeyde kompleks bozukluk olma gibi) göz önüne alındığında, sepsis bir kanser analogu gibi düşünülmüş ve evreleme sistemi kapsamında predispozisyon, enfeksiyon, yanıt, organ fonksiyon bozukluğu (predisposition, infection, response, organ dysfunction, PIRO) konsepti ortaya atılmıştır; sepsiste organ fonksiyon kaybı, kanserde uzak organ metastazına eşdeğerdir (2).

İmmünsüprese ve yaşlı nüfusun artması, ko-morbid hastalıklar, invaziv tıbbi girişimler ve antibiyotik direnç gibi nedenlerle, şiddetli sepsis (akut organ fonksiyon kaybı ve/veya hipoperfüzyon bulguları ile birlikte sepsis) olguları artmaktadır. Predispozisyona neden olabilecek durumların değerlendirilmesi önemlidir; uç yaşlar (yenidoğan dönemi ve 65 yaş üstü) sepsisi kolaylaştırır (1).

Klinik bulgularla birlikte kan kültürü, septisemi tanısında altın standart olarak kabul edilse de; duyarlılığının düşük oluşu, kan alımında kontaminasyonun önlenmesine yönelik gereklilikler, sonuçların birkaç günde elde edilmesiyle ilgili zorluklar vardır. Sepsiste klinik bulgular ve hastalığın prognozu, enfeksiyona konak yanıtının sonucudur. Bu nedenle günümüz sepsis tedavisinde konak yanıtına yönelik tedavi, en az enfeksiyon etkenine yönelik tedavi kadar önemlidir. Hastalığın evrelendirilmesinde bu yanıt sonucu oluşan bir takım biyobelirteçlerin kullanılması önerilmektedir (2). Bu derlemenin amacı, SIRS, sepsis tanısı için

istenen alışılmış (rutin) laboratuvar testlerinin yorumunda dikkat edilmesi gereken değişkenleri hatırlatmanın yanısıra, yüksek riskli hastanın fark edilmesi ve tedavinin etkinliğinin artırılmasında güncel belirteçlerin önemini tartışmaktadır.

2. Patofizyoloji

Patojen yükü ve virulans, ko-morbidite ve konak genetik faktörlere bağlı olarak değişen inflamatuvar yanıtta erken ölümler, aşırı sitokin fırtınası (ateş, reaktif şok, asidoz, katabolizmanın aşırı artması) görülebilir; örneğin toksik şok sendromu, meningokoksemi gibi. Sitokin etkilerini sadece sistemik dolaşıma karışarak değil, direkt hücre-hücre ilişkisi ile ve çok küçük konsantrasyonlarda da ortaya koymaktadırlar. Sepsiste doğal immün yanıtın kontrolsüz bir şekilde aktivasyonu ile makrofaj, endotel ve epitel hücrelerinin, lipopolisakkarit (LPS) fragmanları gibi (gram -) bakteriyel ürünleri spesifik reseptörleriyle tanımları ve sitokin kaskadının tetiklenmesiyle, tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin 1 (IL-1), interlökin 12 (IL-12), interlökin 18 (IL-18), interferon-gamma (IFN-g), interlökin 6 (IL-6) ve interlökin 8 (IL-8) salınması ile sonuçlanmaktadır. Bir teoriye göre sepsis ilerlediğinde, doğal ve adaptif immün sistem elemanlarının tükenmesiyle immünsüpresif durum gelişir, primer enfeksiyondan kurtulunamadığı veya sekonder enfeksiyona bağlı ölümler olur. Diğer teoriye göre doğal immünitinin erken aktivasyonu ve adaptif immünitinin süpresyonunda, şiddetli inflamasyon ve organ hasarına bağlı geç ölümler (genellikle, 6 gün sonrası) olur (1,3).

Mikroorganizmalardan ve/veya hasarlı dokudan salınan “damage-associated molecular patterns” (DAMPs); nötrofil, makrofaj gibi immün hücrelerde “pattern-recognition receptors” (PRRs)ın aşırı uyarılması ile sitokinler, kemokinler, kompleman aktivasyon ürünleri ve diğer mediyatörlere karşı yanıt oluşturur. Bu proinflamatuvar ortam, lipit faktörleri, serbest radikaller (ROS) ve enzimler gibi güçlü ikincil medyatörlerin salınımına yol açar ve inflamatuvar süreci büyütür. Sepsiste, kompleman sisteminin aktivasyonu ve koagülasyon kaskadındaki trombinin C5 dönüştürücü (convertase) aktivitesine bağlı olarak kompleman anafatoksini C5a oluşur; “macrophage migration-inhibitory factor” (MIF), “high-mobility group box-1 protein” (HMGB1) ve koagülasyon kaskadında “doku faktörü” (TFa) aktivasyonu gelişir, “Toll-like Receptor 4” (TLR-4) aracılığıyla süreç hızlanır. Sürekli olarak koagülasyonun aktivasyonu ve fibrinolizin inhibisyonu ile oluşan proin-

flamatuvar ortam ve/veya endotel hasarına bağlı Yaygın Damar içi Pıhtılaşma Sendromu (YDPS) gelişir; bu da inflamatuvar yanıtın büyümesine yol açar. Proinflamatuvar ortamda daha sonra nötrofil fonksiyon kaybı ve lökositlerin apoptozisi ile immünsüpresyon gelişir (4-8).

Morfolojisi ve fonksiyonu değişen trombositlerde "N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors" (SNAREs) komplekslerin oluşumunun, SIRS patofizyolojisinde çok önemli rol oynadığı düşünülmektedir (9).

Sepsiste düzenleyici mekanizmalarda fonksiyon bozukluğu, inflamasyon kontrolünün kaybı ve inflamasyon cevabındaki aşırılığa bağlı olarak organizmanın zarar görmesine yol açar. Sepsisin ileri evresinde; nötrofiller önemli hücreler arası sinyal yollarını tam olarak kapatarak immün paralizye (immünsüpresyon) yol açabilir. Lenfosit ve dentritik hücrelerde artan apoptozis, immün cevabın baskılanmasıyla ciddi immünsüpresyon ve hastane kaynaklı (nasocomial) enfeksiyonlara zemin hazırlanmış olur (4,10).

Sepsis, immün sistemi etkilediği gibi kompleman-koagülasyon-fibrinolitik sistem ve otonom sinir sistemi (Autonomic Nervous System, ANS) de etkiler. Sepsis erken evrede adrenerjik yolların aktivasyonu ile proinflamatuvar cevap uyarılır ve olumsuz gelişmeler (adverse events) şiddetlenir. Kompleman, koagülasyon ve fibrinolitik sistemler birbirine güçlü bir şekilde bağlıdır; "serin proteaz network"u aracılığıyla çoklu direkt etkileşimler vardır. Lökositlerde de adrenerjik reseptörler bulunur; katekolaminlerin immün hücreler üzerine otokrin ve parakrin etkileri olabilir. İnflamasyon sırasında hipotalamik-hipofizyel-adrenal aks, ANS ve immün sistem etkileşimde bulunan başlıca yollardır (1,4).

