

服用柠檬酸钾前后草酸钙结石患者的尿微晶和尿液性质变化

李君君^{1,2} 侯善华¹ 夏志月¹ 欧阳健明^{*,1}

(¹暨南大学生物矿化与结石病防治研究所, 广州 510632)

(²广东药学院药科学院, 广州 510006)

摘要: 采用透射电子显微镜(TEM)、扫描电子显微镜(SEM)、X 射线衍射(XRD)、傅立叶变换红外光谱(FTIR)和 ζ 电位分析仪研究了草酸钙(CaOxa)结石患者在服用柠檬酸钾(K₃cit)前后尿液中微晶的性质变化, 这些性质包括: 尿微晶的形貌、尺寸、聚集状态、质量、种类和 ζ 电位, 并研究了服药前后尿液的稳定性差异和 pH 值变化。服用 K₃cit 前, 结石患者的尿微晶棱角尖锐, 聚集明显, 尺寸从几十纳米到几百微米不等, 主要为一水草酸钙(COM)、尿酸等; 而服用 K₃cit 一周后, 部分尿微晶的形状变得圆钝, 聚集现象明显减少, 平均粒径减小, 部分尿微晶的表面出现凹陷, 二水草酸钙(COD)和尿酸盐的百分含量增加, 尿微晶的数量和种类减少, 尿液 pH 值上升, ζ 电位绝对值增加, 自相关时间增加。从患者服用 K₃cit 后引起尿 pH 值增加、尿液中排泄的柠檬酸和 Tamm-Horsfall 蛋白浓度增加、柠檬酸与 Ca²⁺ 离子配位等角度, 讨论了 K₃cit 抑制 CaOxa 结石形成的机制。

关键词: 尿微晶; 草酸钙; ζ 电位; 柠檬酸钾

中图分类号: O614.23¹; R69

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2012)02-0245-06

Property Change of Urine Crystallites and Urine Compositions of Calcium Oxalate Stone Patients before and after Taking Potassium Citrate

LI Jun-Jun^{1,2} HOU Shan-Hua¹ XIA Zhi-Yue¹ OUYANG Jian-Ming^{*,1}

(¹Institute of Biomineralization and Lithiasis Research, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

(²College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The property change of urine crystallites of calcium oxalate stone patients before and after taking potassium citrate (K₃cit) were comparatively studied using transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscope (SEM), X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, and ζ potential analyzer. The properties including the morphology, particle size, state of aggregation, quantity, composition and ζ potential of urinary crystallites. The change of stability and pH value of urines were also investigated. Before taking K₃cit, the edges and corners of urine crystallites were sharp with significant aggregation. Their particle size was ranging from tens of nanometers to several hundreds of micrometers. The main composition was calcium oxalate monohydrate (COM), uric acid and so on. While after taking K₃cit for one week, some of urine crystallites became blunt, the aggregated crystallites and the average size were obviously reduced, some hollows appeared on the surface of the crystallites, the percent of calcium oxalate dihydrate (COD) and urate increased, the number of compositions and quantity of urine crystallites were reduced, and the urinary pH and the absolute value of ζ potential increased. The mechanism of how K₃cit inhibiting the formation of calcium oxalate stone was discussed from the point of the rise of urinary pH, the increase of excretion of citric acid and TH protein, and the coordination between citric acid and Ca²⁺ ions etc.

Key words: urine crystallites; calcium oxalate; ζ potential; potassium citrate

收稿日期: 2011-04-20。收修改稿日期: 2011-09-02。

国家自然科学基金(No.81170649)和广东省科技攻关(No.2009B030801236)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: toyjm@jnu.edu.cn

泌尿系结石(简称尿石)是一种复发率很高常见疾病,主要为含钙结石,包括草酸钙(CaOxa)结石和磷酸钙结石等^[1-2]。在 CaOxa 结石中,一水草酸钙(COM)约占 70%,其次是二水草酸钙(COD)。由于 COD 比 COM 更易随尿液排出人体^[3-4],因此,如能在尿液中诱导更多的 COD 或抑制 COD 向 COM 转变,则有利于防止尿石的形成。

对于健康对照者来说,虽然尿液中 CaOxa 的过饱和度也很大,但不会形成结石,这是由于其尿液中存在许多抑制剂,如柠檬酸盐^[5]、镁^[4]、骨桥蛋白^[6]和 Tamm-Horsfall 蛋白(TH 蛋白)^[7]等。目前,治疗 CaOxa 结石的药物有柠檬酸盐、磷酸盐、镁制剂和别嘌呤醇等,其中柠檬酸钾 (K_3cit) 是治疗和预防 CaOxa 结石的主要药物。

