

硫酸吲哚酚促进慢性肾脏病患者急性冠脉 综合征机制的研究进展

唐毅, 田少江

(湖北医药学院附属十堰市人民医院 肾病内科, 湖北 十堰 442000)

摘要: 急性冠脉综合征 (ACS) 是慢性肾脏病 (CKD), 尤其是尿毒症患者的主要死亡原因之一。ACS 形成的主要原因与血管内皮功能损伤引起的动脉粥样硬化和动脉内血栓形成密切相关。硫酸吲哚酚 (IS) 是色氨酸在肠道细菌作用下的代谢产物, CKD 患者, 尤其是尿毒症患者, IS 不能有效排出体外造成人体内蓄积而从多个方面造成内皮功能损伤并在 ACS 发生发展中发挥重要作用。本文主要对近年来国内外有关 IS 引起 CKD 患者内皮损伤和血栓形成机制的最新进展进行综述, 并总结目前在 CKD 患者中减轻 IS 引起的 ACS 方面的新措施, 为防治 CKD 患者心血管事件提供帮助。

关键词: 慢性肾脏病; 内皮功能障碍; 内皮细胞; 急性冠脉综合征; 硫酸吲哚酚

中图分类号: R541.4; R692

Research progress on the mechanism of indoxyl sulfate promoting acute coronary syndrome in patients with chronic kidney disease

TANG YI, TIAN Shaojiang

(Department of Nephrology, Shiyan People's Hospital Affiliated to Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China)

Abstract: Acute coronary syndrome (ACS) is one of the leading causes of death in patients with chronic kidney disease (CKD), especially in uremic patients, and the main causes of ACS are atherosclerosis and intra-arterial thrombosis due to endothelial damage. Indoxyl sulfate (IS) is a metabolite of tryptophan under the action of intestinal bacteria. In CKD patients, especially in uremic patients, IS cannot be excreted effectively, causing accumulation in the body and causing endothelial function damage in several ways and playing an important role in the development of ACS. In this paper, we review the recent progress of endothelial injury and thrombosis mechanisms in CKD patients caused by IS, and summarize the new measures to mitigate IS-induced ACS in CKD patients, in order to help prevent and treat cardiovascular events in CKD patients.

Keywords: chronic kidney disease; endothelial dysfunction; endothelial cells; acute coronary syndrome; indoxyl sulfate

慢性肾脏病 (CKD) 是一个全球性健康问题, 发病率逐年上升, 影响着全球 8.5 亿多人^[1]。以急性冠脉综合征 (ACS) 为代表的心血管事件是尿毒症患者死亡的首要原因。内皮损伤引起的血管内皮功能障碍及相应的附壁血栓形成是 ACS 急性起病并迅速进展的基础^[2]。硫酸吲哚酚 (IS) 是一种常常不被重视的, 来源于肠道代谢废物转化的尿毒症毒素。近年的研究发现, IS 与血管内皮损伤及血栓形成有密切的关系, 其在 CKD 尤其是尿毒症患者体内蓄积可能是引起 ACS 的关键环节。研

究表明, IS 可以降低一氧化氮 (NO) 生物利用度、发挥促氧化作用。此外, 在体外研究中, IS 能通过激活芳香烃受体 (AhR) 和上调 NF- κ B、AP-1 等促炎信号通路、及诱发血栓形成前状态等多种途径促进 ACS 的形成和进展。近年来关于 IS 在内皮损伤和血栓形成方面有较多的进展, 本文结合国内文献对 CKD 状况下 IS 引起内皮功能障碍和血栓形成及 IS 清除策略进行综述, 可对 CKD 患者 ACS 的防治提供帮助。

1 内皮细胞的特性和生理功能

内皮细胞 (ECs) 是一种鹅卵石状的单层细胞, 位于血管腔内, 既往被描述为一种“玻璃纸类型的屏障”, 把血液成分与周围组织隔开^[3], 也具有内分泌功能。内皮细胞对于机体的生理功能有: ①调控炎症反应。内皮细胞可以分泌粘附分子和促炎因子, 促白细胞活化、迁移, 转运到炎症损伤部位, 发挥致炎作用。②调节血管张力。诱导一氧化氮合酶 (eNOS) 表达合成 NO, 是血管张力的主要调控因子, 具有舒张血管作用。还可以释放内皮素、血栓素 A₂ (TXA₂) 和前列腺素 PGH₂, 通过血管舒缩调节局部血流^[4]。③维持促凝与纤溶系统平衡。血管内皮释放血管性血友病因子 (vWF)、血栓调节蛋白 (TM) 和组织纤溶酶原激活物等物质, 调控凝血与纤溶过程。④此外, 内皮细胞具有表面光滑且带负电荷的特性, 阻止血小板聚集和白细胞粘附、抑制血管平滑肌细胞增殖和迁移、调节血管通透性 (VE-cadherin、ZO-1 和糖萼等连接蛋白)。内皮功能障碍可引起动脉粥样硬化和血栓性心血管事件, 促进心血管并发症出现^[5]。

