

中性粒细胞胞外诱捕网在脓毒症相关性凝血功能障碍中的作用研究进展

陈雨薇 陈薇薇 陈影 陈尔真

上海交通大学医学院附属瑞金医院急诊科, 上海 200025

通信作者: 陈尔真, Email: chenerzhen@hotmail.com

【摘要】 脓毒症是机体对感染的反应失调导致的危及生命的器官功能障碍, 是重症监护病房 (ICU) 患者的主要死亡原因之一。凝血功能障碍贯穿于脓毒症的病理生理过程, 其严重程度与脓毒症预后密切相关。中性粒细胞胞外诱捕网 (NETs) 是一种以 DNA 为骨架、镶有多种蛋白质组分的三维网状结构, 其过度产生可激活凝血系统, 抑制抗凝系统, 抵抗纤维蛋白溶解作用, 损伤血管内皮细胞, 并通过与血小板的相互作用导致脓毒症相关性凝血功能障碍 (SIC) 发生。目前, 有关 SIC 的治疗主要为对症治疗, 尚无公认有效的抗凝策略。针对 NETs 及其组分的干预和抗血小板药物有望成为疾病治疗新的研究方向。

【关键词】 脓毒症; 弥散性血管内凝血; 脓毒症相关性凝血功能障碍; 中性粒细胞胞外诱捕网; 血小板

基金项目: 上海申康医学发展中心项目 (SHDC2020CR1028B); 上海市科学技术委员会项目 (18411950900)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210221-00264

The research progress on the role of NETs in sepsis-induced coagulopathy

Chen Yuwei, Chen Weiwei, Chen Ying, Chen Erzhen

Department of Emergency, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

Corresponding author: Chen Erzhen, Email: chenerzhen@hotmail.com

【Abstract】 Sepsis is defined as a life-threatening organ dysfunction caused by the dysregulated host response to infection, and is one of the main causes of death in intensive care unit (ICU) patients. Coagulation dysfunction runs through the pathophysiological progress of sepsis whose severity should be closely related to the prognosis of sepsis. Neutrophil extracellular traps (NETs) is a three-dimensional network structure with DNA as the skeleton and inlaid with various protein components. The excessive production of NETs can lead to sepsis-induced coagulopathy (SIC) by activating the coagulation system, inhibiting the anticoagulation system, resisting fibrinolysis, damaging vascular endothelial cells and the interaction of platelets. At present, the treatment of SIC is mainly symptomatic treatment, and there is no recognized effective anticoagulation strategy. Interventions for NETs and their components, and drugs for antiplatelets are expected to become new directions for disease treatment.

【Key words】 Sepsis; Disseminated intravascular coagulation; Sepsis-induced coagulopathy; Neutrophil extracellular traps; Platelet

Fund program: Shanghai Shenkang Hospital Development Center Project (SHDC2020CR1028B); Shanghai Science and Technology Commission Project (18411950900)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210221-00264

脓毒症 (sepsis) 具有高发病率、高病死率、高治疗费用、发病机制复杂及临床异质性强等特点, 被世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 列为全球性公共卫生问题^[1]。凝血功能障碍贯穿于脓毒症的病理生理全过程, 是脓毒症发生发展及决定预后的重要因素^[2]。尽管有多个随机对照试验 (randomized controlled trial, RCT) 探索了脓毒症患者的抗凝治疗, 但对其有效性与时机仍存在争议^[3-4]。因此, 对脓毒症相关性凝血功能障碍 (sepsis-induced coagulopathy, SIC) 病理生理学机制的进一步探讨尤为重要。中性粒细胞胞外诱捕网 (neutrophil extracellular traps, NETs) 是镶有多种杀菌蛋白的三维网状结构, 在脓毒症中通过防止病原体扩散和直接抗菌作用保护宿主^[5]。但是, 更多深入的研究发现, NETs 的大量产生或清除受损可介导凝血功能障碍, 从而导致脓毒症患者多器官功能障碍的发生和不良预后^[6-7]。本

文将结合国内外研究, 阐述 NETs 对凝血系统、抗凝系统、纤溶系统和血管内皮细胞的影响, 及其与血小板的相互作用, 以阐明 NETs 在 SIC 中的作用, 从而寻找新的治疗方向。

