

硫酸吲哚酚对心肌梗死模型小鼠心肌重构的影响

冯鲁信^{1,2} 刘涛³ 徐庆玲⁴ 万浩然^{1,2} 孙志雨^{1,2} 郭俊杰^{1,5}

(1 青岛大学附属医院心内科,山东 青岛 266003; 2 青岛大学青岛医学部; 3 康复大学青岛中心医院(青岛市中心医院); 4 青岛大学基础医学院; 5 青岛市高血压病重点实验室(心血管内科重点实验室))

[摘要] 目的 探讨硫酸吲哚酚(IS)对心肌梗死(myocardial infarction, MI)模型小鼠心肌重构的影响。方法 C57BL/6J 成年雄性小鼠 50 只,随机分为假手术组(Sham 组)10 只,硫酸吲哚酚组(Sham+IS 组)10 只,心肌梗死组(MI 组)15 只,心肌梗死+硫酸吲哚酚组(MI+IS 组)15 只。采用左前降支冠状动脉结扎术构建小鼠 MI 模型,术后第 24 小时,Sham+IS 组和 MI+IS 组小鼠每天腹腔注射 IS 100 mg/kg,Sham 组和 MI 组每天腹腔注射等体积 PBS,连续 28 d,期间记录各组小鼠存活情况。实验第 30 天,心脏超声检查评估各组小鼠心脏功能,超高效液相色谱法检测各组小鼠血清中 IS 浓度,Masson 染色评估各组小鼠梗死区心肌纤维化程度,RT-qPCR 技术检测心肌组织 α -sma、Collagen I 基因的表达水平,Western blot 技术检测心肌组织 TGF- β 信号通路标记蛋白 TGF- β 、p-Smad2、p-Smad3 的表达水平。结果 实验第 30 天时,与 MI 组相比,MI+IS 组小鼠存活率显著下降($\chi^2=5.02$, $P<0.05$)。与 Sham 组相比,Sham+IS 组小鼠血清中 IS 浓度显著升高($t=54.87$, $P<0.05$),与 MI 组相比,MI+IS 组小鼠血清中 IS 浓度显著升高($t=38.55$, $P<0.05$)。心脏超声检查示,Sham 组和 Sham+IS 组的小鼠左室舒张末期内径(LVIDd)、左室收缩末期内径(LVIDs)、左室射血分数(LVEF)、左室短轴缩短率(LVFS)无显著差异($P>0.05$);与 MI 组相比,MI+IS 组小鼠 LVIDd、LVIDs 显著增大($t=3.96$ 、 4.31 , $P<0.05$),LVEF、LVFS 显著降低($t=5.68$ 、 4.07 , $P<0.05$)。Masson 染色示,MI+IS 组与 MI 组比较小鼠心肌间质胶原纤维沉积明显增多。RT-qPCR 技术检测显示,MI+IS 组与 MI 组相比,小鼠心肌组织 α -sma、Collagen I 基因的表达水平显著升高($t=8.74$ 、 4.78 , $P<0.05$)。Western blot 方法检测显示,MI+IS 组与 MI 组相比小鼠心肌组织中 TGF- β 、p-Smad2、p-Smad3 蛋白的表达水平均显著升高($t=4.04\sim 5.64$, $P<0.05$)。结论 IS 可加重小鼠 MI 后病理性心肌重构,其机制可能与 TGF- β 信号通路激活相关。

[关键词] 靛甙;心肌梗死;疾病模型,动物;心室重构;转化生长因子 β ;信号传导

[中图分类号] R542.22 **[文献标志码]** A

Effect of indoxyl sulfate on myocardial remodeling in a mouse model of myocardial infarction FENG

