

• SHOCK 速递 •

《SHOCK》2022年第7期新观点

朱浙祥¹ (综译) 陈芳^{1,2} (审核)

本期《休克》关注创伤和脓毒症两大主题。在创伤方面,对创伤性血小板功能障碍、容量反应性评估、创伤分型、缺血再灌注损伤的机制以及创伤治疗新进展进行了阐述;在脓毒症方面,对急性肾损伤的评估、早期脓毒症鉴别和脓毒症相关免疫紊乱展开了阐述。另有两篇关于椎间盘退变以及ARDS的治疗机制的基础研究。

血小板是血液中的无核亚细胞成分,主要负责启动和维持止血。血管损伤后,血小板能通过多种途径被激活,发生形状改变,粘连到损伤部位,聚集形成栓子,脱颗粒启动附近其他血小板的激活,加速凝血酶形成,将纤维蛋白原转化为纤维蛋白,然后收缩以加强血栓。通过激动剂诱导并测量止血过程中血小板功能进行分析,以确定增加出血或血栓事件可能性的血小板功能变化。这些分析表明,在严重创伤中,血小板功能障碍与不良的临床结果密切相关。然而,到目前为止,导致临床上显著的血小板功能障碍的机制仍然知之甚少。Schriner JB等回顾创伤中使用的分析方法的利弊和证据,讨论它们在这类患者群体中使用的局限性,并提出可以采取的方法以发现能够阐明创伤引起的血小板功能障碍机制的改进的功能分析方法,创伤中的血小板功能障碍与输血需求和死亡率有关。然而,目前的大多数血小板功能检测并不为评估创伤患者而设计的,关于它们在这一人群中的使用数据有限。新的或改进的功能分析将有助于确定血小板功能障碍发生的机制,并有助于优化未来的治疗^[1]。

目前基于血肌酐的急性肾损伤(AKI)诊断方法敏感性较差,可能会错过亚临床肾损伤,尤其是脓毒症AKI的治疗窗口。肾损伤分子-1(KIM-1)可能是改善AKI诊断的有价值的生物标志物。但目前对脓毒症AKI的认识还不够充分,有关KIM-1在炎症中的动力学知识也很少。Heinzel MW等探讨了脂多糖(LPS)对健康志愿者肾组织结构损伤标志物KIM-1的影响。他们通过单盲、安慰剂对照、交叉试验方法,对10名健康男性受试者采用内毒素模型进行研究,在48h内重复测定KIM-1和血肌酐水平,发现注射脂多糖显著升高血清KIM-1水平,此外,脂多糖在早期也能引起血清肌酐显著升高。因此,该研究得出结论,即使相对较小的炎性刺激也足以导致亚临床结构性肾损伤,

并伴有KIM-1和血肌酐的升高。这证明目前AKI诊断方法的不足,以及开发肾脏损伤新标志物的紧迫性^[2]。

Bandyopadhyay S等开展了一项前瞻性观察队列研究,探讨脓毒症患者和无菌性炎症患者早期尿液基因表达的差异,并根据可重复性的脓毒症概率评分进行总结。共有186例脓毒症患者和78例全身炎症反应综合征(SIRS)患者纳入研究,分别对脓毒症患者发病后12h内的尿液、大手术后4h内存在SIRS患者的尿液中提取RNA进行全基因组转录分析。他们鉴定了23 956个基因中的422个,发现这些基因在脓毒症和全身炎症反应综合征患者之间存在差异表达。将差异表达的基因提供给机器学习特征选择模型的集合,以识别区分脓毒症和全身炎症反应综合征的聚焦基因集。将这些基因组合在一起,找到一个最佳组合(UrSepsis Model),并计算尿液脓毒症评分(UrSepsis Score)。这种方法将所有决定基因的表达值总结为一个单一的脓毒症评分。在验证队列上,UrSepsis Model和UrSepsis Score在接收者操作特征曲线下的面积分别为0.91(95%可信区间,0.86~0.96)和0.80(95%可信区间,0.70~0.88)。与脓毒症相关的基因功能分析显示,代谢紊乱表现为氧化磷酸化减少,氨基酸代谢减少,脂质和脂肪酸氧化减少。该研究得出结论,尿细胞全基因组转录组图谱显示,聚焦的基因可以作为鉴别脓毒症和无菌性SIRS的早期诊断工具。对差异表达基因的功能分析表明,脓毒症患者具有明显的代谢紊乱特征^[3]。

