

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.10.006

文章编号: 1005-8982(2016)10-0025-06

论著

心肾综合征中硫酸吲哚酚对巨噬细胞吞噬氧型低密度脂蛋白的诱导作用的研究*

国春玲¹, 施海涛¹, 戚拥军², 何平³, 张志任⁴

(齐齐哈尔医学院附属第五医院大庆龙南医院 1.肾内科;2.儿科;3.呼吸科,黑龙江 大庆 163453;
4.哈尔滨医科大学,黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要:目的 探讨硫酸吲哚酚(IS)对 RAW264.7 巨噬细胞吞噬氧型低密度脂蛋白(ox-LDL)的诱导作用及其作用机制。**方法** 0、10、50、100、200 和 400 $\mu\text{mol/L}$ IS 处理 RAW264.7 细胞 24 h, 采用 CCK-8 法测定 RAW264.7 细胞存活率,流式细胞术测定 RAW264.7 细胞的 Dil 标记氧化型低密度脂蛋白(Dil-ox-LDL)吞噬量。200 $\mu\text{mol/L}$ IS 处理 RAW264.7 细胞 0、12、24、36 和 48 h, 测定 RAW264.7 细胞存活率和 Dil-ox-LDL 吞噬量。IS 组 RAW264.7 细胞用 200 $\mu\text{mol/L}$ IS 处理 24 h, UO126+IS 组 RAW264.7 细胞以 5 $\mu\text{mol/L}$ UO126 预处理 2 h 后再 200 $\mu\text{mol/L}$ IS 处理 24 h, 测定非处理组、IS 组和 UO126+IS 组 RAW264.7 细胞存活率和 Dil-ox-LDL 吞噬量,并采用蛋白质印迹法(Western blot)检测在 IS 刺激 15 min 时的 ERK1/2 蛋白表达情况。**结果** IS 对 RAW264.7 细胞存活率的浓度效应和时间效应检测中,不同组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。Dil-ox-LDL 吞噬量与 IS 浓度及处理时间均呈正相关($P<0.01$)。IS 组的 Dil-ox-LDL 吞噬量和磷酸化 ERK1/2 蛋白表达量均明显高于非处理组($P<0.01$)。UO126+IS 组的 Dil-ox-LDL 吞噬量略低于非处理组,但差异无统计学意义($P>0.05$);磷酸化 ERK1/2 蛋白表达量大幅低于非处理组,差异有统计学意义($P<0.01$)。UO126+IS 组同 IS 组比较,Dil-ox-LDL 吞噬量和磷酸化 ERK1/2 蛋白表达量均呈现大幅降低($P<0.01$)。**结论** IS 可在体外直接诱导 RAW264.7 巨噬细胞吞噬 ox-LDL, 该效应经由活跃 MAPK 信号转导通路实现,且随 IS 浓度升高和浸润时间延长而增强。

关键词: 硫酸吲哚酚;心肾综合征;慢性肾病;动脉粥样硬化;ox-LDL;RAW264.7 巨噬细胞

中图分类号: R692

文献标识码: A

Induction effect of indoxyl sulfate on uptake of ox-LDL by macrophages*

Chun-ling Guo¹, Hai-tao Shi¹, Yong-jun Qi², Ping He³, Zhi-ren Zhang⁴

(1. Department of Nephrology; 2. Department of Pediatrics; 3. Department of Respiratory Diseases, Daqing Longnan Hospital of the Fifth Hospital Affiliated to Qiqihar Medical School, Daqing, Heilongjiang 163453, China; 4. Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150081, China)

