

# Usporedba analitičkih metoda kod analize urolitijaza

---

**Hanousek, Matea**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:968531>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-21**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Geološki odsjek

Matea Hanousek

**Usporedba analitičkih metoda kod analize  
urolitijaza**

Diplomski rad

Zagreb, 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
GEOLOŠKI ODSJEK

Matea Hanousek

## **Usporedba analitičkih metoda kod analize urolitijaza**

Diplomski rad  
predložen Geološkom odsjeku  
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta  
Sveučilišta u Zagrebu  
radi stjecanja akademskog stupnja  
magistra prirodnih znanosti, znanstveno polje geologija,  
grana geologija zaštite okoliša

Mentor:  
doc. dr. sc. Hana Fajković

Zagreb, 2021.

## *Zahvale*

*Posebno bih se htjela zahvaliti mentorici doc. dr. sc. Hani Fajković na pomoći, vodstvu i prenesenom znanju prilikom izrade ovog diplomskog rada.*

*Veliko hvala dr. med Branki Muić na prikupljenim uzorcima i ukazanoj podršci znanstvenom radu.*

*Najviše zahvaljujem svojim roditeljima i obitelji na bezuvjetnoj podršci i razumijevanju tijekom cjelokupnog školovanja.*

*Matea*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Geološki odsjek

Diplomski rad

## Usporedba analitičkih metoda kod analize urolitijaza

Matea Hanousek

**Rad je izrađen:** Mineraloško-petrografski zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Horvatovac 95, Zagreb

**Sažetak:** Urolitijaza je bolest kod koje dolazi do pojave mineralizacije te nastanka bubrežnih kamenaca unutar bubrežnog i mokraćnog sustava ljudi i životinja. Za njezino uspješno liječenje i sprječavanje ponovne pojave poželjno je odrediti mineralni sastav kamenaca u uzorcima. Najčešće metode koje se koriste za njihovu analizu su infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FT-IR) i rendgenska difrakcija na prahu (XRPD). Cilj ovoga rada bio je usporediti te dvije metode. Tijekom razdoblja od godine dana prikupljeno je dvanaest uzoraka bubrežnih kamenaca i dva kamenca iz prostate. Svi uzorci su uspješno analizirani i određen im je mineralni sastav korištenjem FT-IR i XRPD metoda. Usporedba analiza se provela na kamencima od monomineralnih i/ili polimineralnih faza whewellita, weddellita, struvita, hidroksiapatita, uricita i cistina kao mineralnim fazama koje su najzastupljenije kod urolitijaza. Nakon provedenih analiza obje metode se mogu opisati prikladnim za analizu urolitijaza, međutim zbog brzine i ekonomskog aspekata prednost se može dati FT-IR metodi.

**Ključne riječi:** urolitijaza, FT-IR, XRPD, oksalati, fosfati, urati, cistini

**Rad sadrži:** 47+X stranica, 19 slika, 18 tablica, i 44 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je pohranjen u:** Središnja geološka knjižnica, Geološki odsjek, PMF

**Mentor:** doc.dr.sc. Hana Fajković

**Ocjenjivači:** doc.dr.sc. Karmen Fio Firi

prof. dr. sc. Nenad Tomašić

**Datum završnog ispita:** 24. 02. 2021.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Geology

### Master of Science Thesis

#### Comparison of analytical methods in urolithiasis

Matea Hanousek

**Thesis completed in:** Department of Geology, Division of Mineralogy and Petrology, Faculty of Science, Horvatovac 95, Zagreb

**Abstract:** Urolithiasis is a disease in which mineralization occurs and leads to the formation of kidney stones within the renal and urinary systems of humans and animals. For its successful treatment and prevention of recurrence, it is desirable to determine the mineral composition of stones in the samples. The most common methods used for their analysis are Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and X-ray powder diffraction (XRPD). The aim of this paper was to compare these two methods. Over a period of one year, twelve samples of kidney stones and prostate stones were collected. All samples were successfully analyzed and their mineral composition was determined using FT-IR and XRPD methods. The comparison of analyzes was performed on stones from monomineral and / or polymineral phases of whewellite, weddellite, struvite, hydroxyapatite, uricite and cystine as mineral phases that are most prevalent in urolithiasis. After preformed analyzes, both methods can be described as suitable for the analysis of urolithiasis, however, due to the speed and economic aspect, the FT-IR method can be preferred.

**Keywords:** urolithiasis, FT-IR, XRPD, oxalates, phosphates, uric acid, cystine

**Thesis contains:** 47+X pages, 19 figures, 18 tables and 44 references

**Original in:** Croatian

**Thesis deposited in:** Faculty of Science, Central geological library, Horvatovac 102a, Zagreb

**Supervisor:** doc.dr.sc. Hana Fajković

**Reviewers:** doc.dr.sc. Karmen Fio Firi

prof. dr. sc. Nenad Tomašić

**Date of the final exam:** February 24, 2021

**Sadržaj**

1	Uvod .....	1
2	Teorijska osnova .....	3
2.1.1	Kalcijevi oksalati.....	8
2.1.2	Fosfatni kamenci .....	10
2.1.3	Urati.....	12
2.1.4	Cistini .....	12
2.1.5	Metode analize bubrežnih kamenaca .....	14
3	Materijali i metode istraživanja.....	18
3.1.1	Promatranje pod lupom .....	19
3.1.2	Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FT-IR) .....	19
3.1.3	Rendgenska difrakcija na prahu .....	21
4	Rezultati.....	23
5	Rasprava .....	33
6	Zaključak .....	40
7	Literatura.....	41
8	Popis slika u tekstu.....	46
9	Popis tablica u tekstu.....	47
10	Prilog 1 .....	VI

## 1 Uvod

Urolitijaza je bolest urinarnog trakta kod koje dolazi do stvaranja mikrokristalni agregata (bubrežnih kamenaca), a najčešće se to odvija u bubrežima putem procesa koji se naziva biomineralizacija. Urolitijaze su poznatije pod imenom bubrežni kamenci. Mogu se javiti kod ljudi i životinja. Njihov nastanak ukazuje na različite promjene u organizmu koje dovode do razvoja bolesti vezanih za bubrege i mokraćni sustav. Najčešće se radi o jakoj i vrlo jakoj boli prilikom njihovog prolaska kroz mokraćovode, razvoju upala i opstrukcije mokraćnih putova (Wesson i Ward, 2007). Nakon izlječenja moguća je njihova ponovna pojava u 50% slučajeva tijekom razdoblja od pet do deset godina, a tijekom 20 godina ponovno se javljaju u čak 75% slučajeva (Moe, 2006). Unatoč brojnim istraživanjima njihov točan uzrok nastanka još uvijek nije u potpunosti razjašnjen. Sam kemijski i mineralni sastav pojedinih bubrežnih kamenaca može biti različit zbog čega je kod liječenja vrlo bitno da se odredi njihova vrsta. Različite vrste urolitijaza imaju različite uzroke nastanka i posljedica su različitih promjena u organizmu (Wesson i Ward, 2007). Određivanje sastava bubrežnih kamenaca važno je zbog tijeka liječenja bolesti i sprječavanja ponovnog pojavljivanja za što je neophodno utvrditi njihov mineralni sastav (Giannossi i sur., 2012). Zbog toga je važno istražiti najefikasniju i najbržu metodu njihovog identificiranja.

Prostatoliti su još jedan oblik biomineralizacije u ljudskom tijelu. Radi se o ovapnjenu unutar tkiva uzrokovano djelovanjem bakterija, a koji se sastoji uglavnom od hidroksiapatita i drugih kalcijevih fosfata. Iako nisu toliko česti kao bubrežni kamenci, određivanje njihovog mineralnog sastava može dovesti do razjašnjenja načina nastanka te omogućiti liječenje samih prostatolita, ali i bolesti uz koje se vežu (Sun i sur., 2018).

Bubrežni kamenci i kamenci iz prostate svojim karakteristikama spadaju pod minerale, njihovim istraživanjem bavi se grana geologije koja se zove medicinska geologija. To je interdisciplinarna znanost koja se bavi pozitivnim ili negativnim utjecajem geokoliša i prirodnih procesa na ljudsko zdravlje i ekosustav u cijelosti (Mouri, 2020).

Metode koje se koriste za analizu mineralnog sastava i morfologije bubrežnih kamenaca su kemijska analiza, termogravimetrija, polarizacijska mikroskopija, pretražna elektronska mikroskopija, rendgenska difrakcija i nekoliko vrsta spektroskopija (Singh i sur., 2014).



Cilj ovoga rada je usporedba dvaju analitičkih metoda koje se koriste kod analize bubrežnih kamenaca kako bi se odredile prednosti i mane prilikom određivanja tipa kamenca. Mineralni sastav bubrežnih kamenaca bitno je odrediti kako bi liječenje bilo uspješnije i efikasnije, a utvrđivanje koja metoda je najpovoljnija za te svrhe prvi je korak. Metode koje su korištene su infracrvena spektroskopija sa Fourierovom transformacijom (FT-IR) i rendgenska difrakcija na prahu (XRPD).

## 2 Teorijska osnova

Medicinska geologija je interdisciplinarna znanstvena grana koja se bavi utjecajem geoloških materijala i procesa na zdravlje ljudi, životinja i biljaka. Ona obuhvaća znanstvenike iz raznih disciplina kao što su geologija, kemija, medicina i znanosti o okolišu koji surađuju u otkrivanju i rješavanju problema koji su uzrokovani ili pogoršani geološkim materijalima ili procesima. Neki od geoloških materijala i procesa koji utječu na zdravlje su elementi u tragovima, stijene, minerali, voda, fosilna goriva, vulkanske erupcije, potresi, onečišćenja povezana s rudarskom aktivnošću i mnogi drugi.

Značaj okoliša i materijala iz okoliša prepoznale su već i drevne civilizacije kao što su Kinezi, Grci i Egipćani koji u svojim zapisima navode ljekovita i opasna svojstva stijena i minerala (Bunnell i sur., 2007). Hipokrat, Marko Polo i Galen samo su neki od istraživača koji su u svojim djelima opisivali razna oboljenja kao posljedice pojava iz okoliša. Razvojem industrije takva oboljenja postaju češća, ali tek razvojem tehnologije se povezuju s utjecajem materijala korištenog u proizvodnji. Primjeri takvih oboljenja vezani su, između ostalih, uz živu, selen, jod i arsen.

Grana medicinske geologije doživljava svoj razvoj tijekom zadnjih nekoliko desetljeća. Šezdesetih godina prošlog stoljeća održane su prve konferencije s temama usko vezanim za područje medicinske geologije nakon čega slijede objavljivanja časopisa i drugih simpozija. Sam termin *geomedicina* (eng. *geomedicine*) prvi put je upotrijebio Zeiss 1931., a pojam medicinska geologija javlja se 1997. godine. Internacionalno udruženje medicinskih geologa (IMGA) službeno je osnovano 2006. s ciljem podizanja svjesnosti medicinskih djelatnika, znanstvenika i sveukupne populacije o važnosti utjecaja geoloških procesa i materijala na zdravlje i opće stanje zdravlja ljudi, životinja i biljaka (Davies i sur., 2013).

Osnovni principi i ciljevi medicinske geologije su: otkriti geokemijske anomalije u tlu, sedimentu i vodi koji mogu nepovoljno utjecati na ljudsko i životinjsko zdravlje; otkriti okolišne uzroke već poznatih zdravstvenih problema i u suradnji s biomedicinskim istraživačima pokušati ukloniti ili umanjiti probleme; procijeniti blagotvorne učinke geoloških materijala i procesa te pokušati ostvariti kontakte i suradnju između razvijenih i nerazvijenih zemalja kako bi se pronašlo rješenje za nepovoljne učinke okoliša na ljudsko zdravlje (Bunnell i sur., 2007).

Teme istraživanja medicinske geologije su izloženosti prirodnim česticama prašine i radioaktivnosti, izloženosti toksičnim količinama elemenata u tragovima kao što su arsen i živa, nutritivni nedostatak elemenata u tragovima kao što je jod, toksične organske i anorganske komponente u vodi koji se u njima pojavljuju prirodno (Bunnell i sur., 2007). Medicinska geologija bavi se i nitratima u vodi, azbestima, opasnostima vulkanskih erupcija i potresa te biomineralizacijam u organizmima (Dissanayake i Chandrajith, 2009). Unutar medicinske geologije važna je grana mineralogija, znanost koja se bavi izučavanjem minerala, njihovog kemijskog sastava, kristalne strukture i fizičkih svojstava. Prema definiciji, minerali su tvari koje prirodno nastaju mineralizacijom i geokemijskim procesima, a koje imaju uređenu kristalnu strukturu te čiji sastav se može opisati kemijskom formulom (Caraballo i sur., 2015). Bubrežni kamenci prema gore navedenoj definiciji pripadaju mineralima te se smatraju područjem interesa geologa, odnosno mineraloga. Pojam biominerali koristi se za minerale koji nastaju posredstvom organizama ili za minerale koji se sastoje od organske i anorganske komponente. Često se biominerali razlikuju od svojih inačica anorganskog porijekla po morfološkim obilježjima što se pripisuje djelovanju njihove organske komponente. Osim toga, biominerali mogu biti nakupine kristala međusobno odvojeni organskim materijalom. Klasificiraju se kao i minerali, prema kemijskom sastavu ovisno o anionu (Addadi i sur., 2003). Procesima biomineralizacije u ljudskom tijelu pri normalnim uvjetima nastaju kosti i zubi. Ovi procesi mogu stvoriti i patološke tvorevine kao što su bubrežni i mokraćni kamenci.

Bubrežni kamenci su treća najčešća bolest urinarnog trakta ljudi (Qaader i sur., 2006), javljaju se na svim nadmorskim visinama, u svim državama i među svim rasama. Ova bolest može izazvati nepopravljivu štetu unutar mokraćnog sustava (Aloisi, 2008). Njihova pojava uzrokuje akutnu bol i zahtijeva dugotrajno liječenje i često kiruršku intervenciju. Medicinski naziv za njih je urolitijaze. Urolitijaze često ukazuju na postojanje dodatnih poremećaja u općem stanju organizma (Moe, 2006).

Bubrežni kamenci su očvrsnute mase ili kristalne konkreције koje se sastoje od netopivih tvari, a formirane su u mokraćnom sustavu ljudi i životinja (Gray i sur., 1982). Kristalne konkreције pronađene su u bubrežnim ili ekvivalentnim izlučujućim sustavima kralježnjaka i nižih beskrležnjaka (Moe, 2006). Njihov sastav dijeli se na dva dijela. Prvi dio odnosi se na organske komponente kao što su proteini, lipidi, ugljikohidrati i stanice koji sačinjavaju organski matriks. Drugi dio čini mineralna komponenta ili kombinacija više njih kao što su oksalati, fosfati i soli mokraćne kiseline (Giannossi i sur., 2012).

Osnovni uvjeti koji pridonose nastanku bubrežnih kamenaca su visoka koncentracija anorganskih soli u urinu, zadržavanje tih soli i formiranje kristala, pH mokraće, mali volumen mokraće, infekcije i odsustvo inhibitora rasta kristala (Giannossi i sur., 2012). Nastanak bubrežnih kamenaca počinje nastankom jezgre, odnosno, nukleacijom u prezasićenoj otopini. Na novonastalu jezgru procesom agregacije lijepe se drugi kristali koji slobodno plutaju u tekućini procesom agregacije ili nastaju direktno na površini jezgre procesom rasta kristala. Mogu se formirati u bilo kojem dijelu mokraćnog sustava kao što su bubrezi, mjehur i mokraćovodi. Najčešće se formiraju unutar bubrega iz kojeg mogu otići u mokraćovode i mokraćni mjehur (Singh, 2014). Liječenje bubrežnih kamenaca odvija se kirurški, razbijanjem pomoću ultrazvuka i prirodnim izlučivanjem putem mokraće ili promjenom uvjeta kristalizacije odnosno smanjenjem prezasićenosti pomoću farmaceutskih pripravaka ili promjenom prehrambenih navika (Moe, 2006).

Najčešće bubrežne kamence izgrađuje šest minerala: whewellit, weddellit, hidroksiapatit, struviti, uricit i cistin (tablica 1). Mogu biti monomineralni ili sastavljeni od više faza. Kalcijevi kamenci (oksalatni i fosfatni) javljaju se u 80% slučajeva, nakon kojih slijedi uricit s 5 – 10% slučajeva. Struvitni i cistinski kamenci javljaju se najrjeđe (Moe, 2006). U nekim slučajevima mogu nastati rijetke vrste bubrežnih kamenaca čiji nastanak se veže uz razne lijekove, a kvarc, kalcit i gips se mogu naći kao artefakti (Giannossi i sur., 2012).

**Tablica 1:** Popis najčešćih minerala bubrežnih kamenaca i njihove formule

MINERAL	FORMULA
Whewellit	$C_2CaO_4 \times H_2O$
Weddellit	$C_2CaO_4 \times 2(H_2O)$
Hidroksiapatit	$Ca_{10}(OH)_2(PO_4)_6$
Struvit	$NH_4MgPO_4 \times 6(H_2O)$
Uricit	$C_4(NH)_2O_2C(NH)_2O$
Cistin	$C_6H_{12}N_2O_4S_2$

Postotak ljudi koji tijekom života razviju urolitijaze iznosi između 4-15% (Giannossi i sur., 2012), te se oni češće javljaju kod muškaraca nego kod žena (Sood i sur.,

2010). Godišnja učestalost pojave bubrežnih kamenaca za Sjevernu Ameriku i Europu iznosi 0,5% od ukupnog broja stanovništva (Moe, 2006).

