

D - 356

UNIVERZITET U NOVOM SADU
Prirodno-matematički fakultet
Institut za hemiju

Природно-математички факултет
Радна заједница за научних послова
Институт за хемију

| | |
|----------------|--------------------|
| Време: | 16. sept 1997. |
| Орг. јединица: | Институт за хемију |
| Број: | 0603 9/225 |

UPOREĐIVANJE REZULTATA ANALIZA
BUBREŽNIH I ŽUČNIH KAMENA DOBIVENIH
RAZLIČITIM METODAMA

DIPLOMSKI RAD

Marinko Đ. Petković

NOVI SAD
SEPTEMBER, 1997.

Kandidat

Marinko D. Petković

Članovi komisije:

1. Biljana Kramarović
2. Senka Šarić
3. Hobodanka Stojanović
4. Vesna Ribićević

Diplomski rad odbranjen ocenom 10 (deset)

Novi Sad
23. 09. 1997. godine

*Mami i tati, sa ljubavlju,
za sve godine podrške i razumevanja*

Kao student na multidisciplinarnim studijama PMF, naučio sam da se rešenje većine problema može pronaći uporednim izučavanjem više fundamentalnih nauka. Verujem da je cilj mojih nastavnika ostvaren ovim radom. Ovaj rad je rađen u više laboratorijskih Univerziteta u Novom Sadu i to u Laboratoriji za instrumentalnu analizu Instituta za hemiju PMF, Laboratoriji za strukturu analizu kristala Instituta za fiziku PMF i Kliničkoj laboratoriji Instituta za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Medicinskog fakulteta u Novom Sadu.

Obzirom da sam imao tu sreću da mi u toku njegove izrade pomaže više lica, koristim ovu priliku da im se na tome zahvalim.

Izuzetnu zahvalnost dugujem prof. dr Ferencu Gaál-u, koji je rukovodio ovim radom, za pruženu podršku svojim brojnim i korisnim sugestijama, kako u izvođenju eksperimenta tako i pisanju diplomskog rada.

Prof. dr Biljani Abramović se najiskrenije zahvaljujem na dragocenim savetima iz oblasti mikrohemografske analize.

Prof. dr Slobodanki Stanković se najtoplje zahvaljujem na pomoći, brojnim i dragocenim sugestijama u toku eksperimentalnog dela, posebno iz oblasti difrakcije X-zračenja.

Posebnu zahvalnost dugujem mojim kolegama i osoblju Kliničke laboratorije Instituta za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Novi Sad, koji su svako na svoj način pomogli u toku rada i tokom studiranja.

Zahvalanost dugujem asistentu-pripravniku na predmetu Instrumentalna analiza dipl. ing. Sanji Tepavčević na požrtvovanom radu i tehničkoj pomoći.

Takođe bih se zahvalio mr sc. med. dr Jasmini Katanić, mr sc. med. dr Nadi Konstantinidis, mr sc. med. dr Đordju Mačvaninu, mr ph. Bojani Mutavdžijev, dr sc. med. Milesi Đapić, mr ph. Jasni Radišić-Bosić, dr sc. med. Slobodanu Jovanoviću i mr sc. med. Jovanki Kolarović.

Zahvaljujem se i dr Nebojši Dejanoviću i drugom osoblju Klinike za urologiju Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, kao i Odcljenju za hematologiju i onkologiju Instituta za zdravstvenu zaštitu dece i omladine.

U ovom radu je korišćena literatura iz baze podataka MEDLINE i POP-LINE zahvaljujući mojim kolegama iz Odcljenja socijalne pedijatrije Instituta za majku i dete u Novom Beogradu i ovom prilikom im se posebno zahvaljujem.

Mojoj sestri Marini Petković takođe dugujem zahvalnost na studioznom čitanju i lektorskim ispravkama mog diplomskog rada.

Zahvaljujem se prijateljima i svima drugima koji su na bilo koji način doprineli da ovaj rad izgleda ovakav kakav jeste.

S a d r ž a j

| | |
|---------------------------------------------------|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DEO | 3 |
| 2.1. Istorijat bolesti stvaranja kamenja | 3 |
| 2.2. Fiziologija bubrega i žuči | 4 |
| 2.2.1. Sastav i osobine mokraće | 6 |
| 2.2.2. Sastav i osobine žučnog sekreta | 7 |
| 2.3. Bolest stvaranja kamenja | 8 |
| 2.3.1. Kamen mokraćnih puteva | 8 |
| 2.3.1.1. Sastav kamenja | 10 |
| 2.3.1.2. Vrste kamenja | 12 |
| 2.3.2. Kamen u žuči | 18 |
| 2.3.2.1. Sastav kamenja | 18 |
| 2.3.2.2. Vrste kamenja | 19 |
| 2.4. Dobijanje uzoraka i nativni pregled | 20 |
| 2.5. Određivanje sastava kamenja | 23 |
| 2.5.1. Hemijske metode | 25 |
| 2.5.1.1. Kvalitativna hemijska analiza | 25 |
| 2.5.1.2. Kvantitativna hemijska analiza | 29 |
| 2.5.2. Fizičke metode | 33 |
| 2.5.2.1. Difrakcija X-zraka | 33 |
| 2.5.2.2. Infracrvena spektrometrija | 37 |
| 2.5.2.3. Pregled ostalih fizičkih metoda | 40 |
| 2.5.3. Rešavanje problema u svetu i našoj okolini | 42 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DEO | |
| 3.1. Ispitivani uzorci, hemikalije i rastvori | 47 |
| 3.2. Korišćena oprema i pribor | 51 |
| 3.3. Kvalitativna analiza | 52 |

| | |
|-----------------------------------------------------|-----|
| 3.3.1. Mikrohemijska analiza | 52 |
| 3.3.1.1. Postupak | 52 |
| 3.3.1.2. Rezultati | 55 |
| 3.3.2. Infracrvena spektrometrijska analiza | 56 |
| 3.3.2.1. Postupak | 56 |
| 3.3.2.2. Rezultati | 56 |
| 3.3.3. Analiza difrakcijom X-zraka | 58 |
| 3.3.3.1. Postupak | 58 |
| 3.3.3.2. Rezultati | 59 |
| 3.4. Kvantitativna analiza | 61 |
| 3.4.1. Određivanje oksalata | 61 |
| 3.4.2. Određivanje kalcijuma | 63 |
| 3.4.3. Određivanje magnezijuma | 65 |
| 3.4.4. Određivanje fosfata | 67 |
| 3.4.5. Određivanje amonijum jona | 69 |
| 3.4.6. Određivanje mokraćne kiseline | 70 |
| 3.4.7. Određivanje holesterola | 72 |
| 3.4.8. Određivanje zbira karbonata i kristalne vode | 74 |
| 3.5. Zaključak | 75 |
| 4. IZVOD | 78 |
| 5. SUMMARY | 79 |
| 6. LITERATURA | 80 |
| 7. PRILOG | 85 |
| 7.1. Infracrveni spektri analiziranih uzoraka | 85 |
| 7.2. Difraktogrami analiziranih uzoraka | 94 |
| BIOGRAFIJA | 113 |
| KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA | 112 |
| KEY WORDS INFORMATION | 114 |

1. UVOD

Supstance čvrstog agregatnog stanja su vekovima budile radoznalost nauke i čovečanstva uopšte. Neki su im pridavali božanska svojstva, naučnici su težili da upoznaju njihov sastav, a nesrećnim ljudima su zadavale jak bol.

Čvrsta supstanca, kamen ili kamenac može nastati u prirodi, ali i u živom organizmu. Ovaj rad prikazuje primer kamena nastalog u mokraćnom sistemu čoveka, posebno onog nastalog u bubregu i u žučnoj kesi.

Problem nastanka kamena u organizmu čoveka je u medicini poznat pod imenom litijaza (*Lithiasis*). Pojava kamena u mokraćnom sistemu naziva se urolitijaza (*Urolithiasis*). Tačnom lokalizacijom kamena npr. u bubregu izvodi se naziv nefrolitijaza (*Nephrolithiasis*). Isto tako se često kamen može sresti i u žučnoj kesi - holelitijaza (*Cholelithiasis*).

Problem ispitivanja kamena mokraćnog sistema dugo vremena je bio rezervisan samo za lekare u medicinskim istraživanjima, ali napretkom nauke, posebno eksperimentalnog dela prirodnih nauka, multidisciplinarnost ovog istraživanja predstavlja neminovnost. Naime, samo kompleksnim i studioznim uključivanjem stručnjaka više naučnih disciplina moguće je dobiti korisne i detaljne informacije o kamenu u organizmu čoveka.

U svetu se ispitivanja i proučavanja kamena stvorenog u organizmu čoveka rade po programima, koji prema svojoj koncepciji mogu biti: centralizovani ili multicentrični.

Tako npr. sedamdesetih godina u bivšoj DDR je nastala grupa pod nazivom Urološko društvo, u okviru koga su stvorili program za istraživanje kamena, a sve u cilju što jednostavnijeg lečenja bolesnika.¹ Centar u Jeni, pri Urološkoj univerzitetskoj klinici, poseduje banku podataka (uzoraka), čiji se parametri svake godine sa različitim aspekata vrednuju. Ovakav način ispitivanja dao je tačnu sliku o učestalosti bolesti, incidenciji pojedinih vrsta kamenja, kao i o dejstvu terapije, što je primer jednog dobrog centralizovanog istraživanja.

U našoj sredini postoji multicentrični sistem istraživanja mokraćnog kamenja. Istraživački centri se uglavnom nalaze pri univerzitetima. Tako su obimna istraživanja vršena iz ove oblasti²⁻⁵ u saradnji Klinike za urologiju Medicinskog fakulteta i Instituta za fiziku Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu.

Cilj ovog rada je komparativno ispitivanje bubrežnih i žučnih kamenja različitim fizičko-hemijskim metodama, s posebnim naglaskom na osvajanje i uhodavanje mikrohemihskih postupaka analize.

Rad se sastoji iz dva dela: *Teorijskog* i *Eksperimentalnog*.

U *Teorijskom* delu rada prikazani su najvažniji detalji o nastanku kamenja i problemima vezanim za bolest stvaranja kamenja. Dat je kratak pregled fizičkih i hemijskih metoda za određivanje sadržaja nastalog kamenja. Na kraju teorijskog dela prikazana su iskustva stranih istraživača ove bolesti. Poglavlje je ilustrovano fotografijama odabralih, karakterističnih i u ovom radu analiziranih bubrežnih i žučnih uzoraka kamenja.

U *Eksperimentalnom* delu rada opisani su analizirani uzorci kamenja iz mokraćnog sistema i žuči, hemikalije i rastvori, korišćena oprema i pribor. U posebnom poglavlju su prikazani uporedni rezultati. U prilozima su dati snimci infracrvene spektrometrije i difrakcije X-zračenja, kako bi mogli poslužiti za naredna istraživanja iz ove oblasti.

2. TEORIJSKI DEO

2.1. Istorijat bolesti stvaranja kamena

Bolest stvaranja kamena u bubregu poznata je od davnina. Vekovima su lekari starih naroda tražili uzroke nastanka i način lečenja kako bi se sprečilo javljanje ove bolesti.

Stari Grci su dobro poznavali ovu bolest. Hipokrat (460-370. godine p.n.e.) je prvi precizno opisao bolest, njene simptome i dao predlog lečenja. Rimski lekari Celzus i Galen su u svojim studijama iz medicine opširno pisali o litijazi i čak pravili razliku između litijaze bubrega i mokraćne bešike. Galen je među prvima pokušao da objasni nastanak bolesti. Prepostavio je da bolest nastaje usled poremećaja u metabolizmu, ali nije znao kog.^{6,7}

U IX veku arapski lekari Serapion i Avicena spominju mogućnost operativnog lečenja litijaze. Avicena je prvi predložio lečenje litijaze sredstvima za rastvaranje (peršun, kukuruzna svila), a sam u njih nije verovao. Prvu klasifikaciju bubrežnog kamenja uradio je Paracelzus u XVI veku, čovek koji se dugo bavio etiologijom ove bolesti.

Dugi niz godina istraživači su tragali za uzrokom nastanka kamena. Razvojem hemije i otkrićem organskih supstanci otvoren je nov put u istraživanju litijaze. U XVII veku Hajd (A.Heyde) je ispitivao jezgro kamenja sastavljenog od koloidne strukture i proteina, koji se nisu rastvarali u blagim kiselinama.⁶

Na kraju XVIII veka lekari su primenjivali znanja iz hemije za rešavanje medicinskih problema kao što je litijaza.⁸ Prvi korak je učinio Šele (Scheele) u Švedskoj kada je, ispitujući kamen mokraćnog sistema, otkrio mokraćnu kiselinu. U narednih trideset godina Furkro (Fourcroy) i Voklen (Vauquelin) u Parizu, Vulesten (Wollaston), Pirson (Pearson), Marset (Maracet) i Praut (Prout) u Londonu identifikovali su razne vrste soli, koje ulaze u sastav kamena. Ova grupa istraživača opisala je i uslove pod kojima ove soli kristališu *in vitro*. Čak se spominju i retke komponente kamenja kao što su cistin i ksantin. Ovaj period se smatra za početak nove discipline u hemiji - klinička hemija.

Kada su početkom XX veka (1901. godine) počela istraživanja grobnica, u Dolini Kraljeva, arheolog Eliot Smit (E. Smith) pronašao je mumiju mladog muškarca u kojoj je nakon ispitivanja pronađen kamen u mokraćnoj bešici. Analizom ovog kamenja utvrđeno je da se sastoji iz kalcijum-oksalata i struvita, dok je nukleus izgrađen od mokraćne kiseline.¹

Ova vrsta kamena i danas se veoma često sreće.⁹ Detaljnim ispitivanjem oko 9000 mumija nađena su još četiri slučaja litijaze i to dva u bubregu i dva u mokraćnoj bešici.^{1,6}

Na osnovu iznetih podataka može se zaključiti da je urolitijaza bolest koja prati čovečanstvo od njegovog postanka.

2.2. Fiziologija bubrega i žuči

Sredina kao što je organizam strogo je kontrolisana u smislu temperature, pH vrednosti i koncentracije materija rastvorenih u tečnostima. Organizam se za održavanje unutrašnje ravnoteže služi organima za izlučivanje. Sve materije i produkti metabolizma se uglavnom izbacuju putem bubrega, osim CO₂. Urotrakt ili sistem mokraćnih kanala predstavlja sistem najvažnijih organa za izlučivanje koga sačinjavaju: bubrezi, bubrežna karlica, ureteri, bešika i uretra. Glavna uloga u funkciji izlučivanja pripada bubrežima. Bubreg je organ smešten u zadnjem delu trbušne duplje u visini dvanaestog rebra i to tako da je desni nešto niži od levog. To je parni organ i ima sekretornu i ekskretornu ulogu u organizmu. Oblik bubrega podseća na zrno pasulja. Mikroskopski gledano razlikuje se: spoljašnji luk koji je konveksan i unutrašnji luk koji je konkavan. Kod odraslog čoveka težina bubrega iznosi 100 - 200 g, dužina 11 cm, širina oko 5 cm, a debljina 3 cm. Površina je glatka i crveno plavkaste boje. Na mikroskopskom pregledu uočavaju se dva dela spoljašnji ili ovojnica (cortex) i unutrašnji (medula). Medularnu supstanciju izgrađuju piramide, kojima je baza okrenuta ka spoljašnosti, a vrhovi ka unutrašnjosti bubrega. U pogledu građe i u funkcije bubrega osnovna jedinica je nefron.¹⁰

Osnovna funkcija nefrona je da "čisti" krvnu plazmu od nepoželjnih i toksičnih materija. Produkti metabolizma kao što su karbamid (urea), kreatinin, mokraćna kiselina (urati), mogu izazvati poremećaje u organizmu, ako se njihova koncentracija poveća. Oba bubrega zajedno sadrže oko $2,4 * 10^6$ nefrona, a svaki sam za sebe može stvarati osnovni produkt funkcije bubrega - urin ili mokraću.¹¹

Nefron se sastoji iz dva dela Malpigijevog telašca i bubrežne cevi. Funkcija nefrona je u direktnoj vezi sa njegovom građom i u mnogome podseća na Bihnerov levak u hemiji.

Tačan mehanizam nastanka mokraće još uvek delimično predstavlja zagonetku.

Smatra se da proces stvaranja mokraće počinje filtracijom plazme u delovima nefrona (glomeruli), pri čemu nastaje glomerularni filtrat ili primarna mokraća. Protok krvi kroz oba bubrega muškarca, koji je težak 70 kg iznosi oko $1200 \text{ cm}^3/\text{min}$. Svakodnevno se filtrira oko 200 dm^3 plazme, a kao krajnji produkt mokraća se izlučuje u količini od 0,5 do 2 dm^3 u zavisnosti od godišnjeg doba i sredine u kojoj se organizam nalazi.¹¹

Ovakvo variranje u količini filtrirano - izlučeno posledica je regulatorne uloge bubrega. Velike količine tečnosti (voda) i mineralnih materija (Na, K, Cl, Ca, Mg,...) ponovo se apsorbuju u proksimalnim tubulima nefrona i pri tom se podešava koncentracija rastvorenih materija. Doterivanje sastava primarne mokraće vrši se u distalnim tubulima pod dejstvom hormona.¹²

Mokraća predstavlja presičen rastvor materija koje su filtracijom prešle iz plazme. Prema hemijskoj definiciji o proizvodu rastvorljivosti očekivala bi se pojava kristalizacije materija u mokraći. To se u zdravim osoba ne dešava. Kako mokraća predstavlja proizvod bubrežne filtracije svako odstupanje od normalnog sastava može da pokaže pojavu poremećaja ili bolesti.

U metabolizmu hranljivih materija posebno mesto zauzima promet masti zbog velike energije koja se oslobađa u toku hemijskih promena. Jetra kao centralni organ može se nazvati laboratorijom organizma. Funkcija jetre je slična funkciji bubrega tj. ima regulatornu i metaboličku ulogu. Najvažnija funkcija je održanje koncentracije glukoze u krvi. Kada ta koncentracija naglo poraste, jetra vrši konverziju ugljenih hidrata u oblik, koji se može skladištiti (masne kiseline).

Sintetska uloga se posmatra na nivou hepatocita, ćelija koje izgrađuju tkivo jetre, gde se sintetizuju proteini plazme, faktori koagulacije, lipoproteini i primarne žučne kiseline.¹² Značajna uloga jetre je i detoksikacija odnosno konvertovanje produkata metabolisme i unetih materija (lekovi, toksini) u neškodljive za organizam.

Hepatociti imaju i sekretornu ulogu. Svakodnevno se stvara žučni sekret koji ima važnu ulogu u metabolizmu masti. Žučni sekret se putem sistema kanalića skuplja u centralnu kesicu odakle se izbacuje u digestivni sistem, gde pokazuje svoju pravu funkciju.

2.2.1. Sastav i osobine mokraće

Mokraća je ekskret, proizvod lučenja bubrega, kojim organizam eliminiše višak vode, mineralnih soli i niz krajnjih proizvoda metabolizma, a naročito metabolizma azotnih materija zbog čega ima veću gustinu od vode. Normalna mokraća je bistra, boje bledo do zatvoreno žute i ima specifičan miris. Njena količina je dosta promenljiva (0,5 - 2 dm³ dnevno), a zavisi od vrste hrane, količine unete tečnosti, fizičkih napora, temperature i dr. Sastav mokraće je vrlo promenljiv zavisno od količine soli i drugih jedinjenja i vode. pH vrednost mokraće kreće se u granicama 5,5 - 8,2 , kao posledica regulacije acido-baznog stanja u organizmu.¹¹

Normalni sastojci mokraće su: voda i rastvorene materije neorganskog ili organskog porekla. Normalno se u mokraći nalaze soli alkalnih i zemnoalkalnih metala sledećih kiselina: mokraće, oksalne, fosforne i karbonatne (ugljene) kiseline. Raspodela sastava mokraće je sledeća: 95-97% vode i 3-5% rastvorenih sastojaka. Od značaja je spomenuti da alkalni i zemnoalkalni metali predstavljaju najveći deo katjona. U najvećoj količini od svih katjona nalazi se natrijum u obliku natrijum-hlorida zatim kalijum, kalcijum, magnezijum i amonijum-jon. Ostali katjoni se nalaze u tragovima. Od anjona najzastupljeniji su hlorid, fosfat, hidrogenkarbonat i sulfat. Organski sastojci mokraće se mogu podeliti u azotna i bezazotna jedinjenja. Od azotnih jedinjenja važno je spomenuti ureu i mokraćnu kiselinu, kao krajnji proizvod metabolizma purinskih baza, a od bezazotnih jedinjenja najčešće se nalaze oksalati i ketonska tela. U patološkim stanjima tj. kod bolesnih osoba pored ovih sastojaka može se naći povećana količina proteina, ugljenih hidrata, žučnih boja, enzima, zatim ćelije tkiva (eritrociti, leukociti, ćelije pločastog i okruglog epitela).¹⁰ Određivanjem ovih sastojaka u mokraći, dobija se tačna slika o stanju urotrakta čoveka. Skup nalaza koji se dobija analizom mokraće, a odstupaju od normalnih fizioloških vrednosti naziva se mokračni sindrom. Mnoge bolesti imaju karakterističan mokračni sindrom, koji se utvrđuje metodama fizičkog, hemijskog i mikroskopskog pregleda.¹³

Već u normalnoj mokraći koncentracije nekih soli su veće od onih u zasićenom rastvoru tih soli. Način na koji se oni zadržavaju u stanju hiperrastvorljivosti još uvek je tajna. Postoji veliki broj teorija i pretpostavki, koje pokušavaju da objasne ovaj fenomen.

Pretpostavlja se da mukoproteini tipa Tamm-Horsfall, nefrokalcin, uropontin i bubrežni litostatin imaju ovu zaštitnu ulogu tj. funkciju održavanja rastvorljivosti soli.¹⁴⁻¹⁶ U poslednjih 30 godina istraživanja su pokazala švu složenost ovog problema, tako da uključivanje lica raznih profesija može dovesti do razjašnjenja ove pojave.

2.2.2. Sastav i osobine žuči

Žuč je složen rastvor sastavljen iz vode i u njoj rastvorenih neorganskih i organskih materija. Neorganski sastojci su uglavnom elektroliti (Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^-) u koncentraciji sličnoj kao u plazmi. Od organskih jedinjenja najčešće se mogu naći bilirubin, žučne soli, fosfolipidi i holesterol. Kako je holesterol nerastvorljiv u vodi, njegovo održavanje u rastvoru je postignuto prisustvom žučnih kiselina, koje imaju ulogu smanjenja površinskog napona.¹⁰

Holna i henodezoksi-holna kiselina su primarne žučne kiseline koje se nalaze u žučnoj kesi. Njihove soli se konjuguju sa aminokiselinama glicinom i taurinom i tako izlučuju u digestivni trakt. Pod dejstvom crevne flore i enzima, primarne žučne kiseline prelaze u tzv. sekundarne žučne kiseline: dezoksiholnu i litoholnu kiselinsku. Sekundarne žučne kiseline su aktivni oblik, koji ima važnu ulogu u biohemiji varenja i prometa masti.¹⁰ Žučne kiseline imaju ulogu deterdženta, tako da sa mastima formiraju micle i na taj način ih održavaju u rastvorenom stanju u vodi.¹⁷

Žučne kiseline se u većoj meri apsorbuju u nekim delovima digestivnog trakta i krvotokom ponovo dospevaju u jetru. Radi se o tzv. enterohepatičkom kruženju žučnih kiselina, odnosno njihovih soli. Smatra se da se dnevno celokupna količina žuči iz žučne kese 6-10 puta izluči i resorbuje u organizmu. Ukupna količina žuči iznosi 800-1000 cm³, međutim maksimalna zapremina žučne kese je 40-70 cm³. Jetra je prilagođena da vrši re-apso-rpciju vode i elektrolita iz žučnog sekreta pri čemu se dobija deset puta koncentrovanija žuč. Poznat je podatak da je koncentracija žučnih kiselina u žučnoj kesi šest puta veća u odnosu na jetrenu žuč.¹¹ U ovakovom koncentrovanim rastvoru svaki poremećaj u funkciji može dovesti do kristalizacije tj. litijaze.

2.3. Bolest stvaranja kamena

Ova bolest može nastati u organima gde dolazi do zadržavavanja tečnosti u organizmu i nije samo specifična za čoveka.^{1,18,19} Lokalizacija kamena može biti različita: duž mokraćnog sistema, u genitalnim organima, zglobovima, žučnoj kesi i pljuvačnim žlezdama.

2.3.1. Kamen mokraćnih puteva

Najčešće se kamen nalazi upravo u mokraćnom sistemu, te se u tom slučaju govor o urolitijazi (*Urolithiasis*). U mokraćnom sistemu incidencija je najveća u bubregu, tačnije u bubrežnoj čašici - nefrolitijaza (*Nephrolithiasis*). U većini slučajeva litijaza mokraćnog sistema se može podeliti na mikrourolitijazu i na pravu urolitijazu. Mikrourolitijaza podrazumeva prisustvo mikrokristala u urinarnom traktu, a prema kvantitativnoj meri može biti masivna i nemasivna.^{21,22}

Etiologija ili nastanak bolesti je još uvek nerazjašnjen. Urolitijaza je bolest prouzrokovana prisustvom i stvaranjem konkremenata u bubrežnim karlicama, čašicama i parenhimu bubrega. Ovi konkrementi se nazivaju kamen, kamenac ili pesak.

Urolitijaza nije izolovana bolest bubrega, već se može javiti u svim delovima mokraćnog sistema kako unilateralno tako i bilateralno.¹⁰ Faktori koji utiču na stvaranje kamena su složeni, mnogobrojni, a neki i nedovoljno razjašnjeni. Mogu se posmatrati u zavisnosti od pola, starosti bolesnika, klime, rasne pripadnosti, profesije, ishrane itd.

Urađen je veliki broj studija, ali nijedna sa velikom preciznošću nije mogla da objasni uticaj ovih faktora. Tako bi bilo za očekivati da ljudi koji žive u tropskim krajevima, gde je zbog klimatskih uslova povećan gubitak vode iz organizma, češće oboljevaju od ove bolesti. Ova tvrdnja se pokazala netačnom. Iz literature se navodi primer da crni čovek izuzetno retko oboljeva od ove bolesti.²³ Statistikom na različitim mestima u svetu, utvrđeno je da muškarci oboljevaju češće od žena.^{9,24}

Značaj ove bolesti danas je veći²⁵ nego ranije jer se zna da od ove bolesti oboljeva 3% radno sposobnog stanovništva, a u poslednje vreme sve je više referata o litijazi u dece različitog uzrasta. Da bolest nije strogo povezana sa starostí bolesnika govor i primer

pojave kamena u vrlo male dece.²⁶⁻²⁸ Isto tako je zapaženo da u nekim krajevima sveta preovlađuju samo određene vrste litijaze. Tako je u Aziji najčešći kamen sastavljen od kalcijum-oksalata,^{29,30} a na Bliskom istoku uratni kamen.³⁰ Ako se posmatra zavisnost litijaze i profesije, tada podaci govore da je učestalost veća u osoba koje se bave zanimanjima vezanim za zatvoren prostor, ograničenost ventilacije i vlažnosti. U slučaju dvanaest kosmonauta, koji su boravili na ruskoj orbitalnoj stanici Mir, prikazano je da su u toku boravka imali pojavu peska (mikrolitijaza), koji se uglavnom sastojao iz kalcijum-oksalata, mokraćne kiseline i brušita.³¹

U izučavanju ove bolesti treba razlikovati dve faze: stvaranje kamena (I faza) i stvoren kamen (II faza). Prva faza je još uvek nedovoljno poznata iako postoji više teorija o nastanku kamena. Druga faza ili stvoren kamen manifestuje se svim znacima bolesti i relativno je dobro izučena. Detalji o ovoj bolesti mogu biti objašnjeni samo ako se dobro prouči prva faza ove bolesti. Najinteresantnija i za sada najprihvatljivija je teorija zaštitnih koloida, mada i druge teorije uspešno tumače pojedine segmente ove bolesti.^{6,20}

Teorija zaštitnih koloida datira iz 1861. godine kada je Graham (T. Graham) prvi uočio razliku između koloida i kristaloida. Krajem prošlog veka Lihtvic (Lichtwitz) i Šade (Shade) dali su objašnjenje da kamen u bubregu nastaje poremećajem kristaloidno - koloidne ravnoteže. U normalnim uslovima ne dolazi do kristalizacije organskih i neorganskih soli rastvorenih u mokraci. Soli se nalaze rastvorene samo zahvaljujući ovim koloidima i pogodnoj pH vrednosti mokraci. Zaštitni koloidi spadaju u grupu proteinskih jedinjenja i oni su u manjoj ili većoj količini rastvorenih u mokraci. Literatura navodi da pripadnici crne rase i trudnice¹⁰ veoma retko oboljevaju od ove bolesti. Razlog za takvo stanje upravo leži u koncentraciji zaštitnih koloida u mokraci ovih osoba. Predpostavlja se da je funkcija ovih zaštitnih koloida u tome da oni okružuju kristale i ne dozvoljavaju im da se spoje.