3. Rutin laboratuvar testleri

3. a. Sıvı-elektrolit dengesini gösteren testler

Sodyum düşüklüğü en sık görülen elektrolit bozukluğudur. Hiperglisemide hücresel değişimden dolayı, her 100 mg/dL glukoz artışında; serum sodyum (Na^+) konsantrasyonu 1,7 mmol/L azalır. Hipoozmotik hiponatremide, suyun hücre-içinde artması ile merkezi sinir sistemi (MSS) bulguları gözlenir (11). Hasta numunesinde aşırı lipemi, hiperproteinemi, hemoliz vb. varlığında preanalitik faktörlere bağlı olarak kan-gazı cihazı (direkt iyon-seçici elektrod yöntemi) ile biyokimya analizörü (indirekt iyon-

seçici elektrod yöntemi) ölçüm sonuçları arasında farklılık gözlenmesi durumunda (indirekt yöntemde interferansa bağlı düşüklük olabileceğinden) hasta sonucunu yorumlarken dikkatli olunması önerilir (11,12).

3. b. Asit-baz dengesini gösteren testler

Solunum sayısında artış (>20/dakika) ile birlikte akciğerlerin karbon dioksiti (CO_2) hızla atmasıyla ($\text{pCO}_2 < 32$ mmHg) görülen solunumsal alkaloz, sepsisin en erken belirtisi olabilir; beraberinde metabolik asidoz gelişmesiyle oluşabilecek karışık tablo nedeniyle arteryel pH normal bulunabileceğinden tanıda bikarbonat (HCO_3^-) düşüklüğü daha yararlı olabilir (13). Burada preanalitik hata kaynaklı (yalancı) alkalozu önlemek amacıyla; kan gazı örneğinin bulunduğu tüpün ağzı hemen kapakla (tamamen) kapatılarak kanın havayla teması önlenmelidir; hızlı bir şekilde (pnömatik sistem hariç) ilgili laboratuvara ulaştırılması önemlidir; aksi takdirde pCO_2 değerinde (yalancı) düşüklük ve pH değerinde (yalancı) alkaliye kayma gözlenir. Plazmanın en önemli tampon sistemi olan 'bikarbonat - karbonik asit tampon sistemi'nin asit bileşenini pCO_2 temsil eder. Solunum merkeziyle ilgili anksiyete, sepsis ve ateşli hastalıklar dışında, ağır anemi, pulmoner emboli, konjestif kalp yetmezliği de solunumsal alkaloz nedeni olabilir (13,14).

Kan gazı parametreleri arasında bulunan HCO_3^- , klor (Cl^-), sodyum (Na^+), potasyum (K^+), iyonize kalsiyum (iCa^{++}), asit-baz dengesinde ve ozmotik basıncın düzenlenmesinde ve vücuttaki su miktarının kontrolünde görev alır. Hücre-içi ve -dışı sıvılar arasındaki Na^+ ve K^+ dağılımı hücre membranına yerleşmiş olan Na^+/K^+ -ATPaz enzimi tarafından sağlanır; konsantrasyon gradyanına karşı 3 Na^+ hücre dışına pompalanırken, 2 K^+ hücre içine girer. Asidoz, iCa^{++} 'un proteinlerden ayrılmasına yol açar. Hücreler tampon olarak işlevseldir; alkalozda H^+ salınır, K^+ alınır. Alkalozda, insulin, katekolaminler ile uyarılabilen Na-K ATPaz pompası aracılığıyla, 3 Na^+ hücre dışına çıkarılırken, 2 K^+ hücre içine alınır; hücre-içi Na^+ konsantrasyonunun düşük oluşu ve negatif hücresel potansiyel nedeniyle, Na^+ pasif olarak hücre içine girecektir (15).

Kan gazı bulguları arasında mekanik ventilasyon bilgilerinin de kullanıldığı parsiyel oksijen basıncı/fraksiyone inspirasyonda oksijen ile değişen derecelerde akciğer hasarı (sırasıyla, artan hasar: $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2 \leq 100, \leq 200, \leq 300$) değerlendirilebilir (16).

Organizmada sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesinin sağlanmasında (korunmasında) uygun sıvı desteğiyle,

organ desteğinin ve enfeksiyon tedavisinin daha etkin olabilmesi, kritik hastanın hayatta kalabilmesine olanak sağlayabilir (16,17).

3. c. Metabolik testler

Kan glukoz düzeylerinde salınımların olduğu hiper-glisemide (>180 mg/dL) insulin infüzyon hızı düzenleninceye kadar 1-2 saatte bir kan glukoz ölçümü önerilir; daha sonra 4 saatte bir bakılabilir. Cushing Sendromu, hipertiroidi, pankreas fonksiyon kaybı vb. endokrin bozukluklar nedeniyle hiperglisemi gözlenebilir. Sıklıkla kan glukoz ölçümü gereken bu gibi durumlarda, kapiller kan örneğinde glukoz ölçümüne başvurulur. Ancak periferde mikrodolaşım ve perfüzyon bozukluğuna bağlı olarak hasta-başı testi ile (olası interferans nedeniyle) elde edilen veriler kan-gazı veya biyokimya analizörü ile elde edilen değerleri yansıtmayabileceğinden dikkatle yorumlanmalıdır (18).

Piruvat dehidrogenaz enziminin sitokinlerce baskılanmasından kaynaklanan ve sepsiste hücre metabolik değişikliklerle birlikte laktat artışı (> 2 mmol/L) görülür. Tedavi ile birlikte düşmeye başlayan laktat, doku perfüzyonunun geri geldiğini gösteren en önemli bulgudur (13).

3. d. Tam kan sayımı parametreleri

Otomatik kan sayımı analizörü ile saptanan lökositoz ($>12,0 \times 10^9/L$) veya lökopeni (virüs/hücre-içi bakteriler: $<4,0 \times 10^9/L$) veya olgunlaşmamış nötrofil artışı ($>10\%$) SIRS tanı kriterleri arasında yer alır (17). Lökosit tiplerinin ayırt edilmesi (diferansiyel sayım) sayesinde, septik atak sırasında (lökositozda) sitokinlerin uyarısıyla kemikiliğinden nötrofil ve öncüllerinin salınmasındaki dengeye bağlı oluşan nötrofil hakimiyetinde geniş salınımlar gözlenir. Periferik yaymada reaktif nötrofil ve monositlerdeki karakteristik morfolojik değişikliklerin tanımlanması, toksik granülasyon, vakuolizasyon ve Döhle cisimciklerinin görülmesiyle mümkündür. Bunlara ilaveten, bant, metamyelosit ve myelosit görülmesiyle henüz olgunlaşmamış formlar tanımlanabilir (19). Ancak buradaki manuel inceleme, bireysel iş-gücü, deneyim ve zaman gerektirir, sübjektiftir.

Yenidoğanda total lökosit sayısı kan alınma zamanı, kan örneğinin alınma yeri (venöz, kapiller veya arteriyel), bebeğin aktivitesi (aşırı ağlama) ve enfeksiyon dışı durumların varlığına (periventriküler hemoraji, konvülsiyon, asfiksi gibi) göre değişebildiğinden diğer lökosit göstergeleri ile birlikte değerlendirilmelidir. Eritrosit

öncüleri çekirdekli olan normoblastları da yanlışlıkla lökosit olarak sayılabilir. Sepsisin erken tanısı için 24 saat içerisinde total lökosit sayısı seri ölçümlerinin daha yararlı olduğu bildirilmiştir (20-22). Yenidoğanda ilk 48 saat içinde nötropeni (mutlak nötrofil sayısı $<1,5 \times 10^9/L$) enfeksiyon tanısı için nötrofiliden daha değerli bir parametredir, 48. saatten sonra ise hem nötropeni hem de nötrofil enfeksiyon için önemlidir (23).