Wang H等探讨颈总动脉校正流量时间(FTc)能否预测机械通气时的容量反应性,并进一步探讨呼气末正压(PEEP)是否会影响FTc的敏感性和特异性。研究的第一阶段:选择80例普外科开腹手术患者。经全麻诱导后,在血压、心率、心输出量(CO)等血流动力学指标稳定后,测定颈总动脉FTc;通过外周静脉系统在15min内快速注入7mg/kg(理想体重)的羟乙基淀粉130/0.4氯化钠注射液,之后立即再次测量血流动力学指标以评估容量反应性。其中CO变化率($\Delta CO \geq 15\%$)为有效(R)组, $\Delta CO < 15\%$ 为无反应组(NR)。研究的第二阶段:选择29例开腹手术患者。经全麻诱导后,依次给予0、5、10cmH₂O的PEEP。记录校正后的血流时间和血流动力学指标。然后,7mg/kg羟乙基淀粉130/0.4氯化钠注射液快速输注15min,然后依次施加0、5、10cmH₂O的PEEP,再次测定各项指标。第一阶段FTc等于或小于阈值的患者分为R组,否则为NR组。研究发现,在研究第一阶段的两组容

译者单位:1. 湖南省人民医院(湖南师范大学附属第一医院)急诊科;2. 湖南省急救医学研究所,急危重症代谢组学湖南省重点实验室

量负荷前后的 CO 和 FTc 差异有统计学意义。R 组输液前后平均动脉压有显著差异,而心率无明显差异。NR 组输液前后心率和平均动脉压均无明显差异。在输注容量负荷以预测容量反应性之前,FTc 的受试者工作特征曲线下面积为 0.786 ± 0.056 (95% 可信区间 $0.676 \sim 0.896$; $P = 0.00$)。在第二阶段,PEEP 对 FTc 无显著影响,而容量负荷对 FTc 有显著影响。输液前后 FTc 差异有统计学意义。当 PEEP 为 0、5 和 $10\text{cmH}_2\text{O}$ 时,FTc 预测容量反应的受试者工作特征曲线下面积分别为 0.921、0.805 和 0.719,FTc 诊断容量反应性的临界值分别为 323.42、326.69 和 312.03 毫秒。因此,该研究认为,校正的颈总动脉血流时间可以预测机械通气时的容量反应性,其预测性能不受 PEEP 的影响^[4]。

Chen T 等在前期研究中发现创伤后 12h 在创伤患者中存在两种转录亚型(标记组:SG1 和 SG2),SG1 与较差的预后相关。为进一步表征创伤患者创伤后 SG 亚型分类随时间的变化,并根据亚型指定的时间确定与预后的相应关联,研究对 167 名严重钝性创伤患者纵向的全血白细胞转录学数据进行二次分析。将创伤患者分为 SG1 或 SG2 亚型,时间范围为 12h 至 28d,并描述纵向结果。分组为 SG1 亚型组患者均与较慢的恢复有关。进一步分析表明,评估 12h 和 1d 的 SG 亚型可以获得更多的预后信息。该研究提供了一个概念证明,即入院后免疫状态可能恶化,并强调了纵向监测创伤患者 SG 亚型的好处^[5]。

基础研究

许多研究表明创伤后细胞外小泡(EVs)的释放增加,其来源分化也会发生变化,但 EVs 的生物学意义尚不清楚。Zeineddin A 等提出了假设,即创伤/失血性休克(HS)后释放的 EVs 参与内皮病变和凝血障碍的发生。研究通过过继转移试验,采用超速离心法从严重创伤患者和轻度创伤患者的血浆中浓缩总 EVs,对未受伤的幼年 C57BL/6J 小鼠给予不同浓度的 EVs,并与接受等容量载体(PBS)或接受来自微创患者的 EVs 的小鼠进行比较。注射后 30min 采血进行凝血酶-抗凝血酶、凝血酶-抗凝血酶复合体(TAT)测定,和酶联免疫吸附试验(ELISA)测定 Syndecan-1 水平。留取肺组织做病理组织学检查,采用 von Willebrand 因子和纤维蛋白染色鉴定血管内凝血。从肺中抽吸肺泡灌洗液进行蛋白质测定。