Rendal (Rendall) je izučavajući ovu bolest u periodu 1937.-1940. godine, dao teoriju po kojoj kamenje nastaje posle povreda unutrašnjeg dela bubrega. Na tim mestima nastaju krečne mrlje, koje docnije postaju kristalizaciona zrna za kamen.⁶ Ostali autori, Koh (Koch, 1953.), Bošamer (Boshamer, 1951.) i Kar (Caar, 1956.) su samo delimično uspeli da objasne pojedine vrste nefrolitijaze.

Na osnovu rezultata dosadašnjeg izučavanja kamenja moguća je njihova klasifikacija na organske i neorganske. Kamenje organskog porekla sa najvećom incidencijom izgrađen je od urata, dok je kamenje od cistina, ksantina i sulfonamida izuzetno retko.³² Učestalije je kamenje neorganskog porekla i to od kalcijum-oksalata, kalcijum-fosfata i smeša

ovih dvaju oblika (kalcijum-oksalat-fosfatni). Prema višegodišnjem iskustvu,²⁰ urolitijaza i mikrourolitijaza se na osnovu sastava kamenog mokraća mogu podeliti na sledeće vrste:

- kalcijum - oksalatna (čista),
- kalcijum - oksalat - fosfatna (mešovita),
- kalcijum - oksalat - uratna (mešovita),
- uratna,
- fosfatna,
- cistinska i
- ksantinska.

Faktori rizika²⁰ u fazi stvaranja kamenog mokraća mogu se podeliti na: epidemiološke, urinarne, kombinovane i fizičko-hemijske. Stvaranju kamenog mokraća pogoduju hiperkalcijemija, alkalna reakcija mokraće, oligurija, prisustvo jezgra kristalizacije od soli ili proteinskog ili polisaharidnog jedinjenja nazvanog uromukoid. Najveći značaj imaju zastoj mokraće i infekcija mokraćnih puteva.¹⁰

2.3.1.1. Sastav kamenog mokraća

Kamen se može sastojati od materija, koje se normalno ne nalaze u mokraću, ali usled poremećaja metabolizma, oštećenja funkcije glomerularne filtracije ili unošenjem tih materija bilo oralno ili paranteralno u organizam mogu postati litogene materije koje formiraju kamen.³³

Kod određenih patoloških stanja, kao sekundarna bolest, javlja se kamen mokraćnog sistema. Pojava litijaze bubrega kao sekundarne bolesti, može nastati kao posledica primene terapije u lečenju nekog primarnog oboljenja. Najčešće se kamen javlja u toku lečenja malignih oboljenja krvi (razne vrste leukemija), gde se primenjuju lekovi iz grupe citostatika. Dejstvo citostatika se zasniva na uništenju malignih ćelija, pri čemu se oslobođa velika količina purinskih jedinjenja, koja u svom metabolizmu trpe promene do mokraćne kiseline, a konačna eliminacija iz organizma se vrši preko bubrega. U sadejstvu sa drugim litogenim faktorima u ovim slučajevima postoji velika mogućnost stvaranja kamenog mokraćnog sistema.³⁴

Usled duge imobilizacije, nakon teških povreda koštanog tkiva, u mokrači postoji povećano izlučivanje kalcijuma i fosfata. Kod ovog stanja pacijenata moguće je očekivati pojavu kamena ovih litogenih materija.¹⁰

Takođe se može očekivati nastanak urolitijaze, usled prekomernog uzimanja vitamina D, koji u fiziološkim uslovima povećava izlučivanje kalcijuma iz organizma. Ako se na ovo doda nepravilna ishrana, tada je velika verovatnoća stvaranja kamena u čijem sastavu kalcijum ima glavnu litogenu ulogu.³⁵

Ukoliko se ispituje uzorak kamena većih dimenzija, na njegovom poprečnom preseku se može uočiti raspored litogenih materija. Na svakom preseku se uočava jezgro i koncentrični slojevi nataloženih materija (slika 1.).



Slika 1. Poprečni presek kamena na kome se jasno vide koncentrični slojevi nataloženih materija. Uzorak BIF 2 dobijen operativno.

Još od 1928. godine Lihtvic je u svojoj studiji opisao jezgro kamena kao inicijalni deo oko kojeg se naknadno talože kristalne materije. Dokazano je da nakon rastvaranja oksalatnog i fosfatnog kamena u HCl i HNO_3 ostaje nerastvorni deo, koji predstavlja jezgro kamena. Kamen od kalcijum-oksalata može imati malo jezgro od cistina ili mokraćne kiseline. Magnezijum-amonijum-fosfati mogu se slagati u slojevima oko jezgra od kalcijum-

oksalata. Kod nekih vrsta kamenja sastav jezgra je još uvek nepoznat, ali u većini istraživanja se pokazalo da je to materija organskog porekla.^{10,36}

Prema hemijskom sastavu, kamenje mokraćnog sistema može se podeliti na neorgansko i organsko. Kamenje se može razlikovati i po svojoj kristalnoj strukturi, tako da se jednostavim postupkom može pronaći analogija sa mineralima koji se normalno nalaze u prirodi. Tablica 1. prikazuje mokraćno kamenje koje se javlja u organizmu čoveka.

Tablica 1. Sastav različitih vrsta mokraćnih kamenja³²

| Hemijski naziv | Formula | Poreklo * | Prirodni mineral |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|------------------|
| Mokraćna kiselina | C ₅ H ₄ N ₄ O ₃ | O | |
| Mokraćna kiselina dihidrat | C ₅ H ₄ N ₄ O ₃ x 2H ₂ O | O | |
| Amonijumhidrogen-urat | C ₅ H ₇ N ₅ O ₃ | O | |
| Kalcijum-urat | Ca(C ₅ H ₄ N ₄ O ₃) ₂ | O | |
| Cistin | C ₆ H ₁₂ N ₂ O ₄ S ₂ | O | |
| Ksantin | C ₆ H ₄ N ₄ O ₂ | O | |
| Kalcijum-oksalat-monohidrat | CaC ₂ O ₄ x H ₂ O | N/O | Vevelit |
| Kalcijum-oksalat-dihidrat | CaC ₂ O ₄ x 2 H ₂ O | N/O | Vedelit |
| Kalcijum-karbonat | CaCO ₃ | N | Kalcit |
| Trikalcijum-fosfat | Ca ₃ (PO ₄) ₂ | N | Vitlokit |
| Pentakalcijum-hidroksi-fosfat | Ca ₅ (PO ₄) ₃ OH | N | Hidoksiapatit |
| Kalcijum-fosfat bazni | Ca ₁₀ (PO ₄) _{6-x} (CO ₃) _{x+y} (OH) _{2-y} | N | Dalit |
| Kalcijum-hidrogen-fosfat-dihidrat | CaHPO ₄ x 2H ₂ O | N | Brušit |
| Magnezijum-hidrogen-fosfat-trihidrat | MgHPO ₄ x 3H ₂ O | N | Njuberit |
| Magnezijum-amonijum-fosfat-heksahidrat | MgNH ₄ PO ₄ x 6H ₂ O | N | Struvit |
| Magnezijum-amonijum-fosfat-monohidrat | MgNH ₄ PO ₄ x H ₂ O | N | |

* N= neorgansko poreklo , O= organsko poreklo

2.3.1.2. Vrste kamenja

Prilikom dijagnostikovanja urolitijaze u medicini se obično daje prednost glavnoj komponenti kamenja izostavljujući potpuni sastav i osobine. Poznavajući detaljni sastav kamenja moguće je načiniti podelu na vrste u zavisnosti od komponente čiji je sadržaj najveći u uzorku.

Tako se u *oksalatnom kamenju* javlja kalcijum-oksalat, koji je produkt metabolizma ugljenih hidrata. Ova vrsta kamenja se najčešće javlja u kiselim i sterilnim urinima. Najčešće su tvrdi i porozni, a površina je glatka i staklastog izgleda. Boja varira u širokom spektru od svetlo žute do tamno braon. Ovako velika variranja u boji mogu se objasniti time da se boje krvnim pigmentom. Oksalatno kamenje je često nepravilnog oblika i ako dođe do dislokacije duž mokraćnog sistema izazivaju krvavljenja, pri čemu stalno bivaju obliveni krvlju, tako da primaju krvni pigment (hemoglobin).³⁵ Jedan takav uzorak je prikazan na slici 2.



Slika 2. Uzorak oksalatnog kamenja; uzorak SZD4 dobijen nakon terapije udarnim talasima.

Na osnovu kristalografskih ispitivanja nađeno je da kalcijum-oksalat može postojati kao monohidrat (Vevelit) i kao dihidrat (Vedelit). Monohidratna forma oksalatnog kamenja je češća nego dihidratna.^{29,37,38}

Monohidratna forma kalcijum-oksalata ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \times \text{H}_2\text{O}$) javlja se u tri tipa. Najjednostavniji je tipa *hempseed*,⁴ koji ima glatku površinu i ovalan oblik, tako da podseća na semenku konoplje. Drugi tip može biti različite veličine i oblika. Na površini se uočavaju

⁴hempseed (engl.) - semenka konoplje

izrasline (mamile), tako da podsećaju na plod duda-mulberry²⁶ tip. Treći tip monohidratne forme je poznat pod imenom "jack stone" i njegova pojava je najčešća u mokraćnoj bešici. Ovaj tip se sastoji od guste centralne mase sa zrakastim izraslinama - spikulama, kao što je prikazano na slici 3. Kamenje ovog tipa je najčešće porozno, sa dubokim pukotinama.²⁰



Slika 3. Uzorak oksalatnog kamena koji ima nepravilni izgled; uzorak MSD 6 je spontano izmokren.

Dihidratni oblik oksalatnog kamena ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) je različitog izgleda, najčešće u vidu buzdovana ili ježa, sa izraženim bočnim kristalima, sa grubom kristalnom površinom, boje su bledo žute do boje meda.²⁰ Kristalna forma se dosta razlikuje od monohidratne (monoklinični), dok dihidrat kristališe tetragonalno i nema pukotina. U sedimentu mokraće javlja se u oktaedarskoj kristalnoj formi .

Ipak u praksi se najčešće sreće mešoviti tip oksalatnog kamenja, bilo kao homogene smeše monohidratne i dihidratne forme ili heterogene smeše oksalata sa fosfatom i to najčešće apatitom (slika 4). Učestalost ove poslednje je veća u odnosu na čistu oksalatnu litijazu.³⁷ Ovaj tip smeše je porozan i granulisan. Apatit se sreće u pukotinama oksalatnog kamenja.²⁰

²⁶mulberry (engl) - dud



Slika 4. Uzorak mokraćnog kamenja mešovitog sastava; slika prikazuje deo uzorka BBM 7 dobijenog terapijom udarnim talasima

Uratno kamenje se sastoji od mokraće kiseline i njenih soli. Mokraćna kiselina je krajnji proizvod metabolizma purinskih baza. Iz organizma se dnevno izluči oko 0,5-1 g mokraće kiseline. U nekim stanjima kao što je fizički napor, povišena temperatura, nepravilna ishrana, moguće je i udvostručavanje količina u mokraći. Najčešća pojava kamenja sastavljenog od mokraće kiseline je upravo u dečijem uzrastu. Takođe je važno napomenuti da u toku lečenja akutne leukemije u dece, dolazi do metaboličkih poremećaja u metabolizmu purinskih baza, pa je moguće naći povećanu koncentraciju mokraće kiseline u mokraći, a u nekim slučajevima i pojavu kamenja.³⁹ Uratno kamenje je takođe i geografski zavisno tj. uočen je i uticaj klimatskih faktora na nastajanje ove vrste litijaze.^{29,37,38}

Kamen od čiste mokraće kiseline ili kamen od soli iste kiseline javlja se u kiselim urinima. Boje je zlatnožute do tamno žute, glatke površine, srednje čvrstine, a oblika je okruglastog ili pljosnatog (slika 5). Na poprečnom preseku se vide koncentrični slojevi od nataloženog materijala i ne pokazuje kristalnu strukturu.



Slika 5. Uzorak mokraćnog kamena KIM 5 čiji je sastav određen kao mokraćna kiselina dihidrat

Fosfatno kamenje se javlja u alkalnoj mokraći. Ova vrsta kamenja je bele do svetlo žute boje, vrlo su krti i lako lomljivi (slika 6). Oblik fosfatnog kamena može da varira od vrlo malog, pa sve do same veličine bubrega. Takvo kamenje se naziva koraliformno i poprima izgled unutrašnjeg dela bubrežne čašice. Najčešće sastav odgovara kalcijum-fosfatu. Ukoliko postoji infekcija mokraćnog sistema, tada se stvara fosfatni kamen tipa struvita ili amonijum-magnezijum-fosfat-heksahidrata ($MgNH_4PO_4 \times 6H_2O$). Razlog za nastajanje ovog tipa kamena su bakterije koje u toku svog životnog ciklusa, enzimski razlažu ureu (karbamid) na amonijak. U vodenoj sredini daje amonijum-jon i u alkalnoj sredini se veže za već oformljen kamen fosfatnog tipa.

Najčešće se nalaze kombinacije ova dva tipa fosfatnih kamenja jer se infekcija povremeno leči, a i pukotine na pojedinim mestima u kamenu pogoduju bakterijama da prežive udarne doze antibiotika unetih u organizam.



Slika 6. Uzorak fosfatnog kamena; uzorak ĐED 3
dobijen posle terapije udarnim talasima.

Cistinski kamen, iako redak u nekim sredinama, pokazuje značajnim u izučavanju litijaze. Ova vrsta kamena je najčešće solitarna tj. ne stvara velike primerke. Boje je zlatnožute, karakterističan je voštani sjaj i vrlo je tvrd. Cistinski kamen se javlja najčešće u kiselim urinima, bez primesa drugih litogenih materija. Nastaje kao posledica pojačanog izlučivanja cistina putem mokraće. Aminokiselinu cistin je pronašao Volesten 1810. godine, kao jedini sastojak bubrežnog kamena. Proučavanjem ove vrste kamena došlo se do podatka da se najčešće javlja u jednoj porodici za koju je dokazano da boluju od cistinurije. Ispitivanjem 25 članova jedne porodice Endrjuz (C. Andrews) i Bruks (R. Brooks) su pronašli 7 slučajeva cistinurije sa mogućnosti stvaranja kamena.⁶

Statistika ove vrste litijaze pokazuje da se ona najčešće javlja u ostrvskim zemljama (V. Britanija, Japan), što se objašnjava slabom izmenom genetskog materijala. U prošlosti stanovništvo ovih ostrva je slabo ili nikako genetski komuniciralo sa velikim kontinentima, tako da su brakovi sklapani među daljim rođacima, što je naravno dovelo do pojave ove vrste genetske greške.⁴⁰

Karbonatni kamen se sastoji iz soli karbonata. Ova vrsta kamenja se vrlo retko javlja kao čista, kada se kamen pokazuje kao lako lomiv, ali čvrst i bele boje. Znatno češće se javlja u mešavini sa fosfatima kao kompleks karbonat-apatita.

Ksantinsko kamenje nastaje veoma retko. Ksantin je jedan od produkata metabolizma purinskih baza, a javlja se usled nedostatka enzima ksantin-oksidaze, koji vrši konverziju u mokraćnu kiselinu. Kada se nađe, tada se opisuje kao mrkosivi kamen glatke površine i vrlo često odaje utisak trošnog kamena. Ova vrsta kamenja nije karakteristična za uzrast, tako je u literaturi opisan slučaj novorođenčeta sa ksantinskom litijazom bubrega.²⁸

Ostale vrste kamenja kao što su: indigokarminski, fibrinski, stafilokokni i kamenje koje nastaje taloženjem lekova usled prekomernog uzimanja, izuzetno se retko javljaju i specifični su za pojedine, retke vrste bolesti.³³

2.3.2. Kamen u žuči

Žuč u žučnoj kesi predstavlja presičen rastvor žučnih kiselina i holesterola u približnom odnosu 10:1. Ovako veliki odnos je posledica održanja rastvorljivosti holesterola. Kada se u jetri stvara više holesterola ili se on manje konvertuje u druga jedinjenja (žučne kiseline, hormone), tada je moguća kristalizacija unutar žučne kese. Kristalizaciji pogoduje upalni proces i infekcije sredine, kao i promene u pH vrednosti. Žučni kamen može da izazove ozbiljne probleme, ako dođe do zastoja ili neregulisanog isticanja žuči u digestivni trakt.

2.3.2.1. Sastav kamenja

Kamen se uglavnom sastoji iz normalnih komponenata žuči. Najčešće se sreće kamenje izgrađeno od holesterola, bilirubina u obliku kalcijumove soli, dok je kamenje sastavljeno od kalcijum-fosfata ili karbonata, masti, gvožđa i bakra veoma retko, tako da ima samo teorijski značaj. Žučni kamen se veoma teško može detektovati rendgenom, što je posledica niskog sadržaja kalcijuma. Po tome se većina kamenja iz žučne kese razlikuje od kamenja iz mokraćnog sistema.

2.3.2.2. Vrste kamenja

Pigmentno kamenje je uglavnom sastavljeno iz bilirubina, žučnih kiselina i primesa kalcijuma. Ova vrsta kamenja javlja se uglavnom kod hemoliznih bolesti tj. gde postoji povećana razgradnja ćelija crvene krvne loze. Oni su mali, tvrdi, tamno-zeleni ili crni i obično se javlja nekoliko.¹²

Holesterolsko kamenje je znatno češće iz razloga veće koncentracije u žuči. Holesterol se taloži u žučnom sekretu, koji je njime prezasićen, pri čem se javlja kristalno jezgro. Zapaženo je da ovaj tip kamenja može nastati i kod osoba čija žuč nije presaćena holesterolom, nego postoje izvesne promene u koncentraciji žučnih kiselina. Kamen ima oblik dudovog ploda, beli su ili blago žuti, a na preseku se uočava kristalna struktura.¹⁰

U praksi se najviše sreće kamenje mešovitog sastava. Najčešće imaju jezgro od holesterola, a omotač od drugih sastojaka žuči. Obično se sreće po nekoliko u žučnoj kesi. Na površini su tamno smeđi sa blagim neravninama i oblika su jajeta (slika 7). Imaju tvrdu koru i mekano jezgro (slika 8).

Žučno kamenje može dugo postojati u žučnoj kesi, a da ne izaziva tegobe kod bolesnika, te se ponekad sasvim slučajno otkriju tokom ispitivanja neke druge bolesti.¹⁰



Slika 7. Spoljašnji izgled uzorka kamenja iz žuči.
Uzorak LC 1 dobijen operativno



Slika 8. Poprečni presek žučnog kamena LC 1. Jasno se uočavaju centar kristalizacije i slojevi nataloženih materija

2.4. Dobijanje uzoraka i nativni pregled

Postojanje kamena u mokraćnom sistemu najčešće prolazi bez simptoma. Ukoliko dođe do pomeranja, a u težim slučajevima do začepljenja odvodnog sistema bubrega ili mokraćne bešike, tada se javljaju napadi bolova u epizodama, poznati kao bubrežne kolike. Pri tome se sitni kamenčići i pesak spontano izbacuju, tako da potencijalni bolesnik - uroličar nije ni svestan toga.⁴¹

Kamenje većih dimenzija može da izazove teške smetnje u smislu otežavanja ili potpunog prestanka oticanja mokraće iz bubrega. U cilju odstranjivanja kamena iz bubrega nekada su se koristile operativne tehnike. Danas se veoma retko i u izuzetnim prilikama izvode. Kako je urolitijaza bolest koja često ima recidive, to se česta upotreba ovih invazivnih tehnika izbegava.

Prvi, mada nepouzdani podaci o vađenju kamena iz bubrega potiču iz 1474. godine. Operacija je izvršena po nalogu kralja Karla VIII na zatvoreniku osuđenom na smrt. Bolesnik je operaciju preživeo i dugo živeo bez posledica.⁶

Od današnjih tehnika evakuacije kamena iz bubrega zahteva se mala ili nikakva invazivnost po pacijenta. Jedna takva je i primena sondi za ekstrakciju kamena iz mokraćnog sistema.⁴² Ideja o ekstrakciji kamena sondom datira još iz 1938. godine. Sonda se uz pomoć operativnog citoskopa uvode u mokraćni sistem iznad kamena, a zatim se pomoću najlonskog konca, koji prolazi kroz sondu formira omča na vrhu ili se potiskivanjem žičane osnove kroz sondu formira korpica. Postepenim povlačenjem sonde sa kamenom u mokraćnu bešiku i napokon u spoljnu sredinu dobija se željeni rezultat.

Danas se ipak najviše koristi ekstrakorporalna litotripsija ili tzv. ESWL³ terapija. Ova tehnika se zasniva na sitnjenju kamena do dimenzija koje se mogu spontano izbaciti. Ekstrakorporalna litotripsija danas zauzima značajno mesto u lečenju urolitijaze.⁴³ Primjenjeni talasi se odlikuju bržim porastom i sporim padom energije, a sastavljeni su od raznih visokih i niskih frekvencija. Niske frekvencije se dobro šire kroz vodu i tkivo, uz mali gubitak energije. Ultrazvučni talasi veće energije prolaskom kroz tkiva prouzrokuju termičke ozlede.

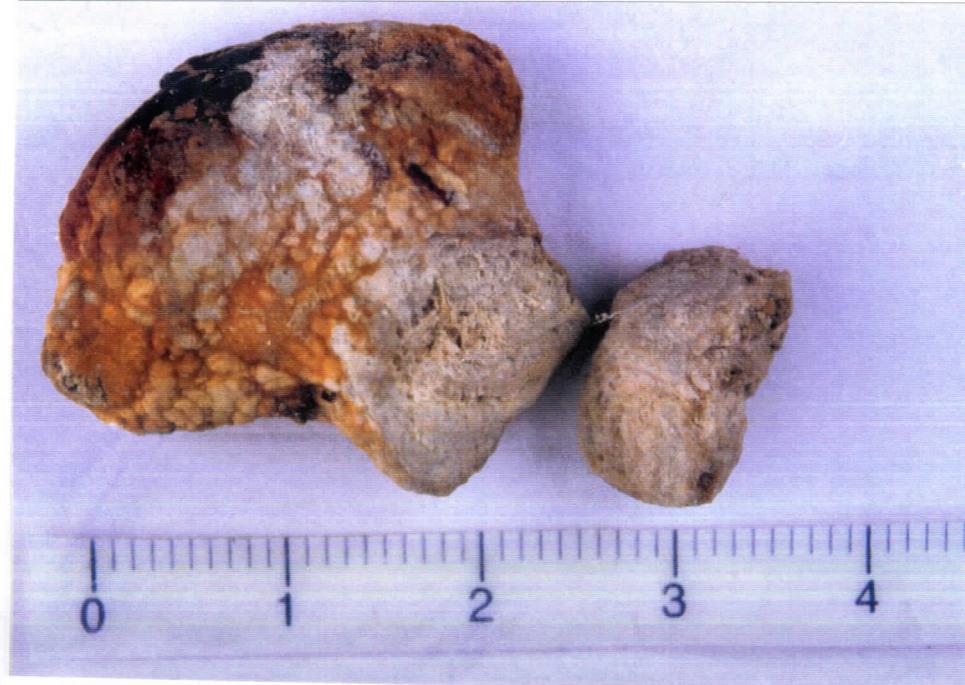
Mehanizam dejstva udarnih talasa na kamen u mokraćnom sistemu zasniva se na različitim akustičnim karakteristikama (voda - kamen). Udarni talasi, koje generiše instrument, prenose se kroz vodu do kože i stižu do kamena uz minimalne gubitke energije. Kako se akustične osobine, impedance (Z)⁴ kamena (Z_k) i vode (Z_v) dosta razlikuju na dodirnoj površini oslobođi se deo energije u vidu opterećenja na kamen, što dovodi do rušenja kristalne strukture kamena. Energija talasa se smanji za količinu oslobođene energije i širi kroz kamen do krajnje dodirne površine (kamen - voda), gde ponovo dolazi do oslobođanja preostale energije ovog puta u obliku tenzije. Posledica ovog procesa je dezintegracija kamena.⁴³

Dejstvom udarnih talasa kamen počinje da puca i da se mrvi. Veoma je važno znati strukturu kamena, kako bi se brže i jednostavnije izvela litotripsija. Bolesnici nakon završene terapije, uz uzimanje velike količine tečnosti obilno izmokravaju delove kamena. Za razliku od operativnih tehnika ESWL terapija se može više puta koristiti kod istog pacijenta bez većih posledica na dalje zdravlje.

³ESWL- (engl.)-Extracorporal Shock Wave Litotripsy

⁴ $Z = \rho v$, gde je ρ gustina materijala, a v brzina

Nativnim pregledom kamena mokraćnog sistema i kamena iz žuči uočava se izgled, oblik i boja, što u nekim slučajevima litijaze može biti dovoljno za određivanje puta istraživanja i određivanja sastava kamena. Svaki uzorak se detaljno opiše, naznači se broj kameњa dobijen na analizu, kao i način dobijanja uzorka.



Slika 9. Izgled uzorka BIF 2. Na slici 1 je prikazan poprečni presek istog kamena; uzorak identifikovan kao struvit.

Ako postoji mogućnost, uzorak se na pogodan način prepolovi i tako posmatra. Na slikama 9 - 11 prikazani su preostali uzorci analizirani u ovom radu.



Slika 10. Spoljašnji izgled uzorka BNM 11. Uzorak dobijen operativno



Slika 11. Poprečni presek uzorka BNM 11

2.5. Određivanje sastava kamena

Razvoj nauke i tehnike doneo je dosta novina i u proučavanju medicinskih problema. Struktura i hemijski sastav pokazuju život kamena od nuklecije, pa sve do izlaska na sunčevu svetlost. Analiza kamena nije imala značaj u vreme kada su se tražili samo načini vađenja kamena iz organizma. Danas se teži da se pomoću lekova i drugih načina terapije kamen izbací iz unutrašnjosti organizma čoveka, bez većih problema po bolesnika, a to se najlakše postiže kada se zna sastav i struktura kamena. Tako su nekad važni podaci o veličini i tvrdoći kamena danas dopunjeni sa hemijskim sastavom i strukturom, kako bi se terapijom dobio maksimum i sprečio nastanak novog kamena. Kako je nastanak bolesti još uvek nepoznat svaki novi podatak o vrsti i sastavu kamena može pomoći u njegovom otkrivanju i - ili otklanjanju. Svi ovi podaci danas treba da služe lekaru urologu u istraživanju i lečenju urolitijaze.

Prve analize bubrežnog kamena datiraju još iz antičkih vremena. Egipatski lekari su ispitivali kamen i na osnovu njihovih zapažanja podelili su ih na: tvrde i meke. U antičko vreme postojali su litotomisti koji su se bavili problemom nastanka i lečenja urolitijaze.⁴⁴

Sve do tada poznate tehnike istraživanja su upotrebljavane samo ako je kamen spontano izbačen iz organizma. Prvi metod dokazivanja prisustva kamena lokalizovanog u bubregu bila je perkutana akupunktura, koju je engleski lekar Berker prvi put uveo i opisao 1880. godine. Tehnika se sastojala iz probadanja bubrega iglom, pri čemu se oseća i čuje struganje po kamenu. Akupunktura nije opasna, ali međutim ni pouzdana dijagnostička metoda.⁷

Pronalaskom X-zraka otvoren je novi pravac u istraživanju i lečenju.

Danas se raspolaze vrlo pouzdanim metodama za otkrivanje kamena *in vivo*, što u mnogome pomaže pri lečenju.⁴⁵ Kamen koji se dobije na analizu ponekad je vrlo male mase, a ako je pacijent podvrgnut terapiji na ESWL, tada kamen nema tačno određen oblik. Kvalitativno i kvantitativno određivanje hemijskog sastava kamena zahteva znatna prilagođavanja klasičnih metoda rada. U ispitivanju se obično koriste najosetljivije reakcije iz oblasti mikroanalize. Primena tehnike spot test analize svodi utrošak kamena na minimum.

Analizom je potrebno odrediti raspored komponenti u kamenu, kao i faktore koji su doveli do pojave nukleacije. Analizu kamena otežavaju najčešće dve stvari. Kao što se videlo kamen je smeša teško rastvornih materija. Rastvaranjem kamena, jedinjenja se raspadaju na jone i nestaju razlike u molekulu npr. kalcijum-oksalat-monohidrata i kalcijum-oksalat-dihidrata. Klasičnim hemijskim metodama je skoro nemoguće odrediti koja komponenta pripada kom jedinjenju. Dugo vremena je na osnovu hemijske analize po principu *vice versa* određivan sastav kamena. Danas se uglavnom traže metode koje ne razaraju uzorak tj. ne ili vrlo malo narušavaju nativnu strukturu kamena. Iz tog razloga danas izvesno preim秉stvo imaju fizičke metode u prvom redu difrakcija X-zraka, mikroradiografija, polarizaciona i elektronska mikroskopija i druge.