Yine otomatik kan sayımı analizörü ile saptanan trombositopeni ($<100 \times 10^9/L$ veya ani düşüş: $>50\%$) yanı sıra, trombosit fonksiyonlarının bozulması da sepsiste söz konusu olabilir. Ayrıca hemoglobin düzeyinde ani düşüş, akut kanama (gastrointestinal sistem, beyin gibi) lehine bulgu olabilir (17).

3. e. Koagülasyon testleri

Hem SIRS veya sepsis klinik bulguların ortaya çıktığı erken evrede, hem de tedavi izleminde hematolojik testlere başvurulur. İnflamatuvar sitokinlerin uyarıcı etkisi ve artmış sentez (pozitif akut faz reaksiyonu oluşu) nedeniyle fibrinojen düzeyinde önemli bir düşüş izlenmeyebilir. Doğal antikoagülan aktivitesinin (antitrombin III, protein C, protein S) birçok mekanizma ile azaldığı bilinir; ancak doğal antikoagülanların ölçümü genel algoritmalarda yer almaz (19).

Dolaşımda çözünebilir fibrin monomerleri protamin sülfat veya etanol jelasyon testleri ile saptanır (24). Oral kontraseptif kullanımı, pulmoner emboli, miyokard enfarktüsü, inflamasyon ve bazı böbrek hastalıkları nedeniyle fibrin yıkım ürünleri (FYÜ) ve dolaşımda çözünebilir fibrin monomerlerinin artışı görülür (25). Trombin fibrinojeni parçalayarak, (fibrinojenden) fibrinopeptid-A oluşumuna yol açar ve esas antagonisti ile birleşerek (çözülmeyen) trombin-antitrombin kompleksini (TAT) oluşturur. Fibrinopeptid-A'nın varlığı trombinin fibrinojene etki ettiğinin göstergesidir ve tedavinin etkinliğinin izlenmesi açısından yararlıdır. Enzim-linked immunassay (ELISA) yöntemiyle protrombin fragment 1-2 ve TAT kompleksi değerlerinde yükselme hiperkoagülabilitate (prokoagülan aktivite) lehine bulgulardır (24,26,27).

Fibrinopeptid A ve B daha sonra fibrine polimerize olur, bu ise mikrovasküler tromboz, kan akımında yavaşlama, periferik iskemi ve son organ hasarı gibi klinik durumlara yol açar. Fibrinin mikrodolaşımda depolanmasıyla trombositler yakalanır ve trombositopeni gelişir. Dolaşımdaki serbest plazmin kompleman sistemini de aktive eder, trombosit yıkımı artar; trombositopeni şiddetlenir ve

ortama daha çok trombosit prokoagulan maddesi verilir. Serbest radikallerin arttığı oksidan ortam da, trombosit membran hasarıyla birlikte trombositopeniyi arttıran diğer bir durumdur. Kompleman sisteminin aktivasyonu ile damar geçirgenliği artarak hipotansiyon ve şoka neden olur. Aynı zamanda kinin sisteminin aktivasyonu da damar geçirgenliği, hipotansiyon ve şoku arttıran önemli bir patofizyolojik olaydır (4,28).

YDPS, damar içinde izlenen yaygın fibrin birikimlerine bağlı tromboembolik olaylar ve iskemiye bağlı çoklu organ yetersizliği ile birlikte tüketim koagülopatisine bağlı kanamaların eş zamanlı izlenebildiği bir durumdur. YDPS dinamik bir süreçtir, bu nedenle tanısal testlerin belirli zaman aralıkları ile tekrarlanması ve değerlendirilmesi tanıya erken ulaşılması ve uygun tedavinin hızla başlatılabilmesi açısından yaşamsal öneme sahiptir. Uzaması beklenen protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT), trombin zamanı (TT) değerlerinde normal sonuç elde edilmesi YDPS'yi ekarte ettirmez; pozitif akut faz proteini olan Faktör VIII artışına bağlı aPTT kısalması nedeniyle, (beklenen) uzama gözlenemeyebilir. Akut faz proteinleri, heparini bağlayarak nötralize edebilir; aPTT kısalır. Heparinize hasta numunesinde, trombositten platelet faktör 4 (PF4) salınımıyla heparin nötralize olabilir; aPTT kısalır. Bekleyen numunede ise (> 4 saat) F VIII degradasyonu ile uzamış aPTT görülür. Kronik YDPS tanısı için (klinikle uyumlu) artmış trombin oluşumunu gösteren testler yeterli olmaktadır. D-dimer negatif prediktif değeri ile klinikte kullanımı yaygındır; normal değerlerde bulunduğu YDPS ekarte edilebilir. Diğer testlerde (çözünabilir fibrin monomer, fibrinopeptit A ve B, protrombin fragman 1.2, trombin-antitrombin TAT kompleks artışı) hemen sonuç alınamayabilir (19).

International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) tarafından önerilen skorlama sistemi, kullanılan testlerin her yerde kolay ve yaygın yapılabilmesi nedeniyle tercih edilmektedir. YDPS ile birlikte diğer bir hastalığın varlığı, trombosit sayısında düşüş, D-dimer düzeyinde artış derecesi, PT uzaması, fibrinojen düzeyinde düşüş değerlendirilir. Skorun 5 ve üzerinde olması aşikar YDPS tanısı açısından değerli olmasına karşın, bazı erken dönem YDPS olgularında yetersiz kalabilmektedir (19).

3. f. CRP

Akut faz reaktanları, doğal immünitinin bir parçasıdır. Sepsis tanısına yardımcı olan başlıcaları eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), C-reaktif protein (CRP), fibrinojen, alfa1 asit-glikoprotein, fibronektin, kompleman kom-

ponentleri, haptoglobulin, seruloplazmin, prealbumin, serum amiloid A (SAA) ve son yıllarda sıkça kullanılmaya başlanan prokalsitonin (PCT)'dir. Akut faz reaktanlarının plazma yarılanma ömürleri ve inflamasyona yanıt hızları birbirinden farklıdır.

CRP, birbirine benzer 5 alt birimin bir araya gelmesiyle oluşan 120.000 dalton ağırlıklı bir glikoproteindir. Bu protein adını pnömokokun C polisakaridi ile karşılaştığında, presipitasyon yapma özelliğinden almıştır. CRP en başta enfeksiyon olmak üzere yaralanma, cerrahi, travma, tümör ve doku nekrozu gibi inflamatuvar veya ateş durumlarına cevap olarak karaciğerde IL-6'nın uyarısıyla sentezlenir. CRP kan düzeyleri 4-6 saatte yükselir, genellikle 24-36. saatte en yüksek düzeyini yakalar (negatif prediktif değeri % 100'e yaklaşır), yarı ömrünün 19 saat olduğu bildirilmiştir; ancak organ (karaciğer) yetmezliği durumunda sentezinin düşmesi beklenir (29).

CRP dolaşıma girdikten sonra immün yanıtta katılır, zedelenmiş hücre duvarı ile CRP-ligand komplekslerini oluşturur; bu kompleks kompleman aktivasyonu yapar ve fagositik hücrelere bağlanır, böylece immün cevap kuvvetlenir (29).

