

·论著·

草酸钙结石儿童与非结石儿童代谢差异的病例对照研究



全文二维码 开放科学码

郑大有^{1,2} 李艳芳¹ 李创业¹ 聂有能¹ 彭柳成¹ 赵天望¹

【摘要】目的 比较草酸钙结石儿童(病例组)与非结石儿童(对照组)的血液及24小时尿液相关代谢指标差异。**方法** 选取2016年8月至2018年10月在湖南省儿童医院泌尿外科住院治疗并经结石成分分析主要成分为草酸钙的患者75例作为病例组,选取在本院住院治疗的75例非结石儿童(与病例组同年龄,同性别)作为对照组。测定血液及24小时尿液生化结果,比较病例组与对照组的血液及24小时尿液相关代谢指标差异。**结果** 两组单位体重尿量、单位体表面积草酸、单位体重总钙差异无统计学意义($P > 0.05$);病例组单位体表面积枸橼酸[310.5(228.4,445.6)mg/1.73 m²]及尿枸橼酸浓度[135.9(103.9,178.6)mg/L]均低于对照组[446.9(251.5,600.4)mg/1.73 m²,153.3(114.7,257.7)mg/L],差异有统计学意义($P < 0.05$)。病例组24小时尿液中草酸浓度高于对照组,差异有统计学意义($Z = -3.024, P < 0.05$)。两组血钾、钙、氯、尿素氮、肌酐、尿酸浓度差异无统计学意义($P > 0.05$)。病例组[(139.3 ± 2.6)mmol/L]血钠高于对照组[(138.2 ± 1.9)mmol/L],差异有统计学意义($t = 2.851, P < 0.05$)。**结论** 24小时尿液中草酸浓度、枸橼酸浓度及血钠浓度可能与儿童草酸钙结石形成有关,但儿童血钠及24小时尿液中相关代谢产物浓度是否可作为儿童草酸钙结石形成的危险因素,仍有待进一步探讨。

【关键词】草酸钙;代谢;结石;儿童

【中图分类号】R726.8 R691.4

Comparison of metabolic differences between children with calcium oxalate stone and non-urolithiasis.

Zheng Dayou^{1,2}, Li Yanfang¹, Li Chuangye¹, Nie Youneng¹, Peng Liucheng¹, Zhao Yaowang¹. 1. Department of Urology, Hunan Children's Hospital, Changsha 410007, China; 2. Department of Pediatric Surgery, First Municipal People's Hospital, Yueyang 414000, China. Corresponding author: Zhao Yaowang, Email:yw508@sina.com

[Abstract] **Objective** To compare the indices of blood and 24-hour urine-related metabolites between children with calcium oxalate stone and non-urolithiasis. **Methods** From August 2016 to October 2018 at Hunan Children's Hospital, this case-control study selected 75 children with calcium oxalate as case group and 75 non-urolithiasis counterparts of the same age/gender as control group. Blood and 24 hours urine biochemical results were measured and the differences of blood and 24 hours urine-related metabolic indices were compared between case and control groups. **Results** The excretions of 24 hours urine-related metabolites were compared: No significant inter-group difference existed in unit body weight urine volume, unit body surface area oxalic acid [310.5(228.4,445.6) mg/1.73 m²] or unit bodyweight total calcium [135.9(103.9,178.6) mg/L] [446.9(251.5,600.4) mg/1.73 m²,153.3(114.7,257.7) mg/L] ($Z = -2.795, Z = -2.020; P > 0.05$); the concentrations of unit body surface area citric acid and urinary citric acid in case group were lower than those in control group while the concentration of urinary oxalic acid was higher in case group than that in control group ($Z = -3.024, P < 0.05$). No significant inter-group differences existed in blood concentrations of potassium, calcium, chlorine, urea nitrogen, creatinine or uric acid ($P > 0.05$). Blood sodium in case group [139.3 ± 2.6 mmol/L] was higher than that in control group [138.2 ± 1.9 mmol/L] and the difference was statistically signif-

DOI:10.12260/lcxewkzz.2021.01.009

基金项目:湖南省自然科学基金(编号:2017JJ2139)

作者单位:1. 湖南省儿童医院泌尿外科(湖南省长沙市,410007);
2. 岳阳市一人民医院小儿外科(湖南省岳阳市,414000)