Iako se javljaju u svim zemljama svijeta, postoje geografski položaji gdje je njihova učestalost veća. Na temelju istraživanja definirani su tzv. pojasevi bubrežnih kamenaca (*stone belts*) unutar kojih je učestalost formiranja bubrežnih kamenaca veća. Jedan takav pojas nalazi se u Sjedinjenim Američkim državama i to na jugoistočnom dijelu. Drugi takav pojas nalazi se na području Srednjeg Istoka (Shafiee, 2010). Temperatura okoliša smatra se jednim od važnih faktora rizika razvoja urolitijaze iako se zbog nedovoljno istraživanja ne može razmatrati kao samostalni faktor. Treba uzeti u obzir i druge parametre kao što su vlažnost, izloženost sunčevom svjetlu, prehrambene navike i genetika (Fakheri i Goldfarb, 2011).

Zbog mnogo faktora koji utječu na razvoj bubrežnih kamenaca za sada nije moguće definirati točne uzroke nastanka. Provođenjem više analiza putem različitih metoda te određivanjem najefikasnije metode kako bi se prikupilo što više kvalitetnih podataka doprinosi se otkrivanju uzroka nastanka i liječenju urolitijaza.

Sam proces biomineralizacije bubrežnih kamenaca slijedi iste principe kao što je kalcifikacija. Lokalnim biokemijskim procesima uspostavljaju se uvjeti za nukleaciju i prezasićenje. Do sada otkriveni faktori su odsustvo inhibitora rasta (difosfati, magnezij, citratni ion), prisutnost organskog matriksa ili drugih kristala koji služe kao heterogena nukleacijska jezgra (Giannossi i sur., 2012). Proces nastanka bubrežnih kamenaca odvija se u nekoliko faza: prezasićenje, nukleacija, rast i agregacija.

Ljudski urin se sastoji od vode, elektrolita, minerala, krajnjih produkata metabolizma proteina, dijelova stanica i drugih organskih čestica. Drugim riječima, u urinu se nalaze sve čestice koje organizam ne treba za metabolizam, proizvodnju energije ili izgradnju svoje strukture. Neke od tih čestica glavni su sastojci bubrežnih kamenaca. Da bi oni nastali mora doći do stanja prezasićenja. Prezasićenost znači da se u otopini nalazi više otopljenih tvari nego što je njezin kapacitet za otapanje te dolazi do precipitiranja suviška u obliku čvrstih čestica. Kada je koncentracija konstituenata bubrežnih kamenaca u urinu povećana dolazi do uspostave uvjeta prezasićenja i precipitacije sitnih kristala ili čestica (Stoller i Meng, 2007). Temperatura je jedan od faktora koji mogu utjecati na uspostavljanje uvjeta prezasićenja, a mehanizam je slijedeći: više temperature u okolišu dovode do pojačanog znojenja koji zatim dovodi do kemijskih i fizioloških promjena u

organizmu. U konačnici veće temperature i pojačano znojenje dovodi do smanjenja volumena mokraće i povećanja koncentracije soli. Povećanjem koncentracije urina raste i koncentracija netopivih soli kao što su kalcijevi oksalati. Kada se koncentracija soli toliko poveća da njezin aktivitet prelazi gornju granicu topljivosti, soli precipitiraju iz otopine i tvore čvrste kristale koji će kasnije narasti u kamence. Mehanizam za utjecaj vlažnosti zraka sličan je onome za temperaturu: kada je vlažnost niska i zrak je suh, povećava se izlazak vode iz tijela putem kože i ponovno dolazi do smanjena volumena i povećanja koncentracije urina (Fakheri i Goldfarb, 2011).

Faza u kojoj iz prezasićenog urina čestice prelaze iz tekuće faze u čvrstu naziva se nukleacija i u toj fazi nastaje jezgra za daljnji rast kristala. Nukleacija se odvija spajanjem pojedinih iona pri čemu nastaje uređena kristalna rešetka. Postoje dva tipa nukleacije: homogena i nehomogena. Spontani proces koji se odvija u čistoj otopini naziva se homogena nukleacija, ona je vrlo rijetka u realnim sustavima zbog heterogenog sastava urina. Nehomogena nukleacija je formiranje jezgre na već postojećim površinama kao što su nečistoće u urinu ili oštećene stjenke tkiva. Većina urolitijaza sastoji se od više tipova bubrežnih kamenaca, najčešće se kao jezgra nalaze kalcijevi oksalati ili fosfati. Proces nukleacije se odvijaju u svim organizmima, pa je za nastanak patoloških bubrežnih kamenaca najbitniji proces agregacije zbog kojeg zapravo dolazi do nastanka većih čestica koje tijelo ne može samostalno izbaciti te one ostanu zadržane u organizmu. Agregacija je proces kojim se pojedine čestice lijepe jedna na drugu ili na stjenke bubrežnog tkiva (Stoller i Meng, 2007).

Organska tvar koja je ugrađena na površinu pojedinih kristala promovira agregaciju i spajanje kristala zato što djeluje kao adheziv (ljepilo) (Wesson i Ward, 2007). Zadržavanje nastupa kada su čestice prevelike da bi prošle kroz mokraćovode, kada se one prilijepe na stjenke bubrega ili kada zbog same morfologije bubrega, njegovih kanala i mokraćovoda dolazi do zadržavanja mokraće na pojedinim mjestima. Zadržavanje čestica zbog veličine naziva se mehanizam slobodnih čestica, a kada se one prilijepe na stjenke onda se taj proces zove mehanizam fiksiranih čestica (Kok i Khan, 1994). Postoji više mehanizama agregacije i lijepljenja kristala na stjenke bubrega što potvrđuje kompleksnost biomineralizacije bubrežnih kamenaca. Na novonastalu jezgru procesom agregacije lijepe se drugi kristali koji slobodno plutaju u tekućini procesom agregacije ili nastaju direktno na površini jezgre procesom rasta kristala. Novonastale čestice mogu zbog prezasićenja rasti do većih dimenzija ili se međusobno spajati procesima agregacija. Tijekom jedne

epizode rasta kristala i agregacije nastaje jedan sloj oko jezgre. Nakon toga, novi kristali talože se na taj prvi sloj te tako formiraju slojevitou strukturu bubrežnih kamenaca. Taloženjem sloja na sloj dolazi do rasta kamenca. Kristali rastu samo kada se uspostave uvjeti prezasićenja. U vrijeme kada koncentracija npr. kalcijevih oksalata padne ispod granice zasićenja, prestaje taloženje oksalata i na njihovom mjestu može kristalizirati neki drugi mineral. Tako su moguće izmjene perioda prezasićenja oksalata i fosfata što se može vidjeti iz njihove slojevite građe (Khan i Hackett, 1993).

Kod nekih ljudi ne dolazi do stvaranja većih čestica, iako su zadovoljeni svi uvjeti za nastanak bubrežnih kamenaca. Uspostavlja se stanje metastabilne prezasićenosti. Stanje metastabilne prezasićenosti otopine odnosi se na činjenicu da aktivitet otopljenih tvari kao što su oksalati, kalcij ili fosfati biva puno veći od njihove topljivosti u urinu. Za održavanje stanja prezasićenosti, a bez precipitacije kamenaca odgovorni su inhibitori kristalizacije. Urinarni inhibitori kristalizacije dolaze u nekoliko oblika: multivalentni metalni kationi (magnezij), mali organski (citrati) ili anorganski (pirofosfati) anioni ili makromolekule proteina. Inhibitori vrše svoju ulogu na nekoliko načina, oni inhibiraju primarnu i sekundarnu nukleaciju te kristalni rast i agregaciju.

Kombinacijom mnogo kompleksnih faktora kao što su pH, temperatura, koncentracija, prisutnost inhibitora i promotora rasta kristala, nečistoće u urinu dolazi do stvaranja bubrežnih kamenaca. Sam proces i točni uzroci još uvijek nisu u potpunosti razjašnjeni. Do sada je utvrđeno da se nastanak bubrežnih kamenaca veže uz nekoliko procesa: prezasićenost, nukleacija, rast i agregacija kristala, a svi imaju veze s prisutnosti inhibitora i promotora (Moe, 2006).

Bubrežni kamenci su mikrokristalni agregati koji se sastoje od različitih mineralnih faza i organske tvari. Mogu biti monomineralni ili kombinacija više minerala. Uvijek su sastavljeni od anorganske i organske faze. Najčešći tipovi bubrežnih kamenaca prema njihovom sastavu su kalcijevi oksalati, kalcijevi fosfati, urati, struviti i cistini. Organska komponenta sastoji se od mješavine organskih molekula i ostataka stanica (Wesson i Ward, 2007).

### 2.1.1 Kalcijevi oksalati

Kalcijevi oksalati dolaze u tri oblika: kalcijevi oksalat monohidrat, odnosno whewellit ( $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ; skraćeno COM), kalcijevi oksalat dihidrat, drugog imena weddellit ( $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; skraćeno COD) (Sterling, 1965; Tazzoli i Domeneghetti, 1980) i kalcijevi

oksalat trihidrat ( $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ; skraćeno COT) (Deganello, 1981). Trihidratni oblik se najrjeđe nalazi u sastavu bubrežnih kamenaca zbog svoje termodinamičke nestabilnosti. Whewellit i weddellit se međusobno razlikuju prema kristalnom habitusu i sadržaju vode; whewelliti dolaze kao heksagonski rombovi, a weddelliti kristaliziraju kao tetragonske bipiramide (Wesson i Ward, 2007).

Pojedini kristali su reda veličine od nekoliko mikrona, ali zbog agregacije mogu narasti i do centimetarskih dimenzija. Ova vrsta bubrežnih kamenaca može poprimiti različite oblike, a najčešće se pronalaze pričvršćeni na unutarnje stjenke bubrega i na točki izlaska urina iz bubrega. Odvajanjem kamena od stjenke može doći do začepljenja i smanjenja protoka urina što uzrokuje jake bolove i ometa normalni rad bubrega. Ova vrsta bubrežnih kamenaca dolazi u 70-80% slučajeva (Wesson i Ward, 2007).

Svaki oblik nastaje pod drugačijim uvjetima. Whewellit nastaje kod osoba s normalnom funkcijom izlučivanja kalcija i sniženom koncentracijom inhibitora kristalizacije. S druge strane weddelliti nastaju u uvjetima povećanog izlučivanja kalcija i normalne koncentracije inhibitora pri  $\text{pH} \geq 6$ . Sve to upućuje na mnogo faktora koji utječu na razvoj bubrežnih kamenaca.

Kristali whewellita dijele se na pričvršćene i slobodne ovisno o tome da li su rasli pričvršćeni za stjenke mokraćnog sustava ili nisu. Prema tome su i morfološki različito građeni. Pričvršćeni kamenci građeni su od jezgre, središnjeg radijalnog dijela i koncentrično uslojenog vanjskog dijela. Koncentrični slojevi i radijalno posloženi kristali su međusobno odvojeni omotačem organske tvari. Jezgra se često nalazi na mjestima gdje se kamenac pričvrstio za stjenku te služi kao podloga za daljnji rast i agregaciju kristala. Njezina unutarnja građa sastoji se od nekoliko kompleksno povezanih kristala i organske tvari bez prepoznatljive strukture. Jezgra nastaje procesom nukleacije pri čemu nastaju manje čestice, daljnjom retencijom urina u uvjetima prezasićenja dolazi do rasta i agregacije. Pričvršćeni kamenci uvijek imaju vidljivo mjesto kojim su bili pričvršćeni za epitel. Slobodni kamenci nastaju na mjestima smanjenog protoka urina što znači dulja retencija i veće koncentracije konstituenata. Oni mogu nastati iz jezgre koja je prije bila pričvršćena na stjenke epitela što se može prepoznati po obliku i prisutnosti mjesta pričvršćenja ili nastaju iz slobodne jezgre na koji se dalje talože radijalno posloženi kristali. Osim toga, slobodni kamenci mogu biti bez karakteristične jezgre pri čemu su kristali međusobno isprepleteni s organskom tvari. U većini slučajeva se radi o kalcijevim oksalatima i hidroksiapatitima. Često sadrže i šupljine. Jezgra kristala koja nije bila



pričvršćena na epitel sastoji se od organske tvari i/ili hidroksiapatita. Na jezgri dalje rastu kristali okomito na centar jezgre. Bez obzira na tip ove vrste kamenca, njihov izvor i način nastanka je isti. Razlikuju se po mjestu nastanka, odnosno dali su bili zarobljeni unutar otvorene ili zatvorene šupljine. Mjesto nastanka kamenaca bez prethodno pričvršćene jezgre smatra se da je otvorena šupljina s konstantnim dotokom urina gdje je moguće češće pomicanje same jezgre.

Nastanak weddellita zahtijeva drugačije uvijete pošto je on termodinamički nestabilan te vrlo često prelazi u monohidratni, stabilniji oblik. Takav fazni prijelaz prepoznaje se po ožiljcima na kristalima ili karakterističnim trokutastim šupljinama ispunjenim whewellitima tzv. fantomskim weddellitima. Za nastanak weddellita potrebno je zadovoljiti nekoliko kinetičkih uvjeta: visoka koncentracija kalcija i oksalata, povećana ionska jakost i pH veći od 6. Također nastaje kao pričvršćeni ili slobodni. Kod pričvršćenih jezgra se sastoji od whewellita ili hidroksiapatita i po njezinoj morfologiji je moguće je vidjeti mjesto gdje je bila pričvršćena za stjenke. Slobodni kamenci weddellita mogu nastati u dva oblika: agregat kristala weddellita u kombinaciji s malo hidroksiapatita ili kao agregat kristala weddellita, uslojenih izmijenjenih weddellita, organske tvari i hidroksiapatita (Grases i sur., 1998).

### 2.1.2 Fosfatni kamenci

Fosfatna skupina bubrežnih kamenaca dijeli se na dvije skupine minerala: kalcijevi i magnezijски fosfati. U skupinu kalcijevih fosfata pripadaju hidroksiapatit  $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ , apatit  $\text{Ca}_{10}(\text{OH}, \text{CO}_3, \text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , brushit  $\text{CaHPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ , monetit ( $\text{CaHPO}_4$ ) i whitlockit ( $\text{Ca}_9\text{Mg}(\text{PO}_3\text{OH})(\text{PO}_4)_6$ ). Magnezijски fosfati koji mogu graditi urolitijaze su struvit ( $\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ), newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ ) i hannayit,  $((\text{NH}_4)_2\text{Mg}_3\text{H}_4(\text{PO}_4)_4 \times 8\text{H}_2\text{O})$  (Back i Mandarino, 2008). Mogu doći samostalno ili u smjesi kao glavni ili sporedni sastojak bubrežnih kamenaca. Termodinamski najstabilnija faza je brushit dok ostale promjenom uvjeta mogu prelaziti jedna u drugu (Grases i sur., 1998).

#### *Kalcijevi fosfati*

Nazivaju se i apatitni jer kod njih anion može biti djelomično zamijenjen karbonatima, fluoridima, hidroksidima ili kloridima. Najčešće dolaze u asocijaciji s kalcijevim oksalatima (Wesson i Ward, 2007). Spojevi kalcijevih fosfata dolaze kao bijeli, žuti ili svijetlosmeđi sitnokristalni prah ili kao masivni, staklasti ili laminirani agregati

žute, smeđe ili crne boje. vrlo lako su topljivi u kiselim sredinama. Boja im ovisi o uklopljenim nečistoćama (Grases i sur., 1998). Razvijaju se pri višem pH od oksalatnih i poremećajima metabolizma kalcija i fosfata. Javljaju se u 15% slučajeva urolitijaza. Od navedenih kalcijevih fosfata najčešće se javljaju apatit, hidroksiapatit i brushit (Daudon i sur., 2010). Često služe kao jezgre kristalizacije za druge vrste urolitijaza zbog čega mogu doći u asocijaciji s drugim vrstama.

Apatit i hidroksiapatit kristaliziraju u heksagonskom sustavu. Osim u obliku urolitijaza, u ljudskom organizmu se nalaze i kao dio sastava kosti i zubi. Hidroksiapatit može tvoriti sferule koje daju praškasti izgled na gotovo svim drugim vrstama urolitijaza. Takve sferule često mogu imati šuplju jezgru što upućuje na formiranje u skućenim prostorima sa slabim protokom urina. (Grases i sur.,1998).

Brushit kristalizira u monoklinskom sustavu pri niskom pH. Nalazi se kao bijeli ili žuti kristali ili radijalni agregati

Monetit pripada triklinskom kristalnom sustavu, a nastaje pri vrlo niskim pH vrijednostima (4-5). Često dolazi u asocijaciji sa oksalatima i drugim fosfatima. Izgledom je laminirani, sivosmeđi sitnozrnati materijal

Whitlockit kristalizira u trigonskom sustavu, a unutar ljudskog organizma dolazi rijetko zbog svoje nestabilnosti. Osim kao bubrežni kamenac dolazi i kao kamenac prostate. Zbog te nestabilne strukture dolazi u malim količinama i gotovo uvijek kao primjesa koja može ukazivati na prisutnost cinka (Gibson, 1974).

#### *Magnezijski fosfati*

Magnezijski fosfati nastaju posredstvom bakterijskih infekcija zbog čega se nazivaju i infektivni kamenci. Osim prisutnosti bakterija za njihov rast potreban je i određeni pH, pa za sprječavanje ponovne pojave ovakvog tipa kamenca treba voditi računa o promijeni pH uvjeta.