从化学的角度看, CaOxa 结石形成与下面诸多因素密切相关:尿钙和尿草酸浓度过高, CaOxa 晶体的成核、生长和聚集,晶体与肾小管上皮细胞粘附等。因此,尿液中存在的微晶与尿石的形成密切相关。然而,尿石患者在服用防石药物 K_3cit 前后的尿微晶性质发生了哪些变化?国内外报道甚少。基于此,本文研究了 6 例 CaOxa 结石患者在服用 K_3cit 前后尿微晶的性质变化,期望进一步阐明 CaOxa 结石的形成和抑制机制。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

常规化学试剂均为分析纯,实验均采用二次蒸馏水。

XL-3 型环境扫描电子显微镜(SEM)(Philips 公司)。PHILIPS TECNAI 型透射电子显微镜(TEM)。Zatasizer 300HS 型纳米粒度- ζ 电位分析仪(Malvern, 英国), $\lambda=633.0\text{ nm}$,测量温度为 $25.0\text{ }^\circ\text{C}$,参比折射率为 1.335,入射角为 90° 。D/max 2400 型 X 射线粉末衍射仪(日本理学)。傅里叶变换红外光谱仪(Bruker 公司)。PHS-3C 型酸度计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 尿石的收集、处理和组分表征

尿石患者均为在暨南大学第一附属医院泌尿外科住院的手术取石患者。结石标本用清水洗后,放入体积分数为 75%的乙醇中消毒(杀死细菌);低温烘干,然后在研钵内研磨成粉末,分别采用 XRD 和 FTIR 进行组分分析。在被确定主要组分为草酸钙结石的患者中,随机选择 6 例进行研究,其中男 4

名,女 2 名,年龄 33~51 岁,平均年龄 42.3 岁。

1.3 尿液处理方法和尿微晶的提取、检测

收集服药前及其服用 K_3cit 一周后 ($5.52\text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$) 的 CaOxa 结石患者的新鲜晨尿,测定其 pH 值;然后加入 2wt% 的叠氮化钠溶液(加入量为 $10\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ 尿液)防腐,参照文献^[8-9]方法对尿液进行处理,得到含尿微晶的尿液,然后采用 XRD、FTIR、SEM、TEM 和 ζ 电位仪对尿微晶进行检测。

2 结果与讨论

2.1 结石的组分分析

采用 XRD 对所有结石进行组分分析。然后,选择 6 例主要组分为草酸钙结石的患者进行研究。图 1 为 3 例草酸钙结石的 XRD 图,均检测到归属于 COM 的 $(\bar{1}01)$ 、 (020) 、 $(\bar{2}02)$ 、 (112) 、 (130) 和 $(\bar{3}03)$ 晶面的 $d=0.593$ 、 0.365 、 0.297 、 0.249 、 0.235 和 0.198 nm 处峰值。这表明结石的主要组分为 CaOxa 。

