

嗜中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白早期诊断冲击波碎石所致急性肾损伤的研究

章璟 杨佳伟 顾燕 姜宁 王国增

【摘要】 目的 通过检测急性肾损伤的新型标记物尿嗜中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL)及传统标记物 α 1-微球蛋白(α 1-MG)在冲击波碎石(SWL)前后的变化来探讨NGAL对评价SWL引起的早期肾损伤的应用价值。方法 前瞻性收集2012年7月至2013年12月来院治疗的最大径10~15 mm单发X阳性肾结石患者。用随机数字表法分为两组,观察组接受SWL(Siemens MODULARIS Variostar电磁碎石机),对照组接受输尿管软镜钬激光碎石(fURL)。在碎石前、碎石后2 h、6 h、12 h、24 h、48 h、1周和2周分别收集并检测尿NGAL和 α 1-MG水平。结果 共有60例患者入选,每组各30例。所有患者为单发肾结石,位于上盏或中盏,结石平均长径11.5 mm(10~15 mm)。两组性别、年龄、结石位置、大小及基线尿NGAL值[(3.98±1.3) μ g/L vs. (3.94±0.8) μ g/L]、 α 1-MG值[(17.21±2.4) mg/L vs. (17.96±3.6) mg/L]均无统计学差异($P>0.05$)。尿NGAL值在SWL后2 h较术前已出现升高 [(5.03±1.7) μ g/L vs. (3.98±1.3) μ g/L, $P=0.008$], 6 h达高峰, 12 h开始下降, 1周接近术前基线值($P=0.048$), 2周恢复基线水平[(4.03±0.9) μ g/L vs. (3.98±1.3) μ g/L, $P=0.851$]。而尿 α 1-MG在SWL后12 h才有轻度升高 [(18.62±1.7) mg/L vs. (17.21±2.4) mg/L, $P=0.012$], 并于24 h恢复基线水平 [(17.96±3.6) mg/L vs. (17.21±2.4) mg/L, $P=0.34$]。对照组接受fURS后, NGAL于6 h有轻度升高 [(4.52±1.2) μ g/L vs. (3.94±0.8) μ g/L, $P=0.185$], 但无统计学意义, α 1-MG浓度无显著变化 ($P=0.429$)。结论 NGAL早于传统指标, 在SWL后2 h已有显著升高。提示NGAL对评价SWL引起的早期急性肾损伤有潜在作用。

【关键词】 碎石术; 肾结石; 尿嗜中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白; 急性肾损伤

Evaluating NGAL as an early diagnostic test of ESWL-induced acute renal injury Zhang Jing, Yang Jiawei, Gu Yan, Jiang Ning, Wang Guozeng. Department of Urology, Shanghai Pudong New Area Gongli Hospital, Shanghai 200135, China

Corresponding author: Wang Guozeng, Email: gonglimiwai@aliyun.com

【Abstract】 Objective The aim of this work was to determine possible acute kidney injury with new marker neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in urine and to show the relationship between changes of this marker and conventional markers α 1-microglobulin (α 1-MG) in patients undergoing Shockwave lithotripsy (SWL). **Methods** From Jul. 2012 to Dec. 2013, a prospective study was conducted to compare SWL and fURL for the management of solitary radiopaque renal calculi which were 10-15 mm in diameter. Stone formers were random enrolled into two groups by random number table. Observation group was managed with SWL (Siemens MODULARIS Variostar lithotripter), while control group was managed using flexible ureteroscopy lithotripsy (fURL). Voided urine samples were collected to detect NGAL and α 1-MG levels before and 2, 6, 12, 24 and 48 hours after SWL and fURL. In addition, further urinary specimens were collected 7 days and 2 weeks post-treatment. **Results** Of 60 patients, 30 were randomized to the SWL group and 30 to fURL group. All patients had a single stone in the kidney with an average size of 11.5 mm (range 10-15 mm). The gender, age, stone location, stone size, urine