1 SIC

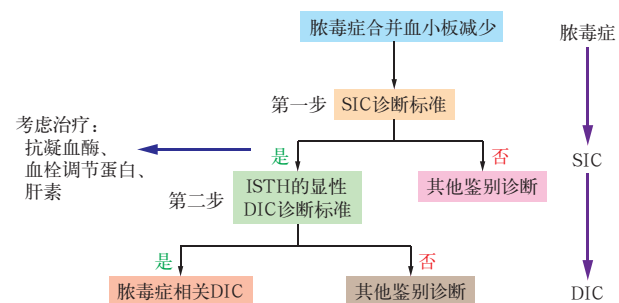
脓毒症是机体对感染的反应失调导致的危及生命的器官功能障碍, 是重症监护病房 (intensive care unit, ICU) 患者的主要死亡原因之一, 其病理生理机制十分复杂^[8]。目前研究显示, 凝血功能紊乱是脓毒症发生发展过程中的重要因素之一。虽然疾病初期, 脓毒症伴随的炎症反应诱发凝血系统激活, 帮助宿主吸收和消除微生物而发挥防卫作用^[9], 但随着炎症持续刺激, 凝血系统被广泛激活, 抗凝系统不堪重负, 机体出现凝血功能紊乱, 造成血管内血栓形成及血小板和凝血因子过度消耗, 严重者发展为弥散性血管内凝血 (disseminated intravascular coagulation, DIC), 出现广泛出血和

器官功能障碍^[10]。有研究表明,脓毒症患者合并凝血功能紊乱的发病率为 50%~70%,约 35% 继发 DIC^[11],占 DIC 患者总数的 50%^[12]。脓毒症凝血功能紊乱的严重程度与疾病预后密切相关^[7],脓毒症并发 DIC 的病死率高达 28%~43%^[13]。因此,有效防治凝血功能紊乱对改善脓毒症患者预后具有重要意义,这有赖于早期识别和快速干预。基于脓毒症纤溶抑制的独特表现^[12]和多器官功能障碍发生的特点,国际血栓与止血学会(International Society on Thrombosis and Haemostasis, ISTH)的科学和标准化委员会(Scientific and Standardization Committee, SSC)在 2017 年正式提出“脓毒症相关性凝血功能障碍(SIC)”的概念和诊断标准^[14],并于 2019 年基于既往 ISTH 显性 DIC 评分系统和 SIC 评分系统(表 1),提出简化“两步”顺序评分系统(图 1)^[3],用于脓毒症患者凝血功能障碍的早期诊断和目标治疗获益群体的识别。

表 1 ISTH 显性 DIC 评分和 SIC 评分

分数(分)	ISTH 显性 DIC 评分	SIC 评分
2	PLT<50×10 ⁹ /L	PLT<100×10 ⁹ /L
1	PLT≥50×10 ⁹ /L, PLT<100×10 ⁹ /L	PLT≥100×10 ⁹ /L, PLT<150×10 ⁹ /L
2	PPT(INR)≥6 s	PPT(INR)>1.4
1	PPT(INR)≥3 s, PPT(INR)<6 s	PPT(INR)>1.2, PPT(INR)≤1.4
1	Fg<1.0 g/L	
3	FDP/D-dimer 重度升高	
2	FDP/D-dimer 中度升高	
2		改良 SOFA 评分≥2 分
1		改良 SOFA 评分 1 分
	总分≥5 分	总分≥4 分

注:SIC为脓毒症相关性凝血功能障碍评分,4项积分相加≥5分认为国际血栓与止血学会(ISTH)显性弥散性血管内凝血(DIC阳性);3项积分相加≥4分且凝血酶原时间国际标准化比值(PT-INR)和血小板计数(PLT)积分之和>2分认为SIC阳性;PPT为凝血酶原延长时间,Fg为纤维蛋白原,FDP为纤维蛋白原降解产物,D-dimer为D-二聚体,改良序贯器官衰竭评分(SOFA)为呼吸系统、循环系统、肝脏功能、肾脏功能4项SOFA评分之和;空白代表无此项