Struvit, magnezijski amonijak fosfat spada u skupinu fosfatnih bubrežnih kamenaca, ali se često izdvaja kao podtip zbog načina nastanka. Nastanak struvitnih kamenaca veže se uz pojačanu aktivnost bakterija koje značajno mijenjaju kemiju urina, Struviti imaju igličasti habitus, kristaliziraju u rompskom sustavu i dolaze kao milimetarski prozirni piramidalni kristali. Stvaraju asocijacije s apatitima. Nastaju tako što bakterije hidroliziraju ureu do amonijaka te podižu pH urina do neutralnih i alkalnih vrijednosti (Wesson i Ward., 2007).

Struviti često dolaze u specifičnom razgranatom obliku koja se naziva staghorn. Staghorn urolitijaze su veliki kamenci koji ispunjavaju bubrežnu zdjelicu i bubrežne i mokraćne putove, a izdvaja se kao podtip urolitijaze zbog svoje karakteristične morfologije. Nastaju kao posljedica ponavljajućih urinarnih infekcija. Neki od rodova bakterija koje su odgovorne za njihov nastanak su: *Proteus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Providencia* i *Klebsiella*. Uvjeti za nastanak ovog tipa su prisutnost bakterija i povišeni pH (zbog bakterijske aktivnosti). Ove bakterije su sposobne metabolizirati citrate u urinu i na taj način poništiti inhibitorско djelovanje samih citrata. Staghorn tip urolitijaze može nastati i bez prisutnosti bakterija (Torricelli i Monga, 2020).

Newberyit je magnezijski fosfat koji može nastati na dva načina: posredstvom bakterija u asocijaciji sa struvitom (bazični newberyit) ili samostalno u kiselom mediju. Kristalizira u rompskom sustavu u obliku sferula ili dobro razvijenih kristala. Kada kristalizira u kiselom mediju, dolazi u asocijaciji sa solima urične kiseline

Hannayit je mineral koji se vrlo rijetko nalazi u ljudskom organizmu jer zahtijeva stabilni i konstantni pH. Kristalizira u triklinskom sustavu, a dolazi u obliku korica oko slabo vezanih kristalnih agregata (Gibson, 1974).

### 2.1.3 Urati

Različiti oblici kristala mokraćne kiseline ( $C_5H_4N_4O_3$ ) pronalaze se u 10% slučajeva bubrežnih kamenaca i često se nalaze u kombinaciji s kalcijevim oksalatima. Nastaju zbog poremećaja koji se zove hiperurikosuria, kiselog pH ili kombinacijom ova dva faktora. (Wesson i Ward, 2007). Hiperurikosuria odnosi se na stanje organizma u kojem urin sadrži prevelike koncentracije urične kiseline. Terapija se zasniva na alkalizaciji urina nakon čega dolazi do poboljšanja stanja i prestanka kristalizacije. U prirodi su moguća dva uratna minerala, uricit i njegova dihidratna inačica. Uricit kristalizira u monoklinskom sustavu iz vodene otopine, a nalazi se kao pločasti kristali (Sikirić, 1998).

### 2.1.4 Cistini

Cistin ( $C_6H_{12}N_2O_4S_2$ ) je oksidirani dimerni oblik aminokiseline cisteina. Oni su rjeđi oblik bubrežnih kamenaca, a nastaju zbog poremećaja transporta cistina unutar bubrega (Wesson i Ward, 2007). Genetske mutacije dovode do izlučivanja aminokiselina kao što su cistein, arginin, lizin i ornitin. Samo cistin kristalizira jer je on jedina od nabrojanih aminokiselina koja je topiva u vodi. Topivost cistina u vodi povećava se u alkalnom pH i

homodimerizacijom cistina u cistein. Terapija se sastoji od promjene pH uvjeta zbog čega su cistini jedan od najrjeđih vrsta urolitijaza (Moe, 2006).

Urolitijaze i bolesti vezane uz njihovu pojavu te incidencija ponovne pojave predstavljaju značajni medicinski problem. Zbog toga se kroz povijest razvijaju raznolike tehnike njihovih istraživanja s ciljem otkrivanja točnog mehanizma nastanka i sprječavanja ponovnog kristaliziranja.

Jedna od prvih metoda analize sastava bubrežnih kamenaca je kemijska analiza o čemu se piše krajem 18. stoljeća kada je Scheele (1776) otkrio soli mokraćne kiseline, a Wolaston (1810) cistine (Basiri i sur., 2012). Kemijska analiza postaje prihvaćena metoda određivanja kemijskog sastava nakon objave sistematskih studija (Heller 1847; Ultzmann 1882). Baza znanja se mijenja uvođenjem polarizacijskog mikroskopa kao standardne metode. Zbog brzine izvođenja analize, mogućnosti određivanja pojedinih minerala i same minimalne količine potrebnog uzorka, ova metoda ubrzo zamjenjuje kemijsku analizu (Prien i Frondel, 1947). Usporednom analizom bubrežnih kamenaca pomoću obje metode otkriveno je nekoliko kristalnih tipova oksalata. Dotadašnja metoda kemijske analize omogućavala je određivanje samo kemijskog sastava bez uvida u njezinu strukturu i Također, kasnijim usporednim istraživanjima zaključeno je da kemijska analiza ne daje pouzdane i točne podatke (Silva i sur., 2010). Razvojem fizikalno-kemijskih metoda analiza sedamdesetih godina dolazi do njihove upotrebe i u istraživanju bubrežnih kamenaca. Znanstvenici koriste rendgensku difrakciju i infracrvenu spektroskopiju te pomoću njih otkrivaju nove, važne informacije. Sukladno razvoju novih metoda objavljuju se članci koji se bave usporedbom različitih pristupa analizama (Hesse i sur., 1972; Schneider i sur., 1973). Upotreba rendgenske difrakcije također započinje sedamdesetih godina objavljivanjem rezultata usporednih analiza veće količine uzoraka pomoću polarizacijskog mikroskopa i rendgenske difrakcije (Gibson, 1974).

Poznavanje kemijskog sastava i morfologije kamenaca nadopunjuje se fizikalnim metodama kao što je kompjuterizirana tomografija (CT). Ovom metodom omogućeno je detaljnije razlikovanje pojedinih vrsta bubrežnih kamenaca koje su do tada bile teško razlučive (Mostafavi i sur., 1998).

Istovremeno znanstvenici sve više upotrebljavaju metodu infracrvene spektroskopije koja se pokazala kao vrlo učinkovita te do danas postaje zlatni standard u analizi bubrežnih kamenaca (Jhaumeer-Laulloo i sur., 1999).

Razvijanjem više metoda analize bubrežnih kamenaca dolazi do potrebe za njihovom usporedbom i provjerom kvalitete dobivenih podataka.

Znanstvena istraživanja se danas baziraju na upotrebi rendgenske difrakcije, infracrvene spektroskopije i kompjuterizirane tomografije kako bi dobili što detaljnije podatke (Basiri i sur., 2012).

#### 2.1.5 Metode analize bubrežnih kamenaca

Tijekom prva tri desetljeća ovog stoljeća kemijski sastav bubrežnih kamenaca istraživan je samo pomoću kvalitativnih metoda. Te metode obuhvaćaju metode mokre kemijske analize u kojima se dobiva informacija o kationima i anionima koje bubrežni kamenac sadržava. Ovakve analize se i danas koriste u nekim laboratorijima. U novije vrijeme koriste se metode otapanja kamenca u kiselim otopinama kako bi se dobili kvantitativni podaci pomoću atomske apsorpcijske spektroskopije ili atomske emisijske spektroskopije s induktivno spregnutom plazmom.

Tijekom devedesetih godina sve više znanstvenika koristi fizikalne metode kao što su infracrvena spektroskopija i rendgenska difrakcija pošto metode mokre kemijske analize nisu davale zadovoljavajuće rezultate. Fizikalne metode daju preciznije informacije o strukturi bubrežnih kamenaca i mjestu njihove biomineralizacije zbog čega mnogi laboratoriji prelaze upravo na te tehnike. Rendgenska difrakcija i polarizacijska mikroskopija korisni su alati u određivanju kristalne strukture, redoslijeda kristalizacije i utvrđivanju jezgre bubrežnih kamenaca. Za optička opažanja može se koristiti stereomikroskop s kojim se može odrediti boja, oblik, opći izgled, površinske teksture i prisutnost kristaliziranih slojeva ili organske tvari na samoj površini kamenca. Modernija metoda koja se koristi je rendgenska mikroanaliza koja koristi rendgenski mikrodifraktometar. Ovom metodom dobivaju se informacije o mineralnom sastavu kamenca jer može otkriti više prisutnih komponenti te prikazati njihov strukturni raspored bez razaranja uzorka (Giannossi i sur., 2012).

### *Metode kemijske analize*

Metode mokre kemijske analize mogu otkriti čak i male količine pojedinih elemenata prisutnih u uzorku, ali ne mogu identificirati pojedine minerale kao takve. One daju informacije o prisutnim ionima i radikalima. Sve kemijske analize su destruktivne i zahtijevaju određene količine uzoraka (nekoliko miligrama) zbog čega nisu pogodne za jako male uzorke (Giannossi i sur., 2012).

Kemijska analiza detektira kalcij i oksalate kao zasebne vrste te ne razlikuje monohidrate i dihidrate (Silva i sur., 2010). Isto tako, korištenjem samo kemijskih analiza može doći do krivog određivanja mineralnog sastava pošto je ovim metodama teško razlikovati cistin od urata.

U današnje vrijeme kemijska analiza koristi se u kombinaciji s drugim spektroskopskim metodama (Ghumman i sur., 2010). Najraširenije korištene metode su one koje daju informaciju o glavnim elementima i elementima u tragovima, te kao takve mogu biti pokazatelji onečišćenja i zagađenja (Satarug i sur., 2010). Metoda laserski inducirane spektroskopije (LIBS) se pokazala kao efikasna metoda za određivanje elementnog sastava bubrežnih kamenaca pošto daje detaljne informacije za istraživanja koja se bave uzrocima nastanka kamenaca (Rai i sur., 2007).

### *Optička i stereoskopska mikroskopija*

Neke komponente bubrežnih kamenaca mogu se prepoznati pomoću mikroskopije na mjestima loma uzorka te ukazati na većinski sastav samog kamenaca. Stereoskopska mikroskopija dobra je takva metoda za određivanje komponenti od kojih se sastoji bubrežni kamenac pošto je lako primjenjiva, nezahtjevna i financijski povoljna. U praksi se mogu razlučiti kalcijevi oksalati, fosfati i cistini pomoću ovakvih metoda pošto svaki od njih ima karakteristična morfološka obilježja. Ovako dobivene informacije mogu se koristiti samo kao smjernice za primjenu drugačijih metoda pošto rezultati nisu dovoljno pouzdani ni precizni te nije moguće odrediti točni mineralni sastav ni komponente koje se u uzorku nalaze u manjem omjeru. Zato se mikroskopske metode koriste za određivanje strukturnih i teksturnih obilježja kao što su stupanj urednosti, slojevitost, smještaj i veličina jezgre, pa čak i redosljed kristalizacije (Giannossi i sur., 2012).

### *Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)*

Metoda kojom se mogu vidjeti sitni detalji na površini uzorka kao što su pojedini kristali, sitne strukture te prisutnost nepoznate komponente u uzorku. Skenirajući mikroskop koristi snop elektrona za formiranje slike. Posjeduje mogućnost istovremenog skeniranja velikog područja uzorka zbog svoje dubine snimanja. Slike dobivene ovom metodom su visoke rezolucije što znači da je moguće razlučiti detaljna obilježja uzorka pri velikim povećanjima. Prednosti metode su jednostavna priprema uzorka, brzina dohвата rezultata i visoka rezolucija. Nedostaci metode su skupa i sofisticirana oprema, mogućnost destrukcije uzorka, te nemogućnost analize uzoraka koji nisu čvrsti i onih koji sadrže tekuću vodu. Kod analize bubrežnih kamenaca ovom metodom osim morfoloških obilježja mogu se dobiti informacije o prostornoj raspodjeli pojedinih komponenti, glavnih elemenata i elemenata u tragovima (Giannossi i sur., 2012).

### *Rendgenska difrakcija*

Rendgenska difrakcija na prahu (XRPD) je prihvaćena kao značajna i pouzdana metoda za analizu bubrežnih kamenaca zato što daje informacije o svim prisutnim kristalnim komponentama u uzorku te koje od njih u uzorku količinski ima najviše (Giannossi i sur., 2010). Kvalitativni podaci dobiveni ovom metodom su visoko pouzdani i točni. Ukoliko uzorak sadrži više komponenti one mogu biti detektirane istovremeno. Napretkom tehnologije ova metoda se razvila do toga da može identificirati male količine slabo kristaliziranih uzoraka kao što su cistini i urati.

Nedostaci metode su visoka cijena, zahtijeva sofisticiranu opremu i posebno educirano osoblje. Osim toga, ova metoda je destruktivna i za dobivanje pouzdanih rezultata potrebna je baza podataka sa poznatim XRPD profilima (Giannossi i sur., 2012).

### *Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom*

Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR) koristi se na dva načina: mjerenje upotrebom tehnike prigušene totalne refleksije (ATR) i pomoću KBr tableta. Radi na principu otkrivanja funkcionalnih skupina prisutnih u uzorku određivanjem vibracija koje na isti način vibriraju, bez obzira na molekularni okoliš. FT-IR spektroskopskom analizom rezultati se dobivaju na temelju vibracija pojedinih veza među atomima. Slično kao i rendgenska difrakcija, pomoću ove metode dobivaju se rezultati o prisutnim organskim i anorganskim molekulama, te njihovom stupnju hidratacije, odnosno sadržaju vode. Osim toga, može se koristiti za uzorke koji nemaju

uređenu kristalnu strukturu. Prednost ove metode je njezina brzina i što zahtijeva male količine uzorka. Sama analiza gotova je za manje od minuta dok rendgenska difrakcija traje bitno duže. Sama priprema uzorka je vrlo jednostavna te zahtijeva samo usitnjavanje male količine uzorka u fini prah. Dobiveni spektri uspoređuju se s poznatim uzorcima iz baze podataka i na temelju toga se određuje o kojem spoju je riječ (Giannossi i sur., 2012).

#### *Termalna analiza*

Termalna analiza je skupni naziv za više različitih metoda kao što su diferencijalna termalna analiza, termogravimetrija i diferencijalna skenirajuća kalorimetrija. Svima im je zajedničko da prate kemijska i fizička svojstva uzorka za vrijeme podvrgavanja uzorka promjeni temperature, odnosno prati gubitak mase uzorka prilikom zagrijavanja. Pri različitim temperaturama dolazi do izdvajanja pojedinih faza koje se na temelju toga ili kombinacijom s drugim metodama mogu identificirati. Metode termalne analize koriste se kod uzoraka koji su izrazito heterogeni i potrebno je odrediti pojedine količine različitih komponenti kao i kod uzoraka za koje je potrebno odrediti elementni sastav (Giannossi i sur., 2012). Nedostaci su to što organske komponente kao što su krv i tkivo mogu jako utjecati na točnost rezultata.

#### *Kompjuterizirana tomografija*

Mikrokompjuterizirana tomografija (CT) je metoda koja se koristi za dobivanje 2D i 3D snimaka pojedinih uzoraka bubrežnih kamenaca kako bi se otkrio njihov sastav i morfologija, a to čini na nedestruktivni način pri visokim rezolucijama. Na temelju CT snimaka uzorci bubrežnih kamenaca mogu se prerezati i snimiti u više ravnina te na taj način dobiti detaljnije informacije o morfologiji i sastavu. Nedostatak ove metode je što ne može razlučiti jako kompleksne bubrežne kamence s mikroheterogenim sastavom (Giannossi i sur., 2012). Snimanje uzoraka pri većim uvećanjima i rezolucijama daje informacije o međusobnoj rasprostranjenosti pojedinih komponenata kroz uzorak kao i o njezinoj morfologiji. Ovi podaci su važni kod određivanja redoslijeda kristalizacije. Uočavanjem detaljnijih morfoloških karakteristika pojedinih vrsta bubrežnih kamenaca pridonosi lakšem i boljem liječenju pacijenata. Na CT snimkama uočena je razlika u porozitetu te prema tome se može predvidjeti uspješnost liječenja ciljanim metodama kao što je litotripsija, odnosno razbijanje kamenaca pomoću udarnih valova (Manzoor i sur., 2019).



### 3 Materijali i metode istraživanja

Ovaj rad je napravljen s ciljem određivanja mineraloškog sastava bubrežnih kamenaca pomoću dvije metode: infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FT-IR) i rendgenska difrakcija na prahu (XRPD). Osim toga, uzorci su promatrani pod lupom kako bi se opisale morfološke karakteristike koje mogu pridonijeti identifikaciji minerala. Tijekom razdoblja od godinu dana prikupljeno je ukupno četrnaest uzoraka iz različitih dijelova Republike Hrvatske. Dvanaest uzoraka su uzorci bubrežnih kamenaca, deset ljudskih i dva pseća, a dva potječu iz prostate. U Tablici 2 navedene su oznake uzoraka te porijeklo kamenaca čije kratice će se koristiti dalje u tekstu.

**Tablica 2:** Popis uzoraka, porijeklo i vrsta urolitijaze

Naziv uzorka	Porijeklo
HA	Bubrežni kamenac, ljudski
DI	Bubrežni kamenac, ljudski
MB	Bubrežni kamenac, ljudski
DA	Bubrežni kamenac, ljudski
SP	Bubrežni kamenac, ljudski
KH	Bubrežni kamenac, ljudski
PL	Bubrežni kamenac, pseći
BR	Bubrežni kamenac, ljudski
MA	Kamenac iz prostate, ljudski
PE	Kamenac iz prostate, ljudski
LJV	Bubrežni kamenac, pseći
IV	Bubrežni kamenac, ljudski
FM	Bubrežni kamenac, ljudski
PA	Bubrežni kamenac, pseći

### 3.1.1 Promatranje pod lupom

Svi uzorci su pregledani pod lupom proizvođača Meiji Techno, Japan (slika 1) u reflektiranom svjetlu pri različitim uvećanjima. Pomoću lupe opažaju se karakteristike uzorka kao što su veličina uzoraka, morfologija, odnos pojedinih faza, laminacija, izgled površine i specifične strukture.



