

## 综述

# 代谢组学在急性肾损伤诊断与治疗中的应用

平 凤<sup>1</sup>, 郭 勇<sup>2</sup>, 刘玉静<sup>2</sup>, 曹永梅<sup>2</sup>, 李颖川<sup>1</sup>

上海交通大学附属第六人民医院麻醉科, 上海 200233

**[摘要]** 急性肾损伤 (AKI) 是指由多种病因、多种危险因素引起的肾功能快速下降的复杂的临床综合征。代谢组学是组学领域的最新学科, 是指采取非靶向测量、定量分析一个给定的细胞、组织、器官、生物体液中所有小分子代谢物的含量。由于相较于基因组学、转录组学和蛋白质组学, 代谢组学具有代谢产物种类少、预测发生的生物过程最准确、样本容易获得的优势, 因此非常适用于确定 AKI 早期诊断的新标志、鉴定 AKI 中可能存在的异常的代谢途径、探索药物治疗的新靶点以及提供个体化精准医疗。

**[关键词]** 急性肾损伤; 代谢组学; 生物标志物; 代谢途径

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2017.08.025 **[中图分类号]** R692 **[文献标志码]** A

## Application of metabolomics in the diagnosis and treatment of acute kidney injury

PING Feng<sup>1</sup>, GUO Yong<sup>2</sup>, LIU Yu-jing<sup>2</sup>, CAO Yong-mei<sup>2</sup>, LI Ying-chuan<sup>1</sup>

Department of Anesthesiology, Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China

**[Abstract]** Acute kidney injury (AKI) is the complex clinical syndrome attributed to multiple causes and risk factors, which is characterized by an abrupt loss of renal function. Metabolomics, recently advances in the field of omics, is the nontargeted measurement of all of the low-molecular-weight compounds that appear in a particular cell, tissue, organ or biofluid in a living organism. Compared to genomics, transcriptomics and proteomics, metabolomics has its unique advantages, including fewer metabolites than genes, transcripts and proteins, the most accurate predictors of the signature of the actual processes, easy access to biofluids. Thus, metabolomics makes it possible to find new biomarkers for AKI on early diagnosis, identifying new metabolic pathways, finding new targets for drug therapy and individual medical treatment.

**[Key words]** acute kidney injury; metabolomics; biomarkers; metabolic pathways

急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 以往称为急性肾衰竭 (acute renal failure, ARF), 是指由多种病因、多种危险因素引起的肾功能快速下降的复杂的临床综合征。AKI 病因很多, 包括脓毒症、缺血再灌注、肾毒性药物等。其中, 脓毒症是重症监护病房患者发生 AKI 的一个特别重要的致病因素, 有超过 50% 的急性肾损伤的病因是脓毒症<sup>[1-2]</sup>; 而缺血再灌注损伤也是急性肾损伤主要原因之一<sup>[3]</sup>。尽管临床诊治水平有了明显提高, 然而在过去的 50 年, AKI 患者的结局改善并不明显<sup>[4]</sup>。AKI 患者总住院死亡率高达 50%, 在危重患者中可增至 75%, 预后仍然较差<sup>[5]</sup>。

目前, 血清肌酐水平及尿量仍然是临床诊断 AKI 的主要指标<sup>[6]</sup>。然而, 血清肌酐的水平受到多种因素如性别、年龄、肌肉质量、药物、水合状态的影响, 且肾功能下降早期, 无法检测到血清肌酐水平的明显变化, 肌酐的

敏感性、特异性、可靠性较差。如果将血清肌酐水平作为诊断 AKI 的主要标准, 其滞后性可能导致 AKI 患者错过早期干预治疗窗<sup>[7]</sup>。因此, 找到一种早期可靠并具有特异性的 AKI 诊断标志物是迫切而必要的。

## 1 代谢组学概述

代谢组学是指非靶向测量、定量分析一个给定的细胞、组织、器官、生物体液中所有相对分子质量小于  $1 \times 10^6$  的代谢物的含量<sup>[8]</sup>。代谢组学的基本流程是先收集标本, 如血清、血浆、细胞、组织器官, 以及唾液、汗液、脑脊液等特殊标本<sup>[9]</sup>, 通过质子技术核磁共振、磁共振波谱、气相色谱 - 质谱联用技术、液相色谱 - 质谱联用技术、质谱成像、高效液相色谱法结合电化学检测、毛细管电泳等技术分离和鉴定代谢产物<sup>[8, 10-12]</sup>, 检测代谢产物随时间的改