Yenidoğan enfeksiyonu belirlemede seri ölçümlerde (en fazla 12-24 saat arayla, en az 2 ölçüm) artmış CRP oldukça yararlı bir yöntemdir; tanı değeri IL-6'ya eşit veya daha yüksektir (30,31). Yenidoğan erken sepsis tanısında IL-6 ve CRP istatistiksel olarak anlamlı bulunurken; erken ve geç sepsis ayrımında sadece IL-6 anlamlı bulunmuştur (32). Mekonyum aspirasyonu, respiratuvar distres sendromu, perinatal asfiksi, maternal ateş, erken membran rüptürü ve intraventriküler hemoraji gibi enfeksiyon dışı nedenler de CRP artışına neden olduğundan özgünlüğünü azaltmaktadır.

4. Güncel/yeni belirteçler

4. a. Sitokinler

Yoğun bakım hastası immünoinflamatuvar kaskadların tetiklendiği veya tetiklenmeye meyilli olduğu bir grup hastalığı bünyesinde barındırır. Uzun süre yatağa bağımlı olmanın yanı sıra, fizyolojik beslenmenin tehdit altında olduğu, oksijen sunum-tüketim dengesinin en azından kullanımındaki değişikliklere bağlı olarak bozulduğu, göreceli olarak avirulan patojenlerle enfeksiyon gelişebilmesinin söz konusu olduğu bir kritik hastada immün yetmezliğin altta yatmakta olduğu açıktır.

Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin yanı sıra serbest oksijen ve nitrojen radikallerinin ortamda artan varlıkları, organizmanın inflamatuvar-antiinflamatuvar, apoptozis-antiapoptozis, oksidan-antioksidan ve koagülasyon-antikoagülasyon dengelerini bozmaya adaydırlar. Yukarıda sözü edilen süreçlerde rol alan moleküler belirteçlerin organ fonksiyonları ile ilişkili geçerlilikleri son dönemlerde ortaya konmaya başlanılmıştır. Organ fonksiyonlarındaki bozulmalarla olan korelasyonları yeni biyobelirteçlerin farklı organ fonksiyonları için detaylı araştırılmasını gündeme getirmiştir (33).

Proinflamatuvar sitokinler (IL-6, IL-1B, IFN- γ , TNF- α), antiinflamatuvar sitokinler (IL-4, IL-10, TGF-B), kemokinler (GRO- α , IL-8, IP-10, MIG), akut faz reaktanları (CRP, PCT, SAA, inter α inhibitör protein, LPS bağlayıcı protein), lökosit yüzey antijenleri (CD11b, CD64) ve diğer (mannoz bağlayıcı lektin, pro-adrenomedullin, pro-endotelin, pro-atrial natriüretik peptid gibi) belirteçlerin kullanımı önerilmektedir (34,35). Sepsis için ideal biyobelirteç özellikleri şu şekilde sıralanabilir:

- Uygun antikoagülan gerektirmesi,
- Biyokimyasal stabilitenin sağlanabildiği analitik ölçüm,
- Düşük numune hacmi ile çalışabilme,
- Diğer sistemlerle (laboratuvarlarla) karşılaştırılabilir, ucuz, hızlı, basit, otomatize analize uygunluk,
- İyi belirlenmiş eşik değer,
- Erken evrede belirleyici, duyarlılığı yüksek (negatif prediktif değeri \approx % 100), özgüllüğü yüksek (pozitif prediktif değeri $>$ % 85),
- Klinik (hangi) bulguların başlangıcından numune alınmasına geçen süreyle ilişkili geniş örneklem zamanı (evre $>$ 48 saat),
- Patojeni (bakteriyel/viral) ayırt edici, antibiyotik tedavisinin düzenlenmesine yardımcı, tedaviye yanıtı gösteren, (28-gün mortalite için) prognozu öngörmesi.

Kanda kompleman ve "Toll-like receptor co-receptor CD14" mikroarray analizi (transkripsiyon düzeyinde) potansiyel sepsis belirteçleri olarak ileri sürülmüştür (36).

4. b. Prokalsitonin

PCT, olağan koşullarda tiroit bezi parafoliküler C hücrelerinde üretilen öncü peptid preprokalsitonin, hücre içi proteoliz ile degrade olur ve geriye kalan PCT, daha sonra kalsitonine çevrilir (N-terminal bölge + kalsitonin

+ katakalsin). Tiroit bezi dışında kalsitonin üretilemez. Diğer tüm hücreler PCT sentezleme kapasitesine sahiptir. Moleküler ağırlığı yaklaşık 13.000 dalton olan, 116 aminoasid içeren polipeptid yapıdadır (13).

Sepsiste özellikle bakteriyel enfeksiyona bağlı proinflamatuvar uyarı ile değişik hücrelerde (özellikle monosit ve hepatositlerde) PCT üretilir; 2-4 saatte yükselir, genellikle 6-8 saatte en yüksek düzeyini yakalar, iyileşmeyle birlikte hızla düşüş gösterir. Çalışmalar, bakteri endotoksinin (LPS) PCT'nin üretimini sağlayan en güçlü uyarıcı olduğunu ortaya koymuştur. Fakat klinik gözlemler, bakteriyel endotoksin olmaksızın TNF- α , IL-6 ve IL-2'nin de PCT yapımını uyardığını göstermektedir. Viral hastalıklar, otoimmün hastalıklar, onkolojik hastalıklar, lokal ve sınırlı enfeksiyonlar PCT artışına neden olmazlar. Bu nedenle, PCT en çok bakteriyel hastalıklar ile bakteriyel olmayan hastalıkları ayırmak için kullanılmaktadır. Bakteriyel kaynaklı olduğu düşünülen hastaların yoğun bakım ünitesine kabulünde, yoğun bakımda yatmakta olan hastada tekrarlayan (yeni) sepsis şüphesinde, antimikrobiyal tedavinin etkinliğinin (3. ve 5. gün) araştırılmasında (CRP'den farklı olarak, antibiyotik tedavisi almakta olanlarda tedaviye cevabın takibi), septik şok izleminde ve risk belirlemede serum PCT düzeyine başvurulabilir. Kullanılan yöntemde interferansa yol açabilecek preanalitik faktörler (hasta-hastalık ve kullandığı ilaçlarla ilgili, tüpteki antikoagülan veya önışlem, aşırı lipemi, hemoliz varlığı vb.) konusunda dikkatli olunması, testin daha etkin kullanımına olanak sağlayacaktır (13,37). Yaşlı sepsis olguların yoğun bakıma kabulünde yararlılığı gösterilmesine rağmen mortalite riskini belirlemede herhangi bir avantaj sağlamadığı bildirilmiştir (38). Fungal ve parazitik enfeksiyonlarda da belirteç olarak kullanımı mümkündür (39). Yenidoğan erken sepsis tanısında serum PCT düzeyleri uygun bir belirteç değildir (32).

Son zamanlarda ileri sürülen diğer bir sepsis belirteci olan presepsin (P-SEP), CD14'e ait N-terminal ucundan kesilen 13-kDa glikoproteindir (soluble CD14 subtype, sCD14-ST). Bu molekülün PCT, CRP, IL-6 gibi inflamatuvar belirteçlerden farklı 3 biyolojik özelliği vardır: Birincisi, enfeksiyonun başlangıcında daha erken tespit edilebilir; ikincisi, şiddetli travma yanık, invaziv cerrahi girişim gibi durumlardan etkilenmez; üçüncüsü, septik hastaların kliniğini yansıtır (40), yenidoğan sepsis ve SIRS tanısında önerilmektedir (41).

