

УДК 547.757:616.61-002
DOI 10.11603/bmbr.2706-6290.2022.2.13074

В. С. Васильченко

Національний університет «Києво-Могилянська академія»

КІЛЬКІСНІ ЗМІНИ ІНДОКСИЛУ СУЛЬФАТУ ЗА ХРОНІЧНОЇ ХВОРОБИ НИРОК

Кількісні зміни індоксилу сульфату за хронічної хвороби нирок

В. С. Васильченко

Національний університет «Києво-Могилянська академія»

Резюме. Накопичення уремічних токсинів характерне для пацієнтів із хронічною хворобою нирок. Одним із таких токсинів є індоксил сульфат. Він, накопичуюсь в організмі, спричиняє порушення функцій нирок, втрату цілості ендотелію та змінює мікробіом. Це впливає на перебіг захворювання та виникнення супутніх ускладнень. Індоксил сульфат індукує збільшення вироблення активних форм кисню. Таким чином, інгібується проліферація ендотеліальних клітин, обмежується мітотичний поділ, накопичуються уремічні токсини та збільшується інтенсивність оксидативного стресу. Оскільки він міцно зв'язується з альбуміном, його неможливо усунути повністю навіть за допомогою діалітичного лікування.

Мета дослідження – виявити кількісну оцінку індоксилу сульфату на різних стадіях хронічної хвороби нирок, а також його взаємозв'язок з білками, які є індикаторами зміни оксидативного статусу разом із класичними клінічними маркерами.

Матеріали і методи. Біологічний матеріал умовно здорових донорів та пацієнтів із хронічною хворобою нирок досліджували за допомогою біохімічних методів, а отримані результати обробляли статистично за критеріями Колмогорова – Смірнова, Тьюкея та розраховували силу та направленість взаємозв'язків за Спірменом.

Результати. За результатами наших досліджень, індоксил сульфат інтенсивно утворюється уже на перших стадіях хронічної хвороби нирок. Також його вміст більше ніж у десять разів перевищує значення контролю у пацієнтів із термінальною стадією хронічної хвороби нирок. До того ж, його вміст корелює з креатиніном, вмістом малонового діальдегіду і SH-груп. Сильний позитивний корелятивний зв'язок між цими показниками свідчить про інтенсифікацію патологічного процесу та його однонаправленість у всіх пацієнтів, від першої до останньої стадії хронічної хвороби нирок.

Висновки. Індоксил сульфат можна використовувати як чутливий та селективний маркер за ініціації хронічної хвороби нирок, оскільки відображає перебіг захворювання та має сильний взаємозв'язок між іншими компонентами оксидативного статусу та таким класичним клінічним маркером, як креатинін.

Ключові слова: індоксил сульфат; хронічна хвороба нирок; оксидативний статус.

Quantitative changes in indoxyl sulfate in chronic kidney disease

V. S. Vasylychenko

National University of Kyiv-Mohyla Academy

e-mail: v.vasylychenko@ukma.edu.ua

Summary. The accumulation of uremic toxins is characteristic of patients with chronic kidney disease. One such toxin is indoxyl sulfate. It, accumulating in the body, causes impaired renal function, loss of endothelial integrity and alters the microbiome. This affects the course of the disease and the occurrence of concomitant complications. Indoxyl sulfate induces an increase in the production of reactive oxygen species. Thus, endothelial cell proliferation is inhibited, mitotic division is limited, uremic toxins accumulate and the intensity of oxidative stress increases. Because it binds strongly to albumin, it cannot be completely eliminated even with dialysis.

The aim of epy study – to detect a quantity of indoxyl sulfate at different stages of chronic kidney disease, as well as its relationship with proteins, which are indicators of changes in oxidative status along with classical clinical markers.

Materials and Methods. The biological material of conditionally healthy donors and patients with chronic kidney disease was studied by biochemical methods, and the results were statistically processed by the criteria of Kolmogorov-Smirnov, Tukey's range test and calculated the strength and direction of the relationship under Spearman.

