

# 复发性泌尿系结石患者 24 h 尿枸橼酸盐含量的病例对照研究及结石成分分析\*

双剑博<sup>1</sup> 陈颖虎<sup>1</sup> 聂岁锋<sup>1</sup> 冉启华<sup>1</sup> 廖小强<sup>1</sup> 林文波<sup>1</sup> 李莉洁<sup>1</sup> 吴建波<sup>1</sup>

**【摘要】 目的:**分析复发性泌尿系结石患者尿枸橼酸排泄量与结石成分及微观形态,探讨泌尿系结石形成与复发的防治措施。**方法:**采用病例对照的研究方法,比较复发性泌尿系结石患者与对照组之间的尿枸橼酸排泄量,并运用红外光谱、X 线衍射及扫描电镜分析复发性结石的成分与微观形态。**结果:**复发性结石患者尿枸橼酸排泄量显著低于对照组。结石的成分以草酸钙(80%)和尿酸结石(33%)为主。**结论:**结石患者术后的代谢分析、严格随访和适量的枸橼酸盐补充,可能在一定程度上降低泌尿系结石的复发率。泌尿系结石的成分分析可为制定预防结石复发方案提供理论依据。

**【关键词】** 复发性泌尿系结石;枸橼酸盐;结石成分;病例对照研究

doi: 10.13201/j.issn.1001-1420.2014.02.006

**【中图分类号】** R691.4 **【文献标识码】** A

## Case-control study of 24-hour urinary citrate excretion in patients with recurrent urinary calculi and analysis of stone composition

SHUANG Jianbo<sup>1,2</sup> CHEN Yinghu<sup>1</sup> NIE Sui feng<sup>1</sup> RAN Qihua<sup>1</sup> LIAO Xiaoqiang<sup>1</sup>  
LIN Wenbo<sup>1</sup> LI Lijie<sup>1</sup> WU Jianbo<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Department of Surgery, 425th Hospital of PLA, Sanya, Hainan, 572000, China)

Corresponding author: CHEN Yinghu, E-mail: 1476669205@qq.com

**Abstract Objective:** To analyze 24-hour urinary citrate excretion and stone composition of recurrent urinary calculi patients. **Method:** The case-control study was conducted to compare 24-hour urinary citrate excretion between the recurrent urinary calculi patients and normal people who recovered from urinary calculi. Infrared spectroscopy, X-ray diffraction and scanning electron microscope were used for analyzing the micromorphology and composition of stones. **Result:** 24-hour urinary citrate excretion in patients with recurrent urinary calculi was significantly lower than normal people who recovered from urinary calculi, and the main composition were calcium oxalate (80%) and uric acid (33%). **Conclusion:** Metabolism analysis, strict follow-up and appropriate supply of citrate may decrease the recurrence rate of urinary calculi. The result of composition of stones can be accepted as a theoretical base for preventive guidelines of urinary calculi.

**Key words** recurrent urinary calculi; citrate; stone composition; case-control study

泌尿系结石是泌尿系统常见病。在泌尿外科住院病人中占首位。在我国人群患病率为 1%~5%,南方高达 5%~10%,且治愈后易复发,极大地困扰着人们的身体健康。三亚市位于中国唯一的热带省份海南省的最南端,具有特殊的地理、气候环境和饮食特点。研究表明,气温高的地区较气温低的地区的结石患病率明显升高<sup>[1]</sup>,热带地区较其他地区的泌尿系结石发病率更高<sup>[2]</sup>。三亚地区月最高气温在 25~36℃,晴日 300 天/年以上,气候炎热;饮食和水源中多富含钙类及嘌呤等易成石成份。这一特殊的高温地理环境和饮食、饮水环境特点,使该地区成为泌尿系结石的高发地区。