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2014.21.017

基金项目:上海市医学重点专科建设计划资助项目(ZK2012A29);上海市卫生局科研课题(20124310);上海市浦东新区卫生局卫生科技发展专项基金资助(PW2012A-8)

作者单位:200135 上海市浦东新区公利医院泌尿外科

通讯作者:王国增, Email: gonglimiwai@aliyun.com

NGAL [(3.98 ± 1.3) μg/L vs. (3.94 ± 0.8) μg/L] and α1-MG levels [(17.21 ± 2.4) mg/L vs. (17.96 ± 3.6) mg/L] were comparable in both groups ($P > 0.05$). Mean NGAL levels were significantly increased 2 hours post-SWL when compared with baseline [(5.03 ± 1.7) μg/L vs. (3.98 ± 1.3) μg/L, $P = 0.008$], reached peak at 6 hours, began to decline after 12 hours, close to the baseline within 1 week ($P = 0.048$), and returned to baseline within 2 weeks post-SWL [(4.03 ± 0.9) μg/L vs. (3.98 ± 1.3) μg/L, $P = 0.851$], as well as mean α1-MG levels were slightly increased 12 hours post-SWL [(18.62 ± 1.7) mg/L vs. (17.21 ± 2.4) mg/L, $P = 0.012$], and returned to baseline within 24 hours [(17.96 ± 3.6) mg/L vs. (17.21 ± 2.4) mg/L, $P = 0.34$]. There was no significant change in urinary NGAL and α1-MG levels before and after fURL ($P > 0.05$). **Conclusion** NGAL levels significantly increased 2 hours post-SWL treatment suggesting a potential role for this urinary marker in evaluating SWL-induced acute renal injury.

【Key words】 Lithotripsy; Kidney calculi; Neutrophil gelatinase associated lipocalin; Acute renal injury

20世纪80年代,冲击波碎石术(shock wave lithotripsy, SWL)作为尿路结石的微创治疗技术被引入临床来替代传统开放手术,目前是2 cm以下肾结石的首选治疗方法。虽然SWL侵入性小于其他治疗方法,但已有研究证实其可能因为高能量而导致肾实质出血并对肾功能产生潜在损伤^[1]。尽管有报道尿α1-微球蛋白(α1-MG)^[2]、尿N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)^[3]以及肾损伤因子-1(KIM-1)^[4]等肾损伤标记物可以用来评估SWL后肾损伤,但研究结果不稳定^[5]。目前为止,没有一种统一可靠的尿标记物来发现SWL引起的早期肾损伤。

尿嗜中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL)是脂质运载蛋白家族中的一员,是近期发现的反映近端肾小管上皮细胞急性缺血性损伤的一个敏感标记物,被用作肾移植及儿童心脏病手术后急性肾损伤的监测^[6]。尽管监测NGAL优于其他肾缺血损伤标记物,但很少被用于SWL后的监测。本研究的目的是测试SWL前后尿中NGAL以及α1-MG浓度。同时将输尿管软镜激光碎石术(flexible ureteroscopy lithotripsy, fURL)治疗肾结石组作为对照组。

资料与方法

1. 病例选择:收集2012年7月至2013年12月来院就诊的符合入选标准的肾结石患者入组,样本量60例。入选和排除标准:未经手术(碎石)干预的单发X阳性肾结石患者,结石最大径10~15 mm;排除肾功能不全、孤立肾或有其他脏器严重功能障碍患者。

2. 分组情况:所有入组肾结石患者,术前行

CT尿路成像(CTU)或静脉肾盂造影(IVP)确诊,并尿培养、尿常规、出凝血时间、血生化检查、胸片及心电图等检查排除泌尿道感染、凝血功能障碍、肝肾、心肺功能不全等。CT或腹部平片(KUB)测量结石最大径10~15 mm。入选后签署知情同意书并按随机数字表法分为二组。SWL组30例,使用西门子MODULARIS Variostar电磁碎石机。冲击频率设定为60次/min,从能级0.1开始,逐级递增,500次达到能级3.0。然后维持能级3.0,直至2500次左右。30例对照组患者接受奥林巴斯F8输尿管软镜激光(fURL)治疗。输尿管硬镜扩张后留置F12输尿管鞘,沿鞘置入软镜,用15 W钬激光击碎结石,并留置F6双J管。