Results. According to our research, indoxyl sulfate is intensively formed in the early stages of chronic kidney disease. Also, its content is more than ten times higher than the control value in patients with end-stage chronic kidney disease. In addition, its content correlates with creatinine, the content of malonic dialdehyde and SH-groups. A strong positive correlation between these indicators indicates the intensification of the pathological process and its direction in all patients, from the first to the last stage of chronic kidney disease.

Conclusions. Indoxyl sulfate can be used as a sensitive and selective marker in the initiation of chronic kidney disease, as it reflects the course of the disease and has a strong relationship between other components of oxidative status and such a classic clinical marker as creatinine.

Key words: indoxyl sulfate; chronic kidney disease; oxidative status.

©В. С. Васильченко, 2022

ISSN 2706-6282(print)
ISSN 2706-6290(online)

Вісник медичних і біологічних досліджень
Bulletin of Medical and Biological Research

2(12), 2022

ВСТУП

Хронічна хвороба нирок визнана однією з першочергових проблем охорони здоров'я в усьому світі. Уремічні токсини мають значний вплив на перебіг цього патологічного процесу в організмі людини. Індоксил сульфат, індол-3-оцтова кислота, р-крезил сульфат, триметиламін-N-оксид і фенілацетилглутамін – це уремічні токсини, які пов'язані з розвитком серцево-судинних захворювань у пацієнтів із хронічною хворобою нирок. Індоксил сульфат є найбільш репрезентативним уремічним токсином для розуміння розвитку хронічної хвороби нирок та ускладнень захворювань серцево-судинної системи за даної патології [1].

Індоксил – це азотовмісне ароматичне похідне індолу. Подальше гідроксилування призводить до отримання 3-гідрокси-індолу, більша частина якого стає сульфованою до індоксил сульфату. Паралельно ферментація тирозину призводить до отримання р-крезолу та в кінцевому підсумку р-крезил сульфату [1, 2]. Такі сульфати циркулюють нековалентно, пов'язані з альбуміном та конкурують за ті ж сайти зв'язування (Sudlow site II) [2].

Триптофан метаболізується індол-кишковими бактеріями, такими як *Escherichia coli*, і після всмоктування у кишечнику перетворюється на індоксил сульфат у печінці [2, 3]. Потім він надходить до кров'яного русла. Нирки виводять індоксил сульфат шляхом проксимальної трубчастої секреції. Однак при уремії та із порушенням функції нирок у пацієнтів порушений нирковий кліренс, що призводить до накопичення індоксилу сульфату [4].

Кількість індоксилу сульфату збільшується у пацієнтів із хронічною хворобою нирок, що пов'язано з прогресуванням ураження нирок за механізмом індукції запальної реакції та посиленою експресією профібротичних цитокінів, оскільки відомо, що дана сполука індукує інтерстиційний фіброз нирок [3, 4]. Нещодавні результати метааналізу 11 досліджень показали, що індоксил сульфат та р-крезил сульфат, два уремічні токсини, сприяють запаленню і незалежно пов'язані з розвитком серцево-судинних ускладнень у пацієнтів із хронічною хворобою нирок [5]. Рівень індоксилу сульфату в сироватці крові є цінним маркером при прогнозуванні серцево-судинних захворювань та зниження функції нирок у пацієнтів із кінцевими стадіями хронічної хвороби нирок. Відомо, що ендотеліальна дисфункція розглядається як один з основних факторів, що призводять до атеросклерозу та серцево-судинних захворювань. Високий рівень індоксилу сульфату в сироватці крові може бути одним із показників, що лежить в основі прогресування атерогенезу і може бути основною причиною серцево-судинних патологій або смерті у пацієнтів, які лікуються гемодіалізом. Lin з колегами дійшли висновку про те, що підвищення рівня індоксилу сульфату в сироватці крові було незалежно

пов'язано з серцево-судинними захворюваннями та погіршенням функції нирок [6]. Ми також розвиваємо цю гіпотезу та досліджуємо попередньо ензими [7], асоційовані з ліпопротеїнами високої щільності, зростання активності прооксидантних та зниження активності антиатерогенних ензимів у пацієнтів від першої до останньої стадії.

