

氨甲环酸对体外人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用

胡 磊

摘 要 **目的** 研究氨甲环酸(tranexamic acid, TXA)对 H_2O_2 诱导人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)损伤的保护作用及给药时机选择。**方法** 体外培养 HUVECs,加入 $100\mu\text{mol/L}$ 的 H_2O_2 作用 12h,在 H_2O_2 作用开始后 30min 和 60min 以及 H_2O_2 作用结束前 1h 和 2h 这 4 个时间点加入 TXA ($150\mu\text{mol/L}$);Hoechst 33258 染色法观察 HUVECs 形态;Western blot 法检测细胞内细胞间黏附分子(intercellular cell adhesion molecule, ICAM)的表达;酶联免疫吸附双抗体夹心法(ELISA)检测细胞上清液多配体聚糖、tPA 和 PAI-1 含量。**结果** HUVECs 经 H_2O_2 作用后,可显著诱导细胞凋亡,上调 ICAM、多配体聚糖和 tPA 的表达,同时抑制 PAI-1 的表达;TXA 在 H_2O_2 作用 60min 内给药可抑制 H_2O_2 对 HUVECs 的凋亡诱导作用,同时下调 ICAM、多配体聚糖和 tPA 的表达,并上调 PAI-1 的表达,TXA 在 60min 后给药无上述保护作用。**结论** 早期 TXA 给药对 H_2O_2 诱导 HUVECs 损伤有明显抗纤维蛋白溶解和保护作用,从而表明临床应用 TXA 需早期给药。

关键词 HUVEC TXA 内皮性损伤

中图分类号 R735.3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.11.022

Tranexamic Acid Ameliorates the Injury of Human Umbilical Vein Endothelial Cells in Vitro. Hu Lei. Department of Emergency, Lishui Central Hospital, Zhejiang 323000, China

Abstract Objective To investigate the protective effect of tranexamic acid (TXA) on human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) following H_2O_2 injury. **Methods** In vitro HUVECs were exposed to H_2O_2 to stimulate post-shock reperfusion. TXA was added during H_2O_2 incubation (30 minutes and 60 minutes) and at 1 hour and 2 hours before the termination of H_2O_2 exposure. The cellular morphology was observed using a fluorescence microscope after Hoechst 33258 staining. Endothelial cell injury was indexed by ICAM expression, syndecan release (marker for glycocalyx injury), tissue type plasminogen activator (tPA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1). **Results** Endothelial activation and injury as indexed by apoptosis and ICAM expression were increased by H_2O_2 incubation. Biomarkers of endothelial coagulation profile (tPA/PAI-1) demonstrated a profibrinolytic profile (increased tPA and tPA/PAI-1 ratio) after H_2O_2 treatment. TXA administration within 60 minutes of H_2O_2 treatment abolished the adverse effects of HUVECs induced by H_2O_2 . TXA administration after 60 minutes was not protective effect on HUVECs. **Conclusion** Antifibrinolytic and other protective effects of TXA administration on endothelial injury are time-dependent. This study supports the concept that the clinical efficacy of TXA administration requires "early administration".

Key words HUVEC; Tranexamic acid; Endothelial injury

急性创伤性凝血功能障碍(ATC)发生于25%的严重创伤患者,往往需大量输血治疗,预后不良。ATC的发生机制与血小板功能失调、纤溶蛋白原的减少和纤溶亢进相关,各种类型休克均可诱发ATC的发生^[1]。严重创伤或出血性休克可导致系统性血管内皮细胞损伤,最终导致血液凝固、细胞炎性反应和内皮细胞屏障功能失调,这种损伤称为创伤性血管内皮细胞病(endotheliopathy of trauma, EoT),其致病机制尚不明确^[2]。

TXA作为一种人工合成的抗纤溶药物,目前被广泛应用于临床创伤治疗中,当前临床随机化研究表明TXA早期给药可发挥更好止血作用,并减少并发症,尤其是在创伤后1h内,在创伤6h后使用其治疗效果往往不甚理想。既往研究表明TXA具有抗纤维蛋白溶解和抗炎作用,但是TXA应用于创伤患者中的确切作用机制仍不十分明确^[3]。近年来研究表明,在出血性休克致肠上皮细胞损伤模型中,TXA腔内给药可通过保护上皮细胞多糖-蛋白质复合物层从而发挥上皮细胞保护作用^[4]。但TXA在EoT中的作用及给药时机尚不明确,本研究通过建立体外EoT模型,并探讨TXA在不同时间点对EoT的作用。