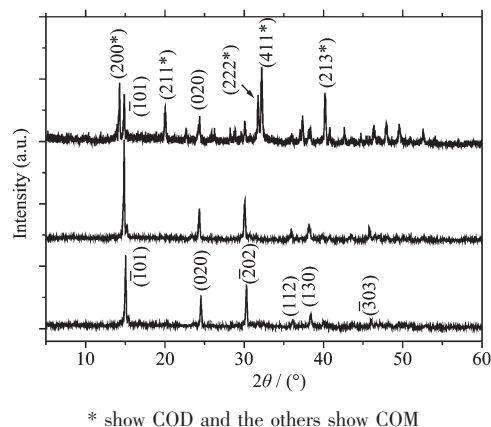


图 1 三例代表性草酸钙结石的 XRD 图

Fig.1 XRD patterns of three typical calcium oxalate stones

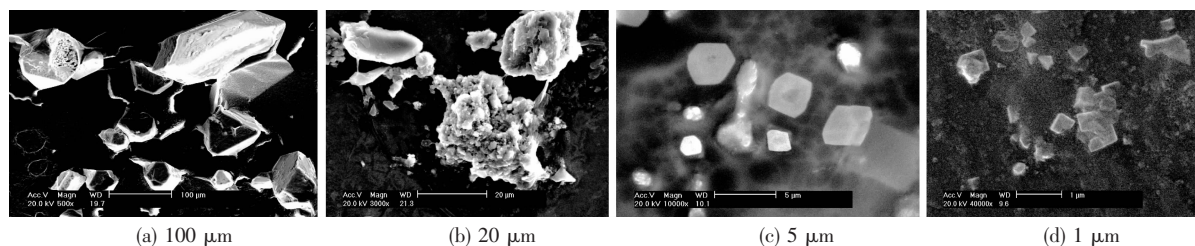
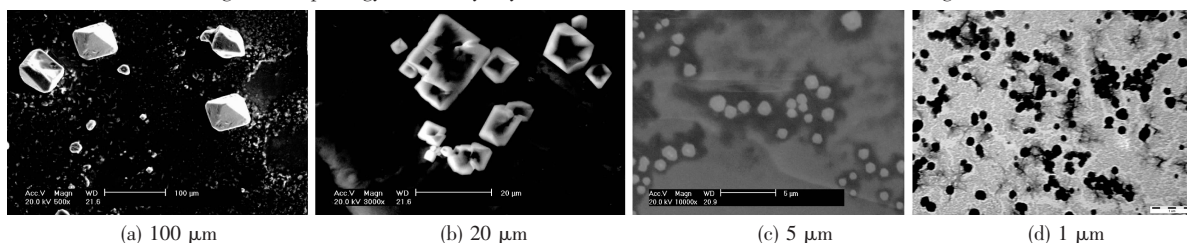
2.2 服药前后尿微晶的 SEM 和 TEM 观察

采用 SEM 和 TEM 比较研究了刚入院和服用 K_3cit 一周后 CaOxa 结石患者的尿微晶形貌,不同尺寸的代表性图片如图 1 和图 2 所示。可以看出:

2.2.1 尿微晶形貌差异

服药前, CaOxa 结石患者的尿微晶形貌不规则,棱角尖锐(图 2)。而服用 K_3cit 后,大部分尿微晶变得圆钝(图 3),部分尿微晶表面出现凹陷(图 3b)。

研究表明,每天服用 20 mmol (相当于 6.06 g) 的 K_3cit ,一周后,尿液中柠檬酸(H_3cit)的排泄量由服用前的 $(296\pm112)\text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$ 上升到 $(432\pm168)\text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$ ^[10]。而每天服用 4 g 的 K_3cit 后,尿液中 H_3cit 的浓度由

图2 服用 K₃cit 前草酸钙结石患者尿微晶的形貌Fig.2 Morphology of urinary crystallites in CaOxa stone formers before taking K₃cit图3 服用 K₃cit 后草酸钙结石患者尿微晶的形貌Fig.3 Morphology of urinary crystallites in CaOxa stone formers after taking K₃cit

服用前的 $(352 \pm 19) \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 上升到 $(401 \pm 28) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[11]。H₃cit 是一种三元羧酸,属于强配位剂,因此,与 CaOxa 微晶表面上的 Ca²⁺离子存在较强的配位-离解平衡。尿液中 H₃cit 的浓度增加后,使得 CaOxa 微晶表面上的 Ca²⁺离子不断被 H₃cit 所溶解,从而导致部分尿微晶表面出现凹陷,且大部分 CaOxa 晶体棱角圆钝,这减少了晶体的比表面积,从而降低了晶体与尿路细胞膜的粘附作用^[12],有利于晶体随尿液排出体外。

2.2.2 尿微晶尺寸变化

服药前尿微晶的尺寸差异较大,从几百微米(图 2a)到几十纳米(图 2d)不等。服用 K₃cit 后,其尿微晶尺寸也存在差异,但大尺寸的微晶数量明显减少(图 3),平均尺寸呈减小趋势。服药后,尿液中 H₃cit 的浓度的增大,与尿液中的钙离子配位,形成可溶性的柠檬酸钙,从而降低尿液中游离钙离子的浓度^[13],抑制 CaOxa 晶体的生长和聚集。另外,服用 K₃cit 后 $(6.06 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1})$,尿液中的 TH 蛋白排泄量增加(从服药前的 $94.0 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ 增加至 $199.3 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$)^[14]。TH 蛋白能附在 CaOxa 晶体表面,减少晶体与细胞的粘附^[15],并有效地抑制 CaOxa 的成核和生长^[16]。