Abstract: Objective To investigate the induction effect and mechanism of indoxyl sulfate (IS) on uptake of ox-LDL by RAW264.7 macrophages. **Methods** RAW264.7 cells were treated with 0, 10, 50, 100, 200 and 400 $\mu\text{mol/L}$ IS for 24 h. CCK-8 assay was employed to obtain the cell survival ratio of RAW264.7 cells, and flow cytometry was employed to detect uptake of ox-LDL by RAW264.7 cells. After RAW264.7 cells were treated with 200 $\mu\text{mol/L}$ IS for 0, 12, 24, 36 and 48 h, and the cell survival ratio and uptake of ox-LDL were obtained. RAW264.7 cells of the IS group were treated with 200 $\mu\text{mol/L}$ IS for 24 h, while the cells of the UO126+IS group were treated with 5 $\mu\text{mol/L}$

收稿日期:2015-11-19

* 基金项目:2012 年度高等学校博士学科点专项科研基金(No.20122307110008)

UO126 for 2 h in advance and 200 $\mu\text{mol/L}$ IS for 24 h. Then the survival ratio of RAW264.7 cells and uptake of ox-LDL were determined in the non-treated group, IS group and UO126+IS group. And Western blot was used to detect the expression of ERK1/2 protein in the three groups. **Results** In the detection of dose-dependent effects and time-dependent effects of IS on RAW264.7 cell survival ratio, there was no significant difference between the groups ($P > 0.05$). Uptake of Dil-ox-LDL positively correlated with the concentration of IS and the action time ($P < 0.01$). Uptake of Dil-ox-LDL and the expression of p-ERK1/2 of the IS group were greatly higher than those of the non-treatment group ($P < 0.01$). Uptake of Dil-ox-LDL of the UO126+IS group was slightly lower than that of the non-treatment group, and the difference was no statistically significant ($P > 0.05$). While the expression of p-ERK1/2 of the UO126+IS group was obviously lower than that of the non-treatment group ($P < 0.01$). Uptake of Dil-ox-LDL and the expression of p-ERK1/2 of the UO126+IS group were significantly lower than those of the IS group ($P < 0.01$). **Conclusions** IS can directly induce uptake of ox-LDL by RAW264.7 macrophages *in vitro* through activation of MAPK signaling pathway, and the effect is enhanced with increasing concentration and action time.

Keywords: indoxyl sulfate; cardiorenal syndrome; chronic kidney disease; atherosclerosis; ox-LDL; RAW264.7 macrophage

BONGARTZ 的“心肾连接”理论明确指出心或肾功能受损均会引发交感神经系统、肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS) 和炎症因子的一系列波动, 共同推动心肾功能进一步衰损^[1-2], 以此为基础不断深入探索, 心肾综合征 (cardiorenal syndrome, CRS) 的概念逐步成熟。流行病学调查显示, 肾功能损伤提升充血性心力衰竭 (congenital heart failure, CHF) 的患病率 15 倍甚至更多, 引发心血管死亡事件的可能性激增 20 倍。同样, 约 1/4 的 CHF 病人并发有肾功能损伤, 进一步发展至肾透析的危险性是普通人的 5 倍^[3-5]。心肾体系的多因素交互影响令 CRS 的病理进程更加复杂多变, 目前对于其发病机制仍缺乏明确阐释, 使得治疗手段单一且被动。因此, 探索心肾之间的恶性互动机制对于 CRS 的防治意义非凡。慢性肾病 (chronic kidney disease, CKD) 患者是动脉粥样硬化的高发人群, 而尿毒症毒素是 CKD 成病过程中不容忽视的致病因子^[6], 尤其是蛋白结合类毒素, 令现有的血液净化手段事倍功半^[7]。硫酸吲哚酚 (indoxyl sulfate, IS) 即是该类物质中最重要的成员之一, 近年来成为心肾医学研究人员的关注重点。已有动物实验证实, IS 清除不利会使缺失载脂蛋白 E 基因小鼠的主动脉斑块加速形成并恶化^[8], 但目前关于 IS 推动动脉粥样硬化发生进展的具体机制少见报道, 而巨噬细胞吞噬脂滴后泡沫化正是强直性脊柱炎病发的关键节点, 所以本研究着眼于 IS 对巨噬细胞内吞噬氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 的诱导作用并初步探讨其机制, 希望为防治 CRS 提供新的方向指导。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验细胞、材料和方法