通信作者:赵天望,Email:yw508@sina.com

icant ($t = 2.851, P < 0.05$)。Conclusion 尿液草酸盐、尿液柠檬酸盐和血清钠浓度可能与儿童结石形成有关。然而,进一步的研究需要阐明代谢产物浓度与结石形成之间的关系。

[Key words] Calcium Oxalate; Metabolism; Calculi; Child

近年来儿童泌尿系结石发病率呈逐年上升趋势,且复发率高^[1-6]。Auge 等^[7]对泌尿系结石患者进行代谢评估,并根据代谢评估结果予以相应药物治疗后,明显减少了患者结石的复发。Pak 等^[8]研究发现泌尿系结石成分与代谢危险因素种类之间存在相关性,但目前儿童泌尿系结石中最常见的草酸钙结石形成的代谢机制尚不明确。本研究通过比较草酸钙结石患者与非结石患者血液、尿液中部分代谢物质浓度及尿液中相关代谢物质排泄量差异,探讨两组患者相关代谢产物的差异,为儿童泌尿系草酸钙结石的防治提供参考依据。

材料与方法

一、研究对象

以 2016 年 8 月至 2018 年 10 月在湖南省儿童医院住院且确诊为草酸钙结石患者作为病例组,纳入标准:①结石标本经红外光谱仪检测并以草酸钙为主要成分;②年龄 0~18 岁;③签署知情同意书。排除标准:①收集尿液标本不足 24 h 或超过 24 h;②近期服用枸橼酸或维生素 C 等相关药物;③合并尿路畸形。最终病例组共纳入 75 例草酸钙结石患者,其中男 48 例,女 27 例,年龄范围为 7 个月至 15 岁。

采用 1:1 病例对照研究的方法选取与病例组年龄相近(一般年龄相差不超过 3 个月,1 岁以下月龄差异≤3 个月)和同性别的非结石患者(隐匿性阴茎、隐睾、腹股沟斜疝、鞘膜积液等非泌尿系结石的单病种患者)作为对照组,纳入标准:①经影像学检查未见结石且无结石相关疾病史或家族史儿童;②年龄 0~18 岁;③签署知情同意书。排除标准:①收集尿液标本不足 24 小时或超过 24 小时;②合并尿路畸形或反复泌尿系感染;③合并(遗传)代谢性疾病,如甲状腺功能亢进、远端肾小管酸中毒及肠道疾病;④肾功能衰竭;⑤近期服用枸橼酸或维生素 C 等相关药物。最终对照组共纳入 75 例,其中男 48 例,女 27 例,年龄范围为 4 个月至 15 岁。伦理机构及伦理编号:湖南省儿童医院医学伦理委员会(编号:HCHLL-2018-54)。

二、研究方法

1. 24 小时尿液收集及检测:从前一天清晨 9 点起留取 24 h 尿液(9 点前的尿液排净并丢弃),加入硼酸液防腐(每 100 mL 尿液加入 1 g 硼酸),留尿至次日早晨 9 点,测量收集好的尿液并记录。尿枸橼酸及尿草酸采用瑞士万通离子色谱仪 883 检测。24 h 尿钙及磷采用东芝 TBA-2000FR 全自动分析仪检测;钙使用偶氮砷Ⅲ法,磷使用紫外终点法。

2. 结石成分分析:所得泌尿系结石标本均采用智能结石分析仪 SUN-3G 型(第二代)进行结石成分分析。具体方法:①取样:清水洗净结石并晾干,保证结石和溴化钾(Potassiumbromide, KBr)干燥;结石多点取样约 4.0~5.0 mg, KBr 约 800 mg, 比例约 1:200;②结石标本烘干:烤箱设定 100°C, 加热 2~3 min 后,停止加热,把盛有标本的托盘放入烤箱,5 min 后取出;③研磨:结石和 KBr 放入玛瑙研钵单向充分研磨至肉眼观测无颗粒;④装膛:将粉末装入压片模具,将顶模的长柱插入柱芯,并轻轻旋转使粉末分布均匀;⑤压片:将模具放压片机上打压(16 Mpa, 5 s),缓慢放压,转动底模和顶模,松动后提拉拿下顶模和底模,取出柱芯,观察压片是否均匀透明,放入支架;⑥记录光谱:在机器样品光路中放入已压制好的溴化钾机器样品(绘制标准图谱),开始启动自动分析系统,迅速置入红外光谱槽中进行扫描。计算机依次处理以下步骤:①根据结石样品红外光谱图谱特点做出定性分析;②采用吸光度比值的方法进行定量分析;③绘制谱图后会自动打印分析结果及报告。