2.2.3 聚集差异

服药前尿微晶有明显的团聚现象(图 2a,2b)。而服药后的尿微晶团聚现象明显减少,微晶的分散性较好。Fuselier 等^[11]通过长期观察结石病人服用 K₃cit 后的晶体聚集情况,发现服药后 CaOxa 晶体聚集的时间 $(217 \pm 10) \text{ min}$ 比服药前 $(171 \pm 13) \text{ min}$ 明显

增加,且服用者新结石的发生率为未服用 K₃cit 者的五分之一,服药后产生的 H₃cit 是 CaOxa 聚集的抑制剂。此外,服用 K₃cit 后,尿液中 TH 蛋白的增多也可抑制 CaOxa 的聚集^[16]。

2.2.4 尿微晶组分变化

在服药前,尿微晶中 CaOxa 主要为各种形貌的一水草酸钙(COM)晶体,二水草酸钙(COD)晶体的百分含量较低。而服用 K₃cit 1 周后,尿微晶中四方锥形 COD 晶体的百分含量明显增加(图 2a)。这归因于服用 K₃cit 后,尿液中增多的 H₃cit 能诱导 COD 晶体的生成^[17]。由于 COD 比 COM 更易随尿液排出人体^[3,4],因此,相比 COM 的形成,尿微晶中 COD 的比率增加有利于防止 CaOxa 结石的形成。

2.3 服药前后尿微晶的 XRD 分析

图 4 为 2 例代表性的 CaOxa 结石患者在服药前后尿微晶的 XRD 图,属于图 4 左图的有 5 例,另外 1 例如图 4 右图所示。可以看出存在如下差异:

2.3.1 服药后尿微晶的种类减少

如图 4 中左图所示,相比服药前的 XRD 图(图 4a),患者在服用 K₃cit 一周后,其尿微晶的衍射峰(图 4b)数量显著减少,表明服药后尿微晶的种类比服药前减少了^[18]。在服药前(图 4a),XRD 检测晶面间距 $d=0.393$ 和 0.251 nm 分别归属于尿酸的(211)和(130)晶面的衍射峰, $d=0.296$ 和 0.197 nm 归属于 COM 的(202)和(303)晶面的衍射峰, $d=0.275$ 和 0.318 nm 归属于 COD 的(411)和(400)晶面的衍射峰。

比较图 1 和图 4,COM 的 XRD 衍射谱线有较

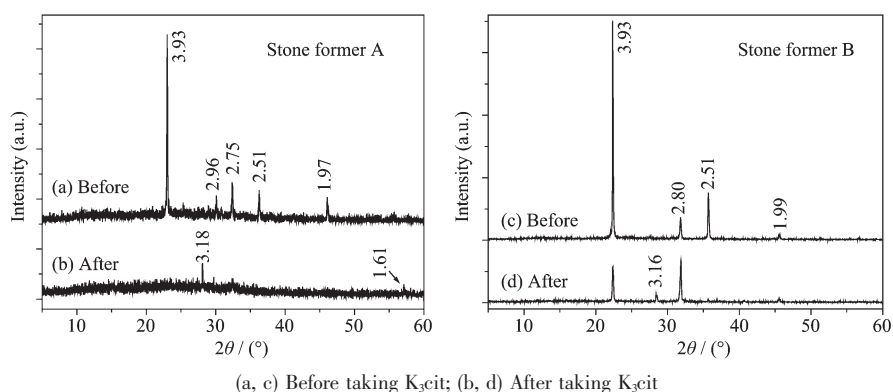


图 4 两例代表性 CaOxa 结石患者在服药前后尿微晶的 XRD 图

Fig.4 Representative XRD patterns of urinary crystallites of two CaOxa stone former

大差别,这与 COM、COD 在结石中和在尿液中所表现的晶型不同有关,因而检测到它们的不同晶面。首先,在尿液中存在多种可以抑制 CaOxa 晶体生长的物质,如葡胺聚糖 GAGs、蛋白质、柠檬酸等,这些物质的组分和浓度还会受到每天饮食等因素的影响^[19];尿液中这些抑制剂种类和浓度的差异,影响了尿微晶的生长位点和不同晶面的生长速度^[20],例如,带负电荷的抑制剂会吸附在带正电荷的 COM 的 (101) 晶面上。其次,尿石的形成也受到多种因素的影响^[12,17]。因此,采用 XRD 检测结石组分与尿液微晶组分时,即使是对于同一个组分,如 COM 或 COD,可能检测到的是它们的不同晶面,因而,其表现的衍射峰值不完全相同。

