

银杏叶提取物保护体外冲击波碎石术致早期肾损伤的作用及机制

赵俊龙¹ 姜宁² 李岩¹ 徐冀东² 张鹤² 胡传义²▲

1.宁夏医科大学,宁夏银川 750004;2.上海市浦东新区公利医院泌尿外科,上海 200135

[摘要] 目的 研究银杏叶提取物在肾结石体外冲击波碎石术(ESWL)致早期肾损伤中的保护作用,并探讨其可能的机制。方法 将上海市浦东新区公利医院 2016 年 1 月~2017 年 1 月收治的 80 例行 ESWL 的单侧肾盂/肾盏结石患者随机分成观察组和对照组,每组 40 例。观察组于 ESWL 前 3 d 将银杏叶提取物 20 mL 加入生理盐水 250 mL 中静滴, q12h, 5 d; 对照组为同时间节点给予生理盐水 250 mL 静滴。比较两组患者碎石前后肾损伤情况[尿中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL)、尿半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(Cys-C)]和血清氧自由基水平[丙二醛(MDA)、髓过氧化物酶(MPO)]、抗氧化水平[总抗氧化能力(TAC)、总超氧化物歧化酶(TSOD)]的差异。结果 ESWL 术后 24 h, 观察组尿 NGAL 和尿 Cys-C 的水平[(17.56±3.94)、(38.29±3.84)ng/mL]低于对照组[(22.68±4.82)、(45.63±5.37)ng/mL], 差异有高度统计学意义($P < 0.01$); 血清 MDA 和 MPO 水平[(5.05±0.84)mmol/L、(68.64±21.35)U/mg]低于对照组[(5.91±1.13)mmol/L、(76.28±22.17)U/mg], 差异有统计学意义($P < 0.05$); 血清 TSOD 和 TAC 水平[(147.65±43.38)kU/L、(12.58±3.34)U/mg]高于对照组[(123.52±41.29)kU/L、(8.35±2.14)U/mg], 差异亦有统计学意义($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)。结论 银杏叶提取物能有效保护 ESWL 所致的早期肾损伤,其机制可能是通过增强机体抗氧化能力、清除氧自由基而起作用。

[关键词] 银杏叶提取物;体外冲击波碎石术;肾损伤;氧自由基

[中图分类号] R692

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2017)07(c)-0082-04

The effect and mechanism of extract of *Folium Ginkgo* in protecting the early renal injury caused by extracorporeal shock wave lithotripsy

ZHAO Junlong¹ JIANG Ning² LI Yan¹ XU Jidong² ZHANG He² HU Chuanyi²▲

1.Ningxia Medical University, Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan 750004, China; 2.Department of Urology Surgery, Shanghai Pudong New Area Gongli Hospital, Shanghai 200135, China

[Abstract] Objective To study the protective effect of extract of *Folium Ginkgo* in the early renal injury caused by extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL), and to explore its possible mechanism. **Methods** Eighty patients with unilateral lithotripsy pelvis/calycal calculi underwent ESWL admitted to Shanghai Pudong New Area Gongli Hospital from January 2016 to January 2017 were randomly divided into observation group and control group, with 40 cases in each group. The observation group was administrated with *Folium Ginkgo* 20 mL plus normal saline 250 mL, 3 d before ESWL, intravenous drip, q12h, 5 d; the control group was administrated with normal saline 250 mL at the same time point. The differences of renal injury [urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), cystatin C (Cys-C)] and the levels of serum oxygen radical [malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO)], antioxidation [total antioxidant capacity (TAC), total superoxide dismutase (TSOD)] before and after lithotripsy in the two groups were compared. **Results** 24 h after ESWL, the levels of urine NGAL and urine Cys-C in observation group [(17.56±3.94), (38.29±3.84) ng/mL] were lower than those of control group [(22.68±4.82), (45.63±5.37) ng/mL], the differences were highly statistically significant ($P < 0.01$); the levels of serum MDA and MPO [(5.05±0.84) mmol/L, (68.64±21.35) U/mg] were lower than those of control group [(5.91±1.13) mmol/L, (76.28±22.17) U/mg], the differences were statistically significant ($P < 0.05$); the levels of serum TSOD and TAC [(147.65±43.38) kU/L, (12.58±3.34) U/mg] were higher than those of control group [(123.52±41.29) kU/L, (8.35±2.14) U/mg], the differences were also statistically significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** The extract of *Folium Ginkgo* can effectively protect the renal injury caused by ESWL, the mechanism may be

[基金项目] 上海市卫生和计划生育委员会重点专科建设计划项目(ZK2015A11);上海市浦东新区卫生和计划生育委员会科研基金面上项目(PW2014A-30)。

▲通讯作者

through enhancing the antioxidation ability and eliminating oxygen free radicals.