[基金项目] 上海市卫生计生系统重要薄弱学科建设计划 (2015ZB0103) (Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning Foundation for Key Developing Disciplines, 2015ZB0103)。

[作者简介] 平 凤 (1991—), 女, 硕士生; 电子信箱: pingfeng@sjtu.edu.cn。

[通信作者] 李颖川, 电子信箱: dr.yingchuan.li@gmail.com。



变, 结合有效的模式识别方法进行定性、定量和分类, 并将这些代谢信息与病理生理过程中的生物学事件关联起来, 从而了解机体生命活动的代谢过程<sup>[8]</sup>。由于 AKI 发生后, 血液和尿液中代谢产物变化显著, 且获取手段也较容易, 因此 AKI 代谢组学检测常选择血液和尿液标本; 做质谱成像 (imaging mass spectrometry, IMS) 时, 可选择留取肾脏组织。上述常用检测技术主要包括两大类: 即基于色谱、质谱联用的检测技术以及基于核磁共振的检测技术。前者灵敏度和分辨率较高, 后者则具有重复性好且能对样本进行无创性检测等优点<sup>[9]</sup>。另外, IMS 技术可以用来识别、定位代谢产物, 提供目标分析物 (如肾脏切片) 中代谢产物的精确空间分布和相对定量, 且其对获得的组织切片无需任何预处理, 在选择性、空间分辨率、样品制备方面的优势使之成为研究代谢组学的强大工具<sup>[13]</sup>。质谱成像常用的 3 种方法分别是基质辅助激光解吸电离 - 质谱成像法 (matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI)、二次离子质谱法 (secondary ion mass spectrometry, SIMS) 和解吸电离法 (desorption electrospray ionization, DESI)。DESI 相对于 MALDI 和 SIMS 最显著的优势是不需要样品制备, 可以在环境空气而非真空条件下进行质谱成像<sup>[14]</sup>。

Weiss 等<sup>[8]</sup>阐述了代谢组学相对于基因组学、转录组学和蛋白质组学的优势: 其一, 代谢产物的种类比基因、转录物、蛋白质要少, 这意味着需要处理的数据量较少, 可以在一定程度上减轻工作量和减少统计误差。其二, 有研究者认为, 基因组学和蛋白质组学告诉你什么可能发生, 而代谢组学告诉你什么确实发生了, 代谢组学也被定义为特定细胞过程留下的化学指纹的快照<sup>[15]</sup>, 因而代谢产物的改变是一个生物过程最准确的预测物<sup>[8]</sup>。其三, 常规用来检测代谢组学的样本大多是血液和尿液, 获取手段很方便。

肾脏主要的功能是排泄代谢产物和毒素, 肾功能的损失将会引起体内尤其是血浆中多种代谢产物的显著变化。在不同系统的代谢组数据库建立之后, 代谢产物的整体轮廓分析在包括肾脏疾病在内的多种疾病模型中已经被采用, 如人类代谢组学数据库 (human metabolome database, HMDB) 为代谢途径和生物体液中几百种代谢物浓度提供了参考<sup>[16-17]</sup>。因此, 代谢组学在确定 AKI 早期诊断的新标志、鉴定 AKI 中可能存在的新代谢途径、探索药物治疗的新靶点以及提供个体化精准医疗方面具有重要价值<sup>[10, 18]</sup>。

## 2 代谢组学在 AKI 中的应用

### 2.1 寻找 AKI 潜在生物标志物

如前述, 血清肌酐并不是一个充分诊断 AKI 的生物

标志物, 用血清肌酐来诊断 AKI 可能是导致相关临床试验失败的原因<sup>[19]</sup>。个体通过代谢轮廓分析获得的代谢产物水平可以帮助寻找潜在的 AKI 早期诊断生物标志物, 并且可以实时监测肾功能<sup>[20]</sup>。动物研究表明, 成功治疗 AKI 的一个重要条件就是早期诊断、早期干预<sup>[21]</sup>。