尿液中钙盐及其他成石成分的过饱和是引起

泌尿系结石形成和复发的重要原因<sup>[3]</sup>。枸橼酸盐是机体正常氧化代谢的产物,是尿中自然存在的结石形成的重要抑制剂,可抑制草酸钙和磷酸钙盐的沉淀和抑制结石生长。国内外对枸橼酸盐在泌尿系结石患者尿中排泄量尚无统一论,低枸橼酸盐尿在泌尿系结石患者中所占比例从 8.0%~68.3%不等<sup>[4]</sup>,部分研究发现泌尿系结石患者枸橼酸盐排泄量较正常人群低,但 Mithani 等<sup>[5]</sup>的研究报道结石患者与正常对照组枸橼酸排泄量无差异。本研究采用病例对照研究评价复发性泌尿系结石患者 24 h 尿的相关指标,并利用红外光谱分析、X 线衍射和电镜扫描分析结石的成分特征。

### 1 资料与方法

#### 1.1 临床资料

结石组患者 30 例,男 20 例,女 10 例。纳入标准:①既往 5 年内有泌尿系结石病史并经治疗取出

\* 三亚市医疗卫生科技创新项目(编号 YW1312)

<sup>1</sup> 中国人民解放军第 425 医院外一科(海南三亚,572000)

通信作者:陈颖虎, E-mail: 1476669205@qq.com

结石;②经 B 超检查、腹部平片及静脉肾盂造影检查明确有泌尿系结石复发;③需再次行手术或体外碎石等方式治疗并无相关手术禁忌;④在本地生活 5 年以上。排除标准:①取尿液标本前 2 日内服用任何药物;②同时患有肾小管酸中毒、慢性腹泻等影响枸橼酸盐排泄的疾病;③半年内有急、慢性尿道感染史。

对照组共 30 例,男 20 例,女 10 例。纳入标准:①既往 5 年内有泌尿系结石病史并经治疗取出结石;②经 B 超检查、腹部平片检查明确无泌尿系结石;③志愿参加本研究并签署知情同意书;④在本地生活 5 年以上。排除标准:①取尿液标本前 2 日内服用任何药物;②患有肾小管酸中毒、慢性腹泻等影响枸橼酸盐排泄的疾病;③半年内有急、慢性尿道感染史。满足纳入排除标准后按年龄、性别及民族与结石组配对后入组。

1.2 方法

①分别取对照组和结石组术前 24 h 尿,Jaffe 法检测尿肌酐(BioAssay Systems 公司 Quanti-Chrom™ Creatinine Assay Kit):将标准液和尿液加入 96 孔板,每孔加入 50  $\mu$ l 溶液 A、溶液 B 以及 100  $\mu$ l 蒸馏水,每孔快速加入 200  $\mu$ l 反应液并迅速混匀,酶标仪读取 OD 值,根据标准曲线计算浓度值。尿酸检测(Invitrogen 公司 Uric Acid Assay kit):将 25  $\mu$ l 样品和 1 $\times$ 反应缓冲液混匀后加入 96 孔板,每孔再加入 50  $\mu$ l 工作液,读取 OD 值,根据标准曲线计算浓度值。尿枸橼酸盐含量检测(abcam 公司 Citrate Assay Kit):将 20 ml 尿液与 100  $\mu$ l 缓冲液混匀,15 000 g 离心 10 min 取上清 50  $\mu$ l 加入 96 孔板,每孔再加入 50  $\mu$ l 反应混合液,室温避光孵育 30 min,读取 OD 值,根据标准曲线计算浓度值。②收集结石组患者经手术或体外碎石后的结石标本进行红外光谱分析、X 线衍射和电镜扫描。

红外光谱分析:使用天津 LHR 型结石红外光谱自动分析系统进行分析。测试前将结石用清水洗净、晾干后放入 70~100℃烘箱内烘干。取出后取约 1 mg 结石样品粉末与充分干燥的 200 mg 纯溴化钾混合,再放入玛瑙乳钵内研碎至 2  $\mu$ m 以下,随后将混合物用压片机加压,制成半透明片,迅速置入红外光谱槽中扫描。电脑绘制谱图,并自动解析和报告结石成分。

X 线衍射:结石经 75%酒精浸泡后分别用三蒸水清洗 2 次,40℃烘箱内烘干并研磨成粉末后用日本理学 D/max 2400X 射线衍射仪分析。

电镜扫描:将结石切开后用 70%酒精浸泡并用超声波清洗仪清洗,用 70%、80%、90%、100%酒精脱水并干燥。将干燥后的样品喷金后再 JSM-6700F 扫描电镜下观察,加速电压为 5 kV。