2 CKD 患者内皮功能障碍和 IS 的产生

随着肾衰竭进展, CKD 患者 ACS 的发生率和死亡率均显著升高。尿毒症毒素、慢性炎症和氧化应激是 CKD 的三大特征性改变, 是动脉粥样硬化和急性血栓形成为主的 ACS 的基础。越来越多证据表明, CKD 患者体内均会出现内皮功能障碍^[6]。一方面来说, 血管性血友病因子 (vWF) 是内皮功能障碍的指标, 损伤的内皮细胞会释放组织因子、vWF、TM 等促凝因子诱导血栓前状态出现。NO 是血管内皮控制血管舒张的关键调控因子。此外, NO 在调节白细胞粘附、血管平滑肌增殖及血管通透性也起到重要作用。然而, 在 CKD 患者体内, 往往会出现 NO 合成或生物利用度降低的现象, 说明这可能是内皮功能障碍的重要原因。另一方面来说, 内皮损伤会更容易出现炎症、表达粘附分子促进白细胞粘附及增加活性氧 (ROS) 的产生, 甚至可以直接损伤内皮结构, 破坏血管完整性。另外, 内皮功能障碍还会干扰血管平滑肌增生、分化, 改变内皮祖细胞来损伤新生心血管生成和血管钙化 (VC)^[7]。在 CKD 的全阶段, 内皮功能障碍均与心血管风险有关。

尿毒症毒素是指随着肾功能下降及肾小球滤过率下降, 不断蓄积在组织和血液中, 导致尿毒症代谢紊乱或临床症状的一类物质。根据其理化

性质分为三类, 第一类为小的水溶性分子, 如尿素氮、肌酐、肌酐、肌酐、尿酸等; 第二类为中等量化合物, 如甲状腺素、 β 2-微球蛋白和瘦素, 能以大孔径透析膜透析方式清除; 第三类为毒性最强的化合物, 如吲哚和酚类^[8]。其中 IS 作为一种重要的小分子蛋白结合类尿毒症毒素, 是膳食中的色氨酸代谢产物, IS 与血浆蛋白结合紧密, 常规血液透析清除率低。食物中的色氨酸进入结肠后被细菌 (色氨酸酶) 分解为吲哚, 并经过肝脏的氧化和硫酸化, 进入体内血液循环^[9]。当肾功能正常时, IS 在有机阴离子转运蛋白 (OAT) OAT-1 和 OAT-3 转运作用下被肾小管细胞摄取, 随尿液排出^[10]。在 CKD 患者中, IS 水平与主动脉钙化和血管硬化直接相关, 并与独立于其他危险因素的总体死亡率和心血管死亡率关联^[11]。

3 IS 对 CKD 患者内皮细胞的损伤机制

3.1 IS 促进 CKD 状态下氧化应激

研究显示, 氧化应激主要特征是活性氧 (ROS) 的蓄积, 过多的 ROS 会导致血管舒缩失调。内皮细胞的抗氧化内源性防御系统包括谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶、谷胱甘肽还原酶也是重要的保护机制^[12], 氧化应激会加重该类物质消耗, 促进细胞衰老和凋亡。内皮依赖性血管舒张 (FMD) 是评估内皮功能障碍的指标。YU 等^[13]在通过对 40 名 CKD 患者的观察性研究发现, 经 24 周 AST-120 给药后, 患者 FMD 较前增加, 反应时间缩短。说明了 IS 可以抑制血管的舒张作用, 而 AST-120 可以逆转这一过程。另外, 此研究也发现, 在体外培养的人脐静脉内皮细胞中, 实验组 (IS 暴露下) 选择 N-乙酰半胱氨酸、鱼藤酮和夹竹桃麻素三种自由基清除剂处理后, 相比对照组 NO 和还原型谷胱甘肽水平增加、ROS 水平下降。而刘玲玲等^[14]利用丹参酮 II A 的抗氧化作用可以减轻人脐静脉内皮细胞损伤, 使细胞凋亡率下降。说明了 IS 确实可以诱导抗氧化系统紊乱, 降低 NO 合成, 促进活性氧生成来损伤内皮细胞。此外, 一项体外研究证实 IS 可以抑制内皮细胞自噬, 缺陷的自噬通过促进氧化蛋白积累、增加 ROS 生成及损害相应细胞器, 增加尿毒症条件下对氧化应激的敏感性^[15]。体外研究表明^[16], IS 促进氧化应激降低单核细胞抗氧化能力, 导致细胞脂质和蛋白质损伤。尿毒症毒素 IS 可以降低 NO 的生物利用度, 促进 ROS 生成。LI 等^[17]以 5/6 肾切除的大鼠模型为假 CKD 研究对象, 证实了三甲-n-氧化物