注:ISTH为国际血栓与止血学会,SIC为脓毒症相关性凝血功能障碍,DIC为弥散性血管内凝血

图 1 ISTH 提出的“两步”顺序评分系统

目前研究认为,SIC的病理生理机制包括凝血系统过度激活、抗凝系统严重受损、纤维蛋白溶解系统抑制、血管内皮细胞损伤、血小板活化聚集等多个方面^[15],涉及病原体相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)、

损伤相关分子模式(damage associated molecular pattern, DAMP)、NETs等多种因素^[16]。

2 NETs

NETs又称为中性粒细胞胞外陷阱,是中性粒细胞接受细菌、真菌菌丝、某些炎症因子和趋化因子、活化血小板等激动剂刺激后形成释放的胞外结构^[17]。2004年,Brinkmann等^[5]使用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)和透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)首次发现NETs的形成过程,并对其形态结构进行了描述,认为其由直径15~17 nm的DNA纤维骨架和直径25~50 nm的球形蛋白质结构组成。进一步研究表明,NETs的DNA可能来源于细胞核或线粒体^[18],结合的蛋白质主要包括:核心蛋白组蛋白(H2A、H2B、H3和H4,约占70%)、中性粒细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE;约占5.24%)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、组织蛋白酶G(Cathepsin G)等^[19]。近年来,随着对NETs的深入认识和科学技术的发展,诸如电泳技术、酶联免疫吸附试验、流式细胞术、免疫荧光技术、共聚焦显微技术等越来越多的检测技术被用于NETs的定性及定量分析^[20-21],为NETs的临床转化提供了技术支持。

既往研究认为,NETs是中性粒细胞不同于吞噬、脱颗粒等功能的全新抗菌机制,可以通过其诱捕作用防止局部病原体扩散,还可以直接降解杀灭病原体^[7],从而在脓毒症发病初期起到保护宿主的作用^[22]。然而,越来越多的实验和临床证据表明,NETs可能介导凝血功能障碍引起血栓形成,导致脓毒症患者多器官功能障碍的发生和不良预后^[6, 23-25]。

3 NETs在SIC中的作用

3.1 NETs对凝血系统的激活作用存在争议:凝血系统过度激活是SIC和DIC最重要、最基本的发病机制,有关NETs在脓毒症凝血系统激活中的作用仍有争议。一方面,Yang等^[26]研究表明,组蛋白以时间和浓度依赖性的方式诱导组织因子(tissue factor, TF)在内皮细胞和巨噬细胞表面表达,启动外源性凝血途径,发挥促凝作用;Gould等^[27]研究表明,豆蔻酯佛波醇乙酯(phorbol myristate acetate, PMA)诱导NETs释放可启动内源性凝血途径,增加凝血酶峰值并缩短达峰时间,促进凝血系统激活。另一方面,Noubouossie等^[28]研究表明,虽然纯化的NETs成分DNA和组蛋白可在体外发挥促凝作用,但完整的NETs结构在体外却无此作用。这可能是由于使用了不同的实验方法,也可能是因为离体实验受许多复杂因素影响。

3.2 NETs损害抗凝系统、破坏止血平衡:抗凝系统主要包括抗凝血酶、蛋白C系统和组织因子途径抑制物(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)。有研究表明,脓毒症时NETs可以通过其蛋白组降解抗凝血酶、抑制活化蛋白C生成、裂解TFPI,损害抗凝系统,破坏机体止血平衡,促进为血管血栓形成和器官功能障碍发生^[29]。

3.3 NETs抵抗纤维蛋白溶解作用:与创伤、急性白血病等引起的纤溶亢进及严重肝病引起的复杂凝血功能紊乱^[30]不同,有关脓毒症患者的实验室检查结果显示,纤维蛋白

原降解产物(fibrinogen degradation product, FDP)、D-二聚体(D-dimer)、纤溶酶激活标志物纤溶酶- α 2 纤溶酶抑制剂复合物(plasmin- α 2 antiplasmin complex, PIC)仅轻度升高,这表明脓毒症引起的凝血功能障碍表现为显著的纤溶抑制^[31]。Varjú 等^[32]研究证明,NETs 及其组分可以直接参与血凝块的形成并改变血凝块中纤维蛋白的结构,增强机械抵抗力,降低其对组织型纤溶酶原激活物(tissue-type plasminogen activator, tPA)诱导纤溶作用的敏感性,发挥抗纤溶作用。Mangold 等^[33]研究进一步证明,使用脱氧核糖核酸酶抑制剂(doexyribonuclease, DNase)可增加 tPA 的纤维溶解作用。