Luxin, LIU Tao, XU Qingling, WAN Haoran, SUN Zhiyu, GUO Junjie (Department of Cardiology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of indoxyl sulfate (IS) on myocardial remodeling in a mouse model of myocardial infarction (MI). **Methods** A total of 50 adult male C57BL/6J mice were randomly divided into sham-operation group (Sham group) with 10 mice, sham operation+indoxyl sulfate group (Sham+IS group) with 10 mice, myocardial infarction group (MI group) with 15 mice, and myocardial infarction+indoxyl sulfate group (MI+IS group) with 15 mice. Left anterior descending coronary artery ligation was performed to establish a mouse model of MI, and at 24 hours after surgery, the mice in the Sham+IS group and the MI+IS group were given intraperitoneal injection of IS (100 mg/kg), while those in the Sham group and the MI group were given intraperitoneal injection of an equal volume of PBS, once a day for 28 consecutive days. The survival status of the mice in each group was recorded during this period of time. On day 30 of the experiment, echocardiography was performed to evaluate the cardiac function of mice in each group. Ultra-performance liquid chromatography was used to measure the serum concentration of IS. Masson staining was used to assess the degree of myocardial fibrosis in the infarct zone. RT-qPCR was used to measure the mRNA expression levels of α -sma and Collagen I in myocardial tissue. Western blot was used to measure the protein expression levels of the TGF- β signaling pathway marker proteins TGF- β , p-Smad2, and p-Smad3 in myocardial tissue. **Results** On day 30 of the experiment, the MI+IS group had a significant reduction in the survival rate of mice compared with the MI group ($\chi^2=5.02$, $P<0.05$). Compared with the Sham group, the Sham+IS group had a significant increase in the serum concentration of IS ($t=54.87$, $P<0.05$), and compared with the MI group, the MI+IS group had a significant increase in the serum concentration

of IS ($t=38.55$, $P<0.05$). Echocardiography showed no significant differences between the Sham group and the Sham+IS group in left ventricular internal diameter at end-diastole (LVIDd), left ventricular internal diameter at end-systole (LVIDs), left ventricular ejec-

[收稿日期] 2024-03-21; **[修订日期]** 2024-05-16

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82370272);山东省自然科学基金项目(ZR2023MH337)

[通讯作者] 郭俊杰, Email: guojunjie@qdu.edu.cn

tion fraction (LVEF), and left ventricular fractional shortening (LVFS) ($P>0.05$). Compared with the MI group, the MI+IS group had significant increases in LVIDd and LVIDs ($t=3.96, 4.31, P<0.05$) and significant reductions in LVEF and LVFS ($t=5.68, 4.07, P<0.05$). Masson staining showed that compared with the MI group, the MI+IS group had a significant increase in interstitial collagen fiber deposition. RT-qPCR showed that compared with the MI group, the MI+IS group had significant increases in the mRNA expression levels of α -sma and Collagen I in myocardial tissue ($t=8.74, 4.78, P<0.05$). Western blot showed that compared with the MI group, the MI+IS group had significant increases in the protein expression levels of TGF- β , p-Smad2, and p-Smad3 in myocardial tissue ($t=4.04-5.64, P<0.05$). **Conclusion** IS can aggravate pathological myocardial remodeling in mice with MI, possibly by activating the TGF- β signaling pathway.

[KEY WORDS] Indican; Myocardial infarction; Disease models, animal; Ventricular remodeling; Transforming growth factor beta; Signal transduction

在全球范围内,心肌梗死(MI)仍是导致人类死亡的主要原因之一,尽管再灌注治疗策略在一定程度上降低了患者的病死率,但MI后心力衰竭的发生,仍对患者的预后构成严重威胁^[1]。以心肌肥大、心肌纤维化等为特征的病理性心肌重构是MI后心力衰竭发生的重要机制之一^[2]。硫酸吡啶酚(IS)是一种小分子蛋白结合型尿毒症毒素^[3],与心力衰竭、心律失常等心血管疾病的发生密切相关^[4-7],但目前IS对MI后病理性心肌重构的影响尚不明确。本研究通过检测IS对MI模型小鼠存活率、心功能等的影响,探讨IS对MI后心肌重构的影响及其作用机制,旨在为MI后病理性心肌重构的干预治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物与材料

成年雄性C57BL/6J小鼠50只,8~10周龄,体质量20~22 g,购买于北京华阜康生物科技公司。IS、蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂购买于美国Med-ChemExpress公司。TRIzol购自美国Invitrogen公司。RIPA裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。Masson染色液购自北京索莱宝科技有限公司。

1.2 动物分组及MI模型的构建

将小鼠随机分为四组,即假手术组(Sham组)10只,硫酸吡啶酚组(Sham+IS组)10只,心肌梗死组(MI组)15只,心肌梗死+硫酸吡啶酚组(MI+IS组)15只。所有小鼠予以2%异氟烷吸入麻醉后,在动物呼吸机支持下开胸并暴露心脏,MI组和MI+IS组小鼠采用左前降支冠状动脉结扎术构建MI模型,用6-0丝线在左心耳下缘2~3 mm处结扎,结扎点以下至心尖部心肌泛白,提示造模成功;Sham组和Sham+IS组小鼠将6-0丝线在左心耳下缘2~3 mm处穿过,不进行结扎。术后24 h,Sham+IS组以及MI+IS组小鼠每天腹腔注射IS

