

高血压亚急症患者血管功能异常及与循环内皮祖细胞功能变化的关系

彭智华¹, 古钊林², 黄振华², 詹红², 杨震^{1,2,3}

(1. 中山大学附属第一医院心内科, 广东省广州市 510080; 2. 中山大学附属第一医院急诊科, 广东省广州市 510080; 3. 卫生部辅助循环重点实验室, 广东省广州市 510080)

[关键词] 高血压亚急症; 内皮祖细胞; 内皮功能

[摘要] **目的** 探讨高血压亚急症患者循环内皮祖细胞(EPC)功能的改变以及一氧化氮(NO)、肱动脉血流介导的内皮依赖性舒张功能(FMD)与EPC功能的关系。**方法** 招募高血压亚急症患者13例, 血压正常者20例(对照组), 取外周血提取原代EPC培养后以Transwell小室和CCK-8法评估EPC的迁移、黏附和增殖能力, 通过检测FMD、血浆和EPC分泌的NO、粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、血管内皮生长因子(VEGF)、白细胞介素6(IL-6)水平评估血管内皮功能。**结果** 高血压亚急症组与对照组相比, EPC细胞功能(包括迁移、增殖和黏附能力)明显下降($P<0.05$); 血浆及EPC分泌的NO水平有明显差异($P<0.05$); 血浆及EPC分泌NO水平均与EPC迁移、黏附和增殖能力呈明显的线性关系($P<0.05$); FMD与EPC迁移、黏附和增殖能力具有明显相关性($P<0.05$)。两组血浆和EPC分泌的GM-CSF、VEGF、IL-6水平均无明显差异($P>0.05$)。**结论** 相对血压正常者, 高血压亚急症人群的EPC功能(迁移、黏附和增殖)明显下降, 且NO水平和FMD均与EPC功能正相关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The relationship between vascular dysfunction and change of functional activities of circulating endothelial progenitor cells in hypertensive urgency

PENG Zhihua¹, GU Qianlin², HUANG Zhenhua², ZHAN Hong², YANG Zhen^{1,2,3}

(1. Department of Cardiology, 2. Department of Emergency, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou, Guangdong 510080, China; 3. Key Laboratory of Assisted Circulation, Ministry of Health, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

[KEY WORDS] hypertensive urgency; endothelial progenitor cells; endothelial function

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationship between vascular dysfunction and change of functional activities of circulating endothelial progenitor cells (EPC) in hypertensive urgency. **Methods** Thirteen hypertensive urgency patients ($n=13$) and twenty normotension ($n=20$) were recruited for the research. First of all, blood samples were collected and circulating EPC were isolated and cultured. The migration, proliferation and adhesion activities of circulating EPC were detected with Transwell method and CCK-8 assay respectively. In addition, the level of granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), vascular endothelial growth factor (VEGF) and interleukin-6 (IL-6) from both plasma and EPC production were measured by ELISA. The level of nitric oxide (NO) from both plasma and EPC production were determined by nitrate reductase method. Finally, brachial artery-based flow mediated dilatation (FMD) was used to determine vascular endothelial function. **Results** Compared with the normotension group, the migration, proliferation and adhesion activities of circulating EPC, the level of NO from both plasma and EPC production were dramatically decreased in hypertensive urgency group ($P<0.05$). Furthermore, there was a strong correlation between FMD, NO

[收稿日期] 2019-09-29

[修回日期] 2019-10-17

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81670220), 广东省科技计划项目(2015A020212013), 广州市科技计划项目(201803010008), 中山大学青年教师培育项目(17ykzd18), 广州经济技术开发区国际科技合作项目(2017GH13)

[作者简介] 彭智华, 硕士研究生, 研究方向为心血管疾病、内皮祖细胞, E-mail 为 pengzhihua27@163.com。通信作者杨震, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管疾病、内皮祖细胞, E-mail 为 yangzhen10710710@163.com。

(from both plasma and EPC production) and circulating EPC activities (migration, proliferation and adhesion activities). However, there were no significant differences among the level of GM-CSF, VEGF and IL-6 from both plasma and EPC production in two groups ($P>0.05$). **Conclusion** The functional activities of circulating EPC were declined in hypertensive urgency, which is positively correlated with the level of NO and FMD.

