

脓毒症凝血功能紊乱中内皮作用机制及潜在治疗

严京华, 谭利平

重庆医科大学附属儿童医院急诊科, 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心, 儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 儿科学重庆市重点实验室, 重庆

收稿日期: 2024年3月1日; 录用日期: 2024年3月25日; 发布日期: 2024年4月3日

摘要

脓毒症凝血功能的异常, 几乎发生在所有的脓毒症患者的病理生理进程中, 随着持续的内皮损伤与凝血功能的障碍相互促进, 导致脓毒症的持续进展。越来越多的学者开始认识到, 或许脓毒症的本质正是一种内皮病。因此, 对于内皮稳态的失衡进行尽早干预, 对减少脓毒症重症的发生有重要的意义, 本文对脓毒症凝血病中的内皮机制及潜在治疗方案作一综述。

关键词

脓毒症凝血功能紊乱, 弥散性血管内凝血, 血管内皮细胞

The Mechanisms of Endothelium in Sepsis Induced Coagulation Disorders and Potential Therapy

Jinghua Yan, Liping Tan

Department of Emergency, Children's Hospital of Chongqing Medical University, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing

Received: Mar. 1st, 2024; accepted: Mar. 25th, 2024; published: Apr. 3rd, 2024

Abstract

The abnormalities of coagulation occur in the pathophysiologic processes of almost all sepsis patients. Leading to continued progression of sepsis as ongoing endothelial injury and coagulation

dysfunction reinforce each other. More and more scholars have begun to realize that perhaps the nature of sepsis is the disease of endothelium. Therefore, early intervention for the imbalance of endothelial homeostasis is of great significance to reduce the severity of sepsis and healthcare burden. This article reviews the endothelial mechanism and potential therapeutic options in sepsis induced coagulation disorders.

Keywords

Sepsis Induced Coagulation Disorders, Disseminated Intravascular Coagulation, Vascular Endothelial Cell

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

在临床环境下, 弥散性血管内凝血(DIC, Disseminated Intravascular Coagulation)的发病率在 31%~86%之间, 死亡率始终高于无 DIC 的患者。其中感染导致的 DIC 发生率为 25%, DIC 的存在是脓毒症患者 28 天内死亡的最强预测指标[1]。几乎所有的脓毒症患者均有凝血功能的异常[2], 而内皮细胞功能的改变贯穿于脓毒症进展的始终。内皮细胞向细胞凋亡, 促炎, 促黏附, 促凝表型转换[3]。适当的内皮反应, 有利于限制细菌播散, 协调免疫细胞的募集及清除细菌。然而血管内皮屏障的破坏会导致微血栓广泛形成, 导致微循环障碍进而引发多器官衰竭。而在脓毒症凝血病中, 尤其是 DIC 的晚期, 有学者认为内皮损伤而非凝血因子的消耗是 DIC 的出血原因[4], 有研究发现脓毒症中凝血因子会降至正常值的 30%~50%, 但是实际上, 凝血因子水平在 15%~20%之间就足以止血, 而正是因为血管内皮、血小板的功能障碍导致 DIC 后期出血事件的发生。因此, 维持内皮屏障的完整性, 维护内皮细胞的正常功能对治疗脓毒症凝血病有重要的意义。

2. 脓毒症凝血功能紊乱的定义

国内外学者普遍认为, 脓毒症中发生的凝血功能异常, 几乎发生在所有的脓毒症患者, 可以仅表现为实验室检查结果的轻微异常, 或为血小板功能及数目减少, 血管内微血栓形成, 甚至是弥散性血管内凝血[2]。国内学者将脓毒症凝血功能损伤程度按由轻到重的程度分别定义为[5]: 凝血功能紊乱、凝血功能障碍、凝血功能衰竭。弥散性血管内凝血是这种衰竭状态的集大成者, 是继发于潜在致病因素的、以广泛血管内凝血机制激活为特征的系统性疾病。国内学者将脓毒症导致的 DIC 描述为血栓型 DIC [5], 国外学者将其描述为纤溶抑制型 DIC [6], 但实际上研究发现, 本身血浆中的纤溶酶激活物抑制物水平并不低。DIC 又分为显性及非显性 DIC 两个阶段, 其中非显性 DIC 代表一种 DIC 前期, 是一种高凝状态; 而显性 DIC 诊断标准是评估凝血功能失代偿的状态[7]。近年来部分学者提出的 SIC 的概念, 用于特指发生在脓毒症中的凝血功能障碍, 用以描述这种 DIC 前期的凝血功能改变。SIC 的提出, 是为了识别发生在脓毒症患者中 DIC 的早期阶段。脓毒症相关性 SIC 和 DIC 中的显性 DIC 阶段代表一个连续统一体, 研究发现 SIC 通常先于显性 DIC 发生[8]。目前使用的诊断标准, 落后于临床的时机变化, 需要动态实时的评分来正确评估患者的凝血功能状态[9]。

3. 内皮细胞在脓毒症凝血病中的作用机制

3.1. 内皮细胞的结构

内皮细胞由四个区域构成, 糖萼、糖萼、细胞皮层、细胞质和细胞核[10]。内皮糖萼覆盖在几乎所有

的正常内皮细胞的血管腔侧, 本质上是一层多糖蛋白复合物。在内皮细胞质膜下 50~150 nm, 存在一层肌动蛋白构成的网络, 也就是细胞皮质。细胞内部也被肌动蛋白微管和中间丝穿透。肌动蛋白纤维、微管或中间丝感知的机械刺激被整合到细胞核中[11]。