100 mg/kg,Sham组及MI组小鼠每天腹腔注射等体积PBS,均连用28 d。期间记录各组小鼠生存情况,计算各组小鼠的存活率。

1.3 心脏超声检查评估小鼠心脏功能

在实验第30天时,各组小鼠以2%异氟烷吸入麻醉,使用VINNO 6 LAB型动物超声成像系统(苏州飞依诺科技有限公司),在小鼠乳头肌水平的胸骨旁长轴视图中记录二维引导的M型图像。通过设定的标准公式计算左心室舒张末期内径(LVIDd)、左心室收缩末期内径(LVIDs)、左心室短轴缩短率(LVFS)、左心室射血分数(LVEF)。

1.4 超高效液相色谱(UPLC)法检测小鼠血清中IS浓度

心脏超声检查结束后,眼球取血法收集各组小鼠血液样本,置于不含抗凝剂试管中,4℃静置过夜后,以3 000 r/min室温离心10 min,上清液即为血清,将血清置于1.5 mL的EP管中。参考既往研究方法^[8],用UPLC法检测各组小鼠血清IS浓度。

1.5 Masson染色评估小鼠心肌组织纤维化水平

各组小鼠眼球取血后,颈椎脱臼法处死,剥离心脏,每组随机选取3只小鼠心脏组织,生理盐水冲洗后置于4%多聚甲醛溶液中固定24 h,梯度乙醇脱水后,将心脏组织包埋在石蜡中。使用Masson染色液对心脏组织石蜡切片(厚度3~5 μ m)进行染色,光学显微镜下观察各组小鼠心肌间质胶原纤维沉积情况。

1.6 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)技术检测小鼠心肌组织 α -sma、Collagen I基因的表达水平

将各组小鼠剩余所有心肌组织漂洗后剪碎,分别随机称取30 mg置于1.5 mL离心管,每管加入1 mL TRIzol后在组织研磨仪中充分研磨,按照试剂盒说明书的操作要求完成总RNA提取,-80℃保存备用。按照反转录试剂盒说明书步骤将1 μ g RNA反转录为cDNA,继而以此为模板进行RT-qPCR。实验所用引物序列由生工生物工程(上海)

股份有限公司设计合成,引物序列: α -sma F:5'-TG-GAGCCTCATGTACCTGGTAACC-3', α -sma R:5'-CTGCCGATCFCTGCCAATCACTG-3'; Collagen I F:5'-ACAGGCGAACAAGGTGACAGAG-3', Collagen I R:5'-AGGAGAACCAGGAGAAC-CAGGAG-3'; GAPDH F:5'-AACTTTGGCATT-GTGAAGGGCTC-3', GAPDH R:5'-TGGAAG-AGTGGGAGTTGCTGTTGA-3'。以 GAPDH 为内参照,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算目的基因的相对表达量。实验重复 3 次,结果取均值。

1.7 蛋白质印迹(Western blot)法检测小鼠心肌组织 TGF- β 信号通路相关标记蛋白表达水平

随机取每组小鼠心肌组织碎块各 20~30 mg 置于 1.5 mL EP 管中,按照 RIPA 裂解液:蛋白酶抑制剂:磷酸酶抑制剂=100:1:1 的比例,每管中加入 300 μ L 的总裂解液,充分研磨后冰上静置 30 min,提取组织总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度后加入 SDS-PAGE 上样缓冲液蛋白 loading buffer,98 $^{\circ}$ C 煮沸 10 min 变性,待冷却后-80 $^{\circ}$ C 储存备用。蛋白样品(20~30 μ g)以 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离后,转膜 1 h,使用快速封闭液(QuickBlockTM Blocking Buffer)封闭 15 min 以后,依次加入兔抗鼠 TGF- β 多克隆抗体(1:500)、兔抗鼠 Smad2/3 单克隆抗体(1:1000)、兔抗鼠 p-Smad2 单克隆抗体(1:1000)、兔抗鼠 p-Smad3 单克隆抗体(1:1000)、兔抗鼠 GAPDH 多克隆抗体(1:10000)后,于 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,以 TBST 溶液清洗后,加入山羊抗兔二抗(1:5000)室温孵育 1.5 h,使用超敏 ECL 发光液显影。使用 Image J 软件分析相关蛋白的灰度值,以 GAPDH 为内参照,目的蛋白的相对表达水平以目的蛋白灰度值/内参照蛋白灰度值表示。实验重复 3 次,结果取均值。

