



■ NARRATIVE REVIEW ARTICLE

OPEN

CME



# **Sepsis-Induced Coagulopathy: A Comprehensive Narrative Review of Pathophysiology, Clinical Presentation, Diagnosis, and Management Strategies**

Brittney Williams, MD, Lin Zou, MD, PhD,† Jean-Francois Pittet, and Wei Chao, MD, PhD

April 2024 • Volume 138 • Number 4

**Коагулопатия, вызванная сепсисом: всесторонний описательный обзор патофизиологии, клинических проявлений, диагноза и стратегий ведения**  
Перевод В.С. Гороховского



# **Коагулопатия, вызванная сепсисом: всесторонний описательный обзор патофизиологии, клинических проявлений, диагноза и стратегий ведения**

**Brittney Williams, Jean-Francois Pittet, Wei Chao,**

Физиологический гемостаз - это баланс между про- и антикоагулянтными путями, и при сепсисе это равновесие нарушается, что приводит к системной выработке системного тромбина, нарушению антикоагулянтной активности и подавлению фибринолиза, состоянию, называемому коагулопатией, вызванной сепсисом (SIC - sepsis-induced coagulopathy). SIC является распространенным осложнением, присутствующим у 24% пациентов с сепсисом и 66% пациентов с септическим шоком, и часто ассоциируется с плохими клиническими исходами и высокой смертностью.<sup>1,2</sup> Недавние доклинические и клинические исследования позволили по-новому взглянуть на молекулярный патогенез SIC. В этой статье мы анализируем сложную патофизиологию SIC с акцентом на роли прокоагулянтной сигнализации врожденного иммунитета в активации системы гемостаза - выработке тканевого фактора, выработке тромбина, эндотелиопатии и нарушении антитромботических функций. Мы также рассматриваем клинические проявления SIC, диагностическую систему оценки и лабораторные тесты, текущий стандарт медицинской помощи и клинические испытания, оценивающие эффективность антикоагулянтной терапии.



## **КЛЮЧЕВЫЕ МОМЕНТЫ**

### ***Что известно:***

- 1. Коагулопатия, вызванная сепсисом (SIC), часто встречается у тяжелобольных пациентов с сепсисом и характеризуется системным воспалением с сопутствующей активацией свертывающей системы.
- 2 Повышенная экспрессия тканевого фактора через активированные циркулирующие моноциты, образование внеклеточных ловушек (NET) нейтрофильных клеток, способствующих выработке тромбина, выраженное воспаление сосудов с повреждением эндотелия и нарушение механизмов антикоагуляции являются центральными событиями в патофизиологии SIC.

### ***Чему еще надо учиться:***

- 3. Воспаление и коагуляция неразрывно связаны, и все еще выясняется каким образом стойкая активация иммунитета приводит к нарушению коагуляции при сепсисе.
- 4. При SIC наблюдается ранняя активация системного свертывания крови с прогрессирующей дисфункцией и нарастающими нарушениями свертывания крови, которые будут продолжать ухудшаться, если их не остановить. Текущие исследования направлены на выявление нюансов SIC для повышения точности диагностики с целью более ранней идентификации.

### ***Направление будущих исследований:***

- 5. Нацеливание на воспалительные молекулы, которые непосредственно опосредуют активацию тромбоцитов, выработку тканевого фактора и образование тромбина для модуляции коагулопатии и тромбоза при SIC, без повышенного риска кровотечения, является фокусом текущих исследований.
6. Будущие клинические исследования направлены на совершенствование методов диагностики для оптимизации стратификации пациентов с определенными фенотипами свертывания крови для системной антикоагулянтной / антитромботической терапии.

Коагулопатия, вызванная сепсисом, является основным осложнением сепсиса. SIC присутствует у 24% пациентов с сепсисом и связан с двукратным увеличением смертности.<sup>1,2</sup> SIC характеризуется системным воспалением и активацией коагуляции, приводящими к микрососудистым тромбам, нарушению перфузии органов и последующей органной дисфункции. SIC часто используется как синоним диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром), но при ДВС-синдроме наблюдается явная или



грубая внутрисосудистая коагулопатия потребления, означающая значительное снижение уровня тромбоцитов, фибриногена и факторов свертывания крови с клиническими признаками тромботического процесса и / или геморрагического диатеза. Для сравнения, SIC представляет собой тип неявного ДВС-синдрома, который также характеризуется системным внутрисосудистым свертыванием, но без значительного потребления тромбоцитов, фибриногена и факторов свертывания крови и часто предшествует декомпенсированной коагулопатии при ДВС-синдроме.

SIC - это сложное состояние, вызываемое патологическими взаимодействиями между иммунной и коагуляционной системами. Однако подробное понимание нормальных и нерегулируемых взаимодействий этих систем и их компонентов - для повышения точности диагностики и разработки таргетной терапии представляет собой значительный пробел в знаниях в SIC и является целью текущих исследований. Эта статья представляет собой критический обзор литературы по SIC в следующих областях: (1) экспериментальные доказательства того, что воспалительные молекулы патогена и хозяина связаны с активацией гемостаза при сепсисе, (2) системное воздействие дисрегулированных иммунотромботических реакций и возникающие в результате этого клинические проявления, (3) клинические диагностические критерии SIC, (4) экспериментальные методы лечения, направленные на несбалансированную коагуляцию при SIC, и (5) пробелы в наших знаниях о патофизиология, клинике и лечении SIC.

## **ПАТОФИЗИОЛОГИЯ SIC**

### **Выработка тромбина In Vivo**

Тромбин, или фактор (F) IIa, представляет собой сериновую протеазу, преобразующую фибриноген в нерастворимый фибрин; это мощный медиатор активации тромбоцитов и сильный потенциатор системной коагуляции посредством серии реакций положительной обратной связи<sup>3,4</sup>, которые служат для поддержания его собственной выработки (рисунок 1). Процесс образования тромбина in vivo проходит через 3 фазы: инициацию, усиление и распространение.<sup>5</sup> Фаза инициации начинается с клеток, экспрессирующих тканевой фактор (ТФ), таких как моноциты, эндотелиальные клетки (ЭК) или тромбоциты.<sup>6-8</sup> ТФ, прокоагулянтный гликопротеин, связывается с FVII и





Система плазменного контакта, состоящая из калликреинкина, высокомолекулярного кининогена (HMWK) и FXII, способствует дальнейшему образованию тромбина.<sup>11</sup> FXII является основным инициатором этой системы и играет роль в патологическом тромбообразовании.<sup>12,13</sup> FXII циркулирует в виде свободного зимогена, способного к аутоактивации до FXIIa после контакта с отрицательно заряженными поверхностями.<sup>14</sup> После активации FXIIa протеолитически расщепляет прекалликреин до калликреина, который может дополнительно активировать FXII до FXIIa в реакции положительной обратной связи. FXIIa, как сериновая протеаза, может впоследствии опосредовать дополнительное расщепление FIX до FIXa,<sup>15</sup> и способствовать дальнейшему образованию тромбина.

### **Моноциты и нейтрофилы способствуют выработке тромбина при сепсисе**

Повышенные уровни TF и TF-несущих микрочастиц в плазме крови были продемонстрированы при сепсисе животных и человека<sup>16-18</sup> и признаны факторами, способствующими образованию внутрисосудистого тромбина. При сепсисе моноциты считаются основным источником эндогенного TF.<sup>19</sup> У мышей генетическая делеция специфичного для миелоидных клеток TF (но не для эндотелиоцитов или тромбоцитов) заметно снижала уровень тромбина в плазме после стимуляции эндотоксином (также известным как липополисахарид [LPS]).<sup>20</sup> Более того, генетический нокаун TF в моноцитах крови человека, опосредованный малой интерферирующей (si RNA), *in vitro* привел к 5-кратному снижению активности TF, в то время как нокаун TF в гранулоцитах не продемонстрировал снижения активности TF в цельной крови, обработанной LPS,<sup>21</sup> таким образом подтверждая первенство моноцитов в выработке TF в плазме в ответ на эндотоксемию. Впоследствии тромбин может взаимодействовать с моноцитами через протеаз-активируемые рецепторы (PARs), для дальнейшего усиления экспрессии TF,<sup>22</sup> создавая петлю положительной обратной связи активации лейкоцитов, экспрессии TF и выработки тромбина (рисунок 1).

В ответ на передачу сигналов воспаления нейтрофилы претерпевают перестройку клеточной архитектуры, которая вызывает высвобождение



паутинообразных структур, известных как внеклеточные ловушки нейтрофилов (NETs), которые состоят из ДНК, гистонов, миелопероксидазы и других антимикробных белков.<sup>23</sup> Во время сепсиса NETs обеспечивают полианионную поверхность, которая способствует аутоактивации FXII<sup>23,24</sup> и контактно-опосредованной коагуляции (рисунок 1). NETs также служат дополнительной основой для адгезии и агрегации тромбоцитов, обеспечивая увеличенную площадь поверхности для прокоагулянтной активности и выработки тромбина.<sup>25</sup> Многочисленные данные, полученные на животных, подтверждают важность NET в активации тромбина. Например, мыши, которым внутрибрюшинно вводили *Escherichia coli* или эндотоксин, демонстрируют повышенную колокализацию белка тромбина NETs в микроциркуляторном русле печени.<sup>26</sup> Кроме того, у мышей с генетической делецией пептидиларгининдеиминазы 4 (PAD4), фермента, необходимого для формирования NET, наблюдается не только преждевременный распад NET, но и снижение активности внутрисосудистого тромбина.<sup>27</sup> Таким образом, во время сепсиса образование NET тесно связано прокоагулянтной активностью и образованием тромбина.

### **Роль патоген-ассоциированных молекулярных паттернов в передаче прокоагулянтных сигналов**

Патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMPs), играют ключевую роль в развитии SIC. PAMPs представляют собой молекулярные фрагменты гликопротеинов, мембранных компонентов и нуклеиновых кислот патогенов. Паттерны этих молекул распознаются рецепторами хозяина, включая toll-подобные рецепторы (TLR),<sup>28</sup> и запускают активацию как клеточных, так и неклеточных компонентов иммунной системы.<sup>29</sup> Компоненты мембран бактериальных клеток являются хорошо известными PAMP, и некоторые из них были напрямую связаны с прокоагулянтной активностью, как показано в таблице 1.



Таблица 1.

## Прокоагулянтные PAMPs/DAMPs при SIC и их роль в активации свертывания

|                               | Рецептор               | Влияние на свертывающую систему крови  |
|-------------------------------|------------------------|--|
| <b>PAMPs</b>                  |                        |  |
| PAL/Pam3CysK                  | TLR2                   | Увеличивает экспрессию р-селектина, молекулы клеточной адгезии, участвующей в образовании агрегатов тромбоцитов и лейкоцитов, а инъекция <i>in vivo</i> приводит к отложению фибрина в легких. <sup>32</sup>   |
| LPS                           | TLR4                   | Индуктирует агрегацию тромбоцитов и отложение фибрина <i>in vivo</i> , а <i>in vitro</i> это приводит к агрегации тромбоцитов в присутствии тромбина, предполагая синергическую эндогенную передачу сигналов тромбином. <sup>33,79</sup>   |
| Цитозольный ЛПС               | Каспаза 1/11           | Увеличивает экспрессию фосфатидилсерина на периферических лейкоцитах, усиливая активность прокоагулянта TF. <sup>33</sup>  |
| Белок внутренней палочки T3SS | Каспаза 1/11           | Увеличивает экспрессию TF в макрофагах и выработку тромбина в плазме <i>in vivo</i> . <sup>36</sup>  |
| <b>DAMPs</b>                  |                        |  |
| Гистоны                       | TLR2/4                 | Выработка тромбина с помощью тромбоцитарзависимых механизмов. <sup>76</sup><br>Повышающая регуляция TF и понижающая регуляция тромбомодулина в эндотелиальных клетках. <sup>38,46</sup>  |
| HMGB1                         | TLR2/4                 | Повышающая регуляция TF на моноцитах и понижающая регуляция TM-тромбином, активирующая путь протеина C и приводящая к чрезмерному микрососудистому тромбозу у крыс. <sup>148</sup>   |
| cfDNA                         | TLR9                   | cfDNA является основным компонентом NETs и запускает выработку тромбина через FXII и FXI. <sup>53,54</sup> TLR9 распознает неметилированную CpG ДНК, продукт жизнедеятельности микроорганизмов. мтДНК человека с предположительно гипометилированным содержанием CpG, сходным с бактериальной ДНК, может индуцировать воспаление зависимым от TLR9 образом, <sup>149</sup> но отсутствуют исследования о прямой активации свертывания крови мтДНК человека-TLR9. |
| exRNA                         | TLR3 (ds)<br>TLR7 (ss) | exRNA является кофактором FXII и FVII, который, как установлено, является прокоагулянтом через активацию контактного пути. <sup>150</sup> ex-miRNA индуцирует экспрессию TF в макрофагах через TLR7. <sup>16</sup>   |

Сокращения: cfDNA, бесклеточная ДНК; CpG, цитозин-гуанин; DAMP, молекулярные структуры, связанные с повреждением; ds, двухцепочечные; ex-miRNA, внеклеточная микроРНК; exRNA, внеклеточная РНК; F, фактор; HMGB1, белок box-1 группы высокой мобильности; LPS, липополисахарид; mt, митохондриальный; PAL, липопротеин, связанный с пептидогликаном; PAMP - молекулярные паттерны, ассоциированные с патогеном; SIC - индуцированная сепсисом коагулопатия; ss - одноцепочечная; T3SS - система секреции 3-го типа; TF - тканевой фактор; TLR - toll-подобный рецептор; TM - тромбомодулин.