**Slika 1:** Lupa koja je korištena za mikroskopska opažanja (Internetski izvor 1)

Uzorci su postavljeni na postolje i pregledavani pod različitim uvećanjima i orijentacijama. Lupa je povezana s računalom i programom pomoću kojeg su uzorci slikani izmjereni. Prilikom snimanja izmjerena im je dužina i širina kako bi se definirale dimenzije pojedinih uzoraka.

### 3.1.2 Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FT-IR)

Ova metoda koristi se za identifikaciju nepoznatih supstanci pomoću infracrvenog zračenja na temelju vibracijskog spektra i usporedbom sa bazom podataka. Ona pruža informacije o funkcionalnim skupinama molekula koje apsorbiraju karakteristični dio spektra infracrvenog zračenja. Metoda se bazira na apsorpciji elektromagnetskih valova prilikom vibriranja molekula.

Infracrvena spektroskopija snima vibracije molekula koje se prikazuju kao spektar vibracija pojedinačnih funkcionalnih skupina. Vibracije funkcionalnih skupina odgovaraju karakterističnim apsorpcijskim vrpčama. Vibracijske vrpce pojedine kemijske skupine očekuju se u karakterističnim dijelovima spektra (područje otiska prsta, *finger print* regija), a što ovisi o tipu atoma koji je prisutan i kemijskoj vezi među njima (Berthomieu i Hienerwadel, 2009). Svaka molekula ima svoj karakteristični zapis unutar tog područja

otiska prsta koji se uspoređuje sa spektrom poznate molekule. Kombinacijom i pribrajanjem pojedinih apsorpcijskih vrpce funkcionalnih skupina dobiva se čitavi spektar za pojedini spoj te samim time dovodi do identifikacije supstance. Postavi li se uzorak u infracrveni spektrofotometar i izloži kontinuiranoj promjeni valnih duljina infracrvenog zračenja, on će apsorbirati svjetlo kad upadno zračenje bude odgovaralo energiji neke molekulske vibracije. Infracrveno zračenje je elektromagnetsko zračenje valnih duljina od 0,7 do 500  $\mu\text{m}$ . Tipični infracrveni spektrofotometri bilježe područja koja odgovaraju vibracijama istezanja i savijanja u molekuli. Bilježi se apsorpcija zračenja i tako dobivamo infracrveni spektar uzorka. Uobičajeni dio spektra za IR analizu je od 4000 do 400  $\text{cm}^{-1}$ . Dobiveni spektar u vremenskoj domeni (interferogram) primjenom matematičkog postupka Fourierove transformacije pretvara se u spektar u frekvencijskoj domeni. Spektar se obrađuje navođenjem valnog broja položaja apsorpcije karakterističnih funkcionalnih skupina i navođenjem intenziteta apsorpcijskih maksimuma. Položaj apsorpcijske vrpce u infracrvenom spektru neke molekule ovisi o više čimbenika. To su relativne mase atoma, polarnost same molekule, jakost veze među atomima i dr., a moguće su i dodatne interakcije između vibracija unutar iste molekule (Zimprich, 2015).

FTIR spektri su dobiveni na *Bruker Tensor 27*, ATR spektrometru (slika 2), u rasponu od 400 – 4000 $\text{cm}^{-1}$ . U radu je korištena ATR metoda ili metoda prigušene totalne refleksije. Ovom metodom se mjere promjene koje nastaju kod totalne unutarnje refleksije IR zrake kad zraka ulazi u kontakt s uzorkom. IR zraka je usmjerena na optički gust kristal visokog indeksa refrakcije pod određenim kutom

Priprema uzorka za ATR metodu je vrlo jednostavna i brza. Za samu analizu je bitno da je uzorak usitnjen i homogeniziran. Dovoljne su vrlo male količine kako bi se dobili prihvatljivi rezultati. Uzorak se usitni pomoću ahatnog tarionika.

Postupak snimanja uzorka je slijedeći. Prije snimanja uzorka potrebno je uređaj očistiti alkoholom kako bi se uklonile eventualne čestice nepoznatog porijekla, a koje mogu utjecati na rezultate analize. Nakon toga slijedi snimanje bez uzorka kako bi se utvrdio pozadinski šum. Usitnjeni uzorak stavlja se na nosač i nakon spuštanja pomičnog dijela instrumenta pokreće se snimanje. Samo snimanje traje nekoliko sekundi nakon čega slijedi obrada u pripadajućem programu i usporedba rezultata s bazom podataka. Ovaj postupak ponavlja se za svaki pojedini uzorak.



**Slika 2:** Bruker Tensor 27, ATR spektrometru (Internetski izvor 2)

### 3.1.3 Rendgenska difrakcija na prahu

Rendgenska difrakcija na prahu ili XRPD je kristalografska metoda koja se koristi za dobivanje kvalitativne fazne analize. Za analizu je korišten *Phillips X'Pert PRO* rendgenski uređaj. Metoda se temelji na interakciji rendgenskih zraka, valne duljine  $\lambda$  s elektronima u uzorku. Rendgenske zrake se difraktiraju pod određenim kutom  $\theta$  i padaju na mrežne ravnine indeksa  $hkl$  ako je zadovoljen Braggov zakon koji kaže  $2d\sin\theta=n\lambda$ . Difraktirane zrake se detektiraju i bilježe kao difrakcijski maksimumi. Ti difrakcijski maksimumi su karakteristični za svaki mineral te se usporedbom s bazom podataka dolazi do sastava i međusobnog omjera sadržanih tvari (Dutrow i Clark, 2014). Difrakcijski maksimumi računalno su obrađeni *X'Pert High Score Plus* programom i uspoređeni s podacima u bazi podataka. Priprema uzorka sastoji se od usitnjavanja i homogeniziranja u ahatnom tarioniku. Pripremljeni prah montira se na mikroskopska stakalca i zaglađuje pokrovnim stakalcem kako bi površina bila što ravnija. Ukoliko količina uzorka nije dovoljna za analizu koristi se posebni metalni okvir koji je namijenjen za analizu manjih količina uzoraka. Snimanje je trajalo oko 56 minuta nakon čega se dobiveni difraktogram uspoređuje sa bazom podataka kako bi se odredio fazni sastav uzorka.



**Slika 3:** Phillips X'Pert PRO rentgenski uređaj (Internetski izvor 3)

## 4 Rezultati

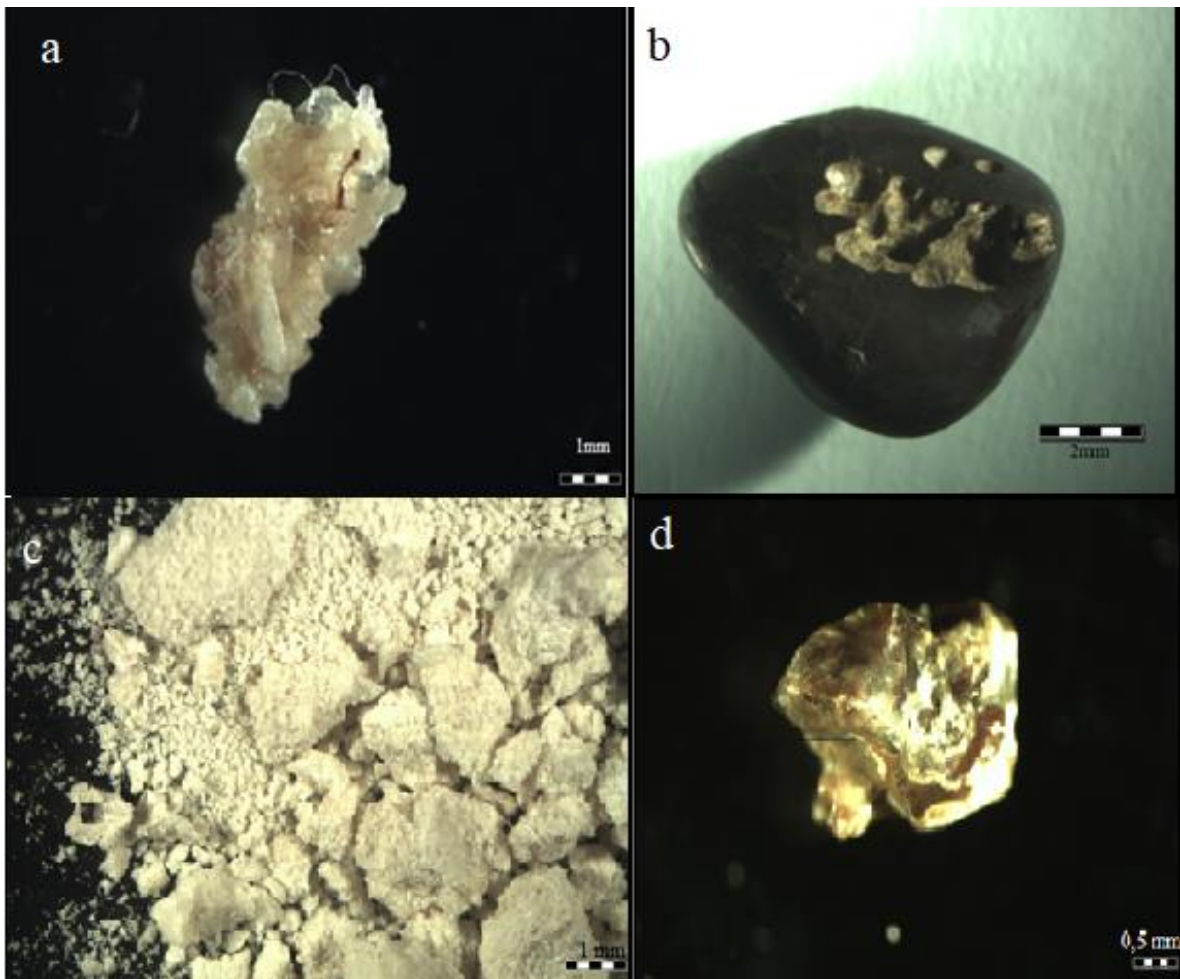
Cilj ovoga rada bio je usporediti dvije metode analize mineralnog sastava bubrežnih kamenaca i kamenaca iz prostate. Metode korištene u ovom radu su rendgenska difrakcija na prahu (XRPD) i infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FT-IR).

Deset uzoraka pregledano je i snimljeno na Geološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu pomoću lupe proizvođača Meiji Techno. Vizualnim pregledom utvrđeno je kako se uzorci razlikuju po veličini, boji, vanjskom obliku i karakterističnim obilježjima. Dimenzije pojedinačnih uzoraka navedene su u tablici 3. Veličina uzoraka iznosila je od nekoliko milimetara do nekoliko centimetara.

**Tablica 3:** Dimenzije uzoraka

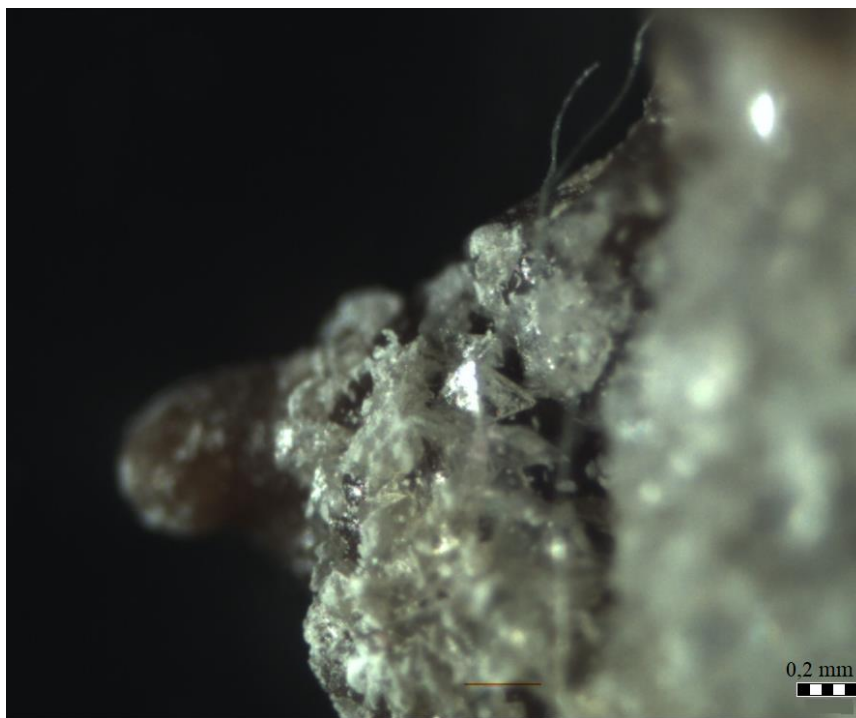
Uzorak	L1	L2
HA1	7,79 mm	6,07 mm
HA2	7,97 mm	6,57 mm
DI	4,16 mm	3,08 mm
MB	5,29 mm	3,71 mm
DA	5,11 mm	2,9 mm
SP	4,65 mm	5,42 mm
KH1	1,46 mm	2,16 mm
KH2	1,95 mm	1,2 mm
KH3	1,45 mm	1,06 mm
KH4	1,93 mm	2,44 mm
KH5	0,94 mm	1,54 mm
MA	1,57 mm	1,94 mm
LJV	2,70 cm	1,50 cm
FM	2,69 mm	2,14 mm

Daljnijim vizualnim pregledom uzoraka utvrđena je razlika u boji koja je varirala od bijelo žute do tamno smeđe (slika 4)



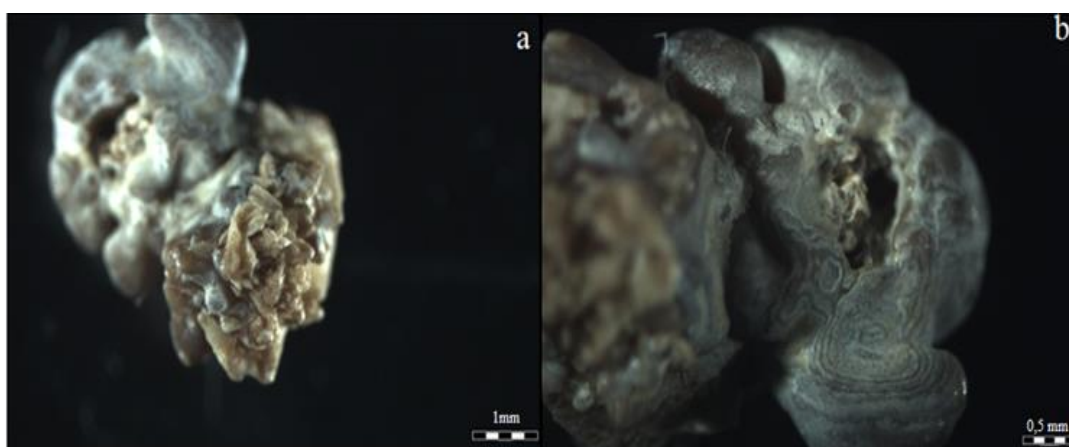
**Slika 4:** Prikaz uzoraka koji se razlikuju prema boji i morfološkim obilježjima: a) uzorak DA bijelo žute boje nepravilnog kristaličnog izgleda; b) uzorak HA tamno smeđe boje okruglastog nepravilnog izgleda; c) uzorak KH nepravilni fragmenti bijele boje pomiješani sa sitnim prahom d) uzorak PE žuto smeđe boje nepravilnog oblika

Osim prema boji i veličini, uzorci se razlikuju i prema vanjskim obilježjima. Većina uzoraka je nepravilnog okruglastog oblika (slika 4b) ili s različitim izbočenjima (slika 4d). Na nekim uzorcima su vidljivi nepravilni kristali (slika 4a), osim na jednom na kojem je jasno vidljiva razvijena dipiramida (slika 5).



**Slika 5:** Uzorak SP na kojem se vidi jasno razvijena dipiramida

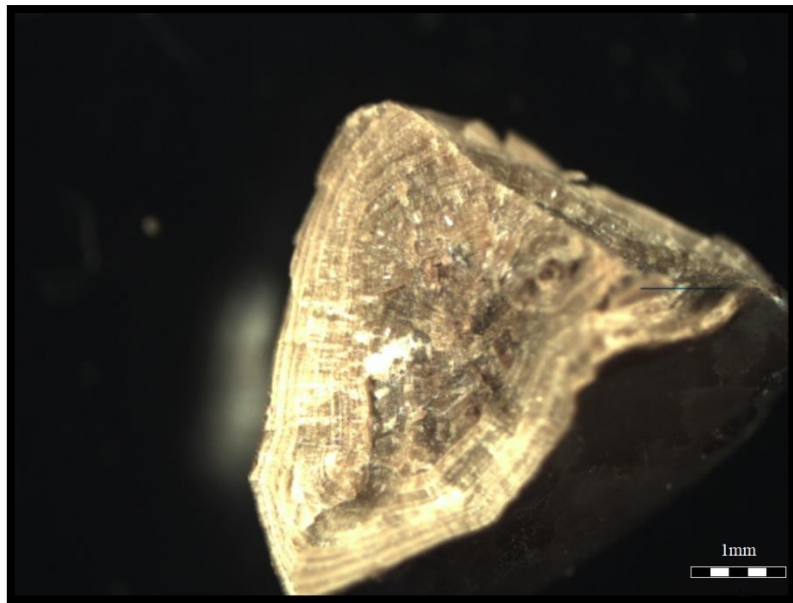
Jedan uzorak je morfološki građen od dva različita dijela: Jedan dio bubrežasti, masivne, zaglađene površine s vidljivim laminacijama smeđe-bijele boje (slika 6a), a drugi s razvijenim pločastim kristalima smeđe boje (slika 6b).