1.8 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.0 软件对数据进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 Dunnett- t 检验。绘制 Kaplan-Meier 生存曲线,采用 log-rank 检验比较四组间生存率有无统计学差异。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 IS 对各组小鼠存活率的影响

实验第 30 天时,Sham 组与 Sham+IS 组小鼠全部存活,MI 组小鼠存活 13 只,MI+IS 组小鼠存

活 7 只,Kaplan-Meier 生存分析显示,各组小鼠存活率比较差异有显著性($\chi^2 = 16.95, P < 0.05$),其中 MI+IS 组与 MI 组、Sham 组、Sham+IS 组相比,小鼠存活率显著降低($\chi^2 = 5.02 \sim 7.20, P < 0.05$),Sham 组与 Sham+IS 组、Sham 组与 MI 组、MI 组与 Sham+IS 组相比,小鼠存活率差异无显著意义($P > 0.05$)。见图 1。

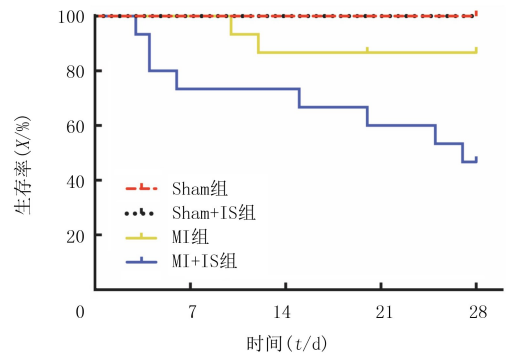


图 1 各组小鼠的 Kaplan-Meier 生存曲线

2.2 IS 对各组小鼠心脏功能的影响

实验第 30 天时,心脏超声检查结果显示,四组小鼠的心脏功能各项指标比较差异均具有显著性($F = 48.41 \sim 140.60, P < 0.05$);其中 MI+IS 组与 MI 组、MI 组与 Sham 组、MI 组与 Sham+IS 组各项指标比较差异均有显著性($t = 3.96 \sim 14.54, P < 0.05$),Sham+IS 组与 Sham 组各项指标比较差异无显著性($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组小鼠心脏功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	LVIDd (d/mm)	LVIDs (d/mm)	LVEF (X/%)	LVFS (X/%)
Sham 组	10	3.35 \pm 0.11	2.28 \pm 0.12	68.57 \pm 2.77	34.06 \pm 2.02
Sham+IS 组	10	3.52 \pm 0.18	2.37 \pm 0.12	67.36 \pm 2.49	32.74 \pm 1.50
MI 组	13	4.17 \pm 0.16	3.07 \pm 0.23	51.75 \pm 3.18	23.60 \pm 1.30
MI+IS 组	7	4.95 \pm 0.51	3.61 \pm 0.29	41.21 \pm 4.41	19.08 \pm 2.91