Передача сигналов PAMP-TLR может запускать образование NET и экспрессию TF на моноцитах, способствуя выработке тромбина и отложению фибрина.<sup>30,31</sup> Мыши, которым вводили бактериальный липопротеин Pam3CysK или пептидогликанассоциированный липопротеин (PAL), полученный из *E. coli*, демонстрируют 16-кратное увеличение молекулы клеточной адгезии р-селектина и значительное отложение фибрина в легких зависимым от TLR2 образом.<sup>32</sup> LPS, другой PAMP, обнаруживаемый в клеточных стенках грамотрицательных бактерий, способствует свертыванию крови как зависимым, так и независимым от TLR образом. У мышей ЛПС индуцировал отложение фибрина в микроциркуляторном русле печени зависимым от TLR4 образом.<sup>33</sup> Независимо от TLR4, LPS и белков системы секреции III типа (T3SS), полученных из *E. coli*, они могут взаимодействовать с цитозольной провоспалительной каспазой<sup>11</sup>, активируя класс порообразующих белков, называемых газдерминами, которые создают большие поры газдермина D (GSDMD) в клеточных мембранах. Поры GSDMD пропускают  $Ca^{2+}$ , что приводит к усилению активности TF и, как полагают, играет роль в пироптозе.<sup>33-36</sup> Значимость GSDMD в активности TF подтверждается результатами эксперимента *in vitro*, согласно которым макрофаги, обработанные LPS, вырабатывают лишь незначительные количества TF, но когда LPS доставляется в цитозоль макрофагами, они демонстрируют повышенную активность фосфатидилсерина (PS), TF и тромбина каспазозависимым образом.<sup>33</sup> Кроме того, мыши с дефицитом GSDMD демонстрируют значительно меньшую генерацию тромбина и отложение фибрина в микрососудах при введении белка T3SS *E. coli* по сравнению с нормальным контролем.<sup>36</sup> Эти исследования предполагают механизм, связывающий PAMPs с SIC, при котором бактериальные компоненты, LPS/ T3SS, приводят к GSDMD-опосредованному притоку  $Ca^{2+}$  в клетки и транслокации LPS на внешнюю мембрану, усиливая активность TF и связывание субстрата, а также увеличивая выработку тромбина.



## Роль молекулярных паттернов, связанных с повреждением в передаче прокоагулянтных сигналов

Молекулярные паттерны, связанные с повреждением (DAMPs), представляют собой эндогенные биомолекулы, которые высвобождаются из клеток макроорганизма в условиях стресса и могут запускать иммунные реакции. DAMP были признаны медиаторами нарушения иммунной регуляции<sup>11,23</sup> и передачи прокоагулянтных сигналов<sup>37</sup> при сепсисе (таблица 1). Они включают ядерно-связывающие белки, такие как гистоны<sup>38</sup> и box-1 группы высокой подвижности (HMGB-1),<sup>39</sup> и нуклеиновые кислоты, такие как бесклеточная ДНК (cfDNA),<sup>40</sup> и внеклеточная РНК (ex-RNA),<sup>41-43</sup>, которые могут сигнализировать через TLR-зависимые (рисунок 2) или независимые пути, и будут подробно рассмотрены ниже.

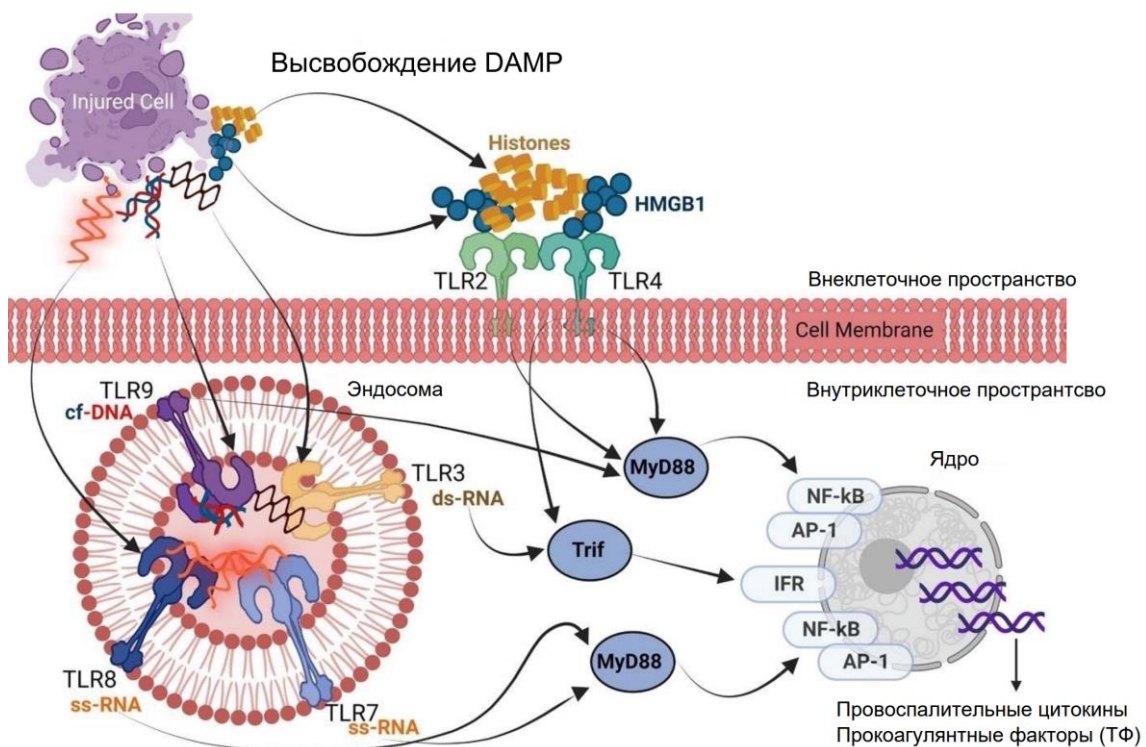


Рисунок 2. Toll-подобные рецепторы и прокоагулянтные DAMPs. Сепсис приводит к обширному повреждению клеток с высвобождением опасных молекул или DAMPs, связанных с хозяином. Сигнал идет через специфические TLR, индуцируя провоспалительные или прокоагуляторные реакции при сепсисе независимо от начальной инфекции. Гистоны и HMGB-1 сигнализируют через TLR2 / 4 на поверхности клетки, в то время как cfDNA, ssRNA и dsRNA сигнализируют через TLR9, TLR7 / 8 и TLR3, соответственно, в эндосомах. Активация этих рецепторов приводит к ядерной транслокации факторов транскрипции NF-kB и AP-1 через MyD88, за исключением передачи сигналов TLR3, которая индуцирует передачу сигналов Trif и транслокацию IRF. Эти сигнальные пути приводят к индукции провоспалительных цитокинов и экспрессии TF в иммунных клетках, способствуя прокоагулянтной передаче сигналов. AP-1 указывает на активирующий белок 1; DAMPs, молекулярные паттерны, связанные с опасностью; dsRNA, двухцепочечная РНК; HMGB-1, группа высокой подвижности box-1; IRF, регуляторный фактор интерферона; MyD88, первичный ответ миелоидной дифференцировки 88; NF-kB, ядерный фактор каппа В; ssRNA, одноцепочечная РНК; TF, тканевой фактор; TLR, toll-подобный рецептор; TRIF, содержащий TIR-домен адаптер, индуцирующий IFN- $\beta$



Гистоны представляют собой внутриядерные хромосомные вспомогательные белки, которые не обнаруживаются в плазме крови здоровых людей,<sup>44</sup> но их уровень значительно выше у пациентов с сепсисом и нарушениями свертываемости крови (диапазон 2,2–120 нг / мл).<sup>45</sup> Кроме того, гистоны индуцируют экспрессию ТФ в эндотелиоцитах человека посредством механизма, частично зависящего от передачи сигналов TLR2 / 4.<sup>46</sup> Эндотелиоциты человека, стимулированные гистонами от 10 до 100 мкг/мл, продемонстрировали дозозависимое увеличение экспрессии ТФ и запустили выработку тромбина, причем последнее ослабевало в присутствии антител к человеческому ТФ.<sup>38</sup> Чтобы проверить токсичность гистонов *in vivo*, мышам внутривенно вводили сублетальную дозу в пределах патологического диапазона, о котором сообщалось у пациентов с сепсисом, что приводило к цитотоксичности эндотелия с появлением альвеолярных агрегатов тромбоцитов и фибрина и микрососудистых тромбов, подобных септическим животным.<sup>47</sup> Введение антигистоновых антител снизило смертность у животных с сепсисом, что указывает на роль гистонов в развитии патологии SIC. Хотя эти трансляционные исследования предполагают роль гистонов в усилении ТФ и продукции тромбина, клинические исследования, демонстрирующие прямое влияние гистонов на активацию свертывания и нарушения гемостаза у пациентов с SIC, еще предстоит выяснить.

Подобно гистонам, уровень белка HMGB-1 ниже пределов обнаружения у здоровых пациентов, умеренно повышен у пациентов с сепсисом ( $4,54 \pm 8,18$  нг / мл), но в 3 раза выше ( $14,05 \pm 12,56$  нг / мл) у пациентов с нарушениями свертываемости крови.<sup>48</sup> В когорте из 201 пациента с сепсисом уровни белка HMGB-1 коррелируют с прогрессирующей коагулопатией ( $r = 0,586, P < 0,001$ ) и показателями органной недостаточности ( $r = 0,572, P < 0,001$ ).<sup>48</sup> Кроме того, клеточные исследования *in vitro* демонстрируют, что HMGB-1 достаточен для индуцирования экспрессии ТФ и PS в эндотелии и макрофагах частично зависимым от TLR2 / 4 образом,<sup>49</sup> но другие демонстрируют реакцию на ТФ только при дозах, примерно в 100 раз превышающих зарегистрированные уровни в плазме крови человека (1 мкг / мл),<sup>50</sup> таким образом, ставится под сомнение, достаточен ли только этот DAMP для стимулирования внутрисосудистого свертывания. Белок HMGB-1



действительно демонстрирует синергию с ЛПС, поскольку он может связываться и облегчать его транслокацию в моноциты периферической крови,<sup>51</sup> позволяя ЛПС индуцировать образование пор GSDMD, Ca<sup>2+</sup>-опосредованную экстернализацию PS и прокоагулянтную активность TF. Коагулопатия, вызванная ЛПС, у мышей была связана с повышением уровня HMGB-1 в плазме крови, а также отложением тромбина и тромбоцитов в микроциркуляторном русле печени, которое значительно уменьшалось в присутствии моноклональных антител к HMGB-1 или с селективной делецией HMGB-1 в гепатоцитах,<sup>50</sup> таким образом, предполагая, что селективная блокада / дефицит HMGB-1 может влиять на коагуляцию *in vivo* в контексте эндотоксемии (ЛПС). Однако, влияет ли манипуляция с HMGB-1 на коагулопатию в контексте полимикробного сепсиса, и могут ли эти исследования на животных быть перенесены в будущие клинические исследования на людях в SIC, остается предметом изучения.