3.4 NETs 诱导内皮细胞损伤:血管内皮细胞(vascular endothelial cell, VEC)是脓毒症的主要靶标,血管内皮细胞损伤是 SIC 的特征之一^[15]。NETs 可以诱导内皮细胞损伤参与 SIC 和 DIC 的发生。Pieterse 等^[34]研究发现,尽管内皮细胞对 NETs 具有一定的吞噬能力,但脓毒症中过度的 NETs 产生可能导致细胞毒性而损伤内皮细胞。马晓春团队乔艳婷等^[35]的研究结果进一步表明,NETs 对内皮细胞活性的抑制作用呈剂量依赖性,使用 DNase 和肝素拮抗后损伤效应可减轻。这一现象可能与 NETs 中的基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)激活内皮细胞基质金属蛋白酶 2(MMP-2)诱导内皮细胞凋亡有关^[36]。此外, Folco 等^[37]的研究结果提示,NETs 可促进人内皮细胞表面血管内皮细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)和细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)时间和浓度依赖性表达,促进损伤内皮细胞表面炎性细胞募集,进一步促进血栓形成。

3.5 NETs 与血小板的相互作用:脓症患者普遍存在不同程度的血小板减少^[38]。近年来,越来越多的研究表明血小板参与脓毒症病理生理过程,并在器官功能障碍的发生中起重要作用,这可能与脓毒症引发血小板活化导致的炎症反应和凝血功能障碍有关^[39]。一项在 ICU 患者中进行的病例对照研究结果提示高组蛋白水平与血小板减少有关^[40],这表明 NETs 参与了这一过程。McDonald 等^[24]使用腹腔内注射脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)构建小鼠脓毒症模型后,发现小鼠体内血小板活化聚集、凝血酶激活和含有 NETs 的纤维蛋白凝块的形成。同时,该研究发现输注 DNase 清除 NETs 的小鼠和肽酰基精氨酸脱氨酶 4(peptidylarginine deiminase 4, PAD4)基因缺陷 NETs 生成,受损的小鼠出现了凝血酶活性下降、血小板聚集减少和微血管灌注改善。上述结果表明,NETs-血小板-凝血酶动态轴在促进脓毒症血管内凝血和微循环功能障碍的发展中至关重要。此外, Li 等^[41]研究发现,在乏血小板血浆中使用 LPS 刺激中性粒细胞,NETs 的生成量减少。这表明脓毒症中 NETs 的形成高度依赖于活化血小板与中性粒细胞之间的相互作用。

4 潜在治疗方案

目前, SIC 的治疗主要包括病因治疗(即抗感染治疗)、替代治疗及抗凝治疗 3 个方面^[10]。其中,早期并快速实施

抗感染治疗被认为是 SIC 治疗的基石。与前两种治疗方法不同,抗凝治疗作为 SIC 的辅助疗法,考虑到相关药物抗凝特性、出血风险及其对患者器官功能障碍和病死率改善程度的异质性,抗凝治疗的安全性仍然存在争议,至今没有公认有效的抗凝治疗策略^[3-4, 15]。

上述基础和临床研究表明,NETs 的过度产生在疾病发生发展中有重要地位,因此针对 NETs 产生及其组分的治疗性干预措施有望为 SIC 提供新的治疗策略。动物研究表明, DNase 可减少器官损伤的发生并控制细菌传播^[22],早期联合常规抗感染等可进一步优化治疗^[6]。Martinod 等^[42]发现敲除 PAD4 基因可以减少 NETs 的生成,进一步减轻脓毒症小鼠器官功能障碍的严重程度并提高生存率。Wildhagen 等^[43]发现使用非抗凝肝素可在不增加出血风险的情况下减轻组蛋白介导的细胞毒作用,减缓脓毒症小鼠的肺损伤,进一步降低死亡率。然而以上干预均在动物模型中进行,迄今为止尚无相关药物的临床研究结果。