[Key words] Extract of *Folium Ginkgo*; Extracorporeal shock wave lithotripsy; Renal injury; Oxygen free radicals

体外冲击波碎石术(ESWL)自20世纪80年代广泛用于临床以来,一直被认为是治疗肾和输尿管上段结石的一种安全、有效的手段,但研究发现ESWL所致的肾脏早期微损伤的发生率可高达74%^[1],与局部氧自由基的增多密切相关^[2]。银杏是世界上古老的植物之一,原产于我国,被*Science*誉为“活化石”^[3-4]。银杏叶提取物是从银杏叶中提取的天然活性物质,具有抗氧化、清除氧自由基的作用,在心脑血管疾病的治疗中疗效肯定。本研究拟以银杏叶提取物作为干预药物,旨在观察银杏叶提取物是否具有保护ESWL所致早期肾损伤的作用,并探讨其保护机制,为银杏叶提取物治疗ESWL术后的早期肾损伤提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

研究对象选取上海市浦东新区公利医院2016年1月~2017年1月行ESWL治疗的80例肾盂/肾盏结石患者,所有患者均通过泌尿系CT检查明确诊断为肾盏结石或肾盂结石,诊断符合《2014版尿路结石诊疗常规》的诊断标准。纳入标准:①符合诊断标准;②年龄18~60岁;③结石直径(CT平扫)<2.0 cm,CT值88~1100;④系首次接受ESWL治疗;⑤无糖尿病、冠心病、高血压病、脑梗死、脑溢血等严重心脑血管疾病;⑥无长期服药史。将80例肾结石患者随机分为观察组与对照组,每组40例。观察组:男24例,女16例;年龄18~60岁,平均(40.57±9.68)岁;肾盏结石22例,肾盂结石18例。对照组:男25例,女15例;年龄22~58岁,平均(42.38±9.85)岁;肾盏结石24例,肾盂结石16例。两组患者性别、年龄、结石类型等比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究方案经过医院医学伦理委员会批准,所有试验患者均签署知情同意书。

1.2 方法

所有患者常规服用金钱草颗粒。观察组患者予银杏叶提取物注射液(悦康药业集团有限公司)20 mL+生理盐水250 mL静滴,对照组患者在相应时间予生理盐水250 mL静滴。两组患者均于ESWL前1 d开始用药,q12h,5 d。分别于ESWL前1 d、碎石后24 h留

取中段尿10 mL、静脉血8 mL检测。

1.3 标本采集及指标检测

检测指标分为三类,第一类:早期肾损伤的指标[中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL)和半胱氨酸蛋白酶抑制剂C(Cys-C)]。第二类:患者体内氧自由基水平的指标[丙二醛(MDA)和髓过氧化物酶(MPO)]。第三类:检测患者体内抗氧化能力的指标[总抗氧化能力(TAC)和总超氧化物歧化酶(TSOD)活力]。

尿NGAL用酶联免疫吸附法(ELISA)进行检测,试验步骤严格按试剂盒(齐一生物科技有限公司)说明书操作;尿Cys-C采用全自动生化分析仪(西门子)按标准操作规程检测。MDA、MPO及TSOD、TAC测定采用ELISA双抗体夹心法,按试剂盒(美国R&D公司)说明书进行。

1.4 统计学方法

应用SPSS 11.0统计软件进行分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组肾盂/肾盏结石患者碎石前后早期肾损伤程度比较

碎石前,两组尿NGAL和尿Cys-C水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。经ESWL后,两组患者尿NGAL、尿Cys-C水平均较碎石前明显上升,差异均有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);ESWL术后24 h,观察组患者尿NGAL、尿Cys-C均低于对照组,差异有高度统计学意义($P < 0.01$)。见表1。