Treba napomenuti da se uzorak kamena pre svih ispitivanja obično fotografiše. Posle nativnog pregleda sve metode ispitivanja se mogu podeliti na klasične kvalitativne i kvantitativne hemijske (titrimetrija, gravimetrija i dr.) i na pogodne fizičke metode (difrakcija X-zraka, infracrvena refleksiona i transmisiona spektrometrija, termoanaliza, mikroradiografija te kontrastna, polarizaciona i elektronska mikroskopija i dr.).⁴⁵

2.5.1. Hemijske metode

Postoji više postupaka hemijskog ispitivanja kamena. Tu se podrazumevaju postupci kod kojih se komponente kamenja određuju dejstvom nekog reagensa. Pri odabiru hemijskih reakcija za analizu kamena, potrebno je uvek imati na umu specifičnost datog reagensa na ispitivanu komponentu. Kako se na analizu veoma često dobija mala količina kamena potrebno je razviti mikroanalitičke tehnike u određivanju sastava. Razumljivo, svakoj kvantitativnoj mora predhoditi kvalitativna hemijska analiza.

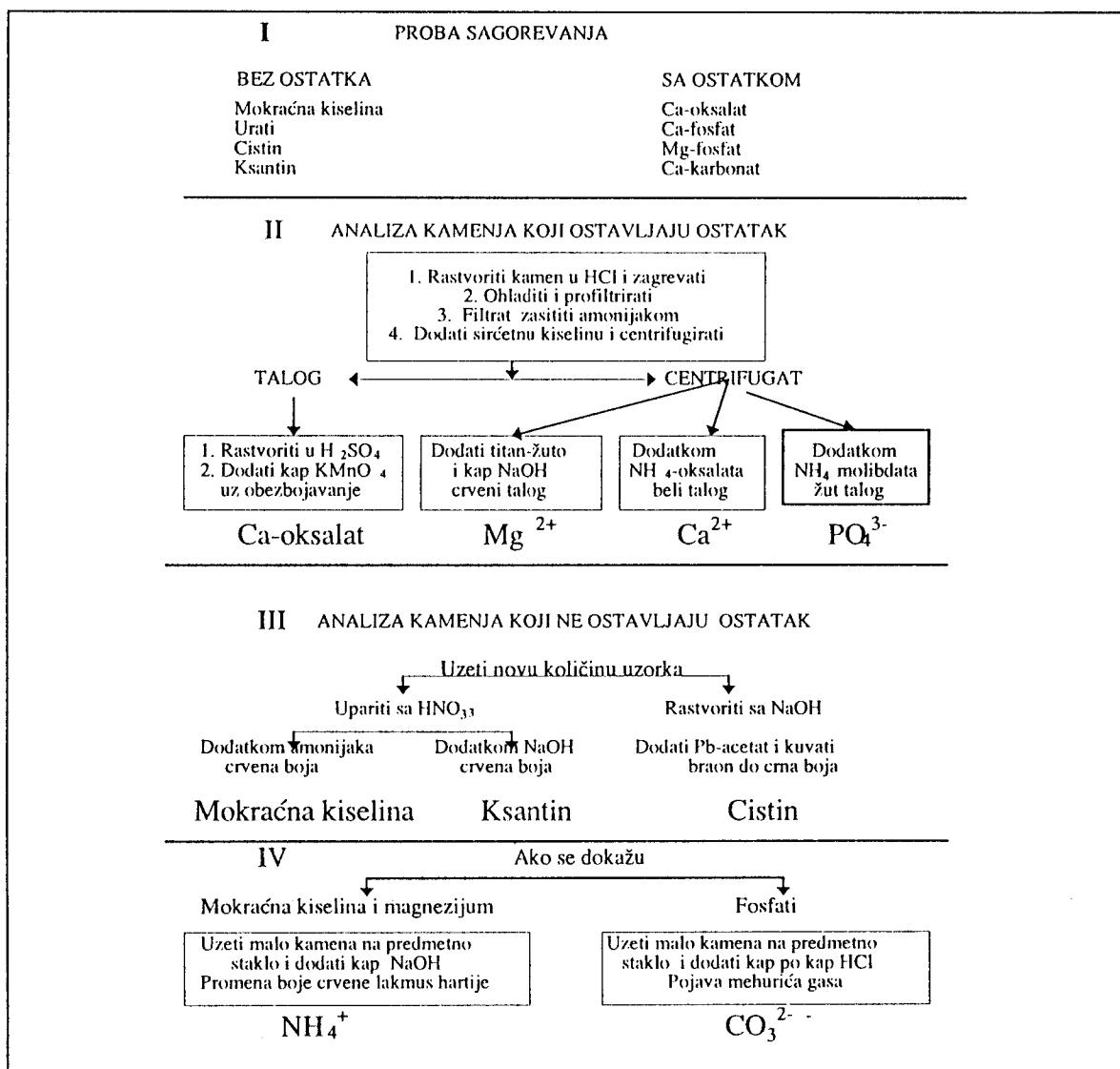
2.5.1.1. Kvalitativna hemijska analiza

Većina kvalitativnih postupaka u određivanju sastava kamena je proistekla kao modifikacija Helerovog (Heller,1860.)⁴⁶ i Ulcmanovog (Ulcmann,1882.) postupka.⁴⁷ Ovaj postupak se zasniva na probi sagorevanja i rastvaranja u pogodnim sredinama. Nakon žarenja se izvodi tzv. mureksidna reakcija, na osnovu koje se mogu razlikovati: oksalatno, fosfatno, karbonatno, uratno, ksantinsko i cistinsko kamenje. U cilju smanjenja grešaka više puta je vršena modifikacija. Jedna od tih modifikacija je prikazana na šemsi 1.

Za analizu uzme se nekoliko miligrama sprašenog uzorka kamena i u lončiću žari u plamenu. Ukoliko se uzorak sastoji iz organskih komponenti (mokraćna kiselina, urati, ksantin i cistin) u posudi za žarenje ne ostaje pepeo. Uzorci koji sadrže neorganske materije (Ca-oksalat, Ca-,Mg-fosfat i Ca-karbonat), kao i uzorci koji su kombinacije neorganskih i organskih materija ostavljaju znatan deo pepela.

Za određivanje organskih komponenti u porcelanskoj posudi se malo uzorka rastvorai sa koncentrovnom HNO_3 i upari skoro do suva na malom plamenu. Na tako pripremljen uzorak se doda malo NH_4OH pri čemu se javlja crvena boja ukoliko je prisutna mokraćna kiselina i njene soli. Ksantin se za razliku od mokraće kiseline dokazuje dodavanjem NaOH , kada se takođe javlja crvena boja.

Dokazna reakcija na cistin zasniva se na dokazivanju sumpora iz aminokiselina, a postupak se izvodi sa alkalnim rastvorom $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. Pojava crne boje ili crnog taloga uzima se za pozitivnu reakciju na cistin.



Šema 1. Pregled postupaka za kvalitativnu hemijsku analizu mokraćnog kamena³²

Ako se nad uzorak u toku dodavanja rastvora baze postavi navlažena crvena lakmus hartija, javlja se plava boja kao dokaz za postojanje amonijum-jona, koji se može naći vezan sa mokraćnom kiselinom (amonijum-urat) ili u formi struvita.

Kod uzoraka koji ostavljaju ostatak nakon sagorevanja uzima se nova proba kamena i rastvara u vrućoj, razblaženoj hlorovodoničnoj kiselini. Epruveta sa uzorkom se nekoliko minuta drži u topлом vodenom kupatilu, kako bi se sav kamen rastvorio. Ukoliko ima nerastvorenog kamena, tada se smeša prolfiltrira i ostavi da se ohladi. U hladan filtrat se dodaje amonijak. Ukoliko se pri dodatku NH_4OH javlja beo talog, koji se ne rastvara u

razblaženoj sircetnoj kiselini, dokaz je za kalcijum-oksalat u kamenu. Razdvoji se talog centrifugiranjem iz čega se dokazuje kalcijum, a za identifikaciju okslatnog anjona izvodi se reakcija obezbojavanja rastvora $KMnO_4$ u kiseloj sredini, koja je zasnovana na redoks-reakciji permanganata i oksalne kiseline.

Ostali sastojci kama („neoksalatni” kalcijum, magnezijum, fosfat) se dokazuju iz filtrata, posle odvajanja taloga Ca-oksalata, specifičnim reagensima. Tako se magnezijum dokazuje u reakciji sa titan-žutim u alkalnoj sredini. Reakcija je pozitivna, ako se pojavi crveno obojenje ili crvenkast talog.

Dokazivanje „neoksalatnog” kalcijuma se može uraditi iz filtrata taloženjem sa amonijum-oksalatom. Pojava belog taloga ukazuje na nastali kalcijum-oksalat.

Dokazna reakcija za fosfat zasniva se na nastajanju fosformolibdenske kiseline u kiseloj sredini. Nastali proizvod se uočava pojavom žutog taloga. Reakcija je visoko osetljiva, a ometaju je hloridni joni, koji se mogu odstraniti dodatkom koncentrovane HNO_3 , a zatim uparavanjem.

Karbonati se mogu dokazati direktno iz uzorka tako što se uzme malo kama u času ili epruvetu i prelije hlorovodoničnom kiselinom. Pojava mehurića dokaz je za karbonate.

Veoma često se navodi i postupak koji su modifikovali Simons i Gentzkov.⁴⁸ Jedina razlika u odnosu na opisanu je u dokazivanju cistina. Oni preporučuju izvođenje reakcije u alkalnoj sredini sa natrijum-nitroprusidom uz dodatak natrijum-cijanida. Pojava tamno crvene boje ukazuje na prisustvo cistina u kamenu.

U literaturi²⁰ izdatoj kod nas preporučuje se sledeći postupak ispitivanja. Za razliku od predhodnih postupaka svaka komponenta se određuje posebno. Dokazivanje oksalata izvodi se tako što se uzorku doda malo rezorcinola i kap koncentrovane H_2SO_4 . Pojava plavo zelene boje je dokaz za oksalat. Takođe se izvodi i reakcija sa azotnom kiselinom. Postupak je sledeći: na malu količinu uzorka se doda $5\text{-}6\text{ cm}^3$ azotne kiseline koncentracije $1\text{ mol}/\text{dm}^3$ i zagreje do ključanja na plameniku da se prah kama potpuno rastvori. Posle se smeša hlađi pod mlazom hladne vode. Uzme se deo filtrata i doda malo koncentrovanog NH_4OH . U prisustvu oksalata i fosfata javlja se beo talog. Dodavanjem razblažene sircetne kiseline, talog se ne rastvara ukoliko su prisutni oksalati. Iz ovog rastvora se uzme 2-3 kapi i stavi na predmetno staklo mikroskopa. Posmatranjem pod mikroskopom uočavaju se kristali u obliku koverte (kalcijum-oksalat-dihidrat kristališe u oktaedarskom sistemu), što dokazuje prisustvo oksalata u uzorku kama.

Dokazivanje fosfatnog anjona se preporučuje već opisanom reakcijom sa amonijum-molibdatom, tako što se uzme malo filtrata u epruvetu u kojoj se nalazi amonijum-molibdat. Ta smeša se zagreva do ključanja - pojave žutog taloga fosformolibdenske kiseline, koja je dokaz za prisutne fosfate. Ostale neorganske komponente kamena dokazuju se manje više sličnim postupkom. U slučaju organskih materija situacija je identična, osim kod dokazivanja cistina. Dokazna reakcija se izvodi sa natrijum-cijanidom i natrijum-nitroprusidom. Pojava crvene boje ukazuje na po-javu cistina kao konstitutivnog elementa kamena.

Na kraju potrebno je napomenuti da je hemijska kvalitativna analiza kamena brza i relativno jednostavna. Međutim, zahteva minimalno 5 mg uzorka.^{49,50} Kako je u izučavanju kamenja potrebno odrediti lokalizaciju (nukleus, središnji deo i omotač) komponenti, potrebno je uzimati i više od naznačene količine uzorka. Za detaljniju analizu kamena postupak kvalitativne hemijske analize je nepodoban. Slaba strana ovog postupka je saznanje samo o elementarnom i jonskom sastavu kamena iz čega se teško može doneti zaključak o jedinjenjima - sastojcima kamena. Kombinacija katjona i anjona po principu *vice versa* može dovesti i do pogrešnih zaključaka.

Kamen iz žuči se ispituje na prisutnost holesterola, bilirubina i kalcijumovih soli.⁵¹ Većina postupaka se zasniva na ekstrakciji komponenti kamena pomoću odgovarajućeg organskog rastvarača, najčešće etra. Iz dobijenog ekstrata izvode se reakcije dokazivanja prisutnosti pojedinih jedinjenja.

Korisni kvalitativni podaci o sastavu kamena mogu se dobiti primenom tzv. mikroskopskih metoda. Često se na analizu dobije mala količina kamena, tako da se primenom mikrometoda može doći do zadovoljavajućih podataka. Ovakva vrsta analize može se primeniti u svakoj medicinskoj laboratoriji.

Uzorak se postavi na predmetno staklo mikroskopa i uz pogodno osvetljenje posmatra pri uvećanju od 30 - 150 puta. Već tim pregledom površine mogu se prepoznati sastavni delovi kamena, odnosno komponente. Ako se radi o većim uzorcima moguće je pogodnom tehnikom preseći kamen i pregledati nukleus. Potrebno je detaljno opisati izgled glavnih zona kamena.

Za određivanje prosečnog sastava, uzorak kamena spraši se do mikrokristalnog praha i dalje ispituje. Na predmetno staklo se nakapa reagensa (oko 20 µl), tako da se dobije mrlja približnog prečnika 1 cm. Uz pomoć oštrog nožića malo praha se unese u tu mrlju i posmatra dalji tok reakcije. Nedostatak ove metode je u tome što danas još uvek ne

postoji specifični reagensi, koji bi sa pojedinačnim sastojcima reagovali. Iz tog razloga koriste se najmanje dva reagensa, kiselina i baza, tako da se međusobno dopunjaju.

Mikroskopska hemijska analiza počela se razvijati upravo kada se u lečenju urolitija pristupalo na drugi, neoperativni način. Tako je 1965. godine Viskeleti (Viszkelety),⁵² opisao brzu mikroskopsku analizu kamena. Ovaj način ispitivanja sastoji se od rastvaranja i ponovne kristalizacije komponenti kamena, po sledećem postupku:

Uzme se malo praha kamena na predmetno staklo i prelige sa 20% rastvorom KOH. U vidnom polju mogu se videti kristali mokraće kiseline. Soli mokraće kiseline - urati grade kristale, koji imaju izgled malih kugli. Na drugom predmetnom staklu ponovo se stavi malo praha i rastvori u NH₄OH. Ako se u uzorku nalazi cistin, tada se prepoznaju šestougaoni kristali tipični za ovu aminokiselinu.

Kada se uzorak ne rastvara u 20% rastvoru KOH, tada se pokuša rastvaranje sa 20% rastvorom sulfosalicilne kiseline. Ako se uoči rastvaranje kamena, tada se govori o prisustvu fosfata u uzorku. Radi potpunog dokazivanja fosfata može se dodati i kap amonijum-molibdata, pri čemu se stvara žuto obojena fosformolibdenska kiselina.

Ukoliko se uzorak kamena rastvara i u KOH i sulfosalicilnoj kiselini tada se govori o prisustvu oksalata. Potpunu dokaz može se dobiti reakcijom obezbojavanja rastvora KMnO₄ u kiseloj sredini.

Cilj ovog rada bio je da na osnovu opisanih klasičnih hemijskih postupaka odredimo kvalitativni sastav kamena i da postignute rezultate uporedimo sa instrumentalnim metodama dokazivanja sastojaka kamena.

2.5.1.2. Kvantitativana hemijska analiza

Na kvalitativnu hemijsku analizu nadovezuje se kvantitativna hemijska analiza. Kvantitativna hemijska analiza zahteva dosta vremena za rad, a ponekad i skupu opremu. Osnova svih rešenja je odabiranje pogodnog načina pripreme uzorka i odgovarajuće osetljive reakcije određivanja za svaku komponentu. Najčešće se biraju hemijske reakcije, koje mogu da posluže za spektrofotometrijsko i titrimetrijsko određivanje.

Većina metoda kvantitativne analize zahteva detaljnu pripremu uzorka, zbog mogućeg prisustva delova tkiva ili krvnih ćelija. Njihovo prisustvo ometa tok ispitivanja. Jedna od najčešće primenjivanih tehnika kvantitativne analize svih komponenti je po Maureru⁵³

iz 1969. godine. Uzorci se pre analize pažljivo operu u destilovanoj vodi i suše na 65 °C. Posebno se mora voditi računa o temperaturi sušenja uzorka, jer se zna da uzorci koji sadrže mokraćnu kiselinu i struvit mogu delimično ili popuno da izgube vezanu vodu, što može dovesti do grešaka prilikom izračunavanja sastava. Na šemii 2 prikazan je postupak po Maureru.⁵³

Prema postupku prikazanom na šemii 2, 5 mg uzorka se rastvara u 5 cm³ 0,1 mol dm⁻³ NaOH i zagreva do 80 °C, određeno vreme, do potpunog rastvaranja. Sadržaj se kvantitativno prenese u odmerni sud i nakon dopunjavanja do crte izvode reakcije u cilju određivanja koncentracije pojedinih komponenti.

Određivanje mokraćne kiseline i urata se vrši na bazi reakcije redukcije fosforvolframove kiseline. Nastali kompleks ima plavu boju, koja se stabilizuje prisustvom Li₂CO₃ i cijanidnog jona. Intenzitet boje srazmeran je koncentraciji mokraćne kiseline ili njene soli, a apsorbancija se meri na spektrofotometru, pri talasnoj dužini od 578 nm.

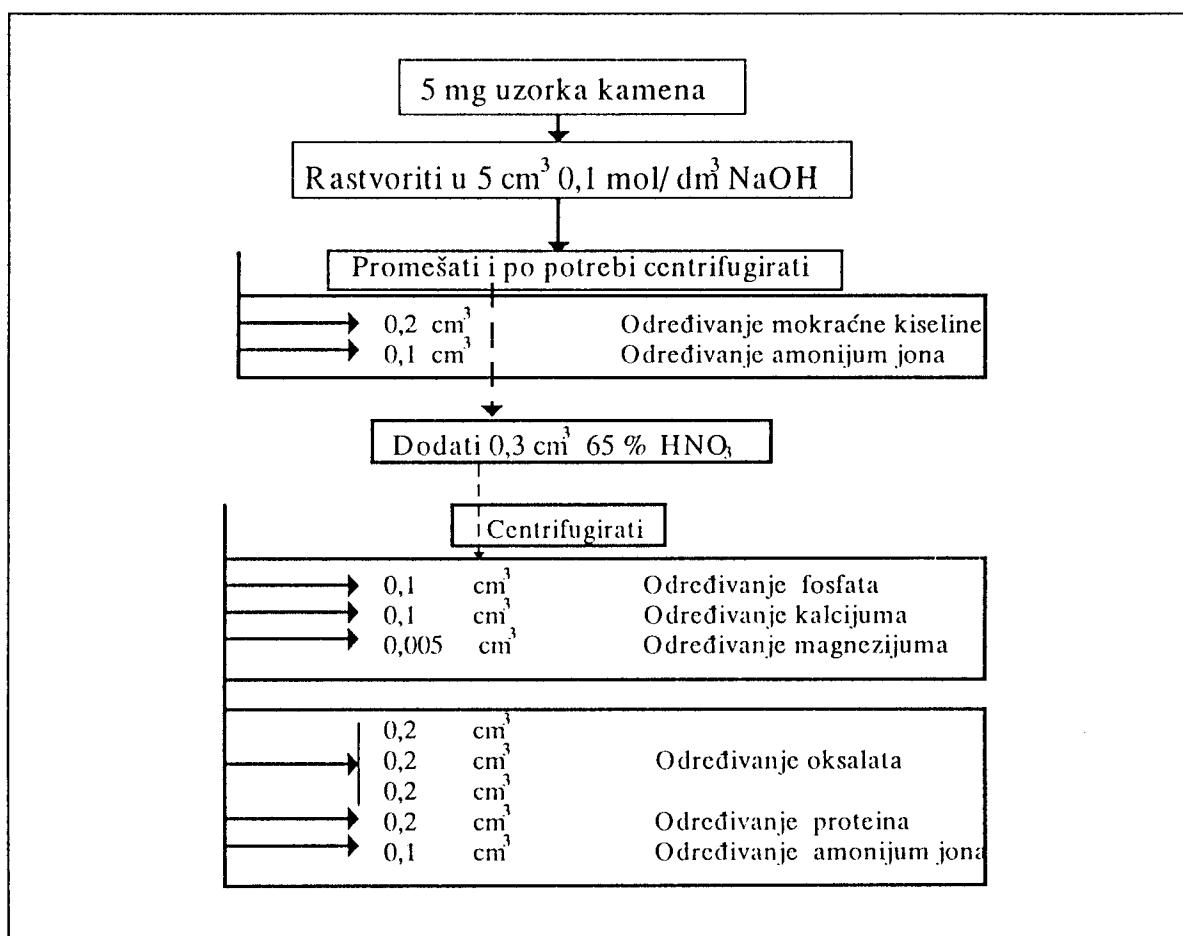
Amonijum-jon se kvantitativno određuje indofenolnom reakcijom. Za odigravanje reakcije potrebno je podesiti alkalnu sredinu. Ova reakcija iako nije dovoljno selektivna, može se smatrati pogodnom za određivanje amonijum-jona. Intezitet plave boje nastalog proizvoda reakcije meri se na talasnoj dužini 578 nm.

Određivanje oksalata izvodi se titrimetrijski na bazi redoks-reakcije sa permanganatom, u kiseloj sredini, uz fotometrijsko određivanje završne tačke titracije na 546 nm.

Kvantitativno određivanje fosfatu je, takođe, preporučeno⁵² na bazi reakcije po Rabe-Urbahu. To je u hemiji poznata reakcija fosfata sa amonijum-hepta-molibdatom, pri čemu prvo nastaje žuto obojena fosformolibdenska kiselina koja dodatkom alkalinog rastvora menja boju u plavo. Merenjem apsorbancije na 623 nm određuje se količina fosfata u uzorku kamena.

Kalcijum se određuje plamenom fotometrijom. Pri određivanju magnezijuma Maurer⁵³ preporučuje reakciju po Mann&Joe^{54,55}, koja se sastoji se iz reakcije sa ksilidol plavim (metalo-hromni indikator) pri pH=10,6. Intezitet nastale boje je srazmeran količini magnezijuma, ako se promena boje meri na 492 nm.

Određivanje redih komponeti Maurer⁵³ samo navodi, te se npr. proteini određuju u biuret reakciji.



Šema 2. Tok kvantitativne analize po Maureru⁵²

Pored ovog postupka analize kamenja po Maureru⁵³ postoji i niz drugih, koje su proistekle kao modifikacije ili su posledica uvođenja specifičnijih reakcija (enzimske reakcije) na pojedine komponente.

Jedan veoma zanimljiv postupak potpune kvantitativne analize kamenja predložen je od strane Šnajdera (Schneider),⁵⁶ prema kojoj se na osnovu gubitka mase uzorka pri sušenju na 105 °C i žarenju na 560 °C određuje sastav kamenja. Ovom metodom je predviđena i analiza mikroelemenata kao što su gvožđe, bakar, mangan, cink, molibden i drugi.

Kod nas se kvantitativna analiza veoma retko sprovodi. Postoji model analize koji je predložio Januzović,²⁰ prema kome se analiza sastava kamenja izvodi iz rastvora kamenja koji se priprema po preporuci Hodžkinsona i Robertsona (Hodginson i Robertson).⁵⁷

Uzorak kamenja se opere u destilovanoj vodi i osuši acetonom. Potrebno je izmeriti ukupnu količinu kamena, pre nego se spraši u avanu. Ukoliko se na analizu dobije veći uzorak, može se uzeti deo nukleusa i deo tela kamena. Ako je kamen homogene strukture

analizira se kao celina. Nakon sitnjenja do mikrokristalnog praha odmeri se količina oko 8 mg i rastvori u odmernom sudu zapremine 10.0 cm³ i dopuni razblaženom hlorovodo-ničnom kiselinom.

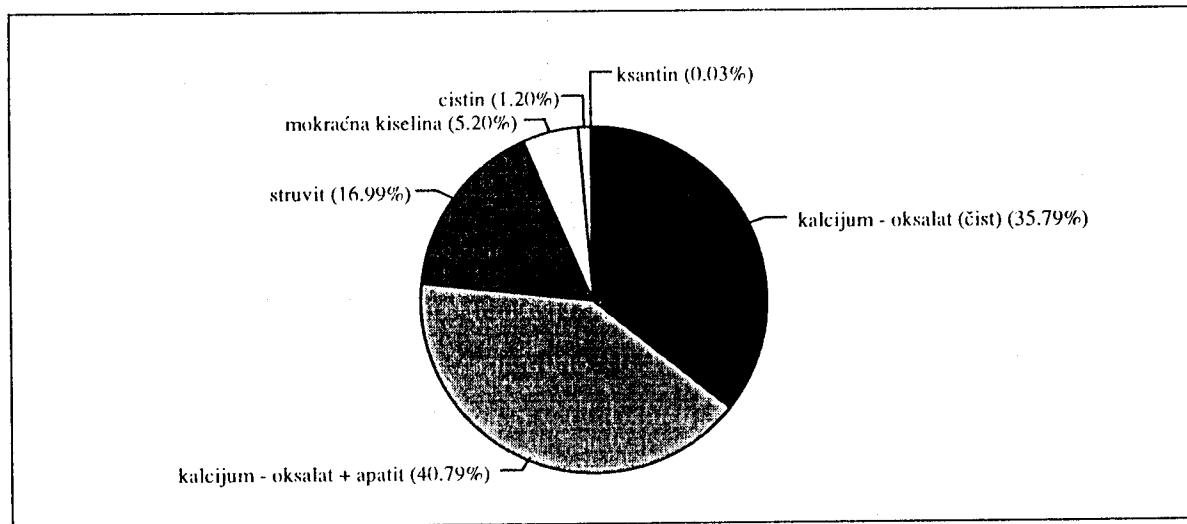
Određivanje komponenti kamena vrši se pripremljenim rastvorima reagenasa, najčešće komercijalnim proizvodima. Kako još uvek kvantitativno određivanje oksalne kiseline predstavlja problem to se u ovom slučaju preporučuje metoda po Hodžkinsonu i Williamsu (Williams)⁵⁸, a koju je modifikovao Januzović.⁵⁹ Reakcija se zasniva na redukciji oksalata cinkom u glikolnu kiselinu uz prisustvo i sumporne kiseline. Nastali glikolat sa hromotropnom kiselinom u kiseloj sredini daje ljubičasto obojen kompleks. Intenzitet boje se meri spektrofotometrijski na talasnoj dužini od 570 nm.

Kalcijum se određuje u reakciji sa metil-timol plavim u baznoj sredini (pH 12-13) sa kojim gradi kompleks tamno plave boje. Intenzitet boje je proporcionalan koncentraciji kalcijuma kada se apsorbancija rastvora meri na 612 nm.

Fosfat, mokraćna kiselina i magnezijum određuju se prema već gore opisanim postupcima.

Klasična kvantitativna analiza u većini slučajeva daje dobre rezultate, ali zahteva dosta vremena i ponekad veoma i skupe reagense tako da se retko izvodi.

Primenom hemijskih metoda analize kamenja mokraćnog sistema izvršena je klasi-fikacija i izračunata incidencija pojedinih vrsta kamenja. Jedna šira analiza⁴⁸ kamenja urađena u SAD na oko 4000 uzoraka dala je podatke iznete na grafiku 1. U prikazu nije uključeno retko kamenje, kao što je indigokarminski i kamenje od sulfonamida.



Grafikon 1. Hemijski sastav mokraćnog kamenja; podaci dobijeni na osnovu klasične hemijske analize⁴⁸

2.5.2. Fizičke metode

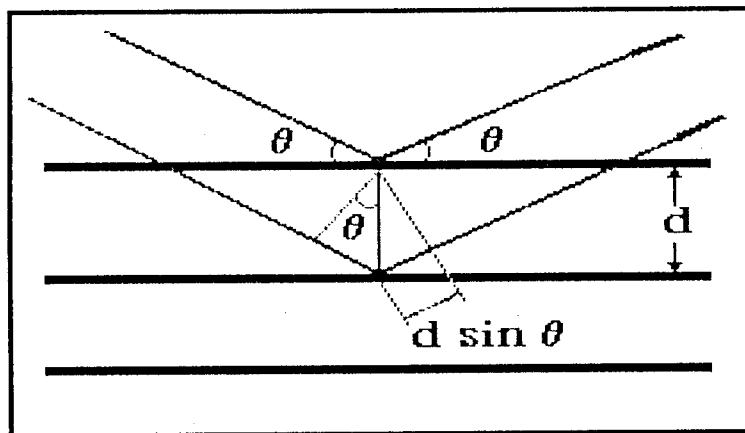
Najčešće se na analizu dobije veoma mala količina kamena (manje od 5 mg). Hemijske metode su destruktivne i obično zahtevaju veću količinu uzorka za analizu. Fizičke metode često nisu destruktivne, a ipak pružaju detaljne podatke o uzorku, koje hemijske metode ne mogu. Tako se ove dve tehnike nadopunjaju. Na osnovu fizičkih metoda moguće je razlikovati npr. jedinjenja koja mogu kristalizati sa jednim ili više molekula vode npr. kalcijum-oksalat-monohidrat i kalcijum-oksalat-dihidrat. Danas se u analizi kamenja mokraćnog sistema i kamenja iz žuči najčešće koriste: metoda difrakcije X-zraka za praškaste uzorke i metoda infracrvene spektroskopije. Ostale metode kao što su termo-analiza, optička i elektroska mikroskopija, NMR, Ramanova spektroskopija više imaju teorijski nego praktični značaj.