此外,上述机制表明血小板在 SIC 的发生发展中至关重要,且越来越多的研究表明抗血小板药物可以改善微循环的高凝状态^[39],因此抗血小板药物的应用有可能改善疾病预后。现阶段使用较广泛的抗血小板药物包括以阿司匹林为代表的环氧合酶抑制剂、以氯吡格雷为代表的 P2Y₁₂ 受体抑制剂及血小板膜糖蛋白(glycoprotein IIb/IIIa, GP IIb/IIIa)受体拮抗剂。目前,虽有上述药物的临床研究,且有生存获益的报告,但其干预对象为脓毒症或肺炎患者^[44-46],尚无在 SIC 中应用的回顾性或前瞻性研究。

5 小结

凝血功能障碍的发生发展增加了脓症患者器官功能障碍的发生,并与不良预后密切相关。早期诊断并快速启动靶向治疗可能改变脓毒症结局。然而,至今无公认有效的抗凝治疗策略。目前研究显示,NETs 及其 DNA 和蛋白质组分可激活凝血系统,抑制抗凝系统,抵抗纤维蛋白溶解作用,损伤血管内皮细胞,并通过与血小板的相互作用导致 SIC。因此,针对 NETs 及其组分的干预和抗血小板药物有望成为疾病治疗新的研究方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10219): 200–211. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32989-7.
- [2] 刘春峰. 脓毒症相关的凝血障碍 [J]. *中国小儿急救医学*, 2018, 25 (7): 490–493. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2018.07.003.
- [3] Scientific and Standardization Committee on DIC, and the Scientific and Standardization Committee on Perioperative and Critical Care of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Diagnosis and management of sepsis-induced coagulopathy and disseminated intravascular coagulation [J]. *J Thromb Haemost*, 2019, 17 (11): 1989–1994. DOI: 10.1111/jth.14578.
- [4] 许伟伟, 李明, 崔广清, 等. 脓毒症抗凝治疗的意义与未来 [J]. *中华危重病急救医学*, 2021, 33 (5): 621–625. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20201126-00731.
- [5] Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria [J]. *Science*, 2004, 303 (5663): 1532–1535. DOI: 10.1126/science.1092385.
- [6] Czaikoski PG, Mota JM, Nascimento DC, et al. Neutrophil