基金项目:浙江省重大科技专项基金资助项目(2016C03021)

作者单位:323000 金华市中心医院急诊科

通讯作者:胡磊,电子信箱:18182009800@126.com

材料与方法

1. 试剂: HUVECs 购自上海细胞生物研究所; DMEM 低糖培养基购自美国 HyClone 公司; 胎牛血清购自美国 Gibco 公司; Hoechst 33258 购自美国 Sigma 公司; ICAM 和 β -actin 抗体购自美国 Epitomics 公司; 多配体聚糖、tPA 和 PAI-1 含量检测的 ELISA 试剂盒购自南京凯基科技发展有限公司。

2. 细胞培养: 将 HUVECs 接种于 DMEM 培养基中, 培养基中含有 10% 胎牛血清、100U/ μ l 的青霉素、100 μ g/ml 的链霉素、2mmol/L 谷氨酰胺和 1.5g/L 碳酸氢钠。细胞置于 37℃ 下 5% CO_2 饱和湿度的细胞培养箱内, 当细胞生长至铺满培养瓶底面积 80% ~ 90% 以上时用适量胰蛋白酶消化传代, 实验选用第 3 ~ 5 代细胞进行实验。

3. 细胞分组: 调整细胞浓度为 1×10^6 /L, 将 200 μ l 细胞悬液接种于 96 孔板中, 随机分为正常对照组、 H_2O_2 组、 H_2O_2 + TXA (30min) 组、 H_2O_2 + TXA (60min) 组、 H_2O_2 + TXA (1h) 组和 H_2O_2 + TXA (2h) 组, 后 5 组细胞均加入 100 μ mol/L 的 H_2O_2 作用 12h, 在 H_2O_2 作用开始后 30min 和 60min 以及 H_2O_2 作用结束前 1h 和 2h 这 4 个时间点加入 TXA (150 μ mol/L) 作用 1h。

4. 细胞形态学观察: 调整细胞浓度为 1×10^6 /L, 取细胞悬液液 0.5ml 于载玻片上, 加入浓度为 10 μ g/ml 的 Hoechst 33258 液 10 μ l, 在室温下避光处理 10min, 立即在日本 Olympus 公司倒置荧光显微镜下进行观察并拍照。每组重复 3 次, 每次重复计数 50 个细胞。

5. Western blot 法检测 ICAM 蛋白表达: 将细胞置于冰 PBS 液中洗涤 3 次, 添加细胞裂解液后置于冰上反应 30min, 在 12000r/min 的速度下冷冻离心 20min, 收集上清液后应用 BCA 法定量蛋白。每份样

品使用 30 μ g 蛋白质, 使用 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳后转移至硝酸纤维素膜上, 在 4℃ 温度下使用 5% 脱脂奶粉反应过夜, 硝酸纤维素膜经一抗和二抗反应后进行 ECL 显色、曝光和显影, 利用灰度分析软件半定量计算 ICAM 蛋白表达量, 以 β -actin 为内参。

6. ELISA 法检测多配体聚糖、tPA 和 PAI-1 含量: 调整细胞浓度为 1×10^6 /L, 取 1ml 细胞悬液接种于 24 孔板中, 置于细胞培养箱中孵育 24h, 待细胞铺满底面积进行细胞功能性实验, 实验结束后即刻收集细胞上清液, 在 12000r/min 的速度下常温离心 20min, 将细胞上清液收集于 EP 管中, 并冻存于 -20℃ 冰箱备用。临实验时取出 EP 管, 迅速复溶后严格按 ELISA 试剂盒说明书进行操作, 在酶标仪 450nm 处读取吸光度值, 并按照各自标准绘制标准曲线, 分别计算多配体聚糖、tPA 和 PAI-1 含量值。