**Slika 6:** Uzorak MB vidljive dvije faze a) kristalna i b) masivna, laminirana faza



Osim na površini uzoraka, laminacije su uočene i pregledom unutrašnjosti uzorka HA, što je vidljivo na slici 7, dok su drugi uzorci imali masivnu ili kristalnu unutarnju građu.

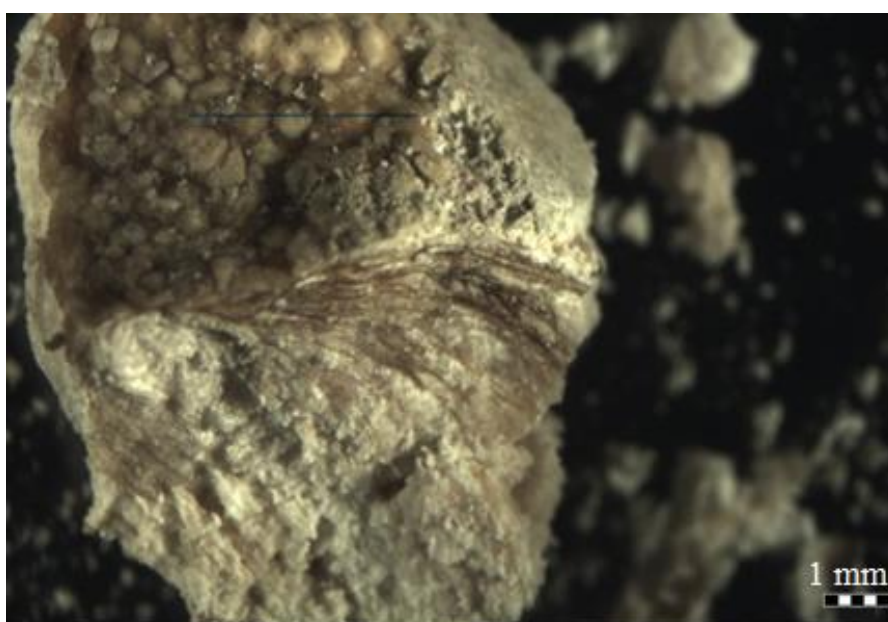


**Slika 7:** Uzorak HA, vidljiva laminirana unutarnja građa s masivnom jezgrom

Iako su većina uzoraka bila okruglastog nepravilnog oblika, jedan se izdvajao svojim karakterističnim izduženim i razgranatim oblikom. Radi se o uzorku LJV (slika 8) koji se osim oblik razlikuje i svojom veličinom. Unutrašnja građa ovoga uzorak sastojala se od laminacija i masivne jezgre (slika 9).



**Slika 8:** Uzorak LJV karakterističnog razgranatog oblika



**Slika 9:** Unutrašnja laminirana i masivna građa uzorka LJV

Pregledom uzoraka pomoću lupe opisana je njihova veličina, boja, morfologija i izgled površine. Mineralni sastav uzoraka analiziran je pomoću rendgenske difrakcije na prahu (XRPD) i infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom (FT-IR). XRPD metodom analizirano je 10 uzoraka. Uzorak LJV je zbog svoje veličine podijeljen na tri

morfološki različita dijela: vanjski dio (LJV1), unutarnje laminacije (LJV2) i jezgru (LJV3), te su navedeni dijelovi zasebno analizirani. Uzorci su analizirani na Phillips X'Pert PRO rendgenskom uređaju, a obrada podataka je napravljena pomoću programa *X'Pert High Score Plus*. Rezultati su prikazani sumarno u tablici 4 u kojoj su navedeni detektirani minerali i kemijske formule, a rendgenogrami i identifikacijske kartice su navedeni u prilogu.

**Tablica 4:** Rezultati XRPD analize

NAZIV UZORKA	NAZIV MINERALA	KEMIJSKA FORMULA
DA	Weddellit	$\text{CaC}_2\text{O}_4(\text{H}_2\text{O})_2$
SP	Weddellit, Whewellit	$\text{C}_2\text{CaO}_4 \times 2(\text{H}_2\text{O}); \text{C}_2\text{CaO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$
KH	Magnezijski amonijak fosfat heksahidrat (struvit)	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \times 6(\text{H}_2\text{O})$
PL	Magnezijski amonijak fosfat heksahidrat (sturvit)	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \times 6(\text{H}_2\text{O})$
BR	Hidroksiapatit	$\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$
MA	Hidroksiapatit	$\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$
PE	Hidroksiapatit, kalcit	$\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6; \text{CaCO}_3$
LJV1	Struvit, Whewellit	$\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \times 6(\text{H}_2\text{O}); \text{C}_2\text{CaO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$
LJV2	Whewellit, struvit	$\text{C}_2\text{CaO}_4 \times \text{H}_2\text{O}; \text{NH}_4\text{MgPO}_4 \times 6(\text{H}_2\text{O})$
LJV3	Struvit, Whewellit	$\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}; \text{C}_2\text{CaO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$
IV	Uricit	$\text{C}_4(\text{NH})_2\text{O}_2\text{C}(\text{NH})_2\text{O}$
FM	Whewellit, uricit	$\text{C}_2\text{CaO}_4 \times \text{H}_2\text{O}; \text{C}_4(\text{NH})_2\text{O}_2\text{C}(\text{NH})_2\text{O}$
PA	Cistin	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$

FT-IR analiza napravljena je na *Bruker Tensor 27*, ATR spektrometru (slika 2), u rasponu od  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$  ATR metodom na Geološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu. Rezultati su prikazani u tri tablice gdje su za svaki uzorak navedene sve očitane vibracijske vrpce i koju funkcionalnu skupinu one predstavljaju. Rezultati su raspoređeni prema sastavu na whewellitne (tablica 6), fosfatne (tablica 7) i ostale (tablica 8). Vrijednosti vibracijskih vrpce izražene su u  $\text{cm}^{-1}$  što odgovara valnim brojevima.

Ukupno je ovom metodom snimljeno 14 spetkara za 11 uzoraka. Kao i kod XRPD metode uzorak LJV je podijeljen na tri dijela: vanjski dio (LJV1), unutarnje laminacije (LJV2) i jezgru (LJV3).

**Tablica 5:** Rezultati FT-IR analize za uzorke HA, DI, MB, DA i SP

VIBRACIJSKE VRPCE ( $\text{cm}^{-1}$ )					FUNKCIONALNA SKUPINA
HA	DI	MB	DA	SP	
-	-	-	3813,99	-	O-H istežanje <sup>1</sup>
3734,8	-	-	-	-	O-H istežanje <sup>1</sup>
3426,13	3422,88	3431,56	3435,24	3432,62	O-H istežanje <sup>1</sup>
3326,24	3326,37	3326,56	3338,04	3328,97	O-H istežanje <sup>1</sup>
3048,66	3058,99	3049,56	-	3053,09	O-H istežanje <sup>1</sup>
-	-	-	2353,45	2360,4	C-O iz zraka <sup>2</sup>
2349,34	-	-	-	2349,17	C-O iz zraka <sup>2</sup>
-	2324,91	-	2323,75	2325,33	C-O iz zraka <sup>2</sup>
-	-	2286,22	-	-	C-O iz zraka <sup>2</sup>
-	1616,34	1614,32	1614,93	1614,12	C=O istežanje <sup>2</sup>
-	-	-	1407,94	-	NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> savijanje <sup>1</sup>
1379,64	-	-	-	-	O=C=O istežanje <sup>2</sup>
1314,1	1316,85	1314,36	1321,41	1314,46	C-C istežanje <sup>2</sup>
-	-	-	1029,72	-	Prisutnost PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> skupine <sup>1</sup>
947,9	-	947,38	-	948,36	C-C istežanje <sup>1</sup>
-	-	-	915,9	-	C-O istežanja <sup>1</sup>
885,34	-	884,93	-	884,29	C-C istežanje <sup>1</sup>
778,82	779	778,7	774,13	778,76	C=O istežanja <sup>2</sup>
673,5	-	-	-	671,63	Savijanje O-H skupine <sup>1</sup>
-	-	656,96	-	664,54	C-H savijanje <sup>1</sup>
-	-	-	601,23	-	Prisutnost PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> skupine <sup>1</sup>
513,76	514,88	512,93	514,83	513,25	C=O, O=C=O i Ca-O oksalatne vibracije <sup>1</sup>

(1-Kumar i Khan, 2016; 2-Channa, i sur., 2007)

**Tablica 6:** Rezultati FT-IR analize za uzorke KH, PL, BR i LJV

VIBRACIJSKE VRPCE ( cm <sup>-1</sup> )						FUNKCIONALNA SKUPINA
KH	PL	BR	LJV1	LJV2	LJV3	
3244,94	-	3294,14	3218,82	-	-	O-H i N-H istežanje <sup>1</sup>
-	-	-	3038,43	2989,55	2916,51	O-H istežanje <sup>1</sup>
	2889,95	-	-	-	-	Prisutnost NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> iona <sup>1</sup>
2929,61	-	-	-	-	-	Prisutnost NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> iona <sup>1</sup>
2349,39	2353,46	-	-	2349,14	2352,49	N-H i C-H istežanjem <sup>2</sup>
-	-	2323,96	2323,02	-	-	O-H istežanje <sup>1</sup>
-	-	2105,36	-	-	2114,04	C-O istežanje <sup>2</sup>
-	-	1981,01	-	-	-	C-O istežanje <sup>2</sup>
1643,08	-	1629,67	1620,02	1621,69	1643,35	C=O istežanje <sup>2</sup>
-	1596,57	-	-	-	-	Prisutnost NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> iona <sup>1</sup>
1428,25	1432,12	-	1426,94	1431,79	1430,16	Prisutnost NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> iona <sup>1</sup>
-	-	1323,71	1315,66	1316,54	-	C=O i C-O istežanje <sup>2</sup>
1016,62	-	1028,17	1018,77	1009,91	1005,96	Savijanje PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> skupine <sup>2</sup>
-	994,01	-	-	-	-	Savijanje PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> skupine <sup>2</sup>
872,05	-	-	871,94	872,54	871,67	Savijanje PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> skupine <sup>2</sup>
-	-	-	778,87	779,5	-	C=O asimetričnog istežanja <sup>2</sup>
756,13	-	-	-	-	754,8	Prisutnost oksalata <sup>3</sup>
-	-	-	-	672,71	-	O-C-O istežanje <sup>1</sup>
-	-	600,59	601,97	602,37	602,67	Savijanje PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> skupine <sup>2</sup>
562,28	568,64	561,05	562,56	564,29	563,44	Savijanje PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> skupine <sup>2</sup>
-	-	-	-	518,35	-	C=O, O=C=O i Ca-O oksalatne vibracije <sup>1</sup>

(1-Kumar i Khan, 2016; 2-Channa, i sur., 2007; 3-Ionescu i sur., 2010)

**Tablica 7:** Rezultati FT-IR analize za uzorke IV, FM i PA

VIBRACIJSKE VRPCE (cm <sup>-1</sup> )			FUNKCIONALNA SKUPINA
IV	FM	PA	
-	3435,92	-	O-H istežanje i N-H istežanje <sup>1</sup>
-	-	3023,33	C-H istežanje <sup>1</sup>
3005,99	3008,47	-	istežanje O-H skupine <sup>1</sup>
-	-	2916,06	CH <sub>2</sub> -S asimetrično istežanje <sup>2</sup>
2821,83	2822,26	-	O-H i N-H istežanje <sup>1</sup>
-	-	2584,67	NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> deformacije <sup>2</sup>
-	2349,22	2349,34	O-H istežanje i N-H istežanje <sup>1</sup>
-	-	2099,4	NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> deformacije <sup>2</sup>
1668,61	1667,22	-	C=O istežanje <sup>1</sup>
-	-	1620,44	NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> deformacije <sup>2</sup>
1588,33	1590,18	1580,75	C-N istežanje <sup>1</sup>
-	-	1485,52	Istežanje COO- skupine <sup>2</sup>
1431,9	-	-	C=C istežanje <sup>1</sup>
1400,66	-	1404,59	CH <sub>2</sub> -CO istežanje <sup>1</sup>
-	-	1381,16	C-H istežanje <sup>1</sup>
1348,44	1348,57	-	C=O istežanje <sup>1</sup>
-	-	1336,51	C-C istežanje <sup>2</sup>
1303,75	1311,92	-	O-H deformacije <sup>1</sup>
-	-	1296,03	Prisutnost CH <sub>2</sub> skupine <sup>2</sup>
-	-	1192,53	C-C istežanje <sup>2</sup>
1121,56	1121,97	1123,7	C-C istežanje <sup>1</sup>
-	-	1040,4	C-N istežanje <sup>2</sup>
1025,62	1025,71	-	N-H istežanje <sup>1</sup>
990,61	991,05	-	Prisutnost PO <sup>4-</sup> skupine <sup>1</sup>
875,95	876,8	845,36	N-H savijanje <sup>1</sup>
779,96	778,73	775,61	C-N istežanje <sup>1</sup>
742,52	-	-	Prisutnost CH <sub>2</sub> skupine <sup>1</sup>
703,86	-	-	Karakteristična vrpca za uričnu kiselinu <sup>3</sup>
-	-	674,05	C-S istežanja <sup>1</sup>
617,03	617,49	-	Deformacije prstena <sup>1</sup>
572,49	-	-	Karakteristična vrpca za uričnu kiselinu <sup>3</sup>
-	-	538,8	C-C istežanje <sup>2</sup>
519,79	-	-	O-C-O vibracije oksalatnog dijela <sup>1</sup>

470,87	-	451,82	Karakteristična vrpca za uričnu kiselinu <sup>3</sup>
-	-	541,82	S-S istežanje <sup>2</sup>

(1-Kumar i Khan, 2016; 2- Ramachandran i Natarajan, 2004; 3- Marickar i sur., 2009)

## 5 Rasprava

Cilj ovoga rada je usporedba dvije metode analize bubrežnih kamenaca kako bi se odredile prednosti i mane pojedinih metoda prilikom određivanja mineralnog sastava. Metode koje su korištene su infracrvena spektroskopija sa Fourierovom transformacijom (FT-IR) i rendgenska difrakcija na prahu (XRPD). Promatranjem uzoraka pomoću lupe određene su morfološke karakteristike pojedinih primjeraka kako bi se odredile razlike u veličini, boji ili vanjskom i unutarnjem izgledu pojedinih vrsta bubrežnih kamenaca. Rezultati XRPD i FT-IR spektroskopije analize međusobno su uspoređeni kako bi se utvrdilo koja metoda je najprikladnija i efikasnija za analizu sastava bubrežnih kamenaca.

Uzorci su promatrani pomoću lupe pri čemu su određene morfološke karakteristike pojedinih primjeraka. Opisana je veličina, boja, oblik i izgled površine uzoraka.

Veličina pojedinih primjeraka navedena je u tablici 3 gdje su navedene dvije dimenzije L1 (najdulja) i L2 (najkraća), izražene u milimetrima koje su mjerene na najduljem i najkraćem dijelu pošto je većina uzoraka nepravilnog oblika. Prema tablici 3 uzorci su različite veličine u rasponu od 7,97 mm do 0,94 mm ovisno o pojedinom primjerku. Usporedbom veličina L1 i L2 vidljivo je da je većina uzoraka okruglastog do ovalnog, nepravilnog oblika. Iznimka je uzorak LJV koji je centimetarske veličine pošto se radi o staghorn tipu bubrežnog kamenca. Uzorak LJV (slika 8) je u najdužem dijelu dimenzija ~2,5 cm, a u najužem ~ 1,0 cm. Uzorak KH (slika 4c) sastoji se od više sitnijih fragmenata i sitnog praha od kojih su izmjereni najkrupniji fragmenti.

Prema boji uzorke možemo podijeliti na svjetlije bijelo žute i žute i tamnije žuto-smeđe i smeđe (slika 4) Boja uzoraka ovisi o uklopljenim nečistoćama, najčešće se radi o organskoj tvari (Grases i sur., 1998).

Promatrani uzorci su različitih oblika, a na temelju njihove morfologije mogu se podijeliti na tri skupine. Najviše uzoraka, njih četiri, imalo je nepravilan okruglasti oblik zaglađene površine kao što je uzorak na slici 4b. Drugoj skupini pripadaju uzorci također nepravilnog sferičnog oblika sa neravninama po površini kao što je uzorak na slici 4d. Dva uzorka su bila nepravilnog oblika s razvijenim kristalima (slika 4a) od kojih je na samo jednom uočena dipiramida weddellita (slika 5). Jedan uzorak je pokazivao dvije vrste morfologija, s jedne strane okruglasti s zaglađenom površinom i vidljivim laminacijama, a s druge su razvijeni kristali (slika 6). Od karakterističnih morfologija za urolitijaze na nekoliko uzoraka se mogu vidjeti laminacije (slike 7 i 9). Laminacije nastaju zbog



višestrukih epizoda rasta kamenaca (Giannossi i sur., 2012). Tipični primjer staghorn tipa urolitijaze prikazan je na slici 8. Staghorn tip nastaje potpunim ili djelomičnim okamenjenjem unutar mokraćovoda, bubrežnih čašica i drugih dijelova bubrega (Torricelli i Monga, 2020).