Wei 等<sup>[11]</sup>在缺血再灌注诱导的小鼠 AKI 模型中, 利用气相色谱 - 质谱技术、液相色谱 - 质谱联用技术研究肾组织以及血清中代谢产物的改变。经过夹闭肾蒂 25 min 缺血处理后进行再灌注, 发现再灌注后 2 h 即肾功能损害早期, 肾组织和血清中 3- 吲哚硫酸 (3-indoxyl sulfate, 3-IS) 即出现显著升高。Won 等<sup>[22]</sup>在探索早期检测急性肾损伤尿液代谢标志物的临床研究中, 发现尿液中马尿酸、3-IS 以及三羧酸循环中间产物包括富马酸、顺乌头酸、柠檬酸显著降低。由于顺铂、四氯化碳都可造成这种由于器官毒性损伤引起的改变, 因此尿中三羧酸循环的中间产物以及马尿酸的改变不具有特异性, 不能考虑作为肾脏疾病可靠的标志物。另外, 该试验的临床研究结果亦提示, 尿液中的低水平 3-IS 可能预示了肾小管损伤。因此, 血液及尿液中 3-IS 水平的变化可能是早期诊断肾损伤的有用标志物。

Uehara 等<sup>[18]</sup>在利用药物诱导 AKI 小鼠模型探索代谢组学标志物的研究中检测了血浆中的 169 种代谢产物之后, 将 3- 甲基组氨酸 (3-methylhistidine, 3-MH)、3-IS、胍乙酸 (guanidoacetate, GAA) 选为候选标志物。其中, 血浆 3-MH 和 3-IS 水平增高和肾小球滤过率下降相关, 而在肾脏中生成的 GAA 水平降低反映肾脏损伤造成的肾脏合成功能降低。该实验证明, 尽管机制相同, 3-MH 诊断性能优于肌酐。3-IS 在最近的全面代谢组学研究中被认为是最有统计学意义的血清标志物, 以其作为烟碱酸受体激动剂诱导的 AKI 的标识, 较肌酐和血尿素氮具有更高的敏感性<sup>[23]</sup>。GAA 是精氨酸在 L- 精氨酸 - 甘氨酸氨基转移酶 (在小鼠肾脏中活性高) 的作用下合成的, 然后在胍基乙酸甲基转移酶 (在小鼠肝脏中活性高) 作用下转化成肌酸<sup>[24-25]</sup>。因此 GAA 血浆水平降低可以反映出肾脏合功能降低。由于肝功能不全会影响 GAA 的代谢, 所以在评估血浆 GAA 时需要排除肝功能的影响。

在顺铂或庆大霉素诱导的小鼠 AKI 模型中, Xu 等<sup>[26]</sup>利用代谢组学技术定量分离并鉴定了小鼠尿液中大约 40 种内源性代谢产物, 变化最显著的代谢产物呈剂量依赖性增加, 包括丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸等氨基酸, 葡萄糖、乳酸、乙酰乙酸和 3- 羟基丁酸等糖酵解和柠檬酸循环中间产物。然而这些改变是否具有特异性, 需要更详细具体的实验证实。Boudonck 等<sup>[27]</sup>研究表明, 上述支链氨



基酸及其代谢产物的改变不具有特异性，因为这些氨基酸同样出现在肾功能正常的肾癌患者的尿液分析中。

由上可知，不同原因诱导 AKI 发生以后，尽管发生显著改变的代谢产物种类很多，然而支持其作为 AKI 诊断依据的证据不充分。因此，目前尚缺乏可早期明确诊断 AKI 且具有敏感性和特异性的代谢标志物。血液及尿液中的 3-IS 水平在缺血再灌注以及药物诱导 AKI 早期，都存在显著改变，有希望成为早期诊断 AKI 的代谢标志物，然而其特异性仍需要进一步证明。