3. 血液化验分析:采集患者入院后次日清晨空腹时的血样,血液化验采用东芝 TBA-2000FR 自动分析仪及厂家原装试剂进行常规分析。其中钾、钠、氯使用电极法(间接法);钙使用偶氮砷Ⅲ法;肌酐、尿素氮使用酶法。

三、统计学方法

采用 SPSS 25.0 进行数据分析。本研究计量资料采用 Kolmogorov-Smirnov 检验验证其正态性,若符合正态分布,则以($\bar{x} \pm s$)表示,使用独立样本 t 检验比较组间差异;若不符合正态分布,则以 [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示,使用 Mann-Whitney 秩和检验进行比较。

检验水准 $\alpha = 0.05$, 当 $P < 0.05$ 时, 差异有统计学意义。

结 果

一、两组一般资料比较

病例组与对照组患者年龄、身高、体重比较差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表1。

表1 两组患者一般资料比较

Table 1 Comparison of general data between two groups

分组	年龄 [$M(P_{25}, P_{75})$, 岁]	身高 [($\bar{x} \pm s$), cm]	体重 [$M(P_{25}, P_{75})$, kg]
病例组	4.7(2.4, 8.3)	108.2 ± 23.5	16.6(12.5, 23.6)
对照组	4.9(2.3, 8.7)	109.7 ± 26.0	17.5(12.0, 24.8)
Z/t值	-0.118	-0.366	-0.391
P值	0.906	0.715	0.696

二、24小时尿液相关代谢物质排泄量比较

两组患者单位体重尿量、单位体表面积草酸、单位体重总钙差异无统计学意义($P > 0.05$);病例组[135.9(103.9, 178.6) mg/1.73 m²]单位体表面积枸橼酸低于对照组[153.3(114.7, 257.7) mg/

表2 两组患者24小时尿液相关代谢物排泄量比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

Table 2 Comparison of excretion of 24 hours urine-related metabolites between two groups [$M(P_{25}, P_{75})$]

分组	单位体重尿量 (mL/kg)	单位体表面积草酸 (mg/1.73 m ²)	单位体表面积枸橼酸 (mg/1.73 m ²)	单位体重总钙 (mmol/kg)
病例组	56(34, 71)	31.6(21.7, 44.3)	310.5(228.4, 445.6)	0.07(0.04, 0.10)
对照组	56(35, 94)	28.2(19.8, 35.4)	446.9(251.5, 600.4)	0.06(0.04, 0.11)
Z值	-0.823	-1.675	-2.795	-0.002
P值	0.410	0.094	0.005	0.999

注 体表面积(m²) = 0.0061 × 身高(cm) + 0.0128 × 体重(kg) - 0.1529

表3 两组患者24小时总尿量及尿液相关代谢物浓度比较

Table 3 Comparison of 24 h total urine volume and urine concentration of urine-related metabolites between two groups

分组	总尿量 [($\bar{x} \pm s$), mL]	草酸浓度 [$M(P_{25}, P_{75})$, mg/L]	枸橼酸浓度 [$M(P_{25}, P_{75})$, mg/L]	总钙浓度 [$M(P_{25}, P_{75})$, mmol/L]	磷浓度 [$M(P_{25}, P_{75})$, mmol/L]
病例组	1 016 ± 566	13.6(11.4, 19.7)	135.9(103.9, 178.6)	1.4(0.7, 2.1)	7.4(4.9, 9.6)
对照组	1 075 ± 478	12.0(8.5, 15.4)	153.3(114.7, 257.7)	1.4(0.7, 2.1)	7.7(5.3, 10.4)
Z/t值	-0.701	-3.024	-2.020	-0.380	-1.021
P值	0.484	0.002	0.043	0.704	0.307

