

蛋白结合尿毒症毒素对尿毒症患者血管内皮细胞的损伤作用及机制研究

王娜, 孙建平*

青岛大学附属医院, 山东 青岛

收稿日期: 2022年12月28日; 录用日期: 2023年1月21日; 发布日期: 2023年1月31日

摘要

目的: 研究蛋白结合尿毒症毒素对尿毒症患者血管内皮细胞的损伤作用及机制。方法: 选取我院透析室维持性血液透析的尿毒症患者42例和健康管理科健康志愿者31例, 每例各抽取静脉全血10 ml, 经过血清分离、透析、低温真空冻干等处理后提取血清蛋白, 4℃保存备用。加入不同浓度的蛋白溶液尿毒症血清蛋白溶液为尿毒症组、正常血清蛋白溶液为正常组, 完全培养基为对照组。采用CCK-8法对HUVEC细胞增殖能力进行检测; 采用流式细胞仪分析HUVEC细胞凋亡能力; 于倒置相差显微镜下观察3组培养72 h后的HUVEC细胞形态。使用NO试剂盒检测NO表达水平; 采用rt-PCR检测IL-8 mRNA、ET-1 mRNA表达量。结果: 同一时间点, 3组相比, 尿毒症组增殖率明显降低($P < 0.05$); 同一时间点, 随着浓度的增加, 尿毒症组细胞受抑制的程度明显增加($P < 0.05$); 同一浓度的血清蛋白溶液, 随着时间的增加, 尿毒症组细胞增殖率明显下降($P < 0.05$)。相较于对照组与正常组, 尿毒症组不同时间点HUVEC细胞凋亡显著升高, 但无差异($P > 0.05$)。相较于对照组与正常组, 尿毒症组NO分泌显著降低($P < 0.05$), 随着浓度的增加NO分泌量显著减少($P < 0.05$)。相较于对照组与正常组, 尿毒症组IL-8 mRNA表达量显著升高($P < 0.05$), 随着浓度的增加IL-8 mRNA表达量显著增加($P < 0.05$)。相较于对照组与正常组, 尿毒症组ET-1 mRNA表达量显著升高($P < 0.05$), 随着浓度的增加ET-1 mRNA表达量显著增加($P < 0.05$)。相较于对照组与正常组, 尿毒症组eNOS mRNA表达量显著降低($P < 0.05$), 随着浓度的增加eNOS mRNA表达量显著降低($P < 0.05$)。尿毒症组EMPs表达较高($P < 0.05$)。结论: 蛋白结合尿毒症毒素能够抑制细胞增殖及NO的分泌, 提高IL-8 mRNA、ET-1 mRNA的表达量, 促进细胞损伤, 提示其是心脑血管并发症的重要诱发因素之一。

关键词

蛋白结合尿毒症毒素, 尿毒症, HUVEC细胞, NO, IL-8 mRNA, ET-1 mRNA, 细胞凋亡

*通讯作者 Email: 1009707401@qq.com

Study on the Damage Effect and Mechanism of Protein Binding Uremic Toxin on Vascular Endothelial Cells in Uremic Patients

Na Wang, Jianping Sun*

Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Dec. 28th, 2022; accepted: Jan. 21st, 2023; published: Jan. 31st, 2023

Abstract

Objective: To study the damage effect and mechanism of protein binding uremic toxin on vascular endothelial cells in uremic patients. **Methods:** 42 uremic patients with maintenance hemodialysis in the dialysis room of our hospital and 31 healthy volunteers in the health management department were selected. 10 ml of venous whole blood was extracted from each patient. After serum separation, dialysis, low-temperature vacuum freeze-drying and other treatments, serum protein was extracted and stored at 4°C for standby. Different concentrations of protein solution were added. Uremic serum protein solution was the uremic group, normal serum protein solution was the normal group, and complete culture medium was the control group. The proliferation of HUVEC cells was detected by CCK-8 method; The apoptotic ability of HUVEC cells was analyzed by flow cytometry; The morphology of HUVEC cells cultured for 72 h in three groups was observed under inverted phase contrast microscope. NO expression level was detected using NO kit; rt-PCR was used to detect the expression of IL-8 mRNA and ET-1 mRNA. **Results:** At the same time point, the proliferation rate of uremia group was significantly lower than that of the three groups ($P < 0.05$); At the same time point, with the increase of concentration, the degree of cell inhibition in uremia group increased significantly ($P < 0.05$); In the same concentration of serum protein solution, the cell proliferation rate of uremia group decreased significantly with the increase of time ($P < 0.05$). Compared with the control group and the normal group, the apoptosis of HUVEC cells in uremia group was significantly increased at different time points, but there was no difference ($P > 0.05$). Compared with the control group and the normal group, the NO secretion in the uremic group decreased significantly ($P < 0.05$), and the NO secretion decreased significantly with the increase of the concentration ($P < 0.05$). Compared with the control group and the normal group, the expression of IL-8 mRNA in the uremic group was significantly increased ($P < 0.05$), and the expression of IL-8 mRNA was significantly increased with the increase of the concentration ($P < 0.05$). Compared with the control group and the normal group, the expression of ET-1 mRNA in uremic group was significantly increased ($P < 0.05$), and the expression of ET-1 mRNA was significantly increased with the increase of concentration ($P < 0.05$). Compared with the control group and the normal group, the expression of eNOS mRNA in the uremic group decreased significantly ($P < 0.05$), and the expression of eNOS mRNA decreased significantly with the increase of concentration ($P < 0.05$). The expression of EMPs was higher in uremia group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Protein binding uremic toxin can inhibit cell proliferation and NO secretion, increase the expression of IL-8 mRNA and ET-1 mRNA, and promote cell damage, suggesting that it is one of the important inducing factors of cardiovascular and cerebrovascular complications.