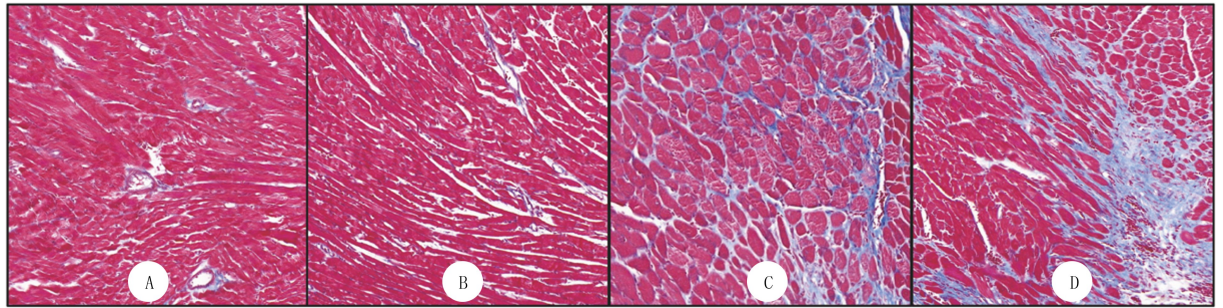
2.3 各组小鼠血清中 IS 浓度比较

实验第 30 天时,Sham 组、Sham+IS 组、MI 组及 MI+IS 组小鼠血清 IS 浓度分别为(0.09 \pm 0.01)、(3.09 \pm 0.17)、(0.13 \pm 0.03)、(3.27 \pm 0.22)mg/L,各组小鼠血清中 IS 浓度比较差异具有显著意义($F = 1449.00, P < 0.05$);Sham+IS 组与 Sham 组、MI+IS 组与 MI 组、Sham+IS 组和 MI 组比较,血清中 IS 的浓度显著升高($t = 38.55 \sim 54.87, P < 0.05$),Sham 组和 MI 组比较血清中 IS 浓度差异无显著性($P > 0.05$)。

2.4 IS 对各组小鼠心肌纤维化的影响

各组小鼠心肌组织的 Masson 染色结果显示,

Sham 组和 Sham+IS 组未见异常胶原纤维沉积, MI 组和 Sham 组相比,可见明显的胶原纤维沉积, MI+IS 组和 MI 组比较,心肌间质胶原纤维沉积明显增多(图 2),图中蓝色染色部分为沉积的心肌间质胶原纤维。各组小鼠 α -sma、Collagen I 基因表达水平比较差异有显著性 ($F = 101.30, 64.90, P < 0.05$); MI+IS 组与 MI 组、MI 组与 Sham 组比较, α -sma、Collagen I 表达水平差异具有显著意义 ($t = 4.22 \sim 8.80, P < 0.05$),但 Sham 和 Sham+IS 组间比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。见表 2。



A: Sham 组, B: Sham+IS 组, C: MI 组, D: MI+IS 组, Masson 染色法, 200 倍

图 2 各组小鼠梗死区心肌间质胶原纤维沉积情况

表 2 各组小鼠心肌纤维化相关基因的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	α -sma	Collagen I
Sham 组	3	1.01±0.01	1.01±0.01
Sham+IS 组	3	1.24±0.27	1.11±0.14
MI 组	3	5.15±2.40	9.06±2.24
MI+IS 组	3	24.71±4.93	19.36±4.78

表 3 各组小鼠心肌组织中 TGF- β 信号通路相关标记蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	TGF- β	p-Smad2	p-Smad3
Sham 组	3	0.17±0.03	0.13±0.04	0.17±0.04
Sham+IS 组	3	0.20±0.01	0.18±0.02	0.19±0.04
MI 组	3	0.71±0.06	0.42±0.06	0.42±0.05
MI+IS 组	3	0.92±0.11	0.64±0.07	0.58±0.07

3 讨 论

得益于再灌注治疗策略的开展,MI 患者的病死率近几年显著下降,但梗死后心力衰竭的发生仍然是影响患者长期预后的重要因素之一^[2],而病理性心肌重构则是梗死后心力衰竭发生的关键原因,其病理过程涉及心肌肥厚、心肌纤维化、炎症过度激活、细胞代谢失衡以及血管再生抑制等^[2,8]。研究表明,与肾功能正常 MI 患者相比,慢性肾脏疾病 (CKD) 患者 MI 病死率显著升高^[10-11],其中,尿毒症

2.5 IS 对心肌组织中 TGF- β 信号通路相关标记蛋白表达的影响

Western blot 方法检测结果显示,各组间心肌组织中 TGF- β 、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达水平比较差异具有显著性 ($F = 88.48 \sim 200.30, P < 0.05$); MI+IS 组和 MI 组、MI 组和 Sham 组比较, TGF- β 、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达水平均性增高,差异具有显著统计学意义 ($t = 4.04 \sim 18.91, P < 0.05$),但 Sham+IS 组和 Sham 组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。见表 3。

毒素作为 CKD 相关危险因素在 MI 后心肌病理性改变过程中发挥重要作用^[12]。IS 因其蛋白结合特性,常规透析治疗对其清除效果差^[13]。临床研究发现,IS 可加重稳定型心绞痛或经皮冠状动脉介入术后患者的左心室舒张功能不全^[14]。此外,当透析患者血液中 IS 水平超过 32.35 mg/L 时,其首次心力衰竭事件的发生率显著升高^[15]。