高血压危象属于内科常见急症,它包括高血压急症和亚急症。高血压亚急症通常是指血压显著升高($>180/120$ mmHg)但不伴进行性靶器官损害,仅出现血压升高所造成的相关症状,包括剧烈头痛、心悸胸闷、牙龈或鼻出血、情绪烦躁不安等^[1]。相关报道指出,高血压亚急症虽不及高血压急症凶险,但如不及时处理,同样可造成较高的病死率(6.9%)^[2]。因此,在高血压亚急症出现阶段,临床积极控制、干预,对预防、延缓靶器官受损十分重要。

高血压亚急症常伴随血管内皮功能紊乱,是引起动脉硬化性心血管疾病的重要原因^[3]。内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPC)是一组参与血管内皮生成和修复的骨髓细胞,大量基础研究数据证实 EPC 在维持血管内皮功能及损伤修复中起着至关重要的作用,EPC 生物学异常与心血管不良事件风险之间存在直接相关性^[4-6]。我们以前的相关研究支持 EPC 功能改变在原发性高血压中起重要作用^[7-10]。然而,EPC 功能改变在高血压亚急症中是否有不同表现仍未完全明确。我们推测高血压亚急症中出现 EPC 功能紊乱,并且 EPC 功能改变与血管功能异常直接相关。

为了明确以上推测,我们拟对高血压亚急症患者及血压正常者进行观察,评估 EPC 细胞功能,检测肱动脉血流介导的内皮依赖性舒张功能(brachial artery-based flow mediated dilatation, FMD)、血浆以及 EPC 分泌的一氧化氮(nitric oxide, NO)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)、粒-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)水平^[11-12]。评估高血压亚急症患者血管功能与 EPC 功能的改变,对判断病情严重程度、指导临床用药治疗十分重要。对高血压亚急症患者给予合理迅速的联合降压治疗有助于更大程度降低严重心血管不良事件发生率。

1 资料和方法

1.1 研究对象

招募两组年龄相匹配人员:13 例高血压亚急症患者和 20 例血压正常志愿者(对照组),并按照常

规进行病史采集和相关临床资料采集。纳入标准:(1)高血压亚急症诊断参考中国急诊高血压诊疗专家共识(2017 修订版)^[1];血压显著升高(通常收缩压 >180 mmHg 和(或)舒张压 >120 mmHg),不伴心、脑、肾等靶器官损害,应立即进行口服联合抗高血压药治疗,同时监测血压情况,评估靶器官损害并确定引起血压显著升高的原因。(2)对照组的血压水平参照 JNC8 指南的标准,正常血压为收缩压 <120 mmHg 和(或)舒张压 <80 mmHg。所有参与研究的对象均对研究内容表示知情同意并签署知情同意书。排除标准:(1)排除高血压伴靶器官损害;(2)排除近期服药、饮酒、吸烟、吸毒以及孕妇、哺乳期妇女;(3)排除恶性肿瘤、感染性疾病史、中风史、糖尿病和已知的相关心血管疾病。

1.2 主要材料

EGM-2 培养液购自 Clonetics 公司;DMEM 培养液购自 Gibco 公司;胎牛血清购自 Invitrogen-Gibco 公司;人淋巴细胞分离液购自 TBD 公司;红细胞裂解液购自碧云天公司;人纤维连接蛋白购自 Hematology T Technologies 公司;CD34 抗体购自 BD 公司;KDR 购自 R&D 公司;荧光探针染料 CM-DiI 购自 Invitrogen-Molecular Probe 公司;CCK-8 试剂盒购自 Sigma 公司;ELISA 试剂盒购自 R&D 公司。

1.3 人外周血内皮祖细胞的分离、培养和鉴定

取各组外周血约 20 mL 置于肝素管中,以 PBS 稀释后再加入分离液离心,吸取血清和 Ficoll 分离液交界处的白膜层细胞,PBS 洗涤 2 次,再次离心 8 min 后获取单个核细胞。将所提取的单个核细胞以 EGM-2 培养液混悬,置于以人纤维连接蛋白预铺板的 6 孔板中,放置在 37 °C、含 5% CO₂ 的细胞温箱中孵育。每隔 3 天换培养液 1 次,培养 1 周后应用流式细胞仪对细胞进行筛选,CD34⁺和 KDR⁺的细胞为循环 EPC。