4. c. Yeni geliştirilen tam kan sayımı parametreleri

Nötrofil/lenfosit (N/L) sayısal oranının sepsis tanı ve prognozu göstermesinin ötesinde, yoğun bakıma gelişte şiddetli sepsis olgularında (n=118) 7 gün içerisinde akut böbrek yetmezliği gelişme riskini belirlemede CRP ve total lökosit sayısına göre üstünlüğü bildirilmiştir (42). Bakteremi veya sepsis tanımlı olgular (n=701) retrospektif olarak PCT düzeylerine göre 5 alt gruba ayrılarak incelendiğinde duyarlılığı ve özgüllüğü CRP ve total lökosit sayısından daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada nötropeni, trombositopeni, lökopeni, hematolojik malignansiler, metabolik hastalık, kronik ve/veya hücre-içi bakteriyel enfeksiyonlar (brusella, salmonella, tüberküloz gibi), granülatöz kronik hastalıklar, gebelik veya lohusalık dönemi (6 ay), kronik böbrek yetmezliği dışlanmıştır. Ayrıca önceki antibiyotik kullanımı, tıbbi girişimler, idrarda lökosit varlığı bilinmemlidir, travma, cerrahi, pankreatit ve romatoid artrit gibi inflamasyon varlığında, N/L oranı yanıltıcı olabilir; (çok sayıda veri kullanılarak) bu oranın yararlılığı açısından hasta uygunluğunun değerlendirilmesi gerekecektir (43). Acil serviste yapılan diğer bir çalışmada (n=2311) N/L oranı, mortalite için belirteç olarak önerilmiştir (44). N/L gibi, trombosit/lenfosit (P/L) oranı da inflamasyon belirteci olarak önerilen lökosit indeksleri arasında yer alır (45).

Hacim-iletkenlik-ışık saçımı (volume conductivity scatter: VCS) teknolojisinin bir arada değerlendirildiği, sistemik ve sistemik olmayan (sınırlı) enfeksiyonun ayırt edilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada ortalama nötrofil hacmi (MNV) değerinin, CRP ve ortalama monosit hacmi (MMV) değerinden spesifite ve sensitivitesinin yüksek olduğu gösterilmiştir; ancak kan kültürü (n=11) ile birlikte istatistiksel değerlendirme yapılamamış olması ve kontrol grubunun daha genç oluşu bu çalışma için sınırlayıcıdır (46). Kan kültürü pozitif septik hastalarda (n=70) VCS teknolojisiyle yapılan diğer bir çalışmada direk akım empedans ile belirlenen nötrofil hacim dağılım genişliği (NDW) değerinde artış, dolaşımdaki granülositlerde sola kayma, bant oluşumu (immatür nötrofil-lerin varlığı), hücre hacminin ve şeklinin değişkenliğinin yüksekliği (homojenite ↓) lehine yorumlanmıştır (47).

Delta nötrofil indeksi (DNI) değeri, myeloperoksidaz (MPO) reaktif lökositler hesaplanır; dolaşımdaki myeloid parçacıkları (immatür granülositler) gösterir. Kan kültürü, DNI, CRP ve PCT'nin değerlendirildiği bir çalışmada (N=128); DNI ve PCT birlikte sepsis erken tanısı, ciddi sepsis ayırımı, YDPS ayırımı, 30-gün mortalite oranı ile ilişkili bulunmuştur (48). Diğer bir çalışmada, erken sepsis tanısı ve 28 günlük mortalite için bağımsız prediktör (prognozu

öngören) olduğu ileri sürülmektedir (49). Yine bir başka çalışmada sepsis erken tanısı, ciddi sepsis ayırımı, YDPS ayırımına ilaveten organ fonksiyon kaybını gösterebileceği (12 saat önce) ileri sürülmektedir (50).

Işık saçımı (light scatter) ve membrandan (açılan deliklerden) geçerek RNA, DNA'ya bağlanan polietilen tabanlı floresan boya emisyonu ile immatür granülositlerin gösterilmesi de diğer bir yaklaşım olmuştur. Bir çalışmada (n=263) akım sitometre ile immatür granülositlerde artmış RNA, DNA arasındaki ilişki gösterilmiştir (51). CRP, IL-6, LPS bağlayıcı protein ile birlikte yapılan diğer bir çalışmada ilk 48 saat içerisinde enfeksiyon için tansal odds oranı 26,7 olarak belirlenmiştir (52).

Trombositlerle ilgili indeksler ortalama trombosit volümü (MPV), trombosit dağılım genişliği (PDW) ve trombosit platekriti (PCT) olup, en sık kullanılan parametre MPV'dir; trombosit büyüklüğünü ve kemik iliği yanıtını göstermektedir (53).

Kan sayımı analizörlerinde teknolojik gelişmelerle birlikte numunenin santrifüj vb. ön işlem gerektirmeksizin çalışılabilmesi, hemen sonuç alınabilmesi, kan sayımının yanında ilave cihaz (beraberinde işgücü, maliyet) gerektirmemesi, daha etkin kullanımında avantaj sağlayacaktır.

4. d. Yeni geliştirilen koagülasyon testleri

YDPS hastalarında Ca²⁺ ile uyarılan VLDL ile CRP arasında (in vitro) kompleks oluşumuna bağlı olarak meydana gelen olağan dışılık (kusurlu oluşum) tanımlanmıştır. Foto-optik koagülometre analizörüyle aPTT ölçümünde aktivasyon ve rekalsifikasyon ile pıhtı oluşumunda ışık transmittansta (580 nm) sigmoidal olması gereken optik değişim yerine ani değişim/düşüş derecesinin saptandığı, 18. saniyede ışık transmittansı (TL 18) ve başlangıç eğimi (initial slope) kriter alındığı bifazik transmittans dalga formu (BPW) bildirilmiştir (54). Yoğun bakım ünitesinde yapılan bir çalışmada (n=331), YDPS evresi ve sepsisteki aPTT BPW analizinin sensitivitesi yoğun bakıma kabulde % 22 - 55, yoğun bakımda kalış süresince % 48 - 74; spesifitesi yoğun bakıma kabulde % 92 - 98, yoğun bakımda kalış süresince % 81 - 94 olarak bildirilmiştir (55). Prospektif gözlemsel tasarlanmış diğer bir çalışma sonucunda (n=100), yoğun bakıma kabulde BPW ile PCT birlikte kullanıldığında sepsis için sensitivitesi % 79, spesifitesi % 96 ve negatif prediktif değeri % 96 bulunmuştur (56). SIRS tanısı ile izlenen hastalarda (n=105) sepsis gelişmesi için odds oranı 2.977 olarak bildirilmiştir ve statin tedavisi alanlarda pozitif BPW oluşumu azalabilmektedir (57). Yine diğer bir

çalışmada (n=187) ciddi sepsis ve septik şok tanısında sensitivite % 90, negatif prediktif değeri % 92; sepsis ilişkili 3. gün mortalite için spesifisite % 91, negatif prediktif değer % 98 olarak rapor edilmiştir (58). SIRS-sepsis ile şiddetli sepsis ve septik şoku ayırt etmede BPW, % 90 duyarlılık, % 92 negatif prediktif değer (59) gösterilmiştir, hızlı, ucuz, etkin olmasına karşılık cihaz bağımlıdır ve her laboratuvarında yoktur. Diğer önemli testler arasında prokoagülan fosfolipidlerde (PPL) artış, immatür (retiküle) trombositlerin varlığı ve tromboelastogram (TEG) yer alır (19).