本研究中发现,与 MI 组相比,MI+IS 组小鼠生存率显著降低。为评估 IS 对 MI 后心脏功能的影响,对各组小鼠进行心脏超声检查,结果显示,与 MI 组相比,MI+IS 组小鼠心脏收缩功能显著降低,但 Sham 组和 Sham+IS 组间无显著差异,提示 IS 可能通过促进 MI 后的病理性心肌重构,加重 MI 后的心功能障碍,导致小鼠 MI 后生存率显著下降。与本研究发现一致,在达尔盐敏感型高血压大鼠模型中,IS 通过激活心肌组织中 AhR/NF- κ b 信号通路促进 NLRP3 炎症小体表达升高,导致大鼠心功能障碍加重^[16]。心肌纤维化是病理性心肌重构的基本病理改变之一,本研究中,Masson 染色结果显示,与 MI 组相比较,MI+IS 组小鼠心肌间质胶原纤维沉积显著增多;RT-qPCR 结果显示,与 MI 组相比较,MI+IS 组小鼠心肌组织纤维化相关基因 α -sma、Collagen I 表达水平显著增高,Sham+IS 组和 Sham 组相比差异无显著性,提示 IS 可能通过

加重小鼠心肌纤维化,加速 MI 后病理性心肌重构的进展。

心肌纤维化是指细胞外基质(ECM)蛋白,例如 Collagen I、Collagen III,在心肌间质的过度沉积。MI 发生后,过度和持续的刺激(如尿毒症毒素)可诱导心肌成纤维细胞分化、增殖活动增强,导致胶原纤维大量分泌、ECM 成分(如 TGF- β 因子、基质金属蛋白酶等)过度激活^[17]。其中,TGF- β 信号通路在组织纤维化过程中发挥着重要作用^[18],活化状态下 TGF- β 通过诱导其下游 Smad2、Smad3 磷酸化,来促进肌成纤维细胞的活化和增殖,以及 ECM 的生成^[19-20]。磷酸化的 Smad3 可以直接调节 α -sma 及 ECM 蛋白如胶原纤维的表达^[19]。为明确 IS 是否通过调控 TGF- β 信号通路参与 MI 后心肌纤维化过程,本研究对各组小鼠心肌组织行 Western blot 检测,结果显示,与 MI 组相比,MI+IS 组小鼠心肌组织中 TGF- β 、p-Smad2、p-Smad3 表达水平均显著升高,但 Sham 组和 Sham+IS 组间无显著性差异,表明 IS 促进 MI 后心肌 TGF- β 信号通路的持续激活。SUN 等^[21]和 CAI 等^[22]的研究也表明,在近端肾小管细胞中,IS 可诱导 TGF- β 信号通路的激活,与本研究结果一致。

综上所述,IS 可通过激活 MI 后小鼠心肌组织 TGF- β 信号通路,促进 MI 后小鼠心肌纤维化进程,加速小鼠的病理性心肌重构。本研究为降低 CKD 患者 MI 后的高病死率提供了新思路,为提高 CKD 患者的长期生存率提供了实验数据支持。

伦理批准和动物权利声明:本研究涉及的动物实验均已通过青岛大学实验动物福利伦理委员会审核批准(文件号 20230330C57562023-0730006)。所有实验均遵照《实验动物管理条例》规定进行。

作者声明:冯鲁信、刘涛、孙志雨、郭俊杰参与了研究设计;冯鲁信、徐庆玲、万浩然、郭俊杰参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] SEROPIAN I M, TOLDO S, VAN TASSELL B W, et al. Anti-inflammatory strategies for ventricular remodeling following ST-segment elevation acute myocardial infarction[J]. J Am Coll Cardiol, 2014,63(16):1593-1603.

[2] FRANTZ S, HUNDERTMARK M J, SCHULZ-MENGER J, et al. Left ventricular remodelling post-myocardial infarction: Pathophysiology, imaging, and novel therapies[J]. Eur Heart J, 2022,43(27):2549-2561.

[3] VANHOLDER R, SMET R D, GLORIEUX G, et al. Review on uremic toxins: Classification, concentration, and interindi-

vidual variability[J]. Kidney Int, 2003,63(5):1934-1943.

[4] LEKAWANVIJIT S, KOMPA A R, WANG B H, et al. Cardio-renal syndrome: The emerging role of protein-bound uremic toxins[J]. Circ Res, 2012,111(11):1470-1483.