与对照组小鼠相比,接受不同浓度($5 \times 10^6 \sim 3.1 \times 10^9/100\mu\text{L}$ /鼠)的严重创伤患者 EV 的幼鼠 TAT 和 Syndecan-1 水平并没有显著差异,但肺血管通透性和组织病理学损伤显著增加,肺组织显示血管内纤维蛋白沉积。与接受来自轻伤患者的 EV 的小鼠相比,来自严重创伤患者的 EVs 或来自轻伤患者的 EVs 以较高浓度($1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ EV/ $100\mu\text{L}$ /鼠)的幼鼠 TAT 和 Syndecan-1 水平显著升高,同时肺泡灌洗液蛋白含量和肺组织病理损伤程度、肺组织中纤维蛋白沉积程度也显著增高。研究认为创伤可导致 EVs 的全身性释放,引起血管内皮细胞病变,表现为 Syn-

decane-1 升高、通透性增加和凝血功能障碍,继而出现 TAT 和血管内纤维蛋白沉积增加。靶向创伤诱导的 EVs 可能代表着一种新的治疗策略^[6]。

脓毒症是 ICU 中常见的死亡原因,严重的免疫细胞紊乱症通常与多器官功能障碍有关。对于许多脓毒症幸存者来说,这些问题会在潜在感染临床缓解后的长时间内持续存在。虽然许多研究阐述了脓毒症对个体免疫细胞亚型的影响,但缺乏对脓毒症引起的免疫细胞内和整个免疫细胞格局变化的全面分析。Cho DS 等使用单细胞 RNA 测序评估骨髓分离的免疫细胞与脓毒症相关的转录变化。利用 Friend 白血病病毒 B 小鼠建立一种高存活率的粪便诱导腹膜炎脓毒症模型。将来自 3402 个单细胞分为 14 个簇,分别代表长期造血干细胞(HSC)、短期 HSC、嗜碱性粒细胞、树突状细胞、嗜酸性粒细胞、红细胞、红细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、自然杀伤细胞、浆细胞、浆细胞样树突状细胞、前 B 细胞和 T 记忆细胞。在实验诱导脓毒症后的一天,细胞类型成分发生显著变化,包括 HSC 和髓系细胞丰度的显著下降。除了细胞成分的比例变化外,急性脓毒症还导致所分析的大多数免疫细胞类型的显著转录变化,这些变化在脓毒症后 1 个月未能完全恢复。该研究描述了多种免疫细胞对多菌感染的广泛和持久的转录变化,将成为未来研究急性和/或长期脓毒症相关免疫细胞紊乱的宝贵资源^[7]。

髓核(NP)细胞蜕变促进椎间盘(IVD)退变的进展, MicroRNAs(miRs)与 IVD 变性有关。Hu B 等阐述了白介素-1 β 诱导的 NP 细胞变性过程中,富含血小板血浆(PRP)中 EVs 携带的 miR-25-3p 的作用机制。该研究发现 IL-1 β 诱导的 NP 细胞中,miR-25-3p 表达下调,而 SOX4 和 CXCR7 表达上调。而 PRP-EVs 可增加细胞活力,减少细胞凋亡和炎症反应。PRP-EVs 携带的 miR-25-3p 进入 NP 细胞可减轻 NP 细胞的变性,miR-25-3p 可抑制 SOX4 的表达,限制 CXCR7 的转录。沉默 miR-25-3p 或过表达 SOX4 或 CXCR7 可逆转 PRP-EVs 在 NP 细胞变性中的作用。因此,研究得出结论,PRP-EVs 携带的 miR-25-3p 进入 NP 细胞后,上调了细胞内 miR-25-3p 的表达,从而抑制了 SOX4 的表达,进而限制了 CXCR7 的转录,以减轻 IL-1 β 诱导的 NP 细胞的变性。含 miR-25-3p 的 PRP-EVs 可能成为治疗 IVD 的新方法^[8]。

研究报道无赖氨酸激酶(WNKs)与肺泡液体清除(AFC)有关,上皮性钠通道(ENaCs)在 AFC 中起着至关重要的作用。Deng W 等探讨 WNK4 对 ENaC 相关 AFC 介导的急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的潜在保护作用。该研究发现,WNK4-SPAK 信号通路的激活可改善 ARDS 大鼠肺损伤,提高存活率,增加 AFC 程度,减轻肺水肿,其机制可能与上调 ENaC 有关。在原代培养的大鼠 ATII 细胞中,通过 siRNA 导入的基因沉默降低了 ENaC 的表达和 WNK4 相关的 SPAK 的磷酸化水平。此外免疫沉淀结果显示,WNK4-SPAK 的信号转导降低了神经前体细胞表达的