Yüksek trombomodulin (TMa), Tfa ve kalibre otomatik trombografi (CAT) ile birlikte PPL aktivitesinde artışın, septik ve non-septik organ yetmezliğinde prognostik olduğu bildirilmiştir (60).

TEG analizi, geleneksel koagülasyon testlerinden farklı olarak tüm koagülasyon basamaklarını gösterir; plazma koagülasyon sistemi, trombosit fonksiyonu, fibrinolitik ve bu durumu etkileyen çeşitli faktörler, bazı ilaçlar hakkında bilgi edinilir. Pıhtının oluşumu ve erimesi adeta bir harita olarak gözler önüne serilir. Yöntem pıhtı oluşması için geçen süreyi, vizkoziteyi ve pıhtının gerilebilirlik (elastikiyet, sağlamlık) özelliklerini değerlendirir; Tfa taşıyan küvet, trombosit ve kofaktörlerin aktivasyonu, trombosit yüzeyinde çok miktarda trombin oluşu gibi. Küvete tam kan konur. Silindirik iğne küvete değmeyecek fakat kanla temas edecek şekilde küvete daldırılır. İğnenin küvete girmeyen ucunda bir şaft ve şaftın üzerinde ayna bulunur. Sistemde bir ışık kaynağı ve dedektör de bulunur. Küvet ile ayna arasında pıhtı ve fibrin ağları oluşmaya başladığında küvetin ve iğnenin hareketi göreceli olarak sınırlanmaya başlar. İğne tarafından saptanan bu limitli hareket, optik sistem tarafından bilgisayar yazılımı üzerine taşınır. Uygulama alanları ameliyat öncesi/sonrası, onkoloji/hematoloji (kan ürünleri transfüzyonu, ilaçların kullanımında ve bunlara bağlı komplikasyonların azaltılması amacıyla), transplantasyon, kardiyovasküler cerrahidir (61,62).

5. Şiddetli sepsis, septik şok, çoklu organ fonksiyon kaybı

Akut oligüri (<0,5 mL/kg/saat), şuur bulanıklığı ve sistolik hipotansiyon (< 90 mmHg) ile birlikte görülebilir. Hipovoleminin ön plana çıktığı septik şokun erken evresinde makrodolaşım ve mikrodolaşım değişiklikleri birbirine paralel gider (nabız > 90 /dk), yeterli sıvı desteği hemodinamik parametrelerin düzelmesinde veya

mortalitede belirleyicidir. Septik şokun geç evresinde makrodolaşım ve mikrodolaşım ilişkisi karmaşık hale gelmiştir; yeterli sıvıya karşın (> 500 mL) sepsise bağlı hipotansiyon uzamıştır (> 1 saat) ve klinik seyir hipoperfüzyona bağlı olarak değişir (63,64).

Çocuk yoğun bakımda yapılan bir çalışmada, idrarda albumin/kreatinin oranı 34,2 miligram/gram kesim değerine göre, % 95 pozitif prediktif değeri bildirilmiştir (65). LPS (endotoksin) kaynaklı, TNF- α aracılığıyla geliştiği gösterilen albuminüri varlığında (hayvan modelinde), glomerüler endotelial pencerede ve endotel yüzey tabakasındaki morfolojik değişikliklere ait "transmisyon elektron mikroskopik" (TEM) görüntüler ve böbrek dokusunda "vasküler endotelial büyüme faktörü" (VEGF) mRNA, kan protein düzeylerinde düşüklük ile ilişkilendirilmiştir (28). Tip 2 diyabetiklerde benzer bozuklukların albuminüri ve glomerüler filtrasyon hızında azalmaya eşlik ettiği bilinmektedir. Glomerüler endotelial hücreler hasarlandığında (diyabetteki gibi) heparanaz (endo-beta-D-glukuronidaz) salgılar (66); heparan sülfat koparılır olur (67,68). Böylece sepsis ile uyarılan glomerüler heparanaz aktivitesiyle endotel yüzey tabakası bozulmuş olabilir. Yine diğer bir sepsis hayvan modelinde, akciğer endotel glikokaliks yıkımında endotelial heparanaz aktivasyonu ve heparan-sülfat kaybı bildirilmiştir (69).

SIRS tanısı almış hastalardan oluşan geniş kohort bir çalışmada (n=943), endotel aktivasyon/fonksiyon bozukluğuyla ilişkili belirteçler (Angiopietin-1, Angiopietin-2) ile 28 günlük mortalite, şok ve organ yetmezliği arasında (inflamasyondan bağımsız) ilişki gösterilmiştir (70). Sepsis ve septik şok katabolizmayı artırır (anaerob metabolizma \uparrow), metabolik asidoz (arteriyel pH $\leq 7,3$) gelişir; seri ölçümlerde artmış laktat düzeyi gözlenir. Arteriyollerde kararsız, geçici, saniyeler süren bir daralmadan sonra, vazodilatasyon oluşur. Yaygın trombüs oluşumu, önemli miktarda kanın mikrovasküler alanda hapsolmesiyle kan basıncı düşer. Mikrodolaşım ve perfüzyon bozukluklarının şiddetlenmesiyle birlikte hayati organlara giden kan, oksijen ve esansiyel besin öğelerinin kıtlığı, çoklu organ fonksiyon bozukluğuna (MODS) yol açar. Dokulara yeterli oksijen sağlansa bile, sitokinlerin ve serbest oksijen ve nitrojen radikallerinin mitokondri fonksiyonlarını bozması ile dokularda oksijen kullanılamaz; elektron taşıma zincirinin bozulması sonucu oksidatif fosforilasyon yetersiz hale gelir ve ATP üretilmez (16).

Karaciğerde safra kanallıklarının işlev bozukluğu sonucu

intrahepatik kolestaz (serum total bilirubin > 2,5 mg/dL); değişen derecelerde hepatoselüler hasar (PT uzaması > 0,6 sn., APTT > 60 sn., kan glukozu <100 mg/dL, lipitlerden yüksek enerjili fosfat üretiminin bozulmasıyla gözlenen hipertrigliseridemi); böbrek hasarı (serum kreatinin ani artışı > % 100 veya serum kreatinin > 2,0 mg/dL); akciğer hasarı (PaO₂ < 70 mmHg, Sa O₂ < % 90, PaO₂/FiO₂ ≤ 300), şiddetli pulmoner enfeksiyon, MSS depresyonu gibi ciddi organ fonksiyon bozukluğu lehine bulgular dikkate alınmalıdır (16,18). Hastada özellikle serum kreatinin düzeyinde % 100 üzerinde ani artışla ilgili laboratuvar çalışanlarının klinisyene (kliniğe) geri bildirimde bulunması veya elektronik ortamda uyarı otomatik uyarı gönderilmesine yönelik bilgi işlem alt yapısının oluşturulması çok önemlidir.

Nükleer Magnetik Rezonans Spektrometrisi (NMRS) ile hasta kan örneklerinin metabolik ve inflamatuvar profilinin moleküler tanı yöntemi kullanılarak incelenmesi, ileri teknoloji gerektirmektedir (71-74). Sağlık hizmeti sunumu ve hastayla ilgili çok ve çeşitli verinin (predispoze durumlar, bulgular, tedaviye verdiği cevap vb.) bir araya getirilerek hızlı ve güvenli analiz sayesinde (big data analytics), riskli hastanın fark edilmesi ve tedavinin etkinliğinin artırılmasına yönelik çalışmalar sürdürülmektedir (75).