Індоксил сульфат має високу спорідненість до альбуміну що унеможлиблює його ефективне усунення звичайним гемодіалізом. Нещодавно Mozar та співавт. продемонстрували як індоксил сульфат пригнічує диференціювання та функціонування остеокластів. Результати дослідження Barreto та його колеги показали, що уремічний токсин індоксил сульфат позитивно пов'язаний зі швидкістю формування кісткової тканини, остеодієм об'ємом та об'ємом фіброзних утворень у пацієнтів із хронічною хворобою нирок додіалізного лікування [8].

Ендотелій є ключовим регулятором судинного гомеостазу. Індоксил сульфат негативно корелює із ендотеліальною функцією та позитивно корелює зі швидкістю пульсової хвилі, що відображається на щільності артеріальної стінки у пацієнтів із хронічною хворобою нирок. Клітини-попередники ендотелію – це група циркулюючих незрілих клітин з кісткового мозку, які можуть вбудовуватися в ендотелій для його відновлення та ангиогенезу. Таким чином, функція цих клітин має важливе значення для підтримки судинної цілості. Однак дисбаланс між відновленням та ушкодженням судинного ендотелію порушений в осіб із нирковою недостатністю. Покращуватися функція ендотелію та збільшуватися кількість клітини-попередники ендотелію може на початку застосування діалітичної терапії. Індоксил сульфат здатний інгібувати утворення колоній клітин-попередників та впливати на їх хемотаксис [6].

Оксидативний стрес і запалення виникають у пацієнтів із хронічною хворобою нирок на усіх стадіях захворювання, особливо в осіб, які перебувають на гемодіалізі. Відомо, що індоксил сульфат відіграє важливу роль у прогресуванні ураження нирок шляхом індукції запальної реакції та посиленні експресії профібротичних цитокінів. Результати останніх досліджень показали, що рівень індоксилу сульфату в сироватці крові є цінним маркером для попередження ускладнень з боку серцево-судинної системи та смертності у пацієнтів із хронічною хворобою нирок. Індоксил сульфат – це один з найбільш вивчених уремічних токсинів. Внутрішньоклітинне накопичення його через транспортери органічних аніонів та подальше зростання утворення вільних радикалів відіграє ключову роль в активації (фосфорилуванні) NF- κ B і p65 та подальшої експресії p53 [9]. Таким чином, інгібується проліферація ендотеліальних клітин, обмежується мітотичний поділ, накопичуються уремічні токсини та збільшується інтенсивність окиснювального стресу [10].

Окиснювальний стрес, індукований індоксилом сульфатом, корелює із виникненням та прогресуванням гіпертрофії та фіброзом серця [11]. Коли швидкість клубочкової фільтрації падає, концентрації уремичних токсинів та інших речовин, які ми вимірювали, теж зростають. Відповідно, дані сполуки стають ще небезпечнішими та здатні індукувати оксидантні реакції. Існують лише дві терапевтичні стратегії зменшення всмоктування уремичних токсинів у кишечнику, які можуть бути застосовані в цьому випадку:

1) модулювання росту та метаболізму кишкової мікробіоти (наприклад за допомогою пробіотиків, пребіотиків та дієтичних модифікацій);

2) адсорбентна терапія, за якої попередники та власне різні уремичні токсини у кишечнику зв'язуються адсорбентами для зменшення їх поглинання [2].

Периферійні артеріальні захворювання (peripheral arterial disease) у пацієнтів із хронічною хворобою нирок зростають від 7 % (на 3 стадії хронічної хвороби нирок) до 45 % (на 5 стадії). Індоксил сульфат сприяє атеротромбозу, що супроводжується гіпоксією, індукуючи дисфункцію ендотеліальних клітин. Паралельно індоксил сульфат знижує проангіогенні функції ендотеліальних клітин-попередників через зменшення гіпоксії, індукованої її специфічним фактором активації (hypoxia-inducible factor)-1 α , та IL-10. Також призупиняється синтез судинного ендотеліального фактора росту. Це призводить до порушення неоваскуляризації за хронічної хвороби нирок [12].