7. 统计学方法: 采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析, 计量数据均以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 来表示, 使用方差分析对计量数据进行统计学分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 荧光显微镜下观察细胞凋亡: 如图 1 和表 1 所示, HUVECs 经 Hoechst 33258 荧光染色后在荧光显微镜下观察到正常对照组细胞核呈均匀的低强度荧光, 细胞经 H_2O_2 作用后可见大量细胞出现染色体边集呈新月状, 同时出现凋亡小体, 呈典型凋亡细胞改变, 细胞凋亡率明显高于对照组 ($P = 0.000$); 与 H_2O_2 组比较, H_2O_2 + TXA (30min) 组和 H_2O_2 + TXA (60min) 组凋亡细胞均明显减少 ($P < 0.01$); H_2O_2 + TXA (1h) 组和 H_2O_2 + TXA (2h) 组细胞凋亡率与 H_2O_2 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

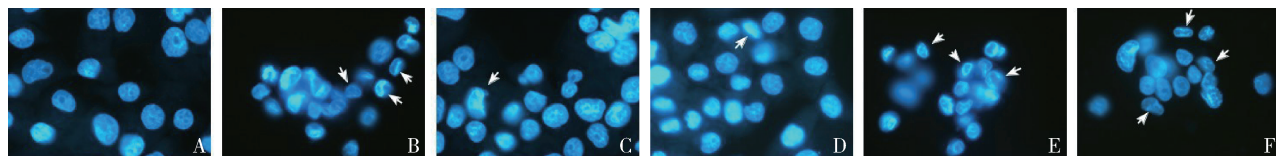


图 1 荧光显微镜下观察 HUVECs 凋亡

A. 正常对照; B. H_2O_2 ; C. H_2O_2 + TXA (30min); D. H_2O_2 + TXA (60min); E. H_2O_2 + TXA (1h); F. H_2O_2 + TXA (2h); 箭头示典型凋亡细胞

2. TXA 对 HUVECs 中的 ICAM 蛋白表达的影响: 如图 2 所示, Western blot 法检测结果表明, HUVECs 经 H_2O_2 作用后可显著上调 ICAM 蛋白的表达, 差异有统计学意义 ($P = 0.000$); 与 H_2O_2 组比较, H_2O_2 +

TXA (30min) 组和 H_2O_2 + TXA (60min) 组中 ICAM 的表达明显减少 ($P = 0.000$); 而 ICAM 蛋白在 H_2O_2 + TXA (1h) 组和 H_2O_2 + TXA (2h) 组中的表达与 H_2O_2 组比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 TXA 对 HUVECs 的凋亡保护作用

组别	凋亡率(%)
正常对照组	2.8 ± 0.4
H ₂ O ₂ 组	16.4 ± 3.2 *
H ₂ O ₂ + TXA (30min) 组	6.3 ± 1.4 #
H ₂ O ₂ + TXA (60min) 组	8.3 ± 1.6 #
H ₂ O ₂ + TXA (1h) 组	15.3 ± 3.8
H ₂ O ₂ + TXA (2h) 组	14.7 ± 3.9

与正常对照组比较, * $P = 0.000$; 与 H₂O₂ 组比较, # $P < 0.01$

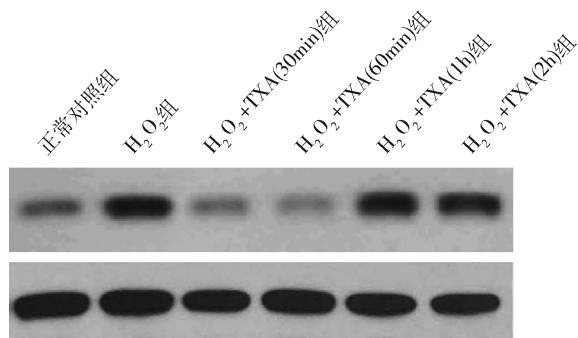


图 2 Western blot 法检测 TXA 在不同时间点给药对 HUVECs 中的 ICAM 蛋白表达的影响

以 β -actin 为内参

3. TXA 对 HUVECs 中的多配体聚糖表达的影响:如图 3 所示,ELISA 法检测多配体聚糖在细胞上清液中的表达,HUVECs 经 H₂O₂ 作用后可显著上调多配体聚糖的表达,与对照组比较,差异有统计学意义(24.7 ± 5.1 vs 78.6 ± 11.6 , $P = 0.000$);H₂O₂ + TXA (30min) 组和 H₂O₂ + TXA (60min) 组中多配体聚糖的表达分别为 27.6 ± 5.3 ng/ml 和 28.7 ± 4.5 ng/ml,与 H₂O₂ 组比较差异均有统计学意义($P = 0.000$);而