8. Sonuç

Yoğun bakımdaki kritik hastada tam kan sayımı indeksleri, CRP ve sitokinler gibi laboratuvar parametreleri önemli ilave bilgi sağlayacaktır. Ancak bu gibi biyobelirteçlerin referans sınırları iyi tanımlanmış olmalıdır. Organ fonksiyon kaybının yakın izleminde, özellikle serum kreatinin düzeyinde ani artışlardan ilgili klinik acilen bilgilendirilmelidir.

KAYNAKLAR

- Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nature* 2013;13:862-74.
- Vincent JL, Wondon J, Groeneveld J, Marshall JC, Streat S, Carlet J. The PIR0 concept: O is for organ dysfunction. *Crit Care* 2003;7:260-4.
- Opal SM, Glück T. Endotoxin as a drug target. *Crit Care Med* 2003;31(1 Suppl):S57-64.
- Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nature* 2008;8:776-87.
- Huber-Lang M, Sarma JV, Zetoune FS, et al. Generation of C5a in the absence of C3: a new complement activation pathway. *Nat Med* 2006;12:682-7.
- Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol* 2007;81:1-5.
- Hawlich H, Belkaid Y, Baelder R, Hildeman D, Gerard C, Köhl J. C5a negatively regulates toll-like receptor 4-induced immune responses. *Immunity* 2005;22:415-26.
- Rittirsch D, Flierl MA, Nadeau BA, et al. Functional roles for C5a receptors in sepsis. *Nat Med* 2008;14:551-7.
- Xu X, Sun B. Platelet granule secretion mechanisms: Are they modified in sepsis? *Thromb Res* 2015;136:845-50.
- Hotchkiss RS, Nicholson DW. Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis. *Nat Rev Immunol* 2006;6:813-22.
- Rao LV, Pechet L. Wallach's Interpretation of Diagnostic Tests. Williamson MA, Snyder LM, ed. Laboratory tests. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2015:765-1202.
- Coşkun A, Aral H, Güvenen G, Gültepe M. Farklı Düzeylerdeki Hemolizin Sodyum Ölçüm Yöntemlerine Etkisi. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2005;3:1-7.
- Rao LV, Mitchell MJ. Wallach's Interpretation of Diagnostic Tests. Williamson MA, Snyder LM, ed. Respiratory, metabolic, and acid-base disorders. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2015:672-729.
- Dikmen Y. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri No: 70, İç Hastalıklarında Aciller. Altıparmak MR, ed. Akut Solunum Yetmezliği. İstanbul: Doyuran matbaası, 2010:67-78.
- Murray RK, Granner DK. Harper's illustrated biochemistry. Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA: ed. Membranes: Structure & Function. The McGraw-Hill Companies, Inc., 2012:459-77.
- Erk O. Acil metabolik hastalıklar. Sepsis ve septik şok. İstanbul: Ecem Basın Yayın, 2014: 429-70.
- Berry R, Gillen F. Clinical Biochemistry Metabolic and Clinical Aspects. Marshall WJ, Lapsley M, Day AP, Ayling RM, ed. Metabolic response to stress, Edinburg: Churchill Livingstone Elsevier, 2014:429.
- Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al.; Djillali; and the Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012. *Crit Care Med* 2013;41:580-637.
- Türk Hematoloji Derneği <http://www.thd.org.tr/thd-Data/userfiles/file/YDPS-10-5-2100.pdf> (erişim tarihi: 09.12.2015).

20. Chiesa C, Panero A, Osborn JF, et al. Diagnosis of neonatal sepsis: a clinical and laboratory challenge. *Clin Chem* 2004; 50: 279-87.
21. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in neonate. *Pediatr Clin N Am* 2004;51: 939-59.
22. Öztürk M, Adnan. Enfeksiyon Hastalıkları. In: Yurdakök M, Erdem G (eds). *Türk Neonatoloji Derneği Neonatoloji . Ankara 2004 ; 354-83.*
23. Monroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, et al. The neonatal blood count in health and disease. Reference values for neutrophilic cells. *J Pediatr*, 1979;95:89-98.
24. Bick RL. Disseminated intravascular coagulation: objective clinical and laboratory diagnosis, treatment, and assessment of therapeutic response. *Semin Thromb Hemost(abst)* 1996;22:69-88.
25. Horan JT, Francis CW. Fibrin degradation products, fibrin monomer and soluble fibrin in disseminated intravascular coagulation. *Semin Thromb Hemost* 2001; 27: 657-66.
26. Cate TH, Sommejer DW, Levy M. Disseminated intravascular coagulation in the new millennium. *Hematol J* 2002;3:86-95.
27. Günay Ü, Baytan B, Meral Güneş A, Bör Ö. Yaygın Damar içi Pıhtılaşması. *Güncel Pediatri* 2004;2:117-21.
28. Xu C, Chang A, Hack BK, Eadon MT, Alper SL, Patrick N. TNF-mediated damage to glomerular endothelium is an important determinant of acute kidney injury in sepsis. *Cunningham Kidney Int* 2014;85:1-19.
29. DuClos T. Function of C-reactive protein. *Ann Med*, 2000;32:274-8.
30. Volante E, Moretti S, Pisani F, Bevilacqua G. Early diagnosis of bacterial infection in the neonate. *J. Matern Fetal Neonatal Medicine* 2004; 16 (suppl 2): 13-6.
31. Benitz W, Han M, Madan A, et al. Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection. *Pediatrics*, 1998;102:e41.
32. Yılmaz C, Dilmen U, Kaya İS, Uysal F, Önal E. Yenidoğan sepsis tanısında CRP, IL-6 ve prokalsitoninin karşılaştırılması. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2009;7:151 -6.
33. Bilgili B, Cinel İ. Yoğun bakım hastalarında 'Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR)'ın önemi. *J Turk Soc Intens Care* 2013;11:33-9.
34. Marshall JC, Reinhart K; International Sepsis Forum. Biomarkers of sepsis. *Crit Care Med* 2009;37:2290-8.
35. Wang X, Li ZY, Zeng L, et al. Neutrophil CD64 expression as a diagnostic marker for sepsis in adult patients: a meta-analysis. *Crit Care* 2015;19:245.
36. Lau C, Olstad OK, Holden M, et al. Gene expression profiling of Gram-negative bacteria-induced inflammation in human whole blood: The role of complement and CD14-mediated innate immune response. *Genom Data* 2015;5:176-83.
37. Uludağ Yanaral T. Yoğun bakım hastalarında prokalsitonin ve C-reaktif proteinin prognostik anlamının APACHE II ve SOFA skorlarıyla karşılaştırılarak değerlendirilmesi (uzmanlık tezi). T.C. S. B. Haseki EAH, 1. Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, tez danışmanları: Uz. Dr. Kadir İdin, Uz. Dr. Sinan Uzman. İstanbul, 2009:13-33.
38. Lee WJ, Woo SH, Kim DH, et al. Are prognostic scores and biomarkers such as procalcitonin the appropriate prognostic precursors for elderly patients with sepsis in the emergency department? *Aging Clin Exp Res*. 2015 [Epub ahead of print].
39. Carrol ED, Thomson APJ, Hart CA. Procalcitonin as a marker of sepsis. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 20:1-9.
40. Okamura Y. Usefulness of Presepsin Measurement: A New Biomarker for Sepsis. *Rinsho Byori* 2015;63:62-71.
41. Mussap M, Puxeddu E, Puddu M, et al. Soluble CD14 subtype (sCD14-ST) presepsin in premature and full term critically ill newborns with sepsis and SIRS. *Clin Chim Acta* 2015;451(Pt A):65-70.
42. Yılmaz H, Cakmak M, Inan O, Darcin T, Akcay A. Can neutrophil-lymphocyte ratio be independent risk factor for predicting acute kidney injury in patients with severe sepsis? *Ren Fail* 2015;37:225-9.
43. Gurol G, Ciftci IH, Terzi HA, Atasoy AR, Ozbek A, Koroglu M. Are there standardized cutoff values for neutrophil-lymphocyte ratios in bacteremia or sepsis? *J Microbiol Biotechnol* 2015;25: 521-5.
44. Terradas R, Grau S, Blanch J, et al. Eosinophil count and neutrophil-lymphocyte count ratio as prognostic markers in patients with bacteremia: A retrospective cohort study. *PLoS ONE* 2012;7:e42860.
45. Kurtipek E, Bekci TT, Kesli R, Erdem SS, Terzi Y. The role of neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *J Pak Med Assoc* 2015;65:1283-7.
46. Mardi D, Fwity B, Lobmann R, Ambrosch A. Mean cell volume of neutrophils and monocytes compared with C-reactive protein, interleukin-6 and white blood cell count for prediction of sepsis and nonsystemic bacterial infections. *Int Jnl Lab Hem* 2010;32:410-8.
47. Chaves F, Tierno B, Xu D. Neutrophil Volume Distribution Width: A New Automated Hematologic Parameter for Acute Infection. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130:378-80.
48. Kim H, Kim Y, Lee HK, Kim KH, Yeo CD. Comparison of the delta neutrophil index with procalcitonin and C-reactive protein in sepsis. *Clin Lab* 2014;60:2015-21.
49. Seok Y, Choi JR, Kim J, et al. Delta neutrophil index: a promising diagnostic and prognostic marker for sepsis.