2.5.2.1. Difrakcija X-zraka

Kada se u fizici počelo izučavati provođenje električne struje kroz gasove, Rendgen (Röntgen) nije ni pomiclao da će svojim otkrićem 1895. godine promeniti dotadašnji pogled na materiju, čiju strukturu ljudsko oko nije moglo da vidi.⁶⁰ U visoko vakuumiranoj cesti Rendgen je postigao visoki napon reda 10^4 kV u oblasti između katode i nekoliko cm udaljene anode (antikatoda). Elektroni ubrzani do energije 10^4 eV stizali su do anode, bez sudara tj. gubitka energije. Na tom mestu se naglo koče, pri čemu se javlja emisija elektromagnetnog zračenja. Da bi proverio prisustvo tog zračenja, Rendgen je postavio normalno na upadni pravac elektrona scintilacioni ekran da detektuje to zračenje. Na ekranu su se pojavile scintilacije, a Rendgen je stavio svoju šaku na pravac zračenja i postao prvi čovek u istoriji čovečanstva, koji je video senku kosti svoje šake na ekranu.⁶¹ Ova tajanstvena sposobnost prolazeња zraka kroz materijal, kao i nepoznavanje mehanizma porekla, dovelo je i do naziva ovih zraka. Dobili su ime X ili nepoznati zraci, a kasnije u čast pronalazača dobijaju ime rendgenski zraci.

Spektralna analiza je pokazala da se X-zračenje nalazi u oblasti elektromagnetskog zračenja talasnih dužina oko 0,1 nm i da se sastoji iz dva dela: kontinualnog i diskontinualnog spektra. Kasnije je utvrđeno da kontinualni deo spektra ne zavisi od vrste materijala od kojeg je anoda načinjena, a da se diskontinualni deo javlja samo iznad neke kritične vrednosti ubrzavajućeg potencijala u cevi i da zavisi od materijala od kojeg je anoda načinjena.

Ako se na nekom uzorku izvrši difrakcija zračenja, pri čemu atomi interaguju sa zračenjem, može se videti slika kristala, odnosno raspored atoma u kristalnoj rešetki kristala. Ugao za koji se talas difraktuje na kristalu zavisi od kristalne strukture i talasne dužine zračenja. Kada se jedan atom izloži elektromagnetskom zračenju, elektroni u atomu mogu elastično rasejati ovo zračenje ili samo jedan deo - sa frekvencijom upadnog zraka. Difrakciju X-zraka na kristalu je jednostavno objasnio V.L.Brag (V.L.Bragg).⁶² Na slici 12. dat je prikaz na osnovu koga se može izvesti Bragova jednačina difrakcije X-zraka. Ova osobina koristi u istraživačke i praktične svrhe. Najčešći su oni sa bakarnom anodom, koja pokazuje intenzivnu $K_{\alpha 1}$ liniju u spektru pri 0,1541 nm.



Slika 12. Prikaz difrakcije X-zraka

Razlika u putevima zraka reflektovanih od susednih ravnih je $2 d \sin\theta$, gde je θ mereno od kristalne ravni, a d normalno rastojanje između susednih ravnih. Interferencija reflektovanih zraka dešava se uvek kada je razlika puteva jednaka celobrojnom umnošku talasne dužine λ . Tako je uslov interferencije reflektovanog zračenja dat izrazom (1), koji predstavlja Bragov zakon:

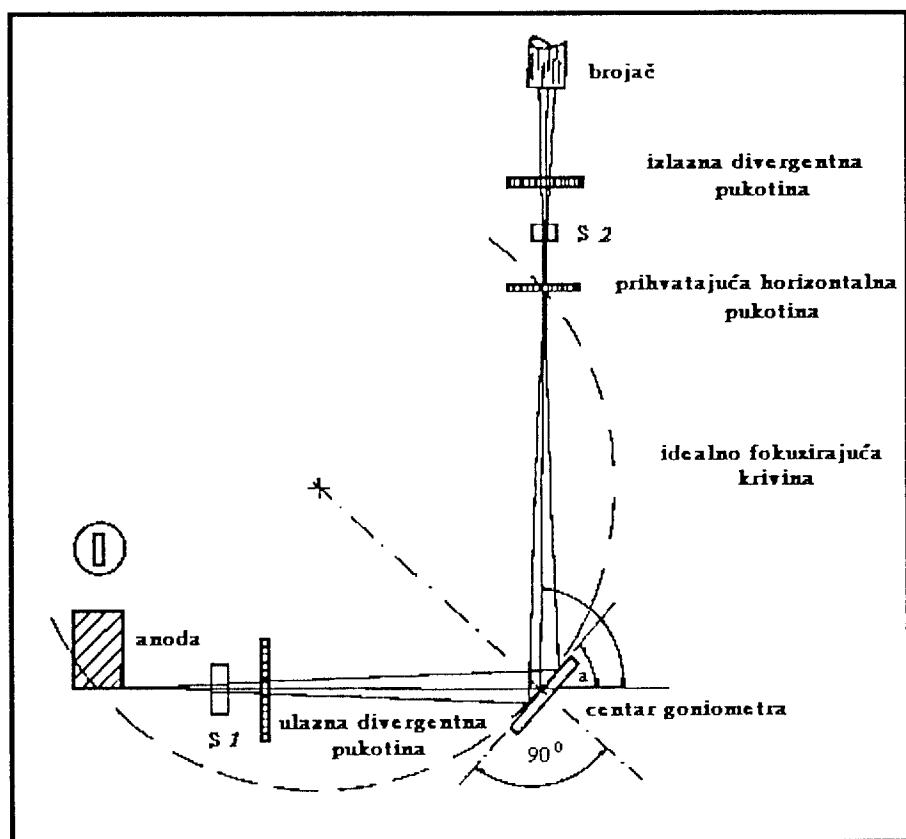
$$2d \sin \theta = n\lambda \quad \dots \dots \dots \quad (1)$$

Bragov zakon je posledica periodičnosti prostorne rešetke kristala. Bragova refleksija može se javiti samo za talasne dužine $\lambda \leq 2d$. To je razlog što ne možemo koristiti vidljivu svetlost. Bragov zakon (1) zahteva da θ i λ odgovaraju jedan drugom tj. X-zraci talasne dužine λ , koji nailaze na trodimenzionalni kristal, pod proizvoljnim upadnim uglom u opštem slučaju neće biti reflektovani. Da bi se zadovoljio Bragov zakon potrebno je menjati talasnu dužinu ili ugao refleksije. Standardni difrakcioni metodi korišćeni u strukturnoj analizi kristala zamišljeni su tako da se ovo što bolje ostvari. U istraživanjima koriste se tri difrakcione metode: Laue metoda, metoda obrtnog kristala i metoda kristalnog praha.⁶²

U istraživanju kamenja iz mokraćnog sistema i kamena iz žuči najčešće se koristi metoda kristalnog praha. Ova metoda omogućuje egzaktni raspored i identifikaciju konstituenata kamenja. Instrumenti koji se koriste u tu svrhu jedino se razlikuju u sistemu detekcije reflektovanog zraka. Ranije verzije ovih instrumenata bile su opremljene sa Debaj-Šererovom kamerom⁶³, koja omogućuje da se na osnovu zacrnjenja na osetljivoj emulziji filma ili foto ploče procenjuje intenzitet difraktovanog zračenja kao i ugao difrakcije θ . Danas se u velikom broju slučajeva koristi Gajger-Milerov proporcionalni ili scintilacioni brojač. Kod difraktometara za prah, preko ionizacije koju izazivaju foton rasejanog X-zračenja, moguće je direktno merenje intenziteta reflektovanog zračenja. Kod filmskih metoda detekcije do ovog podatka dolazi se na složen i manje tačan način. Korišćenjem scintilacionog ili proporcionalnog brojača omogućeno je da se rezultati direktno u digitalnoj formi ili putem pisača, zapišu u spektar traženog uglovnog intervala.

Princip metode za praškaste uzorke je isti bez obzira na način detekcije reflektovanog zračenja. Sprašeni uzorak se smesti u tanku kapilaru, u slučaju da se detekcija vrši помоћу filma. Ako se intenzitet detektuje pomoću scintilacionog ili proporcionalnog brojača uzorak se postavlja na specijalnu podlogu tačno određene površine i zapremine. Slika 13. prikazuje put zraka pri snimanju spektra za praškasti uzorak u slučaju detekcije sa scintilacionim brojačem.

Postolje sa uzorkom postavlja se tako da detektorski krug skaniranja bude u vertikalnoj ravni i da je snop X-zraka fokusiran na površinu uzorka. Iz osnovnih postavki Bragovog modela difrakcije vidi se da: ako je uzorak postavljen pod upadnim uglom θ , trenutno merenje je na dvostruko većem ugлу 2θ u odnosu na inicijalni zrak. Prilikom skaniranja potrebno je obezbediti sinhronizaciju obrtanja uzorka i brojača za dvostruko veći ugao.



Slika 13. Princip rada instrumenta za difrakciju X-zraka sa scintilacionim brojačem kao detektorom zračenja

U centru goniometarskog sistema se nalaze posebni nosači koji fiksiraju uzorak, kako bi se održala stalnost površine uzorka na kojoj se vrši difrakcija. Uzorak treba da ima dovoljno glatku površinu da bi se obezbedila ista debljina sloja uzorka.⁶⁴

Kamenje iz mokraćnog sistema i iz žuči pokazuje karakteristične linije difrakcije za uglove θ u intervalu $3 - 25^\circ$, za koje se i snima difraktogram. Priprema uzorka sastoji se u finom sprašivanju do mikrokristalnog praha u porcelanskom avanu. Za snimanje je potrebno 10 - 15 mg uzorka, ali se kod većine instrumenata ta količina može smanjiti upotrebom manjih pločica sa lepljivom trakom. Pre početka snimanja potrebno je odrediti parametre kao što su osetljivost instrumenta, brzina kretanja papira, kao i ugao skaniranja.⁶⁵ Snimanje jednog uzorka u intervalu od $3-25^\circ$ traje 30-45 minuta, što zavisi od zadate brzine skaniranja. Dobijeni snimak se naziva difraktogram i predstavlja karakteristiku materijala, u traženom uglu difrakcije. Kada se difrakcija izvodi filmskom metodom potrebno je samo nekoliko miligrama uzorka za analizu. Razvijanje filma kao i nedostatak potrošnog materijala (osetljivog filma) ograničavajuća je okolnost kod primene ove metode.

Difrakcija X-zraka može da posluži za kvalitativnu i kvantitativnu analizu materijala. Zbog različitog rastojanja d kristalnih ravni u kristalima moguće je razlikovati većinu kristalnih jedinjenja, a prema tome i vrstu supstance koja izgradije taj sistem. Identifikacija difraktograma, korišćenjem ASTM⁵ podataka ne predstavlja veliki problem. U indeksu podataka izvršena je sistematizacija tako da se na osnovu tri najintenzivnije linije odredi jedinjenje, a posle upoređivanjem kompletnih ASTM kartica izvrši se potpuna identifikacija.

Pri analizi smeša difrakcija X-zraka daje karakteristične linije svake komponente ponaosob. Prilikom identifikacije smeše nekih kristalnih komponenti, kao što je struvit i apatit otežano je jer apatit ima slabu kristaličnost ili je sadržaj manji od 5% potrebno je raspolagati saznanjima i drugih metoda ispitivanja: hemijska analiza, infracrvena spektroskopija, DTA i poznavanjem spoljnih karakteristika uzorka. Kada se odredi komponenta sa najvećim sadržajem u smeši, tada je dosta olakšan put u daljoj detekciji sastava uzorka.⁶⁴

Analiza difraktograma kamenja mokraćnog sistema može se izvršiti i upoređivanjem sa standardnim spektrima iz literature ili spektrima iz arhive laboratorije, koja vrši ovakva ispitivanja.

Kvantitativna analiza mokraćnog kamenja pomoću difrakcije X-zraka nije uobičajena, ali se može primeniti.⁶⁶ Najčešće se za tu priliku pripreme standardne smeše već poznatih uzoraka i snimi njihova uglovna difrakcija. Prostim upoređivanjem dvaju difraktograma moguće je odrediti kvantitativni sadržaj svake od komponenata u uzorku.

2.5.2.2. Infracrvena spektrometrija

Analiza materijala infracrvenom (IC) spektrometrijom danas se često koristi. Principi ovog merenja zasnivaju se na osobinama atoma u molekulu. Kako se atomi nalaze u stanju neprekidnog vibriranja, to se svakim spoljnjim uticajem može proizvesti poremećaj, koji se sa pogodnom tehnikom može detektovati.⁶⁷ Vibracije atoma su u direktnoj zavisnosti sa njegovom geometrijom. Pojedine funkcionalne grupe imaju specifične vibracije bez obzira na strukturu molekula. Ova osobina čini osnov IC spektrometrije. Vibraciona frekvencija izražava se kao talasni broj, čije su jedinice cm^{-1} . Kada se izrazi na ovaj način, frekvencija ima recipročnu vrednost talasne dužine λ . Talasne dužine vibracija molekula

⁵ASTM - American Society for Testing Materials

se nalaze u infracrvenoj oblasti spektra elektromagnetskog zračenja. U analitičke svrhe se najčešće koristi interval⁶⁷ od 2,5-15 μ ili kao frekvencija 4000-666 cm⁻¹. Apsorpcija molekula je kvantizirana tj. molekul može da apsorbuje frekvencije koje se poklapaju sa vibracionim frekvencijama. Apsorpcija odredene frekvencije dovodi do pobudivanja odgovarajuće vibracije. Nakon prestanka dejstva pobudeni molekul se vraća u osnovno, prvočitno stanje, pri čemu se oslobada energija kao toplota.

Instrumenti koji se koriste imaju slične karakteristike sa ostalim spektrofotometrima, koji se koriste u UV i vidljivoj oblasti spektra. Ono što ih izdvaja od ostalih je izvor svetlosti i detektor zračenja.

Uzorci čiji se infracrveni spektar želi snimiti, moraju se pripremiti na određen način. Način pripreme je različit za gasovite, tečne i čvrste materije. Na ovom mestu se opisuje priprema čvrstog uzorka kakvo je kamenje iz mokraćnog sistema i kamenje iz žući.

Čvrste supstance se najčešće ispituju kao presovane pločice - tablete. Uzorci kamenja su pripremljeni tako što se fino sprašen prah pomeša sa isto tako sprašenim KBr. Ovako dobijena smeša se presuje pod vakuumom, posle čega se dobija pločica ili tablet. Za analizu čvrstih supstanci potrebno je 0,5 - 1,0 mg. Snimanje spektra traje dvadeset minuta.

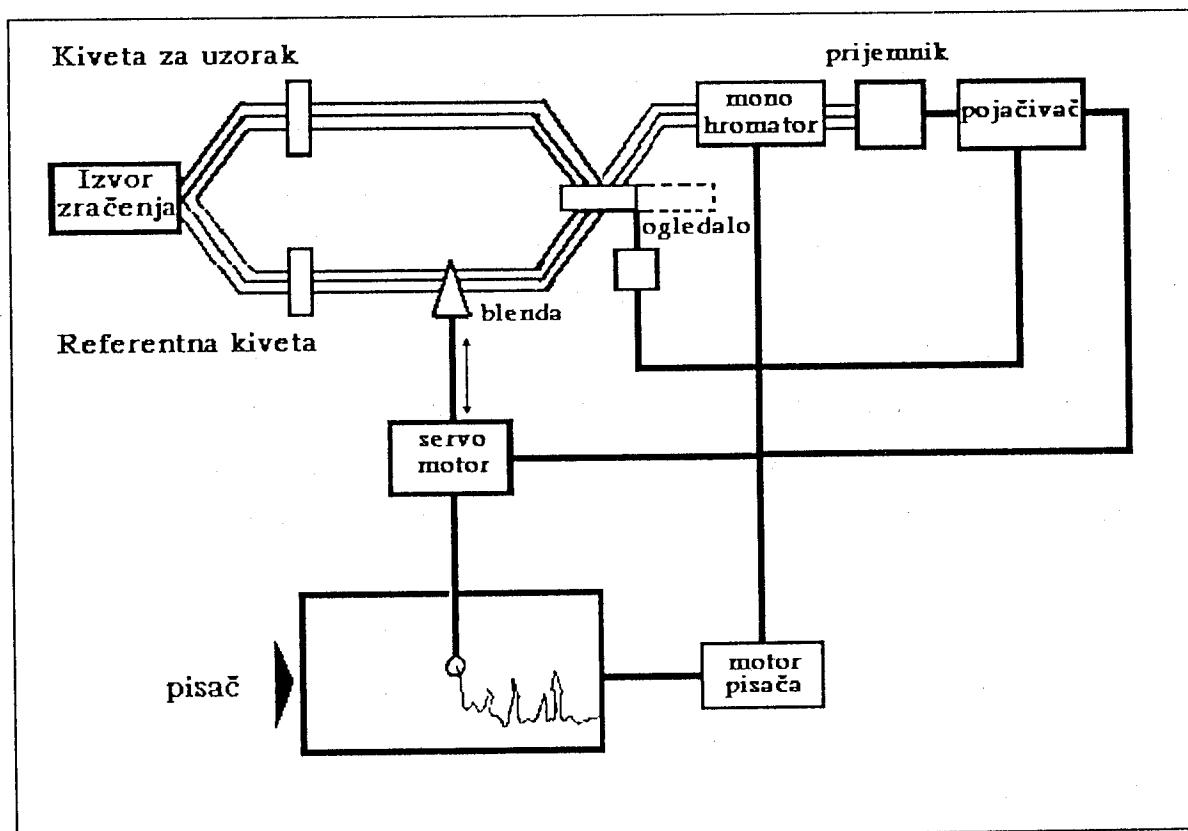
Kada se dobije spektar, mogu se uočiti karakteristične spektralne trake različitog oblika i intenziteta. Položaj trake je određen njenim vrhom na apscisi, a svojom visinom u odnosu na ordinatu označava intenzitet. Interpretacija IC spektara se zasniva na prepoznavanju pojedinih apsorpcionih traka na osnovu ranijih snimanja ili kolekcije standardnih spektara. Uredaji ovakve vrste danas se upotpunjaju sa procesionim računarima, koji mogu velikom brzinom da pregledaju i uporede dobijeni spektar sa nekim iz baze podataka. Ranije je identifikacija bila veoma složen proces upravo zbog obimnosti i visoke cene atlasa standardnih spektara. IC spektroskopija može se primeniti kako u kvalitativnoj, tako i u kvantitativnoj analizi kamenja nastalog u ljudskom organizmu.

Smatra se da IC spektrometrija spada u red rutinskih analiza uzoraka u hemijskoj industriji i medicini. Bajšer (Beischer)⁶⁸ je 1955. godine prvi primenio IC spektrometriju u istraživa-nju kamenja mokraćnog sistema.

Spektralne linije jedinjenja, koja izgraduju kamenje mokraćnog sistema nalaze se u oblasti zračenja od 2,5 - 50 μ ili izraženo kao frekvencija zračenja od 4000 - 200 cm⁻¹.³²

Princip rada IC spektrofotometra prikazuje slika 14. Izvor svetlosti se deli na dva dela, jedan referentni i drugi za analizu. Optika instrumenta je tako podešena da se zraci fokusiraju na oslabljivače, čija je funkcija da odnos dvaju zrakova podeše tako da propustljivost bude 100 % kada je uzorak potpuno transparentan, a 0% kada je put zraka potpuno blokiran. Naizmeničnim propuštanjem referentnog i zraka za analizu obezbeđeno je stalno upoređivanje intenziteta, tako da je apsorpcija uvek data relativno u odnosu na referentni zrak. Sistem za detekciju se sastoji iz termopara, koji se zagreva dejstvom energije zračenja i daje električni signal odgovarajućeg intenziteta. Registrovanje pojačanog signala, kod starijih instrumenata tehnički je izvedeno pomoću pisača koji je sastavni deo IC spektrofotometra.

Za analizu kamenja potrebna je mala količina uzorka, a priprema uzorka je identična kao i za druge materije čvrstog agregatnog stanja. Uzorce je potrebno očistiti od primsa tkiva, pranjem u destilovanoj vodi. Prilikom sušenja treba voditi računa da se uzorci ne zagrevaju iznad 65 °C, jer može doći do izmene u strukturi jedinjenja koja izgrađuju kamen.⁶⁹



Slika 14. Princip rada infracrvenog spektrofotometra

Identifikacija IC spektara se zasniva na prepoznavanju karakterističnih spektralnih linija pojedinih grupa. Danas se često koriste ranije snimci kamenja, koji se nalaze u zbirci IC spektara. Tablica 2. prikazuje karakteristične spektralne linije pojedinih grupa, koje sačinjavaju jedinjenja od kojih je kamen izgrađen.

Tablica 2. Karakteristične spektralne linije hemijskih grupa³²

| Hemijska grupa | Karakteristična spektralna linija (cm^{-1}) |
|-------------------------------|--------------------------------------------------------|
| C–H | 2800-3000, 1350-1500 |
| C=O | 1600-1800 |
| –O–H | 3100-3600, 1650(H_2O), 1100-1400 |
| –NH ₂ | 3200-3500, 1550-1650 |
| PO ₄ ³⁻ | 1000-1100, 550-650 |
| CO ₃ ²⁻ | 1350-1450, 850-900 |

U analizi kamena mokraćnog sistema koristi se kvalitativna analiza IC spektrometrijskom metodom. Mogućnost kvantitativne analize na osnovu IC spektra zasniva se na primeni Beerovog zakona, ukoliko je proporcionalnost linearna.⁷⁰ Na osnovu intenziteta spektralnih linija na IC spektru moguće je odrediti sadržaj pojedinih komponenti u uzorku.

2.5.2.3. Pregled ostalih fizičkih metoda

Ostale instrumentalne metode za sada nisu doatile svoje mesto u dijagnostici i u određivanju sastava kamena. Neke od njih imaju samo teorijski značaj, pošto je oprema skupa i priprema uzorka za analizu dosta složena. Veliki broj radova je objavljen na ovu temu, a najčešće se spominju mikroradiografija, termoanaliza i polarizaciona mikroskopija.

Mikroradiografija je radiografija u mikroskopskim dimenzijama. Postupak analize je jednostavan, ali prilično zahtevan. Uzorak se pripremi i postavi na film. Pogodnim izvorom X-zračenja uzorak se ozrači. Dobijeni snimak predstavlja senku kamena, koja je karakteristična za pojedine vrste kamena. Ova tehnika pruža mogućnost uvećavanja željenih delova slike, tako da se mogu odrediti i istražiti slojevi kamena. Prepoznavanje uzorka, kao i kvantitativno određivanje sadržaja pojedinih komponenti kamena, je takođe moguće

upoređivanjem karakteristične apsorpcije X-zračenja. Ova metoda se najčešće primjenjuje u naučne svrhe.^{71,72}

Ako pored kvalitativne analize postoji potreba i za preciznijom kvantitativnom analizom, može se primeniti i *termoanaliza*. Ova tehnika se sastoji u praćenju termičke dekompozicije materijala, sve do stabilnijih jedinjenja, najčešće oksida. Ovi procesi su praćeni promenom mase polaznog materijala u ovom slučaju kamena. Svako jedinjenje zagrevanjem menja svoju strukturu, pri čemu dolazi do apsorpcije energije (endotermne promene) ili oslobađanja (egzotermne promene).⁷³

Termoanaliza je obično skup različitih tehnika, odnosno skup koji omogućava praćenje različitih promena u uzorku.⁶⁴ Uredaji namenjeni ovoj vrsti analize mogu pratiti promene entalpije preko promene temperature uzorka (DTA) i promene mase (TG), a radi lakše identifikacije beleže i (DTG) krivu, koja predstavlja brzinu promene mase uzorka - derivativnu termogravimetrijsku krivu. Svoju punu efikasnost DTA, TG i DTG imaju tek u zajedničkoj primeni.

Savremeni uređaji ove vrste na jednom mestu hartiji pisača i - ili ekranu računara beleže sve tri krive, tako da se lako mogu uporediti i odrediti sastav traženog uzorka.

Postupak određivanja ovom tehnikom zahteva veću količinu uzorka. U zavisnosti od instrumenta ta količina se kreće od 10 do 60 mg. Ovako velika količina uzorka predstavlja jedinu prepreku u primeni ove metode u dijagnostičke svrhe.

Identifikacija dobijenih snimaka zasniva se na upoređivanju sa standardnim ili izračunavanjem potrebnih vrednosti i upoređivanjem sa tabličnim vrednostima iz literature. Ova tehnika omogućava veoma jednostavno prepoznavanje istih jedinjenja sa različitim brojem molekula kristalne vode (dehidrovana i dihidratna forma mokraće kiseline, Ca-oksalat-monohidrat i Ca-oksalat-dihidrat).

Polarizaciona mikroskopija zasniva se na činjenici da su kristalne supstance anizotropne sredine. Optička anizotropija ogleda se u različitoj brzini prostiranja svetlosti u različitim pravcima, prema tome i različitim indeksom prelamanja. U zavisnosti od indeksa prelamanja kristalne supstance mogu se podeliti u tri grupe.

Kod izotropnih kristala svetlost se kreće u svim pravcima podjednako. Za tu vrstu je karakteristična kubična struktura i specifična slika, koju daje kristalna supstanca. Anizotropni kristali imaju više indeksa prelamanja, tako da se svetlost kreće kroz njih različitim

brzinama. U zavisnosti od indeksa prelamanja kristali mogu biti jednoosni i dvoosni. Kod ove vrste kristalnih sistema svetlost se u različitim ravnima kristala kreće različitom brzinom. Kako kamenje mokraćnog sistema ima osobine kristala, to se na osnovu ove osobina može izvršiti identifikacija i razlikovanje istih.

Ograničavajuća okolnost primene ove metode je što se uzorak za analizu mora posebno i dugo pripremati, kako bi se posmatrao polarizacionim mikroskopom. Uzorak je potrebno obraditi tako da ima malu debeljinu, izuzetno glatku površinu i dobru prozirnost. Takav uzorak se lepi na predmetno staklo pomoću kanada-balzama i na njega odozgo se stavlja pokrovno staklo. Takođe je važno uzorak preseći u odgovarajućoj orijentaciji, kako bi se dobili zadovoljavajući rezultati.^{64,72}

Ova tehnika se pokazala kao vrlo pouzdana i precizna. Postupak rada je vrlo jednostavan. Pripremljeni kamen postavi se na predmetni stočić mikroskopa i jednostavnim posmatranjem se zapažaju promene u vidnom polju. Stočić mikroskopa se može rotirati tako da se promene mogu posmatrati pod određenim uglovima. Svaki kristal ima karakterističan ugao, pri kom se vidno polje osvetljava ili ostaje tamno.⁷² Ova razlika je posledica indeksa refrakcije kristala u pojedinim ravnima. Ova osobina takođe može poslužiti i za detaljnu identifikaciju uzorka kamena mokraćnog sistema.

Polarizacioni mikroskop se može jednostavno dobiti ako se na klasični laboratorijski mikroskop dodaju elementi potrebni za polarizaciju svetlosti (polarizator i analizator Nikolove prizme, pokretni stočić za uzorce i Bertranovo sočivo).

Ostale fizičke metode se samo spominju kao mogućnosti primene u analizi. Danas se intenzivno traga za metodama, koje bi dale pouzdane podatke o sastavu kamenja, još dok se nalazi u organizmu čoveka.

2.4.3. Rešavanje problema u svetu i našoj okolini

Urolitijaza ili bolest stvaranja kamena najčešća je bolest mokraćnog sistema. U nekim delovima sveta urolitijaza je veoma česta bolest, tako da ovo oboljenje uzima vid endemskog karaktera. Postoje litogene oblasti, kao i delovi sveta, gde je ta bolest izuzetno retka. Prema nekim statistikama na prvom mestu po učestalosti urolitijaze nalazi se Azija, odmah zatim Evropa, posebno južna i severna, i na kraju centralna Amerika i severni deo Australije.⁶

Spomenuti faktori koji utiču na stvaranje kamaena mokraćnog sistema samo delimično mogu objasniti pojavu ove bolesti. Ako se posmatra uticaj klime, bilo bi za očekivati da ova bolest bude veoma česta u centralnoj Africi, predelima oko reke Amazon i naseljenim mestima na krajnjem severu. Međutim, istraživanja su pokazala da se bolest izuzetno retko javlja na ovim mestima.

Veliki broj istraživanja se odnosio na uticaj ishrane na pojavu ove bolesti. Rezultati su pokazali da Eskimi krajnje retko oboljevaju od ove bolesti, iako im je hrana jednolična. Očekivalo se da u oblastima gde se konzumira velika količina mleka i mlečnih proizvoda bude veliki procenat pojave bolesti. U Švajcarskoj i Holandiji stanovištvo konzumira mleko i mlečne proizvode, bogate kalcijumom, ali broj obolelih je znatno veći u Holandiji.