Тому вивчення та кількісне встановлення індоксилу сульфату за ниркової патології є необхідним для з'ясування перебігу захворювання та розвитку ускладнень.

Метою дослідження було виявити кількісну оцінку індоксилу сульфату на різних стадіях хронічної хвороби нирок, а також його взаємозв'язок з білками, які є індикаторами зміни оксидативного статусу разом із класичними клінічними маркерами.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Зразки венозної крові та сечі були взяті у 305 пацієнтів (142 жінки та 163 чоловіки, вік – 18–55 років) із хронічною хворобою нирок 1–5 стадій. Швидкість клубочкової фільтрації розраховували за формулою CKD EPI (KDIGO 2012), є одним із першочергових показників для встановлення діагнозу. Всіх пацієнтів поділили на три групи: першу групу сформували пацієнти з хронічною хворобою нирок 1 та 2 стадіями (n=100); другу сформували хворі з 3 та 4 стадіями (n=80); а третю, відповідно, останню групу – пацієнти з хронічною хворобою нирок термінальної, 5 стадії (n=125). Контрольну групу сформували з 52 умовно здорових донорів без ниркових та серцевих

патологій того ж віку та з аналогічним співвідношенням статей. Усі учасники дали добровільну згоду на дослідження перед процедурою отримання біологічного матеріалу. Протокол дослідження (№ 6 від 10.06.2021 року) був затверджений комітетом з етики наукових досліджень Національного університету «Києво-Могилянська академія».

Підготовка біологічного матеріалу передбачала центрифугування крові з вени без антикоагулянту та з антикоагулянтом (цитратом натрію) протягом 15 хв при 1500 об./хв. Для реалізації мети та завдань використовували біохімічні методи дослідження, зокрема визначення кількості малонового діальдегіду (МДА), SH-груп, здійснювалися за раніше описаними класичними методиками [7] та використовувались стандартні аналітичні набори для визначення креатиніну та сечовини (виробництва «Фелісіт», Україна). Індоксил сульфат визначали за методикою Курзона у модифікації [13].

Отримані результати досліджень були статистично оброблені з використанням критерію Колмогорова – Смірнова. Після встановлення факту нормального розподілу, застосовано критерій Тьюкея у статистичному пакеті SPSS. Кореляцію між показниками аналізували за Спірманом. Визначали середнє значення (Mean) та похибку стандартного відхилення (SED).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Оксидативний стрес та надлишок індоксилу сульфату як уремичного токсину сприяє прогресуванню хронічної хвороби нирок та відіграє важливу роль у розвитку ендотеліальної дисфункції через індукування оксидативного стресу в предіалізних пацієнтів. Механізм розвитку оксидативного стресу включає збільшення малонового діальдегіду (МДА) як у сироватці, так і в еритроцитах та кількісне зменшення SH-груп у всіх пацієнтів із хронічною хворобою нирок, на відміну від цих показників в умовно здорових донорів. Такі зміни підтвердили результати дослідження, де простежується чітка тенденція до збільшення кількості МДА, продукту окиснення ліпідів як у сироватці, так і в еритроцитах. Опосередковано цей показник може свідчити про пришвидшення окисних процесів.

Найбільш разючу різницю, майже у десять разів, спостерігають між контрольною групою та групою, у якій були пацієнти з 1 стадією хронічної хвороби нирок (табл.). Такі зміни свідчать про структурні та функціональні зміни білків та сполук небілкової природи, що підтверджуються зменшенням кількості SH-груп.