1.3 统计学处理

数据采用 Epidata 3.1 软件录入后,用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,用 Student's *t* 检验分析进行统计学处理,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结石组与对照组一般情况

比较两组年龄、体重、身高及体重指数,两组间的差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )(表 1)。30 例复发性结石患者分别为肾结石 6 例、输尿管结石 23 例以及膀胱结石 1 例。30 例对照组患者既往曾患肾结石 5 例,输尿管结石 23 例以及膀胱结石 2 例。两组 24 h 尿相关指标,包括尿量、尿比重、24 h 尿肌酐量、pH 值、24 h 尿酸量的差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )(表 2)。

表 1 结石组与对照组一般情况  $\bar{x} \pm s$

| 一般情况  | 结石组( <i>n</i> =30) | 对照组( <i>n</i> =30) |
|-------|--------------------|--------------------|
| 年龄/岁  | 35.20 $\pm$ 12.30  | 35.80 $\pm$ 13.00  |
| 体重/kg | 60.70 $\pm$ 7.90   | 61.20 $\pm$ 10.30  |
| 身高/m  | 1.65 $\pm$ 0.09    | 1.65 $\pm$ 0.08    |
| 体重指数  | 23.44 $\pm$ 4.80   | 22.79 $\pm$ 4.90   |

表 2 结石组与对照组 24 h 尿相关指标  $\bar{x} \pm s$

| 尿指标                              | 结石组               | 对照组               |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|
| 尿量/ml $\cdot$ 24 h <sup>-1</sup> | 1 470 $\pm$ 546   | 1 426 $\pm$ 435   |
| 比重                               | 1.025 $\pm$ 0.004 | 1.026 $\pm$ 0.005 |
| 尿肌酐/g $\cdot$ 24 h <sup>-1</sup> | 1.7 $\pm$ 0.8     | 1.8 $\pm$ 0.7     |
| pH 值                             | 6.20 $\pm$ 0.53   | 6.13 $\pm$ 0.68   |
| 尿酸/g $\cdot$ 24 h <sup>-1</sup>  | 675 $\pm$ 154     | 680 $\pm$ 148     |

2.2 复发性泌尿系结石患者尿枸橼酸排泄量

分别比较结石组和对照组尿枸橼酸浓度、尿肌酐标化浓度以及 24 h 尿中枸橼酸含量,结果显示,两组间各指标比较差异均有统计学意义,说明结石组患者尿枸橼酸排泄量显著低于对照组(表 3)。

表 3 结石组与对照组尿枸橼酸比较

| 尿枸橼酸                                | 结石组           | 对照组           | <i>P</i> 值 |
|-------------------------------------|---------------|---------------|------------|
| 浓度/mg $\cdot$ L <sup>-1</sup>       | 310 $\pm$ 265 | 820 $\pm$ 310 | <0.001     |
| 尿肌酐标化浓度/mg $\cdot$ g <sup>-1</sup>  | 354 $\pm$ 319 | 592 $\pm$ 311 | 0.009      |
| 每日尿含量/mg $\cdot$ 24 h <sup>-1</sup> | 418 $\pm$ 297 | 901 $\pm$ 400 | <0.001     |

2.3 复发性泌尿系结石成分分析

30 例复发性结石中单一成分 11 例(草酸钙 6 例,尿酸 3 例,磷酸钙 2 例),混合性结石 19 例,其中 18 例含草酸钙,7 例含尿酸,6 例含磷酸钙,2 例含磷酸铵镁。①红外光谱特征:每种结石根据其红