3.2. 内皮细胞的生理功能

生理条件下, 内皮细胞具有: 1) 选择性屏障功能; 2) 调节血管张力; 3) 参与先天免疫; 4) 抗凝、抗栓的能力[12]。内皮细胞上的糖萼在其中发挥核心作用。严格意义上的内皮糖萼实际上只包括膜结合蛋白聚糖(以 syndecan-1 为代表)、糖胺聚糖(CD14、硫酸乙酰肝素、透明质酸和硫酸软骨素), 而同如白蛋白及其他蛋白质血浆成分粘附分子, 如, 细胞间黏附分子-1 (ICAM-1, Intercellular Cell Adhesion Molecule-1)、血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1, Vascular Cell Adhesion Molecule-1)、血管性血友病因子(VWF, von Willebrand Factor)、抗凝血酶(AT, Antithrombin)、组织因子途径抑制剂(TFPI, Tissue Factor Pathway Inhibitor)、一氧化氮合酶(NOS, Nitric Oxide Synthase)和细胞外超氧化物歧化酶黏附其中, 共同组成所谓内皮表层[13], 这些因子被隐藏起来, 因此糖萼具有抗栓、抗炎、调节血管通透性等重要生理功能[14]。因本自带负电荷, 糖萼同白蛋白紧密结合成一道天然的屏障, 同时通过吸收白蛋白及较小的溶质调节胶体渗透压梯度[15], 对维持血浆渗透压相当重要; 这种屏障对小分子和电解质是可渗透的, 但较大的分子如白蛋白或其他蛋白质被糖萼阻隔在血管腔内, 从而发挥选择性屏障功能[16]。同时, 内皮糖萼同细胞皮质一起, 包括质膜及膜下的细胞骨架蛋白, 构建了血管内皮的保护屏障和应答枢纽[17]。可以使生物化学及生物力学信号从血管内传导到内皮细胞内。糖萼中的跨膜糖蛋白可作为受体或配体与细胞因子结合, 激活细胞内信号通路, 调控能量代谢及转录合成[18]。同时可以感受剪切应力, 将这信号传导到内皮细胞特定部位, 从而释放一氧化碳, 后者扩散到相邻的血管平滑肌细胞, 触发血管舒张, 控制血管张力, 稳定血流动力学[19]。实际上, 除了一氧化氮(NO, Nitric Oxide), 内皮细胞在受到比如, 硫化氢、一氧化碳、花生四烯酸代谢物及二氧化氮刺激后, 可触发内皮的超级化, 可分泌多种内皮源性活性物质, 比如前列环素, 具有很强的舒张血管, 抗白细胞黏附和抗血小板聚集活性。除此之外, 内皮还可以产生各种缩血管物质, 内皮素、血管紧张素 II 和血栓素 A₂、凝血酶。以上 2 类物质, 也几乎是舒血管与缩血管物质的综合作用, 调节血管张力, 维持正常血压[12]。此外, 内皮细胞同机体的 3 条主要的抗凝机制都密切相关, 如抗凝血酶系统、活化蛋白 C 系统及组织因子途径抑制剂。内皮细胞表面表达可以表达凝血酶调节蛋白(TM, Thrombomodulin)、血管内皮细胞蛋白 C 受体(EPCR, Recombinant Endothelial Protein C Receptor)、蛋白 S、组织因子途径抑制剂(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)和类肝素蛋白多糖的硫酸乙酰肝素, 后者可显著增强抗凝血酶对凝血酶和因子 Xa 的抑制作用[20]。

3.3. 内皮细胞在脓毒症相关凝血功能紊乱中的机制

血管内皮是脓毒症的主要靶点, 脓毒症相关 DIC 的独特特征之一是内皮损伤[21]。脓毒症中适当的内皮反应有助于限制病原体传播, 以及协调血小板、白细胞募集和清除病原体。然而严重、持续的内皮反应导致自身的完整性被破坏、功能障碍, 微循环受损、微血栓的广泛形成, 进而使得组织灌注不足, 发生器官功能障碍、弥散性血管内凝血, 甚至出血及死亡[3]。

3.3.1. 激活凝血

TF 作为外源性凝血途径起始因子, 可以在包括内皮细胞在内的多种被激活的炎症细胞上表达; 同时随着炎症的进展, 受损的内皮细胞释放磷脂酰丝氨酸阳性微粒, 进一步发挥促凝作用, 导致外源性凝血途径的激活及内源性凝血途径的间接激活[22]。

3.3.2. 抗凝受损

脓毒症时内皮细胞的合成能力下降, 抗凝物质表达下调, 产生的抗凝物质被降解, 总体的抗凝功能也下降。正常情况下, 蛋白 C 可以被血管表面的血小板调节素激活, 发挥抗血栓形成、保护内皮细胞和抗炎作用, 而在脓毒症中, 脓毒症时抗原呈递细胞(APC, Antigen-Presenting Cell)功能因为消耗增加、肝脏合成能力下降、毛细血管渗漏致循环中蛋白 C 下降; 中性粒细胞弹性蛋白酶可降解内皮细胞表面的 TM 活性; 炎症细胞因子, 如肿瘤坏死因子- α , 白细胞介素-1 等可使内皮细胞 TM 及 ERCP 表达减少, 导致蛋白 C 活化减少[23]; 此外, 正常情况下, 抗凝血酶的抗血栓活性通过与糖萼的硫酸乙酰肝素侧链结合而显著增加。然而, 在脓毒症中, 内皮糖萼结构被破坏, 成分丢失, AT 抗血栓活性减低; 同时, 在脓毒症中发现, 抗凝血酶通过与糖胺聚糖结合, 对内皮细胞表面发挥局部抗炎作用, 然而, AT 活性的减低致内皮失去这种保护能力[22]。