Keywords

Protein Binding Uremic Toxin, Uremia, HUVEC Cells, NO, IL-8 mRNA, ET-1 mRNA, Apoptosis



1. 引言

慢性肾脏病(Chronic kidney disease, CKD)对人们的日常生活及生命安全带来严重的影响,且随着年龄增加而增加。相关研究表明,CKD所致主要并发症是心血管疾病(CVD),且发病风险不仅在终末期肾病明显增加,在患者肾功能不全的情况下也随之增加[1][2][3]。由于临床中对于该现象无法做出明确诊断,因此部分学者提出尿毒症危险因素对此类疾病发生具有一定的作用。蛋白结合尿素素正属于结合类血清白蛋白。据统计,迄今共发现20多种毒素,大部分分子量较小,而处于结合状态后,其分子量增加,这就造成了透析清除困难。据研究显示,当尿毒症毒素与血清蛋白结合后,蛋白结构变化,容易与药物竞争结合位点,同时还会形成对滴,进而对机体造成损害[4]。尿毒症毒素会随着肾功能的减退而逐渐累及,随着其水平的不断升高,进而导致代谢紊乱、尿毒症症状及多个系统功能障碍等[5][6]。心脑血管疾病作为尿症患者中最常出现的并发症之一,近年来关于尿毒症毒素为尿毒症发生的特有因素成为了新的研究方向,因此本文对蛋白结合尿毒症毒素对尿症患者血管内皮细胞的损伤作用进行研讨,并深入分析影响血管内皮细胞的损伤作用的作用机制。

2. 材料与方法

2.1. 材料

研究细胞:人脐静脉内皮细胞株(Human umbilical vein endothelial cell line, HUVEC)(上海谷研实业有限公司),DMEM高糖培养基、胎牛血清、0.25%胰酶(上海语纯生物科技有限公司),CD144抗体(深圳市豪地华拓生物科技有限公司),Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒(弗元(上海)生物科技有限公司),CCK-8试剂盒(北京康瑞纳生物科技有限公司),NO、IL-8、ET-1试剂盒(上海康朗生物科技有限公司)。

提取血清蛋白及配置

选取我院透析室维持性血液透析的尿症患者42例和健康管理科健康志愿者31例,抽取10 mL,分离、透析等一系列处理后进行提取蛋白,备用。

2.2. 细胞培养及分组

培养HUVEC,条件:10%胎牛血清DMEM高糖,37°C下孵育,传代。生长至对数后,进行接种,在6孔板以 2×10^4 个/cm²分组,贴壁融合后,换培养基,洗涤2次加入不同浓度的蛋白溶液尿毒症血清蛋白溶液(0.4%, 1.0%, 2.0%, 4.0%)为尿毒症组、正常血清蛋白溶液(0.4%, 1.0%, 2.0%, 4.0%)为正常组,刺激内皮细胞,设置完全培养基(对照组)。

2.3. 指标观察

2.3.1. HUVEC 细胞增殖检测

选取尿毒症组(0.4%, 1.0%, 2.0%, 4.0%)、正常组(0.4%, 1.0%, 2.0%, 4.0%)和空白对照组HUVEC进行实验,设置3个复孔;分别培养24、48、72 h。孵育到相应时间点,弃上清,PBS洗涤2次,配制检测反应液(CCK8:完全培养基=1:9),100 μL/孔,避光孵育4 h,酶标仪于450 nm波长处检测各孔光密度值[D(450)],以无细胞组作为调零组。

2.3.2. HUVEC 细胞凋亡检测

选取 4%尿毒症组、4%正常组和空白对照组 HUVEC 进行实验。72 h 后, 收集细胞, 洗涤 3 次, 按照 AnnexinV/PI 试剂盒操作, 使用流式细胞仪进行检测。

2.3.3. HUVEC 细胞形态

在显微镜下观察细胞形态。

2.3.4. NO 表达水平

取浓度为 4%的尿毒症组正常组和对照组 HUVEC 进行实验, 设置 3 复孔, 培养 25、48、72 h, 到相应时间点后, 取各组上清, 放置于 1.5 mL 管中; 然后 PBS 洗涤 2 次, 按 NO 试剂盒说明书依次加入检测试剂, 最后置于酶标仪中在 540 nm 处测其光密度值[D(540)]。