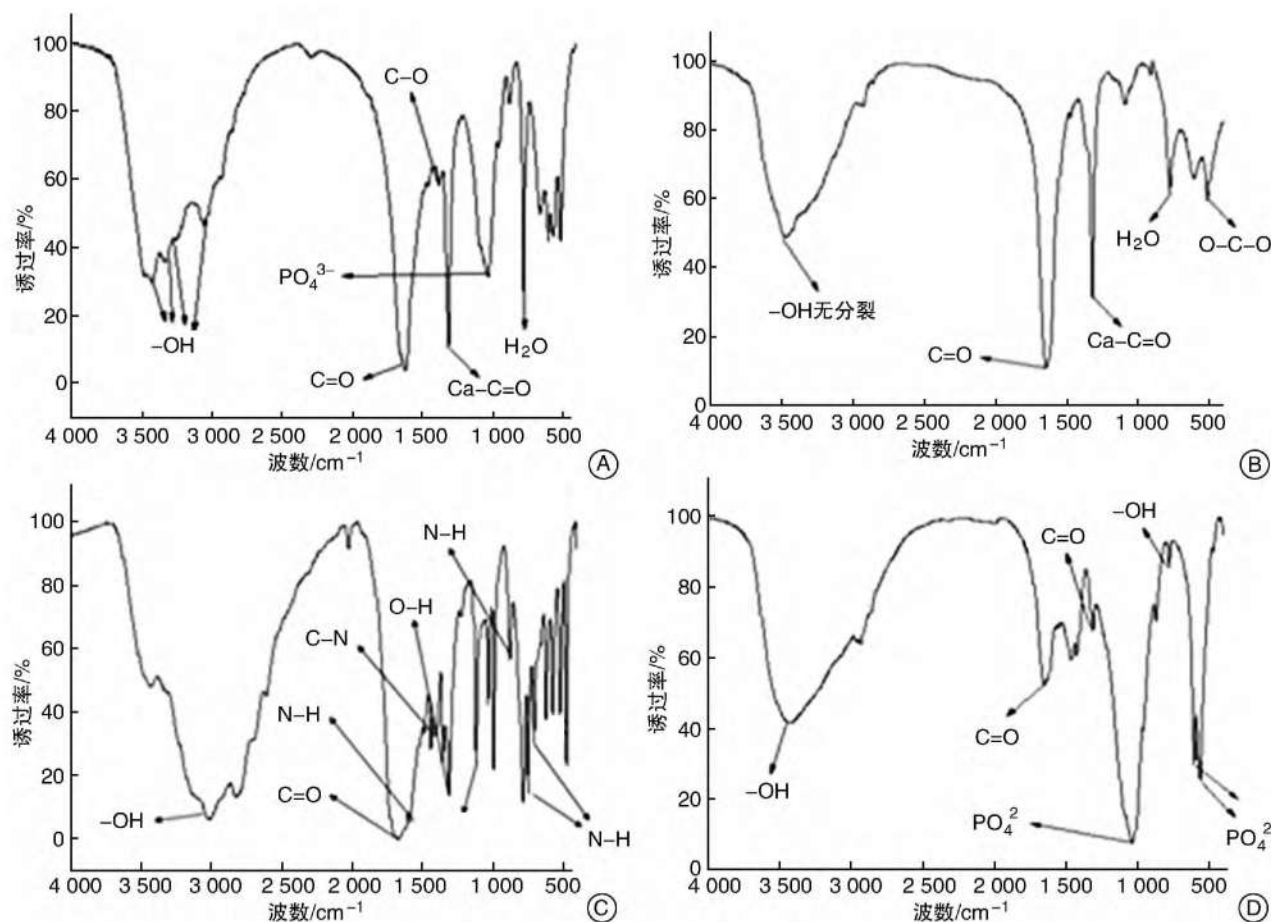
外光谱特征吸收峰来确定其特征成分。一水草酸钙的光谱中,其典型表现是位于  $3486 \sim 3470 \text{ cm}^{-1}$  间的 5 个吸收峰。二水草酸钙在  $3480 \text{ cm}^{-1}$  处有一宽的吸收峰,但无一水草酸钙的分裂现象。磷酸钙盐的特征吸收峰位于  $1040$ 、 $873$  和  $566 \text{ cm}^{-1}$  处(图 1)。②X 线衍射分析:X 线与结石中电子相遇时发生散射现象在一定条件下形成与原射线相同波长的散射波,并相互干涉加强形成衍射现象。本研究结果显示,各类结石的 X 线衍射谱与标准 d 值一致(一水草酸钙  $d=0.593, 0.365, 0.297$ ; 二水草酸钙  $d=0.618, 0.278, 0.442, 0.873$ ; 磷酸钙  $d=0.280, 0.344, 0.194; 0.819; 0.272$ )(图 2)。③扫描电镜:结石的各种成分在扫描电镜图像中呈不同的特征微观形态。草酸钙结石:主要呈薄片状、刀刃状、细长条形、扁球状、花瓣状结构等(图 3);磷酸盐结石:主要呈斜方晶体形、圆形和球体状(图 4A、B);尿酸盐结石:常表现为多形态性,如片状、放射状、棱柱状、球状等(图 4C、D)。