У сечі пацієнтів, порівняно з контрольною групою, підвищувався вміст креатиніну та сечовини. Значення цих показників в умовно здорових донорів були у діапазоні референтних значень згідно з аналітичними наборами, які використали для

Таблиця. Показники оксидативного статусу, індоксили сульфату та класичних маркерів у контрольній та дослідних групах

Показник	Біологічний матеріал	Група							
		контроль		перша		друга		третя	
		Mean	SED	Mean	SED	Mean	SED	Mean	SED
SH-групи, ммоль/л	Сироватка	1,73	0,06	1,03	0,06	1,12	0,06	1,58*	0,06
МДА, ммоль/л		117,21	1,83	1066,8	124,6	808,82	156,12	624,85	29,19
SH-групи, ммоль/л	Еритроцити	24,0	0,6	12,94	1,59	10,71	2,13	14,42	1,0
МДА, ммоль/л		826,04	89,71	1823,33	387,33	1014,95	103,44	576,99	28,72
Креатинін мкмоль/л	Сеча	90,0345	2,27022	169,9434	0,81282	152,8148	1,54610	649,7317	15,16146
Сечовина мкмоль/л	Сеча	6,8600	0,19843	11,6434	0,03589	10,1741#	0,04996	10,6585#	0,05368
Індоксил сульфат ммоль/л	Сеча	30,5556	2,92076	67,2308	6,12179	184,7000	7,84581	374,7037	13,38482

Примітки: 1) * – зміни показників у групі статистично недостовірні порівняно з такими у контрольній групі, $p \geq 0,05$.

2) # – зміни показників у дослідній групі статистично недостовірні порівняно з іншою дослідною групою. Решта показників та їх порівняння статистично достовірні, $p \geq 0,05$.

дослідження. Вміст сечовини був максимальним у пацієнтів із 1 та 2 стадіями хронічної хвороби нирок, на відміну від умовно здорових донорів. Щодо креатиніну, то його максимальне значення було зафіксоване у групі пацієнтів із термінальною стадією, що є логічним, але не очевидним, оскільки вміст сечовини статистично не відрізняється у двох дослідних групах (другій та третій), а різниця між вмістом креатиніну в усіх дослідних групах, навпаки, статистично значима. Разом з тим, із 1 стадією хронічної хвороби нирок зростає вміст індоксили сульфату (табл.). Прогресування хронічної хвороби нирок призводить до дисфункції інших органів та систем і має ряд клінічних ознак, однією з яких є уремичний синдром. Цей синдром характеризується прогресуючим утриманням великої кількості сполук, уремичних токсинів, які в нормальних умовах виводяться нирками. Результати клінічних досліджень продемонстрували, що рівень індоксили сульфату в сироватці крові є потужним провісником загальної смертності та смертності від захворювань серцево-судинної системи. Його вміст найвищий у тих, хто проходить лікуванням діалізом [14]. Цей факт також підтверджують наші дослідження, у яких вміст індоксили сульфату значно збільшувався відповідно до стадії хронічної хвороби нирок і досягав максимальних значень саме у пацієнтів із термінальною стадією. Важливо зазначити, що індоксил сульфат, як і р-крезил сульфату майже одразу приєднують до протеїнів у кров'яному руслі й досить нетривалий час свого метаболізму знаходяться у вільній формі. Найчастіше – це альбуміни, які формують з індоксилем сульфатом великі за розміром та масою

комплекси, саме тому діалізна терапія не може навіть частково усунути його з кров'яного русла [2]. Ми вважаємо, що це є додатковою ознакою, яка може свідчити про ступінь та інтенсивність утворення, а відтак і накопичення цього уремичного токсину та його подальший вплив на розвиток захворювання. Вміст індоксили сульфату корелює, за даними наших досліджень, з креатиніном (0,752), вмістом малонового діальдегіду як у сироватці (0,411), так і еритроцитах (0,353) і SH-груп у еритроцитах (0,445). Необхідно зауважити, що найбільш тісний зв'язок спостерігають саме між індоксилем сульфатом та креатиніном, тому що між двома показниками чітко видно спільну тенденцію до збільшення у всіх дослідних групах. Це, у свою чергу, свідчить про тісний взаємозв'язок між уремичним токсином та показниками оксидативного статусу. Зміни вищезгаданих показників сприяють кращому розумінню патологічних змін та можуть бути передумовою для розширення діагностичних меж для ранніх стадій хронічної хвороби нирок.