2.2 两组肾盂/肾盏结石患者碎石前后体内氧自由基水平比较

碎石前两组血清MDA和MPO水平比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。ESWL术后,两组患者血清MDA和MPO水平均较碎石前明显上升,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);ESWL术后24 h,观察组患者血清MDA和MPO明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表1 两组肾盂/肾盏结石患者碎石前后早期肾损伤程度比较(ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	尿 NGAL				尿 Cys-C			
		碎石前	碎石后	t 值	P 值	碎石前	碎石后	t 值	P 值
观察组	40	4.89±0.97	17.56±3.94	4.78	< 0.01	25.36±3.15	38.29±3.84	2.57	< 0.05
对照组	40	4.74±0.94	22.68±4.82	5.32	< 0.01	25.76±3.51	45.63±5.37	2.05	< 0.05
t 值		0.28	4.35			0.02	5.39		
P 值		> 0.05	< 0.01			> 0.05	< 0.01		

注:NGAL:中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白;Cys-C:半胱氨酸蛋白酶抑制剂C

表 2 两组肾盂/肾盏结石患者碎石前后体内氧自由基水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	血清 MDA(mmol/L)				血清 MPO(U/mg)			
		碎石前	碎石后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	碎石前	碎石后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
观察组	40	3.89±0.82	5.05±0.84	2.18	< 0.05	41.23±15.18	68.64±21.35	2.69	< 0.05
对照组	40	3.67±0.92	5.91±1.13	3.44	< 0.01	42.65±16.43	76.28±22.17	3.17	< 0.01
<i>t</i> 值		0.16	2.95			0.11	2.56		
<i>P</i> 值		> 0.05	< 0.05			> 0.05	< 0.05		

注:MDA;丙二醛;MPO;髓过氧化物酶

2.3 两组肾盂/肾盏结石患者碎石前后体内抗氧化水平比较

碎石前两组血清 TAC 和 TSOD 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。ESWL 术后观察组患者 TAC 和 TSOD 较碎石前有所上升,差异有统计学意义($P < 0.05$);对照组 TAC 和 TSOD 亦有所上升,但与碎石前

比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。经 ESWL 碎石后,观察组患者血清 TAC 和 TSOD 明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.01, P < 0.05$)。见表 3。

3 讨论

肾结石是泌尿外科的常见病、多发病,在尿路结石患者中居于首位。ESWL 是一种安全、有效的治疗

表 3 两组肾盂/肾盏结石患者碎石前后体内抗氧化水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	TSOD(kU/L)				TAC(U/mg)			
		碎石前	碎石后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	碎石前	碎石后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
观察组	40	108.98±35.64	147.65±43.38	3.13	< 0.05	8.21±1.07	12.58±3.34	5.28	< 0.05
对照组	40	112.64±38.55	123.52±41.29	1.25	> 0.05	8.16±0.95	8.35±2.14	0.58	> 0.05
<i>t</i> 值		0.27	2.46			0.11	3.27		
<i>P</i> 值		> 0.05	< 0.05			> 0.05	< 0.01		

注:TSOD:总超氧化物歧化酶;TAC:总抗氧化能力

手段,已被公认为是处理直径<2 cm 的肾结石的首选方式,其对肾脏的影响一般是轻微的、可逆的,但仍时有严重、不可逆损伤的报道。研究表明,ESWL 治疗结石时冲击波导致肾脏损伤的机制主要有以下几种,①空化效应(cavitation):空化效应既是结石破碎的主导机制,也是导致肾损伤的主要因素^[5]。②氧自由基(free radical)损伤:在 ESWL 治疗过程中,肾脏处于反复缺血再灌注状态,局部产生大量自由基^[6]。氧自由基可直接攻击脂质、蛋白质和 DNA,引起靶细胞功能紊乱,导致肾损伤^[7]。③应力效应(stress):冲击波在介质内部产生剪切力,破坏肾脏细胞和组织。