### 3 讨论

泌尿系结石是临床常见病、多发病,且治愈后易复发,给患者的身心健康和社会经济带来了很大的影响。热带地区泌尿系结石发病率高的特点尤

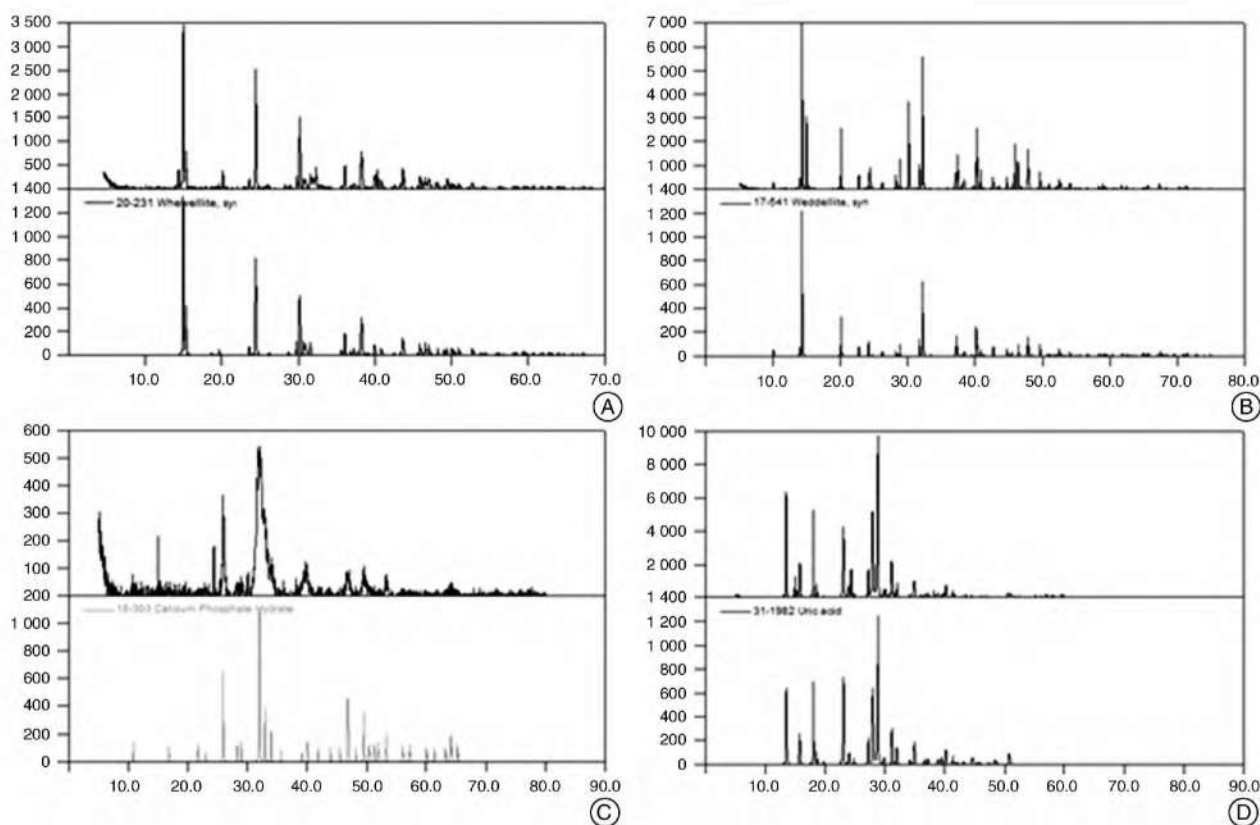
为突出。尽管近年来对泌尿系结石的病因学研究有所进展<sup>[6]</sup>,包括:①钙盐成分在尿液中的过饱和状态是钙性结石(草酸钙、磷酸钙等)形成的主要原因,尿液浓缩、钙和草酸盐等摄入过多以及尿液中草酸盐、钙和水的分泌及比例异常等都可导致尿液中钙盐过饱和而形成结晶;摄入海鲜类高嘌呤食物易导致尿酸结石<sup>[7]</sup>。②尿液 pH 值对泌尿系结石的形成影响很大,酸性时使草酸钙溶解度降低,容易形成草酸钙结石和尿酸结石,pH 升高时磷酸钙降低,使磷酸钙结晶形成结石。③引起尿动力学改变的解剖因素,如泌尿系狭窄或梗阻、尿道损伤和炎症以及马蹄肾、多囊肾等促进结石的形成;但结石成分繁多、构成复杂以及不同地区、不同民族和不同人群的发病特点都存在差异,给结石的防治带来了困难。泌尿系结石的高复发率仍是困扰患者和社会的热点和难点问题,深入分析泌尿系结石形成和发展过程中可能的机制,对预防结石发生和复发具有重要的科学指导意义。