Таким чином, використання індоксили сульфату як маркера хронічної хвороби нирок є виправданим, а його раннє виявлення може попередити розвиток ускладнень та покращити моніторинг пацієнтів.

ВИСНОВКИ

У результаті наших досліджень встановлено, що кількість малонового діальдегіду збільшується, що свідчить про розвиток оксидативного стресу разом із кількісними змінами класичних маркерів хронічної хвороби нирок, зокрема значення креатиніну і сечовини зростають. Проте значення останніх мають

найменш виражену тенденцію до збільшення. Саме тому поруч із класичними маркерами ми пропонуємо визначати індоксил сульфат, один з органічних аніонів, що утворюється в печінці з індолу, після продукції кишковими бактеріями останнього як метаболіту обміну триптофану. Він є уремичним токсином, який накопичується в організмі з втратою нирок своїх функцій. А його визначення та кількісна оцінка може бути використана для ранньої діагностики та попередження ускладнень у цієї категорії пацієнтів. За результатами наших досліджень, кількісне ви-

раження індоксили сульфату має чітко виражену тенденцію до збільшення із розвитком хронічної хвороби нирок. Системна запальна реакція та окиснювальний стрес – це основні механізми, що індукують основні ускладнення, а саме захворювання судин у пацієнтів з хронічною хворобою нирок, на які опосередковано впливає цей уремичний токсин. Раннє виявлення має вирішальне значення для профілактики та лікування захворювань нирок, тому застосування індоксили сульфату може бути корисним для попередження розвитку цього захворювання та якісного його моніторингу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Indoxyl sulfate: A novel cardiovascular risk factor in chronic kidney disease / S. Hung, K. Kuo, C. Wu, D. Tarnq // *Journal of the American Heart Association*. – 2017. – Vol. 6 (2). – P. e005022. DOI: 10.1161/jaha.116.005022.

2. Meijers B. K. I. The gut-kidney axis: indoxyl sulfate, p-cresyl sulfate and CKD progression / B. K. I. Meijers, P. Evenepoel // *Nephrology Dialysis Transplantation*. – 2011. – Vol. 26 (3). – P. 759–761. DOI: 10.1093/ndt/gfq818. – Access mode : <https://academic.oup.com/ndt/article/26/3/759/1841292>.

3. Yu M. Indoxyl sulfate-induced endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease via an induction of oxidative stress / M. Yu, Y. J. Kim, D.-H. Kang // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. – 2010. – Vol. 6 (1). – P. 30–39. DOI: 10.2215/cjn.05340610. – Access mode : <https://cjasn.asnjournals.org/content/6/1/30.short>.

4. Indoxyl sulfate affects glial function increasing oxidative stress and neuroinflammation in chronic kidney disease: Interaction between astrocytes and microglia / S. Adesso, T. Magnus, S. Cuzzocrea [et al.] // *Frontiers in Pharmacology*. – 2017. – Vol. 8. – P. e00370. DOI: 10.3389/fphar.2017.00370. – Access mode : <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2017.00370/full>.

5. Tummalapalli L. Biomarkers for predicting outcomes in chronic kidney disease / L. Tummalapalli, G. N. Nadkarni, S. G. Coca // *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. – 2016. – Vol. 25 (6). – P. 480–486. DOI: 10.1097/mnh.0000000000000275. – Access mode : https://journals.lww.com/co-nephrolhypertens/Abstract/2016/11000/Biomarkers_for_predicting_outcomes_in_chronic.4.aspx.

6. Indoxyl sulfate impairs endothelial progenitor cells and might contribute to vascular dysfunction in patients with chronic kidney disease / C. J. Lin, C. J. Wu, P. C. Wu [et al.] // *Kidney and Blood Pressure Research*. – 2016. – Vol. 41 (6). – P. 1025–1036. DOI: 10.1159/000452604. – Access mode : <https://www.karger.com/Article/Abstract/452604>.