В обсервационном исследовании пациентов с сепсисом, проведенном в 2006 году, уровни cfDNA, еще одного потенциального DAMP, были повышены и прогнозировали смертность в отделении интенсивной терапии (ОИТ) с чувствительностью и специфичностью 92% и 80% соответственно.<sup>52</sup> Зарегистрированные уровни cfDNA в плазме крови сильно различаются в разных исследованиях, вероятно, из-за различных подходов к количественной оценке, включая спектрофотометрию, которая не различает митохондриальную, ядерную или микробную ДНК и подвержена потенциальной переоценке эукариотической cfDNA.<sup>40</sup> Для сравнения, количественная полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени обеспечивает только относительные изменения экспрессии генов, в дальнейшем на основе стандартной кривой с использованием геномной ДНК человека можно судить об их количестве.<sup>52</sup> В плазме крови человека с сепсисом выработка тромбина, основанная на интенсивности флуоресценции после расщепления флуорогенного субстрата, коррелировала с уровнями cfDNA (<5 мкг/мл или >15 мкг/мл).<sup>53</sup> Кроме того, накопленные данные исследований *in vitro* свидетельствуют о том, что активированные нейтрофилы/ NET оказывают свое влияние на прокоагулянтную активность частично проявляется за счет высвобождения cfDNA. Стимулированные



нейтрофилы человека, или cfDNA, выделенные из септической плазмы, аналогичным образом усиливали выработку тромбина в незагрязненной плазме, но значительно в меньшей степени в присутствии дезоксирибонуклеазы (ДНКазы).<sup>53,54</sup> Это позволяет предположить, что прокоагулянтная активность была частично опосредована содержанием cfDNA. При использовании плазмы с дефицитом FXII реакция была блокирована,<sup>54</sup> что указывает на то, что отрицательно заряженная cfDNA из септической плазмы может опосредовать аутоактивацию FXII и способствовать выработке тромбина *in vitro*.

Наконец, внеклеточная микроРНК, недавно открытый DAMP, является доминирующим биотипом плазменной РНК, на долю которого приходится от 70% до 80% циркулирующей внеклеточной РНК, и дифференциально экспрессируются у пациентов с сепсисом по сравнению со здоровыми контрольными группами.<sup>55</sup> Существующие данные свидетельствуют о том, что некоторые зрелые одноцепочечные микроРНК, такие как miR-146a-5p, не только демонстрируют сильную корреляцию между количеством копий в плазме и международным нормализованным отношением (INR) и частичным тромбопластиновым временем в плазме крови. у пациентов с сепсисом,<sup>55</sup> но также способны активировать макрофаги для выработки цитокинов<sup>56,57</sup> и TF<sup>16</sup> через TLR7, сенсор для одноцепочечной РНК, включая экс-микроРНК.<sup>58,59</sup> Более того, мыши с дефицитом TLR7 частично защищены от SIC снижением уровня TF в плазме.<sup>16</sup> Плазматические экс-микроРНК переносятся различными макромолекулярными комплексами, которые, как считается, защищают их от расщепления РНКазой в кровотоке, включая внеклеточные везикулы (EVS).<sup>57</sup> В дополнение к микроРНК, EVS экспрессируют различные белки, уникальные для исходной клетки, состояния ее активации и системной патологии. Например, ЭВ в септической плазме человека эндотелиального происхождения были богаты мембраносвязанным ТФ и ассоциировались с усугублением коагулопатии, что указывает на потенциальную роль в опосредовании активации свертывания крови при SIC.<sup>60,61</sup> В подтверждение этого, EVs в плазме крови людей с сепсисом значительно сокращали время свертывания в рекальцифицированной контрольной плазме, а флуоресцентно меченые FXa и тромбин



продемонстрировали большую колокализацию с EVs септического происхождения, что указывает на наличие активной биологической поверхности для связывания факторов свертывания крови и усиления выработки тромбина.<sup>62</sup> Помимо изменений в 1 или 2 белках, данные геномики и протеомики дополнительно выявили динамические молекулярные изменения в содержании РНК и белка в септических EVs, при этом анализ выявил значительные ассоциации между сигнализацией TLR, каскадом свертывания крови, сигнализацией интегрина и тромбоцитов, а также активированными белками EVs.<sup>63</sup> Эти исследования инициируют новое изучение динамических изменений содержания ЭВ при SIC и различных механизмов (например, miRNA, белок), с помощью которых септический ЭВ cargo может опосредовать свертывание крови и активация тромбоцитов, а также стимуляция SIC.

Что касается каждого из вышеперечисленных DAMP, исследования демонстрируют, что уровни в плазме крови изменяются в зависимости от течения или тяжести заболевания, тем самым предлагая потенциал в качестве клинических биомаркеров. Однако, являются ли эти DAMP просто пассивным результатом повреждения клеток и высвобождения или при высвобождении они активно опосредуют системную коагуляцию и выработку тромбина и влияют на развитие коагулопатии в трансляционных исследованиях на людях, остается важным вопросом для понимания патогенеза сепсис-индуцированной коагулопатии.

### **Активация тромбоцитов при SIC**

Тромбоциты - это безъядерные, высокореактивные клетки, которые играют физиологическую роль в гемостазе и воспалении.<sup>64</sup> Тромбоцитопения ассоциирована с ухудшением прогноза и выживаемости при сепсисе.<sup>65-67</sup> При SIC тромбоциты прилипают к активированным моноцитам / нейтрофилам или прикрепляются к поврежденным / активированным эндотелиоцитам через экспонированные адгезивные белки (например, фактор фон Виллебранда [vWF]), что приводит к секвестрации эндотелия и микроциркуляторного русла и раннему снижению количества тромбоцитов.<sup>68</sup> В частности, vWF, мультимерный гликопротеин, хранящийся в эндотелиоцитах, опосредует адгезию тромбоцитов в местах активированного и поврежденного



эндотелия.<sup>69</sup> ADAMTS-13 (дезинтегрин и металлопротеиназа с тромбоспондина 1 - подобным доменом ) представляет собой протеазу, которая расщепляет сверхкрупные (>20 000 кДа) мультимеры vWF, уменьшая их размер и, следовательно, способность связывать vWF с тромбоцитами и активировать их.<sup>70,71</sup> У пациентов с диагнозом SIC у 49% испытуемых были значительно снижены уровни активности ADAMTS-13 (<20 %).<sup>72</sup> Из-за снижения активности ADAMTS-13 при сепсисе повреждение эндотелия приводит к попаданию в плазму большего количества сверхкрупных мультимеров vWF, способствующих усилению адгезии, активации и секвестрации тромбоцитов при SIC.<sup>73</sup> Связь между низкой активностью ADAMTS-13 и тяжестью коагулопатии у пациентов в критическом состоянии<sup>74</sup> подчеркивает влияние стойких сверхкрупных мультимеров vWF на развитие SIC.

Далее предполагается, что избыточная передача сигналов на основе TLR с помощью PAMPs/ DAMPs способствует активации тромбоцитов (рисунок 1) и тромбоцитопении при сепсисе. Однако подтипы TLR играют различную роль в активации и регуляции тромбоцитов при заболевании. В плазме, богатой тромбоцитами, агонист TLR2 Pam<sub>3</sub>CSK4 (10 мкг/мл) индуцирует агрегацию тромбоцитов, сравнимую с тромбином,<sup>75</sup> а в очищенных тромбоцитах человека гистоны индуцируют дозозависимую (5-80 мкг/мл) агрегацию тромбоцитов и 5-кратное увеличение экспрессии р-селектина, который теряется в присутствии антител, нейтрализующих TLR2.<sup>76</sup> Соответственно, у мышей с сепсисом с дефицитом TLR2 количество тромбоцитов сохранилось, а прочность тромбов улучшилась при по данным вязко-эластических тестов, что, как полагают, связано со снижением активации тромбоцитов, опосредованной TLR2, и последующим выведением.<sup>16</sup> Аналогичным образом, мыши с дефицитом TLR7 при сепсисе продемонстрировали улучшение количества тромбоцитов<sup>16</sup> и менее значительное увеличение циркулирующих активированных тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов (PLA)<sup>77</sup> по сравнению с контролем. Более того, плазма мышей с сепсисом индуцировала активацию тромбоцитов *in vitro*, и этот ответ был ослаблен в тромбоцитах мышей с дефицитом TLR7,<sup>77</sup> что указывает на циркулирующий в септической



плазме медиатор, который подает сигналы через тромбоцитарный TLR7, и дополнительно подтверждает роль передачи сигналов в формировании SIC. Влияние передачи сигналов TLR4 на активацию тромбоцитов является более сложным и зависит от того какая модель использовалась - эндотоксемии или полимикробного сепсиса. Введение ЛПС / эндотоксина индуцировало активацию тромбоцитов *in vitro*,<sup>78</sup> и усиливало агрегацию тромбоцитов,<sup>79</sup> в то время как *in vivo* значительная тромбоцитопения у мышей развилась в течение 1 часа после введения ЛПС,<sup>80</sup> и оба ответа были ослаблены блокадой / дефицитом TLR4. В модели эндотоксинемии LPS представляет собой единственный токсин, который подает сигналы через TLR4; происходит меньшая активация и потеря тромбоцитов, поскольку отсутствует TLR4 тромбоцитов, с помощью которых LPS связывается и модулирует иммунные и коагуляционные реакции. По сравнению с полимикробным сепсисом у мышей с дефицитом TLR4 наблюдалось значительное снижение количества тромбоцитов и признаки более тяжелой коагулопатии по сравнению с контрольной группой.<sup>16</sup> При полимикробном сепсисе (например, при перевязке слепой кишки и пункционной модели) происходит обширное нарушение барьера хозяина и присутствие множества микроорганизмов, и в этом контексте TLR4 важен для фагоцитоза и выведения бактерий из организма.<sup>81,82</sup> Таким образом, дефицит TLR4 становится палкой о двух концах, поскольку животные с полимикробным сепсисом погибают от подавляющей инфекции из-за неэффективных иммунных реакций.

Взятые вместе, эти данные свидетельствуют о том, что подтипы TLR по-разному влияют на тромбоцитопению в трансляционных исследованиях на животных в зависимости от используемой модели, при этом дефицит TLR2 и 7 является защитным при полимикробном сепсисе, а дефицит TLR4 является защитным при эндотоксемии.

### **Эндотелиопатия и нарушения антитромботических механизмов при SIC**

Эндотелий сосудов отвечает за целостность сосудов, гомеостаз и поддержание антитромботической среды. Антикоагулянтные свойства интактного эндотелия включают высвобождение ингибитора пути тканевого фактора (TFPI), оксида азота и простагландинов, а также интактного гликокаликса





эндотелия состоящего из протеогликанов гепарансульфата (HSP), гликозаминогликанов и тромбомодулина (ТМ).<sup>83</sup> При сепсисе компоненты патогена (например, LPS) и воспалительные цитокины (например, фактор некроза опухоли фактор альфа [TNF $\alpha$ ], интерлейкин [IL]-6) запускают активацию эндотелия сосудов.<sup>84,85</sup> Повышенная проницаемость сосудов уменьшает внутрисосудистый объем, приводя к гипоперфузии и тканевой гипоксии с высвобождением активных форм кислорода и окислительно-индуцированным повреждением эндотелиальных клеток.<sup>86</sup> Продолжающееся воспаление запускает внутриклеточные пути, опосредованные ядерным фактором-кВ (NF-kB), что дополнительно стимулирует выработку цитокинов и увековечивает системное воспаление и эндотелиопатию.<sup>87</sup> Эта септическая эндотелиопатия нарушает работу двух эндогенных белков-антикоагулянтов тромбомодулина и антитромбина III (АТIII).<sup>3</sup>

ТМ экспрессируется в эндотелии, поглощает тромбин и предотвращает его связывание с фибриногеном и тромбоцитами. ТМ является кофактором, необходимым для опосредованного тромбином расщепления протеина С до его активированной формы (APC). APC ингибирует активность FVa и FXa и обладает противовоспалительным действием.<sup>88</sup> У пациентов с ДВС-синдромом наблюдалось устойчивое повышение уровня растворимого ТМ в плазме крови, что свидетельствует о потере ТМ из эндотелия и нарушении антитромботических механизмов.<sup>89</sup> Дефект тромбомодулина еще больше усугубляется из-за увеличения циркулирующих эластаз нейтрофильных клеток при сепсисе, что приводит к дополнительной потере белка.<sup>88</sup> После введения *in vitro* специфических препаратов PAMP / DAMP, LPS и гистонов в эндотелиоцитах наблюдалась повышенная экспрессия тканевого фактора, а также выработка тромбина, но сниженная экспрессия ТМ.<sup>90</sup> Антикоагулянтные свойства эндотелия были восстановлены с помощью дополнительного введения ТМ после использования LPS, тем самым снижая выработку тромбина дозозависимым образом.<sup>90</sup>

АТIII - сериновая протеаза, вырабатываемая печенью и ингибирующая внутрисосудистый тромбин и FXa. АТIII может закрепляться в эндотелии с помощью гепаран-сульфата, усиливая его ингибирующую активность в отношении тромбина.<sup>91</sup> Во время сепсиса уровни активности АТIII



значительно снижаются до 40-60% у пациентов с выраженным ДВС-синдромом<sup>92</sup> (в норме 80-120%) вследствие увеличения выработки и потребления тромбина, а также вследствие воздействия эластазы нейтрофильных клеток.<sup>93</sup> После введения *in vitro* провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  связывание АТIII с эндотелием снизилось на 40 %.<sup>94</sup> Воспалительные цитокины и эндотоксины запускают высвобождение из эндотелия ангиопоэтина-2, антиангиогенного фактора, вызывая деградацию эндотелиальных гепарансульфатов за счет усиления ферментативного действия гепариназ.<sup>95</sup> Потеря гепарансульфатов из эндотелия сосудов частично объясняет снижение активности АТIII из-за потери его первичного сайта связывания, что приводит к нарушению регуляции прокоагулянтной активности, патогномоничной при SIC.