- extracellular traps induce organ damage during experimental and clinical sepsis [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (2): e0148142. DOI: 10.1371/journal.pone.0148142.
- [7] Lyons PG, Micek ST, Hampton N, et al. Sepsis-associated coagulopathy severity predicts hospital mortality [J]. *Crit Care Med*. 2018, 46 (5): 736–742. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002997.
- [8] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 801–810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [9] Jackson SP, Darbousset R, Schoenwaelder SM. Thromboinflammation: challenges of therapeutic targeting coagulation and other host defense mechanisms [J]. *Blood*, 2019, 133 (9): 906–918. DOI: 10.1182/blood-2018-11-882993.
- [10] 中华医学会急诊医学分会, 中华危重病急救医学杂志编辑委员会, 脓毒症并发弥散性血管内凝血诊治急诊专家共识专家组. 脓毒症并发弥散性血管内凝血诊治急诊专家共识 [J]. *实用检验医师杂志*, 2017, 9 (3): 129–132. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2017.03.001.
- [11] Adamik B, Gozdziak W, Jakubczyk D, et al. Coagulation abnormalities identified by thromboelastometry in patients with severe sepsis: the relationship to endotoxemia and mortality [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2017, 28 (2): 163–170. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000572.
- [12] Gando S, Levi M, Toh CH. Disseminated intravascular coagulation [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16037. DOI: 10.1038/nrdp.2016.37.
- [13] Iba T, Yamada A, Hashiguchi N, et al. New therapeutic options for patients with sepsis and disseminated intravascular coagulation [J]. *Pol Arch Med Wewn*, 2014, 124 (6): 321–328. DOI: 10.20452/pamw.2299.
- [14] Iba T, Nisio MD, Levy JH, et al. New criteria for sepsis-induced coagulopathy (SIC) following the revised sepsis definition: a retrospective analysis of a nationwide survey [J]. *BMJ Open*, 2017, 7 (9): e017046. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-017046.
- [15] Iba T, Levy JH, Raj A, et al. Advance in the management of sepsis-induced coagulopathy and disseminated intravascular coagulation [J]. *J Clin Med*, 2019, 8 (5): 728. DOI: 10.3390/jcm8050728.
- [16] Iba T, Levi M, Levy JH. Sepsis-induced coagulopathy and disseminated intravascular coagulation [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2020, 46 (1): 89–95. DOI: 10.1055/s-0039-1694995.
- [17] Lipinska-Gediga M. Neutrophils, NETs, NETosis: old or new factors in sepsis and septic shock? [J]. *Anaesthesiol Intensive Ther*, 2017, 49 (3): 235–240. DOI: 10.5603/AIT.2017.0041.
- [18] Boeltz S, Amini P, Anders HJ, et al. To NET or not to NET: current opinions and state of the science regarding the formation of neutrophil extracellular traps [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26 (3): 395–408. DOI: 10.1038/s41418-018-0261-x.
- [19] Urban CF, Erment D, Schmid M, et al. Neutrophil extracellular traps contain calprotectin, a cytosolic protein complex involved in host defense against *Candida albicans* [J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5 (10): e1000639. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000639.
- [20] 陈玉年, 顾兵, 李华南. 中性粒细胞胞外诱捕网检测技术的研究进展 [J]. *天津医药*, 2020, 48 (7): 676–681. DOI: 10.11958/20193431.
- [21] Li TW, Zhang ZY, Li XJ, et al. Neutrophil extracellular traps: signaling properties and disease relevance [J]. *Mediators Inflamm*, 2020, 2020: 9254087. DOI: 10.1155/2020/9254087.
- [22] Canadian Critical Care Translational Biology Group. Delayed but not early treatment with DNase reduces organ damage and improves outcome in a murine model of sepsis [J]. *Shock*, 2015, 44 (2): 166–172. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000396.
- [23] Kimball AS, Obi AT, Diaz JA, et al. The emerging role of nets in venous thrombosis and immunothrombosis [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 236. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00236.
- [24] McDonald B, Davis RP, Kim SJ, et al. Platelets and neutrophil extracellular traps collaborate to promote intravascular coagulation during sepsis in mice [J]. *Blood*, 2017, 129 (10): 1357–1367. DOI: 10.1182/blood-2016-09-741298.
- [25] Biron BM, Chung CS, Chen YP, et al. PAD4 deficiency leads to decreased organ dysfunction and improved survival in a dual insult model of hemorrhagic shock and sepsis [J]. *J Immunol*, 2018, 200 (5): 1817–1828. DOI: 10.4049/jimmunol.1700639.
- [26] Yang XY, Li L, Liu J, et al. Extracellular histones induce tissue factor expression in vascular endothelial cells via TLR and activation of NF- κ B and AP-1 [J]. *Thromb Res*, 2016, 137: 211–218. DOI: 10.1016/j.thromres.2015.10.012.