(TMAO) 可以上调 CKD 大鼠超氧化物和促炎细胞因子的生成, 并且降低 eNOS 活性。这表明维持氧化应激平衡的必要性, 减轻 IS 的毒性有助于控制 CKD 患者的动脉粥样硬化进程。

3.2 IS 参与 CKD 患者体内炎症反应

3.2.1 IS 诱导 CKD 状态下炎性细胞活化 IS 诱导受损的内皮细胞合成和释放促炎趋化因子和白介素 (IP-10、IL-8)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 及等相关炎症因子和粘附分子 (ICAM-1、VCAM-1), 诱导单核细胞和巨噬细胞活化, 激活血管壁炎症级联反应^[18]。一方面, NAKANO 等^[19] 研究发现, 在 5/6 肾切除术模拟的动脉模型中, IS 被发现可以调控 OATP2B1 和 D114-Notch 信号通路的相互作用诱导促炎巨噬细胞的激活。从已有的细胞水平研究证明, IS 激活 ILK/AKT 信号促进了单核细胞的附着和侵袭性迁移, 同时促进 podosomes 诱导的细胞外基质、炎性细胞粘附的进程^[20]。此外, HUANG 等^[21] 指出, 在高糖和 IS 环境下培养中人脐静脉内皮细胞 IP-10、IL-8、lnc-SLC15A1-1 水平较对照组明显升高, 说明了 IS 可能增加 lnc-SLC15A1-1 表达来上调 CXCL10/CXCL8, 这可能为糖尿病肾病 (DKD) 合并 CKD 的治疗提供新的靶点。另一方面, 在炎症过程中, MCP-1 吸引单核细胞和巨噬细胞到炎症部位。既往研究证明了 MCP-1 的表达随着人内皮细胞中 IS 浓度的增加而增加^[22]。更多的证据表明, 内皮损伤下的单核细胞、巨噬细胞浸润是受到粘附分子 (ICAM-1、VCAM-1) 调控的^[23]。随后, SIX 等^[24] 也发现, 在野生型小鼠体外主动脉环实验中显示 IS 可增强 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达。除此之外, CLARO 等^[25] 证实了未行透析的 CKD 患者其血清 IS 水平与可溶性血管细胞粘附分-1 (sVCAM-1) 之间存在正相关。因此, IS 会以直接或间接方式诱导炎性细胞活化, 从而促进炎症反应的发生。另外, IS 也能促进血管平滑肌增殖参与血管炎症。病理状态下血管平滑肌细胞 (VSMCs) 会发生过度增殖, 合成大量细胞外基质, 参与 CKD 患者血管炎症、动脉粥样硬化和血管再狭窄过程^[26]。有研究表明, 细胞外囊泡 (EV) 具有内皮细胞和血管平滑肌细胞的信使作用, IS 可以促进细胞外囊泡^[27]。而 RYU 等^[28] 证实了 IS 诱导细胞外囊泡分泌诱导内皮转化生长因子 (TGF- β) 信号通路表达, 来促进 VSMCs 增殖。