[5] SPENCE J D, URQUHART B L. Cerebrovascular disease, cardiovascular disease, and chronic kidney disease: Interplays and influences[J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2022,22(11):757-766.

[6] HUNG S C, KUO K L, WU C C, et al. Indoxyl sulfate: A novel cardiovascular risk factor in chronic kidney disease[J]. J Am Heart Assoc, 2017,6(2):e005022.

[7] NEMET I, LI X S, HAGHIKIA A, et al. Atlas of gut microbe-derived products from aromatic amino acids and risk of cardiovascular morbidity and mortality[J]. Eur Heart J, 2023,44(32):3085-3096.

[8] 吴淳,石成钢,李梅,等. HPLC-FLU 法测定人血清中硫酸吡喹酮浓度及其在血液透析病人中的应用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2010,15(8):906-910.

[9] COHN J N, FERRARI R, SHARPE N. Cardiac remodeling: Concepts and clinical implications: A consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling[J]. J Am Coll Cardiol, 2000,35(3):569-582.

[10] TONELLI M, MUNTNER P, LLOYD A, et al. Risk of coronary events in people with chronic kidney disease compared with those with diabetes: A population-level cohort study[J]. Lancet, 2012,380(9844):807-814.

[11] HERZOG C A, MA J Z, COLLINS A J. Poor long-term survival after acute myocardial infarction among patients on long-term dialysis[J]. N Engl J Med, 1998,339(12):799-805.

[12] CHAMIEH C E, LIABEU S, MASSY Z. Uremic toxins and cardiovascular risk in chronic kidney disease: What have we learned recently beyond the past findings? [J]. Toxins, 2022,14(4):280.

[13] DELTOMBE O, VAN BIESEN W, GLORIEUX G, et al. Exploring protein binding of uremic toxins in patients with different stages of chronic kidney disease and during hemodialysis [J]. Toxins, 2015,7(10):3933-3946.

[14] SATO B, YOSHIKAWA D, ISHII H, et al. Relation of plasma indoxyl sulfate levels and estimated glomerular filtration rate to left ventricular diastolic dysfunction[J]. Am J Cardiol, 2013,111(5):712-716.

[15] CAO X S, CHEN J, ZOU J Z, et al. Association of indoxyl sulfate with heart failure among patients on hemodialysis[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2015,10(1):111-119.

[16] YAMAGUCHI K, YISIREYILI M, GOTO S, et al. Indoxyl sulfate activates NLRP3 inflammasome to induce cardiac contractile dysfunction accompanied by myocardial fibrosis and hypertrophy[J]. Cardiovasc Toxicol, 2022,22(4):365-377.

[17] FRANGOIANNIS N G. Cardiac fibrosis[J]. Cardiovasc Res, 2021,117(6):1450-1488.