ESWL 造成肾脏的损伤主要表现为肾小球滤过膜和肾小管细胞损伤。因此,本研究选择了 NGAL 和 Cys-C 作为观测对象。NGAL 是 Lipocalin 家族的一种小分子量分泌蛋白,在受损伤的肾小管内高表达,被认为是诊断早期肾损伤最有效的生物学标志之一^[8],可以反映肾小管的受损程度。Cys-C 是反映肾功能早期损害的一个比较接近理想的内源性指标,不受年龄、性别、饮食结构、肌肉含量等因素影响,有很好的稳定性,研究表明其与肾小球滤过率呈正相关,可以反映肾小球功能的变化,其敏感度高于目前临床常用的指标 Scr^[9]。笔者前期研究发现^[10-11],uNGAL 浓度在 ESWL 术后 12 h 达到高峰,24 h 出现明显下降,而 1 周后基本降至术前水平;uCys-C 在 ESWL 术后 6 h 明显升高,且上升幅度>uNGAL,在术后 24 h 出现明显

下降。ESWL 术后 24 h 无论是肾小球,还是肾小管,其损伤达到高峰。因此本研究于 ESWL 术后 24 h 联合检测 ESWL 术后 24 h 尿 NGAL 和 Cys-C 浓度,可以用于评价 ESWL 术后早期肾损伤。本研究结果显示,碎石前两组患者尿 NGAL 和尿 Cys-C 浓度无统计学差异($P > 0.05$),经过 ESWL 碎石后 24 h,两组患者尿 NGAL 和 Cys-C 浓度水平均有上升,较碎石前有统计学差异($P < 0.05$)。碎石后,观察组患者尿 NGAL 和尿 Cys-C 浓度水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),此结果提示银杏叶提取物对 ESWL 所致的肾小球和肾小管损伤确有保护作用,与张志华等^[12]的研究结果类似。

本研究也发现,ESWL 术后血清 MDA 和 MPO 水平明显升高,与文献^[4,13]报道的基本一致,表明氧自由基的确参与了肾损伤的发生。空化效应可以使局部产生高压高温,引起水分子的离解,产生自由基;在放能轰击与间歇期相交替的过程中,肾脏处在一种不典型的缺血再灌注过程中,产生大量的自由基^[13]。氧自由基可触发细胞膜上的多链不饱和脂肪酸发生脂质过氧化链式反应,并产生 MDA 等脂质过氧化物^[7],破坏细胞膜稳定性,引起靶细胞功能紊乱,导致肾损伤。

本研究还发现:ESWL 术后观察患者 TAC 和 TSOD 有所上升,较碎石前有统计学差异($P < 0.05$);对照组 ESWL 术后 TAC 和 TSOD 尽管有所上升,但

较碎石前无统计学差异($P > 0.05$),提示 ESWL 对机体的抗氧化能力没有明显的影响,但银杏叶提取物有提高机体抗氧化水平的作用。

银杏叶提取物是从银杏树叶中分离纯化的化合物,是将银杏的有效成分加以分离、富集后制成的一种标准制剂,近年来临床研究发现其对于预防心肌缺血再灌注损伤具有较显著的作用,是目前国际上应用最广泛的植物制剂之一。银杏叶提取物中有效生物活性成分为银杏黄酮苷和银杏萜内酯^[14],具有广泛的药理作用。黄海波等^[15]、尹方等^[16]的研究表明:银杏叶提取物有拮抗血小板活化因子、抗氧化的作用;王晓霞等^[17]研究表明:银杏叶提取物有清除氧自由基的功能;银杏叶提取物还有改善血管内皮舒缩功能、改善缺血再灌注损伤的药理活性^[18-20]。本研究结果显示:银杏叶提取物能明显抑制血清 MDA 和 MPO 的含量,提高机体 TSOD 和 TAC 活力,说明银杏叶提取物具有保护 ESWL 对肾脏的氧化损伤作用,一方面由于银杏叶提取物捕捉和清除了大量自由基,使抗氧化剂的消耗大为减少;另一方面,银杏叶提取物又作为抗氧化剂,减少了过氧化作用对肾的损伤,与文献报道一致^[21-22]。

综上所述,银杏叶提取物不但可以抑制 ESWL 期间肾脏氧自由基的产生,亦有对抗生物氧化的作用,对 ESWL 所致的早期肾损伤具有较强的保护作用。

[参考文献]

[1] Knapp R, Frauscher F, Helweg G, et al. Age-related changes in resistive index following extracorporeal shock wave lithotripsy [J]. *J Urol*, 1995, 154(3):955-958.