3. 标本收集和分析:收集入组患者碎石前1至3 h以及碎石后2 h、6 h、12 h、24 h和48 h排出的尿样标本。随访收集碎石后1周和2周的晨尿标本,并于2周记录超声和KUB复查结果,包括有无肾包膜下或肾周血肿。

标本收集完成后在15 min内,应用高速离心机以2 000 r/min离心15 min,用加样器吸取上清液置于EP管内并标记清楚,放置于-80 °C冰箱中保存待测,待所有标本收集完成后统一检测,检测前标本无冻融。

尿液NGAL水平用市售R&D公司的ELISA试剂盒,按试剂盒说明书进行操作。尿α1-MG水平使用上海恒远生物公司提供的试剂用免疫比浊法测定。

4. 统计学分析:采用SPSS 18.0统计软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)的形式表示。分别用重复测量资料的方差分析和卡方检验进行计量资料和计数资料的统计分析,组内各时点两两比较采用配对 t 检验。 $P < 0.05$ 设定为有统计学意义。

结 果

1. 一般情况比较: 所有患者为单发肾结石, 位于上盏或中盏, 结石平均长径 11.5 mm (10~15 mm)。两组性别、年龄、结石位置及大小无统计学差异 ($P > 0.05$)。SWL 组及 fURL 组的平均碎石时间 (44 min vs. 50 min, $P = 0.101$)、结石粉碎率 (93.3% vs. 96.7%, $P = 0.554$)、复震率 (13.3% vs. 3.3%, $P = 0.161$) 及 2 周排净率 (83.3% vs. 93.3%, $P = 0.228$) 均无统计学差异, 亦无肾周血肿等严重并发症发生。

2. 尿生物标记物浓度比较: 两组术前尿 NGAL 值 [(3.98 ± 1.3) μg/L vs. (3.94 ± 0.8) μg/L, $P = 0.868$]、α1-MG 值 [(17.21 ± 2.4) mg/L vs. (17.96 ± 3.6) mg/L, $P = 0.346$] 均无统计学差异。尿 NGAL 值在 SWL 后 2 h 较术前已出现升高 [(5.03 ± 1.7) μg/L vs. (3.98 ± 1.3) μg/L, $P = 0.008$], 6 h 达高峰, 12 h 开始下降, 1 周接近术前基线值 ($P = 0.048$), 2 周恢复基线水平 [(4.03 ± 0.9) μg/L vs. (3.98 ± 1.3) μg/L, $P = 0.851$]。而尿 α1-MG 在 SWL 后 12 h 才有轻度升高 [(18.62 ± 1.7) mg/L vs. (17.21 ± 2.4) mg/L, $P = 0.012$], 并于 24 h 恢复基线水平 [(17.96 ± 3.6) mg/L vs. (17.21 ± 2.4) mg/L, $P = 0.34$]。对照组接受 fURS 后, NGAL 于 6 h 有轻度升高 [(4.52 ± 1.2) μg/L vs. (3.94 ± 0.8) μg/L, $P = 0.185$], 但无统计学意义, α1-MG 浓度无显著变化 ($P = 0.429$) (表 1)。

讨 论

动物研究发现, SWL 引起的肾损伤, 主要表现为冲击波作用的邻近区域肾包膜下血肿, 肾间质和肾髓质出血以及肾血流的局部改变。尽管大多数血肿可以自行缓慢吸收, 但其中有些可能导致急性肾衰竭甚至威胁生命, 长期随访发现, 这种急性出血损害可能形成瘢痕以及肾乳头完全萎缩^[7]。