- and solutions to mapping, naming, and quantifying tRNA-derived RNAs from human small RNA-sequencing data[J]. *BMC Bioinformatics*, 2015,16:354.
- [4] LI S Q, XU Z P, SHENG J H. tRNA-derived small RNA: A novel regulatory small non-coding RNA[J]. *Genes*, 2018,9(5):246.
- [5] CHEN Q, ZHANG X D, SHI J C, et al. Origins and evolving functionalities of tRNA-derived small RNAs[J]. *Trends Biochem Sci*, 2021,46(10):790-804.
- [6] ZHANG Y F, ZHANG X D, SHI J C, et al. Dnmt2 mediates intergenerational transmission of paternally acquired metabolic disorders through sperm small non-coding RNAs[J]. *Nat Cell Biol*, 2018,20(5):535-540.
- [7] CHEN Q, YAN M H, CAO Z H, et al. Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder[J]. *Science*, 2016,351(6271):397-400.
- [8] YOSHIDA K, MAEKAWA T, LY N H, et al. ATF7-dependent epigenetic changes are required for the intergenerational effect of a paternal low-protein diet[J]. *Mol Cell*, 2020,78(3):445-458.e6.
- [9] WANG S X, LUO Z Y, YUAN L D, et al. tRNA-derived small RNAs: Novel insights into the pathogenesis and treatment of cardiovascular diseases[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2023,16(2):300-309.
- [10] ZHOU Q L, PAN L L, XUE R C, et al. The anti-microbial peptide LL-37/CRAMP levels are associated with acute heart failure and can attenuate cardiac dysfunction in multiple pre-clinical models of heart failure [J]. *Theranostics*, 2020,10(14):6167-6181.
- [11] THE WCOTROCHADIC. Report on cardiovascular health and diseases in China 2022; An updated summary[J]. *Biomed Environ Sci*, 2023,36(8):669-701.
- [12] ZHAO D, LIU J, WANG M, et al. Epidemiology of cardiovascular disease in China; Current features and implications [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019,16(4):203-212.
- [13] OKA T, AKAZAWA H, NAITO A T, et al. Angiogenesis and cardiac hypertrophy; Maintenance of cardiac function and causative roles in heart failure[J]. *Circ Res*, 2014,114(3):565-571.
- [14] CAMACHO LONDOÑO J E, TIAN Q H, HAMMER K, et al. A background Ca²⁺ entry pathway mediated by TRPC1/TRPC4 is critical for development of pathological cardiac remodeling[J]. *Eur Heart J*, 2015,36(33):2257-2266.
- [15] ZHUANG L F, JIA K N, CHEN C, et al. DYRK1B-STAT3 drives cardiac hypertrophy and heart failure by impairing mitochondrial bioenergetics[J]. *Circulation*, 2022,145(11):829-846.
- [16] GIRALDEZ M D, SPENGLER R M, ETHERIDGE A, et al. Erratum: Comprehensive multi-center assessment of small RNA-seq methods for quantitative miRNA profiling[J]. *Nat Biotechnol*, 2018,36(9):899.
- [17] LIU Q, DING C J, LANG X Q, et al. Small noncoding RNA discovery and profiling with sRNA tools based on high-throughput sequencing[J]. *Brief Bioinform*, 2021,22(1):463-473.
- [18] PENG E Y, SHU Y, WU Y K, et al. Presence and diagnostic value of circulating tsncRNA for ovarian tumor[J]. *Mol Cancer*, 2018,17(1):163.
- [19] KIM H K, FUCHS G, WANG S C, et al. A transfer-RNA-derived small RNA regulates ribosome biogenesis[J]. *Nature*, 2017,552(7683):57-62.
- [20] WANG H J, ZHU J, JIANG L P, et al. Mechanism of Heshouwu Yin inhibiting the Cyt c/Apaf-1/Caspase-9/Caspase-3 pathway in spermatogenic cell apoptosis[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020,20(1):180.
- [21] SHEN L Y, GAN M L, TAN Z D, et al. A novel class of tRNA-derived small non-coding RNAs respond to myocardial hypertrophy and contribute to intergenerational inheritance[J]. *Biomolecules*, 2018,8(3):54.
- [22] ZHANG X D, CHEN Q. A twist between ROS and sperm-mediated intergenerational epigenetic inheritance[J]. *Mol Cell*, 2020,78(3):371-373.
- [23] FU H J, FENG J J, LIU Q, et al. Stress induces tRNA cleavage by angiogenin in mammalian cells[J]. *FEBS Lett*, 2009,583(2):437-442.
- [24] WANG J, HAN B, YI Y C, et al. Expression profiles and functional analysis of plasma tRNA-derived small RNAs in children with fulminant myocarditis[J]. *Epigenomics*, 2021,13(13):1057-1075.
- [25] YANG Z Y, LI P F, LI Z Q, et al. Altered expression of transfer-RNA-derived small RNAs in human with rheumatic heart disease[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021,8:716716.

(本文编辑 范睿心 厉建强)

(上接第 193 页)

- [18] KIM K K, SHEPPARD D, CHAPMAN H A. TGF-β1 signaling and tissue fibrosis[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2018,10(4):a022293.
- [19] YUAN Q, TANG B, ZHANG C. Signaling pathways of chronic kidney diseases, implications for therapeutics[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022,7(1):182.
- [20] MASSAGUÉ J, SHEPPARD D. TGF-β signaling in health and disease[J]. *Cell*, 2023,186(19):4007-4037.
- [21] SUN C Y, CHANG S C, WU M S. Uremic toxins induce kidney fibrosis by activating intrarenal renin-angiotensin-aldosterone system associated epithelial-to-mesenchymal transition [J]. *PLoS One*, 2012,7(3):e34026.
- [22] CAI H D, WANG J, LUO Y Y, et al. *Lindera aggregata* intervenes adenine-induced chronic kidney disease by mediating metabolism and TGF-β/Smad signaling pathway[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2021,134:111098.

(本文编辑 耿波)