枸橼酸盐是结石形成的抑制因子之一,是人体内三羧酸循环的正常代谢产物,尿液中的枸橼酸盐可与钙离子整合,从而减轻钙的过饱和状态,防止结石的形成<sup>[8]</sup>。一些疾病如慢性腹泻、尿道感染、



A:一水草酸钙;B:二水草酸钙;C:尿酸;D:磷酸钙

图 1 不同结石成分的红外光谱图



A:一水草酸钙;B:二水草酸钙;C:磷酸钙;D:尿酸

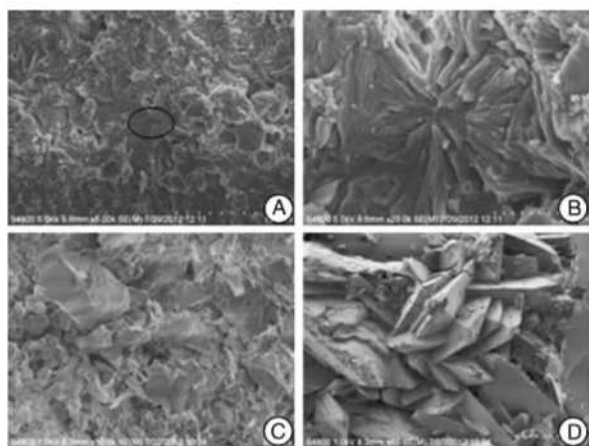
图2 不同结石成分的X线衍射图(样品转过 $\theta$ 角时,计数管转过 $2\theta$ ,记录纸横坐标为 $2\theta$ ,纵坐标为衍射线强度)A( $\times 5$ )、B( $\times 20$ )为一水草酸钙,呈花瓣状;C( $\times 5$ )、D( $\times 20$ )为二水草酸钙,呈不规则片状堆积

图3 扫描电镜示草酸钙结石

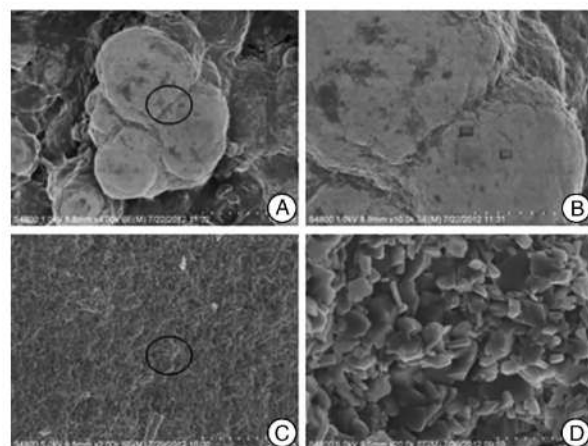
A( $\times 5$ )、B( $\times 20$ )为磷酸钙,呈多孔球形;C( $\times 5$ )、D( $\times 20$ )为尿酸,呈片状堆积