2.3.2 服药后尿液中微晶的质量或尺寸显著减少

相比服药前的 XRD 图,服药后尿微晶不但衍射峰的数量大都减少,而且衍射峰的强度明显减弱,其强度约为服药前的 1/3 左右。造成衍射峰变弱的原因可能是:服药后尿液中微晶的质量比服药前显著减少了^[18],也可能是微晶的结晶性减弱、颗粒尺寸减小所致^[21-22]。特别是 $d=0.393$ 和 0.251 nm 归属于尿酸的衍射峰,其强度减弱最大,说明 CaOxa 结石患者在服用 K₃cit 1 周后,尿液中尿酸的量大幅度减少,晶体的尺寸变小。这归因于服用 K₃cit 后,患者尿液 pH 值上升,大部分尿酸转化为溶解度大得多的尿酸盐,导致尿酸质量显著降低。在服药后,归属于 COM 的衍射峰也显著减弱。

2.3.3 服药后 COD 的衍射峰强度增加

尽管绝大多数尿微晶的质量在服药后减少,但在图 4d 中,在 $d=0.280$ nm 处归属于 COD 的衍射峰强度却增加;并且,服药后,在 $d=0.318$ nm 处归属于 COD 的 (400) 晶面的衍射峰明显增强。这归因于该患

者在服用 K₃cit 1 周后,尿液中 COD 含量增加或者是 COD 晶体的尺寸增大^[21-22],与图 3a 结果一致。

2.4 服药前后尿微晶的 FTIR 分析

采用 FTIR 光谱同时检测了 CaOxa 结石患者在服用 K₃cit 前后尿微晶的组分变化,代表性 FTIR 谱如图 5 所示。

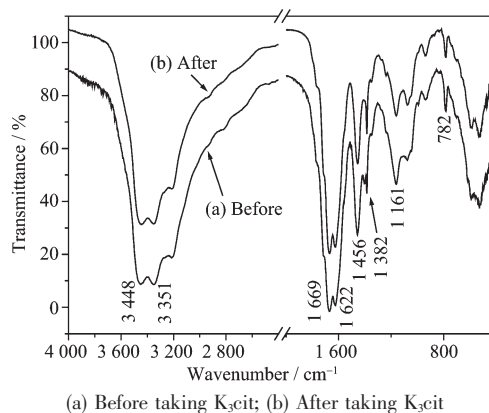


图 5 代表性 CaOxa 结石患者在服药前后尿微晶的 FTIR 谱

Fig.5 Representative FTIR spectra of urinary crystallites of CaOxa stone former

在服药前(图 5a),检测到波数为 3448 和 3351 cm^{-1} 处宽的吸收峰为结晶水的吸收峰;1622、1382 和 782 cm^{-1} 是 COM 的吸收峰^[23];1669、1456、1334、1122、992 和 620 cm^{-1} 为尿酸的吸收峰;1161 cm^{-1} 归属于 HPO_4^{2-} 的吸收峰^[24]。

服药后,在 3438、3344 cm^{-1} 处仍然存在结晶水的吸收峰;1627 cm^{-1} 为 COM 与 COD 混合物的吸收峰^[17],因为纯 COM 和纯 COD 的羧基不对称伸缩振动 $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ 分别为约 1620 和 1646 cm^{-1} 。1668 和 1456 cm^{-1} 为尿酸的吸收峰;1160 cm^{-1} 是 HPO_4^{2-} 的吸收峰(图 5b)。

表 1 CaOxa 结石患者在服药前后尿微晶的 FTIR 数据

Table 1 FTIR data of urinary crystallites of CaOxa stone former before and after taking medicine K₃cit

Assignment of FTIR data	Crystal water	COM or COD	Uric acid	HPO ₄ ²⁻
Before taking K ₃ cit	3 448, 3 351	1 622, 1 382, 782	1 669, 1 456, 1 334, 1 122, 992, 620	1 161
After taking K ₃ cit	3 438, 3 344	1 627	1 668, 1 456	1 160