1.4 循环 EPC 迁移、黏附和增殖能力检测

将含有 VEGF165 的 DMEM 培养液加入 Transwell 小室的下室。用 0.25% 胰酶消化贴壁细胞并悬浮于 DMEM 培养液中,将 2×10^4 个 EPC 悬浮液注入上室,培养 24 h,轻轻擦去上室膜上未迁移的细胞,用 4% 多聚甲醛固定,Giemsa 溶液染色,随机连续选取 5 个镜下视野(200 \times),取平均值,计数迁移的细

胞数。

提前 48 h 在 4 孔板中制备单层的人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC), 密度为 2×10^5 个/孔, 用 $1 \mu\text{g/L}$ TNF- α 预处理 12 h。随后将培养 7 天的 EPC 换液, 以 CM-Dil 标记并放置于 37°C 温箱中孵育 10 min 后消化重悬。消化重悬后的 EPC 按 1×10^5 个/孔加入含内皮细胞单层的 4 孔板中静置 3 h, 未贴壁的 EPC 用 PBS 洗涤, 已贴壁的 EPC 用 4% 多聚甲醛固定后用 DAPI 染核, 在荧光显微镜下观察计数, 估算细胞的黏附功能。

EPC 培养 1 周后, 消化重悬并接种到提前包被的 96 孔培养板中, 再次培养 24 h 后加入 CCK-8, 每孔加入 $10 \mu\text{L}$, 温箱中避光孵育 1 h 后在酶标仪下于波长 450 nm 处测定吸光度值, 评估细胞增殖能力。

1.5 NO、VEGF、GM-CSF 和 IL-6 的测定

用硝酸还原酶法测定两组血浆和 EPC 分泌的 NO 水平; 用相应的 ELISA 检测试剂盒对 VEGF、GM-CSF 和 IL-6 进行检测。

1.6 FMD 的测定

参照以前的研究方法^[7], 嘱咐两组受试者取仰卧位休息 15 min, 用超声心动图仪探测左上臂最大肱动脉内径和最佳直线状动脉壁血液界面, 记录基础肱动脉二维图像和反应性充血后的最大肱动脉内径, 通过计算得出 FMD 值。

1.7 数据统计分析

研究数据均使用 SPSS Statistics 20 统计学软件处理分析, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异采用方差分析, FMD、NO 水平与 EPC 迁移、增殖和黏附能力之间的关系采用单因素直线相关分析法, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 临床资料和生化指标比较

与对照组相比, 高血压亚急症组收缩压和舒张压均明显升高($P < 0.05$), 其余临床相关指标均无统

计学差异($P > 0.05$; 表 1)。

表 1. 一般临床资料及生物化学指标比较

Table 1. Comparison of general clinical and biochemical indexes in two groups

资料	对照组($n=20$)	高血压亚急症组($n=13$)
年龄(岁)	63.6 ± 13.5	65.3 ± 12.3
男性[例(%)]	8(40.0)	5(38.5)
BMI(kg/m^2)	23.5 ± 2.9	23.9 ± 3.9
收缩压(mmHg)	119.5 ± 10.1	192.3 ± 6.1^a
舒张压(mmHg)	74.4 ± 5.6	101.3 ± 13.5^a
糖尿病[例(%)]	5(25.0)	3(23.1)
高脂血症[例(%)]	11(55.0)	8(61.5)
冠心病[例(%)]	13(65.0)	8(61.5)
白细胞($\times 10^9/\text{L}$)	5.42 ± 1.26	6.076 ± 1.8
中性粒细胞百分比(%)	58.3 ± 10.0	59.1 ± 7.3
尿酸($\mu\text{mol}/\text{L}$)	326.5 ± 49.3	357.7 ± 123.9
肌酐(mmol/L)	79.9 ± 14.7	74.6 ± 16.2
总胆固醇(mmol/L)	4.67 ± 1.2	4.45 ± 1.1
甘油三酯(mmol/L)	1.98 ± 1.2	2.27 ± 1.8