目前还没有确切的影像学方法来评估这种早期损伤。因此, 亟需建立新的无创检测手段来尽早发现 SWL 引起的肾损伤, 特别是在某些特定人群,

如儿童、既往肾病患者以及接受多次 SWL 治疗患者。血尿素、肌酐是传统的肾功能检测指标。但是, 肾脏具有很强的储备功能, 只有当肾功能下降 30% 以下时, 血中尿素和肌酐才会超出正常范围, 不能早期发现肾损伤。近十年来, 研究者把兴趣放在肾损伤的尿生物学标记物上, 例如 α1-MG^[2]、血清胱抑素 C 和 KIM-1^[8] 以及 NGAL^[9]。但很少有用在评估 SWL 后肾功能损伤。

α1-MG 被认为是能较早发现肾功能损害的指标之一。当肾小管受损时, 尿 α1-MG 首先增加, 而且不受尿酸碱度影响, 所以它是反映肾小管早期受损的灵敏的指标^[10]。刘帅光等^[2]发现, SWL 后尿 α1-MG 较 SWL 前明显增高, 但要在 24 h 后才出现变化。本研究中, α1-MG 也迟于 NGAL, 要在 SWL 12 h 后才有轻度升高。

近年来, NGAL 备受关注。NGAL 是脂质运载蛋白家族中的一员, 因最早在中性粒细胞内发现而命名^[11], 见于多种组织细胞, 包括肾小管上皮细胞。大量文献报道, NGAL 可以预测早期缺血性肾损伤, 且比其他指标如 α1-MG、KIM-1、胱抑素-C 等相比较出现得更早。当发生急性肾损伤时, NGAL 在血肌酐升高前 24~48 h 即可表现出明显变化, 当肾脏发生缺血再灌注损伤或毒性损害 2 h 后就能检测到尿液和血清中 NGAL 的变化^[12-13], 是反映肾功能早期变化的敏感性、特异度高的生物学指标。

由于有大量研究证实 NGAL 是一个早期发现急性肾损伤的理想指标, 所以本研究中, 我们用它来检测 SWL 引起急性肾损伤的发生和进展。然而到目前为止, NGAL 在 SWL 所致肾损伤方面的研究报道较少。本研究发现, SWL 术后 2 h 的尿 NGAL 水平即较碎石之前明显升高, 说明尿 NGAL 对判定 SWL 所致早期肾损伤的敏感性较高。Devarajan^[12]报道, 在顺铂诱导的肾脏急性损伤后约 2 h 就能在尿中检测到 NGAL 的改变, 而检测出血肌酐明显改变要等到 3~4 d 后。心脏手术后并发急性肾衰竭的患者术后 2 h 的血清和尿液标本中的 NGAL 水平亦有

表 1 两组碎石不同时间点的尿生物学标记物水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	观察指标	碎石前	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h	1 周	2 周	F 值	P 值
SWL 组	30	NGAL(μg/L)	3.98±1.3	5.03±1.7 ^a	8.65±3.3 ^a	7.16±2.9 ^a	6.58±1.7 ^a	5.94±1.5 ^a	4.59±1.1 ^a	4.03±0.9	21.01	<0.001
		α1-MG(mg/L)	17.21±2.4	17.55±2.7	18.09±2.5	18.62±1.7	17.96±3.6	17.42±3.1	17.88±3.5	16.75±3.0	1.213	0.296
fURL 组	30	NGAL(μg/L)	3.94±0.8	4.10±0.8	4.52±1.2	4.01±0.8	4.28±1.1	4.19±1.0	4.36±0.9	4.16±0.9	1.223	0.291
		α1-MG(mg/L)	17.96±3.6	17.25±2.6	18.60±1.7	18.07±2.5	17.51±2.9	17.91±3.7	17.69±2.7	16.87±3.0	1.005	0.429