3.3.3. 纤溶受抑

纤溶酶活性主要受纤溶酶原激活物(PA, Plasminogen Activator)及其抑制剂纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1, Plasminogen Activator Inhibitor-1)调节。血管内皮细胞通过分泌组织型纤溶酶原激活剂(t-PA, tissue-type Plasminogen Activator)和 PAI-1 参与纤维蛋白溶解的调节。随着内皮功能障碍的发生, PAI-1 水平的显著升高, 导致纤维蛋白溶解中断, 这是血栓型 DIC 的典型表现, 可以导致血栓形成及全身微血管血栓形成[19]。

3.3.4. 内皮细胞的屏障破坏

在脓毒症中, 糖萼损伤导致内皮细胞完整性受损、凋亡以及细胞间连接的受损导致内皮的通透性改变, 血浆外渗; 加之一氧化氮和前列环素释放减少, 血管舒缩功能受损, 共同导致血流动力学改变, 最终导致组织器官灌注不足; 此外, 糖萼中的硫酸乙酰肝素连接超氧化物歧化酶, 灭活氧自由基并维持 NO 的生物利用度, 但当糖萼受损时, NO 可与超氧阴离子复合产生细胞毒性过氧亚硝酸根, 进而损伤内皮细胞[12]。

3.3.5. 内皮细胞与血小板的相互作用

血小板在血管壁处的密度最高, 被称为“血小板的边缘化”, 利于瞬时结合血管壁成分, 发挥持续检测血管的完整性, 并紧密协调血管运输和多种细胞类型的功能, 有助于血管内免疫应答的启动及协调, 保护血管的完整性[24]。而在脓毒症中, 血管内皮细胞、血小板相互作用共同参与免疫血栓形成加重疾病的进展[25]。免疫血栓是以纤维蛋白为结构基础, 活化的血小板、白细胞、中性粒细胞胞外网状陷阱(NETs)、微粒和凝血酶、凝血因子等参与的复杂过程。脓毒症 DIC 期间形成的血管内微血栓与免疫血栓形成的特征相似[26]。这个过程最终需要聚集物粘附在内皮上, 放大局部炎症, 并损害组织灌注[3]。此时内皮细胞可作为一个促凝平台, 支持血小板黏附分子沉积和纤维蛋白形成, 激活血小板和凝血过程, 促进血栓形成[27]。脓毒症时, 内皮细胞可以通过产生血小板活化因子激活血小板, 同时因为整合素样金属蛋白酶与凝血酶 13 型抗体(ADAMTS-13)的缺乏导致血管性血友病因子(VWF)的降解能力下降, 形成超大血管性血友病因子多聚体激活血小板, 促进血管内血栓形成[28]。此外, 活化的内皮细胞还可内吞并消化血小板, 抑制促凝反应、减少活化的血小板、血小板-白细胞聚集物的含量, 改善凝血紊乱[29]。同时活化的血小板表面表达 CD40L 同内皮细胞上的 CD40 相互作用, 刺激内皮细胞表达各种炎症介质(CCL2、IL-8)及黏附分子(E-选择素、ICAM-1、VCAM-1), 同时活化的血小板也产生 IL-1 β , 后者可以增加内皮的通透性及渗透性, 血小板与内皮细胞的黏附增强了内皮细胞的促凝活性。此外, 血小板衍生的微粒可上调内皮细胞中的环氧合酶-2 和 ICAM-1 的含量, 并且通过 ICAM-1 诱导单核细胞和内皮细胞间的相互作用[27]。

4. 脓毒症凝血病中的内皮治疗

首先需要明确的是, 抗感染治疗是治疗脓毒症相关凝血功能紊乱的基石。而因为内皮细胞障碍同脓毒症凝血功能紊乱的发生发展密切相关, 理论上脓毒症早期采取内皮保护策略可以预防凝血功能紊乱的加重[25]。需要认识到, 针对内皮的治疗, 可能只起到辅助作用, 或者仅在某些特定人群中发挥决定性的作用。

4.1. 抗凝治疗

国际上儿童及成人最新版的指南[30]及中国专家共识[31]均肯定抗凝治疗的效果, 同时还肯定了血管内皮保护需要抗凝治疗的参与, 血管内皮损伤和微血栓形成导致组织细胞的灌注下降, 被认为是器官功能障碍的直接原因[31]。实际上, 传统的抗凝治疗药物, 比如肝素、重组血小板调节蛋白(rTM, Recombinant Thrombomodulin)、AT 对于内皮均有一定程度的保护作用。研究发现, rTM 可以使脓毒症小鼠模型血清中代表血管损伤标志物的 syndecan-1、高迁移率族蛋白 B1 (HMGB-1)水平显著下降, 电镜检查下发现小鼠糖萼层损伤减轻, 这证实了 rTM 在脓毒症中, 可能有助于预防内皮的过度炎症及糖萼的损伤[32]。研究证实, rTM 可以通过中和损伤相关的分子标志物(DAMP, Damage Associated Molecular Patterns), 比如组蛋白和 HMGB-1, 抑制补体系统的过度激活, 从而保护内皮[33]。肝素也可起到抑制糖萼的降解、竞争性的结合肝素结合蛋白从而减少内皮细胞的损伤[34], 改善脓毒症小鼠模型的内皮紧密连接[35]。一项纳入 3694 名患者的回顾性研究发现在不同的临床表型的脓毒症患者的凝血功能状态存在差别, 同时对于药物的反应也不同, rTM 仅可改善表现为严重凝血功能紊乱及器官功能障碍患者的死亡率[36]。无独有偶, 一项纳入 4993 名患者的回顾性研究发现在同样满足国际血栓和止血协会(ISTH, International Society on Thrombosis and Haemostasis)提出的 SIC 诊断标准的人群中, 存在三类具有相当差别的临床表型, 其中仅有表现为严重的凝血功能障碍和多器官功能障碍的患者可以通过肝素抗凝治疗改善预后[37]。研究还发现, 表型为出血、三系减低的患者使用抗凝治疗反而增加了死亡率, 这表示在符合 SIC 诊断的人群中, 只有部分人群获得了益处, 部分人甚至增加了死亡率, 这对是否可以将 SIC 标准作为抗凝开始的时机提出了挑战, 国外也存在部分学者的研究建议将 $DIC \geq 3$ 分作为开始抗凝治疗的时机[38]; 同时再次验证了脓毒症凝血功能紊乱的异质性, 或许存在部分人群其凝血功能的障碍不可通过抗凝治疗纠正。而对于是否抗凝治疗导致出血, 存在争议。单纯的抗凝治疗, 如果没有内皮细胞的损伤破坏, 出血或许不会发生。而实际上脓毒症相关 DIC 患者本身出血事件并不少见, 据报道, 40% 以上的病例存在出血表现[39]。有学者认为发生在脓毒症凝血功能紊乱中的出血的正是因为血管内皮功能障碍[4], 或许抗凝治疗的同时也需要同时治疗内皮细胞, 但是需要进一步的研究对此证明。总之, 早期识别这部分人群、明确抗凝的正确时机、同时关注内皮稳态失衡, 方才可以发挥抗凝治疗的最大效益。