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.2 血浆 NO、VEGF、IL-6 和 GM-CSF 水平比较

与对照组相比, 高血压亚急症组血浆 NO 水平显著下降($P < 0.05$), 而两组间 GM-CSF、IL-6 和 VEGF 水平无明显差异($P > 0.05$; 表 2)。

2.3 循环 EPC 分泌的 NO、VEGF、IL-6 和 GM-CSF 水平比较

通过检测两组 EPC 分泌的 NO、VEGF、IL-6 和 GM-CSF 发现, 高血压亚急症组 EPC 分泌的 NO 水平比对照组明显降低($P < 0.05$), 而两组 EPC 分泌的 GM-CSF、IL-6 和 VEGF 无明显统计学差异($P > 0.05$; 表 3)。

2.4 循环 EPC 功能比较

与对照组相比, 高血压亚急症组 EPC 迁移、增殖和黏附功能明显下降($P < 0.05$; 图 1)。

表 2. 两组血浆 NO、VEGF、GM-CSF 和 IL-6 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2. Levels of NO, VEGF, GM-CSF and IL-6 in plasma of two groups($\bar{x} \pm s$)

分组	n	NO(mmol/L)	VEGF(ng/L)	GM-CSF(ng/L)	IL-6(pg/L)
对照组	20	30.20 ± 7.60	31.30 ± 7.10	0.28 ± 0.04	28.10 ± 8.20
高血压亚急症组	13	12.80 ± 4.60^a	30.60 ± 6.70	0.30 ± 0.03	27.80 ± 7.70

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

表 3. 两组循环 EPC 分泌的 NO、VEGF、GM-CSF 和 IL-6 水平比较($\bar{x}\pm s$, nmol/10⁶ cells)

Table 3. Levels of NO, VEGF, GM-CSF and IL-6 secretion by EPC in two groups($\bar{x}\pm s$, nmol/10⁶ cells)

分组	n	NO	VEGF	GM-CSF	IL-6
对照组	20	38.50±8.80	8.30±1.80	1.49±0.45	4.20±1.30
高血压亚急症组	13	17.70±6.50 ^a	8.10±1.50	1.73±0.60	4.30±1.60

a 为 P<0.05, 与对照组比较。

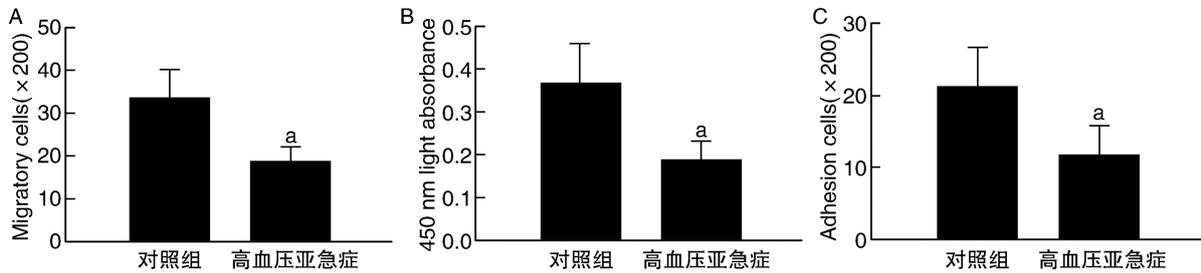


图 1. 两组循环内皮祖细胞迁移、增殖和黏附功能比较 a 为 P<0.05, 与对照组比较。

Figure 1. Comparison of migration, proliferation and adhesion activities of circulation EPC in two groups