建立 6 个 IS 浓度级且每级同时进行平行样本 3 孔: ①传代培养至对数期的 RAW264.7 巨噬细胞 (中科院上海细胞所) 经消化、稀释至浓度 2×10^4 个/ml, 接入 96 孔板 0.1 ml/孔, 置二氧化碳 CO_2 培养箱 (上海喆图科学仪器有限公司) 生长, 贴壁后更换稀释有 IS (美国 Sigma 公司) 的新鲜培养基, 并使每孔中 IS 浓度分别为 0、10、50、100、200 和 400 $\mu\text{mol/L}$, 待 IS 浸润 24 h 后沿孔壁加入 0.01 ml/孔 CCK-8 试剂, 充分反应 4 h 后依照 CCK-8 试剂盒 (上海励瑞生物科技有限公司) 方法检测细胞活力 (A450), 重复实验 3 次考察不同浓度 IS 对 RAW264.7 细胞存活率的影响; ②另取细胞悬液接入 12 孔板 2×10^5 个/孔, 置适宜环境生长, 其后处理步骤同①, 直至 IS 浸润 18 h 后每孔再加入 Dil 标记氧化型低密度脂蛋白 (Dil-ox-LDL) (北京协生生物科技有限责任公司), 成 20 g/ml, 继续培养 6 h 后倾出培养液, 经冲洗、吹打、离心再稀释成适宜浓度细胞悬液, 上 BD FAC-SCalibur 流式细胞仪 (北京东迅天地医疗仪器有限公司) 测定荧光强度, 重复实验 3 次考察不同浓度 IS 对 RAW264.7 细胞吞噬 Dil-ox-LDL 能力的影响。

建立 5 个时间级且每级同时进行平行样本 3 孔: ①RAW264.7 细胞经消化、稀释至浓度 2×10^4 个/ml, 接入 96 孔板 0.1 ml/孔置适宜环境生长, 贴壁后更换新鲜培养基继续培养 48 h, 并于对应时间点加入 IS 使成 200 $\mu\text{mol/L}$, 待 IS 分别浸润 0、12、24、36 和 48 h 后沿孔壁加入 0.01 ml/孔 CCK-8 试剂, 充分反应 4 h 后依照 CCK-8 试剂盒方法检测细胞活力

(A450), 重复实验 3 次考察 IS 作用不同时间对 RAW264.7 细胞存活率的影响; ②另取细胞悬液接入 12 孔板 2×10^5 个 / 孔置适宜环境生长, 其后处理步骤同①, 直至 IS 分别浸润 0、12、24、36 和 48 h 后每孔再加入 Dil-ox-LDL, 成 20 g/ml, 继续培养 6 h 后倾出培养液, 经冲洗、吹打、离心再稀释成适宜浓度细胞悬液, 上流式细胞仪测定荧光强度, 重复实验 3 次考察 IS 作用不同时间对 RAW264.7 细胞吞噬 Dil-ox-LDL 能力的影响。

建立 3 组且同时进行平行样本 3 孔: ①浓度 2×10^4 个 / ml 细胞悬液接入 96 孔板 0.1 ml / 孔置适宜环境生长, 贴壁后 UO126+IS 组更换稀释有 $5 \mu\text{mol/L}$ UO126 (上海赛鑫生物技术有限公司) 的新鲜培养液, 非处理组和 IS 组更换等量新鲜培养液, 2 h 后 IS 组和 UO126+IS 组再添加 IS 使成 $200 \mu\text{mol/L}$, 待 IS 浸润 24 h 后沿孔壁加入 0.01 ml / 孔 CCK-8 试剂, 充分反应 4 h 后依照 CCK-8 试剂盒方法检测细胞活力 (A450), 重复实验 3 次考察各组 RAW264.7 细胞存活率的差异; ②另取细胞悬液接入 12 孔板 2×10^5 个 / 孔置适宜环境生长, 其后各组处理步骤同①, 直至 IS 浸润 18 h 后各组每孔再加入 Dil-ox-LDL 使成 20 g/ml, 继续培养 6 h, 经冲洗、吹打、离心再稀释成适宜浓度细胞悬液, 上流式细胞仪测定荧光强度, 重复实验 3 次考察各组 Dil-ox-LDL 吞噬量的差异; ③取细胞悬液接入培养瓶 1×10^6 个 / 瓶置适宜环境生长, 其后处理步骤同①, 待 IS 浸润 15 min 后倾出培养液, 经冲洗、吹打、离心再分离蛋白, 电泳、转膜及染色后, 以一抗磷酸化及总 ERK(p44/42) 单克隆抗体和二抗辣根过氧化物酶标记的抗兔免疫球蛋白 G 抗体分别孵育再曝光, 蛋白印迹法 (Western blot) 法测定胞内细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases1/2, ERK1/2) 蛋白表达量, 重复实验 2 次考察各组蛋白表达量的差异。