## **КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЕПСИС-ИНДУЦИРОВАННОЙ КОАГУЛОПАТИИ**

Термин "коагулопатия" является общим термином для обозначения системных нарушений свертывания крови, но в зависимости от баланса между прокоагулянтными, антикоагулянтными и фибринолитическими путями могут проявляться различные фенотипы. Клинически SIC проявляется как неявный ДВС-синдром при сепсисе (рисунок 3), при котором имеются признаки системного образования тромбина с образованием микрососудистых тромбов и органной дисфункцией, предположительно опосредованной циркулирующими PAMPs / DAMPs, но избыточного или явного потребления факторов свертывания, фибриногена и тромбоцитов нет. Обычно при септической коагулопатии лабораторный анализ выявляет повышенную передачу сигналов прокоагулянтов (например, TF)<sup>18</sup> и маркеры образования тромбина (например, комплексы тромбин -антитромбин [ТАТ])<sup>96</sup> при умеренном снижении антитромботических белков (например, АТIII).<sup>97</sup> Уровни фибриногена при SIC являются нормальными или повышенными (250-500 мг / дл) на момент поступления в отделение интенсивной терапии, в то время как количество тромбоцитов снижается на ранних стадиях течения заболевания.<sup>98</sup> Другой клинической особенностью SIC является нарушение фибринолиза, связанное с повышенными уровнями в



плазме ингибитора активатора плазминогена-1 (РАI-1), высвобождаемого активированными эндотелиоцитами (рисунок 3). Экспрессия РАI-1 индуцируется в присутствии цитокинов, таких как TNF $\alpha$ , а также с помощью DAMP, HMGB-1.<sup>99</sup> Повышение уровня РАI-1 в плазме крови и блокада фибринолитической системы при сепсисе были связаны с тяжестью заболевания.<sup>100</sup> В начале сепсиса уровень РАI-1 повышается (рисунок 3), может оставаться повышенным до 7 дней и коррелировать с нарушением лизиса при тромбоэластометрии.<sup>97</sup>

Если нарушение регуляции иммунно-тромботических реакций продолжается, SIC может прогрессировать до явного ДВС-синдрома с большим потреблением фибриногена, тромбоцитов и антитромботических белков и проявляется в виде тромботической, фибринолитической или смешанной коагулопатии (Рисунок 3).<sup>101</sup> При ДВС-синдроме с тромбозом наблюдается гиперактивное свертывание и потребление тромбоцитов и фибриногена с подавленным или сбалансированным фибринолизом.<sup>101</sup> При ДВС-синдроме с фибринолизом уровни тромбоцитов и фибриногена по-прежнему значительно снижены, но при этом с выраженным распадом фибрина и повышением уровня фибринолитических маркеров в плазме (например, d-димера), что приводит к чрезмерному кровотечению.<sup>102</sup> Наличие тяжелой тромбоцитопении (тромбоциты  $<50 \times 10^9 / л$ ) независимо связано с более низкой выживаемостью и более высокими уровнями цитокинов в плазме и маркеров повреждения эндотелия,<sup>65</sup> и пациенты со значительным снижением уровня фибриногена в плазме  $<200$  мг / дл также показали более высокую смертность.<sup>103</sup> В 1 ретроспективном исследовании у 30% пациентов с диагнозом септический шок наблюдалось прогрессирование до выраженного ДВС-синдрома через 3 дня после поступления и более низкое количество тромбоцитов и более высокая 28-дневную смертность по сравнению с группой без выраженного ДВС-синдрома при сепсисе.<sup>104</sup> Эти исследования подчеркивают острую необходимость выявления и предотвращения прогрессирования SIC вплоть до декомпенсации гемостаза и чрезмерной смертности, связанной с ДВС-синдромом.



|                          | Тромбоз Кровотечение |                |                   |
|--------------------------|----------------------|----------------|-------------------|
|                          | Неявный              | Явный ДВС      |                   |
| Плазменные маркеры       | ДВС (SIC)            | Тромботический | Фибринолитический |
| <b>Прокоагулянты</b>     |                      |                |                   |
| Тканевой фактор          | ↑↑                   | ↑↑↑            | ↑↑↑               |
| Фибриноген               | ↔/↑                  | ↔/↓            | ↓↓↓               |
| Тромбоциты               | ↓                    | ↓↓             | ↓↓↓               |
| TAT                      | ↑↑                   | ↑↑             | ↑↑↑               |
| <b>Антикоагулянты</b>    |                      |                |                   |
| Антитромбин III          | ↓↓                   | ↓↓↓            | ↓↓↓               |
| Тромбомодулин            | ↓↓                   | ↓↓             | ↓↓↓               |
| Протеин С                | ↓↓                   | ↓↓↓            | ↓↓↓               |
| TFPI                     | ↓↓                   | ↓↓             | ↓↓                |
| <b>Антифибринолитики</b> |                      |                |                   |
| PAI                      | ↑↑                   | ↑↑             | ↑↑                |
| <b>Фибринолитики</b>     |                      |                |                   |
| tPA                      | ↔/↑                  | ↔/↑            | ↑↑↑               |
| D-димер/ПДФ              | ↔/↑                  | ↑↑             | ↑↑↑               |

Рисунок 3. Клинико-лабораторные особенности и тенденции в SIC. Коагулопатия, вызванная сепсисом, представляет собой форму неявного ДВС-синдрома у пациентов с сепсисом, при которой внутрисосудистое свертывание крови, обусловленное экспрессией TF, опосредованной воспалением, приводит к образованию комплексов тромбин-антитромбин и потреблению тромбоцитов эндогенных антикоагулянтов (АТIII). легкой или умеренной степени. Кроме того, уровень PAI-1 значительно повышен, что приводит к раннему подавлению фибринолиза. Коагулопатия при SIC может прогрессировать до выраженного ДВС-синдрома тромботического фенотипа с гиперактивным свертыванием крови и усугублением потребления факторов свертывания и тромбоцитов. Наконец, повышенный уровень антигена tPA и маркеров фибринолиза (D-димер) характеризуют явный ДВС-синдром с преобладающим фибринолитическим фенотипом. ↔ = изменений нет, ↑ = легкие изменения, ↑↑ = умеренные изменения и ↑↑↑ = тяжелые изменения. АТIII указывает на антитромбин III; ДВС-синдром, диссеминированное внутрисосудистое свертывание; FDP продукты распада фибрина; PAI-1, ингибитор активатора плазминогена-1; SIC, коагулопатия, вызванная сепсисом; TAT, комплекс тромбин-антитромбин; TF, тканевой фактор; TFPI, ингибитор пути тканевого фактора; tPA, тканевой активатор плазминогена

Хотя мы сосредоточились на бактериальном сепсисе и коагулопатии, мы также должны упомянуть уникальные клинические особенности, связанные с респираторными вирусами. Вирусно-опосредованная коагулопатия может



быть вторичной по отношению к прямому клеточному эффекту, выработке аутоиммунных антител против тромбоцитов или увеличению количества медиаторов прокоагуляции, таких как TF и vWF.<sup>105</sup> Во время пандемии гриппа H1N1 2009 года несколько отчетов и серий случаев демонстрируют возникновение тромботических осложнений, включая тромбоз глубоких вен, эмболию легочной артерии, острые инфаркты миокарда и тромботическую микроангиопатию у инфицированных лиц.<sup>106,107</sup> Заражение коронавирусом 2 (SARS-CoV-2) с тяжелым острым респираторным синдромом (коронавирусная болезнь-2019 [COVID-19]) также связано с повышенным риском тромбоэмболических осложнений (ТЭО)<sup>108-110</sup> и смертностью.<sup>111</sup> В этой популяции уровень D-димера значительно повышен по сравнению с пациентами без феномена ТЭО и был фактором риска смертности при уровнях > 1 мкг / мл и предиктором смертности при уровнях > 2 мкг / мл.<sup>112,113</sup> Кроме того, примерно у 1,4% пациентов с диагнозом SARS-CoV-2 произошли нарушения мозгового кровообращения, причем в большинстве случаев (87%) ишемический инсульт был вторичным по отношению к эмболическим событиям.<sup>115,114</sup> Легочные экссудаты экспрессируют поверхностные рецепторы ангиотензинпревращающего фермента 2, через которые вирус COVID-19 может проникать к хозяину. Коагулопатия COVID-19 включает формирование внутриальвеолярного и внутрисосудистого отложения тромбина / фибрина и быструю репликацию вируса, приводящую к значительному апоптозу эндотелиоцитов и распространенной эндотелиопатии.<sup>116,117</sup> У пациентов с SARS-CoV-2, осложненной ТЭО, также наблюдаются повышенные уровни фибриногена и умеренное снижение уровней тромбоцитов и АТIII, что придает ему преимущественно протромботический фенотип без признаков чрезмерного потребления.<sup>117</sup> Это было дополнительно подтверждено недавним исследованием, которое выявило повышенные плазменные маркеры активации эндотелиоцитов, включая sCD40L и растворимый тромбомодулин, у критически больных пациентов с COVID-19, но при сохранении активности эндогенных антикоагулянтов<sup>118</sup>, что указывает на коагулопатию, обусловленную преимущественно эндотелиопатией, в отличие от процесса потребления, как при ДВС-синдроме.



## КЛИНИЧЕСКИЙ ДИАГНОЗ SIC

### Диагностические системы оценки

Для диагностики коагулопатии во время сепсиса существует множество систем балльной оценки. Как подробно описано в таблице 2, в большинстве случаев используется балльная система для оценки влияния изменений параметров свертывания плазмы, таких как протромбиновое время (PT), фибриноген, продукты распада фибриногена (FDP) и количество тромбоцитов. Рекомендации Японской ассоциации медицины острых состояний (JAAM) аналогичны шкале ДВС-синдрома Международного общества по тромбозу и гемостазу (ISTH), но не учитывают уровни фибриногена и включают дополнительный балл для определения наличия синдрома системного воспалительного ответа.<sup>119</sup> Оценка JAAM обладает высокой чувствительностью к ДВС-синдрому у пациентов с инфекцией, в то время как критерии ISTH-ДВС-синдрома демонстрируют большую специфичность.<sup>120</sup> Однако сепсис и связанные с ним динамические нарушения свертывания крови привели к изменениям как в баллах JAAM<sup>121</sup>, так и в баллах ISTH (mISTH), чтобы помочь в более ранней идентификации пациентов с SIC. Например, оценка mISTH исключает фибриноген из измерения, поскольку уровни фибриногена не помогают в диагностике SIC и не влияют на раннее прогнозирование исхода.<sup>119,122</sup>

Таблица 2.