2.5 血浆 NO 水平与 EPC 迁移、增殖和黏附能力的相关性

力均与血浆 NO 水平正相关($r=0.67, P<0.05; r=0.58, P<0.05; r=0.73, P<0.05$; 图 2)。

相关分析结果表明, EPC 迁移、增殖和黏附能

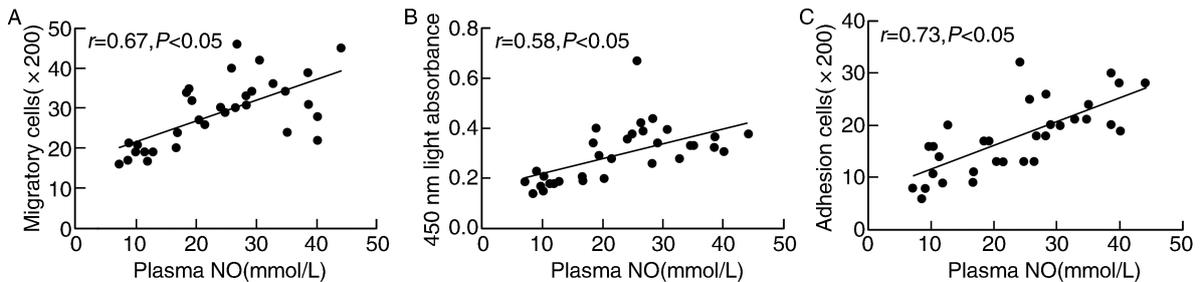


图 2. 血浆 NO 水平与循环 EPC 迁移、增殖和黏附能力的相关性

Figure 2. The correlation between plasma NO and migration, proliferation and adhesion activities of circulating EPC

2.6 循环 EPC 分泌 NO 水平与 EPC 迁移、增殖和黏附能力的相关性

力均与 EPC 分泌 NO 水平正相关($r=0.66, P<0.05; r=0.59, P<0.05; r=0.74, P<0.05$; 图 3)。

相关分析结果表明, EPC 迁移、增殖和黏附能

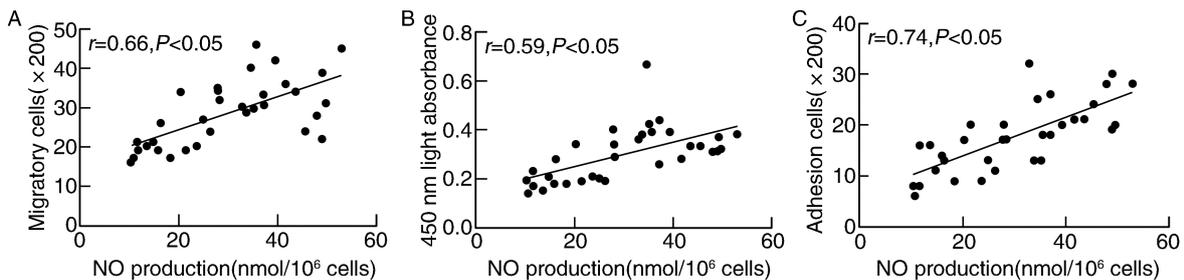


图 3. 循环 EPC 分泌 NO 水平与 EPC 迁移、增殖和黏附能力的相关性

Figure 3. The correlation between NO production and migration, proliferation and adhesion activities of circulating EPC

2.7 FMD 与 EPC 迁移、增殖和黏附能力的相关性

相关分析结果表明, EPC 迁移、增殖和黏附能

力均与 FMD 正相关($r=0.77, P<0.05$; $r=0.68, P<0.05$; $r=0.70, P<0.05$; 图 4)。

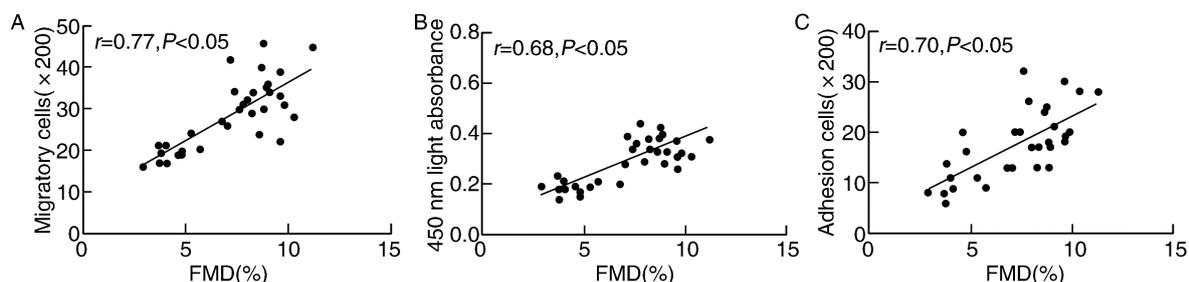


图 4. FMD 与循环 EPC 迁移、增殖和黏附能力的相关性

Figure 4. The correlation between FMD and migration, proliferation and adhesion activities of circulating EPC