1.2 统计学方法

采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析, 细胞存活率、Dil-ox-LDL 吞噬量及蛋白表达量用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。对于各浓度级和时间级, 以及非处理组、IS 组和 UO126+IS 组的数据, 若符合方差齐性则多组间比较采用 ANOVA 分析, 两组间比较采用 SNK-q 检验; 若不符合方差齐性则多组间比较采用 Kendall's W 检验, 两组间比较采用 Tamhane's 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

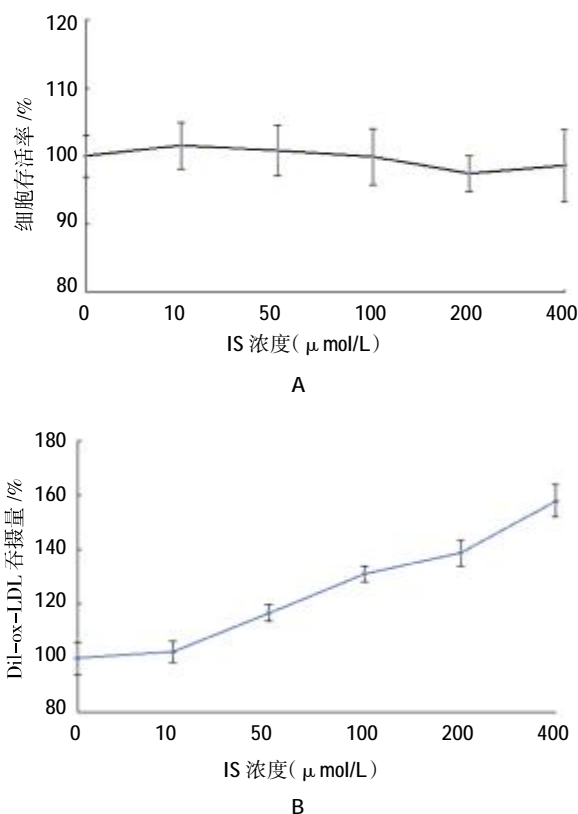
2.1 IS 对 RAW264.7 细胞存活率和 Dil-ox-LDL 吞噬量的浓度效应

如表 1 和图 1。分别以 IS 浓度 0 测得的细胞存活率和 Dil-ox-LDL 吞噬量为参照标准, IS 浸润浓度不同的各组间细胞存活率略有升降, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 但各组 Dil-ox-LDL 吞噬量随 IS 浸

表 1 IS 对 RAW264.7 细胞存活率和 Dil-ox-LDL 吞噬量的时间效应

IS 浸润时间	细胞存活率 / %	Dil-ox-LDL 吞噬量 / %
0 h	100.01 \pm 3.60	100.00 \pm 6.83
12 h	101.32 \pm 2.73	125.89 \pm 8.64 ¹⁾
24 h	99.58 \pm 3.44	147.71 \pm 9.39 ²⁾
36 h	100.81 \pm 2.17	168.70 \pm 10.55 ³⁾
48 h	100.29 \pm 2.88	185.32 \pm 13.40 ⁴⁾
F 值	0.84	91.04
P 值	0.500	0.000