2.3.5. IL-8 mRNA、ET-1 mRNA、eNOS mRNA 表达量

选取浓度为 0.4%、1.0%、2.0%、4.0%尿毒症组、正常组和对照组 HUVEC 进行实验。TRIzol 法提取 RNA, 合成 cDNA, rt-PCR 检测内皮细胞白介素 8 (interleukin-8, IL-8)、ET-1 的 mRNA 表达、内皮型一氧化氮合酶(eNOS)。Real-Time PCR 引物序列见表 1, 由 bioT-NT 公司合成。

Table 1. PCR primer series

表 1. PCR 引物序列

基因	上游(5'-3')	下游(5'-3')
IL-8	TCAGAGACAGCAGCACAC	TTAGCACTCCTTGGCAAAC
ET-1	ATCATTGGGTCAACACTC	CTAGCACATTGGCATCTATT
eNOS	GCACTGAGATCGGCACGAG	CTTGTCTTTCCACAGGGACGAG
β -actin	AAGGTGACAGCAGTCGGTT	TGTGTGGACTTGGGAGAGG

2.3.6. 内皮细胞膜微粒(EMPs)检测

选取 4%尿毒症组、4%正常组和空白对照组 HUVEC 进行实验。72 h 后, 取上清, 4℃离心 5 min; 再取上清, 4℃离心 1 h; 弃上清, 加入 1 mL PBS 膜微粒; 取其中 100 μ L, 加入 10 μ L CD144 抗体, 气浴恒温振荡器 100 r/min, 孵育 30 min; 加入 300 μ L PBS, 使用流式细胞仪进行检测。

2.4. 统计学方法

临床研究过程中详细记录患者的各项研究的数据资料, 将其录入到计算机当中, 关于患者的结果相关数据使用 SPSS21.0 统计学软件处理, 计数单位和计量单位分别使用(%)和($\bar{x} \pm s$)表示对数据比较结果采用 χ^2 、 t 进行检验, 最终得出 $P < 0.05$, 具有统计学意义。