发育下调基因 4 (Nedd4-2) 与 ENaC 结合的水平。该研究表明, WNK4/SPAK 通路在脂多糖诱导的 ARDS 中改善了 AFC, 这主要依赖于 Nedd4-2 介导的泛素化上调 ENaC^[9]。

创伤患者在失血性休克后复苏可引起机体缺血再灌注(I/R), 这可能导致器官功能障碍。I/R 引起的氧化应激可以诱导信号通路, 导致炎症分子的产生, 最终导致器官功能障碍或损伤。Ailenberg M 等在体外模型中发现, 氧化应激能够诱导线粒体抗病毒信号蛋白(MAVS)的激活, 这是一种已知参与抗病毒免疫的蛋白质, 因此, 该研究推测 MAVS 通路可能参与 I/R 诱导的炎症和损伤。目前的研究表明, 在体内可通过肝脏 I/R 激活 MAVS, 在体外可通过低氧/复氧(H/R)激活 RAW264.7 细胞。利用体内(MAVS 基因敲除小鼠肝脏 I/R)和体外(含 MAVS siRNA 的 RAW264.7 细胞 H/R)模型来研究 MAVS 激活对下游事件的作用。该研究发现, 与野生型动物相比, MAVS 基因敲除小鼠的损伤和炎症增加, 肝细胞损伤增加, 诱导肝细胞凋亡增加血浆肿瘤坏死因子- α 水平。RAW264.7 中特定的小干扰 RNA 使 MAVS 沉默, 并将细胞暴露在 H/R 下, 导致有丝分裂激活, 这可能代表对肝脏炎症增加的代偿反应。因此, 该研究表明, 通过 H/R 激活 MAV 可以抑制炎症, 这可能是一个新的干预靶点^[10]。

参 考 文 献

- [1] Schriener JB, George MJ, Cardenas JC, et al. Platelet function in trauma: Is current technology in function testing missing the mark in injured patients? [J]. Shock, 2022, 58 (1): 1-13.
- [2] Heinzl MW, Resl M, Klammer C, et al. Subclinical kidney injury is caused by a moderate single inflammatory event [J]. Shock, 2022, 58 (1): 14-19.
- [3] Bandyopadhyay S, Loftus TJ, Peng YC, et al. Early differentiation between sepsis and sterile inflammation via urinary gene signatures of metabolic dysregulation [J]. Shock, 2022, 58 (1): 20-27.
- [4] Wang H, Chen W, Cheng H, et al. Value of corrected flow time in common carotid artery in predicting volume responsiveness under mechanical ventilation [J]. Shock, 2022, 58 (1): 28-33.
- [5] Chen T, Wei Y, Vodovotz Y, et al. Longitudinal analysis of transcriptomic subtypes in trauma patients [J]. Shock, 2022, 58 (1): 34-37.
- [6] Zeineddin A, Wu F, Dong JF, et al. Trauma-derived extracellular vesicles are sufficient to induce endothelial dysfunction and coagulopathy [J]. Shock, 2022, 58 (1): 38-44.
- [7] Cho DS, Schmitt RE, Dasgupta A, et al. Acute and sustained alterations to the bone marrow immune microenvironment following polymicrobial infection [J]. Shock, 2022, 58 (1): 45-55.
- [8] Hu B, Wang L, Sun N, et al. Mechanism of miR-25-3p carried by extracellular vesicles derived from platelet-rich plasma in IL-1 β -induced nucleus pulposus cell degeneration via the SOX4/CXCR7 axis [J]. Shock, 2022, 58 (1): 56-67.
- [9] Deng W, Qi D, Tang XM, et al. The WNK4/SPAK pathway stimulates alveolar fluid clearance by upregulation of epithelial sodium channel in mice with lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome [J]. Shock, 2022, 58 (1): 68-77.
- [10] Ailenberg M, Kapus A, Leung CH, et al. Activation of the mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS) following liver ischemia/reperfusion and its effect on inflammation and injury [J]. Shock, 2022, 58 (1): 78-89.

(收稿日期: 2022-06-05)

(本文编辑: 蒋宇)