U slučaju južne Evrope, najveća učestalost urolitijaze je na Balkanskom poluostrvu i to posebno u Dalmaciji, Crnoj Gori i Makedoniji gde se kao litogeni faktori mogu pomenuti loša ishrana i oskudica vode u letnjim mesecima. Za Vojvodinu i južne delove Mađarske kao litogeni faktor literatura navodi preobilnu i nepravilnu ishranu.⁶ Pored toga za ovo područje je mnogo češće kamenje žuči,⁷³ iz razloga obilne i nepravilne ishrane, prvenstveno hranom koja sadrži velike količine holesterola.

Posmatrajući urolitijazu prema vrsti kamenja, koje se najčešće javlja u nekim oblastima sveta, istraživanja³⁰ su pokazala da se uratno kamenje češće javlja na srednjem Istoku i nekim delovima istočne Evrope. Ishrana bogata cerealijama i pirinčem i siromašna mesom navode se kao uzrok pojave ove vrste kamenja na bliskom i dalekom Istoku, a najčešća lokalizacija je u mokraćnoj bešici.

Isto tako neđeno je da je učestaliji struvit sa karbonat apatitom kod dece u Evropi nego u severnoj Americi.⁷⁴ Ova vrsta kamenja se javlja usled infekcije mokraćnog sistema i to u 53-75% dece ispod 5 godine starosti, dok se u Americi taj broj kreće oko 24% dece istog uzrasta.

U okviru multicentričnog programa^{75,76} ispitivanja bubrežnog kamenja u Hrvatskoj došlo se do podataka⁷⁷ da je oksalatna litijaza veoma česta u tom delu Balkanskog poluostrva i da se sreće u 41,7% slučajeva. Oksalatno kamenje je najčešće u obliku kalcijumoksalata. Mali broj je sadržao fosfate, a samo jedan je imao za primesu mokraćnu kiselinu. Drugo po javljanju bilo je fosfatno kamenje, čija je zastupljenost bila 39,4 %. Glavni

sastojak je bio fosfat (apatit ili struvit). Na trećem mestu po javljanju nalazi se kamenje sastavljeno od mokraćne kiseline 18,5 %.

U jednom opsežnijem istraživanju,⁷⁸ koje se prvenstveno odnosilo na primorske krajeve Hrvatske, poseban naglasak je dat na sastav kamenja. Sastav kamenja je određivan metodom difrakcije X-zraka i IC spektrometrije. Na ovaj način analiziran je 281 kamen mokraćnog sistema i izvršena je njihova klasifikacija u osam grupa i to : oksalatno, fosfatno, uratno, oksalatno-fosfatno, oksalatno-uratno, oksalatno-fosfatno-uratno, fosfatno-uratno i ostalo. Rezultati su pokazali da se najveći broj kamenja prema sastavu svrstava u oksalatno-fosfatnu grupu 50,5 %, zatim u grupu čistog oksalata (monohidratna i dihidratna forma) 22,4 % i fosfatnu grupu u kojoj je najčešća kombinacija bila apatit-struvit 5,7 %. Uratna grupa sastojala se iz smeša dehidrovane i dihidratne forme mokraćne kiseline i uočena je u 8,2% slučajeva. Čisto fosfatno kamenje je dokazano u 8,5 % kamenja. Veoma mali procenat kamenja je dvo i višekomponentno. Taj broj se kreće od 2,5 % do 4,6 %. Neznatan broj se sastojao od cistina, svega 0,71 %.

U Vojvodini istraživanja²⁻⁵ su vršena u Novom Sadu u saradnji Instituta za fiziku i Klinike za urologiju. Na osnovu 12-godišnjih rezultata⁵ analize kamaena uočene su neke zavisnosti u vezi sa pojmom i vrstom kamenja na ovim prostorima. Klinika za urologiju je jedina ustanova ove vrste u Vojvodini, gde se vrši ekstrakcija kamenja, tako da materijal dobijen na klinici predstavlja tipičan uzorak za ove krajeve. U toku istraživanja⁵ analizirano je 1186 kamenčića metodom difrakcije X-zraka. Rezultati su pokazali sledeće: oksalatno kamenje sačinjava 55,73% uzorka, gde su ubrojani i kombinovani sa fosfatom i uratom. Kamenje sa fosfatom, kao glavnom komponentom nalazilo se u 33,89% uzorka. U ovoj grupi su se nalazili kalcijum-fosfat (11,95%) i magnezijum-fosfat (12,39%). Kod fosfatnog kamenja pronađeno je i 9,53% slučajeva sa mešovitim fosfatom kalcijuma i magnezijuma. Kamenje organskog porekla uratno, cistinsko i ksantinsko je sačinjavalo grupu od 6,67%. Iz ove grupe najviše je bilo urata 5,06%, zatim cistina 1,44% i najmanje ksantina 0,17% slučajeva.

U ranijim radovima^{3,4} iz ove oblasti dat je naglasak na strukturu stanovništva, lokализaciju i vrstu kamenja. Na osnovu tih rezultata vidi se da je dve trećine obolelih rođeno u ovim krajevima, a samo jedna trećina je iz ostalih krajeva. Lokalizacija kamenja je najčešća upravo u bubregu 54%, u uretri 18% i u mokraćnoj bešici 20%. Analiza mokraćnog kamenja je vršena metodom difrakcije X-zraka, a ispitano je 153 uzorka kamenja. Od tog

broja najveći je procenat fosfata 32,68%, zatim kalcijum-oksalata 31,37% i kombinovane litijaze oksalat-fosfat 26,14%. Veoma je mali broj organskog kamenja. Urata je pronađeno u 5,88%, a cistina u 3,92% slučajeva.

U literaturi danas se najčešće navodi da se ispitivanje kamenja mokraćnog sistema vrši metodama IC spektrometrije i difrakcije X-zraka. Ove dve tehnike su postale standardne, rutinske tehnike istraživanja, ali nisu još u potpunosti zamenile hemijske metode. Sve ostale tehnike se uporeduju sa njima. IC spektrometrija i difrakcija X-zraka imaju svojih nedostataka, ali njihovim kombinovanjem se većina može izbegići.⁷⁹ Najbolji primer je detekcija karbonata u kamenju od struvita, posebno kada se nalazi u tragu. U IC spektru, pik amonijum-jona iz struvita se može preklapati sa pikom karbonata, pri talasnom broju 1420 - 1435 cm⁻¹, te se može načiniti greška u potpunom određivanju sastava kamenja. Primenom Ramanove spektroskopije može se dokazati prisustvo karbonata u uzorku kamenja. Na ovaj način⁷⁹ ispitano je 40 kamenja mokraćnog sistema od kojih je prema IC spektru 30 sastavljeno iz struvita i mešanog struvit-kalcijum-oksalata. Kada su isti uzorci podvrgnuti ramanskoj spektroskopiji, nađeno je da 12 uzoraka ima sastav struvita, a ostalih 18 pokazuju spektar apatita. Difrakcijom X-zračenja pokazano je da 25 uzoraka ima sastav struvita, 3 su imala sastav hidroksi-apatita, dok su 2 ostala neidentifikovana. Ramanovi spektri su se i istoj meri pokazali pogodni za identifikaciju ostalih komponenti kamenja kao i IC spektroskopija i difrakcija X-zračenja. Karbonat je pronađen u jednom uzorku kamenja sastavljenog iz struvita. Na osnovu ovoga izведен je zaključak, da se karbonati nalaze kao minorne komponente mokraćnog kamenja.

Danas se razvijaju tehnike istraživanja kamenja in vivo. Upotrebom X-zračenja malih talasnih dužina moguće je razlikovati kamenje po sastavu in vitro. Ova tehnika se može modifikovati za upotrebu in vivo. Na ovaj način ispitano je 45 uzoraka kamenja, i ovi preliminarni rezultati pokazuju da oksalati imaju karakteristične spekture, te da se na taj način mogu prepoznati kao komponente kamenja.⁸⁰

Nadalje, veliki broj radova iz ove oblasti posvećen je izučavanju nastanka kamenja u živom organizmu, njegovom rastu i načinima spontanog izbacivanja. U velikim istraživačkim centrima vrše se istraživanja na oglednim životinjama, za koje je dokazano da u slučaju veštačke ishrane mogu stvoriti kamen u mokraćnom sistemu. Istraživanja se vrše na

pacovima,¹⁸ kod kojih se nepravilnom ishranom i podešavanjem pH vrednosti mokraće izaziva pojava kamena u mokraćnom sistemu. Prepostavka je da otkrivanjem načina na koji nastaje kamen u ovih životinja, može se jednostavno primeniti i na čoveka.

Ispitavanja ostalih vrsta litijaze se vrši na psima dalmatincima i buldozima, koji često oboljevaju od cistinske i uratne urolitijaze.^{81,82} Često se izučavanje kamena od struvita vrši na mačkama, kod kojih se kamen stvara nakon hirurške intervencije odstranjivanja jajnika⁸³ ili rigoroznih dijeta.⁸⁴

Sva ova istraživanja imaju za cilj da se što bolje prouči etiologija ove bolesti i faze nastanka kamena, kako bi se u skoroj budućnosti mogao jednostavnim i neinvazivnim metodama eliminisati iz organizma .

3. EKPERIMENTALNI DEO

3.1. Ispitivani uzorci, hemikalije i rastvori

Analiza je obuhvatila 16 uzoraka kamena iz mokraćnog sistema i to 6 dobijenih operativno, a 10 posle ESWL terapije. Jedan uzorak kamena mokraćnog sistema je stigao uredno upakovani iz Waverly država Ohio USA. Zbog male količine uzorka opredelili smo se za mikrohemiju analizu i analizu difrakcijom X-zraka. Jedan uzorak je bio kamen iz žuči, dobijen operativno. Svi uzorci su pre ispitivanja dobili odgovarajuće šifre, da bi se izbegla indiskrecija pacijenata.

Uzorci su sušeni na vazduhu i u potpunosti homogenizovani u porcelanskom avanu do mikrokristalnog praha, te čuvani u hemijski čistim posudama na suvom mestu.

Sve korišćene hemikalije bile su reda čistoće "pro analysi". Za pripremu svih rastvora upotrebljena je demineralizovana voda.

U toku kvalitativne hemijske analize *kamenja mokraćnog sistema* korišćeni su sledeći rastvori:

- 0,1 mol dm⁻³ rastvor sumporne kiseline, koji je pripremljen odmeravanjem potrebne zapremine 97 % H₂SO₄ (Zorka-Šabac);
- 0,25 mmol dm⁻³ rastvor kalijum-permanganata pripremljen rastvaranjem potrebne mase čvrste supstance (Kemika-Zagreb) u vodi;
- 10 % rastvor amonijum-molibdata (NH₄)₆Mo₇O₂₄ x 4H₂O, pripremljen rastvaranjem 10 g supstance (Merck-Alkaloid);
- 20 % rastvor NaOH, pripremljen rastvaranjem potrebne količine granula natrijum-hidroksida (Zorka) u vodi;
- 50 % rastvor etanola (C₂H₅OH), pripremljen odmeravanjem potrebne zapremine 96 % rastvora etanola (Alfapanon- Novi Sad);
- 0,1 % rastvor titan-žutog (C₂₈H₁₉N₅Na₂O₆S₄), pripremljen rastvaranjem čvrstog indikatora (Kemika-Zagreb);
- 2 % rastvor amonijum-oksalata, pripremljen rastvaranjem potrebne količine čvrste supstance u vodi (Merck-Alkaloid);

- Nessler-ov reagens je pripremljen na uobičajeni način, mešanjem istih zapremina rastvora A i B; Rastvor A se priprema odmeravanjem 5 g HgCl₂ (Eurohemija-Beograd) i 3,56 g KI (Kemika-Zagreb) i rastvaranjem u odmernom sudu od 100 cm³. Rastvor B predstavlja rastvor KOH koncentracije 3 mol dm⁻³.

Prilikom kvalitativne analize *žučnog kamena* korišteni su sledeći rastvori:

- 1 mol dm⁻³ rastvor hlorovodonične kiseline pripremljen odmeravanjem potrebne zapremine 37 % HCl (Zorka-Šabac);
- 0,48 mol dm⁻³ rastvor barijum-hlorida se priprema odmeravanjem potrebne mase osušenog BaCl₂ (Pliva-Zagreb);
- Zasićeni rastvor amonijum-sulfata se priprema dodavanjem 9 g (NH₄)₂SO₄ (Zorka-Šabac) u 100 cm³ vode;
- 0,35 mol dm⁻³ rastvor dinatrijum-hidrogen-fosfata (Na₂HPO₄ x2H₂O) pripremljen rastvaranjem potrebne količine čvrste supstance (Merck-Alkaloid).

Za ekstrakciju komponenti žučnog kamena upotrebljeni su etar (Beolab-Beograd), etanol 96 % (Alfapanon), hloroform (Zorka-Šabac). Takođe su korišćeni i anhidrid sirćetne kiseline (Zorka-Šabac), 97 % sumporna kiselina (ZorkaPharma) i metanol (Alfapanon-Novi Sad).

Diazo reagens se priprema na sledeći način:

Rastvor A se sastoji od 0,5 g sulfanilne kiseline, koja se rastvori u oko 50 cm³ vode u koju se predhodno doda 1,5 cm³ 37% HCl (Zorka-Šabac), smešu blago zagrejati do 50-60 °C. Nakon potpunog rastvaranja smeša se ohladi i dopuni do 100 cm³ vodom. Rastvor B se priprema rastvaranjem 0,5 g natrijum-nitrita (Kemika-Zagreb) u 100 cm³ vode. Radni rastvor diazo reagensa se priprema mešanjem 40 delova rastvora A i 1 dela rastvora B.

U kvantitativnoj analizi *mokraćnog kamena* se koriste sledeći rastvori:

- 7 % rastvor natrijum-bisulfita, pripremljen rastvaranjem potrebne količine suve supstance (Kemika-Zagreb);
- 2 % rastvor hidrochinona, pripremljen rastvaranjem suve supstance (Kemika-Zagreb) u vodi uz dodatak 0,2 cm³ 97 % H₂SO₄;
- 5 % rastvor molibden-sumporne kiseline, pripremljen rastvaranjem potrebne količine amonijum-molibdata (Merck-Alkaloid), u 0,5 mol dm⁻³ rastvoru sumporne kiseline;

- Karbonat-sulfitni rastvor, pripremljen rastvaranjem 53,4 g bezvodnog natrijum-karbonata (Merck-Alkaloid) i 20 g bezvodnog natrijum-sulfata (Zorka-Šabac) u 1000 cm^3 vode;
- Rastvor eriochrom-crnog T ($\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}$), pripremljen rastvaranjem 0,1 g čvrste supstance (Merck) u 10 cm^3 pufera (pH = 10) i dopuni vodom do 100 cm^3 ;
- 14% rastvor bezvodnog natrijum-karbonata (Merck-Alkaloid), pripremljen rastvaranjem potrebne količine čvrste supstance, (rastvor se čuva u polietilenskoj boci na hladnom mestu.);
- Folin-Wu-ov reagens, pripremljen na sledeći način: odmeri se 10 g čvrstog $\text{Na}_2\text{WO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (Chemapol-Čehoslovačka) i rastvori u oko 80 cm^3 vode. U tu smešu se doda 8 cm^3 85% rastvora ortofosforne kiseline H_3PO_4 (Zorka). Smeša se dobro promeša i dva sata drži na temperaturi ključanja uz povratno hlađenje (refluks). Kada se ohladi na sobnoj temperaturi dopuni se do 250 cm^3 vodom i doda 8 g čvrstog $\text{Li}_2\text{SO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ (Kemička-Zagreb). Nakon potpunog rastvaranja, odmerni sud se dobro zatvori i čuva na temperaturi od +4 °C. Reagens je stabilan više meseci;
- Za pripremu amonijačnog pufera pH= 10 rastvori se 7 g amonijum-hlorida (Labhroma-Skopje) u 54 cm^3 25 % rastvora amonijaka i razblaži vodom. Da bi se maskirao kalcijum, doda se 0,02 g etilen-bis-(oksi-etilen-nitrilo)-tetra sirćetna kiselina (EGTA, $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_{10}$) (Riedel del Haän);
- $0,25\text{ mmol dm}^{-3}$ rastvor natrijum-hidroksida se priprema rastvaranjem potrebne količine granula (ZorkaPharma). U ovaj rastvor se dodaje 7,2 g čvrstog 8-hidroksi-hinolina ($\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$) (Merck), kako bi se maskirao Mg^{2+} ion, koji ometa reakciju određivanja kalcijuma, metodom kompleksometrijske titracije;
- 1 mmol dm^{-3} rastvor etilen-tetraamino-sirćetne kiseline (EDTA) se priprema rastvaranjem tačno odmerene 0,3722 g dinatrijumove soli EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}_2$) (Fluka chemicals) u odmernom sudu od 1000 cm^3 . Za titraciju kalcijuma se koristi $0,1\text{ mmol dm}^{-3}$ rastvora EDTA, koji se priprema razblaživanjem u odnosu 1:10 rastvora koncentracije 1 mmol dm^{-3} ;
- Indikatorski sistem se priprema na sledeći način: rastvor kalceina se priprema rastvaranjem 2 g kalceina ($\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_{13}$) (Merck) u 100 cm^3 $0,25\text{ mol dm}^{-3}$ rastvora NaOH. Rastvor timolftaleina ($\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_4$) priprema se rastvaranjem 0,1 g čvrstog indikatora (Carlo Erba- Italija) u 62 cm^3 etanola u odmernom sudu od 100 cm^3 . Nakon rastvaranja sud se

dopuni vodom do crte. Indikatorski sistem se dobija mešanjem $0,2 \text{ cm}^3$ rastvora kalceina u $19,8 \text{ cm}^3$ $0,25 \text{ mol dm}^{-3}$ NaOH i 1 cm^3 rastvora timolftaleina;

- 2 mol dm^{-3} i 15 mol dm^{-3} rastvori H_2SO_4 pripremaju se odmeravanjem potrebnih zapremina 97 % H_2SO_4 u pogodne odmerne sudove;

- 1 % rastvor hromotropne kiseline ($\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2\text{x } 2\text{H}_2\text{O}$) pripremljen rastvaranjem potrebne mase čvrste supstance (Merck);

- Elektrolitski cink (British Drug Houses) u vidu folije se iseče na komade približno površine 1 cm^2 . Pre upotrebe se aktivira u podesnoj količini 10 mol dm^{-3} rastvora HNO_3 . Postupak se izvodi u digestoru!

- 10 mol dm^{-3} azotne kiseline priprema se odmeravanjem potrebne zapremine koncentrovane HNO_3 (Zorka);

- Za određivanje amonijum-jona priprema se rastvor A i rastvor B. Fenol-nitroprusid reagens (rastvor A) priprema se odmeravanjem 10 g bezbojnog fenola (Beolab-Beograd) i 0,05 g natrijum-nitroprusida ($\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NOxH}_2\text{O}$) (Merck-Alkaloid). Odmerene mase se rastvaraju u oko 500 cm^3 vode, nakon čega se razblaži do 1000 cm^3 vodom.

- Alkalni hipohlorit (rastvor B) priprema se rastvaranjem 5 g NaOH u 500 cm^3 vode. Nakon hlađenja rastvoru se doda $57,6 \text{ cm}^3$ natrijum-hipohlorita (Sani-Bell, Novo Miloševо, tehnički rastvor sa garantovanih 3 g natrijum-hipohlorita), promeša i nakon rastvaranja razblaži do 1000 cm^3 vodom;

- Enzim ureaza priprema se rastvaranjem 25 mg ureaze (Reahem) otopi u 50 cm^3 EDTA - pufera ($\text{pH}=6,5$). Ovako dobijen rastvor ureaze sadrži 60 - 110 U ureaze. EDTA - pufer se priprema rastvaranjem 10 g EDTA u oko 800 cm^3 . Nakon podešavanja pH vrednosti rastvora pomoću 30 % NaOH sud se dopuniti do 1000 cm^3 vodom;

- $55,53 \text{ mmol dm}^{-3}$ standardni rastvor oksalata se priprema tačnim odmeravanjem 0,10269 g soli $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ (Merck) u odmernom sudu od 100 cm^3 ;

- Za standardne rastvore magnezijuma i kalcijuma, odnosno fosfata u toku rada korišteni su komercijalni proizvodi (Yugomedica dijagnostika - Kragujevac). Koncentracije su bile $2,00 \text{ mmol dm}^{-3}$, $2,50 \text{ mmol dm}^{-3}$ i $1,94 \text{ mmol dm}^{-3}$ za magnezijum, kalcijum i fosfat respektivno.

Za standardni rastvor mokraćne kiseline ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$) korišten je komercijalni standard firme (Yugomedica dijagnostika - Kragujevac) sa koncentracijom mokraćne kiseline od $476 \mu\text{mol dm}^{-3}$.

Standardni rastvor uree 5 mmol dm^{-3} priprema se odmeravanjem 30 mg uree ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) (Zorka-Šabac) i rastvaranjem u 100 cm^3 97% rastvora etanola (Alfapanon).

U toku kvantitativne analize sastava *žučnog kamena* korišten je komercijalni set (Menarini diagnostics - Italija) za određivanje holesterola. U okviru tog seta nalazi se i standardni rastvor u koncentraciji od $5,17 \text{ mmol dm}^{-3}$ holesterola.

Za pripremu tableta uzoraka korišten je KBr (Kemika-Zagreb).

Prilikom snimanja difrakcije X-zraka male količine uzoraka lepljene su pomoću vakuum masti (Kemika-Zagreb).

3.2. Korišćena oprema i pribor

Uzoreci su mereni na mikroanalitičkoj vagi Sartorius tip 2405.

Prilikom izvođenja mikrohemiske kvalitativne analize korišćene su staklene predmetne pločice i mikroskop sa bočnim osvetljenjem Carl Zeiss.

Infracrveni spektri su snimani na instrumentu firme Perkin-Elmer tip 475.

Za difrakciju X-zraka korišten je difraktometar holandske firme Philips Electronic Instruments. Ovaj difraktometar je ima mogućnost upotrebe različitih tehnika snimanja i detekcije reflektovanog zračenja.

Za spektrofotometrijsko određivanje koncentracija komponenti kamena u kvantitativnoj hemijskoj analizi korišten je spektrofotometar engleske firme Jenway tip 6100. Ap-sorbancija rastvora je merena u kvarenoj kiveti zapremine $3,5 \text{ cm}^3$, dok je dužina optičkog puta bila 10 mm.

Kalibracione krive su radene istovremeno kad i uzoreci, a dobijeni podaci obrađivani su na računaru korišćenjem programa Quattro Pro for Windows .

3.3. Kvalitativna analiza

Svaki uzorak kamenja mokraćnog sistema je rastvoren u $0,03 \text{ mol dm}^{-3}$ rastvoru hlorovodonične kiseline tačno određene zapremine (10 cm^3). Dobijeni rastvor je korišten za kvalitativnu i kvantitativnu hemijsku analizu kamenja.

Za kvalitativnu, odnosno kvantitativnu analizu kamenja iz žuči napravljen je rastvor kamenja u hloroformu.

U kvalitativnoj analizi su korišćene hemijske reakcije visoke osetljivosti. Kvalitativna analiza je izvođena na predmetnim pločicama u vidu spot test reakcija.

3.3.1. Mikrohemiska analiza

3.3.1.1. Postupak

Karbonati se dokazuju reakcijom istiskivanja slabe kiseline iz njene soli dejstvom jače. Karbonati se dokazuju, već pri rastvaranju uzorka u hlorovodoničnoj kiselini pojavom mehurića gasa CO_2 . Reakcija se ponavlja na predmetnoj pločici, tako što se uzme malo praha kamenja i u njegovoj blizini stavi se kap hlorovodonične kiseline. U vidnom polju mikroskopa oučava se burna reakcija uz obilno izdvajanje mehurića CO_2 na dodirnoj površini uzorka i kiseline.

Oksalati se dokazuju reakcijom sa permanganatom u kiseloj sredini. Reakcionu smešu potrebno je blago zagrevati, pri čemu nastaje Mn^{2+} , koji će katalizovati ovu reakciju. Sam postupak dokazivanja je sledeći: uzme se jedna kap rastvora analize na predmetno staklo, doda kap KMnO_4 i kap sumporne kiseline. Pločica se blago zagreje na toploj podlozi i posmatra obezbojavanje permanganata, što je dokaz za prisustvo oksalatnog anjona.

Fosfati se dokazuju u reakciji sa molibdenovom kiselinom, pri čemu nastaje kompleksno jedinjenje žute boje - amonijum-fosformolibdat-heksahidrat. Reakcija je osetljiva, te se ista koristi i u kvantitativnoj analizi kamenja. Na kap rastvora analize doda se kap 10% rastvora amonijum-molibdata i kap koncentrovane HNO_3 . Dodavanjem molibdata u višku

i uz blago zagrevanje do 40 °C, taloži se žut kristalni talog. U vidnom polju mikroskopa vide se žuti igličasti kristali nastalog amonijum-fosformolibdata.

Kvalitativna reakcija na *magnezijum* se izvodi sa titan-žutim. Ovaj indikator se veže za magnezijum u alkalnoj sredini. Na predmetnu pločicu stavi se kap analize i upari do suva korišćenjem grejne površine. Suvi ostatak se rastvori sa jednom kapi 20 % NaOH. Nakon rastvaranja se dodaje kap 0,1 % rastvora titan-žutog. Žuta boja rastvora menja se u crvenu kada je prisutan magnezijum.

Dokazivanje *kalcijuma* vrši se u alkalnoj sredini taloženjem sa amonijum-oksalatom. Kap analize se stavi na pločicu i upari do suva. Ostatak se rastvori u jednoj kapi 20 % NaOH. Na tako dobijenu smešu doda se kap 2 % rastvora amonijum-oksalata. Kada je prisutan kalcijum, nastaje beo talog kalcijum-oksalata. U vidnom polju mikroskopa vide se bele pločice nastalog jedinjenja. Ukoliko se radi iz jako razblaženih rastvora pod mikroskopom se mogu videti kristali kalcijum oksalata u obliku koverte.

Amonijum-jon se dokazuje Nessler-ovim reagensom. Kap analize se upari na pločici skoro do suva. Na ostatak se doda jedna kap 20 % NaOH i kap Nessler-ovog reagensa. Pojava žuto-smeđe boje je dokaz za amonijum jona.

Mokraćna kiselina se dokazuje mureksidnom reakcijom. Kap rastvora se upari do suva. Ostatak se rastvori koncentrovanom HNO₃ i ponovo upari skoro do suva. Na tako dobijenu smešu doda se kap koncentrovanog NH₄OH. Pojava crvenkaste boje dokaz je za postojanje mokraćne kiseline u uzorku kamena.

Kvalitativna reakcija na *ksantin* je ista kao i za dokazivanje mokraćne kiseline, samo što se umesto amonijaka dodaje kap 0,6 mol dm⁻³ NaOH. Pojava crvene boje ukazuje na prisustvo ksantina u uzorku kamena.

Dokazna reakcija za *cistin* se zasniva na dokazivanju sumpora u aminokiselinama. Sumpor u cistinu ili cisteinu u alkalnom rastvoru sa olovom gradi teško rastvorni sulfid, koji se taloži. Uzme se kap rastvora analize i upari do suva. Suvi ostatak rastvoriti u 20 %

3.3.1.2. Rezultati

Kao što se vidi iz tablice 3 na dokazane su različite vrste uzorka. U najvećem broju uzorka je dokazan kalcijum, oksalat i fosfat, magnezijum, amonijum-jon u nešto manjem broju, a samo u tri uzorka je dokazano prisustvo mokraćne kiseline. Kada se iz dobijenih podataka rekonstruišu jedinjenja, koja bi sačinjavala uzorke, vidi se da je kamenje od oksalata u najvećem broju i to u 62,5% uzorka, zatim fosfati najčešće tipa struvita 25%. Najmanje je zastupljena mokraćna kiselina i to u 18,75%. Na osnovu intenziteta boje dokazne reakcije mogli smo da procenimo i količinu prisutne komponente kamenja.

Uzorci su ispitivani jedan za drugim. Rezultati su prikazani u tablici 3.

Tablica 3. Rezultati kvalitativne analize kamenja.

| Uzorci | Ca^{2+} | Mg^{2+} | $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ | NH_4^+ | urat | CO_3^{2-} | PO_4^{3-} | HOL ²⁾ | BIL ³⁾ |
|--------|------------------|------------------|-----------------------------|-----------------|------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| MLH 8 | + | - | + | - | - | - | + | - | - |
| BOS 12 | + | - | + | - | - | - | + | - | - |
| BIF 2 | + | + | - | + | - | + | + | - | - |
| KIM 5 | + | - | - | - | + | - | + | - | - |
| SZD 4 | + | - | + | - | - | - | - | - | - |
| MIM 13 | + | - | + | - | - | + | + | - | - |
| BBM 7 | + | + | - | + | - | + | + | - | - |
| NNM 14 | + | - | + | - | - | - | + | - | - |
| ĐED 3 | + | - | + | - | - | + | + | - | - |
| BNM 1 | + | + | - | + | + | - | + | - | - |
| MRN 11 | + | - | + | - | - | - | - | - | - |
| BPD 10 | + | - | + | - | - | - | + | - | - |
| LMN 15 | + | + | - | + | - | + | + | - | - |
| MSD 6 | + | - | + | - | - | - | - | - | - |
| TFG 9 | + | - | + | - | - | - | - | - | - |
| ABB 16 | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| LC 1 | + | - | - | - | - | - | - | + | + |

Napomena:

¹⁾ Svaka pozitivna reakcija je označena znakom +, negativna znakom -.