可见,FTIR 光谱结果与 XRD 结果基本一致。

2.5 服药前后尿微晶的 ζ 电位差异

表 2 列出了 6 例 CaOxa 结石患者在服用 K₃cit 前后尿微晶的 ζ 电位变化。虽然有 2 例患者在服药前的尿微晶的 ζ 低于服药后,但患者服药前的 ζ 平均值 $[-(4.8\pm3.9) \text{ mV}]$ 明显高于服药后 $[-(9.5\pm3.6)$ mV)。相比之下,6 例健康对照者尿微晶的 ζ 平均值 $[-(8.54\pm3.42) \text{ mV}]$ 与患者服药后的 ζ $[-(9.5\pm3.6) \text{ mV}]$ 较为接近。

由于尿微晶的 ζ 电位绝对值增加后,会增加微晶之间的静电排斥力,抑制微晶的聚集和生长,因此,服药后有利于防止 CaOxa 结石的形成。

表 2 六例代表性草酸钙结石患者在服药前后尿微晶的性质变化

Table 2 Urine pH value, ζ potential , PDI, and autocorrelation time of calcium oxalate stone formers before and after taking medicine

No.	Urine pH value	ζ / mV	PDI	Decay time / ms
Before taking medicine				
B1	6.04	-0.95	0.649	4.5
B2	6.00	-5.96	0.767	2
B3	5.69	-8.45	1.000	10
B4	5.31	-7.57	0.497	3
B5	5.15	-8.61	0.605	12
B6	5.75	-4.62	0.521	15
Average	5.66±0.36	-(4.8±3.9)	0.673±0.187	7.6±4.9
After taking medicine				
A1	5.79	-12.1	0.526	2.5
A2	7.57	-13.0	0.453	1.6
A3	6.46	-7.96	0.654	11
A4	5.79	-8.11	0.405	0.8
A5	5.78	-5.91	0.460	1.2
A6	6.75	-11.7	0.597	1.5
Average	6.36±0.72	-(9.5±3.6)	0.516±0.10	3.1±3.9
Control				
H1	6.05	-4.03	0.355	1.5
H2	6.08	-13.4	0.310	1.1
H3	6.04	-10.6	0.812	0.9
H4	5.81	-6.42	0.468	0.8
H5	5.53	-6.67	0.376	2.5
H6	5.95	-10.1	0.450	2
Average	5.91±0.21	-(8.54±3.42)	0.462±0.181	1.5±0.7

2.6 服药前后尿微晶稳定性差异-多分散系数(PDI)变化

体系中微晶的粒径 d 越小,自相关曲线衰减越快,曲线越陡峭,相关时间 T 越短;反之,微晶粒径 d 越大,自相关曲线衰减越慢,曲线越平缓,自相关时

间 T 就越长^[25]。

从表 2 可以看出,自相关时间 T 的大小顺序为:患者服药前(7.6±4.9) ms>患者服药后(3.1±3.9) ms>健康对照者(1.5±0.7) ms。

这表明,服药后尿微晶的平均粒径小于服药前。

2.7 服药前后尿液 pH 变化

健康对照者和服药前的 CaOxa 结石患者的尿 pH 值分别为 5.91 ± 0.21 和 5.66 ± 0.36 , 两者没有明显差异。但服药后的尿 pH 值增加至 6.36 ± 0.72 , 大于服药前和对照组。这是因为, 服用的药物 K_3cit 是一种强碱弱酸盐, 在水溶液中呈碱性, 导致尿 pH 值升高, 增加尿液中尿酸的溶解度, 减少了由尿酸晶体导致 CaOxa 结晶的异质成核作用^[13]。此外, 尿 pH 值升高后, 会使得尿液中部分抑制剂[如焦磷酸盐、Tamm-Horsfall 蛋白(TH 蛋白)等]的抑制活性加强^[26]。TH 蛋白对 CaOxa 晶体的聚集具有双重作用, 在较低 pH 值时, TH 蛋白促进 CaOxa 晶体聚集; 而在较高 pH 值时, TH 蛋白抑制 CaOxa 晶体的聚集^[27]。pH 值升高可以使 TH 蛋白成为草酸钙(特别是 COM)聚集的抑制剂。因此, 尿 pH 值升高后, 有利于防止 CaOxa 结石的形成。

3 结 论

研究了 CaOxa 结石患者服用 K_3cit 一周后的尿微晶的性质变化, 并与服药前进行了比较。服药一周后的患者尿微粒的平均粒径明显减小, ζ 电位升高, 尿微晶聚集程度明显降低, 尿液中 COD 的含量增加, COM 的含量减少, 这些现象至少在局部能解释 CaOxa 结石病人口服 K_3cit 的有效性。由于肾结石的形成与尿微晶的成核、生长和聚集等过程密切相关, 因此, 研究服药前后尿微晶的性质变化对临床上预防尿石症具有参考价值。