注: 与 IS 浸润时间 0 h 组比较, 1) $P = 0.000, q = -7.052$; 2) $P = 0.000, q = -12.327$; 3) $P = 0.000, q = -16.399$; 4) $P = 0.000, q = -17.018$



A: IS 对 RAW264.7 细胞存活率的浓度效应; B: IS 对 Dil-ox-LDL 吞噬量的浓度效应

图 1 IS 对 RAW264.7 细胞存活率和 Dil-ox-LDL 吞噬量的浓度效应

润浓度增大明显升高,且比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

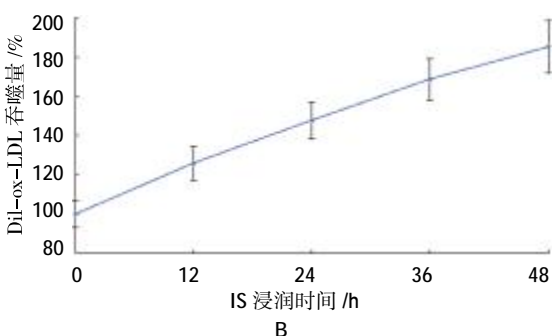
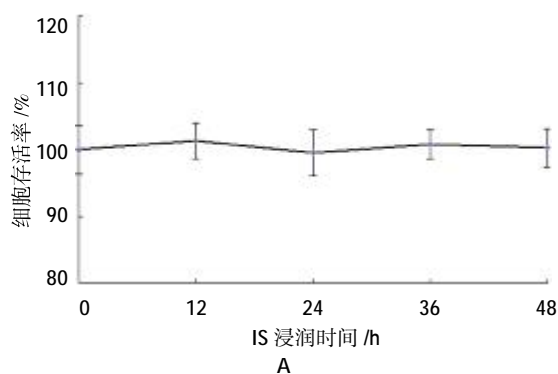
2.2 IS 对 RAW264.7 细胞存活率和 Dil-ox-LDL 吞噬量的时间效应

分别以 IS 浸润时间 0 h 测得的细胞存活率和 Dil-ox-LDL 吞噬量为参照标准,IS 浸润时间不同的各组间细胞存活率略有升降,差异无统计学意义($P > 0.05$); 但各组 Dil-ox-LDL 吞噬量随 IS 浸润时间延长明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 2。

2.3 各组 RAW264.7 细胞存活率、Dil-ox-LDL 吞噬量和 ERK1/2 蛋白表达量的比较

分别以非处理组测得的细胞存活率、Dil-ox-LDL 吞噬量、蛋白表达量为参照标准。与非

处理组数值比较,IS 组和 UO126+IS 组的细胞存活率及总 ERK1/2 蛋白表达量均略低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。同时,IS 组的 Dil-ox-LDL 吞噬量和磷酸化 ERK1/2 蛋白表达量均明显高于非处理组,且差异有统计学意义($P < 0.01$)。UO126+IS 组的 Dil-ox-LDL 吞噬量与非处理组比较略低,但差异无统计学意义($P > 0.05$); 磷酸化 ERK1/2 蛋白表达量大幅低于非处理组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。此外,UO126+IS 组与 IS 组比较,细胞存活率及总 ERK1/2 蛋白表达量虽有升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$); Dil-ox-LDL 吞噬量和磷酸化 ERK1/2 蛋白表达量均呈现大幅降低,且差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 2 和图 3、4。