#### Диагностические системы оценки, используемые при диагностике коагулопатии при сепсисе

| Система оценки                                | ISTH-DIC     | mISTH-DIC    | ISTH-SIC                  | JAAM-DIC     |
|---|--------------|--------------|---------------------------|--------------|
| Критерии                                      |              |              |                           |              |
| Оценка SOFA                                   |              |              | 1: 1 балл<br>≥ 2: 2 балла | ≥ 3: 1 балл  |
| Количество тромбоцитов (× 10 <sup>9</sup> /л) | ≤100: 1 балл | ≤100: 1 балл | <150: 1 балл              | <120: 1 балл |
|   | ≤50: 2 балла | ≤50: 2 балла | <100: 2 балла             | <80: 3 балла |
| FDP (мкг / мл)                                |              |              |                           | ≥10: 1 балл  |
|   |              |              |                           | ≥25: 3 балла |



|                                  |              |              |                |               |
|----------------------------------|--------------|--------------|----------------|---------------|
| d-димер (мкг / мл)               | ≥1: 2 балла  | ≥1: 2 балла  |                |               |
|                                  | > 2: 3 балла | ≥ 2: 3 балла |                |               |
| Фибриноген (мг / дл)             | ≤100: 1 балл |              |                |               |
| Удлинение PT (с)<br><sup>a</sup> | ≥3: 1 балл   | ≥3: 1 балл   |                |               |
|                                  | ≥6: 2 балла  | ≥6: 2 балла  |                |               |
| Соотношение PT (пациент / норма) |              |              |                | ≥ 1,2: 1 балл |
| Соотношение PT / INR             |              |              | > 1.2: 1 балл  |               |
|                                  |              |              | > 1.4: 2 балла |               |
| ДВС-синдром / SIC                | ≥5 баллов    | ≥5 баллов    | ≥4 баллов      | ≥4 баллов     |

Сокращения: ДВС-синдром, диссеминированное внутрисосудистое свертывание; FDP, продукты распада фибрина; INR, международное нормализованное соотношение; ISTH, Международное общество тромбоза и гемостаза; JAAM, Японская ассоциация неотложной медицины; mDIC, модифицированная шкала оценки диссеминированного внутрисосудистого свертывания; mISTH, модифицированная шкала Международного общества тромбоза и гемостаза; PT, протромбиновое время; SIC, коагулопатия, вызванная сепсисом; SOFA, оценка последовательной органной недостаточности.

<sup>a</sup>удлинение PT выше верхней границы нормы.

В дальнейшем Международное общество тромбоза и гемостаза внедрило (ISTH) внедрило дополнительный инструмент скрининга - шкалу SIC (таблица 2), которая демонстрирует высокую прогностическую ценность для 28-дневной смертности у пациентов с сепсис-индуцированной коагулопатией.<sup>123</sup> Поскольку ранний сепсис характеризуется высокими уровнями PAI-1 и подавлением фибринолиза нормальным фибриногеном, оценка SIC нацелена на неявный ДВС-синдром и не включает уровни фибриногена и FDP / d-димера.<sup>100</sup> В ретроспективном обзоре пациентов с сепсисом в 2017 году уровни фибриногена / FDP не различались между выжившими после SIC и не выжившими без него и, следовательно, могли не иметь значения для ранней диагностики.<sup>123</sup> Баллы mISTH и SIC независимо связаны с тяжестью заболевания и смертностью в отделении интенсивной терапии, но балл mISTH лучше предсказывает смертность в отделении интенсивной терапии по сравнению с баллом SIC (mISTH, площадь под кривой [AUC], 0,684 против SIC, 0,658 ).<sup>124</sup> Балл SIC обладает более высокой чувствительностью (74,3%) по сравнению с mISTH (49,5%), но ему не хватает специфичности<sup>124,125</sup> отчасти потому, что оценка SIC включает 3 параметра, 1



из которых - значение последовательной оценки органной недостаточности (SOFA), которое повышено с учетом текущих рекомендаций по диагностике сепсиса (Сеспис-3).

Оценка SIC была разработана для более раннего выявления пациентов с коагулопатией, у которых повышен риск ухудшения от неявного до явного ДВС-синдрома, что объясняет ее высокую чувствительность. Учитывая, что диагноз сепсис-индуцированной коагулопатии с использованием шкалы SIC предшествовал диагнозу явного ДВС-синдрома, как только эта подгруппа пациентов будет идентифицирована, за ними можно проследить с использованием шкалы явного ДВС-синдрома ISTH, которая обладает более высокой специфичностью.<sup>125</sup> Комбинация шкалы SIC и шкалы ISTH DIC может позволить раньше выявить SIC и назначить терапию до прогрессирования в явный ДВС-синдром.

### **Коагуляционные тесты при SIC**

Диагностические критерии SIC не включают оценку эндогенных антикоагулянтов, состояние системы фибринолиза и антифибринолиза, воспаления или активации эндотелия. Недавняя работа выявила новые показатели для SIC, включая маркеры воспаления (например, фактор роста эндотелия сосудов и соотношение IL-6: IL-10), инфекции (например, прокальцитонин), функции эндотелия (например, эндокан) и активации тромбоцитов (например, тромбоцитарный фактор-4), которые обладают высокой прогностической способностью в отношении смертности (AUC, 0,87).<sup>126</sup> Экспериментальная система оценки, эндотелиальных микрочастиц, количество тромбоцитов и протромбиновое время продемонстрировали отрицательную прогностическую ценность для ДВС-синдрома в 93% случаев при поступлении, что позволило провести раннюю стратификацию риска развития коагулопатии у пациентов с сепсисом.<sup>127</sup> Такие маркеры могут обеспечить более точную характеристику, но они не были широко валидированы для отличия сепсис-индуцированной коагулопатии от других форм ДВС-синдрома и не являются легкодоступными для рутинного тестирования. Таким образом, в настоящее время не существует





рекомендаций для рутинных измерений, помимо стандартных коагуляционных тестов.<sup>128</sup>

Тромбоэластография (ТЭГ) или ротационная тромбоэластометрия (ROTEM) могут быть полезны в качестве диагностического скрининга при SIC; однако большинство исследований сосредоточено на выявлении явного ДВС-синдрома.<sup>129</sup> У пациентов с явным ДВС-синдромом максимальная плотность сгустка (MCF) была снижена по данным ROTEM по сравнению с пациентами без ДВС-синдрома, и, таким образом, MCF продемонстрировала высокую чувствительность для диагностики ДВС-синдрома.<sup>130</sup> Метаанализ 2021 года оценил 11 обсервационных исследований с использованием ТЭГ или ROTEM и обнаружил, что профиль гипокоагуляции (снижение MCF) был достоверным параметром, связанным со смертностью у пациентов с сепсисом.<sup>131</sup> MCF сильно зависит от тромбоцитов и фибриногена, а снижение MCF предполагает снижение как вторичного по отношению к продолжающейся активации, так и потребления. В когорте из 295 пациентов с SIC у 30% прогрессировал ДВС-синдром в течение 3 дней после поступления, и было доказано, что исходное значение MCF при TEG <64 мм является независимым фактором риска развития ДВС-синдрома.<sup>104</sup> Однако диапазон зарегистрированных значений MCF у пациентов с ДВС-синдромом составлял 52,2- 67,6 мм (против 60,2-73,4 мм у пациентов без ДВС-синдрома,  $P < 0,001$ ),<sup>104</sup> показывая, что, несмотря на снижение, значения TEG/ ROTEM часто остаются в пределах установленных эталонных диапазонов.<sup>132</sup> Неясно, достаточно ли чувствителен TEG / ROTEM для обнаружения ранних изменений свертываемости, характерных для SIC, и это подчеркивает необходимость дополнительных клинических исследований по определению контрольных диапазонов вязко-эластических тестов для SIC в различные моменты времени, чтобы зафиксировать динамические изменения свертываемости и установить соответствующие контрольные диапазоны.

## **ВЕДЕНИЕ И ЛЕЧЕНИЕ**

### **Симптоматическое лечение и поддерживающая терапия при SIC**

В 2016 году были опубликованы рекомендации «Выживем при сепсисе», в которых подчеркивается преимущество ранней и целенаправленной терапии



антибиотиками для лечения основной инфекции, внутривенными жидкостями и вазоактивными препаратами для поддержания перфузионного давления у пациентов с диагнозом сепсис.<sup>133</sup> Конкретных рекомендаций по ведению пациентов с SIC немного. При сепсис-индуцированной коагулопатии, прогрессирующей до явного ДВС-синдрома, и геморрагическом фенотипе рекомендации включают трансфузию эритроцитов (сильная рекомендация) в случаях анемии, плазмы (слабая рекомендация) при активном кровотечении / инвазивных процедурах и тромбоцитов (слабая рекомендация) с количеством  $<50 \times 10^9 / \text{л}$ .<sup>133</sup> В нескольких клинических испытаниях оценивалось использование плазмы при SIC, но клиническое исследование, зарегистрированное в октябре 2020 г. и завершившее набор пациентов в январе 2023 г., может пролить свет на влияние плазмотерапии.<sup>134</sup> В нескольких клинических исследованиях оценивалось использование плазмы при SIC в случаях, когда она прогрессирует до явного ДВС-синдрома и развивается тромботический фенотип, но единственной рекомендацией останется профилактическая или терапевтическая антикоагуляция (например, гепарин).<sup>135</sup>

### **Восстановление антикоагуляции**

Прямые варианты лечения септической коагулопатии включают замену эндогенных антикоагулянтов (например, активированный протеин С [дротрекогин альфа], TFPI, АТШ и ТМ), но ни один из них не показал стабильного улучшения смертности при сепсисе (таблица 3), и поэтому терапевтические вмешательства, специально нацеленные на SIC для предотвращения прогрессирования коагулопатии, к сожалению, отсутствуют. В исследовании с участием 1754 пациентов с сепсисом TFPI не показал улучшения смертности и фактически вызвал повышенный риск кровотечения и, следовательно, не был одобрен для применения при сепсисе или связанных с сепсисом осложнениях.<sup>136</sup> В 2001 году в исследовании по использованию рекомбинантного человеческого протеина С (APC) Всемирная оценка протеина С при тяжелом сепсисе (PROWESS) было включено 1690 пациентов и продемонстрировано снижение относительного риска смерти на 19,4% по сравнению с плацебо и незначительное повышение риска кровотечения.<sup>137</sup> Впоследствии было проведено 2 крупных исследования APC. РКИ, включавшие 2167 взрослых и педиатрических пациентов с сепсисом, не

Таблица 3. - Клинические испытания, оценивающие эффективность таргетной антикоагулянтной терапии, направленной на полноценное применение эндогенных ингибиторов свертывания крови у пациентов с сепсисом и / или ДВС-синдромом

| Клиническое исследование  | АС vs  | 28-дневная летальность |        | Кровотечение |        | Разрешение ДВС-синдрома |        | Субгрупповой анализ   | 28-дневная летальность |        |
|---|--|------------------------|--------|--------------|--------|-------------------------|--------|---|------------------------|--------|
|   |  | АС (%)                 | Vs (%) | АС (%)       | Vs (%) | АС (%)                  | Vs (%) |   | АС (%)                 | Vs (%) |
| Warren et al <sup>143</sup> 2001<br>(KyberSept) Sepsis N = 2314       | АТIII (3000 МЕ) vs плацебо                         | 37,8                   | 43,6   | 22           | 12,8   |                         |        | Kienast et al <sup>144</sup><br>Сепсис + ДВС, без гепарина<br>2006, N=563 | 25,4                   | 40     |
| Iba et al <sup>151</sup> 2012<br>Сепсис + ДВС, N = 729                | АТIII (3000 МЕ) vs АТIII (1500 МЕ)                 | 25,3                   | 34,8   | 4,2          | 1,4    | 69,6                    | 55,4   |   |                        |        |
| Bernard et al <sup>137</sup> 2001<br>(PROWESS) Сепсис, 2001, N = 1690 | ДАА (24 пг/кг) vs плацебо                          | 24,7                   | 30,8   | 3,5          | 2      |                         |        | Dhainaut et al <sup>152</sup><br>Сепсис + явный ДВС, 2004,<br>N=454       | 30,5                   | 43     |
| Bernard et al <sup>153</sup> 2004<br>(ENHANCE) Sepsis N = 273         | ДАА (24 пг/кг) vs плацебо                          | 26,4                   | 32,9   | 5,5          | 3,7    |                         |        |   |                        |        |
| Abraham et al <sup>139</sup> 2005<br>Sepsis N = 2613                  | ДАА (24 пг/кг) vs плацебо                          | 18,5                   | 17     | 3,9          | 2,2    |                         |        |   |                        |        |
| Ranieri et al <sup>140</sup><br>(PROWESS-SHOCK) 2012 Sepsis N = 1697  | ДАА (24 пг/кг) vs плацебо                          | 26,4                   | 24,2   | 1,2          | 0,96   |                         |        |   |                        |        |
| Abraham et al <sup>136</sup> 2003<br>Sepsis N = 1754b                 | TFPI (0,025 мг/ кг)<br>vs плацебо                  | 34,2                   | 33,9   | 6,5          | 4,8    |                         |        |   |                        |        |
| Saito et al <sup>145</sup> (ART-123) 2006 Infection N =102c           | rh-soluble ТМ (0,06 мг/кг)vs гепарин (8 единиц/кг) | 28                     | 34,6   | 43,1         | 56,5   | 66,7                    | 54,9   | Aikawa et al <sup>154</sup> Сепсис +ДВС                                   | 21,4                   | 31,6   |
| Vincent et al <sup>155</sup> 2013<br>Сепсис +ДВС N = 741              | rh-soluble ТМ(0,06 мг/кг) vs плацебо               | 17,8                   | 21,6   |              |        | 28,9                    | 18,9   |   |                        |        |
| Vincent et al <sup>141</sup><br>(SCARLET) 2019 SIC N = 800            | rh-soluble ТМ(0,06 мг/кг/д) vs плацебо             | 26,8                   | 29,4   | 5,8          | 4      |                         |        |   |                        |        |

Сокращения: АС – антикоагулянт; АТIII, антитромбин III; ДАА, дротрекогин альфа; ENHANCE, Расширенная оценка рекомбинантного активированного белка С человека; PROWESS, Всемирная оценка протеина С при тяжелом сепсисе; rh рекомбинантный человеческий; SCARLET, сепсис, коагулопатия, рекомбинантный LE-тромбомодулин Асахи; SIC — коагулопатия, вызванная сепсисом; TFPI, ингибитор пути тканевого фактора; ТМ, тромбомодулин.