注: 与碎石前比较, ^a $P < 0.05$

明显升高,且与肾损伤程度呈正相关,而血肌酐明显升高则要等到1~3 d后^[13]。这与本试验结果相符。有学者研究了大鼠缺血再灌注损伤模型中NGAL的表达,发现NGAL对大鼠的肾小管上皮细胞有保护作用,其作用机制与减少细胞凋亡、改变凋亡蛋白的表达,从而减轻组织损伤有关^[14]。本研究SWL后6~12 h尿NGAL水平达高峰,说明机体在SWL造成肾损伤早期即对肾脏的开展全面修复。因此,NGAL既可以作为反映肾小管损伤的特异性标记物,又可以促进损伤后的肾小管细胞增生和修复。而在SWL术后2周基本恢复到SWL术前基线水平,可间接反映这种修复过程。

对照组接受了fURS后,尿 α 1-MG水平无显著性变化,即便是更敏感的NGAL也仅有轻微升高而无统计意义。这与Fahmy等^[4]的结果类似,说明腔内碎石对肾功能并没有显著的影响。

综上所述,NGAL早于传统指标 α 1-MG,在SWL后2 h已有显著升高。提示NGAL对评价SWL引起的早期肾损伤有潜在作用。

参 考 文 献

- [1] Bhojani N, Lingeman JE. Shockwave lithotripsy-new concepts and optimizing treatment parameters[J]. Urol Clin N Am, 2013, 40(1): 59-66.
- [2] 刘帅光, 刘寄尘, 邓顺中, 等. SWL前后尿 α 1微球蛋白及尿白蛋白的变化及其意义[J]. 江西医学院学报, 2002, 42(1): 107.
- [3] Ng CF, Lo AK, Lee KW, et al. A prospective, randomized study of the clinical effects of shock wave delivery for unilateral kidney stones: 60 versus 120 shocks per minute[J]. J Urol, 2012, 188(3): 837-842.
- [4] Fahmy N, Sener A, Sabbiseti V, et al. Urinary expression of novel tissue markers of kidney injury after ureteroscopy, shockwave lithotripsy, and in normal healthy controls[J]. J Endourol, 2013, 27(12): 1455-1462.
- [5] Vaidya VS, Waikar SS, Ferguson MA, et al. Urinary biomarkers for sensitive and specific detection of acute kidney injury in humans[J]. Clin Transl Sci, 2008, 1(3): 200-208.
- [6] Smerka M, Chudek J. Using NGAL as an early diagnostic test of acute kidney injury[J]. Ren Fail, 2012, 34(1): 130-133.
- [7] Skolarikos A, Alivizatos G, de la Rosette J. Extracorporeal shock wave lithotripsy 25 years later: Complications and their prevention[J]. Eur Urol, 2006, 50(5): 981-990.
- [8] 姚春颖, 解汝娟. 急性肾损伤新型生物标志物的研究进展[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2012, 6(8): 2151-2153.
- [9] Zekey F, Senkul T, Ates F, et al. Evaluation of the impact of shock wave lithotripsy on kidneys using a new marker: how do neutrophil gelatinase-associated lipocalin values change after shock wave lithotripsy? [J]. Urology, 2012, 80(2): 267-272.
- [10] 邹和群. 重视高血压肾损害的早期干预[J]. 中华肾脏病杂志, 2005, 21(10): 5755-5778.
- [11] Haase M, Bellomo R, Devarajan P, et al. Accuracy of neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and Meta-analysis[J]. Am J Kidney, 2009, 54(6): 1012-1024.
- [12] Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease[J]. Clin Lab Invest, 2008, 241(Sup): 89-94.
- [13] Mishra J, Dent C, Tarabishi R, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery[J]. Lancet, 2005, 365(9466): 1231-1238.
- [14] 臧秀娟, 安淑娴, 郑峰, 等. NGAL对大鼠肾脏缺血再灌注损伤作用机制的体内研究[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(7): 1060-1063.

(收稿日期: 2014-08-25)

(本文编辑: 郝锐)

章璟, 杨佳伟, 顾燕, 等. 嗜中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白早期诊断冲击波碎石所致急性肾损伤的研究[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2014, 8(21): 3818-3821.