A: IS 对 RAW264.7 细胞存活率的时间效应; B: IS 对 Dil-ox-LDL 吞噬量的时间效应

图 2 IS 对 RAW264.7 细胞存活率和 Dil-ox-LDL 吞噬量的时间效应

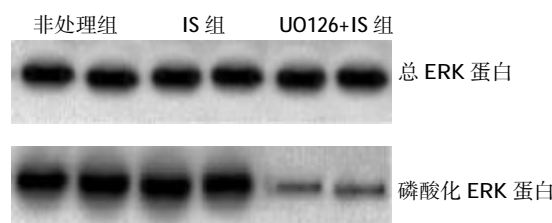


图 3 各组总 ERK1/2 蛋白和磷酸化 ERK1/2 蛋白的比较

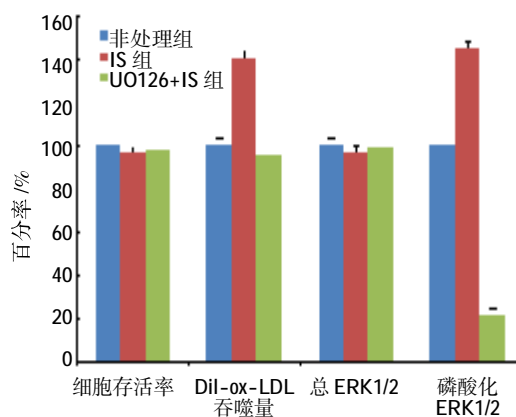


图 4 各组 RAW264.7 细胞存活率、Dil-ox-LDL 吞噬量和 ERK1/2 蛋白表达量的比较

表 2 3 组间细胞存活率、Dil-ox-LDL 吞噬量和 ERK1/2 蛋白表达量的比较

组别	细胞存活率 /%	Dil-ox-LDL 吞噬量 /%	总 ERK1/2 /%	磷酸化 ERK1/2 /%
非处理组	100.00 ± 2.65	100.02 ± 4.57	100.01 ± 1.92	100.02 ± 2.10
IS 组	96.72 ± 2.93 ¹⁾	140.36 ± 5.02 ²⁾	96.57 ± 4.38 ³⁾	145.01 ± 3.33 ⁴⁾
UO126+IS 组	98.24 ± 3.58 ⁵⁾⁶⁾	95.74 ± 6.57 ⁷⁾⁸⁾	99.74 ± 6.82 ⁹⁾¹⁰⁾	21.80 ± 3.95 ¹¹⁾¹²⁾

注: 与非处理组比较, 1) $P=0.069, q=2.034$; 2) $P=0.000, q=14.556$; 3) $P=0.109, q=1.762$; 4) $P=0.000, q=-27.992$; 5) $P=0.356, q=0.968$; 6) 与 IS 组比较, $P=0.440, q=-0.805$; 7) 与非处理组比较, $P=0.219, q=-1.310$; 8) 与 IS 组比较, $P=0.000, q=13.219$; 9) 与非处理组比较, $P=0.927, q=0.093$; 10) 与 IS 组比较, $P=0.361, q=-0.958$; 11) 与非处理组比较, $P=0.000, q=42.829$; 12) 与 IS 组比较, $P=0.000, q=58.417$

3 讨论

人体是高度精密的“仪器”,各脏器之间既分工明确又协同合作。心肾是高效平稳的生命运作最重要的两大部分,共同承担着维持血液动力学稳定和体液平衡等多重重任^[9],生理功能的密切相关直接决定了两者在病理过程的交互影响。自 1840 年 PIORRY、HERITIER 定义尿毒症以来,已有 200 余种毒素被成功鉴定,它们在心肾、血管、神经和免疫系统等的衰退中扮演着重要的角色^[10]。健康人体可经肾脏将摄入氨基酸转化而来的 IS 及时“扫地出门”,进出均衡状态下 IS 不会在血液中游离存在,而在 CKD 患者体内,清除率下降极易造成 IS 存积于肾单元,器质性的损伤又进一步加深肾功缺失陷入“死循环”^[11-12]。此外,过剩 IS 游离入血引发血清浓度激增,使得心血管疾病风险飙升^[13-14],已有研究证实,血清 IS 不仅上调 P53、P21 基因表达诱使平滑肌细胞衰亡^[15],而且调控 Klotho 蛋白表达引导内皮细胞障碍^[16]。所以,IS 在 CRS 整个病程中推波助澜不容忽视,同时也极有可能成为预防病发、延缓病情发展的决定性突破口。