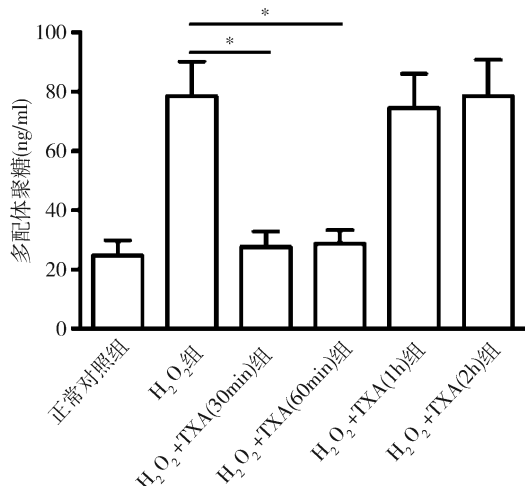


图 3 ELISA 法检测 TXA 对体外 HUVECs 中多配体聚糖的表达

* $P = 0.000$

多配体聚糖在 H₂O₂ + TXA (1h) 组和 H₂O₂ + TXA (2h) 组中的表达与 H₂O₂ 组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

4. TXA 对 HUVECs 中的 tPA 表达的影响:如图 4A 所示,ELISA 法检测 tPA 和 PAI-1 在细胞上清液中的表达,H₂O₂ 作用 HUVECs 经后可显著上调 tPA 的表达,与对照组比较差异有统计学意义(1429.4 ± 189.6 pg/ml vs 3597.1 ± 592.3 pg/ml, $P = 0.000$);H₂O₂ + TXA (30min) 组和 H₂O₂ + TXA (60min) 组中 tPA 的表达分别为 1625.3 ± 234.7 pg/ml vs 1687.9 ± 208.1 pg/ml,与 H₂O₂ 组比较,差异有统计学意义($P = 0.000$);而 tPA 在 H₂O₂ + TXA (1h) 组和 H₂O₂ + TXA (2h) 组中的表达与 H₂O₂ 组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