- Shock 2012;37:242-6.
50. Park BH, Kang YA, Park MS, et al. Delta neutrophil index as an early marker of disease severity in critically ill patients with sepsis. *BMC Infect Dis* 2011;11:299.
 51. Fernandes B, Hamaguchi Y. Automated enumeration of immature granulocytes. *Am J Clin Pathol* 2007;128:454-63.
 52. Nierhaus A, Klatte S, Linssen J, et al. Revisiting the white blood cell count: immature granulocytes count as a diagnostic marker to discriminate between SIRS and sepsis--a prospective, observational study. *BMC Immunol* 2013;14:8.
 53. Kaya Z. Tam kan sayım çıktıların yorumlanması. *Dicle Tıp Dergisi* 2013;40:521-8.
 54. Toh CH, Samis J, Downey C, et al. Biphasic transmittance waveform in theAPTT coagulation assay is due to the formation of a Ca⁺⁺ -dependent complex of C-reactive protein with very-low-density lipoprotein and is a novel marker of impending disseminated intravascular coagulation. *Blood* 2002;100:2522-9.
 55. Dempfle CE, Lorenz S, Smolinski M, et al. Utility of activated partial thromboplastin time waveform analysis for identification of sepsis and overt disseminated intravascular coagulation in patients admitted to a surgical intensive care unit. *Crit Care Med* 2004;32:520-4.
 56. Zakariah AN, Cozzi SM, Van Nuffelen M, Clausi CM, Pradier O, Vincent JL. Combination of biphasic transmittance waveform with blood procalcitonin levels for diagnosis of sepsis in acutely ill patients. *Crit Care Med* 2008;36:1507-12.
 57. Hagg D, Malkoski S, Phillips C, Nichols D, Jacoby D. The biphasic aPTT waveform to diagnose sepsis in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Critical care* 2007;11(Suppl 2):P51.
 58. Chopin N, Floccard B, Sobas F, et al. Activated partial thromboplastin time waveform analysis: a new tool to detect infection? *Crit Care Med* 2006;34:1654-60.
 59. Vincent JL. Sepsis and Non-infectious Systemic Inflammation. Cavailon JM, Adrie C, ed. *Definition of Sepsis and Non-infectious SIRS*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009:3-12.
 60. Van Dreden P, Woodhams B, Rousseau A, Dreyfus JF, Vasse M. Contribution of procoagulant phospholipids, thrombomodulin activity and thrombin generation assays as prognostic factors in intensive care patients with septic and non-septic organ failure. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:387-96.
 61. Campbell JE, Aden JK, Cap AP. Acute traumatic coagulopathy: Whole blood thrombelastography measures the tip of the iceberg. *J Trauma Acute Care Surg* 2015;78:955-61.
 62. Ak K, Atalan N, Tekeli A, et al. Tromboelastografi ve kalp cerrahisinde kullanımı. *Anadolu Kardiyol Derg* 2008;8:154-62.
 63. Sharawy N, Lehmann C. New directions for sepsis and septic shock research. *J Surg Res* 2015;194:520-7.
 64. Sirvent JM, Ferri C, Baró A, Murcia C, Lorencio C. Fluid balance in sepsis and septic shock as a determining factor of mortality. *Am J Emerg Med* 2015;33:186-9.
 65. Anil AB, Anil M, Yildiz M, et al. The importance of microalbuminuria in predicting patient outcome in a PICU. *Pediatr Crit Care Med* 2014;15:e220-5.
 66. Kuwabara A, Satoh M, Tomita N, et al. Deterioration of glomerular endothelial surface layer induced by oxidative stress is implicated in altered permeability of macromolecules in Zucker fatty rats. *Diabetologia* 2010;53:2056-65.
 67. MD Hulett, C Freeman, BJ Hamdorf, et al. Cloning of mammalian heparanase, an important enzyme in tumor invasion and metastasis. *Nat Med* 1999;5:803-9.
 68. Vlodavsky I, Friedmann Y, Elkin M, et al. Mammalian heparanase: gene cloning, expression and function in tumor progression and metastasis. *Nat Med* 1999;5:793-802.
 69. Schmidt EP, Yang Y, Janssen WJ, et al. The pulmonary endothelial glycocalyx regulates neutrophil adhesion and lung injury during experimental sepsis. *Nat Med* 2012;18:1217-23.
 70. Mikacenic C, Hahn WO, Price BL, et al. Biomarkers of Endothelial Activation Are Associated with Poor Outcome in Critical Illness. *PLoS One* 2015;10:e0141251.
 71. Appavu SK. Differential diagnosis by metabolic profile: a dream or reality? *Crit Care Med* 2014;42:1300-2.
 72. Mylonakis E, Clancy CJ, Ostrosky-Zeichner L, et al. T2 magnetic resonance assay for the rapid diagnosis of candidemia in whole blood: a clinical trial. *Clin Infect Dis* 2015;60:892-9.
 73. Mickiewicz B, Tam P, Jenne CN, et al. Integration of metabolic and inflammatory mediator profiles as a potential prognostic approach for septic shock in the intensive care unit. *Crit Care* 2015;19:11.
 74. Garcia-Simon M, Morales JM, Modesto-Alapont V, et al. Prognosis Biomarkers of Severe Sepsis and Septic Shock by 1H NMR Urine Metabolomics in the Intensive Care Unit. *PLoS One* 2015;10:e0140993.
 75. Raghupathi W, Raghupathi V. Big data analytics in health-care: promise and potential. *Health Inf Sci Syst* 2014; 2:3.