Nakon pregleda morfoloških karakteristika, uzorci su smrvljeni u tarioniku prilikom čega je primijećeno kako se neki uzorci lakše mrve nego drugi. Uočeno je kako se uzorci oksalatnog i miješanog oksalatno struvitnog sastava najteže drobe, a oni fosfatnog sastava najlakše mrve u prah. Prostatni kamenci lakše su razmravljeni od oksalatnih. Takva pojava može se objasniti se laminiranom strukturom oksalatnih i miješanih kamenaca kod koje dolazi do međusobnog ispreplitanja više faza koje su bile prisutne u uzorcima zbog izmjena epizoda rasta kristala i nukleacije i prisutnosti organske tvari. Mikrolaminacije uzrokuju takvu tvrdoću kristala da ih je teško razbiti pomoću današnjih metoda na dovoljno male komadiće da sami izađu iz tijela pa nakon nekog vremena ponovno postaju centri kristalizacije (Giannossi i sur., 2012).

Morfološke karakteristike urolitijaza ovise o načinu rasta kristala i uvjetima u kojima nastaju te o kemijskom sastavu i mineralnoj asocijaciji. Pojedine vrste bubrežnih kamenaca mogu se razlikovati po veličini, boji, obliku, specifičnim morfološkim karakteristikama kao što su laminacije ili sferule, ali za odredbu da li se stvarno radi o različitim vrstama potrebno je provesti dodatne analize. Samo promatranje uzoraka pod lupom nije dovoljno za određivanje vrste kamenaca, nije vidljivo da li se radi o bubrežnim ili kamencima iz prostate niti da li postoje morfološke razlike između ljudskih i životinjskih uzoraka.

Pomoću XRPD i FT-IR analiza provedenih na svim uzorcima određen je mineralni sastav. Za svaki uzorak je uspješno određena vrsta, te nisu uočene razlike između životinjskih i ljudskih uzoraka.

Najviše uzoraka, njih tri (uzorci HA, DI i MB) imalo je čisti whewellitni sastav što je utvrđeno XRPD analizom (tablica 4), a rezultati FT-IR-a uspoređeni su s literaturom u kojoj su navedene karakteristične vibracijske vrpce za pojedine minerale. Prema literaturi, whewellitni uzorak mora sadržavati slijedeće vibracijske vrpce: 778,53, 1314,93 i 1604,64  $\text{cm}^{-1}$  (Channa i sur., 2007). U tablici 5 navedene su sve vibracijske vrpce za snimljene uzorke u kojoj je za uzorke HA, DI i MB prikazano da sadrže karakteristične vrpce u navedenom rasponu i ostale vrpce koje također označavaju whewellitni sastav.

Uzorak DA je prema FT-IR i XRPD analizi utvrđen kao weddellit. Razlika između pojedinih spektara između whewellita i weddellita je u stupnju hidratacije koja je vidljiva prema prisutnosti ili odsutnosti pojedinih vibracijskih vrpca. Kod weddellita vrpce u rasponu od  $3500 - 3000 \text{ cm}^{-1}$  javljaju se kao široki maksimum većeg intenziteta dok kod whewelita se javlja četiri manja maksimuma stepeničastog izgleda. Osim toga, vibracijska vrpca na  $950 \text{ cm}^{-1}$  i  $885 \text{ cm}^{-1}$  kod weddellita nije prisutna (Kumar i Khan, 2016). Popis prisutnih vibracijskih vrpca i pripadajućih funkcionalnih skupina za uzorak DA naveden je u tablici 5 čime je potvrđen weddellitni sastav.

Miješani bubrežni kamenac koji se sastoji od whewellita i weddellita teže je prepoznati pomoću samo FT-IR metode. Uzorak SP (tablica 5) prema rezultatima FT-IR analize, upućivao je na whewellitni sastav, iako su maksimumi između  $950 \text{ cm}^{-1}$  i  $885 \text{ cm}^{-1}$  koji su karakteristični za taj mineral, smanjenog intenziteta. XRPD analiza potvrdila je kako se radi o miješanom sastavu (tablica 4). Detaljni podaci provedene XRPD analize nalazi se u Prilogu 1.

Rezultati obje analize su pokazali da su uzorci KH i PL struvitnog sastava samostalno ili u kombinaciji s whewellitom. Prema literaturi, karakteristične vibracijske vrpce za struvit su pri  $2362,63$ ,  $1469,19$  i  $970,53 \text{ cm}^{-1}$  (Channa i sur., 2007). U tablici 6 navedeni su rezultati FT-IR analize prema kojoj je određen struvitni sastav na temelju karakterističnih vrpca. Za uzorak KH određeno je da sadrži i oksalatnu skupinu. XRPD analizom za oba uzorka (tablica 4) je određen samo struvitni sastav. U uzorku KH pomoću XRPD analize nije detektiran oksalat zbog toga što struvit sastavom prevladava, a oksalat se nalazi u količini koja nije moguća za detekciju pomoću ove metode.

Od kalcijevih fosfata sastoje se uzorak BR, uzorak MA i uzorak PE što je utvrđeno pomoću FT-IR spektroskopije na uzorku BR i XRPD analize na sva tri uzorka. Karakteristične vibracijske vrpce za kalcijske fosfate su pri  $3294,14 \text{ cm}^{-1}$  i  $2323,96 \text{ cm}^{-1}$  zbog O-H istežanja (Kumar i Khan, 2016);  $1629,67 \text{ cm}^{-1}$  zbog C=O istežanja;  $1323,71 \text{ cm}^{-1}$  zbog C=O i C-O istežanja;  $1028,17 \text{ cm}^{-1}$ ,  $600,59 \text{ cm}^{-1}$  i  $561,05 \text{ cm}^{-1}$  zbog vibracija  $\text{PO}_4^{3-}$  skupine (Selvaraju i sur., 2012). Popis vibracijskih vrpca snimljenih na uzorcima te funkcionalne skupine prikazani su u tablici 6 za uzorak BR. XRPD analizom uzorka BR i uzorka MA ustanovljeno je da se sastoje od hidroksiapatita što je prikazano u tablici 4. Uzorak PE osim hidroksiapatita sadrži i kalcit što se vidi iz rendgenograma (prilog 1)

Sastav bubrežnih kamenaca može biti višefazan, česti su miješani kamenci sastavljeni od kalcijevih oksalata i fosfata. Prema provedenim FT-IR i XRPD analizama uzorak LJV pokazao je takav miješani sastav. Kao što je navedeno u opisu morfoloških karakteristika i vidljivo iz slike 8 radi se od staghorn tipu bubrežnog kamenaca. Zbog same veličine uzorka i njegove laminirane unutrašnje strukture provedene su analize na različitim dijelovima primjerka. Primjerak je podijeljen na tri različita uzorka: LJV1 pripada vanjskom sloju, LJV2 unutarnjem sloju te LJV3 jezgri. Nakon provedenih analiza ustanovljeno je da se sastoji od kombinacije whewellit i struvita u različitim omjerima. Prema rezultatima FT-IR spektrometrije ustanovljeno je da uzorci sadrže vibracijske vrpce karakteristične za oba minerala (tablica 6). XRPD analizom ustanovljen je fazni sastav koji je pokazao da uzorkom LJV1 i LJV3 dominira struvit, a uzorkom LJV2 whewellit. Rezultati XRPD analize za uzorak LJV nalaze se u tablici 4.

Do nastanka ovako miješanih bubrežnih kamenaca dolazi zbog periodične promjene uvjeta taloženja. Na vjerojatnost taloženja pojedinih vrsta utječe pH, stupanj prezasićenja pojedinih vrsta te međusobna interakcija konstituenata (Manzoor i sur., 2019). Prema rezultatima XRPD analize jezgre ustanovljeno je da je početna faza bila struvit. Bakterijska aktivnost i infekcija mokraćnog sustava uzrokovali su nastanak struvita. Promijenjena kemija bubrežnog sustava i pH uvjeta mogli su potaknuti taloženje i whewellit koji se u unutarnjem omotaču nalazi kao dominantna faza što je zaključeno na temelju XRPD analize uzoraka LJV2 (slika 38 i tablica 26). XRPD analizom vanjskog omotača obilježenog kao LJV1 ustanovljeno je da je dominantna faza struvit naspram whewellit. Uzrok tome može biti ponovno javljanje jače bakterijske infekcije koja uzrokuje promjenu uvjeta taloženja unutar bubrežnih kamenaca. O tome koji će se mineral taložiti iz otopine ovisi sam sastav otopine odnosno stupanje prezasićenja pojedinih komponenti unutar ograničenog volumena mokraćne. Detaljni podaci provedene XRPD analize za uzorke LJV1 i LJV2 i nalaze se u prilogu 1.

Prema provedenim FT-IR i XRPD analizama ustanovljeno je da se uzorak IV sastoji od uricita. Tablica karakterističnih vibracijskih vrpca i funkcionalnih skupina prikazan je u tablici 7. Prema literaturnim podacima, karakteristične vibracijske vrpce za uricit su pri: 1637,29, 1018,13 i 738,03  $\text{cm}^{-1}$  (Channa i sur., 2007) i 1589, 1124, 787 i 621  $\text{cm}^{-1}$  (Marickar i sur., 2009). Uzorak osim uricita sadrži i fosfatnu skupinu te oksalatni prsten. Prema rezultatima XRPD analize, uzorak IV sadrži samo uricit (tablica 4). XRPD metoda je ograničena količinom pojedinih faza u uzorku, pa tako ne detektira one faze

koje su zastupljene s manje od 5% (Basiri i sur., 2012). Zbog tog ograničenja XRPD analiza nije pokazala prisutnost oksalata i fosfata.

Urati također mogu biti miješani s drugim vrstama bubrežnih kamenaca. Uzorak FM prema rezultatima FT-IR i XRPD analize sastoji se od mješavine uricita i whewellit. FT-IR analizom prikazanoj u tablici 7 određeno je kako uzorak sadrži vibracijske vrpce i za uricit i whewellit, a XRPD analizom (tablica 4) utvrđeno je da whewellit dominira sastavom (prilog 1).

Cistin je jedan od najrjeđih minerala koji izgrađuju bubrežne kamence. Od 14 uzoraka samo uzorak PA sadržava cistin. Spektrogram ima specifični nazubljeni izgled u desnom dijelu spektra što je karakteristično za ovaj tip urolitijaze. Prema literaturnim podacima karakteristične vibracijske vrpce za cistin su pri: 3026, 1622, 1584, 1382, 675 i 540  $\text{cm}^{-1}$  (Kumar i Khan, 2016). Rezultati XRPD analize prikazani su u tablici 4 iz koje je vidljivo kako se radi o monomineralnom cistinu, te jes tim potvrđen rezultati FT-IR analize.

Primjenom metoda infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom (FT-IR) i rendgenske difrakcije na prahu (XRPD) analizirano je ukupno 14 uzoraka. Za svaki uzorak je uspješno određen mineralni sastav što je prikazano u tablici 8. Izradom ovog rada utvrđene su prednosti i mane za svaku od tih metoda kako bi se utvrdilo koja od njih je pogodnija za korištenje u svrhu određivanja faznog sastava urolitijaza.

**Tablica 8:** Sumarni rezultati FT-IR i XRPD analiza za sve uzorke

Naziv uzorka	Minerali
HA	Whewellit
DI	Whewellit
MB	Whewellit
DA	Weddellit
SP	Whewellit, weddellit
KH	Struvit, kalcijski oksalat
PL	Struvit
BR	Hidroksiapatit

MA	Hidroksiapatit, kalcit
PE	Hidroksiapatit
LJV	Struvit, whewellit
IV	Uricit, kalcijski oksalat i fosfati
FM	Whewellit, uricit
PA	Cistin

Pomoću obje metode moguće je odrediti mineralni sastav za svih šest najčešćih vrsta bubrežnih kamenaca, a to su whewellit, weddelit, struvit, hidroksiapatit, uricit i cistin. Kada se radi o uzrocima koje sadrže više od jedne faze prikladnija se pokazala FT-IR metoda pošto je pomoću nje moguće odrediti fazni sastav svih minerala koji su u njemu prisutni bez obzira na zastupljenost, dok je XRPD ograničena na dominantnije komponente, odnosno kada se druge faze u uzorku nalaze u količinama manjim od 5% može doći do preklapanja maksimuma zbog čega druge faze neće biti moguće očitati.

FT-IR metoda daje informacije na temelju vibracijskih vrpca, njihovom intenzitetu, širini i obliku unutar odgovarajućeg raspona koje se uspoređuju s bazom podataka kako bi se dobile informacije o mineralnom sastavu uzorka. Priprema uzoraka je jednostavna i nezahtjevna, a veličina uzorka potrebnog za analizu je veličine zrna riže. Trajanje snimanja uzoraka traje dvadesetak sekundi. Ovom metodom može se u kratkom roku obraditi veliki broj uzoraka bez smanjenja kvalitete rezultata. Kao i za svaku spektroskopsku metodu, dobra baza podataka preduvjet je za kvalitetnu primjenu.

XRPD metoda je precizna i točna analiza kojom se dobivaju podaci o faznom sastavu pojedinih uzoraka te o tome koji mineral dominira uzorkom. Količina uzorka potrebnog za kvalitetnu analizu je veća nego za FT-IR analizu što je u slučaju urolitijaza može predstavljati problem pošto su uzorci bubrežnih kamenca manjih dimenzija i količinski ograničeni. Snimanje uzorka traje bitno duže nego analiza FT-IR-om. Točnost podataka ovisi također o dostupnoj bazi podataka, ali i volumnom udjelu pojedinih faza jer ovom metodom ne dobivamo informacije o fazama koje su prisutne s manje od 5%.

Obje korištene metode se mogu smatrati pogodnim za analizu urolitijaza. Prednost se ipak može dati FT-IR metodi, prvenstveno zbog niže cijene i manje količine uzorka koji

je potreban za analizu što također omogućava određivanje sastava kamena po zonama tj. od jezgre prema vanjskom dijelu kamena. Navedena niža cijena ne utječe na konačnu kvalitetu rezultata tj. mjerenja i određivanja tipa kamena.

## 6 Zaključak

Urolitijaza je učestala bolest koja se javlja u 15% ljudske populacije (Giannossi i sur., 2012), a koja je izrazito bolna i nakon izlječenja gotovo u 50% slučajeva dolazi do ponovnog javljanja (Moe, 2006). Za uspješno liječenje ove bolesti jako je bitno odrediti vrstu bubrežnih kamenaca pošto o tome ovisi tijek liječenja. Postoji više metoda za određivanje mineralnog sastava urolitijaza, a u ovom radu su korištene i uspoređene dvije najčešće: infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FT-IR) i rendgenska difrakcija na prahu (XRPD). Kako bi se usporedile dvije metode analize bubrežnih kamenaca tijekom godine dana je prikupljeno deset uzorka bubrežnih kamenaca ljudskog porijekla, dva pseća te dva uzorka koji potječu iz prostate.

Analize su uspješno provedene za sve uzorke primjenom obje metode, te nije uočena razlika u mineralnom sastavu između uzoraka ljudskog i životinjskog porijekla. Obradom uzoraka zaključeno je kako je FT-IR metoda brza, točna, cjelovita i jeftina metoda kojom se dobivaju informacije o pojedinim fazama prisutnima u uzorku, ali ne i o njihovim udjelima. XRPD metoda je također točna i precizna metoda za istraživanje faznog sastava. Prednost ove metode je što određuje dominantni udio pojedine faze u uzorku, a mana što je potrebna veća količina uzorka i duljina trajanja snimanja, te što ne može detektirati faze koje su u uzorku prisutne s manje od 5%. Osim toga, XRPD analiza je financijski nepovoljnija pošto su za nju potrebni skupi uređaji i visoko educirano osoblje.

Za liječenje urolitijaza bitna je informacija o njegovom mineralnom sastavu za koju je zaključeno da se uspješno može odrediti pomoću FT-IR i XRPD metode za šest najčešćih vrsta bubrežnih kamenaca. Iako obje metode daju odlične rezultate, efikasnija se pokazala FT-IR metoda zbog kraćeg vremena snimanja uzorka, financijski je povoljnija i dostupnija naspram XRPD metode.

## 7 Literatura

- Addadi, L., Raz, S., & Weiner, S. (2003). Taking advantage of disorder: amorphous calcium carbonate and its roles in biomineralization. *Advanced Materials*, 15(12), 959–970.
- Aloisi, G. (2008). An alternative origin for nanobacteria in kidney stones. *Bioscience Hypotheses*, 1(3), 138–141.
- Back, M.E. i Mandarino, J.A. (2008): Fleischer's Glossary of Mineral Species 2008. The Mineralogical Record Inc., XVI+345, Tucson
- Basiri, A., Taheri, M. i Taheri, F. (2012): What is the State of the Stone analysis Techniques in Urolithiasis? *Urology Journal*, Iran, 445 – 454.
- Berthomieu, C., i Hienerwadel, R. (2009). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Photosynthesis research*, 101(2-3), 157–170.
- Bunnell, J.E., Finkelman, R.B., Centeno, J.A., i Selinus, O.O. (2007). Medical Geology: a globally emerging discipline. *Geologica Acta*, 5(3), 273–281.
- Caraballo, M.A., Michel, F.M., i Hochella Jr, M.F. (2015). The rapid expansion of environmental mineralogy in unconventional ways: Beyond the accepted definition of a mineral, the latest technology, and using nature as our guide. *American Mineralogist*, 100(1), 14–25.
- Davies, B.E., Bowman, C., Davies, T.C., i Selinus, O. (2013). Medical geology: Perspectives and prospects. *U Essentials of medical geology* (pp. 1–13). Springer, Dordrecht.
- Deganello, B. (1981). The structure of whewellite,  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  at 328 K. *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, 37(4), 826–829.
- Dissanayake, C.B., & Chandrajith, R. (2009). *Introduction to medical geology*. Springer Science & Business Media.
- Dutrow, B.L. i Clark, C.M.: [http://serc.carleton.edu/research\\_education/geochemsheets/techniques/XRD.html](http://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/XRD.html) (12. 12. 2020.)