## 2.2 探索与 AKI 发生有关的分子代谢路径

代谢产物是细胞代谢过程最准确的预测物<sup>[8]</sup>。我们可以通过研究代谢产物的变化来推断急性肾损伤分子代谢路径的改变。

**2.2.1 能量代谢** 多种病因诱导的 AKI 都有一个共同点，即肾脏灌注不足导致肾小球滤过率下降，在缺血缺氧的条件下使维持离子跨膜梯度和细胞内在稳态的三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 生成大大减少。ATP 不足，导致胞内钙离子累积，可激活磷脂酶 A<sub>2</sub> (phospholipase A<sub>2</sub>, PLA<sub>2</sub>) 水解膜磷脂，导致膜磷脂完整性的破坏，造成肾组织细胞损伤。有证据表明，在缺血再灌注损伤后 2 h，ATP 的耗竭以及包括磷脂酶、蛋白酶和活性氧产生酶等酶的激活将会造成肾脏损伤和细胞死亡<sup>[28]</sup>。

**2.2.2 糖代谢** Wei 等<sup>[11]</sup>建立的缺血再灌注诱导的 AKI 模型中，缺血早期 (2 h) 血浆中的葡萄糖、丙酮酸、乳酸以及三羧酸循环的中间产物如琥珀酸、苹果酸含量即降低，直到恢复灌注 1 周后，才逐渐恢复至对照组水平。这种改变表明，葡萄糖在缺血引起的肾损伤中作为能量物质的利用率有短暂降低。在整个缺血再灌注过程中，试验组小鼠肾脏、血浆中柠檬酸水平表现出逐渐增高的独特模式；且有报道<sup>[29]</sup>表明，尿液中升高的柠檬酸水平和再灌注损伤有关。因此，柠檬酸水平升高可能是三羧酸循环进程受阻的标志，表明缺血状态下糖代谢降低。Xu 等<sup>[26]</sup>在肾毒性物质诱导 AKI 研究中首次尝试将尿液代谢组学轮廓分析和分子路径联系起来，显示柠檬酸循环是受到影响最大的代谢路径。

**2.2.3 脂质代谢** 研究表明，缺血再灌注 2 h，血浆中乙酰肉碱的增加，以及乙酰乙酸、3-羟基丁酸的增加说明游离脂肪酸及其分解增加<sup>[11]</sup>。血浆中增加的单酰甘油表明脂解作用增加，暗示三酰甘油是游离脂肪酸增加的来源。这意味着在肾组织中，脂肪可能取代糖类在缺血再灌注早期提供能量，而这种改变会通过增加三酰甘油和极度减少高密度脂蛋白胆固醇来扰乱脂质代谢。因此，在 AKI 患者

的营养支持中添加适量的自由脂肪酸作为能量消耗，可能避免通过分解细胞膜磷脂来维持正常的游离脂肪酸和减轻细胞损害。Liu 等<sup>[28]</sup>在缺血再灌注诱导的 AKI 研究中发现，再灌注后血清中溶血磷脂、游离脂肪酸（包括油酸、花生四烯酸、二十碳五烯酸等）增加，硝基酪氨酸含量显著增加，超氧化物歧化酶活性降低；自由基清除剂肉碱以及乙酰肉碱含量显著减少。这些结果表明 AKI 与能量代谢的紊乱、氧化应激，以及由 PLA<sub>2</sub> 活化诱导的磷脂分解密切相关。Rao 等<sup>[30]</sup>在缺血再灌注诱导小鼠 AKI 模型中发现，在缺血损伤后 6 h，肾组织中 2 种含量丰富的醚类磷脂如磷脂酰胆碱 O-38:1 (phosphatidylcholine O-38:1, PC O-38:1)、磷脂酰乙醇胺 O-42:3 (phosphatidylethanolamine O-42:3, PE O-42:3) 水平显著升高。缺血再灌注 24 h，相比于对照组，试验组只有 PC O-38:1 仍然在高水平状态，而 PE O-42:3 等缩醛磷脂含量减少。尽管在肾损伤早期缩醛磷脂和其他醚磷脂可以被钙离子依赖的 PLA<sub>2</sub> 水解，但它们的含量通过快速循环可以维持在高水平状态，这可能是用来维持正常的生物膜功能以及对抗氧化应激来防止不可逆性细胞损伤<sup>[31-32]</sup>。因此，在缺血诱导 AKI 后 24 h 内，肾脏组织内 PC O-38:1 水平持续增加可能正是这种保护作用；后期缩醛磷脂 PE O-42:3 含量减少可能反映出在缺血再灌注后期，由于大量活性氧产生以及近曲小管（富含用来合成缩醛磷脂和其他醚磷脂的过氧化物酶）的过度损害造成其“消耗”<sup>[33]</sup>。Sun 等<sup>[34]</sup>在一项试点研究中发现，相比健康人，AKI 患者乙酰肉碱、同型半胱氨酸、非对称二甲基精氨酸、5- 氧脯氨酸含量增加。其中增加的乙酰肉碱是脂肪酸氧化受阻的生物标识，增加的同型半胱氨酸、非对称二甲基精氨酸、5- 氧脯氨酸被认为是肾脏疾病的标志物。