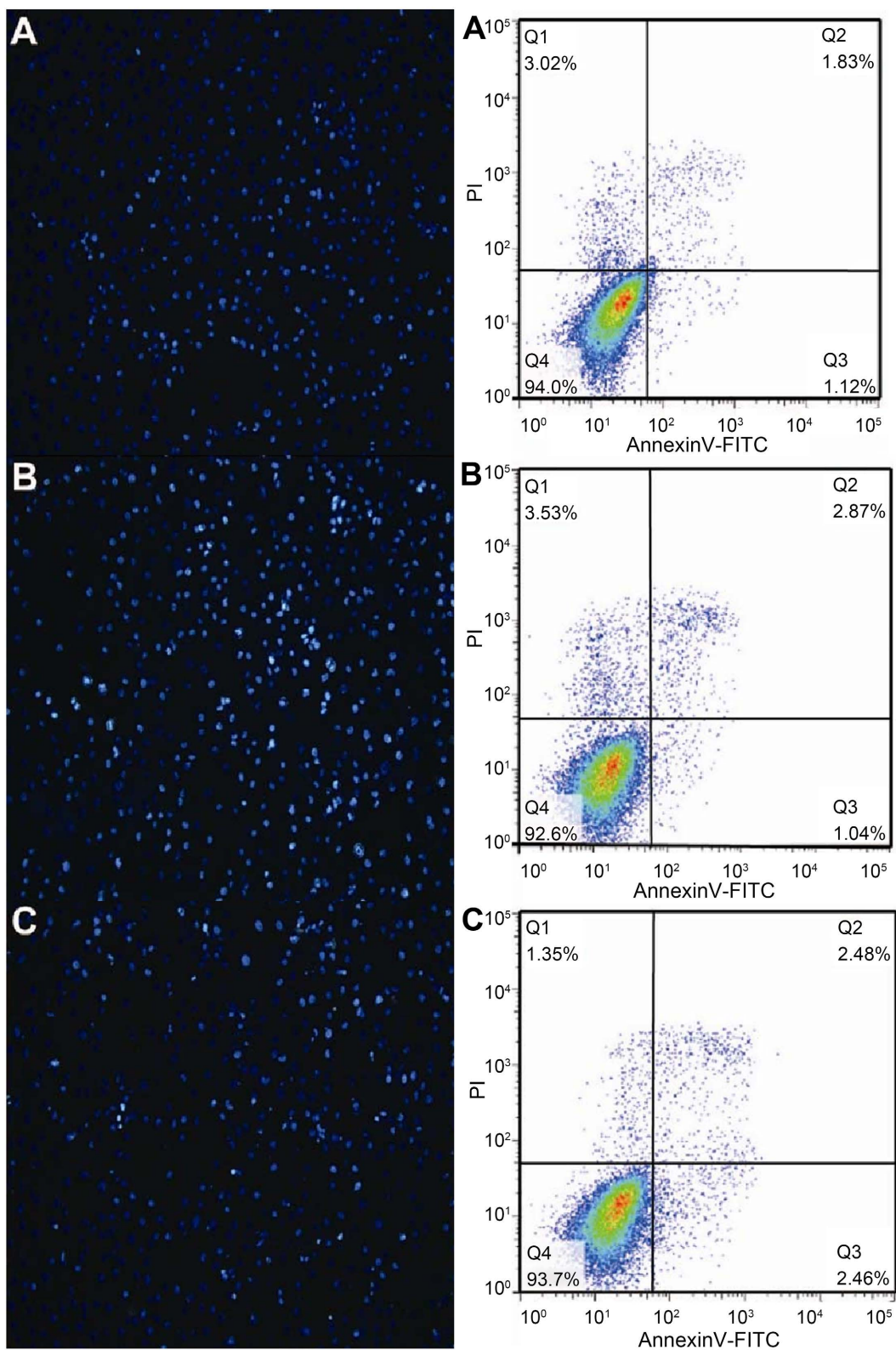
3. 结果

3.1. 不同浓度蛋白对 HUVEC 细胞增殖的影响

在同一时间点, 各组相比, 尿毒症组增殖率明显降低($P < 0.05$); 同一时间点, 随着浓度的增加, 尿毒症组细胞受抑制的程度明显增加($P < 0.05$); 同一浓度, 随着时间的增加尿毒症组增殖率明显降低($P < 0.05$), 如表 2 所示。

3.2. 不同时间点 4.0%浓度蛋白对 HUVEC 细胞凋亡的影响

相较于对照组与正常组, 尿毒症组不同时间点 HUVEC 细胞凋亡显著升高, 但无差异($P > 0.05$)。见表 3、图 1。



A: 对照组; B: 4.0%正常组; C: 4.0%尿毒症组

Figure 1. Comparison of 72-hour apoptosis of HUVEC cells between two groups

图 1. 两组 HUVEC 细胞 72 h 凋亡情况比较

Table 2. Effects of different concentrations of protein on proliferation of HUVEC cells ($\bar{x} \pm s$)**表 2.** 不同浓度蛋白对 HUVEC 细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	血清蛋白浓度	24 h	48 h	72 h
对照组		1.32 ± 0.03	1.79 ± 0.02	2.45 ± 1.16
尿毒症组	0.4%	1.11 ± 0.01 ^{abc}	1.42 ± 0.03 ^{abc}	1.35 ± 0.12 ^{abc}
	1.0%	0.97 ± 0.01 ^{abc}	1.29 ± 0.04 ^{abc}	1.11 ± 0.05 ^{abc}
	2.0%	0.82 ± 0.01 ^{abc}	1.14 ± 0.07 ^{abc}	0.89 ± 0.01 ^{abc}
	4.0%	1.21 ± 0.02 ^{abc}	1.52 ± 0.01 ^{abc}	1.68 ± 0.02 ^{abc}
正常组	0.4%	1.21 ± 0.03	1.71 ± 0.02	1.92 ± 0.02
	1.0%	1.13 ± 0.01	1.52 ± 0.02	1.68 ± 0.03
	2.0%	1.02 ± 0.03	1.34 ± 0.04	1.53 ± 0.02
	4.0%	0.89 ± 0.02	1.18 ± 0.01	1.38 ± 0.03

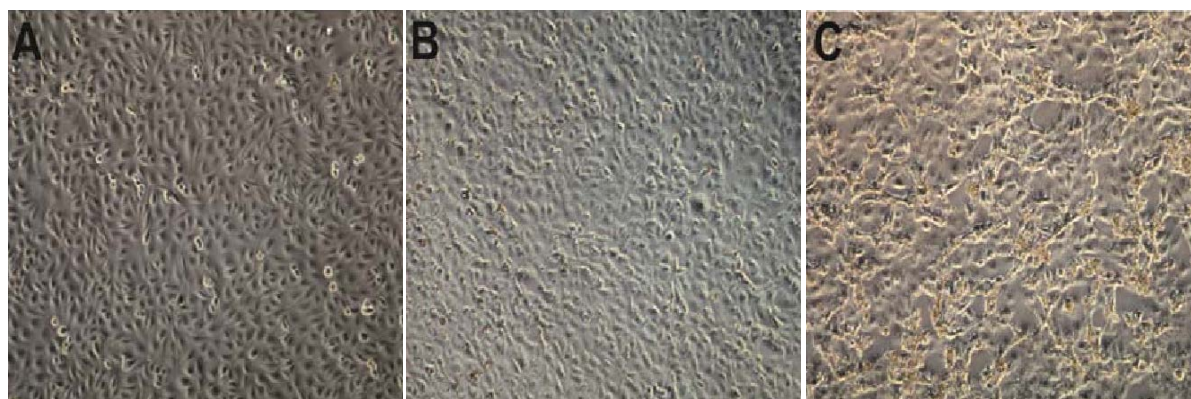
注: a 表示同一时间点对对照组与正常组对比, $P < 0.05$; b 表示同一浓度、不同时间点尿毒症组对比, $P < 0.05$; c 表示同一时间点、不同浓度尿毒症组比, $P < 0.05$ 。