参考文献:

- [1] Fazil M Y M, Salim A. *Urol. Res.*, **2009**, **37**:283-287
- [2] Jing Z, Wang G Z, Ning J, et al. *Urol. Res.*, **2010**, **38**(2):111-115
- [3] Kavanagh J P, Jones L, Rao P N. *Clin. Sci.*, **2000**, **98**:151-158
- [4] Bretherton T, Rodgers A. *J. Cryst. Growth*, **1998**, **192**(3/4):448-455
- [5] Guerra A, Meschi T, Allegri F, et al. *Urol. Res.*, **2006**, **34**(6):359-364
- [6] Liu C C, Huang S P, Tsai L Y, et al. *Clin. Chim. Acta*, **2010**, **411**(9/10):739-743
- [7] Lau W H, Leong W S, Zhari I, Gam L H. *Biol. Proc. Online*, **2009**, **11**(1):145-160
- [8] He J Y, Deng S P, Ouyang J M. *IEEE Trans. Nanobiosci.*, **2010**, **9**(2):156-163
- [9] HUANG Zhi-Jie(黄志杰), LI Jun-Jun(李君君), HE Jie-Yu(何节玉). *Spectros. Spectral Anal. (Guangpuxue Yu Guangpufenxi)*, **2010**, **30**(7):1913-1917
- [10] HE Hui-Chan(何慧婵), ZHONG Wei-De(钟惟德), XIE Ke-Ji(谢克基). *National Med. J. China(Zhonghua Yixue Zazhi)*, **2004**, **84**(21):1825-1826
- [11] Fuselier H A, Moore K, Lindberg J. *Urology*, **1998**, **52**:988-994
- [12] Ouyang J M, Deng S P, Li X P, et al. *Science in China, Ser. B*, **2004**, **47**(4):311-319
- [13] Allie S, Rodgers A. *Clin. Chem. Lab. Med.*, **2003**, **41**:39-45
- [14] Fuselier H A, Ward D M, Lindberg J S. *Urology*, **1995**, **45**(6):942-946
- [15] Kumar V, Farell G, Lieske J C. *J. Urology*, **2003**, **170**(1):221-225
- [16] Chen W C, Lin H S, Chen H Y, et al. *Mol. Urol.*, **2001**, **5**(1):1-5
- [17] Ouyang J M, Duan L, Tieke B. *Langmuir*, **2003**, **19**(21):8980-8985
- [18] JIN Yong(晋勇), SUN Xiao-Shong(孙小松), XUE Ji(薛纪). *X-ray Diffraction Analysis Techniques(X-射线衍射分析技术)*. Beijing: National Defence Industrial Press, **2008**:173-174, 193
- [19] Grases F, Sanchis P, Isern B, et al. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, **2007**, **41**:26-31
- [20] Hojgaard I, Tiselius H G. *Urol. Res.*, **1999**, **27**:397-403
- [21] LI Ming-Ou(李明欧), XIAO Xiu-Feng(肖秀峰), LIU Rong(刘榕), et al. *Rare Metal Mater. Eng. (Xiyou Jinshu Cailiao Yu Gongcheng)*, **2009**, **38**(suppl):183-187
- [22] WU Gui-Bing(吴贵斌), YE Zhi-Zhen(叶志镇), ZHAO Xing(赵星), et al. *Acta Phys. Sin. (Wuli Xuebao)*, **2006**, **55**(7):3756-3759
- [23] Benramdane L, Bouatia M, Idrissi M O B, et al. *Spectros. Lett.*, **2008**, **41**(2):72-80
- [24] Moawad M M. *J. Coord. Chem.*, **2002**, **50**(1):61-78
- [25] YUE Cheng-Feng(岳成凤), YANG Guan-Ling(杨冠玲), HE Zhen-Jiang(何振江). *Optoelectronic Technology & Information(Guangdianzi Yu Xingxi)*, **2004**, **17**:10-14
- [26] Pak C Y C. *Miner. Electrolyte. Metab.*, **1994**, **20**(6):371-7
- [27] Hess B, Zipperle L, Jaeger P. *Am. J. Physiol.*, **1993**, **265**(6):F784-F791