- Fakheri, R.J., i Goldfarb, D.S. (2011). Ambient temperature as a contributor to kidney stone formation: implications of global warming. *Kidney international*, 79(11), 1178–1185.
- Ghumman, C.A.A., Carreira, O.M., Moutinho, A.M., Tolstogouzov, A., Vassilenko, V., i Teodoro, O.M. (2010). Identification of human calculi with time-of-flight secondary ion mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry: An International Journal Devoted to the Rapid Dissemination of Up-to-the-Minute Research in Mass Spectrometry*, 24(2), 185–190.
- Giannossi, M.L., Mongelli, G., Tateo, F., i Summa, V. (2012). Mineralogical and morphological investigation of kidney stones of a Mediterranean region (Basilicata, Italy). *Journal of X-ray science and technology*, 20(2), 175–186.
- Gibson, R.I. (1974): Descriptive Human Pathological Mineralogy. *American Mineralogist*, 59, 1177–1182.
- Grases, F., Costa-Bauza, A., i Garcia-Ferragut, L. (1998). Biopathological crystallization: a general view about the mechanisms of renal stone formation. *Advances in colloid and interface science*, 74(1-3), 169–194.
- Gray, D., Laing, M., Nel, F., Naude, J.H., 1982. Composition of urinary calculi collected in the Durban area. *Sa Mediese Tydskrif* 23, 121–125.
- Hesse, A., Schneider, H.J., Schilling, I., Schruppf, G., i Hienzsch, E. (1972). Infrared spectroscopy and x-ray studies of calcium oxalate urinary calculi. *Zeitschrift fur die gesamte innere Medizin und ihre Grenzgebiete*, 27(13), 560.
- Jhaumeer-Lualloo, S., i Subratty, A.H. (1999). Analysis of urinary calculi in Mauritius. *University of Mauritius Research Journal*, 3, 87–93.
- Khan, S.R., i Hackett, R.L. (1993). Role of Organic Matrix in Urinary Stone Formation: An Ltrastructural Study of Crystal Matrix Interface of Calcium Oxalate Monohydrate Stones. *The Journal of urology*, 150(1), 239–245.
- Kok, D.J., i Khan, S.R. (1994). Calcium oxalate nephrolithiasis, a free or fixed particle disease. *Kidney international*, 46(3), 847–854.
- Kumar, M.S., i Khan, F.L.A. (2016). Quantitative Prediction of Urinary Stone Samples Using Partial Least Square Regression Coupled with FTIR Spectra. *Int. J. Adv. Sci. Tech. Res*, 6, 393–403.

- Manzoor, M.A., Agrawal, A.K., Singh, B., Mujeeburahiman, M., i Rekha, P.D. (2019). Morphological characteristics and microstructure of kidney stones using synchrotron radiation  $\mu$ CT reveal the mechanism of crystal growth and aggregation in mixed stones. *PloS one*, 14(3).
- Marickar, Y.F., Lekshmi, P.R., Varma, L., i Koshy, P. (2009). Problem in analyzing cystine stones using FTIR spectroscopy. *Urological research*, 37(5), 263–269.
- Moe, O.W. (2006). Kidney stones: pathophysiology and medical management. *The lancet*, 367(9507), 333–344.
- Mostafavi, M.R., Ernst, R.D., i Saltzman, B. (1998). Accurate determination of chemical composition of urinary calculi by spiral computerized tomography. *The Journal of urology*, 159(3), 673–675.
- Mouri, H. (2020). Medical Geology and its relevance in Africa. *South African Journal of Science*, 116(5-6), 1–2.
- Prien, E.L., i Frondel, C. (1947). Studies in urolithiasis: I. The composition of urinary calculi. *The Journal of urology*, 57(6), 949–991.
- Qaader, D.S., Yousif, S.Y., i Mahdi, L.K. (2006). Prevalence and etiology of urinary stones in hospitalized patients in Baghdad. *Eastern Mediterr. Health J.* 12, 853–861
- Rai A.K., Yueh F.Y., Singh J.P., Rai D.K., (2007). Laser induced breakdown spectroscopy for solid and molten materials. In: Singh JP, Thakur SN (eds). *Laser induced breakdown spectroscopy*. Elsevier Science, Netherlands, pp 255–286
- Satarug S., Garrett S.H., Sens M.A., i Sens D.A., (2010). Cadmium, environmental exposure and health outcomes. *Environ. Health Perspect.* 118, 182–190
- Selvaraju, R., Thirupathi, G., i Raja, A. (2012). FT-IR spectral studies on certain human urinary stones in the patients of rural area. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 93, 260–265.
- Shafiee, M.A. (2010). *Urinary composition and stone formation*. University of Toronto (Canada).
- Sikirić, M. (1998): *Taloženje mineralnih soli mokradnih kamenaca*. Magistarski rad, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, VII + 109.

- Silva, S.F.R.D., Matos, D.C.D., Silva, S.L.D., Daher, E.D.F., Campos, H.D.H., i Silva, C. A.B.D. (2010). Chemical and morphological analysis of kidney stones: a double-blind comparative study. *Acta cirurgica brasileira*, 25(5), 444–448.
- Singh, V.K., i Rai, P.K. (2014). Kidney stone analysis techniques and the role of major and trace elements on their pathogenesis: a review. *Biophysical reviews*, 6(3-4), 291–310. <https://doi.org/10.1007/s12551-014-0144-4>
- Sofia, P.G., Ionescu, I., Rodica, G., i Anisoara, P. (2010). The use of infrared spectroscopy in the investigation of urolithiasis. *Revista română de medicină de laborator*, 18(4/4), 67–77.
- Sterling, C. (1965). Crystal structure analysis of weddellite,  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{xH}_2\text{O}$ . *Acta Crystallographica*, 18(5), 917–921.
- Stoller, M.L., i Meng, M.V. (2007). *Urinary stone disease: the practical guide to medical and surgical management*. Springer Science i Business Media.
- Sun, C., Xie, G., Huang, F., i Liu, X. (2018). Effects of calcium oxalate on expression of clusterin and lower urinary tract symptoms in prostatitis and benign prostatic hyperplasia patients with calculi. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 24, 9196.
- Tazzoli, V., i Domeneghetti, C. (1980). The crystal structures of whewellite and weddellite: re-examination and comparison. *American Mineralogist*, 65(3-4), 327–334.
- Torricelli, F., i Monga, M. (2020). Staghorn renal stones: what the urologist needs to know. *International braz j urol*, 46(6), 927–933.
- Wesson, J.A., i Ward, M.D. (2007). Pathological biomineralization of kidney stones. *Elements*, 3(6), 415–421.
- Zimprich, E. (2015). Fosfatni minerali u urinarnom traktu ljudskog tijela (Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu. Prirodoslovno-matematički fakultet. Geološki odsjek.

INTERNETSKI IZVORI:

- [1] [http://www.pmf.unizg.hr/oldwww/geol/o\\_nama/mineraloskopetrografski\\_zavod/oprema/opticki\\_laboratorij](http://www.pmf.unizg.hr/oldwww/geol/o_nama/mineraloskopetrografski_zavod/oprema/opticki_laboratorij) (05 .01. 2021.)
- [2] [http://www.pmf.unizg.hr/oldwww/geol/o\\_nama/mineraloskopetrografski\\_zavod/oprema/kemijski\\_laboratorij](http://www.pmf.unizg.hr/oldwww/geol/o_nama/mineraloskopetrografski_zavod/oprema/kemijski_laboratorij) (05. 01. 2021.)
- [3] [http://www.pmf.unizg.hr/oldwww/geol/o\\_nama/mineraloskopetrografski\\_zavod/oprema/rendgenski\\_laboratorij](http://www.pmf.unizg.hr/oldwww/geol/o_nama/mineraloskopetrografski_zavod/oprema/rendgenski_laboratorij) (05. 01. 2021.)

## 8 Popis slika u tekstu

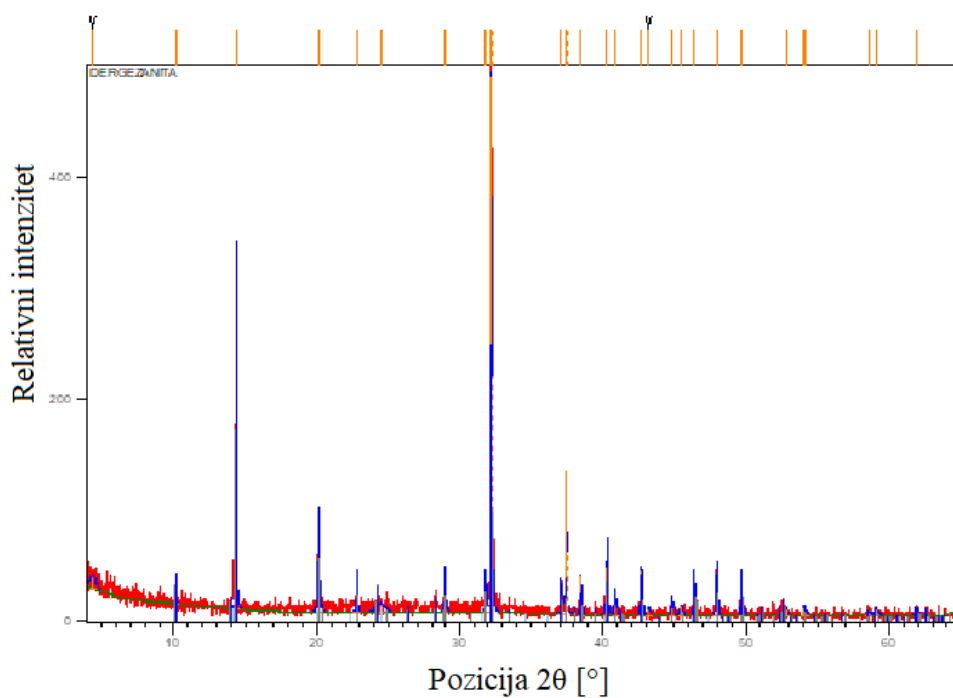
Slika 1: Lupa koja je korištena za mikroskopska opažanja (Internetski izvor 1) .....	19
Slika 2: Bruker Tensor 27, ATR spektrometru (Internetski izvor 2) .....	21
<b>Slika 3:</b> Phillips X'Pert PRO rentgenski uređaj (Internetski izvor 3) .....	22
Slika 4: Prikaz uzoraka koji se razlikuju prema boji i morfološkim obilježjima.....	24
Slika 5: Uzorak SP na kojem se vidi jasno razvijena dipiramida .....	25
Slika 6: Uzorak MB vidljive dvije faze a) kristalna i b) masivna, laminirana faza .....	25
Slika 7: Uzorak HA, vidljiva laminirana unutarnja građa s masivnom jezgrom .....	26
Slika 8: Uzorak LJV karakterističnog razgranatog oblika.....	27
Slika 9: Unutrašnja laminirana i masivna građa uzorka LJV .....	27

## 9 Popis tablica u tekstu

Tablica 1: Popis najčešćih minerala bubrežnih kamenaca i njihove formule.....	5
Tablica 2: Popis uzoraka, porijeklo i vrsta urolitijaze.....	18
Tablica 3: Dimenzije uzoraka.....	23
Tablica 4: Rezultati XRPD analize.....	28
Tablica 5: Rezultati FT-IR analize za uzorke HA, DI, MB, DA i SP.....	29
Tablica 6: Rezultati FT-IR analize za uzorke KH, PL, BR I LJV.....	30
Tablica 7: Rezultati FT-IR analize za uzorke IV, FM i PA.....	31
Tablica 8: Sumarni rezultati FT-IR i XRPD analiza za sve uzorke.....	37

## 10 Prilog 1

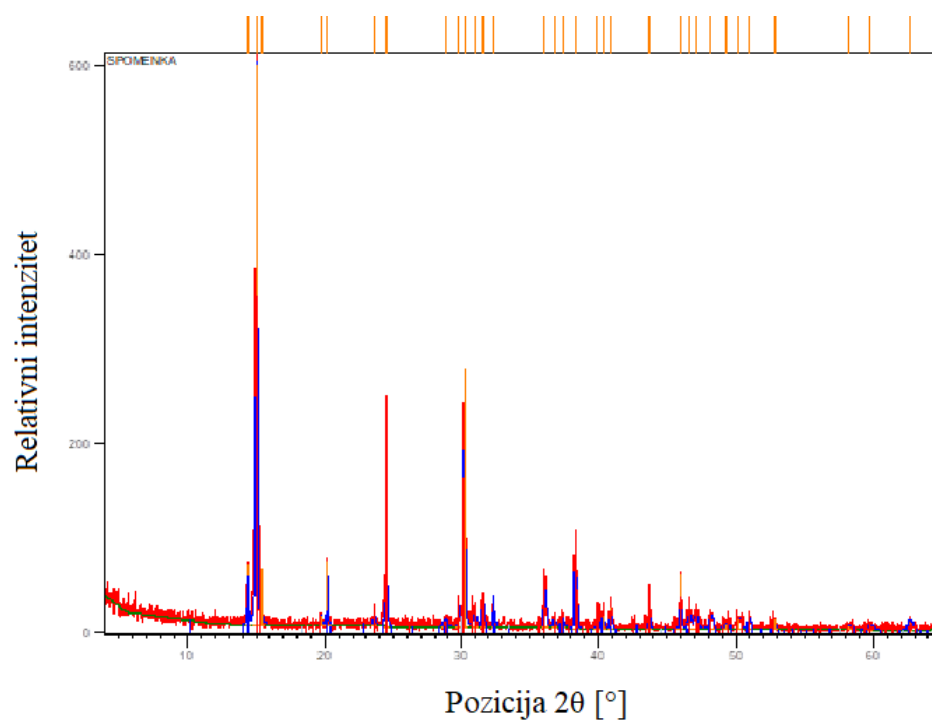
Rendgenogrami za pojedine uzorke dobiveni XRPD metodom.



Rendgenogram uzorka DA

Popis minerala prisutnih u uzorku DA

BROJ KARTICE	NAZIV MINERALA	KEMIJSKA FORMULA
01-075-1314	Weddellit	$\text{CaC}_2\text{O}_4(\text{H}_2\text{O})_{2.375}$
01-087-0655	Weddellit, syn	$\text{Ca}(\text{CO}_2)_2(\text{H}_2\text{O})_{2.2}$

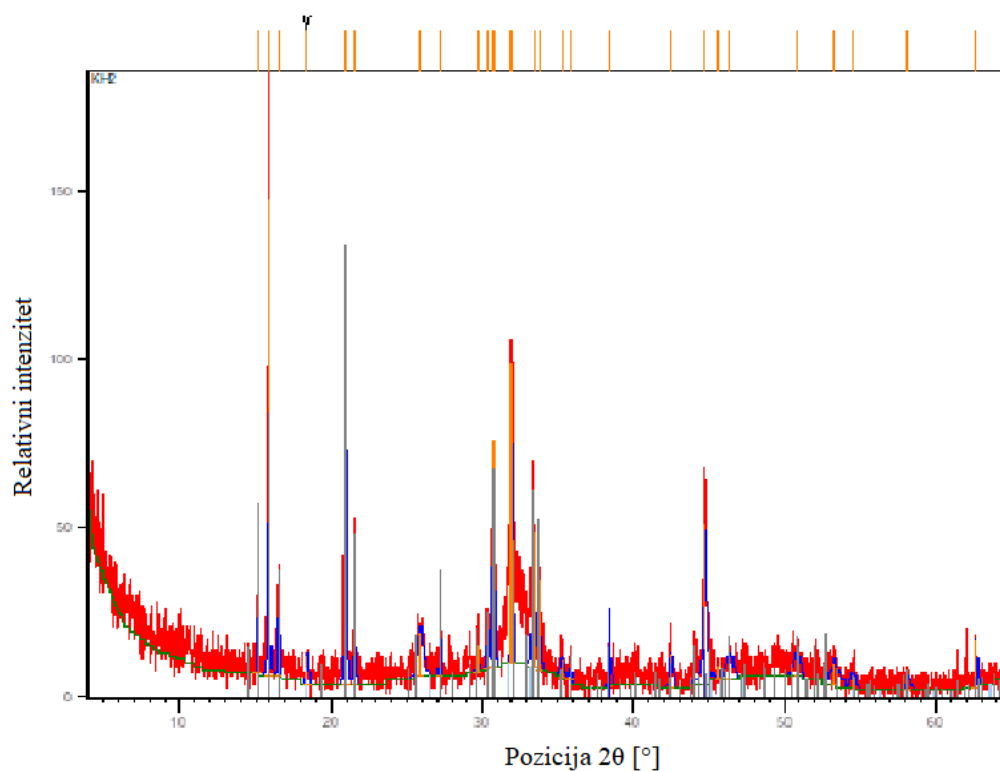


Rendgenogram uzorak SP

## Popis minerala prisutnih u uzorku SP

BROJ KARTICE	NAZIV MINERALA	KEMIJSKA FORMULA
00-016-0379	Weddellite, syn	$C_2CaO_4 \times 2H_2O$
00-017-0541	Whewellite, syn	$C_2CaO_4 \times H_2O$