图4 扫描电镜示磷酸钙结石和尿酸结石

肾小管酸中毒等引起肠道或肾小管吸收障碍可引起尿枸橼酸降低,但临床上大部分尿枸橼酸浓度降低的原因不明,称为特发性低枸橼酸尿。国内外对枸橼酸盐在泌尿系结石患者尿中排泄量尚无统一论。本研究两组之间年龄、体重、身高和体重指数的差异无统计学意义,结果显示结石患者尿枸橼酸浓度较对照组显著降低。本研究同时采用尿肌酐标化的方法比较了复发性结石患者与对照组枸橼酸的尿标化浓度,结果同样具有统计学意

义,说明复发性泌尿系结石患者尿枸橼酸排泄量较正常降低。尽管也有报道称泌尿系结石患者的尿枸橼酸排泄量与正常人群无差异,但大部分学者认为低枸橼酸尿与泌尿系结石的关系密切,例如日本38.4%<sup>[9]</sup>、巴西37.3%<sup>[10]</sup>、伊拉克43%的泌尿系患者检出低枸橼酸尿<sup>[11]</sup>。通过本研究我们认为结石患者术后的代谢分析、严格随访和适量的枸橼酸盐补充,可能在一定程度上降低泌尿系结石的复发率。

红外光谱分析法是目前最理想的泌尿系结石

分析方法之一,具有方法简便、快速、样品需要量较少等优点<sup>[12]</sup>。X 射线衍射法(XRD)是进行泌尿系结石研究的最重要方法之一,用作定性分析时具有可靠性,用作定量分析时具有准确性,且检测简便迅速、灵敏度高、多组分和多晶态可一次性检测<sup>[13]</sup>。扫描电镜能产生样品表面的高分辨率图像,且图像呈三维,可被用来鉴定样品的晶体结构,还可以对结石成分和结构进行连续观察,但扫描电镜价格较昂贵<sup>[14]</sup>,建议有条件的医院或患者进行泌尿系结石的扫描电镜分析。本研究的成分分析结果提示,本地区复发性结石中,绝大多数为草酸钙(80%)和尿酸结石(33%),这可能与三亚地区特殊的饮食特点有关,特别是饮食中富含钙类和嘌呤等,使尿中钙及尿酸(嘌呤代谢产物)的浓度增高<sup>[15]</sup>。因此对于有泌尿系结石病史的患者,我们建议:①大量饮水:保证每日尿量达 2 000 ml 以上,降低结石晶体的盐类的超饱和状态;②常规行结石成分分析,指导预防和治疗方案;③饮食指导:根据分析结果,如为草酸钙结石,应尽量控制高草酸物质的摄入,例如:浓茶、咖啡、菠菜、芒果、芝麻、巧克力及各种坚果,多食用柑橘等含枸橼酸类食物<sup>[7]</sup>。尿酸盐结石患者应减少动物内脏、肉制品及海鲜类食品的摄入,适当碱化尿液,如进食橙汁、可乐或口服碱性药物。如为磷酸铵镁结石,应避免碱化尿液,反而应酸化尿液,饮用酸性饮料如苹果汁等;④定期行体检,做到早发现、早治疗、早预防。