5. TXA 对 HUVECs 中的 PAI-1 表达的影响:如图 4B 所示,与对照组比较,H₂O₂ 作用后可明显抑制

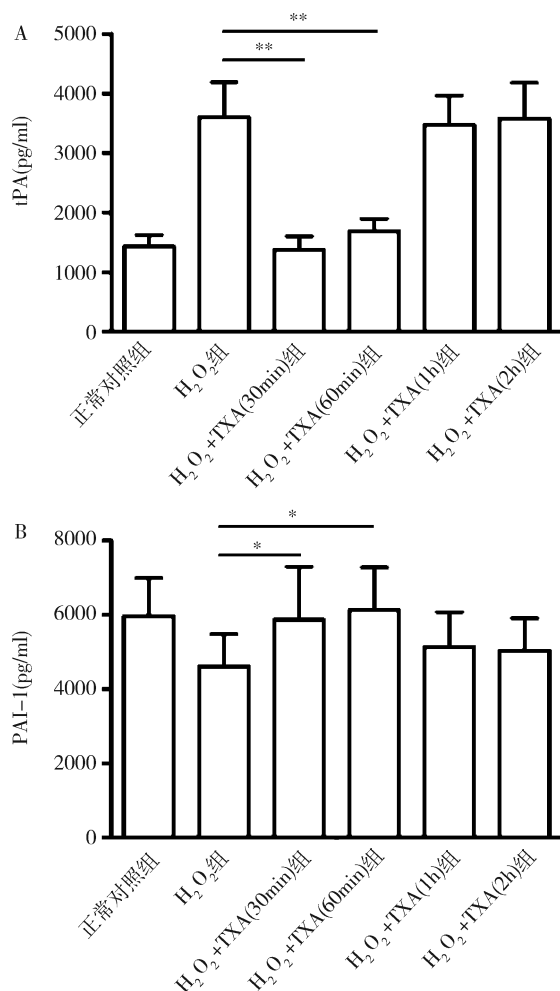


图 4 ELISA 法检测 TXA 对体外 HUVECs 中 tPA (A) 和 PAI-1 (B) 的表达

* $P < 0.05$, ** $P = 0.000$

PAI-1 在 HUVECs 中的表达,两组比较,差异有统计学意义 ($5972.4 \pm 1029.7 \text{ pg/ml}$ vs $4613.5 \pm 872.1 \text{ pg/ml}$, $P < 0.05$); H_2O_2 + TXA (30min) 组和 H_2O_2 + TXA (60min) 组中 PAI-1 的表达分别为 $5869.7 \pm 1425.2 \text{ pg/ml}$ 和 $6127.5 \pm 1147.6 \text{ pg/ml}$, 与 H_2O_2 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而 PAI-1 在 H_2O_2 + TXA (1h) 组和 H_2O_2 + TXA (2h) 组中的表达与 H_2O_2 组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

讨 论

血管内皮细胞作为血液和组织间的屏障组织,在调节血液信号转导、炎症反应和血液凝固等生理活动中发挥了重要调节作用。既往研究表明诸如脓毒血症和出血性休克等急危重症可对血管内皮细胞产生抑制作用。EoT 作为一种由严重创伤或出血性休克导致的系统性血管内皮细胞损伤,其发病机制可能与交感神经兴奋、缺血再灌注以及细胞炎症因子的激活有关。目前 EoT 被认为在急性创伤性凝血功能障碍的病理过程中发挥了重要作用;而内皮细胞活化因子在急危重症患者中的表达与患者预后呈负相关^[1,2]。

H_2O_2 作为一种强氧化剂,在调控细胞氧化信号通路中发挥了重要作用,同时 H_2O_2 可导致内皮细胞多层次损伤,有研究表明一定浓度 H_2O_2 作用于体外内皮细胞可诱发 EoT^[5]。本研究所使用的 H_2O_2 浓度为 $100 \mu\text{mol/L}$,并将 H_2O_2 作用于体外培养 HUVECs,首先观察到 H_2O_2 作用后可诱导大量内皮细胞凋亡,从而在细胞凋亡层面观察到 H_2O_2 对内皮细胞的损伤。ICAM 作为存在于内皮细胞中黏附分子免疫球蛋白超家族,在炎症因子刺激下表达上调,从而在介导细胞炎症反应中发挥了重要作用,研究表明 ICAM 与内皮细胞激活和屏障功能密切相关^[6,7]。本研究也观察到 H_2O_2 作用后导致 ICAM 表达明显上调,从而表明 H_2O_2 可引起显著的内皮细胞激活和损伤。

tPA 和 PAI-1 作为主要由内皮细胞合成和分泌的调节因子,在调节机体纤溶系统与凝血系统间平衡发挥了重要调节作用;tPA 可特异性结合血栓中的纤维蛋白,同时将血液中纤溶酶原激活成纤溶酶,并对血小板的聚集起抑制作用。PAI-1 作为 tPA 的快速抑制物,可 1:1 结合 tPA 形成复合物,从而发挥对 tPA 的抑制作用;有临床研究表明,tPA 和 PAI-1 水平与心肌梗死面积、动脉粥样硬化斑块直径和心肌梗死预后具有一定相关性^[8,9]。在本研究中观察到 H_2O_2 作用后可导致内皮细胞中 tPA 表达上调,并抑制 PAI-1 的表达。至此,本研究通过将 H_2O_2 作用于体外内