²⁾ HOL je skraćenica za holesterol

³⁾ BIL je skraćenica za bilirubin

Ako se posmatra čistoća jedinjenja kamena, uočava se da su najčistiji oksalatni uzorci kamena u 31,25% slučajeva. Ostalo oksalatno kamenje je najčešće imalo primesu fosfata, a u vrlo malom broju kao primesa se javio karbonat.

Fosfatno kamenja tipa struvita nije dokazano kao čisto, najčešća primesa je bila tipa kalcijum-fosfata, a u dva slučaja je dokazano prisustvo karbonata. U jednom uzorku kao primesa se pojavila mokraćna kiselina.

Kvalitativnom analizom kamena iz žuči dokazano je prisustvo holesterola, kalcijuma i vrlo male količine bilirubina.

3.3.2. Infracrvena spektrometrijska analiza

3.3.2.1. Postupak

Kvalitativna IC spektrometrijska analiza vršena je tehnikom za čvrste uzorke pri premanjem KBr tablete. Za pripremu KBr tableta uzima se oko 1 mg uzorka i meša sa oko 10 mg KBr za IC spektroskopiju. Kada se smješa u avanu dobro homogenizuje, pomoću hidraulične prese načine se tablete. Kada se tablete pomoću nosača postave na predviđeno mesto spektrofotometra, može se početi sa snimanjem spektara.

Kako su na analizu u većini slučajeva dobiveni samo fragmenti kamena, određivan je srednji sastav uzorka kamenja, jer nije bilo mogućnosti za analizu pojedinih delova.

Pre samog početka snimanja potrebno je podešiti osjetljivost instrumenta. Takođe se odredi i interval talasnih dužina ili talasni broj za koji se želi snimiti infracrveni spektar. U ovom radu sniman je spektar u intervalu 2,5-50 nm ili $4000-200 \text{ cm}^{-1}$. Snimanje traje 20 - 30 minuta za svaki uzorak.

3.3.2.2. Rezultati

Identifikacija je vršena upoređivanjem sa standardnim spektrima uzorka iz literature.³² Sastav kamena je naveden prema redosledu intenziteta linija u IC spektru. Dobijeni spektri su prikazani slikama (20-28), u Prilogu rada, dok su rezultati obuhvaćeni u tablici 4.

Kvalitativnom IC spektrometrijskom analizom dobijeni su rezultati koji mogu poslužiti za određivanje i vrste jedinjenja. Na osnovu intenziteta karakterističnih linija u IC spektru razlikovali smo glavnu komponentu (visok intenzitet linije) i tragove nekih jedinjenja (linija u spektru malog ili vrlo malog intenziteta).

Na osnovu dobijenih rezultata vidi se da je oksalat prisutan u 73,33% uzorka, fosfati u 26,67%, a samo jedan uzorak je pokazivao karakteristični spektar mokraćne kiseline.

Rezultati IC spektrometrije su pokazali da se oksalatno kamenje najčešće javlja sa vrlo malim, tragovnim količinama fosfata (u IC spektru malog intenziteta). Samo je jedan oksalatni uzorak bio u čistom stanju. U jednom uzorku postojala je traka slabog intenziteta koja se može pripisati prisutnom karbonatu pri talasnom broju 1420 cm^{-1} i 874 cm^{-1} .

Ako se posmatraju jedinjenja koja sačinjavaju kamenje, tada se oučava da je dihidratna forma kalcijum-oksalata (vedelit) češća i ima intenzivnije trake u IC spektru od monohidratne forme (vevelit). Razlikovanje ova dva jedinjenja sa različitim brojem kristalnih molekula voda uočava se pri talasnom broju $3500\text{-}3050\text{ cm}^{-1}$. U ovoj oblasti spektralne linije vedelita su ravne i nepodeljene za razliku od vevelita, gde se javljaju pet karakterističnih, pojedinačnih pikova.

Tablica 4. Rezultati analize kamenja IC spektrometrijom

| Uzorak | Redosled dokazanih jedinjenja prema intenzitetu linija linija IC spektra | | |
|--------|--------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|
| MLH 8 | vedelit | vevelitit | hidroksi apatit |
| BOS 12 | vevelit | vedelit | — |
| BIF 2 | struvit | njuberit | ved/vev/dah |
| KIM 5 | mok.kiselina | mok.kis.dihid. | apatit |
| SZD 4 | vedelit | vevelit | brušit |
| MIM 13 | vevelit | vedelit | hidroksi apatit |
| BBM 7 | struvit | njuberit | apatit |
| NNM 14 | vedelit | vevelit | apatit |
| ĐED 3 | vev/ved | apatit | mok. kiselina |
| BNM 1 | struvit | apatit | mok. kiselina |
| MRN 11 | vevelit | vedelit | apatit |
| BPD 10 | vevelit | vedelit | brušit |
| LMN 15 | struvit | hidroksi apatit | dahlit |
| MSD 6 | vevelit | vedelit | karbonatapatit |
| TFG 9 | vevelit | vedelit | mok. kiselina |
| TFG 9 | vevelit | vedelit | mok. kiselina |
| LC 1 | holesterol | — | — |

Fosfatno kamenje se javlja čisto sa raznim kombinacijama fosfatnih jedinjenja. Fosfatna jedinjenja su najzastupljenija formom struvita, pri čemu su jako izražene trake amonijum-jona pri talasnom broju 1470 cm^{-1} . U velikom broju uzoraka pored struvita dokazano je prisustvo njuberita, monohidratne forme magnezijum-amonijum-fosfata sa karakterističnom linijom pri talasnom broju 1075 i 1042 cm^{-1} .

Fosfati tipa brušita i apatita obično imaju trake malog intenziteta u IC spektru, pa se mogu smatrati kao čest pratilac ili tragovna komponenta oksalatnog i struvitnog kamenja. U tri oksalatna i jednom fosfatnom uzorku pronašli smo slabo intenzivnu traku apsorpcije, koja se može pripisati mokraćnoj kiselini (1670 cm^{-1}).

Identifikacijom IC spektra žučnog kamaena dokazano je jedino prisustvo holesterola sa izrazito intenzivnom trakom pri talasnom broju $2930\text{-}2830\text{ cm}^{-1}$ i $1465\text{-}1365\text{ cm}^{-1}$.

3.3.3. Analiza difrakcijom X-zraka

3.3.3.1. Postupak

Prilikom ispitivanja kamaena mokraćnog sistema na rendgen-difraktometru korišćen je mikrokristalni prah uzorka. U slučaju male količine uzorka tehnika je modifikovana sa predmetnom pločicom i tankim slojem vakuum masti.

Mikrokristalni prah se nanese na specijalnu podlogu, koja ima udubljenje dimenzija $20 \times 10\text{ mm}$ na sredini. U taj prostor će nanese potrebna količina praha i presovanjem dovodi do stanja potrebne mehaničke čvrstoće. Prilikom prepariranja uzorka potrebno je voditi računa da površina uzorka bude glatka, da bi se obezbedila ista debljina sloja uzorka. Za ovakav način pripreme uzorka za snimanje potrebno je $10\text{-}20\text{ mg}$ praha kamaena.

Ako se na analizu dobije manja količina, kao u našem slučaju kao nosač se može koristiti i lepljiva traka ili predmetno staklo mikroskopa na koje se nanese tanak sloj vakuum masti. U ovom slučaju je, takođe, potrebno voditi računa o veličini površine uzorka, jer upadni zrak promenom ugla θ menja donekle i svoj pravac. I u ovom slučaju je potrebno preparirati površinu uzorka da bi se dobila homogenost cele površine.

Pre snimanja difrakcije X-zračenja potrebno je podešiti radne uslove difraktometra. Nakon uključenja instrumenta potrebno je podešiti radni napon rendgenske cevi i struju zagrevanja katode. Detekcija difraktovanog zraka je obezbeđena scintilacionom kamerom koja zračenje konvertuje u električni signal. Intenzitet signala se pojačava u elektronskom delu instrumenta. Signal se beleži na hartiji na kojoj je ranije nanesena odgovarajuća uglavna podela. Kako je važno dobiti jasne snimke, koji se mogu uporediti sa standardnim difraktogramima, potrebno je podešiti osetljivost instrumenta i brzinu kretanja hartije u

pisaču. Snimanje difraktovanog X-zračenja vrši se u intervalu uglova 2θ , koji se kreće od 9° do 50° . Za snimanje difraktograma uzorka za ove uglove potrebno je 45 minuta.

Radni parametri difraktometra:

Napon na rendgen cevi: 30 kV

Struja zagrevanja katode: 30 mA

Brzina skaniranja: $1^\circ/\text{min}$

Osetljivost: $2 \times 10^{-3} \text{ imp}/\text{min}$

Brzina hartije pisača: 5 mm/ min

3.3.3.2. Rezultati

Nakon identifikacije dobijenih snimaka, koji se nalaze u Prilogu rada (slike 29-34), određene su komponente prema intenzitetu linija spektra. Rezultati su prikazani u tablici 5.

Tablica 5. Rezultati difrakcije X-zraka mokraćnog kamena i kamenca iz žuči:

| Uzorak | Redosled dokazanih jedinjenja u odnosu na intenzitet linija na difraktogramu | | |
|--------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|----------|
| MLH 8 | vedelit | vevelit | - |
| BOS 12 | vevelit | vedelit | - |
| BIF 2 | struvit | - | karbonat |
| KIM 5 | mokraćna kiselina | mokraćna kiselina dihidrat | fosfati |
| SZD 4 | vevelit | vedelit | brušit |
| MIM 13 | apatit | hidroksiapatit | - |
| BBM 7 | struvit | njuberit | fosfati |
| NNM 14 | apatit | brušit | vev/ved |
| ĐED 3 | apatit | hidroksiapatit | - |
| BNM 1 | struvit | amonijum-urat | apatit |
| MRN 11 | vevelit | vedelit | - |
| BPD 10 | vevelit | vedelit | - |
| LMN 15 | struvit | njuberit | dahlit |
| MSD 6 | vevelit | vedelit | apatit |
| TFG 9 | vevelit | vedelit | - |
| ABB 16 | mokraćna kiselina | - | - |
| LC 1 | holesterol | - | - |

Iz rezultata datih u tablici 5. uočava se da se u većini uzoraka 53,33% javlja oksalat, fosfat u 37,5% i samo 18,75% kamenja od mokraćne kiseline.

Rezultati difrakcije X-zračenja pružaju mogućnost identifikacije pojedinih jedinjenja. Prema intenzitetu karakterističnih pikova pojedinih jedinjenja može se proceniti koji je sadržaj komponenti u uzorku..

Fosfatno kamenje je identifikovano najčešće sa karakterističnim pikom koji pripada struvitu na uglu difrakcije od $10,4^\circ$ ili za $d= 0,4257$ nm. Takođe u identifikaciji struvitnog kamenja od koristi pri razlikovanju poslužio je dublet linija pri uglu $7,7^\circ$ i $8,2^\circ$ ili $d= 0,5601$ nm i $d= 0,5378$ nm.

Komponente kamenja sa malim sadržajem najčešće su bile tipa apatita. U jednom fosfatnom uzorku dokazane su niske količine oksalata na osnovu karakterističnog pika pri uglu 16° , odnosno za $d= 0,2795$ nm.

Od organskih komponenti samo je u tri uzorka dokazana mokraćna kiselina sa izuzetno karakterističnim pikovima na uglovima $6,6^\circ$, $13,4^\circ$ i $20,5^\circ$ odnosno za vrednosti $d= 0,6703$ nm, $d= 0,3325$ nm i $d= 0,2200$ nm. U jednom uzorku je identifikovana kao dehidrovana, a drugom kao smeša dehidrovane i dihidratne forme mokraćne kiseline. U jednom uzorku od struvita pronađene su male količine mokraćne kiseline, u formi amonijumove soli ($\theta= 12,8^\circ$ odnosno $d= 0,3477$ nm).

Difraktogram kamenja iz žuči pokazao je samo prisustvo holesterola karakterističnim linijama difrakcije X-zraka pri uglovima od $8,4^\circ$ i $9,0^\circ$ odnosno za izračunate vrednosti $d= 0,5275$ nm i $d= 0,4926$ nm.

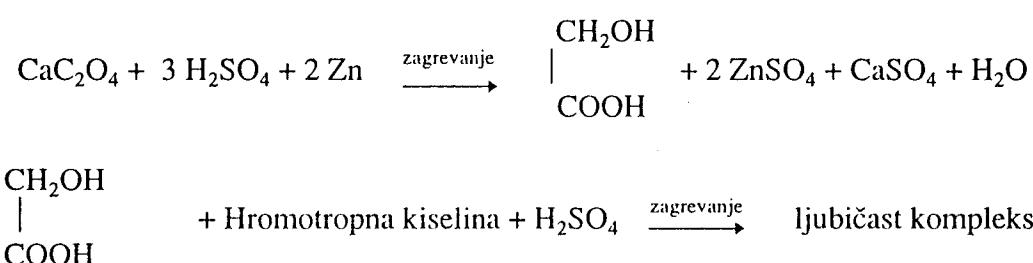
3.4. Kvantitativna hemijska analiza

3.4.1. Određivanje oksalata

Određivanje oksalata medicinskim ispitivanjima najčešće se izvodi po metodi koju su postavili Hodžkinson i Viliams, a modifikovao Januzović.⁵⁹

Oksalna kiselina se cinkom u kiseloj sredini, uz zagrevanje, redukuje do glikolne kiseline. Kako je hidroksilna grupa u molekulu ove kiseline izuzetno reaktivna, u prisustvu hromotropne kiseline i u kiseloj sredini dobija se ljubičasto obojen kompleks, čiji je intenzitet srazmeran količini oksalne kiseline u uzorku.

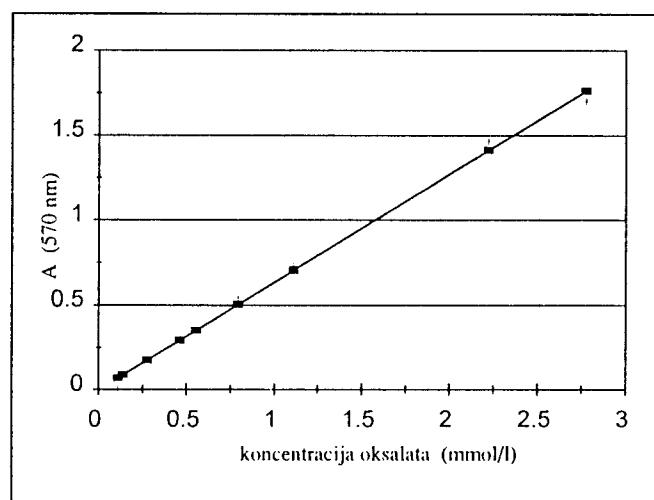
Reakcija određivanja oksalata teče prema jednačini:



Postupak određivanja oksalata je prikazan u tablici 6. U pogodne hemijski čiste epruvete odmere se potrebne zapremine rastvora, kako je prikazano u sledećoj tablici.

Tablica 6. Postupak kvantitativnog određivanja oksalata u mokraćnom kamenu

| | PROBA (cm ³) | STANDARD (cm ³) | KONTROLA (cm ³) |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Analiza | 0,20 | — | — |
| Destilovana voda | 0,80 | 0,80 | 1,00 |
| Standard | — | 0,20 | — |
| H ₂ SO ₄ 2 mol/dm ³ | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| Dodati po jedan komadić sveže aktiviranog cinka i zagrevati u ključalom vodenom kupatilu 45 minuta | | | |
| Hromotropna kiselina | 0,50 | 0,50 | 0,50 |
| Dobro isprati pločicu cinka i izvaditi iz epruveće | | | |
| H ₂ SO ₄ konc. | 5,00 | 5,00 | 5,00 |
| Zagrevati u ključalom vodenom kupatilu 45 minuta | | | |
| H ₂ SO ₄ 5 mol/ dm ³ | 15,0 | 15,0 | 15,0 |
| Posle potpunog hlađenja intenzitet boje se meri na talasnoj dužini 570 nm | | | |



Slika15. Kalibracioni dijagram za određivanje oksalata. Jednačina linearne regresije je $Y= 0,6255 X - 0,0005$, sa $r = 0,99586$

Iz rezultata prikazanih u tablici 7. vidi se da je najveći broj uzoraka imao niske koncentracije oksalata. Samo jedan uzorak nije sadržao oksalate.

Tablica 7. Rezultati određivanja sadržaja oksalata u mokraćnom kamenju

| Uzorak | A | c, mmol/ dm ³ | c, mg/ dm ³ | % u uzorku |
|--------|-------|--------------------------|------------------------|------------|
| MLH 8 | 0,067 | 0,107 | 9,42 | 13,11 |
| BOS 12 | 0,221 | 0,348 | 30,75 | 42,24 |
| BIF 2 | 0,007 | 0,011 | 1,00 | 1,06 |
| KIM 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| SZD 4 | 0,235 | 0,371 | 32,69 | 42,73 |
| MIM 13 | 0,050 | 0,078 | 6,92 | 8,02 |
| BBM 7 | 0,036 | 0,056 | 4,98 | 6,08 |
| NNM 14 | 0,175 | 0,277 | 24,38 | 28,63 |
| ĐED 3 | 0,025 | 0,039 | 3,46 | 4,00 |
| BNM 1 | 0,030 | 0,047 | 4,15 | 3,01 |
| MRN 11 | 0,333 | 0,525 | 46,27 | 54,85 |
| BPD 10 | 0,279 | 0,440 | 38,79 | 37,05 |
| LMN 15 | 0,056 | 0,088 | 7,75 | 5,78 |
| MSD 6 | 0,176 | 0,278 | 24,52 | 28,90 |
| TFG 9 | 0,287 | 0,453 | 39,89 | 48,15 |

3.4.2. Određivanje kalcijuma

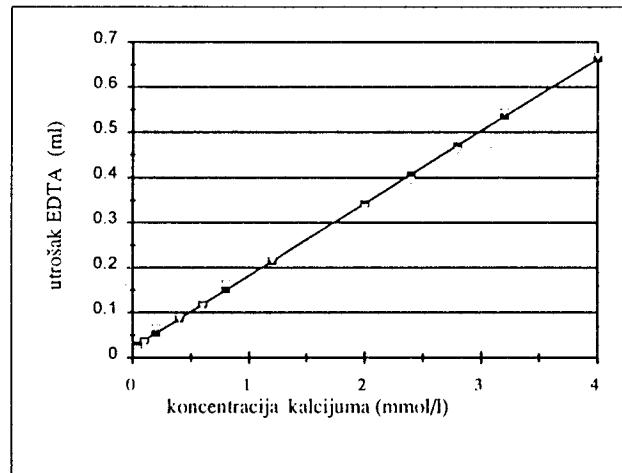
Starije metode su se zasnivale na taloženju kalcijuma oksalnom kiselinom i određivanjem viška oksalne kiseline retitracijom sa permanganatom. Metode novijeg datuma se baziraju na kompleksometrijskoj titraciji sa EDTA.

Određivanje kalcijuma u uzorcima mokraćnog i žučnog kamenja u ovom radu je izvršeno titracijom sa EDTA u prisustvu indikatorske smeše kalceina i timolftaleina u alkalnoj sredini. Gašenjem zelene fluorescencije i promenom boje rastvora u crveno - smeđu uočavase kraj titarcije.

Postupak za određivanje kalcijuma je predstavljen u tablici 8. U pogodne hemijske čaše se odmeri zapremina potrebnih rastvora kao što je u sledećoj tablici.

Tablica 8. Postupak kvantitativne analize kalcijuma u uzorcima

| | PROBA (cm ³) | STANDARD (cm ³) | KONTROLA(cm ³) |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Analiza | 0,10 | — | — |
| Standard | — | 0,10 | — |
| Destilovana voda | — | — | 0,10 |
| 0,25 mol dm ⁻³ NaOH | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Titrovati sa rastvorom EDTA do gašenja zelene fluorescencije i pojave crveno-smeđe boje | | | |



Slika 16. Kalibracioni dijagram za određivanje kalcijuma. Jednačina linearne regresije je $Y = 0,1601X + 0,00225$, sa $r = 0,99819$

Dobijeni utrošci titracionog sredstva (EDTA), pri titraciji rastvora uzoraka mokraćnog i žučnog kamena dati su u tablici 9. Na osnovu dobijenih rezultata vidi se da je kalcijum prisutan u svim uzorcima.

Najviše koncentracije kalcijuma su odredene u kamenju koji se sastoji od oksalata, kod kojih je sadržaj kalcijuma iznad 20%. Niske koncentracije kalcijuma su zapažene kod uzoraka, koji imaju sastav struvita i drugih vrsta fosfata. Sadržaj kalcijuma u ovim uzorcima se kretao od 1% do 3,63%. U jednom uzorku od mokraćne kiseline koncentracija kalcijuma je bila vrlo niska i iznosila je 0,95%.

Prilikom kvantitativnog određivanja kalcijuma u kamenu iz žuči utvrđena je njegova niska koncentracija, što ukazuje da uzorak pored kvalitativno dokazanog holesterola sadrži i izvesne količine bilirubina.

Tablica 9. Rezultati kvantitativnog određivanja kalcijuma u mokraćnim i žučnom kamenju

| Uzorak | V, cm ³ | c, mmol/ dm ³ | c, mg/ dm ³ | % u uzorku |
|--------|--------------------|--------------------------|------------------------|------------|
| MLH 8 | 0,075 | 0,445 | 17,81 | 24,79 |
| BOS 12 | 0,065 | 0,385 | 15,44 | 21,56 |
| BIF 2 | 0,010 | 0,059 | 2,35 | 2,52 |
| KIM 5 | 0,015 | 0,088 | 3,56 | 4,02 |
| SZD 4 | 0,070 | 0,414 | 16,62 | 21,73 |
| MIM 13 | 0,095 | 0,563 | 22,56 | 26,13 |
| BBM 7 | 0,010 | 0,059 | 2,37 | 2,86 |
| NNM 14 | 0,115 | 0,681 | 27,31 | 32,08 |
| ĐED 3 | 0,090 | 0,536 | 21,49 | 24,85 |
| BNM 1 | 0,005 | 0,032 | 1,30 | 0,95 |
| MRN 11 | 0,105 | 0,622 | 24,94 | 29,57 |
| BPD 10 | 0,140 | 0,829 | 33,25 | 31,76 |
| LMN 15 | 0,020 | 0,121 | 4,86 | 3,63 |
| MSD 6 | 0,105 | 0,622 | 24,94 | 29,39 |
| TFG 9 | 0,085 | 0,503 | 20,19 | 24,33 |
| LC 1 | 0,005 | 0,031 | 1,02 | 0,88 |

3.4.3. Određivanje magnezijuma

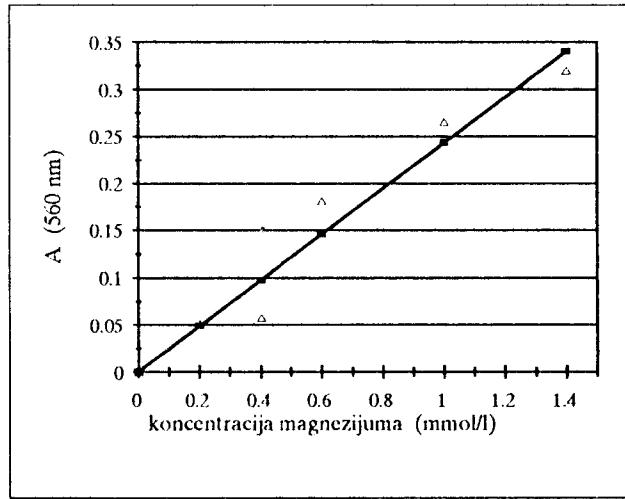
U ovom radu korišćena je spektrosimetrijska metoda sa eriochrom-crnim T (EBT) u alkalnoj sredini. Magnezijum sa EBT gradi kompleks crvene boje i pokazuje maksimum apsorpcije monohromatske svetlosti na talasnoj dužini $\lambda = 570$ nm. Boja kompleksa nije stabilna, te u toku analize treba paziti na vreme trajanja hemijske reakcije. Kada se pH sredine podesi na 10,6 dobija se odgovarajuća reproduktivnost. Pošto ovu reakciju ometaju joni kalcijuma, koji se često nalaze u rastvoru analize kamena, u reagens se odmeri i potrebna količina EGTA, koja sa Ca^{2+} gradi stabilni kompleks tako da ne reaguje sa EBT.

Postupak kvantitativnog određivanja magnezijuma sa EBT je prikazan u tablici 10. U hemijski čiste epruvete, najbolje u plastične za jednokratnu upotrebu, odmeriti potrebne zapremine rastvora kao što je dato u tablici.

Tablica 10. Postupak kvantitativnog određivanja magnezijuma

| | PROBA (cm ³) | STANDARD (cm ³) | KONTROLA (cm ³) |
|------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Analiza | 0,20 | — | — |
| Standard | — | 0,20 | — |
| Destilovana voda | — | — | 0,20 |
| Puffer pH= 10,6 | 5,00 | 5,00 | 5,00 |
| Reagens EBT | 0,20 | 0,20 | 0,20 |

Sadržaj epruvete dobro izmešati, nakon 5 minuta meriti apsorpciju na $\lambda = 560$ nm.



Slika 17. Kalibracioni dijagram za određivanje magnezijuma. Jednačina linearne regresije je $Y = 0,2426X + 0,0007$, sa $r = 0,95476$

Rezultati kvantitativnog određivanja magnezijuma metodom sa EBT prikazani su u tablici 11. Iz dobijenih rezultata se vidi da je magnezijum određen samo u nekoliko uzorka. U tri uzorka kamena procenat magnezijuma kreće se od 22,79% do 32,12%. Ovako visok procenat pokazuje da su uzorci za glavnu komponentu imali struvit, odnosno fosfat magnezijuma. Ostali uzorci mokraćnog kamenja imaju relativno nizak sadržaj magnezijuma, te nas je to navelo na zaključak da se u tim uzorcima magnezijum u formi struvita nalazi kao primesa.

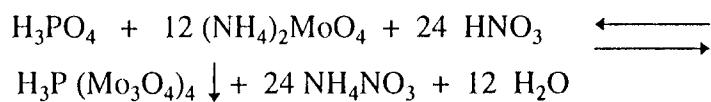
Kod jednog uzorka nije dokazan magnezijum metodom sa EBT, iako je kvalitativno dokazan u uzorku. Razlog ovome se može tražiti u načinu uzorkovanja ili nedovoljnoj specifičnosti ove reakcije na magnezijum u određivanju iz uzorka mokraćnog kamenja.

Tablica 11. Rezultati kvantitativnog određivanja magnezijuma u mokraćnom kamenju

| Uzorak | A | c, mmol/ dm ³ | c, mg/ dm ³ | % u uzorku |
|--------|-------|--------------------------|------------------------|------------|
| MLH 8 | 0,010 | 0,041 | 0,99 | 1,39 |
| BOS 12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BIF 2 | 0,215 | 0,884 | 21,50 | 22,79 |
| KIM 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| SZD 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MIM 13 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BBM 7 | 0,230 | 0,945 | 22,99 | 28,03 |
| NNM 14 | 0,041 | 0,168 | 4,10 | 4,82 |
| ĐED 3 | 0,002 | 0,008 | 0,19 | 0,23 |
| BNM 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MRN 11 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BPD 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| LMN 15 | 0,432 | 1,774 | 43,14 | 32,12 |
| MSD 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| TFG 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |

3.4.4. Određivanje fosfata

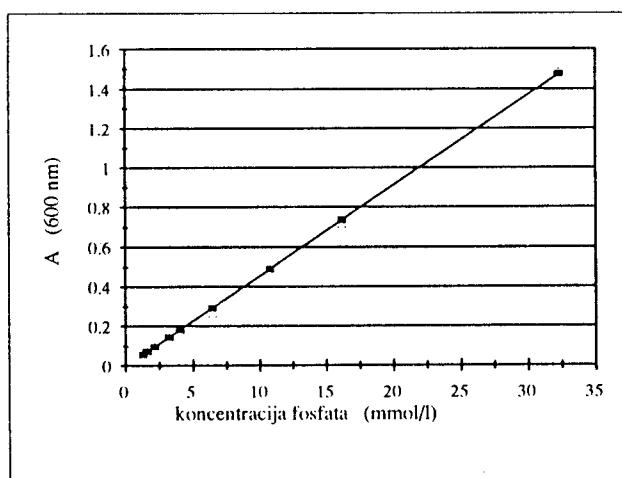
Neorganski fosfat sa molibdat-sumpornom kiselinom se prevodi u kompleks fosformolibdenske kiseline, gde se redukuje sa hidrohinonom u plave molibdenove okside. Intenzitet nastale boje, koja je srazmerna količini fosfata se određuje spektrofotometrijski na talasnoj dužini $\lambda = 600$ nm. Reakcija određivanje teče prema:



Postupak kvantitativnog određivanja fosfata u mokraćnom kamenju je prikazan u tablici 12. U hemijski čiste epruvete, najbolje plastične za jednokratnu upotrebu odmere se potrebni rastvori prema tablici:

Tablica 12. Postupak kvantitativnog određivanja fosfata u mokraćnom kamenju

| | PROBA (cm ³) | STANDARD (cm ³) | KONTROLA(cm ³) |
|------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Analiza | 0,05 | — | — |
| Destilovana voda | 0,50 | 0,50 | 0,55 |
| NaHSO ₃ | 0,25 | 0,25 | 0,25 |
| Molibdensumporna kis. | 0,25 | 0,25 | 0,25 |
| Hidrohinon | 0,25 | 0,25 | 0,25 |
| Standard | — . | 0,05 | — |
| Sadržaj se dobro promeša i ostavi 5 minuta | | | |
| Karbonat sulfit | 4,00 | 4,00 | 4,00 |
| Sadržaj se promeša i nakon 10 minuta fotometrira na $\lambda = 600$ nm | | | |



Slika 18. Kalibracioni dijagram za određivanje fosfata. Jednačina linearne regresije je $Y = 0,0458X - 0,0022$, sa $r = 0,99901$

Dobijeni rezultatati dati su u tablici 13. Vidi se da je fosfat kvantitativno određen u svim, osim u dva uzorka mokraćnog kamenja. Sadržaj fosfata u uzorcima kretao se od 2,72% do 39,86%.