<sup>a</sup>Разрешение ДВС определялось как оценка ниже пороговых значений критериев ДВС, используемых в каждом исследовании.

<sup>b</sup> Показаны результаты 28-дневной смертности и частоты кровотечений для высокого МНО (>1,2) – верхний ряд и низкого МНО (<1,2) – нижний ряд.

<sup>c</sup> Исследование включало ДВС-синдром, вторичный как по отношению к злокачественным новообразованиям, так и к инфекции. Результаты смертности и разрешения ДВС-синдрома представлены только для инфекционной когорты, тогда как осложнения кровотечений являются совокупными для обеих групп.



продemonстрировали улучшения смертности при применении APC у пациентов с тяжелым сепсисом.<sup>138,139</sup> Исследование 2012 года "Всемирная оценка протеина С при тяжелом сепсисе и шоке" (PROWESS-SHOCK) также не выявило существенного снижения смертности в группе APC (26,4% против 24,2%,  $P = .31$ ),<sup>140</sup> и этот препарат был отозван с рынка.

Доказательства, подтверждающие эффективность рекомбинантного человеческого растворимого тромбомодулина (rhTM или ART-123) и добавление АТIII, также неоднозначны. В рандомизированном клиническом исследовании rhTM, проведенном в 2019 году, не продемонстрировано существенного снижения 28-дневной смертности у пациентов с диагнозом коагулопатия.<sup>141</sup> Однако примерно у 20% пациентов в этом исследовании коагулопатия больше не проявлялась на момент вмешательства. В 1998 году плацебо-контролируемое рандомизированное исследование АТIII с участием 42 пациентов с сепсисом выявило снижение 30-дневной смертности на 39%,<sup>142</sup> но более крупное ( $n = 2314$ ) многоцентровое исследование KyberSept в 2001 году не показало сколько-нибудь значительного снижения 28-дневной смертности и выявило повышенный риск кровотечений при одновременном профилактическом назначении гепарина.<sup>143</sup> Подгрупповой анализ исследования KyberSept в 2006 году (таблица 3) изучал эффекты АТIII у пациентов с сепсисом без применения гепарина и выявил улучшение смертности у пациентов с ДВС-синдромом по сравнению с плацебо, но не у пациентов без ДВС-синдрома.<sup>144</sup> Однако из-за непоследовательного повышения смертности в первичных исследованиях ни rhTM, ни АТIII в настоящее время не одобрены для использования при сепсисе или сепсис-индуцированной коагулопатии в Соединенных Штатах.

В других клинических исследованиях, оценивающих антикоагулянтную терапию SIC и / или ДВС-синдрома, авторы сообщают о доказательствах *in vivo* снижения выработки тромбина и улучшения параметров свертывания,<sup>119,136,145</sup> что указывает на потенциальную терапевтическую пользу именно для пациентов с сепсисом и коагулопатией. Метаанализ 2016 года, включающий 24 РКИ и 14 767 пациентов с сепсисом, выявил меньшую смертность при антикоагулянтной терапии у пациентов с сепсисом с ДВС-синдромом (относительный риск 0,72; 95% доверительный интервал [ДИ]



0,62–0,85;  $P < 0,01$ ), и особенно когда ДВС-синдром был подтвержден одним из основных диагностических критериев. (относительный риск 0,97; 95% ДИ 0,92–1,02;  $P = 0,25$ ).<sup>146</sup> Кроме того, исследование, проведенное в 2021 году, выявило снижение риска 28-дневной смертности на 17,8% при лечении rhTM у пациентов с сепсисом с коагулопатией, определяемой сильно низким количеством тромбоцитов и фибриногена при удлинении PT-INR и высоком уровне D-димера; эффект, не наблюдаемый у пациентов с сепсисом с изменениями от легкой до умеренной степени по результатам вышеуказанных тестов.<sup>147</sup> Хотя данные о преимуществе антикоагулянтной терапии и смертности от сепсиса неоднозначны, исследования вторичного анализа (Таблица 3) и другие систематические обзоры / мета-анализы демонстрируют улучшение показателей свертываемости крови и смертности у пациентов с определенной степенью коагулопатии. Это свидетельствует о существовании оптимального коагулопатического фенотипа у пациентов с сепсисом, которым может быть полезна введение эндогенных антикоагулянтов.

Из-за неоднозначных данных о клинической пользе антикоагулянтной терапии у пациентов с сепсисом международное руководство Survival Sepsis Campaign не рекомендует целенаправленное антитромботическое лечение.<sup>133</sup> Однако различные критерии диагностики коагулопатии и / или широкое включение всех пациентов с сепсисом, независимо от состояния свертывающей системы крови, возможно, способствовали противоречивым результатам клинических испытаний. Улучшение результатов антикоагулянтной терапии может быть продемонстрировано только у подгруппы пациентов с сепсисом, поскольку терапевтическая эффективность зависит от факторов, влияющих на конкретного пациента, а также типа и степени коагулопатии.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

SIC - это осложнение сепсиса, включающее нарушение регуляции свертывания крови, которое механистически связано с активацией иммунитета и способствует повреждению органов и высокой смертности. Хотя иммуноопосредованная генерация тромбина, активация тромбоцитов, эндотелиопатия и нарушение антитромботического механизма



являются отдельными путями, они скоординированно взаимодействуют в патогенезе SIC. Современные терапевтические подходы в лечении SIC сосредоточены на повторном введении экзогенных регуляторов этих систем, но их эффективность, по-видимому, заключается в точной и своевременной диагностике. Выяснение механизмов, лежащих в основе SIC, продолжается, но усилия по разработке таргетной терапии зашли в тупик. Новый фокус и понимание патологических механизмов, лежащих в основе коагулопатии, помогут продвинуть трансляционные подходы к быстрой диагностике и прогнозированию сепсис-индуцированной коагулопатии для выявления пациентов, которым терапия принесет наибольшую пользу.

### **Список литературы:**

1. Schmoch T, Möhnle P, Weigand MA, et al.; SepNet–Critical Care Trials Group. The prevalence of sepsis-induced coagulopathy in patients with sepsis—a secondary analysis of two German multicenter randomized controlled trials. *Ann Intensive Care*. 2023;13:3.
2. Tanaka C, Tagami T, Kudo S, et al. Validation of sepsis-induced coagulopathy score in critically ill patients with septic shock: post hoc analysis of a nationwide multicenter observational study in Japan. *Int J Hematol*. 2021;114:164–171.
3. Simmons J, Pittet J-F. The coagulopathy of acute sepsis. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2015;28:227–236.
4. Jesty J, Beltrami E. Positive feedbacks of coagulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:2463–2469.
5. Hoffman M, Monroe DM 3rd. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost*. 2001;85(6):958–965.
6. Osterud B, Flaegstad T. Increased tissue thromboplastin activity in monocytes of patients with meningococcal infection: related to an unfavourable prognosis. *Thromb Haemost*. 1983;49:5–7.
7. Morrissey J, Drake T. Procoagulant response of the endothelium and monocytes. *Pathophysiol Shock Sepsis Organ Fail*. 1993:564–574.
8. Panes O, Matus V, Sáez CG, Quiroga T, Pereira J, Mezzano D. Human platelets synthesize and express functional tissue factor. *Blood*. 2007;109:5242–5250.
9. Rosen ED, Chan JC, Idusogie E, et al. Mice lacking factor VII develop normally but suffer fatal perinatal bleeding. *Nature*. 1997;390:290–294.
10. Bugge TH, Xiao Q, Kombrinck KW, et al. Fatal embryonic bleeding events in mice lacking tissue factor, the cell-associated initiator of blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:6258–6263.
11. Foley JH, Conway EM. Cross talk pathways between coagulation and inflammation. *Circ Res*. 2016;118:1392–1408.
12. Renné T, Pozgajová M, Grüner S, et al. Defective thrombus formation in mice lacking coagulation factor XII. *J Exp Med*. 2005;202:271–281.
13. Kleinschnitz C, Stoll G, Bendszus M, et al. Targeting coagulation factor XII provides protection from pathological thrombosis in cerebral ischemia without interfering with hemostasis. *J Exp Med*. 2006;203:513–518.



14. Müller F, Mutch NJ, Schenk WA, et al. Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo. *Cell*. 2009;139:1143–1156.
15. Wu Y. Contact pathway of coagulation and inflammation. *Thromb J*. 2015;13:17–17.
16. Williams B, Neder J, Cui P, et al. Toll-like receptors 2 and 7 mediate coagulation activation and coagulopathy in murine sepsis. *J Thromb Haemost*. 2019;17:1683–1693.
17. Wang JG, Manly D, Kirchhofer D, Pawlinski R, Mackman N. Levels of microparticle tissue factor activity correlate with coagulation activation in endotoxemic mice. *J Thromb Haemost*. 2009;7:1092–1098.
18. Xue M, Sun Z, Shao M, et al. Diagnostic and prognostic utility of tissue factor for severe sepsis and sepsis-induced acute lung injury. *J Transl Med*. 2015;13:172.
19. Grover SP, Mackman N. Tissue factor: an essential mediator of hemostasis and trigger of thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2018;38:709–725.
20. Pawlinski R, Wang JG, Owens AP 3rd, et al. Hematopoietic and nonhematopoietic cell tissue factor activates the coagulation cascade in endotoxemic mice. *Blood*. 2010;116:806–814.
21. Egorina EM, Sovershaev MA, Olsen JO, Østerud B. Granulocytes do not express but acquire monocyte-derived tissue factor in whole blood: evidence for a direct transfer. *Blood*. 2008;111:1208–1216.
22. López ML, Bruges G, Crespo G, et al. Thrombin selectively induces transcription of genes in human monocytes involved in inflammation and wound healing. *Thromb Haemost*. 2014;112:992–1001.
23. Delabranche X, Helms J, Meziani F. Immunohaemostasis: a new view on haemostasis during sepsis. *Ann Intensive Care*. 2017;7:117.
24. Nickel KF, Renné T. Crosstalk of the plasma contact system with bacteria. *Thromb Res*. 2012;130(suppl 1):S78–S83.
25. Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:15880–15885.
26. McDonald B, Davis RP, Kim S-J, et al. Platelets and neutrophil extracellular traps collaborate to promote intravascular coagulation during sepsis in mice. *Blood*. 2017;129:1357–1367.
27. Martinod K, Demers M, Fuchs TA, et al. Neutrophil histone modification by peptidylarginine deiminase 4 is critical for deep vein thrombosis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110:8674–8679.
28. Khakpour S, Wilhelmsen K, Hellman J. Vascular endothelial cell toll-like receptor pathways in sepsis. *Innate Immunity*. 2015;21:827–846.
29. Chen F, Zou L, Williams B, Chao W. Targeting toll-like receptors in sepsis: from bench to clinical trials. *Antioxidants Redox Signal*. 2021;35:1324–1339.
30. Clark SR, Ma AC, Tavener SA, et al. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med*. 2007;13:463–469.
31. Pawlinski R, Pedersen B, Schabbauer G, et al. Role of tissue factor and protease-activated receptors in a mouse model of endotoxemia. *Blood*. 2004;103:1342–1347.
32. Shin HS, Xu F, Bagchi A, et al. Bacterial lipoprotein TLR2 agonists broadly modulate endothelial function and coagulation pathways in vitro and in vivo. *J Immunol*. 2011;186:1119–1130.
33. Yang X, Cheng X, Tang Y, et al. Bacterial endotoxin activates the coagulation cascade through gasdermin d-dependent phosphatidylserine exposure. *Immunity*. 2019;51:983–996.e6.
34. Evavold CL, Ruan J, Tan Y, Xia S, Wu H, Kagan JC. The pore-forming protein gasdermin D regulates interleukin-1 secretion from living macrophages. *Immunity*. 2018;48:35–44.e6.