皮细胞,从而成功建立体外 EoT 模型,与既往文献报道相吻合^[9]。

TXA 作为一种广泛应用于临床的凝血药,研究发现在出血性创伤发生后的 3h 内使用 TXA 可有效减少出血引起的病死率;同时一项研究表明在急性创伤发生后 1h 内使用 TXA 可显著降低患者病死率^[3,4]。上述研究使得 TXA 在急性创伤患者中的广泛使用,尤其是在院前急救过程中,其作用机制与其抗纤维蛋白溶解作用相关,但这并不能解释 TXA 在创伤患者治疗中的所有治疗效果。在进一步研究 TXA 的作用机制中发现,TXA 可缓解手术创伤患者的炎症反应;同时在严重创伤患者中单独使用 TXA 可有效降低多器官衰竭和病死率,从而表明出血性创伤患者从 TXA 中获益并非只是其止血作用。近来一项针对啮齿动物休克模型的研究表明,TXA 腔内注射可保护动物肠黏膜屏障的自身消化作用;同时腔内注射 TXA 还可抑制缺血/再灌注损伤引起的肠壁通透性增加,并对实验动物肺功能发挥保护作用,其作用机制与 TXA 抑制解聚素、金属蛋白酶和肿瘤坏死因子的表达相关^[10-13]。本研究将 TXA 在不同时间点作用于体外 EoT 模型中发现,早期 TXA 给药可抑制 H_2O_2 对内皮细胞的凋亡诱导作用,同时有明显抗纤维蛋白溶解作用,而晚期给药则对内皮细胞损伤无明显保护作用,从而为 TXA 在急性出血性创伤患者中的作用提供了有益的实验室参考,即临床应用 TXA 需早期给药,而 EoT 也有望成为创伤性休克患者有效作用靶点。

既往研究表明细胞多糖-复合物可作为创伤性休克引起内皮细胞屏障损伤的早期标志。研究表明内皮细胞中黏结合蛋白多糖-1 的流失与内皮细胞多糖-蛋白质复合物的降解关系密切;同时内皮细胞性多糖-蛋白质复合体在严重创伤患者中往往表达下调,并与血管通透性和急性创伤性凝血功能障碍密切相关^[14-16]。因此,改善或者逆转严重创伤患者 EoT 过程有望降低病死率,并改善预后。Kozar 等^[17]报道,将新鲜冷冻血浆输注至出血性休克患者体内可减少多配体聚糖-1 的降解,从而缓解患者炎症反应及病情进展^[18]。Pati 等^[19]称凝血酶原复合物因子 IV 也具有新鲜冰冻血浆类似的功效^[20]。本研究发现 H_2O_2 可显著上调多糖-蛋白质复合物在体外内皮细胞中表达,而早期应用 TXA 可有效下调多糖-蛋白质复合物的表达,从而表明 TXA 可能通过调控内皮细胞中黏结合蛋白多糖-1 的表达从而抑制内皮细

胞屏障破坏作用,进而改善创伤性休克患者病情进展及预后,但具体作用机制仍需进一步研究。

综上所述,本研究使用 HUVECs 研究内皮细胞屏障功能具有一定的局限性,最大的不足在于体外静止的内皮细胞缺乏体内内皮细胞动态的变化,尤其是缺乏细胞多糖-复合物。随着在流动培养基中培养细胞这种新型细胞培养技术的应用,这种技术可更好地模拟体内内皮细胞培养环境,可进一步揭示 TXA 对内皮细胞发挥保护作用的具体作用机制,从而为临床出血性创伤患者的治疗提供有益的实验参考。