4.2. 维持内皮的稳态

众所周知剪切应力的改变会导致内皮向着促炎、促栓的状况转换, 通过适当的液体治疗对血管内皮的稳态至关重要[40]。最新版的指南也肯定了白蛋白的效果, 这种作用同其改善内皮细胞通透性的机制密切相关[41], 同时一项 meta 分析提示 4%~5% 和 20% 的白蛋白可能比晶体液更有效地改善患者预后[42]; 研究发现, 用肾上腺素或去甲肾上腺素治疗可显著降低体外多种 Toll 样受体激动剂诱导的内皮通透性[43]。肾上腺髓质素(ADM, Adrenomedullin)是一种主要由血管内皮细胞表达和分泌的自由循环肽, 在脓毒症期间以较高浓度存在时显示出血管舒张特性并引起低血压。而循环中的 ADM 可以通过恢复内皮细胞之间的紧密连接, 促进内皮屏障的稳定性[44]。新研发的药物, 肾上腺髓质素单克隆抗体(Adrecizumab), 是一种肾上腺髓质素非中和单克隆抗体, 其可让 ADM 更多的保留在血管中, 同时通过复合物的方式增

加 ADM 的半衰期。现有的临床试验结果提示有较好效果, 目前正在准备完成三期临床试验[45]; 抗氧化治疗也有助于维持内皮细胞的稳态[46], 维生素 C 是人体抗氧化系统的一部分, 是 ROS 清除的关键物质, 同时, 其还可减少 TNF- α 的产生, 发挥抗炎作用。硒是一种必需的微量营养素, 可作为 30 多种硒蛋白的酶促辅助因子。该蛋白组具有不同的生物学功能, 特别是与氧化还原细胞信号传导和抗氧化反应。脓毒症引起的内皮功能障碍导致硒蛋白(SePP)粘附在内皮上, 这被认为是防止氧化应激引起严重损伤的保护机制[47]。一项临床实验发现, 在脓毒症休克患者中补充硒水平, 可以维持足够的谷胱甘肽过氧化物酶-3 血清水平, 降低死亡率[48]。

4.3. 血浆置换

血小板减少症相关的多器官功能衰竭(TAMOF, Thrombocytopenia-Associated Multiple-Organ Failure)是一种 VWF 介导的继发性血栓性微血管病, 包括 ADAMTS-13 水平降低和血管性血友病因子活性增加, 是发生在脓症患者中的一种特殊临床表型, 也是儿童患者中第二大最普遍的表型, 与体外膜肺氧合(ECMO, Extracorporeal Membrane Oxygenation)和连续性肾脏替代治疗(CRRT, Continuous Renal Replacement Therapy)的大量使用、更长的儿童监护病房(PICU, Pediatric Intensive Care Unit)住院时间和更高的死亡率有关[49]。其可被视为脓毒症凝血功能紊乱的表型之一。一项多中心的临床儿童研究发现, 对于这部分经过严格诊断为 TAMOF 的患者进行治疗性血浆置换(TPE, Therapeutic Plasma Exchange)可以有效降低患儿死亡率。同时对于其发病机制的进一步研究发现, 这种效益是通过改善 ADAMTS-13 的活性、可能通过去除炎症介质、减少抗纤溶分子、补充抗凝蛋白和恢复 ADAMTS-13 活性来改善脓毒症诱导的器官功能障碍而发挥作用[50]。一项在成人群体中的研究也证实 TPE 同时也可在脓毒症相关凝血病患者群体中起效, 在改善凝血功能、减少出血事件上, 治疗性血浆置换的患者预后相较于肝素治疗患者更好, 而通过对内皮损伤标志物减少这一发现来看, 学者猜测这种机制可能是通过改善内皮功能实现的[51]。TPE 可改善血流动力学、器官功能障碍和体液平衡, 而幸存者的住院时间延长[52]。目前国外学者也认为, 将 TPE 作为脓毒症或确诊为 TAMOF 患者治疗手段还为过早[53], 还需要更多的数据支持。下一步的研究将关注特殊表型下的哪些人群是血浆置换的最佳治疗对象。血浆置换本身存在较大风险, 如何在这些群体中找到最优解, 是未来可行的研究方向[54]。