Najveći sadržaj fosfata imali su uzorci čiji sastav odgovara struvitu, gde je procenat fosfata iznad 30% ukupnog sastava kamenja. Fosfati su određeni u uzorcima koji su sastavljeni iz oksalata u kojima se sadržaj kretao od 2% do 22%. Kod jednog uzorka od oksalata određen je visok sadržaj fosfata 33,85%. Ovako visoka vrednost fosfata u ovom uzorku najverovatnije je posledica nehomogenosti uzorka odnosno nehomogenosti mikrostrukture kamenja. Kod jednog uzorka od oksalata nije određeno prisustvo fosfata.

Dva uzorka od mokraćne kiseline imali su različite sadržaje fosfata. U jednom nije određen fosfat, a u drugom taj procenat je iznosio 4,70%.

U kamenu iz žuči nismo određivali fosfate jer nisu bili dokazano u kvalitativnoj analizi kamenja.

Tablica 13. Rezultati kvantitativnog određivanja fosfata u mokraćnom kamenju

| Uzorak | A | c, mmol/dm ³ | c, mg/dm ³ | % u uzorku |
|--------|-------|-------------------------|-----------------------|------------|
| MLH 8 | 0,117 | 2,604 | 247,30 | 33,85 |
| BOS 12 | 0,013 | 0,332 | 31,52 | 3,78 |
| BIF 2 | 0,170 | 3,760 | 357,07 | 37,52 |
| KIM 5 | 0,020 | 0,485 | 46,03 | 4,70 |
| SZD 4 | 0,010 | 0,266 | 25,30 | 2,72 |
| MIM 13 | 0,136 | 3,017 | 286,57 | 32,79 |
| BBM 7 | 0,157 | 3,913 | 371,59 | 39,86 |
| NNM 14 | 0,055 | 1,249 | 118,61 | 13,45 |
| ĐED 3 | 0,149 | 3,301 | 313,52 | 35,86 |
| BNM 1 | 0,241 | 5,310 | 504,29 | 36,35 |
| MRN 11 | 0,043 | 0,987 | 93,73 | 10,62 |
| BPD 10 | 0,111 | 2,472 | 234,73 | 22,08 |
| LMN 15 | 0,229 | 5,048 | 479,41 | 35,50 |
| MSD 6 | 0,027 | 0,637 | 60,55 | 6,63 |
| ABB 16 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| TFG 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |

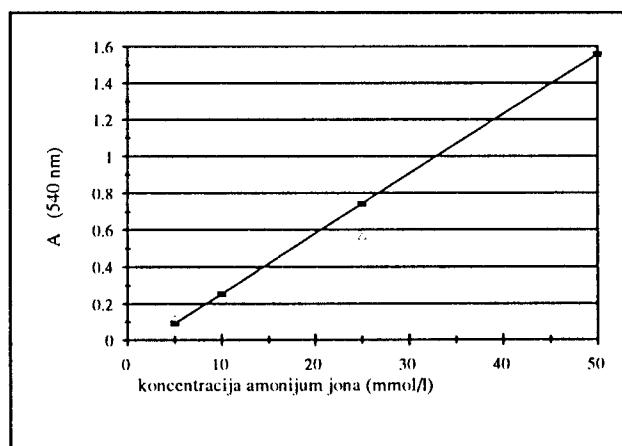
3.4.5. Određivanje amonijum-jona

Metoda za određivanje uree u humanom materijalu može da posluži za kvantitativno određivanje amonijum jona u kamenčićima mokraćnog sistema. Ova enzimska metoda je veoma specifična na ureu. Dejstvom ureaze oslobađa se amonijum-jon koji reaguje sa hipohloritom i fenolom pri čemu nastaje plavi indofenol. Reakcija je poznata kao indofenolna kondenzacija. Reakcija je katalizovana natrijum-nitroprusidom. Tok reakcije je sledeći: amonijak sa hipohloritom stvara hloramin, a iz natrijum-nitroprusida nastaje akvapenta-cijanoferat, koji katalizuje vezanje hloramina i fenola u indofenol. Pri pH= 10,5 reakcija je veoma brza.

Postupak kvantitativnog određivanja amonijum-jona prikazano je u tablici 14. U pogodne epruvete se odmere potrebni rastvori kao što je dato u tablici.

Tablica 14. Postupak kvantitativnog određivanja amonijum-jona

| | PROBA (cm ³) | STANDARD (cm ³) | KONTROLA (cm ³) |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Analiza | 0,02 | — | — |
| Standard | — | 0,02 | — |
| Destilovana voda | — | — | 0,02 |
| Ekstrat ureaze | 0,10 | 0,10 | 0,10 |
| Epruvete inkubirati 15 minuta u vodenom kupatilu na 37 °C | | | |
| Rastvor A | 4,50 | 4,50 | 4,50 |
| Rastvor B | 4,50 | 4,50 | 4,50 |
| Epruvete inkubirati 20 minuta u vodenom kupatilu na 37° C. Nakon inkubacije meriti apsorbanciju rastvora na $\lambda = 540$ nm | | | |



Slika 19. Kalibracioni dijagram za određivanje amonijum-jona.

Jednačina linearne regresije je $Y = 0,0325X - 0,00719$, sa $r = 0,97761$.

Dobijeni rezultati su prikazani u tablici 15. Amonijum-jon je kvantitativno određen u samo nekoliko uzoraka u kojim se sadržaj amonijum-jona kretao od 3,46% do 19,76%. Kod većine uzoraka koncentracija amonijum-jona je bila u korelaciji sa određenom količinom magnezijuma u uzorcima. Jedan uzorak je imao sadržaj od 3,46% kod kojeg amonijum-jon nije dokazan kvalitativno. Daljom analizom u ovom uzorku je određena mokraćna kiselina, tako da je ova količina amonijum-jona verovatno vezana u obliku amonijumurata.

Tablica 15. Rezultati kvantitativnog određivanja amonijum-jona

| Uzorak | A | c, mmol/ dm ³ | c, mg/ dm ³ | % u uzorku |
|--------|-------|--------------------------|------------------------|------------|
| MLH 8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BOS 12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BIF 2 | 0,281 | 8,843 | 159,26 | 16,88 |
| KIM 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| SZD 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MIM 13 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BBM 7 | 0,228 | 7,205 | 129,76 | 15,82 |
| NNM 14 | 0,046 | 1,636 | 29,46 | 3,46 |
| ĐED 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BNM 1 | 0,462 | 14,412 | 259,56 | 18,80 |
| MRN 11 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BPD 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| LMN 15 | 0,473 | 14,736 | 265,37 | 19,76 |
| MSD 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| ABB 16 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| TFG 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |

3.4.6. Određivanje mokraćne kiseline

Za određivanje mokraćne kiseline postoje redoks i enzimske metode. Redoks metoda zasniva se na redukciji volframa mokraćnom kiselinom do obojenih jedinjenja, čiji je intenzitet obojenja srazmeran koncentraciji mokraćne kiseline u uzorku. Ova metoda ima dosta nedostataka, zato što veliki broj bioloških jedinjenja redukuju volfram.

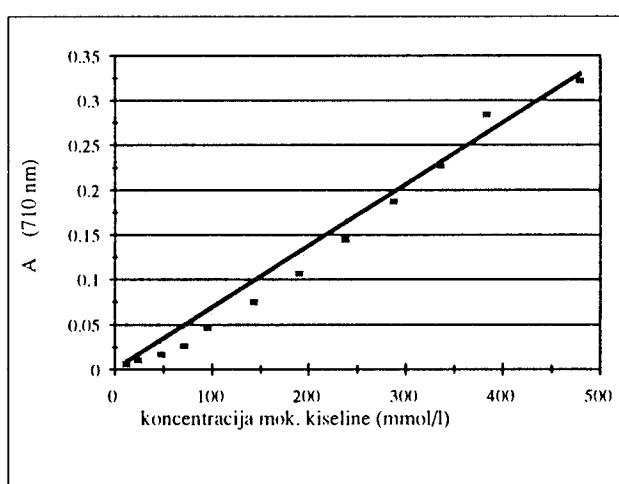
Enzimske metode se zasnivaju na dejstvu specifičnih enzima na molekul mokraćne kiseline, pri čemu se oslobađa vodonik-peroksid. U prisustvu hromogena dobija se obojen rastvor, čiji je intenzitet boje proporcionalan koncentraciji mokraćne kiseline u uzorku.

U ovom radu mokraćna kiselina je određivana redukcijom volframa do plavih volframovih oksida valence IV i V. Reakcija se odvija u alkalnoj sredini, pri čemu se dodaje natrijum-karbonat za održavanje pH vrednosti rastvora. Intenzitet boje se određuje spektrofotometrijski na talasnoj dužini 710 nm.

Postupak određivanja je prikazan u tablici 16. Prilikom kvantitativnog određivanja mokraćne kiseline u potrebno je napraviti rastvor analize i standarda u razmeri 1:10. Zatim, u čiste epruvete odmere se zapremine rastvora kao što je dato u tablici.

Tablica 16. Postupak kvantitativnog određivanja mokraćne kiseline

| | PROBA (cm ³) | STANDARD (cm ³) | KONTROLA (cm ³) |
|-------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Analiza 1 :10 | 3,00 | — | — |
| Standard 1 :10 | — | 3,00 | — |
| Destilovana voda | — | — | 3,00 |
| 14 % Na ₂ SO ₃ | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| Fosfovolfrašmat | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| Dobro se promeša i nakon 15 minuta meri se apsorbancija na $\lambda = 710$ nm | | | |



Slika 20. Kalibracioni dijagram za određivanje mokraćne kiseline.
Jednačina linearne regresije je $Y = 0,0007X - 0,000240$, sa $r = 0,9842$

Dobijeni rezultati su dati u tablici 17. Iz rezultata analize mokraćne kiseline u uzorcima kamenja mokraćnog sistema vidi se da je u dva uzorka sadržaj visok i iznosi 71,10% i 84,23%. Ova dva uzorka imaju sastav mokraćne kiseline i to prvi dihidratni oblik, a drugi mokraćnu kiselinsku u dehidrovanoj obliku.

Ostali uzorci mokraćnog kamenja imaju relativno nizak sadržaj mokraće kiseline i ne prelazi 7%. Zanimljivo je da je mokraćna kiselina određena u većini uzoraka sastavljjenim od oksalata što potvrđuje ranije rade iz ove oblasti.⁴¹

Kod uzoraka čiji je sastav struvit ili neki od fosfata sadržaj mokraće kiseline retko prelazi vrednost od 2% sadržaja. Mokraćna kiselina nije određivana u uzorku kamenja iz Žuči.

Tablica 17. Rezultati kvantitativnog određivanja mokraće kiseline

| Uzorak | A | c, $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ | c, mg/dm^3 | % u uzorku |
|--------|-------|--------------------------------|----------------------------|------------|
| MLH 8 | 0,002 | 3,291 | 0,55 | 0,77 |
| BOS 12 | 0,003 | 4,937 | 0,82 | 1,17 |
| BIF 2 | 0,001 | 1,645 | 0,27 | 0,29 |
| KIM 5 | 0,228 | 328,057 | 54,81 | 71,10 |
| SZD 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MIM 13 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BBM 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| NNM 14 | 0,013 | 21,392 | 3,59 | 4,22 |
| ĐED 3 | 0,005 | 8,227 | 1,38 | 1,60 |
| BNM 1 | 0,006 | 9,873 | 1,65 | 1,23 |
| MRN 11 | 0,008 | 13,164 | 2,21 | 2,62 |
| BPD 10 | 0,007 | 11,519 | 1,93 | 1,85 |
| LMN 15 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MSD 6 | 0,020 | 32,911 | 5,53 | 6,52 |
| ABB 16 | 0,300 | 428,914 | 72,10 | 84,23 |
| TFG 9 | 0,016 | 26,329 | 4,42 | 5,33 |

3.4.7. Određivanje holesterola

Metode određivanja holesterola mogu se podeliti na klasične analitičke i enzimske. Danas se u najširoj upotrebi nalaze enzimske metode, zbog specifičnosti na supstrat, u ovom slučaju holesterol, uz korišćenje velikog broja komercijalnih proizvoda. U ovom radu je korišten set italijanske firme Menarini diagnostics.

Princip ovog testa se zasniva na deesterifikaciji holesterola na slobodan holesterol i masne kiseline. Nastali slobodni holesterol se dejstvom holesteroloksidaze prevodi u nezasićeno jedinjenje holesten i vodonik-peroksid, koji sa prisutnim fenolom i 4-aminoantipirinom daje obojeno jedinjenje tipa imina. Reakcija je katalizovana peroksidazom.

Postupak rada prikazan je u tablici 18. Pre početka određivanja potrebno je rastvoriti reagens u destilovanom vodom. Zatim se odmere potrebne količine reagensa u epruvete kao što je dano u tablici.

Tablica 18. Postupak kvantitativnog određivanja holesterola

| | ANALIZA (cm ³) | STANDARD (cm ³) | KONTROLA (cm ³) |
|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Reagens | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| Analiza | 0,02 | — | — |
| Standard | — | 0,02 | — |
| Destilovana voda | — | — | 0,02 |
| Sadržaj epruveta dobro promešati i inkubirati u vodenom kupatilu 5 minuta na 37 C° | | | |
| Apsorbanciju rastvora meriti na $\lambda = 500 \text{ nm}$ | | | |

Nastala boja je stabilna 30 minuta i u tom vremenskom periodu proizvođač preporučuje merenje apsorbancije.

Uzorci žučnog kamena se za analizu pripremaju rastvaranjem tačno odmerenog kamena u odmernom sudu od 10 cm³. Kao rastvarač koristi se hloroform. Koncentracija holesterola se može izračunati prema jednačini 1 ili 2.

$$\frac{A_p}{A_{st}} \times c_{st} (\text{mmol}/\text{dm}^3) = c_p (\text{mmol}/\text{dm}^3) \quad (1)$$

$$\frac{A_p}{A_{st}} \times c_{st} (\text{mg}/\text{dm}^3) = c_p (\text{mg}/\text{dm}^3) \quad (2)$$

Rezultati kvantitativnog određivanja holesterola u žučnom kamenu je dat u tablici 19. Na osnovu dobijenih apsorbancija izračunat je srednji sadržaj holesterola u uzorku kamena iz žuči.

Tablica 19. Rezultati kvantitativnog određivanja holesterola

| ANALIZA | A | c, mmol dm ⁻³ | c, mg dm ⁻³ | % u uzorku |
|------------------|-------|--------------------------|------------------------|------------|
| 1 | 0,603 | 19,452 | 7525 | 81,4 |
| 2 | 0,612 | 19,775 | 7650 | 82,7 |
| 3 | 0,615 | 19,872 | 7687 | 83,1 |
| srednja vrednost | 0,610 | 19,710 | 7625 | 82,4 |

U ovom radu ispitana je jedan kamen iz žuči. Kvalitativnom analizom je dokazano prisustvo holesterola, kalcijuma i tragova bilirubina. Na osnovu kvantitativnog određivanja holesterola pronađen je prosečan sadržaj holesterola od 82,4%, a sadržaj kalcijuma 0,88%, dok se sadržaj bilirubina nije mogao kvantitativno odrediti. Iz navedenih rezultata glavna komponenta kamena je holesterol, a kalcijum je verovatno zastupljen u obliku soli kalcijum-bilirubinata.

3.2.2.8. Određivanje zbira karbonata i kristalne vode

Prilikom rastvaranja kod nekih uzoraka primećeno je izdvajanje ugljen-dioksida, što je direktno ukazivalo na prisustvo karbonata u kamenu. Karbonati su određivani za jedno sa kristalnom vodom (samo kod kvalitativno dokazanog), računskim putem iz procentualnog sadržaja ostalih komponenti u uzorku.

Podaci o sadržaju karbonata i kristalne vode su dati u tablici 20.

Tablica 20. Određivanje zbira karbonata i kristalne vode

| Uzorak | $C_2O_4^{2-}$ % | Ca^{2+} % | Mg^{2+} % | PO_4^{3-} % | NH_4^+ % | mok.kis. % | ukupno % | CO_3^{2-} % | H_2O % |
|--------|--------------------|----------------|----------------|------------------|---------------|---------------|-------------|------------------|-------------|
| MLH8 | 13,11 | 24,79 | 1,39 | 33,85 | 0 | 0,77 | 73,89 | 0 | 26,11 |
| BOS12 | 42,24 | 21,56 | 0 | 3,78 | 0 | 1,78 | 68,75 | 0 | 31,25 |
| BIF2 | 1,06 | 2,52 | 22,79 | 37,52 | 16,88 | 0,29 | 81,06 | | 18,94 |
| KIM5 | 0 | 4,02 | 0 | 4,75 | 0 | 71,10 | 79,87 | 0 | 20,13 |
| SZD4 | 42,73 | 21,73 | 0 | 2,72 | 0 | 0 | 67,18 | 0 | 32,82 |
| MIM13 | 8,02 | 26,13 | 0 | 32,79 | 0 | 0 | 66,94 | | 33,06 |
| BBM7 | 6,08 | 2,86 | 28,03 | 39,86 | 15,82 | 0 | 92,65 | | 7,35 |
| NNM14 | 28,63 | 32,08 | 4,82 | 13,45 | 3,42 | 4,22 | 86,62 | 0 | 13,38 |
| ĐED3 | 4,00 | 24,85 | 0,23 | 35,86 | 0 | 1,60 | 66,54 | | 33,46 |
| BNM1 | 3,01 | 0,95 | 0 | 36,35 | 18,80 | 1,23 | 60,34 | 0 | 39,66 |
| MRN11 | 54,85 | 29,57 | 0 | 10,62 | 0 | 2,62 | 97,66 | 0 | 2,34 |
| BPD10 | 37,05 | 31,76 | 0 | 22,08 | 0 | 1,85 | 92,74 | 0 | 7,26 |
| LMN15 | 5,78 | 3,63 | 32,12 | 35,50 | 19,76 | 0 | 96,79 | | 3,21 |
| MSD6 | 28,90 | 29,39 | 0 | 6,63 | 0 | 6,52 | 71,44 | 0 | 28,56 |
| TFG9 | 48,15 | 24,33 | 0 | 0 | 0 | 5,33 | 77,81 | 0 | 22,19 |
| ABB16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 84,23 | 84,23 | 0 | 15,77 |

Kao što se iz rezultata vidi, karbonat se najčešće nalazi u uzorcima kamenja tipa fosfata i to posebno struvita. Kod dva uzorka je pronađen izuzetno visok procenat zbira kristalne vode i karbonata. Ovi uzorci očigledno imaju veliki broj vezanih molekula kristalne vode. Kako kod ovih uzoraka procentualno dominiraju kalcijum i fosfati najverovatniji sastav uzorka odgovara hidroksiapatitu i / ili dalitu.

Kada kvalitativnom analizom uzorka nije dokazan karbonat, ostatak čine vezani molekuli kristalne vode. Rezultati pokazuju da je najveća količina kristalne vode vezana za uzorce najčešćeg sastava oksalata sa primesama fosfata. Ovaj podatak govori da je u oksalatom kamenju najviše zastupljen dihidratni oblik kalcijum-oksalata. Samo jedan uzorak za kojeg je hemijskom analizom utvrđeno da se sastoji od oksalata procenat kristalne vode je 7,26%, a u sastavu dominiraju oksalati i fosfati nije mogao da potvrdi ovu činjenicu. Ovaj uzorak ima monohidratnu formu kalcijum-oksalata sa primesama fosfata.

Kod jednog uzorka analizom je određena velika količina mokraćne kiseline i niske količine kalcijuma i fosfata sa relativno visokim procentom kristalne vode. Prema ovome uzorak za glavnu komponentu ima dihidratnu formu mokraćne kiseline sa primesama fosfata. Takođe je u jednom uzorku pronađen visok sadržaj mokraćne kiseline 84,23% i 15,77% kristalne vode. Ovaj uzorak predstavlja smešu dehidrovane i dihidratne forme mokraćne kiseline u kojoj ipak preovladaya dehidrovana forma.

3.5. Zaključak

Na osnovu upoređivanja dobivenih rezultata mikrohemiskih analiza, IC spektrometrijske analize i analize difrakcijom X-zraka određivan je sastav uzorka mokraćnog kamenja i kamena iz žuči.

Analiza je pokazala da su primenjenim metodama ispitivanja mokraćnog kamenja u većini slučajeva dobiveni identični rezultati. Uočena su neka neznatna odstupanja u sastavu, naročito kod komponenti koje su imale nizak sadržaj u uzorcima, iz razloga što je osetljivost primenjenih metoda određivanja različita. Tako je mikrohemiskom analizom u većini slučajeva dokazano prisustvo pojedinih komponenti koje nisu mogle biti identifikovane difrakcijom X-zraka i IC spektrometrijom. Uporedni rezultati su dati u tablici 21. Kod svih uzoraka određena je najmanje jedna sigurna komponenta (zasenčena polja).

Tablica 21. Uporedni rezultati analize kamenja mokraćnog sistema korišćenih metoda

| Tehnika | OKSALATI | | | FOSFATI | | | MOK. KISELINA | | | KARBONATI | | |
|---------|----------|---|---|---------|---|---|---------------|---|---|-----------|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| MLH 8 | + | + | + | + | + | + | | | + | | | |
| BOS 12 | + | + | + | | | + | | | + | | | |
| BIF 2 | + | | + | + | + | + | | | + | | | + |
| KIM 5 | | | | + | + | + | + | + | + | | | |
| SZD 4 | + | + | + | + | + | + | | | | | | |
| MIM 13 | + | | + | + | + | + | | | | | | + |
| BBM 7 | | | | + | + | + | | | | | | + |
| NNM14 | + | + | + | + | + | + | | | | | | |
| DED 3 | + | | + | + | + | + | | | + | | | + |
| BNM 1 | | | | + | + | + | + | + | + | | | |
| MRN11 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | | | |
| BPD 10 | + | + | + | + | + | + | | | + | | | |
| LMN 15 | | | | + | + | + | + | | | | | |
| MSD 6 | + | + | + | | + | + | | | | | | |
| TFG 9 | + | + | + | | | | + | | + | | | |
| ABB 16 | | | | | | | | + | + | | | |

Napomena:

1) 1 = Kvalitativna IC spektrometrija

2 = Difrakcija X-zračenja

3 = Kvalitativna hemijska analiza
 2) Zasenčena polja podrazumevaju identičnost rezultata korišćenih metoda

Kako nije bilo mogućnosti da se posebno analiziraju delovi kamenja, određivan je srednji sastav uzoraka pošto je veliki broj uzoraka dobiven od pacijenata podvrgnutih ESWL terapiji.

Mada je broj uzoraka mali, ipak se mogu zapaziti određene kombinacije jedinjenja u kamenu. Tako je oksalatno kamenje uvek imalo za pratioca fosfatna jedinjenja. Takođe je u oksalatnom kamenju dokazan i određen nizak sadržaj mokraćne kiseline, što potvrđuje ranije rade. ⁴¹ Karbonati se pojavljuju u uzorcima oksalatnog i jednog fosfatnog kamenja. Uratno kamenje se javlja sa primesama fosfata.

Pri ipoređivanju primenjenih metoda zapaženo je da je mikrohemijiska analiza osetljivija od fizičkih metoda. Nedostatci ove metode ogledaju se u tome što je metoda dugo-trajnija i na ovaj način dobija informacija o jonima koji ulaze u sastav kamenja, a ne o kom se jedinjenju radi. Fizičke metode istraživanja mokraćnog i žučnog kamenja imaju takođe svojih prednosti, ali i nedostataka. Dobra strana ovih metoda je ta što se određuje jedinjenje koje je kostituent kamenja. Nadalje, ove metode su manje destruktivne u odnosu na mikrohemiju analizu, tako da se uzorak bez većih problema može nekom drugom metodom ispitivati. Glavni nedostatak fizičkih metoda je u visokoj granici detekcije (5%), tako da se dobiveni rezultati teško mogu uporediti sa rezultatima mikrohemijiske analize. Glavna prepreka za rutinsku upotrebu fizičkih metoda je visoka cena instrumenata i standardnih atlasa uzoraka materijala.

Na kraju se može zaključiti da rutinska mikrohemijiska analiza kamenja mokraćnog sistema i kamenja iz žuči u većini slučajeva zadovoljava potrebu lečenja bolesnika, a višak informacija, koje daje ovaj vid analize može da utiče i bude od velike koristi kod lečenja i terapije bolesnika.. Za ova ispitivanja se mogu praktično stvoriti uslovi u svim klasičnim medicinskim laboratorijama. Jedino pri detaljnijem ispitivanju neophodno je kombinovati navedene metode analize.

4. IZVOD

U ovom diplomskom radu su upoređivani rezultati analiza kamenja mokraćnog sistema i kamena iz žuči, koji su dobijeni kvalitativnom IC spektrometrijskom analizom, analizom difrakcije X-zračenja, te kvalitativnom i kvantitativnom mikrohemijuškom analizom.

U *Teorijskom delu* dat je prikaz do sada poznatih činjenica o stvaranju mokraćnog kamena i kamena iz žuči, kao i pregled metoda za određivanje sastava uzorka. Takođe je posvećena pažnja učestalosti i javljanju kamenja mokraćnog sistema u svetu i našoj okolini.

U *Eksperimentalnom delu* upoređeni su rezultati mikrohemijuških postupaka analize sa metodama difrakcije X-zraka i IC spektrometrije. Dobiveni rezultati mikrohemijuške analize su u većini slučajeva bili identični sa primjenjenim fizičkim metodama. Međutim, u nekoliko slučajeva rezultati analize dobiveni difrakcijom X-zračenja i IC spektrometrije su se razlikovali od mikrohemijuških što je verovatno posledica različite granice detekcije. Nai-me, mikrohemijuške metode analize su znatno osetljivije. Međutim, primenom fizičkih metoda u istraživanju omogućuje se određivanje vrste jedinjenja. Primena kvantitativne mikrohemijuške analize mokraćnog kamenja daje dobre rezultate i posebno je pogodna za rutinsku upotrebu, mada daje samo saznanje o jonima koji izgraduju kamen. Dobiveni podaci ipak omogućuju da se načini slika o sastavu uzorka. Višak informacija dobivenih mikrohemijuškom analizom trebalo bi iskoristiti u lečenju i terapiji bolesnika.

5. SUMMARY

A Comparison of Results of Urinary and Gall Calculi Analyses Obtained by Different Methods

In this B.Sc. thesis the results of urinary and gall calculi, analyses were obtained by IR spectroscopy, X-ray diffraction and qualitative and quantitative microchemicals methods.

In the Theoretical part we have presented the facts on formation urinary and gall calculi in human, as well as a survey of recommended methods for their analyses. The frequency of appearance of different calculi types in our country and in the world was considered too.

In the Experimental part we compared the achieved analysis results of microchemicals methods to X-ray diffraction and IR spectroscopy. The results obtained by microchemical analysis were in the most cases similar to those of physical methods. However, in some cases the results of X-ray diffraction and IR spectroscopy differed from microchemical ones. The observed differences were explained with various detection ranges applicable to these methods. While microchemical methods of analysis were advantageous due to their greater sensitivity, the physical methods enabled us to get insight into the molecular structure. Although providing only the knowledge of ions building the calculus, the quantitative microchemical methods appeared to be specially suitable for routine analyses of urinary calculi. All collected results, however, enabled us to frame the picture of the sample composition. It seems advisable that information reached in this way be used for medical cure purposes.