3.2.2 IS 激活 CKD 状态下 AnR 通路 芳香烃受体 (AhR) 是细胞内重要转录因子, 可以通过多种细胞通路调节内皮功能, 参与血管动脉粥样硬化

形成^[29]。研究发现, 在 CKD 患者和 CKD 大鼠模型中, 对比健康对照组, 其血清 AhR 激活水平高, 心血管事件发作频繁, 说明 AnR 通路激活与 CKD 患者心血管风险有关^[30]。BOLATI 等^[31] 研究发现, IS 通过上调 NF- κ B 表达, 下调因子 2 相关的红细胞核因子 2 (控制抗氧化和抗炎细胞反应) 在肾脏的表达, 随后下调血红素加氧酶-1 和 NADPH 氧化还原酶 1, 从而增加 ROS 的产生。此外, MASAI 等^[32] 证明活化状态下的 AhR 以 ROS/MAPK/NF- κ B 通路参与 IS 诱导 MCP-1。而其他研究发现 CH223191 (AhR 激活抑制剂) 可抑制 IS 诱导的 HUVECs 中 MCP-1 的表达, 减轻血管炎症^[33]。最后, KIM 等^[34] 研究中证实 IS 与芳香烃受体 (AhR) 结合后诱导人单核细胞分泌 TNF- α , 通过 TNF- α 刺激内皮细胞产生 CX3CR1, CX3CR1 在 CD4+CD28-T 细胞高度表达, 最终使 CD4+CD28-T 细胞与 T 细胞受体结合促进内皮细胞发生凋亡。因此, AhR 通路在 IS 诱导炎症反应引起的内皮障碍中具有重要的作用。

3.3 IS 可以增加 CKD 患者内皮通透性

内皮细胞结构完整是保证血管内皮正常生理状态的前提条件, 尿毒症毒素 IS 导致内皮结构破坏, 从而导致通透性增加^[35]。研究显示, 尿毒症毒素 IS 可以降低跨内皮电阻 (TEER), 改变细胞通透程度^[36]。血管内皮细胞钙粘蛋白 (VE-Cadherin) 是调节内皮通透性的调节因子, 对于静态血管内皮完整性和新生血管的组织起到重要作用。ASSEFA 等^[37] 发现, 在牛内皮细胞模型中, 血清 IS 下调了 VE-Cadherin 的活性, 并且通过上调 AHR/Src 激酶通路达到维持高通透性的目的, 而白藜芦醇会抑制了这一作用。MACIEL 等^[38] 研究发现, IS 可以下调 VE-Cadherin 和上调 ZO-1 在人内皮细胞间连接中的表达, 诱导细胞间连接丢失, 加重内皮损伤。糖萼是一种由糖蛋白和蛋白多糖形成的复合物。因其具有多层结构, 可以避免 ECs 与血液物质和细胞直接接触, 形成病原体的屏障^[39]。LIEW 等^[40] 通过一项以 CKD 患者、肾透析患者、肾移植者和健康对照组为对象的研究发现, 长期透析患者体内糖萼和内皮损伤生化指标水平最高, 推测 IS、糖萼与内皮损伤之间存在互相关联。当前数据说明 IS 可以直接或间接增加血管内皮通透性, 从而损伤内皮细胞。

4 IS 诱导 CKD 患者血栓的机制

4.1 IS 促进 CKD 患者的促凝因子活化

血管内皮直接参与机体促凝与纤溶系统平衡。

然而，内皮细胞损伤导致凝血系统紊乱，促进血管内血栓形成^[41]。血栓前状态可引起血栓性疾病的进展，如梗死或血栓性栓塞事件。事实上，近年来的临床研究报道 CKD 患者自发出现血栓事件风险增加^[42]。早先有学者研究发现 CKD 患者体内的促凝和纤溶因子表达增加，如多种细胞因子包括组织因子 (TF)、血管性血友病因子 (vWF)、血栓调节素因子 VII^[43]。TF 是凝血级联中的一种膜蛋白，是血管损伤后激活凝血机制的外部途径。然而，在病理状态下，TF 可以促进血栓的形成^[44]。BELGHASEM 等^[45]发现，鼠动物模型中，血清 IS 浓度增高可以诱导 AhR 通路上调静脉内皮细胞中的 TF 和纤溶酶原激活物抑制剂 1 (PAI-1) 表达，从而促进静脉血栓形成。随后，另一项研究证明在得到 IS 和 IAA 处理的 HUVECs 中，血清 TF 与 Xa 因子水平正相关^[46]。最后，KARBOWSKA 等^[47]通过大鼠动物模型研究得出结论，实验组体内 TF/FVII、PAT-1 表达、血小板活化程度高，SIRT1 和 SIRT3 表达受到抑制，与对照组的健康大鼠相比血栓形成风险更大。更有学者研究在暴露于 IS 环境中的内皮细胞中，测量内皮细胞环氧酶 2 水平升高，前列素 E2 产生增多，导致血小板聚集或活化^[48]。总之，这些数据说明了内皮细胞活化和促凝血活性离不开 IS 的作用，并与 CKD 患者血栓事件和心血管疾病高发病率有关。