4.4. 其他治疗

体外研究证实, 多种临床上使用的药物, 实际上也具有保护血管内皮的作用, 因而可被视为潜在的治疗手段。一项回顾性研究证实他汀类药物可以减低脓毒症住院患者死亡率[55]。他汀类药物被证明可通过增加高密度脂蛋白水平调整脓毒症导致的血脂代谢紊乱、抑制炎症反应、调节凝血功能之外, 也可以改善内皮功能[56]。一项体外研究证实辛伐他汀对肝内皮细胞具有潜在的抗血栓形成作用[57]。同时有研究证实, 外源性补充免疫球蛋白治疗可显著改善脓症患者凝血异常及炎症情况[58], 进一步研究发现, 其可以增加患者蛋白 C 水平, 减低人 1 型组织纤溶酶原激活物抑制剂的水平[56]。研究发现外源性补充内皮糖萼的重组 syndcan-1 成分可以减轻急性心肌梗死模型小鼠的糖萼的恶化并减少心肌细胞的损伤, 但是心脏超声检查下并没有发现相关的益处[59]。间充质干细胞也被证实在体内和体外均能缓解 LPS 诱导的糖萼的降解和渗漏, 这是通过细胞外囊泡传递非编码小分子 RNA-miR let-7-5p 来实现的[60]。然而, 目前这些药物并未进行广泛的临床研究, 因此其作用需要进一步的研究确定。

4.5. 内皮细胞的异质性

不同器官的血管床具有不同的超微特化结构, 比如紧密连接在血脑屏障和脑微循环中高度表达, 而在肝脏、脾脏和骨髓中的血窦中, 内皮细胞“不连续”、相邻细胞之间存在间隙, 且基底膜不完整, 这

允许细胞或颗粒交换;同时不同器官表达的产物也不同,内皮细胞在大脑中不表达 TM,但它是其他器官中的关键凝血因子;甚至同一器官的相邻血管床的表型都存在差异[61]。这种结构与功能的器官特异性受到内在信号的调节,这些信号在不同的器官之间差异表达[62]。这对应它们在脓毒症中的反应不同,有研究发现,内皮-白细胞相互作用的机制存器官特异性[63]。对组织病理学的研究也发现,微血栓形成并不是广泛的,而是存在器官选择性[64]。此外,EC还会根据不同的微环境表现不同的表型。一项体外研究发现,肾内皮细胞受到 LPS 攻击后,在不同的微血管节段内表达的 E-选择素和 VCAM-1 表达的模式不同[65]。一项体外研究发现暴露于 LPS 刺激的白细胞的上清液的原代肺微血管内皮细胞的内皮通透性存在显著异质性[66]。一项纳入 426 例成年脓毒症患者的研究基于内皮反应循环标志物的不同确定了三个不同的亚组,发现不同宿主对不同病原体的内皮反应也具有相似性[67]。利用人群不同的内皮反应进行亚型的区分,有利于确定受益于靶向治疗的内皮功能障碍的患者。实际上,体外研究,在扩增提取的 EC 是会诱导表型漂移,导致组织特异性的丧失,不能真正代表实际的情况,这对研究内皮的异质性形成挑战[68]。新发展的技术,比如,通过体内进行的激光显微切割技术(LMD, Laser Microdissection)、荧光激活细胞分选器(FACS, Fluorescence Activating Cell Sorter)、翻译核糖体亲和纯化技术(TRAP, Translating Ribosome Affinity Purification)富集需要的内皮细胞,后续进行高通量转录组学或蛋白质组学分析;同时,单细胞 RNA 测序(scRNASeq, single-cell RNA-seq)、单分子荧光原位杂交方法(smFISH, single-molecule fluorescence *in situ* hybridization)等新发展的技术允许在单个细胞水平上对内皮反应进行解析,将可以更好地了解微血管内皮细胞异质性、为开发靶向内皮细胞的新型疗法提供思路[69]。

5. 总结与展望

内皮细胞的作用贯穿于脓毒症凝血紊乱发生发展的始终,早期内皮活化启动凝血级联的激活,参与微血管血栓的形成,后者可识别、局限、捕获病原体;随着疾病的进展,内皮功能受损,抗凝受损、纤溶受抑,高凝状态的出现、免疫血栓形成,会导致广泛的微血栓形成,随着内皮的进一步破坏、凝血因子的消耗,会导致大出血的发生。而内皮的完整性,是其发挥作用的基石,理论上,对内皮的保护可以维持凝血、炎症、纤溶系统的稳态,在早期协同增强抗凝治疗效果、在 DIC 晚期的发生预防大出血的发生。需要认识到其在脓毒症凝血功能紊乱中的作用,是多样的、动态的、异质性的,不同的时相阶段、不同的器官部位,反应都是千差万别的,这就给进一步的研究造成困难,开发出更安全、更便捷、更敏感的诊断工具,精密检测内皮反应,了解不同患者内皮功能障碍的损伤程度,对于理解脓毒症的机制、确定抗凝治疗的时机、筛选对特定治疗起效的人群进行个体化的治疗,具有重要的意义。

参考文献

- [1] Opescu, N.I., Lupu, C. and Lupu, F. (2022) Disseminated Intravascular Coagulation and Its Immune Mechanisms. *Blood*, **139**, 1973-1986. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007208>
- [2] Giustozzi, M., Ehrlinder, H., Bongiovanni, D., et al. (2021) Coagulopathy and Sepsis: Pathophysiology, Clinical Manifestations and Treatment. *Blood Reviews*, **50**, Article ID: 100864. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2021.100864>
- [3] Joffre, J., Hellman, J., Ince, C. and Ait-Oufella, H. (2020) Endothelial Responses in Sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **202**, 361-370. <https://doi.org/10.1164/rccm.201910-1911TR>
- [4] Thachil, J. (2021) Why Do Patients with DIC Bleed. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **19**, 2630-2631. <https://doi.org/10.1111/jth.15442>
- [5] 宋景春, 张伟, 张磊, 等. 重症患者凝血功能障碍标准化评估中国专家共识[J]. 解放军医学杂志, 2022, 47(2): 107-117.
- [6] Iba, T., Connors, J.M., Nagaoka, I. and Levy, J.H. (2021) Recent Advances in the Research and Management of Sep-Sis-Associated DIC. *International Journal of Hematology*, **113**, 24-33. <https://doi.org/10.1007/s12185-020-03053-y>