- [27] Gould TJ, Vu TT, Swystun LL, et al. Neutrophil extracellular traps promote thrombin generation through platelet-dependent and platelet-independent mechanisms [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34 (9): 1977–1984. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.304114.
- [28] Nouboussie DF, Whelihan MF, Yu YB, et al. *In vitro* activation of coagulation by human neutrophil DNA and histone proteins but not neutrophil extracellular traps [J]. *Blood*, 2017, 129 (8): 1021–1029. DOI: 10.1182/blood-2016-06-722298.
- [29] Li RHL, Tablin F. A comparative review of neutrophil extracellular traps in sepsis [J]. *Front Vet Sci*, 2018, 5: 291. DOI: 10.3389/fvets.2018.00291.
- [30] 中华医学会器官移植学分会围手术期管理专家组. 成人肝移植受者围术期凝血功能管理专家共识 (2021 版) [J/CD]. *实用器官移植电子杂志*, 2021, 9 (2): 89–94. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2021.02.001.
- [31] Asakura H. Classifying types of disseminated intravascular coagulation: clinical and animal models [J]. *J Intensive Care*, 2014, 2 (1): 20. DOI: 10.1186/2052-0492-2-20.
- [32] Varjú I, Longstaff C, Szabó L, et al. DNA, histones and neutrophil extracellular traps exert anti-fibrinolytic effects in a plasma environment [J]. *Thromb Haemost*, 2015, 113 (6): 1289–1298. DOI: 10.1160/TH14-08-0669.
- [33] Mangold A, Alias S, Scherz T, et al. Coronary neutrophil extracellular trap burden and deoxyribonuclease activity in ST-elevation acute coronary syndrome are predictors of ST-segment resolution and infarct size [J]. *Circ Res*, 2015, 116 (7): 1182–1192. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.304944.
- [34] Pieterse E, Rother N, Garsen M, et al. Neutrophil extracellular traps drive endothelial-to-mesenchymal transition [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37 (7): 1371–1379. DOI: 10.1161/ATVBAHA.117.309002.
- [35] 乔艳婷, 蒋静, 章志丹, 等. 肝素减轻中性粒细胞胞外诱捕网诱导的内皮细胞损伤 [J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29 (4): 342–346. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.04.011.
- [36] Carmona-Rivera C, Zhao WP, Yalavarthi S, et al. Neutrophil extracellular traps induce endothelial dysfunction in systemic lupus erythematosus through the activation of matrix metalloproteinase-2 [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74 (7): 1417–1424. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-204837.
- [37] Folco EJ, Mawson TL, Vromman A, et al. Neutrophil extracellular traps induce endothelial cell activation and tissue factor production through interleukin-1 α and cathepsin G [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38 (8): 1901–1912. DOI: 10.1161/ATVBAHA.118.311150.
- [38] 杨蕊, 蒋佳维, 王勇强. 联合使用维生素 C、维生素 B1 及氢化可的松对脓毒症血小板减少症患者疗效的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2021, 28 (1): 48–51. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2021.01.012.
- [39] Wang YH, Ouyang YQ, Liu BY, et al. Platelet activation and antiplatelet therapy in sepsis: a narrative review [J]. *Thromb Res*, 2018, 166: 28–36. DOI: 10.1016/j.thromres.2018.04.007.
- [40] Alhamsi Y, Abrams ST, Lane S, et al. Histone-associated thrombocytopenia in patients who are critically ill [J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 817–819. DOI: 10.1001/jama.2016.0136.
- [41] Li RHL, Ng G, Tablin F. Lipopolysaccharide-induced neutrophil extracellular trap formation in canine neutrophils is dependent on histone H3 citrullination by peptidylarginine deiminase [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2017, 193–194: 29–37. DOI: 10.1016/j.vetimm.2017.10.002.
- [42] Martinod K, Fuchs TA, Zitomersky NL, et al. PAD4-deficiency does not affect bacteremia in polymicrobial sepsis and ameliorates endotoxemic shock [J]. *Blood*, 2015, 125 (12): 1948–1956. DOI: 10.1182/blood-2014-07-587709.
- [43] Wildhagen KC, García de Frutos P, Reutelingsperger CP, et al. Nonanticoagulant heparin prevents histone-mediated cytotoxicity *in vitro* and improves survival in sepsis [J]. *Blood*, 2014, 123 (7): 1098–1101. DOI: 10.1182/blood-2013-07-514984.
- [44] Gross AK, Dunn SP, Feola DJ, et al. Clopidogrel treatment and the incidence and severity of community acquired pneumonia in a cohort study and meta-analysis of antiplatelet therapy in pneumonia and critical illness [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2013, 35 (2): 147–154. DOI: 10.1007/s11239-012-0833-4.
- [45] Rahman M, Gustafsson D, Wang YZ, et al. Ticagrelor reduces neutrophil recruitment and lung damage in abdominal sepsis [J]. *Platelets*, 2014, 25 (4): 257–263. DOI: 10.3109/09537104.2013.809520.
- [46] Falcone M, Russo A, Cangemi R, et al. Lower mortality rate in elderly patients with community-onset pneumonia on treatment with aspirin [J]. *J Am Heart Assoc*, 2015, 4 (1): e001595. DOI: 10.1161/JAHA.114.001595.