7. The oxidative status in patients with chronic kidney disease / V. S. Vasylenko, L. V. Korol, O. B. Kuchmenko, N. M. Stepanova // *Ukr. Biochem. J.* – 2020. – Vol. 92 (5). – P. 70–77. DOI: 10.15407/ubj92.05.070. – Access mode : <http://ua.ukrbiochemjournal.org/2020/12/%d0%be%d0%ba%d1%81%d0%b8%d0%b4%d0%b0%d1%82%d0%b8%d0%b2%d0%bd%d0%b8%d0%b9-%d1%81%d1%82%d0%b0%d1%82%d1%83%d1%81-%d1%83-%d0%bf%d0%b0%d1%86%d1%96%d1%94%d0%bd%d1%82%d1%96%d0%b2-%d1%96%d0%b7-%d1%85%d1%80.html#more-4418>.

8. Association between indoxyl sulfate and bone histomorphometry in pre-dialysis chronic kidney disease patients / F. C. Barreto, D. V. Barreto, M. E. F. Canziani [et al.] // *Jornal Brasileiro de Nefrologia*. – 2014. – Vol. 36 (3). – P. 289296. DOI: 10.5935/0101-2800.20140042. – Access mode : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25317610/>.

9. Indoxyl Sulfate Induces Endothelial Cell Senescence by Increasing Reactive Oxygen Species Production and p53 Activity / Y. Adelibieke, H. Shimizu, G. Muteliefu [et al.] // *Journal of Renal Nutrition*. – 2012. – Vol. 22 (1). – P. 86–89. DOI: 10.1053/j.jrn.2011.10.027. – Access mode : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1051227611002172>.

10. Fujii H. Role of oxidative stress and indoxyl sulfate in progression of cardiovascular disease in chronic kidney disease / H. Fujii, K. Nakai, M. Fukagawa // *Therapeutic Apheresis and Dialysis*. – 2011. – Vol. 15(2). – P. 125–128. DOI: 10.1111/j.1744-9987.2010.00883.x.

11. Dou L. The harmful effect of indoxyl sulfate on neovascularization in chronic kidney disease / L. Dou, S. Burtay // *Kidney International*. – 2016. – Vol. 89 (3). – P. 532–534. DOI: 10.1016/j.kint.2015.12.030. – Access mode : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26880447/>.

12. Indoxyl sulfate and p-Cresyl sulfate in chronic kidney disease. Could these toxins modulate the antioxidant Nrf2-Keap1 pathway? / M. B. Stockler-Pinto, D. Fouque, C. O. Soulage [et al.] // *Journal of Renal Nutrition*. – 2014. – Vol. 24 (5). – P. 286–291. DOI: 10.1053/j.jrn.2013. – Access mode : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1051227611002172>.

13. Curzon G. A method for the determination of urinary indoxylsulphate (indican) / G. Curzon // *Clin. Chim. Acta*. – 1962. – Vol. 7. – P. 657–663. – Access mode : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14024374/>.

14. Very low protein diet reduces indoxyl sulfate levels in chronic kidney disease / S. Marzocco, F. Dal Piaz, L. Di Micco [et al.] // *Blood Purification*. – 2013. – Vol. 35 (1–3). – P. 196–201. DOI: 10.1159/000346628. – Access mode : <https://www.karger.com/Article/Abstract/346628>.