- [7] Iba, T., Levy, J.H., Warkentin, T.E., Thachil, J., Van Der Poll, T. and Levi, M. (2019) Diagnosis and Management of Sep-Sis-Induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **17**, 1989-1994. <https://doi.org/10.1111/jth.14578>
- [8] Yamakawa, K., Yoshimura, J., Ito, T., Hayakawa, M., Hamasaki, T. and Fujimi, S. (2019) External Validation of the Two Newly Proposed Criteria for Assessing Coagulopathy in Sepsis. *Thrombosis and Haemostasis*, **119**, 203-212. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1676610>
- [9] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组. 弥散性血管内凝血诊断中国专家共识(2017年版) [J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(5): 361-363.
- [10] Cosgun, Z.C., Fels, B. and Kusche-Vihrog, K. (2020) Nanomechanics of the Endothelial Glycocalyx: From Structure to Function. *The American Journal of Pathology*, **190**, 732-741. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2019.07.021>
- [11] Fels, J., Jeggle, P., Liashkovich, I., Peters, W. and Oberleithner, H. (2014) Nanomechanics of Vascular Endothelium. *Cell and Tissue Research*, **355**, 727-737. <https://doi.org/10.1007/s00441-014-1853-5>
- [12] Xu, S., Ilyas, I., Little, P.J., et al. (2021) Endothelial Dysfunction in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases and Beyond: From Mechanism to Pharmacotherapies. *Pharmacological Reviews*, **73**, 924-967. <https://doi.org/10.1124/pharmrev.120.000096>
- [13] Foote, C.A., Soares, R.N., Ramirez-Perez, F.I., et al. (2022) Endothelial Glycocalyx. *Comprehensive Physiology*, **12**, 3781-3811. <https://doi.org/10.1002/cphy.c210029>
- [14] Peng, N., Geng, Y., Ouyang, J., et al. (2023) Endothelial Glycocalyx Injury Is Involved in Heatstroke-Associated Coagulopathy and Protected by N-Acetylcysteine. *Frontiers in Immunology*, **14**, Article 1159195. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1159195>
- [15] Woodcock, T.E. and Woodcock, T.M. (2012) Revised Starling Equation and the Glycocalyx Model of Transvascular Fluid Exchange: An Improved Paradigm for Prescribing Intravenous Fluid Therapy. *British Journal of Anaesthesia*, **108**, 384-394. <https://doi.org/10.1093/bja/aer515>
- [16] Milford, E.M. and Reade, M.C. (2019) Resuscitation Fluid Choices to Preserve the Endothelial Glycocalyx. *Critical Care*, **23**, Article No. 77. <https://doi.org/10.1186/s13054-019-2369-x>
- [17] Qu, J., Cheng, Y., Wu, W., Yuan, L. and Liu, X. (2021) Glycocalyx Impairment in Vascular Disease: Focus on Inflammation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **9**, Article 730621. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.730621>
- [18] 陈铭铭, 马晓春. 脓毒症与内皮细胞损伤: 多糖包被的作用值得关注[J]. 中华内科杂志, 2020, 59(6): 418-420.
- [19] Fels, B. and Kusche-Vihrog, K. (2020) It Takes More Than Two to Tango: Mechanosignaling of the Endothelial Surface. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, **472**, 419-433. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02369-2>
- [20] 宋景春. 脓毒症合并弥散性血管内凝血的机制与监测[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(7): 703-708.
- [21] Iba, T. and Levy, J.H. (2018) Inflammation and Thrombosis: Roles of Neutrophils, Platelets and Endothelial Cells and Their Interactions in Thrombus Formation during Sepsis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*, **16**, 231-241. <https://doi.org/10.1111/jth.13911>
- [22] Iba, T., Levy, J.H., Raj, A. and Warkentin, T.E. (2019) Advance in the Management of Sepsis-Induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. *Journal of Clinical Medicine*, **8**, Article 728. <https://doi.org/10.3390/jcm8050728>
- [23] 李旭, 马晓春. 严重感染出血障碍的认识和处理[J]. 中国实用内科杂志, 2021, 41(6): 466-469, 474.
- [24] 茅敏, 李秀, 王子丹, 单亮. 血小板及其表面受体配体在脓毒症凝血病中作用的研究进展[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2021, 15(4): 302-307.
- [25] 宋景春. 脓毒症性凝血功能紊乱的精准识别[J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46(10): 987-991.
- [26] Carestia, A., Davis, R.P., Davis, L. and Jenne, C.N. (2020) Inhibition of Immunothrombosis Does Not Affect Pathogen Capture and Does Not Promote Bacterial Dissemination in a Mouse Model of Sepsis. *Platelets*, **31**, 925-931. <https://doi.org/10.1080/09537104.2019.1704711>
- [27] Gaertner, F. and Massberg, S. (2019) Patrolling the Vascular Borders: Platelets in Immunity to Infection and Cancer. *Nature Reviews Immunology*, **19**, 747-760. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0202-z>
- [28] Levi, M., Scully, M. and Singer, M. (2018) The Role of ADAMTS-13 in the Coagulopathy of Sepsis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*, **16**, 646-651. <https://doi.org/10.1111/jth.13953>
- [29] 马瑞爽. 内皮细胞吞噬激活血小板改善脓毒症凝血紊乱[D]: [博士学位论文]. 哈尔滨: 哈尔滨医科大学, 2021.
- [30] Evans, L., Rhodes, A., Alhazzani, W., et al. (2021) Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021. *Intensive Care Medicine*, **47**, 1181-1247. <https://doi.org/10.1007/s00134-021-06506-y>