4.2 IS 诱导 CKD 患者的血小板功能障碍

IS 可以诱导血小板活性增高导致 CKD 患者的血栓形成风险，包括对凝血酶和胶原蛋白的反应性升高，诱导血小板-单核细胞聚集，以及促进血小板来源的内皮细胞微粒表达。YANG 等^[49]在体内和体外研究中发现，低浓度凝血酶和低浓度胶原蛋白状态下 IS 选择性上调 P-选择素和 GPIIb/IIIa 表达，进而促进血小板粘附和聚集。此外，血小板活性强化与 CKD 患者体内氧化应激水平升高有关^[50]。亦有研究证明了 IS 可以通过诱导 ROS 产生上调 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 MAPK) 信号通路来增加血小板活性^[51]。并且在某些研究中表明，Klotho 可以抵消 IS 对血小板活化的影响，这可能与抑制血小板中的 ROS/p38MAPK 途径有关，而 IS 可以导致 Klotho 表达下调。内皮细胞和血小板释放的一氧化氮具有阻碍血小板粘附的作用，主要通过抑制血小板募集、聚集和活性来减少血小板在血管壁的粘附^[52]。而 CKD 患者体内氧化应激的程度加重进一步降低了 NO 的生物利用度，IS 可以促进氧化应激诱导 ROS 过表达，从而

减少 NO 的生成，最终导致血小板反应性增加^[53]。因此，上述研究证明了 IS 诱导血小板活化参与 CKD 患者的血管内急性血栓形成，进而导致急性冠脉综合征等心血管事件出现。

5 IS 损害 CKD 患者内皮细胞的保护机制

来源于骨髓的内皮祖细胞参与新生血管生成，有助于修复受损的内皮细胞^[54]。LORENZEN 等^[55]研究发现，通过对血液透析 (HD) 治疗后的 CKD 患者随访证实了内皮祖细胞与患者心血管事件和生存率存在显著关系。而 LIN 等^[56]通过对 128 名 CKD 患者的横断面研究发现，IS 参与早期内皮祖细胞的损害。随后，在肾切除的动物模型研究发现，IS 会上调 XO mRNA 和 ROS 的表达，导致 EPCs 和内皮细胞损害，联安嗪能消除该机制进而改善内皮功能^[57]。因此，IS 可以通过诱导内皮祖细胞损害引发内皮功能障碍。Klotho 蛋白已被证明是心血管系统的一种激素，具有保护血管内皮细胞的特性。CHEN 等^[58]研究表明，补充外源性 Klotho 蛋白可以减轻尿毒症血清对血管内皮的损伤。而其他学者研究发现在体外培养的 HUVECs 中，Klotho 蛋白可以上调 PI3K/AKT 通路抑制内质网氧化应激，从而减少细胞凋亡^[59]。并且通过一项观察性研究表明 CKD 患者中 Klotho 表达及血清浓度降低^[60]。而 SUN 等^[61]早期研究已证实了 IS 能够诱导 Klotho 基因的 DNA 高甲基化来下调肾小管细胞中 Klotho 的表达水平。总的来说，以上研究证实 IS 对内皮细胞的保护机制有负向调控作用。

6 总结

综上所述，血管内皮功能障碍和血小板功能障碍是导致 CKD 患者 ACS 发生发展的重要原因，IS 可通过多种路径损伤血管内皮细胞、促进血栓形成，高效地清除 IS 可能在防治 CKD 患者，尤其是尿毒症患者 ACS 发生中发挥重要作用。目前，改善血液透析方式、口服 AST-120 都有明显的疗效。因此，检测 IS 水平，减少 IS 产生，提高透析质量是防治 CKD，尤其是尿毒症患者 ACS 的可行途径。

参考文献

- [1] RODRIGUES FG, ORMANJI MS, HEILBERG IP, et al. Interplay between gut microbiota, bone health and vascular calcification in chronic kidney disease[J]. *Eur J Clin Invest*, 2021, 51(9): e13588.
- [2] XU SW, ILYAS I, LITTLE PJ, et al. Endothelial dysfunction in atherosclerotic cardiovascular diseases and beyond: from mechanism to pharmacotherapies[J]. *Pharmacol Rev*, 2021, 73(3): 924-967.