**2.2.4 核苷酸代谢** 研究表明，在长时间的缺血损伤中核苷酸代谢发生紊乱。肾脏缺血性损伤中嘌呤代谢受损，且通过补充腺苷、肌苷和鸟苷可以减少肾脏的损伤<sup>[35]</sup>。早期降低的次黄嘌呤、腺嘌呤和再灌注 48 h 后显著降低的鸟嘌呤可能作为能源物质被消耗，嘧啶的代谢并没有明显受损<sup>[11]</sup>。

结合上述试验结果发现，AKI 发生之后，糖代谢受抑制，三羧酸循环氧化供能受阻，血液、尿液中柠檬酸水平增加，ATP 生成减少。作为代偿，脂质成为缺血再灌注早期主要的功能物质，三酰甘油发生脂解作用致血液中游离脂肪酸增加，PLA<sub>2</sub> 活化后水解膜磷脂，其分解产物如溶血磷脂增加。抗氧化剂活性降低，氧化应激增强。嘌呤代谢在肾损伤之后受损，也可能是作为能源物质被消耗。简言之，AKI 与能量代谢的紊乱、氧化应激，以及由



PLA2 活化诱导的磷脂分解密切相关。采集 AKI 发生之后的血、尿、组织标本，可利用代谢组学技术找到上述能量代谢、糖代谢、脂质代谢、嘌呤代谢等过程中差异显著并具有特异性的分子代谢产物，并可进一步通过京都基因与基因组百科全书 (the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 数据库找到相关代谢通路进行深入实验以探究验证。

### 2.3 发现 AKI 潜在治疗靶点

作为尿液中的一种毒素，3-IS 表现出对原始内皮细胞和肾近曲小管的毒性。而 3-IS 在血清中的含量很大程度受到肠道微生物群和肝合成功能的影响，因此抑制其在肠道的吸收和肝内生成可能有希望作为 AKI 一种治疗方案<sup>[36-41]</sup>。已有研究表明<sup>[42-44]</sup>，植物多酚、甲氯灭酸、肝碘基转移酶抑制剂能够通过抑制 3-IS 生成来减轻急性肾损伤。

发生 AKI 时糖利用降低，脂肪成为主要的能源物质。在多种缺血再灌注损伤动物模型中，左旋肉碱是将长链脂肪酸从胞质转运到发生 β- 氧化的线粒体的重要因素。它可以提高能量代谢<sup>[45]</sup>，防止氧化应激<sup>[46]</sup>，可能对预防以及临床治疗 AKI 有效。Liu 等<sup>[28]</sup>通过分析代谢组学结果发现，在建立缺血再灌注 AKI 模型之前 30 min 给予左旋肉碱，可以减少细胞膜磷脂的分解产物如溶血磷脂和游离脂肪酸，减轻肾组织损伤。

如前述，缩醛磷脂和其他醚磷脂可以防止不可逆性细胞损伤。Rao 等<sup>[30]</sup>研究发现，在 AKI 研究模型中缺血再灌注后 24 h，肾组织中检测到的所有醚类磷脂酰乙醇胺几乎都降低，这意味着通过修饰关键酶防止醚类磷脂酰乙醇胺减少或恢复它原来的水平，或许可以取得一些治疗效果。