REFERENCES

1. Hung S, Kuo K, Wu C, Tarng D. Indoxyl sulfate: A novel cardiovascular risk factor in chronic kidney disease. *Journal of the American Heart Association*. 2017;6(2): 5022. DOI: 10.1161/jaha.116.005022.
2. Meijers BKI, Evenepoel P. The gut-kidney axis: indoxyl sulfate, p-cresyl sulfate and CKD progression. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2011;26(3): 759-61. DOI: 10.1093/ndt/gfq818. Available from: <https://academic.oup.com/ndt/article/26/3/759/1841292>.
3. Yu M, Kim YJ, Kang D-H. Indoxyl sulfate-induced endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease via an induction of oxidative stress. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2010;6(1): 30-9. DOI: 10.2215/cjn.05340610. Available from: <https://cjasn.asnjournals.org/content/6/1/30.short>.
4. Adesso S, Magnus T, Cuzzocrea S, Campolo M, Rissiek B, Paciello O. et al. Indoxyl Sulfate Affects Glial Function Increasing Oxidative Stress and Neuroinflammation in Chronic Kidney Disease: Interaction between Astrocytes and Microglia. *Frontiers in Pharmacology*. 2017;8. DOI: 10.3389/fphar.2017.00370. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2017.00370/full>.
5. Tummalapalli L, Nadkarni GN, Coca SG. Biomarkers for predicting outcomes in chronic kidney disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 2016;25(6): 480-6. DOI: 10.1097/mnh.0000000000000275. Available from: https://journals.lww.com/co-nephrolhypertens/Abstract/2016/11000/Biomarkers_for_predicting_outcomes_in_chronic.4.aspx.
6. Lin CJ, Wu CJ, Wu PC, Pan CF, Wang TJ, Sun FJ. Indoxyl sulfate impairs endothelial progenitor cells and might contribute to vascular dysfunction in patients with chronic kidney disease. *Kidney and Blood Pressure Research*. 2016;41(6): 1025-36. DOI: 10.1159/000452604. Available from: <https://www.karger.com/Article/Abstract/452604>
7. Vasylychenko VS, Korol LV, Kuchmenko OB, Stepanova NM. The oxidative status in patients with chronic kidney disease. *Ukr. Biochem. J.* 2020;92(5): 70-7. DOI: 10.15407/ubj92.05.070. Available from: <http://ua.ukrbiochemjournal.org/2020/12/%d0%be%d0%ba%d1%81%d0%b8%d0%b4%d0%b0%d1%82%d0%b8%d0%b2%d0%bd%d0%b8%d0%b9-%d1%81%d1%82%d0%b0%d1%82%d1%83-%d0%bf%d0%b0%d1%86%d1%96%d1%94%d0%bd%d1%82%d1%96%d0%b2-%d1%96%d0%b7-%d1%85%d1%80.html#more-4418>.
8. Barreto FC, Barreto DV, Canziani MEF, Tomiyama C, Higa A, Mozar A. Association between indoxyl sulfate and bone histomorphometry in pre-dialysis chronic kidney disease patients. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*. 2014;36(3). DOI: 10.5935/0101-2800.20140042. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25317610/>.
9. Adelibieke Y, Shimizu H, Muteliefu G, Bolati D, Niwa T. Indoxyl sulfate induces endothelial cell senescence by increasing reactive oxygen species production and p53 activity. *Journal of Renal Nutrition*. 2012;22(1): 86-9. DOI: 10.1053/j.jrn.2011.10.027. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1051227611002172>.
10. Fujii H, Nakai K, Fukagawa M. Role of oxidative stress and indoxyl sulfate in progression of cardiovascular disease in chronic kidney disease. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*. 2011;15(2): 125-8. DOI: 10.1111/j.1744-9987.2010.00883.x.
11. Dou L, Burtsey S. The harmful effect of indoxyl sulfate on neovascularization in chronic kidney disease. *Kidney International*. 2016;89(3): 532-4. DOI: 10.1016/j.kint.2015.12.030. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26880447/>.
12. Stockler-Pinto MB, Fouque D, Soulage CO, Croze M, Mafra D. Indoxyl sulfate and p-Cresyl sulfate in chronic kidney disease. Could these toxins modulate the antioxidant Nrf2-keap1 pathway? *Journal of Renal Nutrition*. 2014;24(5): 286-91. DOI: 10.1053/j.jrn.2013. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1051227611002172>.
13. Curzon G, Walsh J. A method for the determination of urinary indoxylsulphate (indican). *Clin Chim Acta*. 1962;7: 657-63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14024374/>.
14. Marzocco S, Dal Piaz F, Di Micco L, Torraca S, Sirico ML, Tartaglia D et al. Very low protein diet reduces indoxyl sulfate levels in chronic kidney disease. *Blood Purification*. 2013;35(1-3): 196-201. DOI: 10.1159/000346628. Available from: <https://www.karger.com/Article/Abstract/346628>.