3 讨论

EPC 是血管内皮细胞的前体细胞,可从骨髓、脐血、外周血及脾脏中分离获得。研究表明循环 EPC 能分化为成熟的内皮细胞,在一定的病理因素刺激下,血管内皮受到损伤, EPC 可从骨髓动员到外周血参与血管的损伤修复^[13]。通过归巢定位到受损部位,加速内皮再生,从而修复受损血管,维持血管内皮完整性和正常功能^[14]。还有研究发现 FMD 是一种非侵入式的无创血管功能检测技术,能比较准确反映血管内皮功能失调情况并且反应血管弹性异常变化。同时,高血压发生血管功能异常与 NO 介导的内皮依赖性血管舒张功能受损有关^[15]。我们前期研究也表明,内源性一氧化氮合酶是 EPC 功能调节的重要物质,与血管内皮修复能力存在直接相关性。FMD、NO 有效调控 EPC 功能^[16-17]。EPC 通过自身分泌的 NO 介导调控血管内皮修复。

高血压亚急性患者在病程早期即出现明显血管损伤所引起的一系列症状,包括恶心头痛、胸闷气促、烦躁不安等。有报道指出高血压亚急性在出现严重心、脑、肾等靶器官损伤前就存在血管损伤,与循环 EPC 功能紊乱有直接关系,循环 EPC 功能减退是其重要标志之一^[18-20]。高血压亚急性出现循环 EPC 功能减退、NO 水平降低,很有可能是导致内皮修复能力下降、血管损伤、血管功能异常的直接原因。但目前没有数据显示高血压亚急性患者循环 EPC 是否存在类似情况。因此,本研究探讨了高血压亚急性患者循环 EPC 功能的变化,以及与 FMD、NO 水平变化的关系。

本研究结果提示,高血压亚急性与血压正常者相比,循环 EPC 细胞功能(迁移、增殖、黏附)显著下

降,NO 水平明显降低,且 NO 水平和 FMD 均与循环 EPC 细胞功能正相关。提示高血压亚急性患者循环 EPC 功能障碍,导致血管内皮细胞得不到及时更新与修复,使自身分泌的 NO 水平降低,进一步促进 NO 介导的内皮依赖性血管舒张功能下降,血管功能受损。因此,循环 EPC 细胞功能下降,内皮受损修复能力减弱,血管功能异常,进而出现血管损伤与硬化,从而引起高血压亚急性靶器官受损,增加了心血管不良事件的风险。

本研究的意义在于对高血压亚急性患者因内皮功能障碍导致血管损伤,以及心、脑、肾等重要靶器官损害的评估和治疗。在高血压亚急性患者的诊治过程中,通过提高循环 EPC 生物学活性可有效修复血管内皮损伤,改善血管弹性及其内皮依赖性舒张功能,对靶器官损伤有保护作用。对高血压亚急性严重程度及心血管不良事件风险的了解,有助于为高血压亚急性患者提供更加合理迅速的联合降压治疗,把出现严重不良心血管事件的风险降至最低。

当然,本研究也具有一定局限性。如在实验设计上只分高血压亚急性组和对照组,未能全面体现不同类型高血压对 EPC 功能的影响,而我们以前的研究中已对原发性高血压对 EPC 功能变化的影响作了说明,因此我们考虑在将来的研究中进一步补充高血压非亚急性与高血压亚急性对 EPC 功能影响的比较。

简而言之,高血压亚急性出现循环 EPC 细胞功能下降、血管弹性降低、血管舒张功能异常,并且循环 EPC 细胞功能障碍是导致血管功能异常的直接原因,提示循环 EPC 细胞功能受损、血管内皮自我更新修复能力减弱是高血压亚急性患者出现血管损伤的重要机制。因此,本研究结论为高血压亚急