表4 两组患者血液检测结果比较

Table 4 Comparison of blood test results between two groups

分组	钾 [($\bar{x} \pm s$), mmol/L]	钠 [($\bar{x} \pm s$), mmol/L]	氯 [$M(P_{25}, P_{75})$, mmol/L]	钙 [($\bar{x} \pm s$), mmol/L]	尿素氮 [($\bar{x} \pm s$), mmol/L]	肌酐 [$M(P_{25}, P_{75})$, μmol/L]	尿酸 [$M(P_{25}, P_{75})$, μmol/L]
病例组	4.2 ± 0.4	139.3 ± 2.6	102.1(100.1, 104.1)	2.4 ± 0.1	4.1 ± 1.2	28.3(23.0, 39.2)	256.9(217.0, 294.4)
对照组	4.1 ± 0.4	138.2 ± 1.9	101.9(100.8, 103.5)	2.3 ± 0.1	4.1 ± 1.3	30.2(26.0, 38.2)	243.0(176.0, 312.0)
Z/t值	1.380	2.851	-0.075	1.309	-0.186	-1.004	0.947
P值	0.170	0.005	0.940	0.193	0.853	0.316	0.344

橼酸、钙离子等与草酸钙结石形成的相关物质浓度能较准确地评估草酸钙结石形成风险,且不同成分结石代谢情况存在差异^[9,10]。现有关于儿童泌尿系结石的研究中,大多数研究未排除其他结石成分干扰,且仅比较了相应代谢指标的排泄量差异。本研究为排除其他成分结石干扰,以常见的草酸钙结石患者为研究对象,并同时比较了两组儿童尿液中代谢物的排泄量及浓度,结果发现两组血钠、尿草酸、尿枸橼酸浓度及尿枸橼酸排泄量存在差异,其余指标无差异。尿草酸及枸橼酸可通过影响尿草酸钙饱和程度而导致结石生成,且符合过饱和学说。但本研究结果提示两组儿童尿枸橼酸排泄量存在差异,可能与尿枸橼酸存在其他途径方式影响草酸钙结石形成相关,仍有待进一步研究。

相对于尿量而言,本研究发现两组患者总尿量及单位体重尿量差异均无统计学意义。已有大量观察性研究一致认为低尿量异常为泌尿系结石形成的危险因素之一,以往多项研究表明泌尿系结石患者中低尿量患者所占比例为12%~89%。Bevill等^[11]通过对113例泌尿系结石患者的代谢指标进行回顾性分析,发现低尿量异常在所有代谢异常中占比最高,约占89%。Cambareri等^[12]发现低尿量约占22.3%,而Yang等^[13]发现低尿量仅占12%左右。除此以外,Cheungpasitporn等^[14]又通过前瞻性研究证实了该观点。但由于尿量与水的摄入量及环境和气候等存在明显关系,因此导致了不同研究中结果的巨大差异。

相对于尿总钙而言,本研究发现两组患者尿总钙及单位体重尿总钙排泄量均无差异。高钙尿症是指24小时尿总钙排泄量>4 mg/kg^[15]。Yang等^[13]在对80例泌尿系结石患者进行代谢评估后发现,高钙尿症患者约占18.8%。Bevill等^[11]在对113例结石患者进行回顾性分析的过程中也发现,高钙尿患者约占11%。但有研究证实,尿总钙包括尿游离钙离子及其与枸橼酸、尿蛋白等结合后生成的结合钙,仅游离钙离子能与草酸根离子结合形成草酸钙晶体^[16~18]。Porowski等^[19]分别使用钙离子选择电极测定尿钙离子浓度和Cobas-Integra 800分析仪检测尿总钙,结果发现泌尿系结石组儿童尿钙离子浓度显著高于非泌尿系结石组儿童,而24小时尿总钙浓度及单位体重尿钙排泄差异无统计学意义。本次研究结果与Porowski等^[19]研究结果相似,但未检测尿钙离子浓度,需要在以后的研究中加以改进。