本次研究发现,IS 并未对 RAW264.7 巨噬细胞表现直接抑制作用,但 RAW264.7 细胞吞噬 Dil-ox-LDL 总量对 IS 浸润浓度和时间均呈现正相关。ox-LDL 是强直性脊柱炎起病的根源,全面参与病情进展的各个阶段,巨噬细胞则是人体健康的忠诚卫士,负责辨识和扫清入侵内部的“捣乱分子”。巨噬细胞将尽可能多 ox-LDL 吞纳入体内,自身也受其毒性影响逐渐凋亡泡沫化,包裹有大量脂质的巨噬源性泡沫细胞黏集于受损的血管壁内表面开启了强直性脊柱炎最早的病变序幕—脂质条纹^[17-18]。健康人体和 CKD 患者的血清 IS 含量差异巨大,正常 IS 血清浓度不足 10 $\mu\text{mol/L}$, 研究中该浓度尚未能对 ox-LDL 吞噬量产生明显影响;CKD 患者 IS 血清浓度均值高达 100 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ ^[19],而本次结果清晰显示,50 ~ 400 $\mu\text{mol/L}$ IS 的存在均可诱导增效 RAW264.7 细胞吞噬 ox-LDL。而且 ox-LDL 吞噬量随 IS 浸润时间延长而急剧升高也表明,高浓度 IS 在体内滞留时间越长,巨噬细胞泡沫化情况越严重。

笔者发现,在 IS 的作用下,随 ox-LDL 吞噬量激增的还有 RAW264.7 细胞内磷酸化 ERK1/2 蛋白表达量,当以 UO126 专属性阻断 ERK1/2 蛋白表达的上游通路时,UO126+IS 组的 Dil-ox-LDL 吞噬量回落至未处理组同等水平,伴随磷酸化 ERK1/2 蛋白

表达量大幅降低。因此推断,IS 对 RAW264.7 细胞吞噬氧化低密度脂蛋白的诱导增强作用同 MAPK 信号转导通路存在密切联系。如果将细胞视作城堡,表面受体即为驻守边疆的“情报接收站”,细胞核担当“中央指挥部”,MAPK 信号转导通路是负责将信息由外向内传送的主要驿道,ERK1/2 则是路途上最重要的信使之一^[20]。ERK1/2 平时游走于胞质间待命,只有被 Raf 磷酸化激活后才能迅速苏醒,携带信息穿透入核。IS 增强 RAW264.7 细胞对 ox-LDL 的吸收可能是介由引发 RAW264.7 表面特异辨识氧化低密度脂蛋白的清道夫受体和 CD36 异常兴奋,使 MAPK 信号转导通路高度活跃,活化 ERK1/2 蛋白量提升。UO126 有效截断了 MAPK 的级联反应,得以抑制 IS 对 RAW264.7 细胞吞噬氧化低密度脂蛋白的诱导增强作用。

综上所述,IS 经由活跃 MAPK 信号转导通路,激动 ERK1/2 蛋白实现对巨噬细胞吞噬 ox-LDL 的诱导增效作用,且该效应随 IS 浓度升高和浸润时间延长而增强。所以及时有效地排除患者体内 IS 可在一定程度上避免和缓解动脉粥样硬化危机,有利于 CRS 的良好预后。

参 考 文 献:

- [1] TRIPOSKIADIS F, STARLING R C, BOUDOULAS H, et al. The cardiorenal syndrome in heart failure: cardiac renal syndrome[J]. *Heart Failure Reviews*, 2012, 17(3): 355-366.
- [2] COHEN L. The cardiorenal syndrome: pathophysiologic crosstalk, outcomes, and treatment targets[J]. *Cardiovascular & Hematological Disorders-Drug Targets*, 2014, 14(3): 170-176.
- [3] BRANKO B, JOLIS J A, DANISHWAR A H, et al. Cardiorenal syndrome-current understanding and future perspectives[J]. *Nature Reviews Nephrology*, 2013, 10(1): 48-55.
- [4] PAUL S, DAVID G. The management of end-stage heart failure and reducing the risk of cardiorenal syndrome [J]. *Clinical Medicine (London, England)*, 2013, 13(6): 610-613.
- [5] SZYMANSKI M K, BOER R A, NAVIS G J, et al. Animal models of cardiorenal syndrome: a review[J]. *Heart Failure Reviews*, 2012, 17(3): 411-420.
- [6] LIU S, LEKAWANVIJIT S, KOMPA A R, et al. Cardiorenal syndrome: Pathophysiology, preclinical models, management and potential role of uraemic toxins[J]. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2012, 39(8): 692-670.
- [7] COSTANZO M R, RONCO C. Isolated ultrafiltration in heart failure patients[J]. *Current Cardiology Reports*, 2012, 14(3): 254-264.
- [8] HSU C C, LU Y C, CHIU C A, et al. Levels of indoxyl sulfate are associated with severity of coronary atherosclerosis[J]. *Clinical*

- and Investigative Medicine (Online), 2013, 36(1): 42-49.
- [9] MURTHY A. Mechanical strategies to improve fluid overload in patients with cardiorenal syndrome[J]. Journal of Indian College of Cardiology, 2012, 2(1): 17-21.
- [10] ELOOT S, LEDEBO I, WARD R A. Extracorporeal removal of uremic toxins: can we still do better[J]. Seminars in Nephrology, 2014, 34(2): 209-227.
- [11] HUANG S T, SHU K H, CHENG C H, et al. Serum total p-cresol and indoxyl sulfate correlated with stage of chronic kidney disease in renal transplant recipients [J]. Transplantation Proceedings, 2012, 44(3): 621-624.
- [12] HUANG W H, HUNG C C, YANG C W, et al. High correlation between clearance of renal protein-bound uremic toxins (indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate) and renal water-soluble toxins in peritoneal dialysis patients [J]. Therapeutic Apheresis and Dialysis, 2012, 16(4): 361-367.
- [13] NIWA T. IINDOXYL SULFATE, A Tryptophan Metabolite, Induces Nephro-Vascular Toxicity[J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2012, 26(sup1): 129-133.
- [14] WHALEY-CONNELL A, SOWERS J R. Oxidative stress in the cardiorenal metabolic syndrome[J]. Current Hypertension Reports, 2012, 14(4): 360-365.
- [15] GULINUER M, HIDEHISA S, ATSUSHI E, et al. Indoxyl sulfate promotes vascular smooth muscle cell senescence with up-regulation of p53, p21, and prelamin A through oxidative stress [J]. AJP: Cell Physiology (Online), 2012, 303(2): 126-134.
- [16] YANG K, NIE L, HUANG Y, et al. Amelioration of uremic toxin indoxyl sulfate-induced endothelial cell dysfunction by Klotho protein[J]. Toxicology Letters, 2012, 215(2): 77-83.
- [17] SERGIN I, RAZANI B. Self-eating in the plaque: what macrophage autophagy reveals about atherosclerosis[J]. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2014, 25(5): 225-234.
- [18] YUAN Y, LI P, YE J. Lipid homeostasis and the formation of macrophage-derived foam cells in atherosclerosis[J]. Protein & Cell, 2012, 3(3): 173-181.
- [19] LIN C J, LIU H L, PAN C F, et al. Indoxyl sulfate predicts cardiovascular disease and renal function deterioration in advanced chronic kidney disease[J]. Archives of Medical Research, 2012, 43(6): 451-456.
- [20] NA L, MCLAREN J E, MICHAEL D R, et al. ERK is integral to the IFN- γ -mediated activation of STAT1, the expression of key genes implicated in atherosclerosis, and the uptake of modified lipoproteins by human macrophages [J]. Journal of Immunology, 2010, 185(5): 3041-3048.

(张蕾 编辑)