- [3] KRÜGER-GENGE A, BLOCKI A, FRANKE RP, et al. Vascular endothelial cell biology: an update[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4411.
- [4] CYR AR, HUCKABY LV, SHIVA SS, et al. Nitric oxide and endothelial dysfunction[J]. *Crit Care Clin*, 2020, 36(2): 307-321.
- [5] MAJOR RW, CHENG MRI, GRANT RA, et al. Cardiovascular disease risk factors in chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0192895.
- [6] WANG CH, LAI YH, KUO CH, et al. Association between serum indoxyl sulfate levels and endothelial function in non-dialysis chronic kidney disease[J]. *Toxins*, 2019, 11(10): 589.
- [7] VALDIVIELSO JM, RODRÍGUEZ-PUYOL D, PASCUAL J, et al. Atherosclerosis in chronic kidney disease: more, less, or just different? [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(10): 1938-1966.
- [8] WOJTASZEK E, OLDAKOWSKA-JEDYNAK U, KWIATKOWSKA M, et al. Uremic toxins, oxidative stress, atherosclerosis in chronic kidney disease, and kidney transplantation[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6651367.
- [9] MAIR RD, SIRICH TL, MEYER TW. Uremic toxin clearance and cardiovascular toxicities[J]. *Toxins*, 2018, 10(6): 226.
- [10] VANHOLDER R, NIGAM SK, BURTEY S, et al. What if not all metabolites from the uremic toxin generating pathways are toxic? A hypothesis[J]. *Toxins*, 2022, 14(3): 221.
- [11] DÜSING P, ZIETZER A, GOODY PR, et al. Vascular pathologies in chronic kidney disease: pathophysiological mechanisms and novel therapeutic approaches[J]. *J Mol Med*, 2021, 99(3): 335-348.
- [12] YILMAZ MI, ROMANO M, BASARALI MK, et al. The effect of corrected inflammation, oxidative stress and endothelial dysfunction on fmd levels in patients with selected chronic diseases: a quasi-experimental study[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 9018.
- [13] YU MN, KIM YJ, KANG DH. Indoxyl sulfate-induced endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease via an induction of oxidative stress[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011, 6(1): 30-39.
- [14] 许玲玲, 鲁明军, 郭涛, 等. 丹参酮 II A 对硫酸吡啶酚诱导人脐静脉内皮细胞凋亡的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(20): 5040-5043.
- [15] RODRIGUES SD, SANTOS SS, MEIRELES T, et al. Uremic toxins promote accumulation of oxidized protein and increased sensitivity to hydrogen peroxide in endothelial cells by impairing the autophagic flux[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 523(1): 123-129.
- [16] PIENIAZEK A, GWOZDZINSKI L, HIKISZ P, et al. Indoxyl sulfate generates free radicals, decreases antioxidant defense, and leads to damage to mononuclear blood cells[J]. *Chem Res Toxicol*, 2018, 31(9): 869-875.
- [17] LI TJ, GUA CJ, WU BG, et al. Increased circulating trimethylamine N-oxide contributes to endothelial dysfunction in a rat model of chronic kidney disease[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(2): 2071-2077.
- [18] ELOUEYK A, OSTA B, ALAMELDINNE R, et al. Uremic serum induces inflammation in cultured human endothelial cells and triggers vascular repair mechanisms[J]. *Inflammation*, 2019, 42(6): 2003-2010.
- [19] NAKANO T, KATSUKI S, CHEN MX, et al. Uremic toxin indoxyl sulfate promotes proinflammatory macrophage activation via the interplay of OATP2B1 and Dll4-Notch signaling[J]. *Circulation*, 2019, 139(1): 78-96.