有研究<sup>[47]</sup>报道，在大鼠缺血再灌注肾损伤模型中，采用高分辨率液相色谱 - 四级杆飞行时间质谱串联的方法测定大鼠血清中代谢产物，发现动物血清内游离卡尼汀下降。如果能在缺血前或再灌注早期补充外源性左旋卡尼

汀，可能对 AKI 有一定的保护作用。

由上所知，在 AKI 患者的营养方案中加入充足的游离脂肪酸和磷脂酰乙醇胺合成关键酶，可以减少细胞膜稳定性破坏以减轻细胞损伤；也可早期补充左旋卡尼汀来调节脂质代谢，以及补充腺嘌呤、次黄嘌呤、鸟嘌呤来尽量维持正常的嘌呤代谢。

## 3 代谢组学检测需克服的障碍

首先，代谢组学在收集样本的手段上比较简单，而患者年龄、性别对代谢产物的干扰较大，因此要保持生物液体样本收集的一致性，消除潜在混杂影响不容易。例如，同一样本送到不同机构得出的结果有明显的区别，不过磁共振技术可以将这种差异限制在一定范围内。其次，需控制分析过程中的批量效应。最后，需要应用最合适的统计学方法从获得的数据中提取到最大量的可靠信息<sup>[8]</sup>。

## 4 结语

综上所述，AKI 是一种多病因、多机制参与的复杂的临床综合征。到目前为止，之所以发生率和死亡率都居高不下，主要是缺乏早期、敏感、有一定特异性的生物标志物，无法在疾病发生的早期及时发现 AKI，从而错过有效治疗时间窗。代谢组学检测获得的结果非常直观而简洁。无论哪种原因引起的 AKI，中间有多少种基因表达产物上调或下降，代谢产物的数量是一定的。应用代谢组学研究 AKI，可能发现潜在的早期诊断生物标志物、代谢途径及早期干预治疗靶点，但是其可靠性和敏感性需要临床研究和多种 AKI 模型试验来进一步验证。当然，各种类型 AKI 代谢产物变化不尽相同。根据其改变情况调整治疗方案，虽然不能从根本上抑制 AKI 的进程，但是可以改善机体的某些功能状态，延缓疾病进展，同时探究其可能的机制。

## 参·考·文·献

- [1] Lewington AJ, Sayed A. Acute kidney injury: how do we define it? [J]. Ann Clin Biochem, 2010, 47(Pt 1): 4-7.
- [2] Ympa YP, Sakr Y, Reinhart K, et al. Has mortality from acute renal failure decreased? A systematic review of the literature[J]. Am J Med, 2005, 118(8): 827-832.
- [3] Bonventre JV, Yang L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury[J]. J Clin Invest, 2011, 121(11): 4210-4221.
- [4] Slocum JL, Heung M, Pennathur S. Marking renal injury: can we move beyond serum creatinine? [J]. Transl Res, 2012, 159(4): 277-289.
- [5] Yang F, Zhang L, Wu H, et al. Clinical analysis of cause, treatment and prognosis in acute kidney injury patients[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e85214.
- [6] Pan HC, Chien YS, Jenq CC, et al. Acute kidney injury classification for critically ill cirrhotic patients: a comparison of the KDIGO, AKIN, and RIFLE classifications[J]. Sci Rep, 2016, 6: 23022.
- [7] Cruz DN, de Geus HR, Bagshaw SM. Biomarker strategies to predict need for renal replacement therapy in acute kidney injury[J]. Semin Dial, 2011, 24(2): 124-131.
- [8] Weiss RH, Kim K. Metabolomics in the study of kidney diseases[J]. Nat Rev Nephrol, 2012, 8(1): 22-33.
- [9] 高嘉元. 代谢组学技术在肾脏病研究中的应用 [J]. 中国中西医结合肾病杂志