#### [参考文献]

- López M, Hoppe B. History, epidemiology and regional diversities of urolithiasis[J]. *Pediatr Nephrol*, 2010, 25(1): 49-59.
- Brikowski T H, Lotan Y, Pearle M S. Climate-related increase in the prevalence of urolithiasis in the United States[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(28): 9841-9846.
- Worcester E M, Coe F L. Clinical practice. Calcium kidney stones[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(10): 954-963.
- Caudarella R, Vescini F. Urinary citrate and renal stone disease: the preventive role of alkali citrate treatment[J]. *Arch Ital Urol Androl*, 2009, 81(3): 182-187.
- Mithani S, Zaidi Z. Comparison of 24 hours urinary citrate levels in urolithiasis patients and healthy controls[J]. *J Pak Med Assoc*, 2005, 55(9): 371-373.
- Sakhaee K. Recent advances in the pathophysiology of nephrolithiasis[J]. *Kidney Int*, 2009, 75(6): 585-595.
- Grases F, Costa-Bauza A, Prieto R M. Renal lithiasis and nutrition[J]. *Nutr J*, 2006, 5: 23.
- Göktaş C, Horuz R, Akça O, et al. The effect of citrate replacement in hypocitraturic cases on the results of SWL: a preliminary prospective randomized study[J]. *Int Urol Nephrol*, 2012, 44(5): 1357-1362.
- Amaro C R, Goldberg J, Amaro J L, et al. Metabolic assessment in patients with urinary lithiasis[J]. *Int Braz J Urol*, 2005, 31(1): 29-33.
- Ekeruo W O, Tan Y H, Young M D, et al. Metabolic risk factors and the impact of medical therapy on the management of nephrolithiasis in obese patients[J]. *J Urol*, 2004, 172(1): 159-63.
- Ratan S K, Bhatnagar V, Mitra D K, et al. Urinary citrate excretion in idiopathic nephrolithiasis[J]. *Indian Pediatr*, 2002, 39(9): 819-825.
- Mulready K J, McGoldrick D. The establishment of a standard and real patient kidney stone library utilizing Fourier transform-infrared spectroscopy with a diamond ATR accessory[J]. *Urol Res*, 2012, 40(5): 483-498.
- Uvarov V, Popov I, Shapur N, et al. X-ray diffraction and SEM study of kidney stones in Israel: quantitative analysis, crystallite size determination, and statistical characterization[J]. *Environ Geochem Health*, 2011, 33(6): 613-622.
- Pan X L, Wen Z S, Zou X T, et al. Chemical composition and microstructure of uroliths associated with the feeding of high-level cottonseed meal diet to sheep[J]. *Res Vet Sci*, 2011, 91(3): 405-411.
- Goldfarb D S, Arowojolu O. Metabolic evaluation of first-time and recurrent stone formers[J]. *Urol Clin North Am*, 2013, 40(1): 13-20.
- (收稿日期:2013-12-28)
- (上接第 107 页)
- Mariappan P, Smith G, Bariol S V, et al. Stone and pelvic urine culture and sensitivity are better than bladder urine as predictors of urosepsis following percutaneous nephrolithotomy: a prospective clinical study[J]. *J Urol*, 2005, 173(5): 1610-1614.
- Gutierrez J, Smith A, Geavlete P, et al. Urinary tract infections and post-operative fever in percutaneous nephrolithotomy[J]. *World J Urol*, 2013, 31(5): 135-140.
- Korets R, Gravensen J A, Kates M, et al. Post-percutaneous nephrolithotomy systemic inflammatory response: a prospective analysis of preoperative urine, renal pelvic urine and stone cultures[J]. *J Urol*, 2011, 186(5): 1899-1903.
- Chen L, Xu Q Q, Li J X, et al. Systemic inflammatory response syndrome after percutaneous nephrolithotomy: an assessment of risk factors[J]. *Int J Urol*, 2008, 15(12): 1025-1028.
- Margel D, Ehrlich Y, Brown N, et al. Clinical implication of routine stone culture in percutaneous nephrolithotomy—a prospective study[J]. *Urology*, 2006, 67(1): 26-29.
- Lojanapiwat B, Kitirattakarn P. Role of preoperative and intraoperative factors in mediating infection complication following percutaneous nephrolithotomy[J]. *Urol Int*, 2011, 86(4): 448-452.
- Mariappan P, Tolley D A. Endoscopic stone surgery: minimizing the risk of post-operative sepsis[J]. *Curr Opin Urol*, 2005, 15(2): 101-105.
- 马凯, 许清泉, 黄晓波, 等. 结石细菌培养在经皮肾镜取石术中的临床意义[J]. *中华医学杂志*, 2010, 90(4): 222-224.
- (收稿日期:2013-07-10)