Table 3. Effects of 4.0% concentration of protein on apoptosis of HUVEC cells at different time points ($\bar{x} \pm s$)**表 3.** 不同时间点 4.0%浓度蛋白对 HUVEC 细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h	72 h
对照组	4.13 ± 1.33	4.15 ± 1.15	5.16 ± 1.11
正常组	5.46 ± 3.11	5.66 ± 3.25	6.16 ± 2.35
尿毒症组	7.67 ± 2.15	7.89 ± 2.11	8.16 ± 2.15

3.3.3 组血清蛋白对 HUVEC 细胞形态的影响

对照组 HUVEC 细胞呈鹅卵石样排列有序, 大小、边界清。4.0%正常组的 HUVEC 细胞生长状态欠佳, 大小稍统一, 表面欠光整, 细胞突起。4.0%尿毒症组的 HUVEC 细胞状态差, 形态各异, 大小不统一, 细胞间隙明显增宽, 表面粗糙, 突起多, 部分呈网状, 胞浆颗粒增多, 如图 2 所示。



A: 对照组; B: 4.0%正常组; C: 4.0%尿毒症组

Figure 2. Cell morphology after 72 h culture in 3 groups ($\times 100$)**图 2.** 3 组培养 72 h 后细胞形态($\times 100$)

3.4.3 组培养 72 h 后 HUVEC 细胞 NO 分泌情况

相较于对照组与正常组, 尿毒症组 NO 分泌显著降低($P < 0.05$), 随着浓度的增加 NO 分泌量显著减少($P < 0.05$), 如表 4 及下图 3 所示。

Table 4. Comparison of NO secretion of HUVEC cells in 3 groups after 72 h culture [$(\bar{x} \pm s)$, $\mu\text{mol/L}$]

表 4. 3 组培养 72 h 后 HUVEC 细胞 NO 分泌情况对比[$(\bar{x} \pm s)$, $\mu\text{mol/L}$]

浓度	组别		
	对照组	正常组	尿毒症组
	13.56 \pm 0.32	-	-
0.4%	-	12.32 \pm 0.45	9.54 \pm 0.25 ^{ab}
1.0%	-	10.21 \pm 0.34	6.65 \pm 0.22 ^{ab}
2.0%	-	7.89 \pm 0.44	5.45 \pm 0.52 ^{ab}
4.0%	-	7.41 \pm 0.15	3.89 \pm 0.33 ^{ab}

注: a 与对照组相比 $P < 0.05$; b 与正常组相比 $P < 0.05$ 。

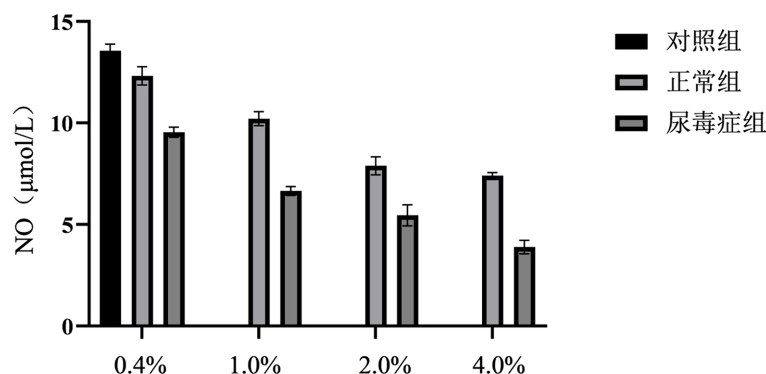


Figure 3. NO secretion of HUVEC cells in 3 groups after 72 h culture

图 3. 3 组培养 72 h 后 HUVEC 细胞 NO 分泌情况

3.5.3 组培养 72 h 后 HUVEC 细胞 IL-8 mRNA 表达量对比

相较于对照组与正常组, 尿毒症组 IL-8 mRNA 表达量显著升高($P < 0.05$), 浓度越高, IL-8 mRNA 表达量越高($P < 0.05$)如表 5 及下图 4 所示。

Table 5. Comparison of IL-8 mRNA expression in HUVEC cells after 72 h culture among 3 groups ($\bar{x} \pm s$)

表 5. 3 组培养 72 h 后 HUVEC 细胞 IL-8 mRNA 表达量对比($\bar{x} \pm s$)

浓度	组别		
	对照组	正常组	尿毒症组
	0.56 \pm 0.12	-	-
0.4%	-	0.58 \pm 0.02	1.53 \pm 0.23 ^{ab}
1.0%	-	0.68 \pm 0.01	1.67 \pm 0.25 ^{ab}
2.0%	-	0.71 \pm 0.03	1.73 \pm 0.22 ^{ab}
4.0%	-	0.78 \pm 0.01	1.84 \pm 0.23 ^{ab}