- 志, 2011, 12(5): 466-470.
- [10] Zhang A, Sun H, Qiu S, et al. Metabolomics insights into pathophysiological mechanisms of nephrology[J]. Int Urol Nephrol, 2013, 46(5): 1025-1030.
- [11] Wei Q, Xiao X, Fogle P, et al. Changes in metabolic profiles during acute kidney injury and recovery following ischemia/reperfusion[J]. PLoS One, 2014, 9(9): e106647.
- [12] 王雁, 赵忠新. 代谢组学在帕金森病生物标记研究中的应用 [J]. 中华神经医学杂志, 2016, 15(4): 418-420.
- [13] Jung JW, Lee MS, Choi HJ, et al. Mass spectrometric imaging of metabolites in kidney tissues from rats treated with furosemide[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2016, 310(11): F1317-F1327.
- [14] Chaurand P. Imaging mass spectrometry of thin tissue sections: a decade of collective efforts[J]. J Proteomics, 2012, 75(16): 4883-4892.
- [15] Lindon JC, Nicholson JK. Spectroscopic and statistical techniques for information recovery in metabolomics and metabolomics[J]. Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif), 2008, 1: 45-69.
- [16] Wishart DS, Tzur D, Knox C, et al. HMDB: the Human Metabolome Database[J]. Nucleic Acids Res, 2007, 35(Database issue): D521-D526.
- [17] Wishart DS, Knox C, Guo AC, et al. HMDB: a knowledgebase for the human metabolome[J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(Database issue): D603-D610.
- [18] Uehara T, Horinouchi A, Morikawa Y, et al. Identification of metabolomic biomarkers for drug-induced acute kidney injury in rats[J]. J Appl Toxicol, 2014, 34(10): 1087-1095.
- [19] Al-Ismaili Z, Palijan A, Zappitelli M. Biomarkers of acute kidney injury in children: discovery, evaluation, and clinical application[J]. Pediatric Nephrology, 2011, 26(1): 29-40.
- [20] Barrios C, Spector TD, Menni C. Blood, urine and faecal metabolite profiles in the study of adult renal disease[J]. Arch Biochem Biophys, 2016, 589: 81-92.
- [21] Coca SG, Parikh CR. Urinary biomarkers for acute kidney injury: perspectives on translation[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2008, 3(2): 481-490.
- [22] Won AJ, Kim S, Kim YG, et al. Discovery of urinary metabolomic biomarkers for early detection of acute kidney injury[J]. Mol Biosyst, 2016, 12(1): 133-144.
- [23] Zgoda-Pols JR, Chowdhury S, Wirth M, et al. Metabolomics analysis reveals elevation of 3-indoxyl sulfate in plasma and brain during chemically-induced acute kidney injury in mice: investigation of nicotinic acid receptor agonists[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2011, 255(1): 48-56.
- [24] Lee H, Kim JH, Chae YJ, et al. Creatine synthesis and transport systems in the male rat reproductive tract[J]. Biol Reprod, 1998, 58(6): 1437-1444.
- [25] da Silva RP, Nissim I, Brosnan ME, et al. Creatine synthesis: hepatic metabolism of guanidinoacetate and creatine in the rat *in vitro* and *in vivo*[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2009, 296(2): E256-E261.
- [26] Xu EY, Perlina A, Vu H, et al. Integrated pathway analysis of rat urine metabolic profiles and kidney transcriptomic profiles to elucidate the systems toxicology of model nephrotoxicants[J]. Chem Res Toxicol, 2008, 21(8): 1548-1561.
- [27] Boudonck KJ, Mitchell MW, Nemet L, et al. Discovery of metabolomics biomarkers for early detection of nephrotoxicity[J]. Toxicol Pathol, 2009, 37(3): 280-292.
- [28] Liu Y, Yan S, Ji C, et al. Metabolomic changes and protective effect of L-carnitine in rat kidney ischemia/reperfusion injury[J]. Kidney Blood Press Res, 2012, 35(5): 373-381.
- [29] Hauet T, Baumert H, Gibelin H, et al. Citrate, acetate and renal medullary osmolyte excretion in urine as predictor of renal changes after cold ischaemia and transplantation[J]. Clin Chem Lab Med, 2000, 38(11): 1093-1098.