- [20] CAMPILLO S, BOHORQUEZ L, GUTIÉRREZ-CALABRÉS E, et al. Indoxyl sulfate- and P-cresol-induced monocyte adhesion and migration is mediated by integrin-linked kinase-dependent podosome formation[J]. *Exp Mol Med*, 2022, 54(3): 226-238.
- [21] HUANG YC, TSAI TC, CHANG CH, et al. Indoxyl sulfate elevated lnc-SLC15A1-1 upregulating CXCL10/CXCL8 expression in high-glucose endothelial cells by sponging microRNAs[J]. *Toxins*, 2021, 13(12): 873.
- [22] FAVRETTO G, SOUZA LM, GREGÓRIO PC, et al. Role of organic anion transporters in the uptake of protein-bound uremic toxins by human endothelial cells and monocyte chemoattractant protein-1 expression[J]. *J Vasc Res*, 2017, 54(3): 170-179.
- [23] JOURDE-CHICHE N, FAKHOURI F, DOU L, et al. Endothelium structure and function in kidney health and disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019, 15(2): 87-108.
- [24] SIX I, GROSS P, RÉMOND MC, et al. Deleterious vascular effects of indoxyl sulfate and reversal by oral adsorbent AST-120[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 243(1): 248-256.
- [25] CLARO LM, MORENO-AMARAL AN, GADOTTI AC, et al. The impact of uremic toxicity induced inflammatory response on the cardiovascular burden in chronic kidney disease[J]. *Toxins*, 2018, 10(10): 384.
- [26] DÉGLISE S, BECHELLI C, ALLAGNAT F. Vascular smooth muscle cells in intimal hyperplasia, an update[J]. *Front Physiol*, 2023, 13: 1081881.
- [27] FREISE C, QUERFELD U, LUDWIG A, et al. Uraemic extracellular vesicles augment osteogenic transdifferentiation of vascular smooth muscle cells via enhanced AKT signalling and PiT-1 expression[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(12): 5602-5614.
- [28] RYU JH, JEON EY, KIM SJ. Indoxyl sulfate-induced extracellular vesicles released from endothelial cells stimulate vascular smooth muscle cell proliferation by inducing transforming growth factor-beta production[J]. *J Vasc Res*, 2019, 56(3): 129-138.
- [29] BOCK KW. Human AHR functions in vascular tissue: pro- and anti-inflammatory responses of AHR agonists in atherosclerosis[J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 159: 116-120.
- [30] DOU L, POITEVIN S, SALLÉE M, et al. Aryl hydrocarbon receptor is activated in patients and mice with chronic kidney disease[J]. *Kidney Int*, 2018, 93(4): 986-999.
- [31] BOLATI D, SHIMIZU H, YISIREYILI M, et al. Indoxyl sulfate, a uremic toxin, downregulates renal expression of Nrf2 through activation of NF- κ B[J]. *BMC Nephrol*, 2013, 14: 56.
- [32] MASAI N, TATEBE J, YOSHINO G, et al. Indoxyl sulfate stimulates monocyte chemoattractant protein-1 expression in human umbilical vein endothelial cells by inducing oxidative stress through activation of the NADPH oxidase-nuclear factor- κ B pathway[J]. *Circ J*, 2010, 74(10): 2216-2224.
- [33] NGUYEN C, EDGLEY AJ, KELLY DJ, et al. Aryl hydrocarbon receptor inhibition restores indoxyl sulfate-mediated endothelial dysfunction in rat aortic rings[J]. *Toxins*, 2022, 14(2): 100.
- [34] KIM HY, YOO TH, HWANG Y, et al. Indoxyl sulfate (IS)-mediated immune dysfunction provokes endothelial damage in patients with end-stage renal disease (ESRD)[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 3057.