- [31] 王仲, 魏捷, 朱华栋, 曹钰. 中国脓毒症早期预防与阻断急诊专家共识[J]. 中国急救医学, 2020, 40(7): 577-588.
- [32] Watanabe, E., Akamatsu, T., Ohmori, M., *et al.* (2022) Recombinant Thrombomodulin Attenuates Hyper-Inflammation and Glycocalyx Damage in a Murine Model of Streptococcus Pneumoniae-Induced Sepsis. *Cytokine*, **149**, Article ID: 155723. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155723>
- [33] Watanabe-Kusunoki, K., Nakazawa, D., Ishizu, A. and Atsumi, T. (2020) Thrombomodulin as a Physiological Modulator of Intravascular Injury. *Frontiers in Immunology*, **11**, Article 575890. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.575890>
- [34] Spiess, B.D. (2017) Heparin: Effects upon the Glycocalyx and Endothelial Cells. *The Journal of Extra-Corporeal Technology*, **49**, 192-197. <https://doi.org/10.1051/ject/201749192>
- [35] Iba, T., Levy, J.H., Aihara, K., *et al.* (2020) Newly Developed Recombinant Antithrombin Protects the Endothelial Glycocalyx in an Endotoxin-Induced Rat Model of Sepsis. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article 176. <https://doi.org/10.3390/ijms22010176>
- [36] Kudo, D., Goto, T., Uchimido, R., *et al.* (2021) Coagulation Phenotypes in Sepsis and Effects of Recombinant Human Throm-Bomodulin: An Analysis of Three Multicentre Observational Studies. *Critical Care*, **25**, Article No. 114. <https://doi.org/10.1186/s13054-021-03541-5>
- [37] Cai, D., Greco, M., Wu, Q. and Cheng, Y. (2023) Sepsis-Induced Coagulopathy Subphenotype Identification by Latent Class Analysis. *Balkan Medical Journal*, **40**, 244-251. <https://doi.org/10.4274/balkanmedj.galenos.2023.2023-4-6>
- [38] Yamakawa, K., Umemura, Y., Murao, S., Hayakawa, M. and Fujimi, S. (2019) Optimal Timing and Early Intervention with Anticoagulant Therapy for Sepsis-Induced Disseminated Intravascular Coagulation. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, **25**. <https://doi.org/10.1177/1076029619835055>
- [39] Suzuki, K., Wada, H., Matsumoto, T., *et al.* (2019) Usefulness of the APTT Waveform for the Diagnosis of DIC and Prediction of the Outcome or Bleeding Risk. *Thrombosis Journal*, **17**, Article No. 12. <https://doi.org/10.1186/s12959-019-0201-0>
- [40] Lupu, F., Kinasewitz, G. and Dormer, K. (2020) The Role of Endothelial Shear Stress on Haemodynamics, Inflammation, Coagulation and Glycocalyx during Sepsis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **24**, 12258-12271. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15895>
- [41] Vasques, F., Duscio, E., Romitti, F., *et al.* (2018) Septic Shock-3 Vs 2: An Analysis of the ALBIOS Study. *Critical Care*, **22**, Article No. 237. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2169-8>
- [42] Geng, L., Tian, X., Gao, Z., Mao, A., Feng, L. and He, C. (2023) Different Concentrations of Albumin Versus Crystalloid in Patients with Sepsis and Septic Shock: A Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Journal of Intensive Care Medicine*, **38**, 679-689. <https://doi.org/10.1177/08850666231170778>
- [43] Joffre, J., Lloyd, E., Wong, E., *et al.* (2021) Catecholaminergic Vasopressors Reduce Toll-Like Receptor Agonist-Induced Microvascular Endothelial Cell Permeability but Not Cytokine Production. *Critical Care Medicine*, **49**, e315-e326. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000004854>
- [44] Deniau, B., Takagi, K., Asakage, A. and Mebazaa, A. (2021) Adreclizumab: An Investigational Agent for the Biomarker-Guided Treatment of Sepsis. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, **30**, 95-102. <https://doi.org/10.1080/13543784.2021.1857365>
- [45] 罗红敏. 肾上腺髓质素非中和抗体治疗脓毒症的安全性和耐受性研究[J]. 中华危重病急救医学, 2021, 33(12): 1536.
- [46] Abelli, J., Méndez-Valdés, G., Gómez-Hevia, F., *et al.* (2022) Potential Antioxidant Multitherapy against Complications Occurring in Sepsis. *Biomedicines*, **10**, Article 3088. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10123088>
- [47] Koekkoek, W.A. and Van Zanten, A.R. (2016) Antioxidant Vitamins and Trace Elements in Critical Illness. *Nutrition in Clinical Practice*, **31**, 457-474. <https://doi.org/10.1177/0884533616653832>
- [48] Angstwurm, M.W., Engelmann, L., Zimmermann, T., *et al.* (2007) Selenium in Intensive Care (SIC): Results of a Prospective Randomized, Placebo-Controlled, Multiple-Center Study in Patients with Severe Systemic Inflammatory Response Syndrome, Sepsis, and Septic Shock. *Critical Care Medicine*, **35**, 118-126. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000251124.83436.0E>
- [49] Carcillo, J.A., Berg, R.A., Wessel, D., *et al.* (2019) A Multicenter Network Assessment of Three Inflammation Phenotypes in Pediatric Sepsis-Induced Multiple Organ Failure. *Pediatric Critical Care Medicine*, **20**, 1137-1146. <https://doi.org/10.1097/PCC.0000000000002105>
- [50] Stahl, K., Wand, P., Seeliger, B., *et al.* (2022) Clinical and Biochemical Endpoints and Predictors of Response to Plasma Exchange in Septic Shock: Results from a Randomized Controlled Trial. *Critical Care*, **26**, Article No. 134. <https://doi.org/10.1186/s13054-022-04003-2>
- [51] Weng, J., Chen, M., Fang, D., Liu, D., Guo, R. and Yang, S. (2021) Therapeutic Plasma Exchange Protects Patients