- [30] Rao S, Walters KB, Wilson L, et al. Early lipid changes in acute kidney injury using SWATH lipidomics coupled with MALDI tissue imaging[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2016, 310(10): F1136-F1147.
- [31] Portilla D, Creer MH. Plasmalogen phospholipid hydrolysis during hypoxic injury of rabbit proximal tubules[J]. Kidney Int, 1995, 47(4): 1087-1094.
- [32] Portilla D, Shah SV, Lehman PA, et al. Role of cytosolic calcium-independent plasmalogen-selective phospholipase A2 in hypoxic injury to rabbit proximal tubules[J]. J Clin Invest, 1994, 93(4): 1609-1615.
- [33] Braverman NE, Moser AB. Functions of plasmalogen lipids in health and disease[J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1822(9): 1442-1452.
- [34] Sun J, Shannon M, Ando Y, et al. Serum metabolomic profiles from patients with acute kidney injury: a pilot study[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2012: 893-894: 107-813.
- [35] Kelly KJ, Plotkin Z, Vulgamott SL, et al. P53 mediates the apoptotic response to GTP depletion after renal ischemia-reperfusion: protective role of a p53 inhibitor[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(1): 128-138.
- [36] Saito S, Shimizu H, Yisireyili M, et al. Indoxyl sulfate-induced activation of (pro)renin receptor is involved in expression of TGF-beta1 and alpha-smooth muscle actin in proximal tubular cells[J]. Endocrinology, 2014, 155(5): 1899-1907.
- [37] Yisireyili M, Shimizu H, Saito S, et al. Indoxyl sulfate promotes cardiac fibrosis with enhanced oxidative stress in hypertensive rats[J]. Life Sci, 2013, 92(24-26): 1180-1185.
- [38] Bolati D, Shimizu H, Yisireyili M, et al. Indoxyl sulfate, a uremic toxin, downregulates renal expression of Nrf2 through activation of NF- $\kappa$ B[J]. BMC Nephrol, 2013, 14: 56.
- [39] Shimizu H, Yisireyili M, Nishijima F, et al. Indoxyl sulfate enhances p53-TGF-beta1-Smad3 pathway in proximal tubular cells[J]. Am J Nephrol, 2013, 37(2): 97-103.
- [40] Shimizu H, Yisireyili M, Higashiyama Y, et al. Indoxyl sulfate upregulates renal expression of ICAM-1 via production of ROS and activation of NF- $\kappa$ B and p53 in proximal tubular cells[J]. Life Sci, 2013, 92(2): 143-148.
- [41] Wu VC, Young GH, Huang PH, et al. In acute kidney injury, indoxyl sulfate impairs human endothelial progenitor cells: modulation by statin[J]. Angiogenesis, 2013, 16(3): 609-624.
- [42] Kusumoto M, Kamobayashi H, Sato D, et al. Alleviation of cisplatin-induced acute kidney injury using phytochemical polyphenols is accompanied by reduced accumulation of indoxyl sulfate in rats[J]. Clin Exp Nephrol, 2011, 15(6): 820-830.
- [43] Saigo C, Nomura Y, Yamamoto Y, et al. Meclofenamate elicits a nephroprotective effect in a rat model of ischemic acute kidney injury by suppressing indoxyl sulfate production and restoring renal organic anion transporters[J]. Drug Des Devel Ther, 2014, 8: 1073-1082.
- [44] Saito H, Yoshimura M, Saigo C, et al. Hepatic sulfotransferase as a nephroprotective target by suppression of the uremic toxin indoxyl sulfate accumulation in ischemic acute kidney injury[J]. Toxicol Sci, 2014, 141(1): 206-217.
- [45] Görür S, Bağdatoglu ÖT, Polat G. Protective effect of L-carnitine on renal ischaemia-reperfusion injury in the rat[J]. Cell Biochem Funct, 2005, 23(3): 151-155.
- [46] Lango R, Smolenski RT, Narkiewicz M, et al. Influence of L-carnitine and its derivatives on myocardial metabolism and function in ischemic heart disease and during cardiopulmonary bypass[J]. Cardiovasc Res, 2001, 51(1): 21-29.
- [47] 刘晔, 吉程程, 王雪琦, 等. Sprague-Dawley 大鼠肾脏急性缺血再灌注损伤的代谢组学研究 [J]. 上海医学, 2009, 32(3): 184-187.

[ 收稿日期 ] 2016-11-28

[ 本文编辑 ] 曹智勇