- [35] LAMPUGNANI MG, DEJANA E. Adherens junctions in endothelial cells regulate vessel maintenance and angiogenesis[J]. *Thromb Res*, 2007, 120(Suppl 2): S1-S6.
- [36] VILA CUENCA M, VAN BEZU J, BEELEN RHJ, et al. Stabilization of cell-cell junctions by active vitamin D ameliorates uraemia-induced loss of human endothelial barrier function[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2019, 34(2): 252-264.
- [37] ASSEFA EG, YAN QQ, GEZAHEGN SB, et al. Role of resveratrol on indoxyl sulfate-induced endothelial hyperpermeability via aryl hydrocarbon receptor (AHR)/src-dependent pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 5847040.
- [38] MACIEL RAP, CUNHA RS, BUSATO V, et al. Uremia Impacts VE-Cadherin and ZO-1 Expression in Human Endothelial Cell-to-Cell Junctions. *Toxins (Basel)*. 2018 Oct 7; 10(10): 404. [39] MEDINA-LEYTE DJ, ZEPEDA-GARCÍA O, DOMÍNGUEZ-PÉREZ M, et al. Endothelial dysfunction, inflammation and coronary artery disease: potential biomarkers and promising therapeutical approaches[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(8): 3850.
- [40] LIEW H, ROBERTS MA, POPE A, et al. Endothelial glycocalyx damage in kidney disease correlates with uraemic toxins and endothelial dysfunction[J]. *BMC Nephrol*, 2021, 22(1): 21.
- [41] KAMIŃSKI TW, PAWLAK K, KARBOWSKA M, et al. Indoxyl sulfate - the uremic toxin linking hemostatic system disturbances with the prevalence of cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease[J]. *BMC Nephrol*, 2017, 18(1): 35.
- [42] JALAL DI, CHONCHOL M, TARGHER G. Disorders of hemostasis associated with chronic kidney disease[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2010, 36(1): 34-40.
- [43] ZHOU SH, GUO J, ZHAO L, et al. ADAMTS13 inhibits oxidative stress and ameliorates progressive chronic kidney disease following ischaemia/reperfusion injury[J]. *Acta Physiol*, 2021, 231(3): e13586.
- [44] MATUSIK PT, LEŚNIAK WJ, HELENIAK Z, et al. Thromboembolism and bleeding in patients with atrial fibrillation and stage 4 chronic kidney disease: impact of biomarkers[J]. *Kardiol Pol*, 2021, 79(10): 1086-1092.
- [45] BELGHASEM M, ROTH D, RICHARDS S, et al. Metabolites in a mouse cancer model enhance venous thrombogenicity through the aryl hydrocarbon receptor-tissue factor axis[J]. *Blood*, 2019, 134(26): 2399-2413.
- [46] GONDOUIN B, CERINI C, DOU L, et al. Indolic uremic solutes increase tissue factor production in endothelial cells by the aryl hydrocarbon receptor pathway[J]. *Kidney Int*, 2013, 84(4): 733-744.
- [47] KARBOWSKA M, KAMINSKI TW, ZNORKO B, et al. Indoxyl sulfate promotes arterial thrombosis in rat model via increased levels of complex TF/VII, PAI-1, platelet activation as well as decreased contents of SIRT1 and SIRT3[J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1623.
- [48] ADDI T, POITEVIN S, MCKAY N, et al. Mechanisms of tissue factor induction by the uremic toxin indole-3 acetic acid through aryl hydrocarbon receptor/nuclear factor-kappa B signaling pathway in human endothelial cells[J]. *Arch Toxicol*, 2019, 93(1): 121-136.
- [49] YANG K, DU CH, WANG XM, et al. Indoxyl sulfate induces platelet hyperactivity and contributes to chronic kidney disease-associated thrombosis in mice[J]. *Blood*, 2017, 129(19): 2667-2679.
- [50] KRÖTZ F, SOHN HY, POHL U. Reactive oxygen species: players in the platelet game[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(11): 1988-1996.
- [51] DIAS GF, BONAN NB, STEINER TM, et al. Indoxyl sulfate, a uremic toxin, stimulates reactive oxygen species production and erythrocyte cell death supposedly by an organic anion transporter 2 (OAT2) and NADPH oxidase activity-dependent pathways[J]. *Toxins*, 2018, 10(7): 280.
- [52] LUTZ PDMJ, JURK PDRNK. Platelets in advanced chronic kidney disease: two sides of the coin[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2020, 46(3): 342-356.
- [53] ADDI T, DOU L, BURTEY S. Tryptophan-derived uremic toxins and thrombosis in chronic kidney disease[J]. *Toxins*, 2018, 10(10): 412.
- [54] MOHANDAS R, SEGAL MS. Endothelial progenitor cells and endothelial vesicles - what is the significance for patients with chronic kidney disease?[J]. *Blood Purif*, 2010, 29(2): 158-162.
- [55] LORENZEN J, DAVID S, BAHLMANN FH, et al. Endothelial progenitor cells and cardiovascular events in patients with chronic kidney disease: a prospective follow-up study[J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11477.
- [56] LIN CJ, WU CJ, WU PC, et al. Indoxyl sulfate impairs endothelial progenitor cells and might contribute to vascular dysfunction in patients with chronic kidney disease[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2016, 41(6): 1025-1036.
- [57] CHANG TT, CHEN JW. Hydralazine improves ischemia-induced neovasculogenesis via xanthine-oxidase inhibition in chronic renal insufficiency[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 151: 104509.
- [58] CHEN C, WU L, XIE CD, et al. The role of AMP-activated protein kinase α 1-mediated endoplasmic reticulum stress in alleviating the toxic effect of uremic toxin indoxyl sulfate on vascular endothelial cells by Klotho[J]. *J Appl Toxicol*, 2021, 41(9): 1446-1455.
- [59] CUI W, LENG B, LIU W, et al. Suppression of apoptosis in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) by klotho protein is associated with reduced endoplasmic reticulum oxidative stress and activation of the PI3K/AKT pathway[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 8489-8499.
- [60] KITAGAWA M, SUGIYAMA H, MORINAGA H, et al. A decreased level of serum soluble Klotho is an independent biomarker associated with arterial stiffness in patients with chronic kidney disease[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56695.
- [61] SUN CY, CHANG SC, WU MS. Suppression of Klotho expression by protein-bound uremic toxins is associated with increased DNA methyltransferase expression and DNA hypermethylation[J]. *Kidney Int*, 2012, 81(7): 640-650.

(方丽蓉 编辑)