- with Sepsis-Associated Disseminated Intravascular Coagulation by Improving Endothelial Function. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, **27**. <https://doi.org/10.1177/10760296211053313>
- [52] Keith, P.D., Wells, A.H., Hodges, J., Fast, S.H., Adams, A. and Scott, L.K. (2020) The Therapeutic Efficacy of Adjunct Therapeutic Plasma Exchange for Septic Shock with Multiple Organ Failure: A Single-Center Experience. *Critical Care*, **24**, Article No. 518. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03241-6>
- [53] Joffe, A.R. and DeCaen, A. (2019) Not Enough Evidence to Use Plasma Exchange for Sepsis or Thrombocytopenia-Associated Multiple Organ Failure in Children. *Critical Care Medicine*, **47**, e533-e534. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000003695>
- [54] David, S., Russell, L., Castro, P., et al. (2023) Research Priorities for Therapeutic Plasma Exchange in Critically Ill Patients. *Intensive Care Medicine Experimental*, **11**, Article No. 26. <https://doi.org/10.1186/s40635-023-00510-w>
- [55] Liang, B., Yang, S.T., Wei, K.K., et al. (2022) Statin Use and Mortality among Patients Hospitalized with Sepsis: A Retrospective Cohort Study within Southern California, 2008-2018. *Critical Care Research and Practice*, **2022**, Article ID: 7127531. <https://doi.org/10.1155/2022/7127531>
- [56] Richman, S., Lyman, C., Nesterova, A., et al. (2022) Old Drugs, New Tricks: Leveraging Known Compounds to Disrupt Coronavirus-Induced Cytokine Storm. *NPJ Systems Biology and Applications*, **8**, Article No. 38. <https://doi.org/10.1038/s41540-022-00250-9>
- [57] La Mura, V., Gagliano, N., Arnaboldi, F., et al. (2022) Simvastatin Prevents Liver Microthrombosis and Sepsis Induced Coagulopathy in a Rat Model of Endotoxemia. *Cells*, **11**, Article 1148. <https://doi.org/10.3390/cells11071148>
- [58] Ishikura, H., Nakamura, Y., Kawano, Y., et al. (2015) Intravenous Immunoglobulin Improves Sepsis-Induced Coagulopathy: A Retrospective, Single-Center Observational Study. *Journal of Critical Care*, **30**, 579-583. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2015.02.012>
- [59] Vahldieck, C., Cianflone, E., Fels, B., et al. (2023) Endothelial Glycocalyx and Cardiomyocyte Damage Is Prevented by Recombinant Syndecan-1 in Acute Myocardial Infarction. *The American Journal of Pathology*, **193**, 474-492. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2022.12.009>
- [60] Li, Z., Xu, Y., Lu, S., Gao, Y. and Deng, Y. (2023) Bone Mesenchymal Stem Cell Extracellular Vesicles Delivered MiR Let-7-5p Alleviate Endothelial Glycocalyx Degradation and Leakage via Targeting ABL2. *Cell Communication and Signaling*, **21**, Article No. 205. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01229-7>
- [61] Augustin, H.G. and Koh, G.Y. (2017) Organotypic Vasculature: From Descriptive Heterogeneity to Functional Pathophysiology. *Science*, **357**, eaal2379. <https://doi.org/10.1126/science.aal2379>
- [62] Yang, Q., Wijerathne, H., Langston, J.C., Kiani, M.F. and Kilpatrick, L.E. (2021) Emerging Approaches to Understanding Microvascular Endothelial Heterogeneity: A Roadmap for Developing Anti-Inflammatory Therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article 7770. <https://doi.org/10.3390/ijms22157770>
- [63] Maas, S.L., Soehnlein, O. and Viola, J.R. (2018) Organ-Specific Mechanisms of Transendothelial Neutrophil Migration in the Lung, Liver, Kidney, and Aorta. *Frontiers in Immunology*, **9**, Article 2739. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02739>
- [64] Garofalo, A.M., Lorente-Ros, M., Goncalvez, G., et al. (2019) Histopathological Changes of Organ Dysfunction in Sepsis. *Intensive Care Medicine Experimental*, **7**, Article No. 45. <https://doi.org/10.1186/s40635-019-0236-3>
- [65] Dayang, E.Z., Plantinga, J., Ter Ellen, B., Van Meurs, M., Molema, G. and Moser, J. (2019) Identification of LPS-Activated Endothelial Subpopulations with Distinct Inflammatory Phenotypes and Regulatory Signaling Mechanisms. *Frontiers in Immunology*, **10**, Article 1169. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01169>
- [66] Leligdowicz, A., Chun, L.F., Jauregui, A., et al. (2018) Human Pulmonary Endothelial Cell Permeability after Exposure to LPS-Stimulated Leukocyte Supernatants Derived from Patients with Early Sepsis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, **315**, L638-L644. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00286.2018>
- [67] Clark, D.V., Banura, P., Bandeen-Roche, K., et al. (2019) Biomarkers of Endothelial Activation/Dysfunction Distinguish Sub-Groups of Ugandan Patients with Sepsis and Differing Mortality Risks. *JCI Insight*, **5**, e127623. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.127623>
- [68] Cleuren, A., Van Der Ent, M.A., Jiang, H., et al. (2019) The *in Vivo* Endothelial Cell Transcriptome Is Highly Heterogeneous across Vascular Beds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **116**, 23618-23624. <https://doi.org/10.1073/pnas.1912409116>
- [69] Van Der Ent, M.A., Svilar, D. and Cleuren, A. (2022) Molecular Analysis of Vascular Gene Expression. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, **6**, E12718. <https://doi.org/10.1002/rth2.12718>