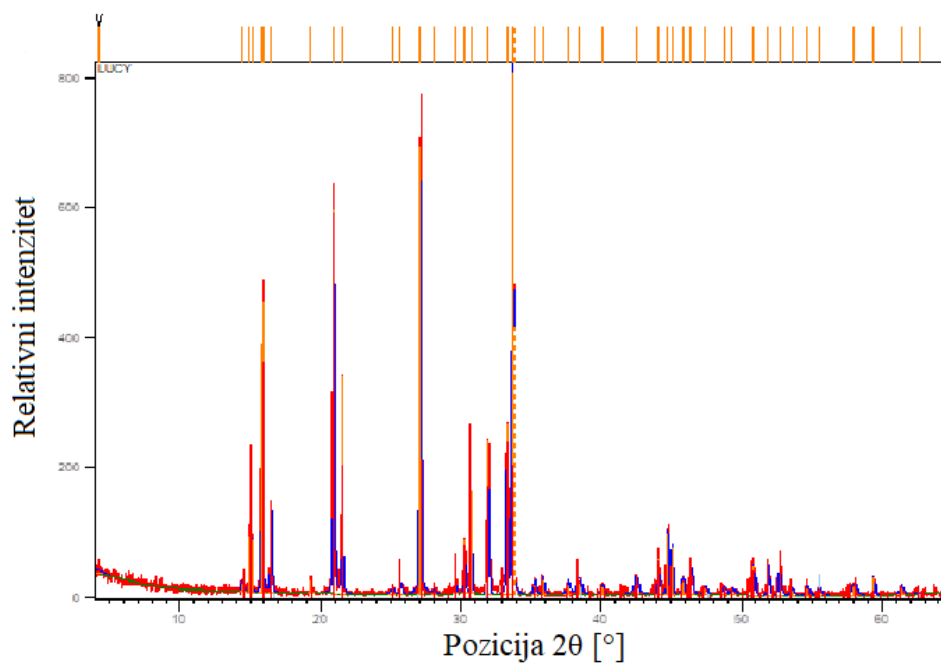




Rendgenogram uzorak KH

Popis minerala prisutnih u uzorku KH

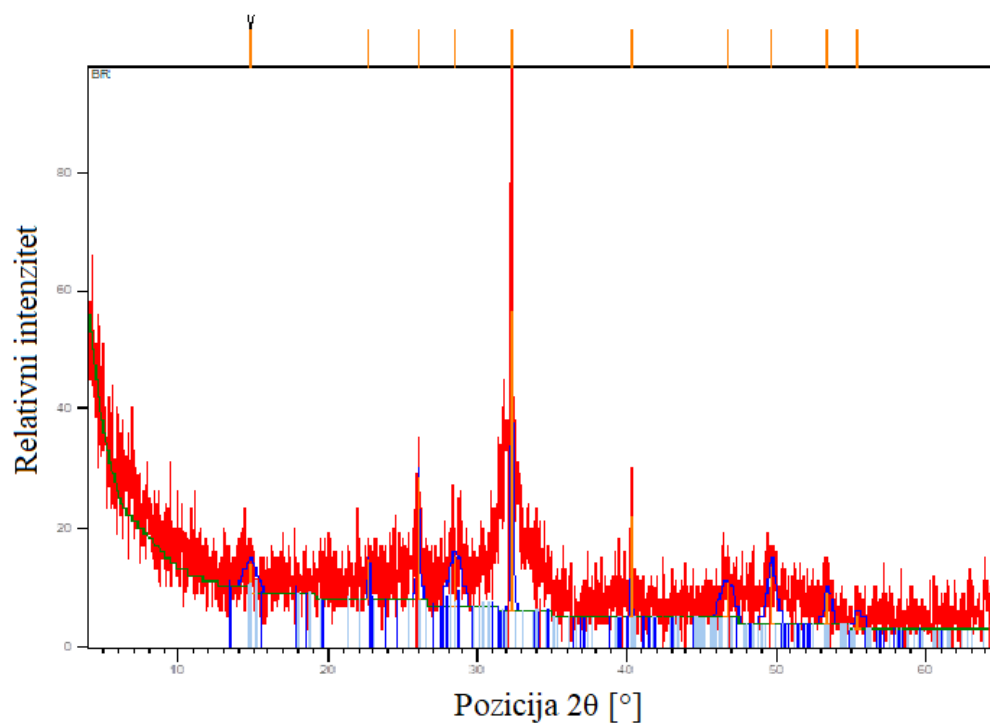
BROJ KARTICE	NAZIV MINERALA	KEMIJSKA FORMULA
01-077-2303	Magnezijski amonijak fosfat heksahidrat	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$



Rendgenogram uzorak PL

Popis minerala prisutnih u uzorku PL

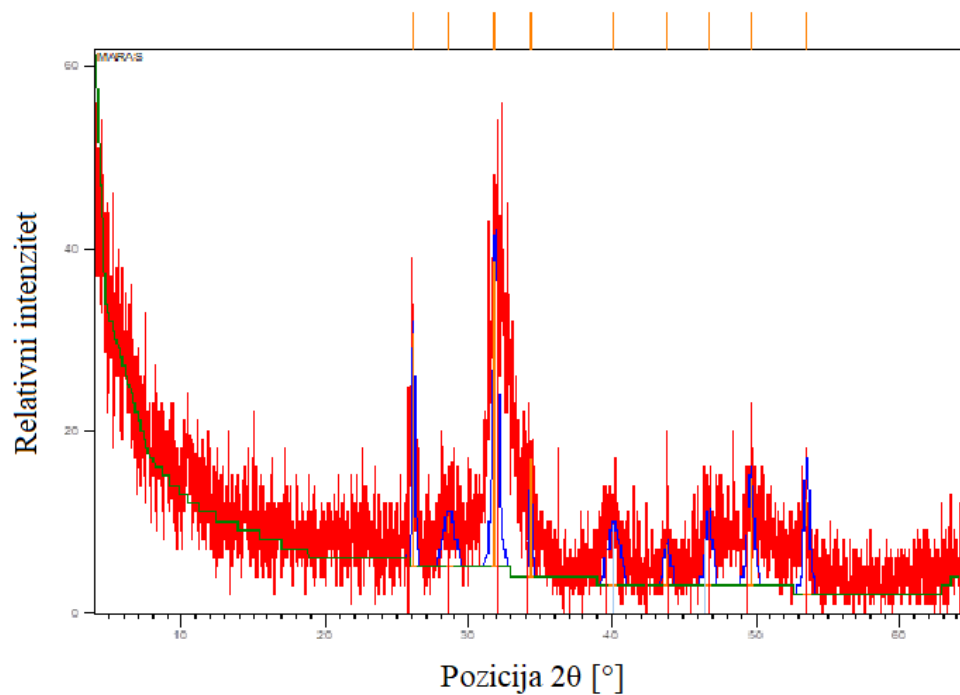
BROJ KARTICE	NAZIV MINERALA	KEMIJSKA FORMULA
01-077-2303	Magnezijski amonijak fosfat heksahidrat	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$



Rendgenogram uzorak BR

Popis minerala prisutnih u uzorku BR

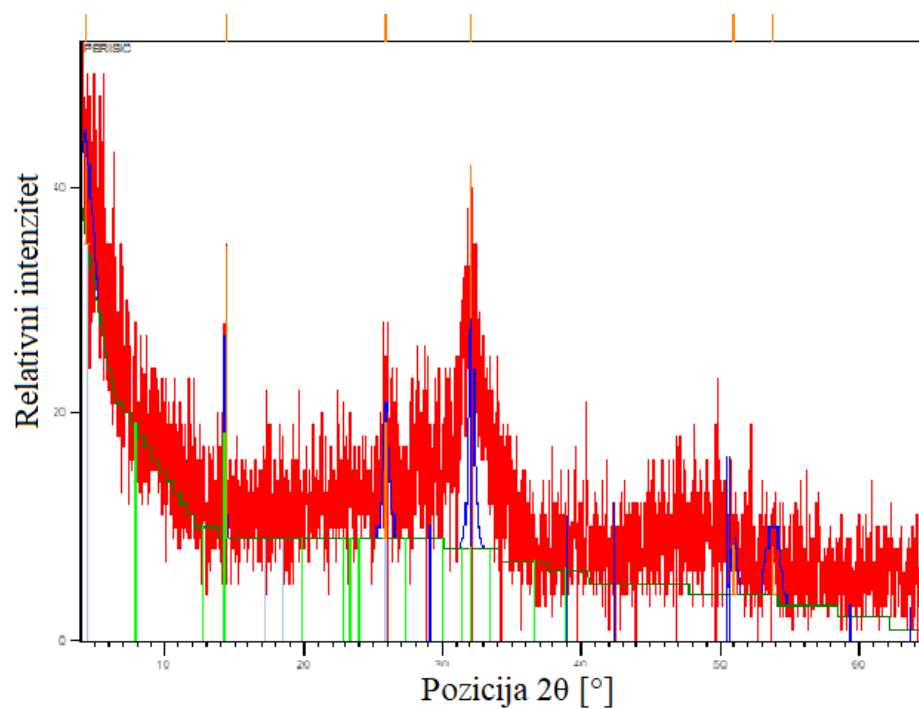
BROJ KARTICE	NAZIV MINERALA	KEMIJSKA FORMULA
00-001-1008	Hidroksiapatit	$\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$



Rendgenogram uzorak MA

Popis minerala prisutnih u uzorku MA

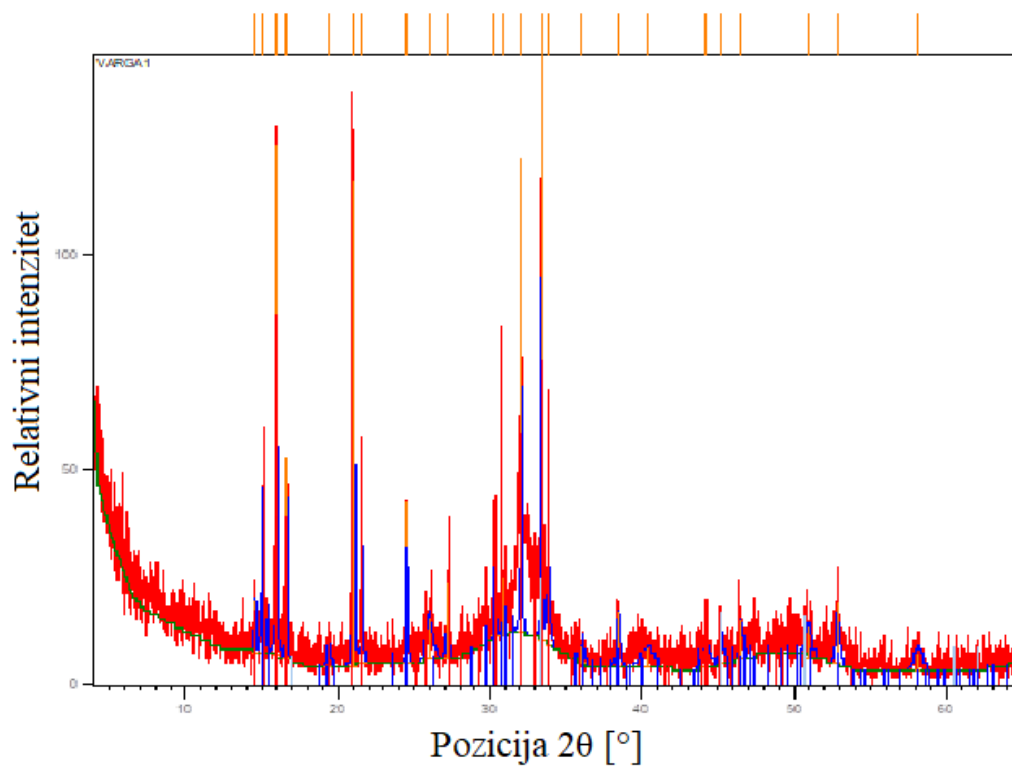
BROJ KARTICE	NAZIV MINERALA	KEMIJSKA FORMULA
00-001-1008	Hydroxyapatite	$\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$



Rendgenogram uzorak PE

Popis minerala prisutnih u uzorku PE

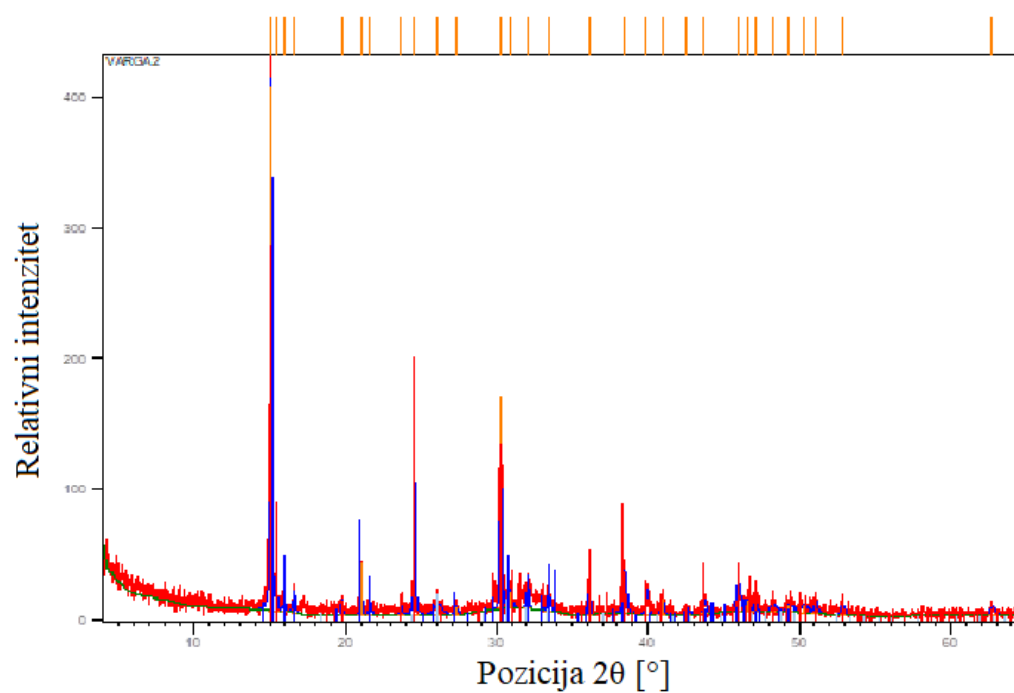
BROJ KARTICE	NAZIV MINERALA	KEMIJSKA FORMULA
00-001-1008	Hydroxyapatite	$\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$
00-003-0670	Calcite	$\text{CaCO}_3$



Rendgenogram uzorak LJV1

Popis minerala prisutnih u uzorku LJV1

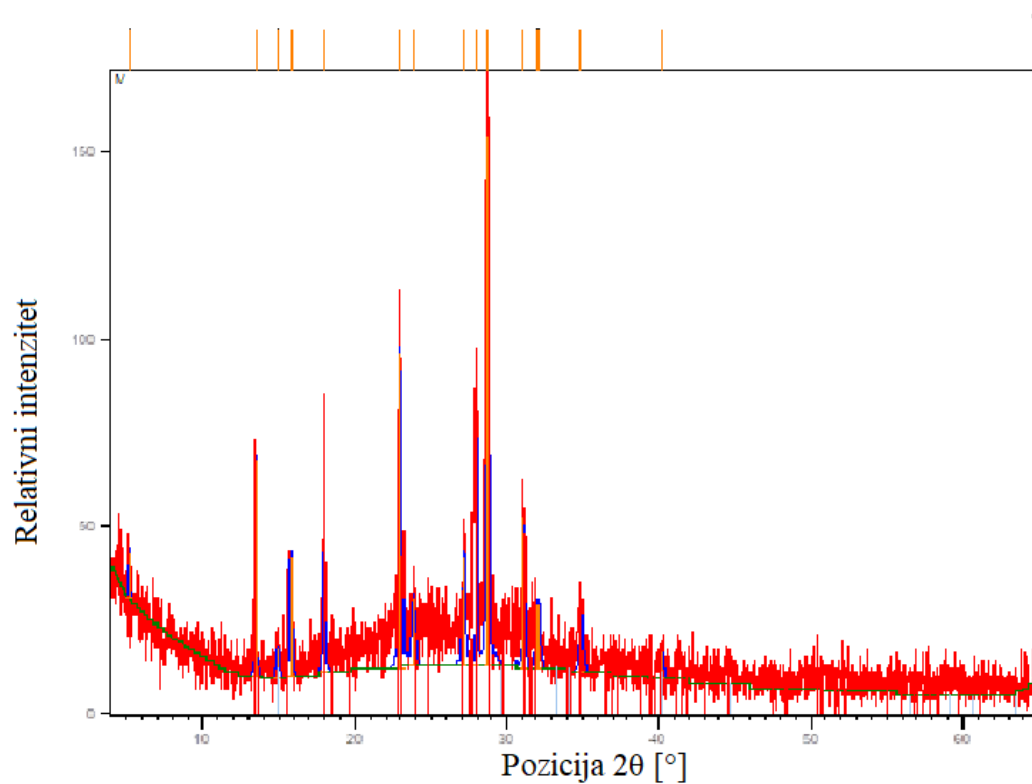
BROJ KARTICE	NAZIV MINERALA	KEMIJSKA FORMULA
00-015-0762	Struvit, syn	$\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$
00-016-0379	Whewellit	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \times \text{H}_2\text{O}$



Rendgenogram uzorak LJV2

## Popis minerala prisutnih u uzorku LJV2

BROJ KARTICE	NAZIV MINERALA	KEMIJSKA FORMULA
00-020-0231	Whewellit, syn	$C_2CaO_4 \times H_2O$
00-015-0762	Struvit, syn	$NH_4MgPO_4 \times 6H_2O$



Rendgenogram uzorak IV

Popis minerala prisutnih u uzorku IV

BROJ KARTICE	NAZIV MINERALA	KEMIJSKA FORMULA
00-028-2016	Uricit, syn	$C_4(NH)_2O_2C(NH)_2O$