症患者血管损伤修复和靶器官保护提供了重要的分子生物学基础和治疗靶点。

[参考文献]

- [1] 周荣斌. 中国急诊高血压诊疗专家共识(2017 修订版)[J]. 中国急救医学, 2018, 38(1): 1-13.
- [2] 胡大一. 高血压急症——新认识与临床实践[J]. 中国危重病急救医学, 2003, 15(9): 516-518.
- [3] David G, Celine D, Jacques B, et al. Hypertensive emergencies and urgencies [J]. *Presse Med*, 2015, 44(7): 737-744.
- [4] Werner N, Kosiol S, Schiegl T, et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(10): 999-1007.
- [5] Zeng HT, Jang YP, Tang HL, et al. Abnormal phosphorylation of Tie2/Akt/eNOS signaling pathway and decreased number or function of circulating endothelial progenitor cells in prehypertensive premenopausal women with diabetes mellitus[J]. *BMC Endocr Disord*, 2016, 16(13): 2-12.
- [6] Christos V, Vasiliki K, Petros N, et al. Cardiovascular hypertensive crisis: recent evidence and review of the literature [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2016, 6(3): 51-59.
- [7] Xia WH, Yang Z, Xu SY, et al. Age-related decline in re-endothelialization capacity of human endothelial progenitor cells is restored by shear stress[J]. *Hypertension*, 2012, 59(6): 1225-1231.
- [8] 黄振华, 廖瑾莉, 罗英, 等. 绝经后期超重女性循环内皮祖细胞数量和功能的变化及与内皮功能的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(6): 605-610.
- [9] Yang Z, Wang J, Chen L, et al. Acute exercise-induced nitric oxide production contribute to upregulation of circulating endothelial progenitor cells in healthy subjects [J]. *J Hum Hypertens*, 2007, 21(6): 452-460.
- [10] Yang Z, Xiao SH, Ren Z, et al. Increased endothelial progenitor cells and nitric oxide in young prehypertensive women [J]. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, 2015, 17(4): 298-305.
- [11] Subodh V, Michael R, Todd J. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease[J]. *Circulation*, 2003, 108(17): 2054-2059.
- [12] Takayuki A, Tomono T, Haruchika M. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells [J]. *EMBO J*, 1999, 18(14): 3963-3972.
- [13] Giovanna G, Carola D, Pavani S, et al. Impaired endothelial repair capacity of early endothelial progenitor cells in prehypertension: relation to endothelial dysfunction [J]. *Hypertension*, 2010, 55(6): 1389-1397.
- [14] Sibal L, Oaies C, Heme P, et al. Circulating endothelial progenitor cells, endothelial function, carotid intima-media thickness and circulating markers of endothelial dysfunction in people with type I diabetes without macrovascular disease or microalbuminuria [J]. *Diabetologia*, 2009, 52(8): 1464-1473.
- [15] Dan D, Dai F, Rakesh K. Role of eNOS in neovascularization: NO for endothelial progenitor cells [J]. *Trends Mol Med*, 2004, 10(4): 143-145.
- [16] 蒋艳平, 王波, 曾高峰, 等. 高血压前期人群一氧化氮水平的性别差异及其与内皮祖细胞的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2016, 24(9): 934-938.
- [17] He H, Shuang Z, Dandan C, et al. GTP cyclonhydrolase I/BH4 pathway protects EPCs via suppressing oxidative stress and thrombospondin-1 in salt-sensitive hypertension [J]. *Hypertension*, 2010, 56(6): 1137-1144.
- [18] Lawrence R, Krakoff. Hypertensive urgencies: the epidemic, causes, and consequences [J]. *Am J Hypertens*, 2017, 30(5): 464-465.
- [19] Radke R, Diler G, Duck M, et al. Mechanisms underlying arterial hypertension in contemporary patients with repaired aortic coarctation: do we know enough? [J]. *Heart*, 2014, 100(21): 1657-1658.
- [20] Alfonso L, Simone C. Hypertensive emergencies: a new clinical approach [J]. *Clin Hypertens*, 2015, 21(20): 20-27.

(此文编辑 许雪梅)