注: a 与对照组相比 $P < 0.05$; b 与正常组相比 $P < 0.05$ 。

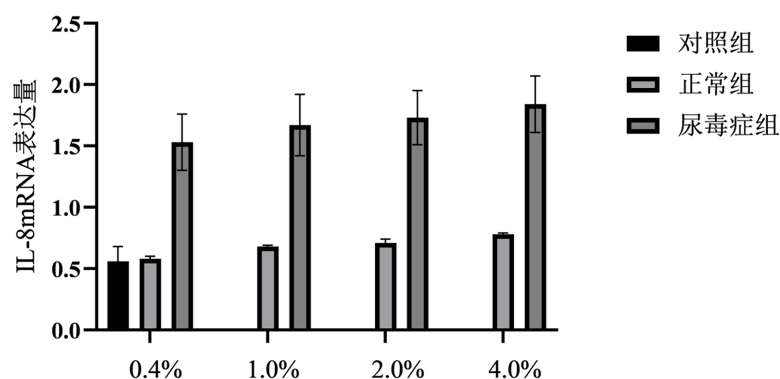


Figure 4. IL-8 mRNA expression of HUVEC cells in 3 groups after 72 h culture
图 4. 3 组培养 72 h 后 HUVEC 细胞 IL-8 mRNA 表达量

3.6.3 组培养 72 h 后 HUVEC 细胞 ET-1 mRNA 表达量对比

相较于对照组与正常组, 尿毒症组 ET-1 mRNA 表达量显著升高($P < 0.05$), 浓度越高, ET-1 mRNA 表达量越高($P < 0.05$)如表 6 及下图 5 所示。

Table 6. Comparison of ET-1 mRNA expression in HUVEC cells after 72 h culture among 3 groups ($\bar{x} \pm s$)

表 6. 3 组培养 72 h 后 HUVEC 细胞 ET-1 mRNA 表达量对比($\bar{x} \pm s$)

浓度	组别		
	对照组	正常组	尿毒症组
	0.36 ± 0.12	-	-
0.4%	-	0.38 ± 0.02	2.53 ± 0.23 ^{ab}
1.0%	-	0.48 ± 0.01	2.67 ± 0.25 ^{ab}
2.0%	-	0.51 ± 0.03	3.73 ± 0.22 ^{ab}
4.0%	-	0.58 ± 0.01	4.84 ± 0.23 ^{ab}

注: a 与对照组相比 $P < 0.05$; b 与正常组相比 $P < 0.05$ 。

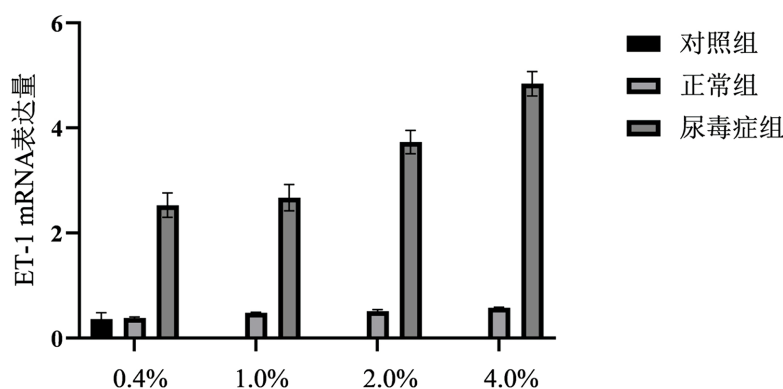


Figure 5. ET1 mRNA expression of HUVEC cells in 3 groups after 72 h culture
图 5. 3 组培养 72 h 后 HUVEC 细胞 ET-1 mRNA 表达量

3.7.3 组培养 72 h 后 HUVEC 细胞 eNOS mRNA 表达量对比

相较于对照组与正常组, 尿毒症组 eNOS mRNA 表达量显著降低($P < 0.05$), 随着浓度的增加 eNOS

mRNA 表达量显著降低($P < 0.05$)如表 7 所示。

Table 7. Comparison of eNOS mRNA expression levels in HUVEC cells from 3 groups after 72 h culture ($\bar{x} \pm s$)
表 7.3 组培养 72 h 后 HUVEC 细胞 eNOS mRNA 表达量对比($\bar{x} \pm s$)

浓度	组别		
	对照组	正常组	尿毒症组
	2.36 ± 0.12	-	-
0.4%	-	2.18 ± 0.02	0.83 ± 0.03 ^{ab}
1.0%	-	1.48 ± 0.01	0.67 ± 0.05 ^{ab}
2.0%	-	1.31 ± 0.03	0.43 ± 0.02 ^{ab}
4.0%	-	1.18 ± 0.01	0.34 ± 0.03 ^{ab}

注: a 与对照组相比 $P < 0.05$; b 与正常组相比 $P < 0.05$ 。

3.8. 对 EMPs 所产生的影响

尿毒症组 EMPs 表达分别高于正常组、对照组($P < 0.05$), 正常组 EMPs 表达高于正常组($P < 0.05$)如表 8 所示。

Table 8. Comparison of EMPs expression among 3 groups [$\bar{x} \pm s$], %
表 8.3 组 EMPs 表达对比[$\bar{x} \pm s$], %]