相对于血液指标而言,目前仅少量研究涉及儿童泌尿系结石形成与血液代谢指标的相关性。地里木拉提等^[20]通过病例对照研究发现泌尿系结石组与非结石组血液代谢指标均无差异;但Sakhaeek等^[8,21~22]认为血钠浓度升高会通过增加尿钠浓度这一途径抑制肾小管对尿钙离子的重吸收,同时血钠浓度升高会减少尿枸橼酸排泄,增加尿游离钙离子浓度,对于钙盐类结石的形成有促进作用,与本研究结果相符合。同时,Seeger等^[23]发现低钠饮食会减少尿钙的排泄,降低泌尿系结石复发率。大量研究结果显示儿童泌尿系结石与非结石儿童血钾、氯、钙、肌酐、尿素氮浓度差异无统计学意义,但对于血钠浓度与泌尿系结石形成的相关性仍存在争议,其争议可能源于不同研究中研究对象的差异。

儿童泌尿系结石的形成代谢因素复杂且受饮食环境因素影响大。不同研究中泌尿系结石儿童中存在代谢异常儿童占33%~95%;反之,在泌尿系结石患者中,无代谢异常患者占5%~67%。如果单纯使用代谢异常(代谢物排泄量)来评估儿童泌尿系结石的风险,可能无法准确评估部分无代谢异常患者的复发风险。如何利用代谢资料准确评估儿童草酸钙结石的复发风险及针对其异常予以干预仍是临床工作中的一大难点。

综上所述,本研究认为草酸钙结石与非泌尿系结石儿童尿液中相关代谢产物浓度存在差异。如果将尿液中相关代谢物排泄量与浓度相结合来评估草酸钙结石的复发风险,或许效果更佳。但由于本研究样本量较少,病例存在种族、饮食差异及地域局限性,儿童尿液中相关代谢产物浓度是否可以作为儿童草酸钙结石形成的危险因素仍有待进一步探讨。

参 考 文 献

- Bush NC, Xu L, Brown BJ, et al. Hospitalizations for pediatric stone disease in United States, 2002–2007 [J]. J Urol, 2010, 183(3):1151–1156. DOI:10.1016/j.juro.2009.11.057.
- 刘静,赵天望. 儿童上尿路结石内镜治疗进展[J]. 临床小儿外科杂志, 2015, 14(6):540–542. DOI:10.3969/j.issn.1671–6353.2015.06.024.
Liu J, Zhao YW. Advances of endoscopic treatment of upper urinary calculi in children[J]. J Clin Ped Sur, 2015, 14(6):540–542. DOI:10.3969/j.issn.1671–6353.2015.06.024.
- Dwyer ME, Krambeck AE, Bergstrahl EJ, et al. Temporal trends in incidence of kidney stones among children: a 25-