35. Agnew A, Nulty C, Creagh EM. Regulation, activation and function of caspase-11 during health and disease. *Int J Mol Sci* . 2021;22:1506.
36. Wu C, Lu W, Zhang Y, et al. Inflammasome activation triggers blood clotting and host death through pyroptosis. *Immunity*. 2019;50:1401–1411.e4.
37. Ito T. PAMPs and DAMPs as triggers for DIC. *J Intensive Care*. 2014;2:67.
38. Kim JE, Yoo HJ, Gu JY, Kim HK. Histones induce the procoagulant phenotype of endothelial cells through tissue factor up-regulation and thrombomodulin down-regulation. *PLoS One*. 2016;11:e0156763.
39. Yu M, Wang H, Ding A, et al. HMGB1 signals through toll-like receptor (TLR) 4 and TLR2. *Shock*. 2006;26:174–179.
40. Dwivedi DJ, Toltl LJ, Swystun LL, et al.; Canadian Critical Care Translational Biology Group. Prognostic utility and characterization of cell-free DNA in patients with severe sepsis. *Crit Care*. 2012;16:R151.
41. Zou L, He J, Gu L, et al. Brain innate immune response via miRNA-TLR7 sensing in polymicrobial sepsis. *Brain Behav Immun*. 2022;100:10–24.
42. Huang H, Zhu J, Gu L, et al. TLR7 mediates acute respiratory distress syndrome in sepsis by sensing extracellular miR-146a. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2022;67:375–388.
43. Suen AO, Chen F, Wang S, et al. Extracellular RNA sensing mediates inflammation and organ injury in a murine model of polytrauma. *J Immunol*. 2023;210:1990–2000.
44. Nakahara M, Ito T, Kawahara K, et al. Recombinant thrombomodulin protects mice against histone-induced lethal thromboembolism. *PLoS One*. 2013;8:e75961.
45. Yokoyama Y, Ito T, Yasuda T, et al. Circulating histone H3 levels in septic patients are associated with coagulopathy, multiple organ failure, and death: a single-center observational study. *Thromb J*. 2019;17:1.
46. Yang X, Li L, Liu J, Lv B, Chen F. Extracellular histones induce tissue factor expression in vascular endothelial cells via TLR and activation of NF-kappaB and AP-1. *Thromb Res*. 2016;137:211–218.
47. Xu J, Zhang X, Pelayo R, et al. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med*. 2009;15:1318–1321.
48. Hatada T, Wada H, Nobori T, et al. Plasma concentrations and importance of high mobility group box protein in the prognosis of organ failure in patients with disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost*. 2005;94:975–979.
49. Lv B, Wang H, Tang Y, Fan Z, Xiao X, Chen F. High-mobility group box 1 protein induces tissue factor expression in vascular endothelial cells via activation of NF-kappaB and Egr-1. *Thromb Haemost*. 2009;102:352–359.
50. Yang X, Cheng X, Tang Y, et al. The role of type 1 interferons in coagulation induced by gram-negative bacteria. *Blood*. 2020;135:1087–1100.
51. Youn JH, Oh YJ, Kim ES, Choi JE, Shin JS. High mobility group box 1 protein binding to lipopolysaccharide facilitates transfer of lipopolysaccharide to CD14 and enhances lipopolysaccharide-mediated TNF-alpha production in human monocytes. *J Immunol*. 2008;180:5067–5074.
52. Rhodes A, Wort SJ, Thomas H, Collinson P, Bennett ED. Plasma DNA concentration as a predictor of mortality and sepsis in critically ill patients. *Crit Care*. 2006;10:R60.
53. Gould TJ, Vu TT, Swystun LL, et al. Neutrophil extracellular traps promote thrombin generation through platelet-dependent and platelet-independent mechanisms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34:1977–1984.





54. Bhagirath VC, Dwivedi DJ, Liaw PC. Comparison of the proinflammatory and procoagulant properties of nuclear, mitochondrial, and bacterial DNA. *Shock*. 2015;44:265–271.
55. Wang S, Yang Y, Suen A, et al. Role of extracellular microRNA-146a-5p in host innate immunity and bacterial sepsis. *iScience*. 2021;24:103441–103441.
56. Zou L, Feng Y, Xu G, Jian W, Chao W. Splenic RNA and microRNA mimics promote complement factor B production and alternative pathway activation via innate immune signaling. *J Immunol*. 2016;196:2788–2798.
57. Xu J, Feng Y, Jeyaram A, Jay SM, Zou L, Chao W. Circulating plasma extracellular vesicles from septic mice induce inflammation via microRNA- and TLR7-dependent mechanisms. *J Immunol*. 2018;201:3392–3400.
58. Zhang Z, Ohto U, Shibata T, et al. Structural analysis reveals that toll-like receptor 7 is a dual receptor for guanosine and single-stranded RNA. *Immunity*. 2016;45:737–748.
59. Lund JM, Alexopoulou L, Sato A, et al. Recognition of single-stranded RNA viruses by toll-like receptor 7. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:5598–5603.
60. Matsumoto H, Yamakawa K, Ogura H, Koh T, Matsumoto N, Shimazu T. Enhanced expression of cell-specific surface antigens on endothelial microparticles in sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. *Shock*. 2015;43:443–449.
61. Matsumoto H, Yamakawa K, Ogura H, Koh T, Matsumoto N, Shimazu T. Clinical significance of tissue factor and CD13 double-positive microparticles in SIRS patients with trauma and severe sepsis. *Shock*. 2017;47:409–415.
62. Zhang Y, Meng H, Ma R, et al. Circulating microparticles, blood cells, and endothelium induce procoagulant activity in sepsis through phosphatidylserine exposure. *Shock*. 2016;45:299–307.
63. Li L, Huang L, Huang C, et al. The multiomics landscape of serum exosomes during the development of sepsis. *J Adv Res*. 2022;39:203–223.
64. Ribeiro LS, Migliari Branco L, Franklin BS. Regulation of innate immune responses by platelets mini review. *Front Immunol*. 2019;10:1320.
65. Claushuis TA, van Vught LA, Scicluna BP, et al.; Molecular Diagnosis and Risk Stratification of Sepsis Consortium. Thrombocytopenia is associated with a dysregulated host response in critically ill sepsis patients. *Blood*. 2016;127:3062–3072.
66. Vanderschueren S, De Weerd A, Malbrain M, et al. Thrombocytopenia and prognosis in intensive care. *Crit Care Med*. 2000;28:1871–1876.
67. Venkata C, Kashyap R, Farmer JC, Afessa B. Thrombocytopenia in adult patients with sepsis: incidence, risk factors, and its association with clinical outcome. *J Intensive Care*. 2013;1:9.
68. Assinger A, Schrottmaier WC, Salzman M, Rayes J. Platelets in sepsis: an update on experimental models and clinical data review. *Front Immunol*. 2019;10:1687.
69. Stocksclaeder M, Schneppenheim R, Budde U. Update on von Willebrand factor multimers: focus on high-molecular-weight multimers and their role in hemostasis. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2014;25:206–216.
70. Budde U, Pieconka A, Will K, Schneppenheim R. Laboratory testing for von Willebrand disease: contribution of multimer analysis to diagnosis and classification. *Semin Thromb Hemost*. 2006;32:514–521.
71. Gralnick HR, Williams SB, Morisato DK. Effect of multimeric structure of the factor VIII/von Willebrand factor protein on binding to platelets. *Blood*. 1981;58:387–397.



72. Ono T, Mimuro J, Madoiwa S, et al. Severe secondary deficiency of von Willebrand factor–cleaving protease (ADAMTS13) in patients with sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: its correlation with development of renal failure. *Blood*. 2006;107:528–534.
73. Bockmeyer CL, Claus RA, Budde U, et al. Inflammation-associated ADAMTS13 deficiency promotes formation of ultra-large von Willebrand factor. *Haematologica*. 2008;93:137–140.
74. Hyun J, Kim HK, Kim JE, et al. Correlation between plasma activity of ADAMTS-13 and coagulopathy, and prognosis in disseminated intravascular coagulation. *Thromb Res*. 2009;124:75–79.
75. Blair P, Rex S, Vitseva O, et al. Stimulation of toll-like receptor 2 in human platelets induces a thromboinflammatory response through activation of phosphoinositide 3-kinase. *Circ Res*. 2009;104:346–354.
76. Semeraro F, Ammollo CT, Morrissey JH, et al. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4. *Blood*. 2011;118:1952–1961.
77. Williams B, Zhu J, Zou L, Chao W. Innate immune TLR7 signaling mediates platelet activation and platelet-leukocyte aggregate formation in murine bacterial sepsis. *Platelets*. 2022;33:9.
78. Brown GT, McIntyre TM. Lipopolysaccharide signaling without a nucleus: kinase cascades stimulate platelet shedding of proinflammatory IL-1 $\beta$ -rich microparticles. *J Immunol*. 2011;186:5489–5496.
79. Zhang G, Han J, Welch EJ, et al. Lipopolysaccharide stimulates platelet secretion and potentiates platelet aggregation via TLR4/MyD88 and the cGMP-dependent protein kinase pathway. *J Immunol*. 2009;182:7997–8004.
80. Aslam R, Speck ER, Kim M, et al. Platelet toll-like receptor expression modulates lipopolysaccharide-induced thrombocytopenia and tumor necrosis factor- $\alpha$  production in vivo. *Blood*. 2006;107:637–641.
81. Zhang M, Zou L, Feng Y, et al. Toll-like receptor 4 is essential to preserving cardiac function and survival in low-grade polymicrobial sepsis. *Anesthesiology*. 2014;121:1270–1280.
82. Deng M, Scott MJ, Loughran P, et al. Lipopolysaccharide clearance, bacterial clearance, and systemic inflammatory responses are regulated by cell type-specific functions of TLR4 during sepsis. *J Immunol*. 2013;190:5152–5160.
83. Iba T, Levy JH. Derangement of the endothelial glycocalyx in sepsis. *J Thrombosis Haemostasis*. 2019;17:283–294.
84. Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, et al.; ADQI XIV Workgroup. The endothelium in sepsis. *Shock*. 2016;45:259–270.
85. Bannerman DD, Sathyamoorthy M, Goldblum SE. Bacterial lipopolysaccharide disrupts endothelial monolayer integrity and survival signaling events through caspase cleavage of adherens junction proteins. *J Biol Chem*. 1998;273:35371–35380.
86. Salvemini D, Cuzzocrea S. Oxidative stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation. *Free Radic Biol Med*. 2002;33:1173–1185.
87. Zhao B, Bowden RA, Stavchansky SA, Bowman PD. Human endothelial cell response to gram-negative lipopolysaccharide assessed with cDNA microarrays. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001;281:C1587–C1595.
88. Ikezoe T. Thrombomodulin/activated protein C system in septic disseminated intravascular coagulation. *J Intensive Care*. 2015;3:1–1.



89. Lin S-M, Wang Y-M, Lin H-C, et al. Serum thrombomodulin level relates to the clinical course of disseminated intravascular coagulation, multiorgan dysfunction syndrome, and mortality in patients with sepsis\*. *Crit Care Med.* 2008;36:683–689.
90. Ito T, Kakuuchi M, Maruyama I. Endotheliopathy in septic conditions: mechanistic insight into intravascular coagulation. *Crit Care.* 2021;25:95.
91. Frebelius S, Swedenborg J. Uptake and inactivation of thrombin on the subendothelium: comparisons with endothelium. *Thromb Res.* 1987;47:223–233.
92. Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, et al. Septic shock, multiple organ failure, and disseminated intravascular coagulation compared patterns of antithrombin III, protein C, and protein S deficiencies. *Chest.* 1992;101:816–823.
  