指标	组别		
	对照组	正常组	尿毒症组
EMPs	7.34 ± 0.34	13.56 ± 0.89	62.45 ± 1.34

4. 讨论

慢性肾脏病(Chronic kidney disease, CKD)患病率逐年增高, 已高达 10%, 与此同时, 肾衰竭的患者也呈递增趋势。随着肾功能的衰退, 患者会产生许多并发症。流行病学结果分析表明, 即使肾功能轻度损伤, 其心脑血管疾病的发病率也远高于健康人群[6] [7] [8]。诸多学者研究发现, 尿毒症毒素已成为引起 CDK 心血管发生的主要因素。

尿毒症毒素的研究从 60 年代末就开始, 诸多学者进行了相关研究, 但由于技术限制, 直到本世纪初, 才逐渐对尿毒症毒素的分子、蛋白结构等进行研究。CDK 死亡率较高, 有报道指出[9], 大部分患者死亡均与心血管并发症有关。国外学者通过对慢性肾脏疾病患者的危险因素进行研究发现, 不仅包含高血压、高血脂等传统因素, 还有诸如尿毒症毒素、氧化应激等因素[10]。研究显示, 当尿毒症毒素与血清蛋白结合后, 蛋白结构变化, 容易与药物竞争结合位点, 同时还会形成对滴, 进而对机体造成损害[11]。近年来分子分离与检测技术的不断发展, 诸多学者发现了蛋白尿毒症的新型毒素。这对后期的预防有着极为重要的作用。对于尿毒症毒素的清除, 临床上主要采用血液透析和腹膜透析。与蛋白结合尿毒症毒素相比, 小分子水溶性毒素和中分子毒素能取得较好的清除效果[12] [13] [14] [15]。本文研究显示, 同一时间点, 随着浓度的增加, 尿毒症组细胞受抑制的程度明显增加且同一浓度的血清蛋白溶液, 随着时间的增加, 尿毒症组细胞增殖率明显下降。此结果说明, 蛋白溶液能够直接作用于尿毒症组细胞, 降低其细胞增殖率。

血管内皮细胞损伤及功能障碍是血管疾病的始动环节[16] [17]。本文研究中发现, 对照组 HUVEC 细胞大小均一、边界清晰, 浓度为 4% 的尿毒症组细胞生长状态极差, 并且大小、形态各不相同, 间隙宽,

表面粗糙, 细胞突起增多。细胞增殖受到抑制, 细胞的 NO 分泌减少、NOS 活性则会大大降低; 于此同时蛋白浓度的升高, 对内皮细胞的损伤则越重, 毒性随着浓度的增加而增加。NO 是内皮细胞在 NOS 作用下所分泌的重要舒张因子。NO 分泌的减少, 会导致血管舒张障碍、增加血管的压力[18] [19] [20]。内皮细胞损伤后会大量释放浆细胞粘附因子, 增加白细胞的生成, 促使炎症反应, 加速心血管不良事件的发生[21]。EMPs 是一种由脱落得来的微小磷脂囊泡结构, 在细胞信息交流、信号启动以及受体转换中发挥着重要作用。循环中的 EMPs 可调控内皮细胞 NO 及 PGI² 信号通路, 产生的 TXA² 可直接作用于平滑肌细胞, 且对 NO 的生成均具有一定的反作用[22] [23] [24] [25]。本文中, 尿毒症组 EMPs 表达分别高于正常组、对照组, 正常组 EMPs 表达高于正常组, 由此说明, 蛋白结合尿毒症毒素能损伤内皮细胞, 从而增加尿症患者心血管事件的发生。

综上所述, 蛋白结合尿毒症毒素能够抑制细胞的增殖、抑制 NO 的分泌, 提高 IL-8 mRNA、ET-1 mRNA 的表达量, 导致 HUVEC 细胞损伤, 提示其属于心脑血管并发症的重要诱发因素之一。