- year population based study [J]. *J Urol*, 2012, 188(1):247–252. DOI: 10.1016/j.juro.2012.03.021.
- 4 Alfandary H, Haskin O, Davidovits M, et al. Increasing prevalence of nephrolithiasis in association with increased body mass index in children: a population based study [J]. *J Urol*, 2018, 199(4):1044–1049. DOI: 10.1016/j.juro.2017.10.023.
- 5 Marangella M, Vitale C, Petrarulo M, et al. Renal stones: from metabolic to physicochemical abnormalities. How useful are inhibitors? [J]. *J Nephrol*, 2000, 13(suppl 3):S51–S60.
- 6 Rotily M, Léonetti F, Iovanna C, et al. Effects of low animal protein or high-fiber diets on urine composition in calcium nephrolithiasis [J]. *Kidney Int*, 2000, 57(3):1115–1123. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2000.00939.x.
- 7 Auge BK, Maloney ME, Mathias BJ, et al. Metabolic abnormalities associated with calyceal diverticular stones [J]. *BJU Int*, 2006, 97(5):1053–1056. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2006.06134.x.
- 8 Pak CYC, Odvina CV, Pearle MS, et al. Effect of dietary modification on urinary stone risk factors [J]. *Kidney Int*, 2005, 68(5):2264–2273. DOI: 10.1038/sj.ki.5000203.
- 9 Laube N, Klein F, Bernsmann F, et al. New diagnostic tool for individual monitoring of urolithiasis risk and other metabolic diseases [J]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2014, 139(34–35):1721–1725. DOI: 10.1055/s-0034-1370196.
- 10 Laube N, Klein F, Bernsmann F. Kinetics of calcium oxalate crystal formation in urine [J]. *Urolithiasis*, 2017, 45(2):151–157. DOI: 10.1007/s00240-016-0900-y.
- 11 Bevill M, Kattula A, Cooper CS, et al. The modern metabolic stone evaluation in children [J]. *Urology*, 2017, 101:15–20. DOI: 10.1016/j.urology.2016.09.058.
- 12 Cambareri GM, Kovacevic L, Bayne AP, et al. National multi-institutional cooperative on urolithiasis in children: age is a significant predictor of urine abnormalities [J]. *J Pediatr Urol*, 2015, 11(4):218–223. DOI: 10.1016/j.jpurol.2015.04.021.
- 13 Yang D, Tiselius HG, Lan C, et al. Metabolic disturbances in Chinese children with urolithiasis: a single center report [J]. *Urolithiasis*, 2017, 45(3):285–290. DOI: 10.1007/s00240-016-0910-9.
- 14 Cheungpasitporn W, Erickson SB, Rule AD, et al. Short-term tolvaptan increases water intake and effectively decreases urinary calcium oxalate, calcium phosphate and uric acid supersaturations [J]. *J Urol*, 2016, 195(5):1476–1481. DOI: 10.1016/j.juro.2015.11.027.
- 15 Hoppe B, Kemper MJ. Diagnostic examination of the child with urolithiasis or nephrocalcinosis [J]. *Pediatr Nephrol*, 2010, 25(3):403–413. DOI: 10.1007/s00467-008-1073-x.
- 16 Rodgers A, Allie-Hamkulay S, Jackson G. Therapeutic action of citrate in urolithiasis explained by chemical speciation: increase in pH is the determinant factor [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2005, 21(2):361–369. DOI: 10.1093/ndt/gfi211.
- 17 Simpson DP. Citrate excretion: a window on renal metabolism [J]. *Am J Physiol*, 1983, 244(3):F223–F234. DOI: 10.1152/ajprenal.1983.244.3.F223.
- 18 Baird GS. Ionized calcium [J]. *Clin Chim Acta*, 2011, 412(9–10):696–701. DOI: 10.1016/j.cca.2011.01.004.
- 19 Porowski T, Kirejczyk JK, Konstantynowicz J, et al. Correspondence between Ca²⁺ and calciuria, citrate level and pH of urine in pediatric urolithiasis [J]. *Pediatr Nephrol*, 2013, 28(7):1079–1084. DOI: 10.1007/s00467-013-2420-0.
- 20 迪亚尔·地里木拉提,阿衣丁·西热亚孜旦,哈木拉提·吐送,等. 小儿上尿路结石代谢评估及其临床意义探讨[J]. 中华小儿外科杂志,2016,37(6):449–452. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2016.06.00.
- Diyaer D, Ayiding X, Hamulati T, et al. Clinical analysis and significance of urine metabolism for pediatric upper urinary calculi [J]. *Chin J Pediatr Surg*, 2016, 37(6):449–452. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2016.06.00.
- 21 Sakhaei K, Harvey JA, Padalino PK, et al. The potential role of salt abuse on the risk for kidney stone formation [J]. *J Urol*, 1993, 150(2):310–312. DOI: 10.1016/s0022-5347(17)35468-x.
- 22 Silver J, Friedlaender MM, Rubinger D, et al. Sodium-dependent idiopathic hypercalciuria in renal-stone formers [J]. *Lancet*, 1983, 322(8348):484–486. DOI: 10.1016/s0140-6736(83)90513-5.
- 23 Seeger H, Kaelin A, Ferraro PM, et al. Changes in urinary risk profile after short-term low sodium and low calcium diet in recurrent Swiss kidney stone formers [J]. *BMC Nephrol*, 2017, 18(1):349. DOI: 10.1186/s12882-017-0755-7.

(收稿日期:2020-05-15)

本文引用格式:郑大有,李艳芳,李创业,等.草酸钙结石儿童与非结石儿童代谢差异的病例对照研究[J].临床小儿外科杂志,2021,20(1):44–48. DOI: 10.12260/lcxewkzz.2021.01.009.

Citing this article as: Zheng DY, Li YF, Li CY, et al. Comparison of metabolic differences between children with calcium oxalate stone and non-urolithiasis [J]. *J Clin Ped Sur*, 2021, 20(1):44–48. DOI: 10.12260/lcxewkzz.2021.01.009.