参考文献

- 1 Naumann DN, Hazeldine J, Dinsdale RJ, *et al.* Endotheliopathy is associated with higher levels of cell-free DNA following major trauma: a prospective observational study [J]. *PLoS One*, 2017, 12(12):e0189870
- 2 Gonzalez Rodriguez E, Ostrowski SR, Cardenas JC, *et al.* Syndecan-1: a quantitative marker for the endotheliopathy of trauma [J]. *J Am Coll Surg*, 2017, 225(3):419-427
- 3 Flaherty K, Bath PM, Dineen R, *et al.* Statistical analysis plan for the 'tranexamic acid for hyperacute primary intra cerebral haemorrhage' (TICH-2) trial [J]. *Trials*, 2017, 18(1):607
- 4 Boettner F, Rueckl K. Benefits of tranexamic acid not debatable but leave tourniquet use to surgeon's discretion: commentary on an article by ZeYu Huang, MD, PhD, *et al.*: "intravenous and topical tranexamic acid alone are superior to tourniquet use for primary total knee arthroplasty. a prospective, randomized controlled trial" [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2017, 99(24):e135
- 5 Yan J, Wang J, Huang H, *et al.* Fibroblast growth factor 21 delayed endothelial replicative senescence and protected cells from H2O2-induced premature senescence through SIRT1 [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(10):4492-4501
- 6 Liou CJ, Huang WC. Casticin inhibits interleukin-1 β -induced ICAM-1 and MUC5AC expression by blocking NF- κ B, PI3K-Akt, and MAPK signaling in human lung epithelial cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(60):101175-101188
- 7 Galore-Haske G, Baruch EN, Berg AL, *et al.* Histopathological expression analysis of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) along development and progression of human melanoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59):99580-99586
- 8 Winter MP, Kleber ME, Koller L, *et al.* Prognostic significance of tPA/PAI-1 complex in patients with heart failure and preserved ejection fraction [J]. *Thromb Haemost*, 2017, 117(3):471-478
- 9 Aloni PD, Nayak AR, Chaurasia SR, *et al.* Effect of Fagonia arabica

on thrombin induced release of t-PA and complex of PAI-1 tPA in cultured HUVE cells [J]. *J Tradit Complement Med*, 2015, 6(3):219-223

- 10 Huang Z, Xie X, Li L, *et al.* Intravenous and topical tranexamic acid Alone are superior to tourniquet use for primary total knee arthroplasty: a prospective, randomized controlled trial [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2017, 99(24):2053-2061
- 11 Altaf M, Stoeckli-Evans H. A copper(II) paddle-wheel structure of tranexamic acid: di-chloro-tetra-kis-[μ -4-(ammonio-meth-yl)cyclo-hexane-1-carboxyl-ato-O,O']dicopper(II) dichloride hexa-hydrate [J]. *Acta Crystallogr E Crystallogr Commun*, 2017, 73(Pt 10):1421-1425
- 12 Kurnik NM, Pflibsen LR, Do A, *et al.* Craniosynostosis surgery and the impact of tranexamic acid dosing [J]. *J Craniofac Surg*, 2018, 29(1):96-98
- 13 Butwick AJ, Deneux-Tharaux C, Sentilhes L. Tranexamic acid for the management of obstetric hemorrhage [J]. *Obstet Gynecol*, 2017, 130(6):1386
- 14 Diebel LN, Martin JV, Liberati DM. Early tranexamic acid administration ameliorates the endotheliopathy of trauma and shock in an in vitro model [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2017, 82(6):1080-1086
- 15 Targosz-Korecka M, Jaglarz M, Malek-Zietek KE, *et al.* AFM-based detection of glycocalyx degradation and endothelial stiffening in the db/db mouse model of diabetes [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):15951
- 16 Mitra R, O'Neil GL, Harding IC, *et al.* Glycocalyx in atherosclerosis-relevant endothelium function and as a therapeutic target [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2017, 19(12):63
- 17 Kozar RA, Pati S. Syndecan-1 restitution by plasma after hemorrhagic shock [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2015, 78(Suppl 1):S83-S86
- 18 Glasner DR, Ratnasiri K, Puerta-Guardo H, *et al.* Dengue virus NS1 cytokine-independent vascular leak is dependent on endothelial glycocalyx components [J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13(11):e1006673
- 19 Pati S, Potter DR, Baimukanova G, *et al.* Modulating the endotheliopathy of trauma: factor concentrate versus fresh frozen plasma [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2016, 80(4):576-584
- 20 Bellando-Randone S, Matucci-Cerinic M. The measurement of the endothelial glycocalyx as a new biomarker of endothelial derangement in systemic sclerosis: a challenge for the future [J]. *J Rheumatol*, 2017, 44(11):1572-1574

(收稿日期:2018-01-01)

(修回日期:2018-01-02)

欢迎订阅

欢迎赐稿