参考文献

- [1] 吴其顺, 王琳. 基因检测在慢性肾脏病诊治中的应用[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2022, 31(2): 165-169.
- [2] 朱之胡, 韩克强, 韩维雪, 等. Apelin 在慢性肾脏病并发症发生发展中的作用及机制研究进展[J]. 山东医药, 2022, 62(14): 93-95.
- [3] 高庆, 李晓军. 血清镁与老年慢性肾脏病患者心血管事件的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(8): 1923-1926.
- [4] 戴铭卉, 孔薇. 泄浊排毒方对慢性肾脏病大鼠模型蛋白结合型尿毒症毒素清除的影响[J]. 中国中医急症, 2017, 26(7): 1160-1162, 1171.
- [5] 刘伟俊, 吴锡信, 江峡. 蛋白结合尿毒症毒素与血液净化的研究现状[J]. 现代医院, 2020, 20(7): 1053-1057.
- [6] 周蕾. 蛋白结合毒素与心血管疾病[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2018, 27(3): 279-283.
- [7] 李立萍, 李媛媛, 王少华, 等. 尿毒症毒素硫酸吡啶酚在体外对人肾小球足细胞骨架的损伤及其机理研究[J]. 中华肾病研究电子杂志, 2020, 9(3): 112-116.
- [8] Hobby, G.P., Karaduta, O., Dusio, G.F., et al. (2019) Chronic Kidney Disease and the Gut Microbiome. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, **316**, F1211-F1217. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00298.2018>
- [9] Yamamoto, S., Sasahara, K., Domon, M., et al. (2021) pH-Dependent Protein Binding Properties of Uremic Toxins *in Vitro*. *Toxins (Basel)*, **13**, 116. <https://doi.org/10.3390/toxins13020116>
- [10] Major, R.W., Cheng, M.R.I., Grant, R.A., et al. (2018) Cardiovascular Disease Risk Factors in Chronic Kidney Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS ONE*, **13**, e0192895. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192895>
- [11] Maheshwari, V., Tao, X., Thijssen, S., et al. (2021) Removal of Protein-Bound Uremic Toxins Using Binding Competitors in Hemodialysis: A Narrative Review. *Toxins (Basel)*, **13**, 622. <https://doi.org/10.3390/toxins13090622>
- [12] Kidney Disease. Improving Global Outcomes (KDIGO) Diabetes Work Group (2020) KDIGO 2020 Clinical Practice Guideline for Diabetes Management in Chronic Kidney Disease. *Kidney International*, **98**, S1-S115. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.06.019>
- [13] Akchurin, O.M. (2019) Chronic Kidney Disease and Dietary Measures to Improve Outcomes. *Pediatric Clinics of North America*, **66**, 247-267. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2018.09.007>
- [14] Maheshwari, V., Thijssen, S., Tao, X., et al. (2019) *In Silico* Comparison of Protein-Bound Uremic Toxin Removal by Hemodialysis, Hemodiafiltration, Membrane Adsorption, and Binding Competition. *Scientific Reports*, **9**, Article No. 909. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37195-1>
- [15] Madero, M., Cano, K.B., Campos, I., et al. (2019) Removal of Protein-Bound Uremic Toxins during Hemodialysis Using a Binding Competitor. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, **14**, 394-402. <https://doi.org/10.2215/CJN.05240418>
- [16] 李贵友, 刘伦志. 蛋白质结合的尿毒症毒素与血液透析患者认知功能的研究进展[J]. 临床荟萃, 2020, 35(4): 380-384.
- [17] 唐玲, 邓晓风, 代青, 等. 不同血液净化方法清除维持性血液透析患者血清蛋白结合类尿毒症毒素的效果比较[J]. 大医生, 2019, 4(4): 136-137.
- [18] Yanai, H., Adachi, H., Hakoshima, M., et al. (2021) Molecular Biological and Clinical Understanding of the Patho-

- physiology and Treatments of Hyperuricemia and Its Association with Metabolic Syndrome, Cardiovascular Diseases and Chronic Kidney Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 9221. <https://doi.org/10.3390/ijms22179221>
- [19] Chou, Y.H., Pan, S.Y., Shao, Y.H., *et al.* (2020) Methylation in Pericytes after Acute Injury Promotes Chronic Kidney Disease. *Journal of Clinical Investigation*, **130**, 4845-4857. <https://doi.org/10.1172/JCI135773>
- [20] Zhang, X., Agborbesong, E., and Li, X. (2021) The Role of Mitochondria in Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease and Its Therapeutic Potential. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 11253. <https://doi.org/10.3390/ijms222011253>
- [21] 王金标, 胡绍通, 卢梓添, 等. 联合检测血清 EMPs, H-FABP 与 ST 段抬高型急性心肌梗死患者近期预后的相关性[J]. 吉林医学, 2021, 42(10): 2427-2429.
- [22] 王爱国, 程彩霞, 蒋翔宁, 等. AMI 患者血中 EMPs、sICAM-1、Cys-C 水平与冠脉病变的相关性[J]. 中南医学科学杂志, 2020, 48(4): 378-381.
- [23] 刘继红. AMI 患者血 EMPs、sICAM-1、Cys-C 水平变化与冠脉病变的相关性分析[J]. 医学临床研究, 2019, 36(3): 599-601.
- [24] Shao, Y., MacLehose, R.F., Lin, L., *et al.* (2020) A Bayesian Approach for Determining the Relationship between Various Elongate Mineral Particles (EMPs) Definitions. *Annals of Work Exposures and Health*, **64**, 993-1006. <https://doi.org/10.1093/annweh/wxaa074>
- [25] Najahi, H., Alessio, N., Squillaro, T., *et al.* (2022) Environmental Microplastics (EMPs) Exposure Alter the Differentiation Potential of Mesenchymal Stromal Cells. *Environmental Research*, **214**, Article ID: 114088. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114088>