[2] Sariea K, Kosar A, Yamao O. Evaluation of ischemia after ESWL; detection of free oxygen radical scavenger enzymes in renal parenchyma subjected to high energy shock wave [J]. *Urol Int*, 1996, 57(4):221-223.

[3] Renner SS. Evolution. Living fossil younger than thought [J]. *Science*, 2011, 334(6057):766-767.

[4] 李淑琴, 朱嘉宝, 武宇洲. 银杏叶提取物防治心脑血管疾病的研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2016, 25(1):76-81.

[5] 周水根, 孙则禹, 孙西钊. 冲击波生物学效应研究进展[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2001, 16(4):185-187.

[6] 陈兴发, 高中伟, 盛斌武, 等. 益肾排石中药对高能冲击波致肾损伤保护的实验研究[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2002, 12(6):434-435.

[7] 邓奇, 邓云坤, 安裕文, 等. 银杏叶提取物对犬低温体外循环肺损伤的保护作用[J]. *中国中西医结合杂志*, 2012, 32(7):941-954.

[8] Bolignano D, Donato V, Coppolino G, et al. Neutrophil gelatinase-Associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney

damage [J]. *Am J Kidney Dis*, 2008, 52(3):595-605.

[9] Donadio C, Luehesi A. Serum cystatin as a marker of glomerular filtration rate [J]. *Am J Kidney Dis*, 2001, 37(2):448-451.

[10] 徐冀东, 姜宁, 王国增, 等. 尿 NGAL 在 ESWL 术前术后变化的关联性研究[J]. *宁夏医学杂志*, 2013, 35(7):604-606.

[11] 徐冀东, 姜宁, 王国增, 等. 尿 NGAL 与 Cys-C 在输尿管软镜碎石术后早期肾功能变化的研究[J]. *宁夏医学杂志*, 2013, 35(8):700-702.

[12] 张志华, 张冲, 罗能钦, 等. 银杏叶提取物对体外冲击波碎石术致肾损伤保护作用的临床观察[J]. *卫生职业教育*, 2016, 34(1):151-153.

[13] Sheng BW, Chen XF, Zhao J, et al. Astragalus em branaceus reduces free radical mediated injury to renal tubules in rabbits receiving high energy shock waves [J]. *Chin Med J(Engl)*, 2005, 118(1):43-49.

[14] 李为贵, 王彬彬, 付红燕. 银杏叶提取物防治阿尔茨海默病的研究新进展[J]. *中国医药导报*, 2016, 13(12):61-64.

[15] 黄海波, 刘华春, 金朱明, 等. 银杏叶原花青素的制备及其抗氧化活性研究[J]. *中国现代应用药学*, 2016, 33(6):686-690.

[16] 尹方, 王勇. 维生素 E 联合银杏叶提取物对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠外周血清氧化相关物质浓度的影响[J]. *解放军医药杂志*, 2015, 27(7):32-35.

[17] 王晓霞, 王颖超, 赵明. 银杏叶提取物对糖尿病外周血内皮祖细胞超氧化物歧化酶及凋亡的影响[J]. *医学研究生学报*, 2012, 25(3):244-248.

[18] Janssens D, Delaive E, Remacle J, et al. Protection by bilobalide of the ischaemia-induced alterations of the mitochondrial respiratory activity [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2000, 14(3):193-201.

[19] 李淑琴, 武宇洲, 祖秀光, 等. 银杏叶提取物对老年冠心病患者冠脉血流和内皮功能的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2008, 31(10):712-714.

[20] 刘丽君, 郭中凯. 银杏达莫对原发性肾病综合征患者血液流变学的影响及其疗效分析[J]. *中国医药导报*, 2012, 9(15):139-140.

[21] 邓云坤, 韦方, 张大国, 等. 银杏叶提取物金纳多对低温体外循环红细胞脂质过氧化反应的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2010, 30(4):365-368.

[22] 王玮玮, 何艳, 刘兴德. 银杏黄酮苷元对氧化型低密度脂蛋白诱导的人主动脉内皮细胞氧化损伤的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2013, 33(3):392-396.

(收稿日期:2017-04-12 本文编辑:张瑜杰)