93. Chung M-C, Jorgensen SC, Popova TG, Bailey CL, Popov SG. Neutrophil elastase and syndecan shedding contribute to antithrombin depletion in murine anthrax. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2008;54:309–318.
94. Kobayashi M, Shimada K, Ozawa T. Human recombinant interleukin-1 beta- and tumor necrosis factor alpha-mediated suppression of heparin-like compounds on cultured porcine aortic endothelial cells. *J Cell Physiol.* 1990;144:383–390.
95. Lukasz A, Hillgruber C, Oberleithner H, et al. Endothelial glycocalyx breakdown is mediated by angiopoietin-2. *Cardiovasc Res.* 2017;113:671–680.
96. Hoppensteadt D, Tsuruta K, Cunanan J, et al. Thrombin generation mediators and markers in sepsis-associated coagulopathy and their modulation by recombinant thrombomodulin. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2014;20:129–135.
97. Schmitt FCF, Manolov V, Morgenstern J, et al. Acute fibrinolysis shutdown occurs early in septic shock and is associated with increased morbidity and mortality: results of an observational pilot study. *Ann Intensive Care.* 2019;9:19.
98. Mori K, Tsujita Y, Yamane T, Eguchi Y. Decreasing plasma fibrinogen levels in the intensive care unit are associated with high mortality rates in patients with sepsis-induced coagulopathy. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2022;28:10760296221101386.
99. Fiuza C, Bustin M, Talwar S, et al. Inflammation-promoting activity of HMGB1 on human microvascular endothelial cells. *Blood.* 2003;101:2652–2660.
100. Madoiwa S, Nunomiya S, Ono T, et al. Plasminogen activator inhibitor 1 promotes a poor prognosis in sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. *Int J Hematol.* 2006;84:398–405.
101. Wada H, Matsumoto T, Yamashita Y. Diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation (DIC) according to four DIC guidelines. *J Intensive Care.* 2014;2:15.
102. Asakura H, Suga Y, Yoshida T, et al. Pathophysiology of disseminated intravascular coagulation (DIC) progresses at a different rate in tissue factor-induced and lipopolysaccharide-induced DIC models in rats. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2003;14:221–228.
103. Matsubara T, Yamakawa K, Umemura Y, et al.; Japanese Association for Acute Medicine (JAAM) Focused Outcomes Research in Emergency Care in Acute Respiratory Distress Syndrome, Sepsis and Trauma (FORECAST) Group. Significance of plasma fibrinogen level and antithrombin activity in sepsis: a multicenter cohort study using a cubic spline model. *Thromb Res.* 2019;181:17–23.
104. Kim S-M, Kim S-I, Yu G, Kim Y-J, Kim WY. Which septic shock patients with non-overt DIC progress to DIC after admission? Point-of-care thromboelastography testing. *Shock.* 2022;57.



105. Goeijenbier M, van Wissen M, van de Weg C, et al. Review: viral infections and mechanisms of thrombosis and bleeding. *J Med Virol.* 2012;84:1680–1696.
106. Bunce PE, High SM, Nadjafi M, Stanley K, Liles WC, Christian MD. Pandemic H1N1 influenza infection and vascular thrombosis. *Clin Infect Dis.* 2011;52:e14–e17.
107. Akiyama R, Komori I, Hiramoto R, Isonishi A, Matsumoto M, Fujimura Y. H1N1 influenza (swine flu)-associated thrombotic microangiopathy with a markedly high plasma ratio of von Willebrand factor to ADAMTS13. *Intern Med.* 2011;50:643–647.
108. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med.* 2020;383
109. Connors JM, Levy JH. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood.* 2020;135:2033–2040.
110. Li H, Liu L, Zhang D, et al. SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses. *Lancet.* 2020;395:1517–1520.
111. Cui S, Chen S, Li X, Liu S, Wang F. Prevalence of venous thromboembolism in patients with severe novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost.* 2020;18:1421–1424.
112. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020;395:1054–1062.
113. Zhang L, Yan X, Fan Q, et al. D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19. *J Thromb Haemost.* 2020;18:1324–1329.
114. Nannoni S, de Groot R, Bell S, Markus HS. Stroke in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Int J Stroke.* 2021;16:137–149.
115. Qureshi AI, Baskett WI, Huang W, et al. Acute ischemic stroke and COVID-19. *Stroke.* 2021;52:905–912.
116. Iba T, Levy JH, Levi M, Connors JM, Thachil J. Coagulopathy of coronavirus disease 2019. *Crit Care Med.* 2020;48:1358–1364.
117. Görlinger K, Dirkmann D, Gandhi A, Simioni P. COVID-19 associated coagulopathy and inflammatory response: what do we know already and what are the knowledge gaps? *Anesth Analg.* 2020;131:1324–1333.
118. Goshua G, Pine AB, Meizlish ML, et al. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study. *Lancet Haematol.* 2020;7:e575–e582.
119. Gando S, Iba T, Eguchi Y, et al.; Japanese Association for Acute Medicine Disseminated Intravascular Coagulation (JAAM DIC) Study Group. A multicenter, prospective validation of disseminated intravascular coagulation diagnostic criteria for critically ill patients: comparing current criteria. *Crit Care Med.* 2006;34:625–631.
  
120. Takemitsu T, Wada H, Hatada T, et al. Prospective evaluation of three different diagnostic criteria for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost.* 2011;105:40–44.
121. Gando S, Wada H, Asakura H, et al. Evaluation of new Japanese diagnostic criteria for disseminated intravascular coagulation in critically ill patients. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2005;11:71–76.
122. Bakhtiari K, Meijers JC, de Jonge E, Levi M. Prospective validation of the International Society of Thrombosis and Haemostasis scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med.* 2004;32:2416–2421.
123. Iba T, Nisio MD, Levy JH, Kitamura N, Thachil J. New criteria for sepsis-induced coagulopathy (SIC) following the revised sepsis definition: a retrospective analysis of a nationwide survey. *BMJ Open.* 2017;7:e017046.



124. Ding R, Wang Z, Lin Y, Liu B, Zhang Z, Ma X. Comparison of a new criteria for sepsis-induced coagulopathy and International Society on Thrombosis and Haemostasis disseminated intravascular coagulation score in critically ill patients with sepsis 3.0: a retrospective study. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2018;29:551–558.
125. Iba T, Arakawa M, Di Nisio M, et al. Newly proposed sepsis-induced coagulopathy precedes International Society on Thrombosis and Haemostasis overt-disseminated intravascular coagulation and predicts high mortality. *J Intensive Care Med*. 2018;35.
126. Walborn A, Rondina M, Fareed J, Hoppensteadt D. Development of an algorithm to predict mortality in patients with sepsis and coagulopathy. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2020;26:1076029620902849.
127. Delabranche X, Quenot JP, Lavigne T, et al.; on behalf to the Clinical Research in Intensive Care and Sepsis Network. Early detection of disseminated intravascular coagulation during septic shock: a multicenter prospective study. *Crit Care Med*. 2016;44:e930–e939.
128. Taylor FB Jr, Toh CH, Hoots WK, Wada H, Levi M; Scientific Subcommittee on Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost*. 2001;86:1327–1330.
129. Müller MC, Meijers JCM, Vroom MB, Juffermans NP. Utility of thromboelastography and/or thromboelastometry in adults with sepsis: a systematic review. *Crit Care*. 2014;18:R30.
130. Sivula M, Pettila V, Niemi TT, Varpula M, Kuitunen AH. Thromboelastometry in patients with severe sepsis and disseminated intravascular coagulation. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2009;20:419–426.
131. Boscolo A, Spiezia L, De Cassai A, et al. Are thromboelastometric and thromboelastographic parameters associated with mortality in septic patients? A systematic review and meta-analysis. *J Crit Care*. 2021;61:5–13.
132. Daudel F, Kessler U, Folly H, Lienert JS, Takala J, Jakob SM. Thromboelastometry for the assessment of coagulation abnormalities in early and established adult sepsis: a prospective cohort study. *Crit Care*. 2009;13:R42–R42.
133. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. *Crit Care Med*. 2017;45:486–552.
134. Helms J. Study assessing efficacy of Plasmatherapy in Septic Shock-induced Coagulopathy: Feasibility Study (PlasmaFaisa). *Clin Trial*. 2020:NCT04580563. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04580563?term=bleeding+coagulopathy&cond=Sepsis&draw=2>. Accessed March 1, 2022.
135. Di Nisio M, Baudo F, Cosmi B, et al.; Italian Society for Thrombosis and Haemostasis. Diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation: guidelines of the Italian Society for Haemostasis and Thrombosis (SISST). *Thromb Res*. 2012;129:e177–e184.
136. Abraham E, Reinhart K, Opal S, et al.; OPTIMIST Trial Study Group. Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003;290:238–247.
137. Bernard GR, Vincent J-L, Laterre P-F, et al.; Recombinant Human Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) Study Group. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med*. 2001;344:699–709.
138. Nadel S. RESOLVE-ing sepsis in children--not yet! *Crit Care*. 2007;11:138–138.
139. Abraham E, Laterre PF, Garg R, et al.; Administration of Drotrecogin Alfa (Activated) in Early Stage Severe Sepsis (ADDRESS) Study Group. Drotrecogin alfa (activated) for adults with severe sepsis and a low risk of death. *N Engl J Med*. 2005;353:1332–1341.



140. Ranieri VM, Thompson BT, Barie PS, et al.; PROWESS-SHOCK Study Group. Drotrecogin alfa (activated) in adults with septic shock. *N Engl J Med.* 2012;366:2055–2064.
141. Vincent JL, Francois B, Zabolotskikh I, et al.; SCARLET Trial Group. Effect of a recombinant human soluble thrombomodulin on mortality in patients with sepsis-associated coagulopathy: the SCARLET randomized clinical trial. *JAMA.* 2019;321:1993–2002.
142. Eisele B, Heinrichs H, Delvos U, et al. Antithrombin III in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med.* 1998;24:663–672.
143. Warren BL, Eid A, Singer P, et al.; KyberSept Trial Study Group. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2001;286:1869–1878.
144. Kienast J, Juers M, Wiedermann CJ, et al.; KyberSept investigators. Treatment effects of high-dose antithrombin without concomitant heparin in patients with severe sepsis with or without disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Haemost.* 2006;4:90–97.
145. Saito H, Maruyama I, Shimazaki S, et al. Efficacy and safety of recombinant human soluble thrombomodulin (ART-123) in disseminated intravascular coagulation: results of a phase III, randomized, double-blind clinical trial. *J Thromb Haemost.* 2007;5:31–41.
146. Umemura Y, Yamakawa K, Ogura H, Yuhara H, Fujimi S. Efficacy and safety of anticoagulant therapy in three specific populations with sepsis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Thromb Haemost.* 2016;14:518–530.
147. Kudo D, Goto T, Uchimido R, et al. Coagulation phenotypes in sepsis and effects of recombinant human thrombomodulin: an analysis of three multicentre observational studies. *Crit Care.* 2021;25:114.
148. Ito T, Kawahara K, Nakamura T, et al. High-mobility group box 1 protein promotes development of microvascular thrombosis in rats. *J Thromb Haemost.* 2007;5:109–116.
149. Collins LV, Hajizadeh S, Holme E, Jonsson IM, Tarkowski A. Endogenously oxidized mitochondrial DNA induces in vivo and in vitro inflammatory responses. *J Leukoc Biol.* 2004;75:995–1000.
150. Kannemeier C, Shibamiya A, Nakazawa F, et al. Extracellular RNA constitutes a natural procoagulant cofactor in blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:6388–6393.
151. Iba T, Saito D, Wada H, Asakura H. Efficacy and bleeding risk of antithrombin supplementation in septic disseminated intravascular coagulation: a prospective multicenter survey. *Thromb Res.* 2012;130:e129–e133.
152. Dhainaut JF, Yan SB, Joyce DE, et al. Treatment effects of drotrecogin alfa (activated) in patients with severe sepsis with or without overt disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Haemost.* 2004;2:1924–1933.
153. Bernard GR, Margolis BD, Shanies HM, et al.; Extended Evaluation of Recombinant Human Activated Protein C United States Investigators. Extended evaluation of recombinant human activated protein C United States trial (ENHANCE US): a single-arm, phase 3B, multicenter study of drotrecogin alfa (activated) in severe sepsis. *Chest.* 2004;125:2206–2216.
154. Aikawa N, Shimazaki S, Yamamoto Y, et al. Thrombomodulin alfa in the treatment of infectious patients complicated by disseminated intravascular coagulation: subanalysis from the phase 3 trial. *Shock.* 2011;35:349–354.
155. Vincent JL, Ramesh MK, Ernest D, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 2b study to evaluate the safety and efficacy of recombinant human soluble thrombomodulin, ART-123, in patients with sepsis and suspected disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med.* 2013;41:2069–2079.