6. LITERATURA

1. Berényi, M., Urolithiasis veseköbetegség, Medicina könyvkiadó, Budapest, 1981.
2. Negrojević, M., Stanković, S., Med. Pregled, 11-12, 311 (1984).
3. Janča, K., Ristić, D., Stanković, S., Ribar, B., Med. Pregled, 11-12, 581 (1977).
4. Stanković, S., Janča, K., Arh. Urol., 5, 107 (1977).
5. Negrojević, M., Janča, K., Stojkov, J., Đozić, J., Kolar, Z., Ristić, D., Nikolin, D., Rendgen-strukturalna analiza kamenaca mokraćnog sistema, I jugoslovenski simpozijum o lečenju urolitijaze sa međunarodnim učešćem, 18-19 novembar 1988. godine, Novi Sad, str. 44
6. Ostojić, B., Kamen u bubregu, Medicinska knjiga, Beograd-Zagreb, 1970.
7. Kivec, O., Medicinska enciklopedija, tom II, Zagreb, 1958.;429
- 8.*Richet,G., Kidney Int., 48, 876 (1995).
- 9.*Takasaki, E., Suzuki, T., Honda, M., Imai, T., Maeda, S., Hosoya, Y., Urol. Int., 54, 89 (1995).
10. Stefanović, S., Interna medicina, Medicinska knjiga, Beograd-Zagreb 1982; str. 954-957
11. Guyton, A.C., Medicinska fiziologija, Medicinska knjiga, Beograd-Zagreb, 1981; str. 441-448
12. Zilva, J.F., Pannal, P.R., Klinička kemija u dijagnostici i terapiji, III izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1992, str. 1-25
13. Stošić, Z., Priručnik praktičnih i seminarskih vežbi iz patološke fiziologije, Novi Sad, 1987, str. 281-287
- 14.*Deganello, S., Scanning. Microsc., 7, 1111 (1993).
- 15.*Berland, Y., Dussol, B., Nephrologie, 14, 183 (1993).
- 16.*Hess, B., Miner. Electrolyte. Metab., 20, 393 (1994).
17. Andić, J., Osnovi medicinske biohemije, Nauka, Beograd, 1991, str. 253-257
- 18.*de Bruijin, W.C., Boeve, E.R., van-Run, P.R., van-Miert, P.P., de-Water, R., Cao, L.C., Romijin, J.C., Verkoelen, C.F., Schahroder, F.H., Scanning. Microsc., 9, 103 (1995).
- 19.*Case, L.C., J. Am. Vet. Med. Assoc., 203, 96 (1993).
20. Januzović, N.Lj., Kamenci urinarnog trakta, Novi Sad, 1992.

21. Januzović, N.Lj., Med. Pregled, 1-2 , 23 (1984).
- 22.*Fogazzi, G.B., Nephrol. Dial. Transplant., 11, 379 (1996).
- 23.*Mkony E.A., East. Afr. Med. J.,70, 595 (1993).
- 24.*Doudon, M., Donsimoni, R., Hennequin, C., Fellahi, S., Le-Moel, G., Paris, M., Truopel, S., Lacour, B., Urol. Res., 23, 319 (1995).
- 25.*Machoy, P., Ann. Acad. Med. Stetin., 41, 259 (1995).
- 26.*Thambi-Dorai, C.R., Dewan, P.A., Boucaut, H.A., Ehrlich, J., Aust.N.Z.J.Sing., 64, 99 (1994).
- 27.*Camacho-Diaz, J.A., Casas-Gomes, J., Amat-Barnes, A., Gimenez-Llort, A., Garcia-Garcia, L., An. Esp. Pediatr., 44, 225 (1996).
- 28.*Badertscher, E., Robson, W.L., Leug, A.K., Trevenen, C.L., Eur. J. Pediatr., 152, 252 (1993).
- 29.*Ahlawat, R., Goel, M.C., Elhence, A., Natl. Med. J. India, 9, 10 (1995).
- 30.*Abdel-Halim, R.E., al-Sibaai, A., Baghlaif, A.O., Scand. J. Urol. Neprhol., 27, 155 (1993).
- 31.*Arzamazov, G.S., Wiston, P.A., Larina, O.N., Pastushkova, L.Kh., Pak, C.T., Aviakosm. Ekolog. Med., 30, 24 (1996).
32. Schneider, H.J., Technik der Harnsteinanalyse, VEB Georg Thieme, Leipzig 1974.
33. Radonić, M., Saopćenja, Pliva Zagreb, 31 ,41 (1988).
34. Altman, J.A., Schwartz, D.A., Malignant diseases of infancy, childhood and adolescence, W.B. Saunders Company 1983, str. 137-138
35. Nešković, M., Jovanović, V., Zdravi i bolesni bubrezi, Medicinska knjiga Beograd-Zagreb, 1984, str. 259-273
- 36.*Ohman, S., Larsson, L., Acta Chim. Scand., 50, 633 (1996).
37. Januzović, N., Prstenjak, A., Clin Chem., 36, 1164 (1990).
- 38.*Matsuzaki, S., Matsushita, K., Tanikawa, K., Masuda, A., Matsunaga, J., Int. J. Urol. 2, 235 (1995).
39. Nathan, G.D., Oski, F.A., Hematology of infacy and childhood, W. B. Saunders Company ,1981, Vol II, str. 998-999
40. Negrojević, M., Jošić, P., Stojkov, J., Ristić, D., Đožić, J., Nikolin, D., Kolar, Z., Med. Pregled, 11-12, 559 (1986).
41. Januzović, Lj.N., Farmaceut, 2-3, 7 (1981).

42. Negrojević, M., Janča, K., Stojić M., Jošić, P., Stojkov, J., Ristić, D.,
Med.Pregled, ,11-12, 511 (1983).
- 43 . Oblak,C.; Lečenje urolitijaze metodom ESWL i naši rezultati,
I jugoslovenski simpozijum o lečenju urolitijaze sa međunarodnim učešćem,
18-19 novembar 1988. godine, Novi Sad, str. 13
44. Schneider, H.J., J. Urol., 27, 72 (1982).
45. Magasi, P., Az urológia valagatott fejezetei (diagnosztika),
Medicina könyvkiadó, Budapest, 1981, str. 79-81
46. Heller, F., "Die Harnkokretionen, Ihre Entstehung, Erkennung und Analyse",
Tendler u. Co., Wien 1860.
47. Ultzmann, R., "Die Harnkonkretionen des Menschen", Tendler u. Co.,
Wien, 1882.
48. Henry,W.M.R., Clinical Chemistry- principles and technics, 3 rd edition
Haper & Row publisher, 1965, str. 915-917
- 49.*Vergauwe, D.A., Verbeeck, R.M., Oosterlinck, W.,
Acta. Urol. Belg., 62 , 5 (1994).
- 50.*Morozova, R.P., Blinova, L.N., Klin. Lab. Diagn., 1 , 35 (1995).
51. Štraus, B., Medicinska biohemija, Jumena, Zagreb, 1988, str. 808-809
52. Vitzkelety, J., Zschr.Urol., 58, 345 (1965).
53. Maurer, C., Urologe, 8, 189 (1969).
54. Mann, C.K., Yoe, J.H., Anal. Chem. 28, 202 (1956).
55. Mann, C.K., Yoe, J.H., Anal. Chem. Acta., 16, 155 (1957).
56. Schneider, H.J., Urologe, 8, 189 (1969).
57. Hodgkinson, A., Robertson, G.W., Ass. Clin. Path-sts., 1-5, 103 (1983).
58. Hodgkinson, A., Williams, A., Clin. Chim. Acta, 36, 127 (1972).
59. Januzović, Lj.N., Arh. Farm., 36, 301 (1986).
60. Djeniže ,I.S., Osnovi atomske, kvantne i molekulske fizike,
Nauka, Beograd, 1995, str. 62-69
61. Wilard, H.H., Merritt, L.L., Dean, J.A., Settle, F.A., "Instrumentals methods of
analysis",Wadsword Publishing company, Belmont, 1988, str. 287-319, 340-396
62. Kittel, C., Uvod u fiziku čvrstog stanja, Savremena administracija,
Beograd, 1970, str.35-45

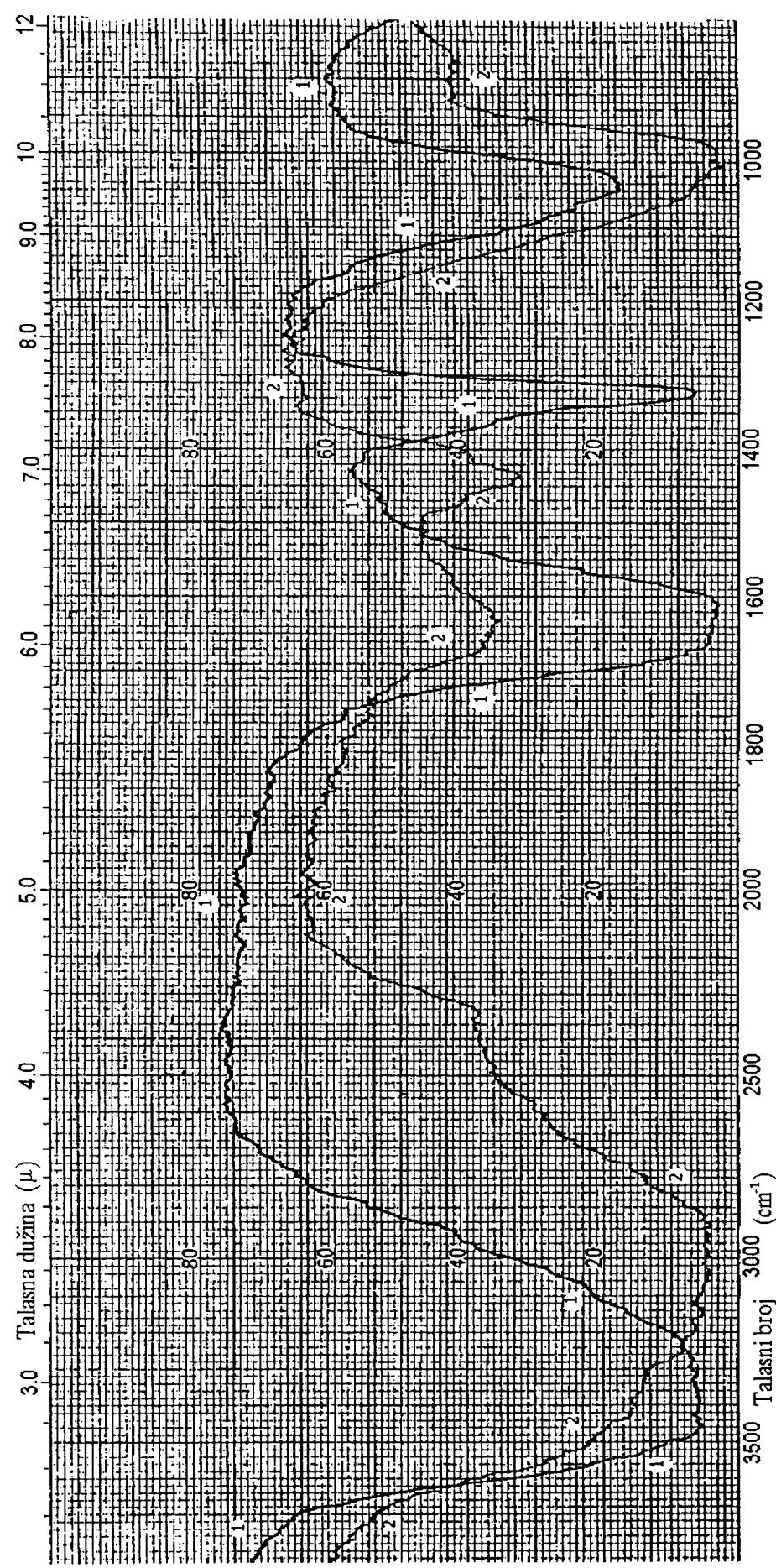
63. Schneider, H.J., Hesse, A., Hienzsch, E., Urologe, 9,171 (1970).
64. Carić, S., Petrović, M.D., Lukić, R.S., Fizika čvrstog stanja- eksperimentalne vežbe, Naučna knjiga, Beograd, 1990, str. 209-221
65. Schneider, H.J., Hesse, A., Heinrichs, E., Tscharnke, J., und Schweder, P., Zschr. Urol. 66, 111 (1974).
66. Brien, G., und Braun, E., Zschr. Urol., 66, 345 (1973).
67. Mišović, A., Ast, T., Instrumentalne metode hemijske analize, TMF Beograd, 1994, str. 185-205
68. Beischer, D.E., J. Urol. (Baltimore), 73, 653 (1955).
69. Mesarić, Š., Milter, I., Radonić, M., Tucak, A., Vlašić, F., Matković, B., Med. Vjes., 16, 75 (1984).
70. Hesse, A., Schrumpf, G., und Schilling, I., Zschr. Urol., 67, 367 (1974).
71. Berenyi, M.; New Methods of Stone Analysis, Proceedings of the International Symposium of Renal Stone Research, S. Karger-Verlag, Basel 1973, str. 209
72. Prien, E.L.jr, Prien, E.L.; Optical crystallographic Analysis of urinary Stones, Proceedings of the International Symposium of Renal Stone Research, S. Karger-Verlag, Basel 1973, str. 206
73. Stanković, S., Petrović, D., Primena termoanalize u određivanju sastava kamenca iz mokraćnih organa, Zbornik nastavnih i stručno-naučnih saopštenja, Bilten XVI, Sarajevo, 1981, str. 1
74. Laufer, J., Pediatric Nephrol., 3, 317 (1989).
75. Tucak, A., Med. Vjes., 16, 43 (1984).
76. Tucak, A., Med. Vjes., 17, 125 (1985).
77. Radonić, R., Mesarić, Š., Kuzmanović, D., Med. Vjes., 16, 83 (1984).
78. Matković, B., Mesarić, Š., Med. Vjes., 16, 79 (1984).
- 79.*Takasaki, E., Int. J. Urol., 3, 27 (1996).
- 80.*Dawson, C., Horrocks, J.A., Kwong, R., Speller, R.D., Whitfield, H.N., World. J. Urol., 14, 43 (1996), Suppl 1.
- 81.*Bertegs, J.W., Osborne, C.A., Lulich, J.P., Unger, L.K., Koehler, L.A., Bird, K., Clinton, C.W., Davenport, M.P., J. Am. Vet. Med. Assoc., 204, 1914 (1994).
- 82.*Casal, M.L., Giger, U., Bovel, K.C., Patterson, D.F., J. Am. Vet. Med. Assoc., 207, 1585 (1995).
- 83.*Kienzle, E., Lindenberg, A., Schuknecht, A., Nolte, I., Dtsch. Tierarztl. Wochenschr., 100, 473 (1993).

84.*Pastoor, F.J., Van't Klooster, A.T., Mathot, J.N., Beynen,A.C.,
J. Nut., 124, 299 (1994).

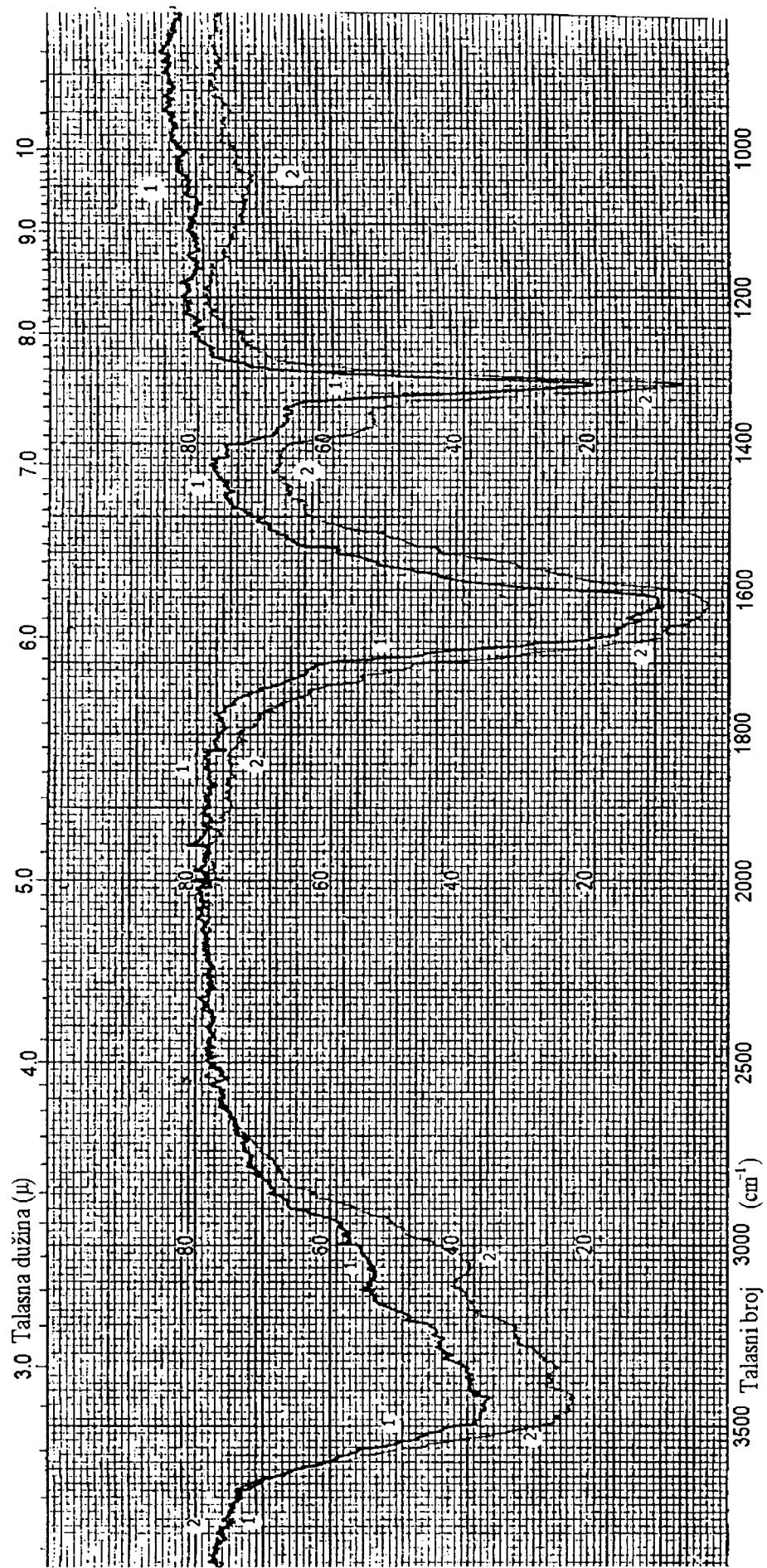
Napomena: Literatura označena * dobijena pretraživanjem baze podataka MEDLINE i
POPLINE

7. Prilog

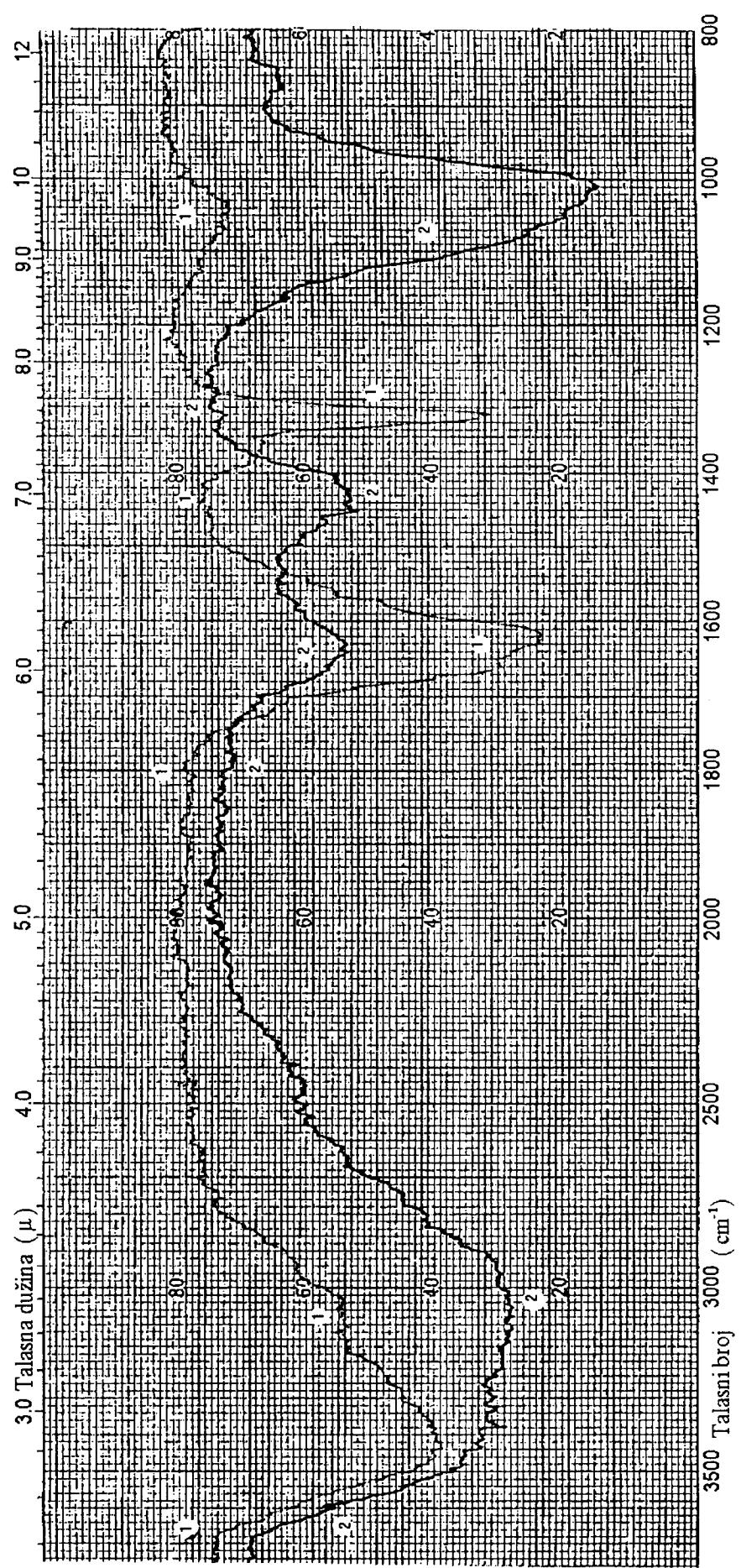
7.1. Infracrveni spektri analiziranih uzoraka



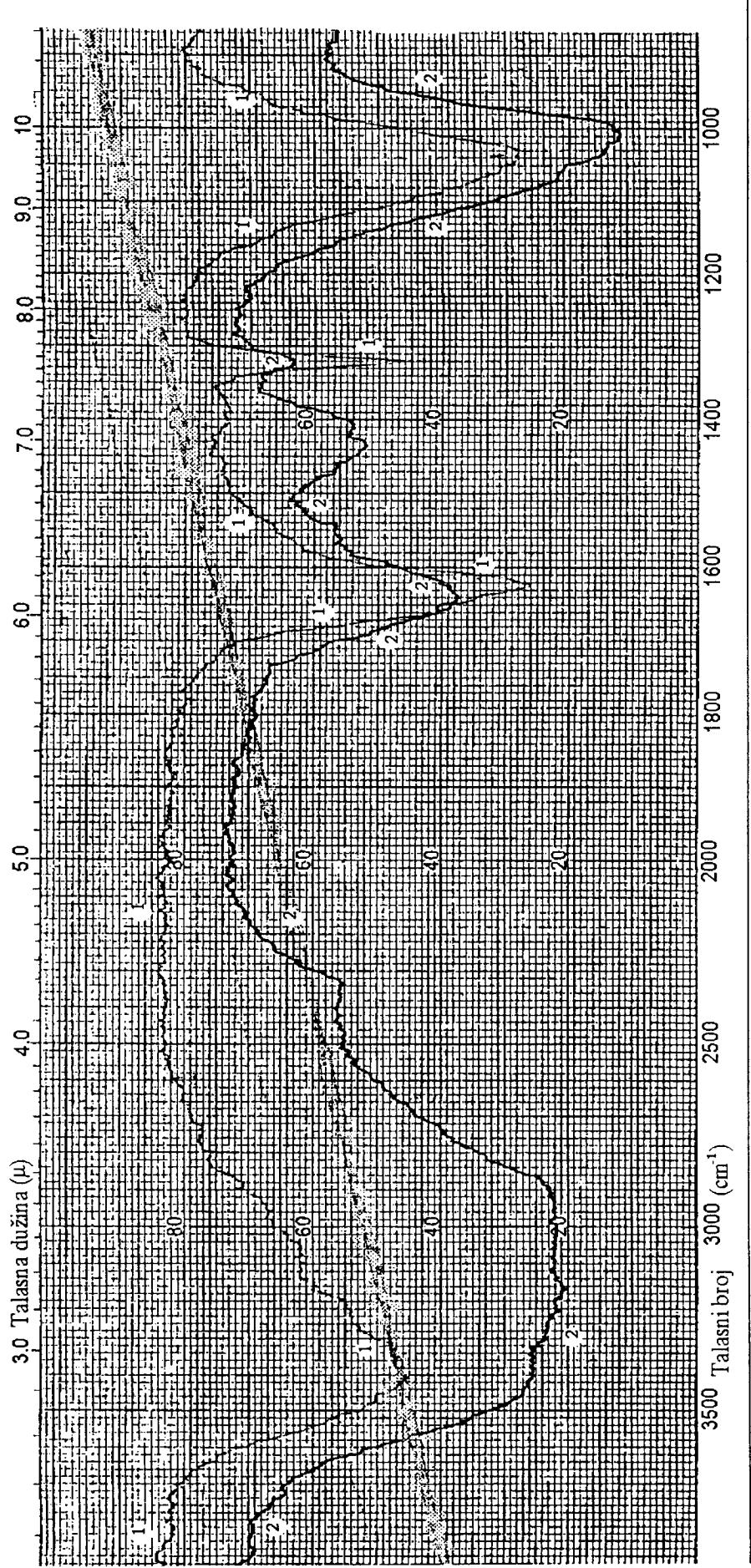
Slika 21. IC spektri za uzorke : 1 uzorak NNM 14 i 2 uzorak BNM 1



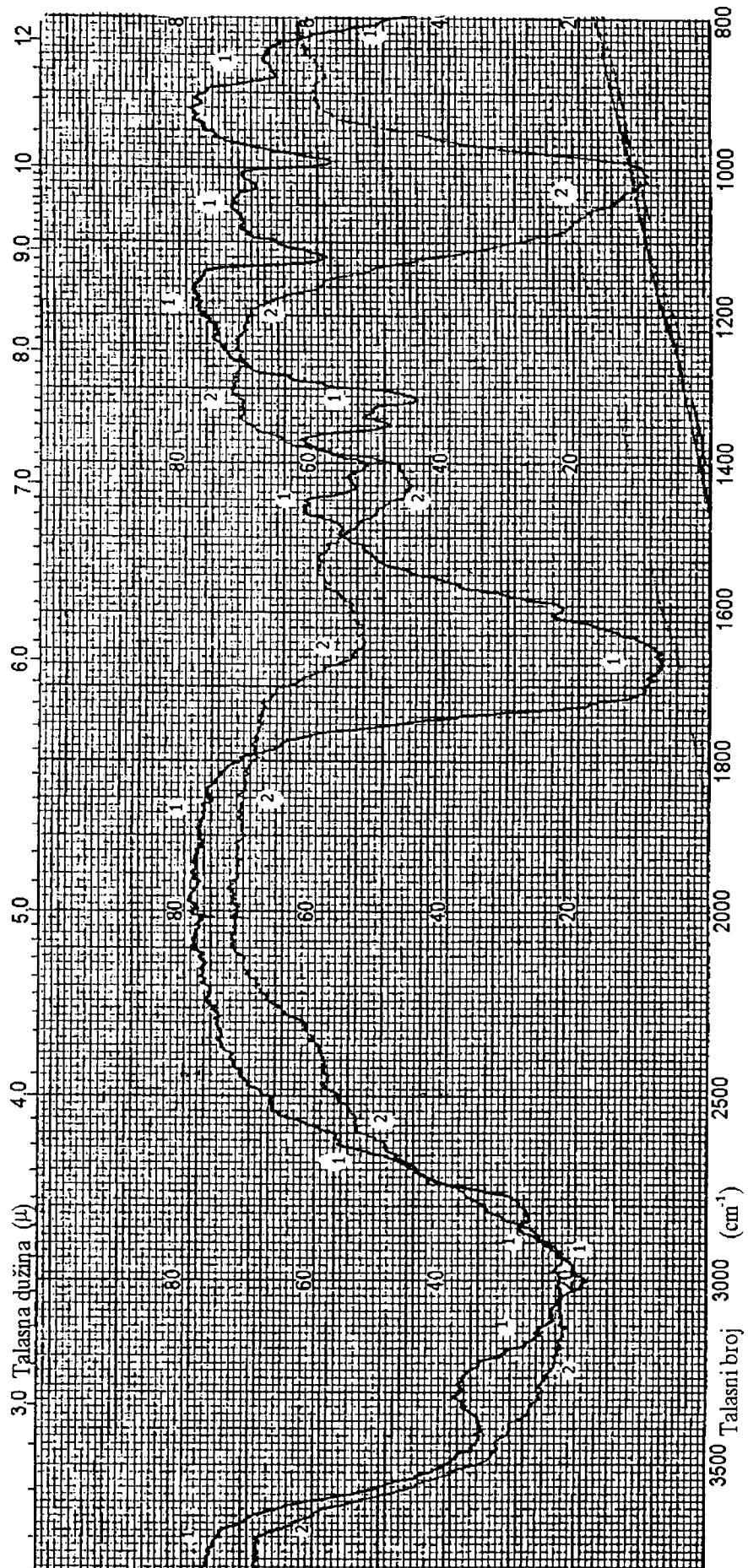
Slika 22. IC spektri za uzorke : 1 uzorak BO S 12 2 uzorak MSD 6



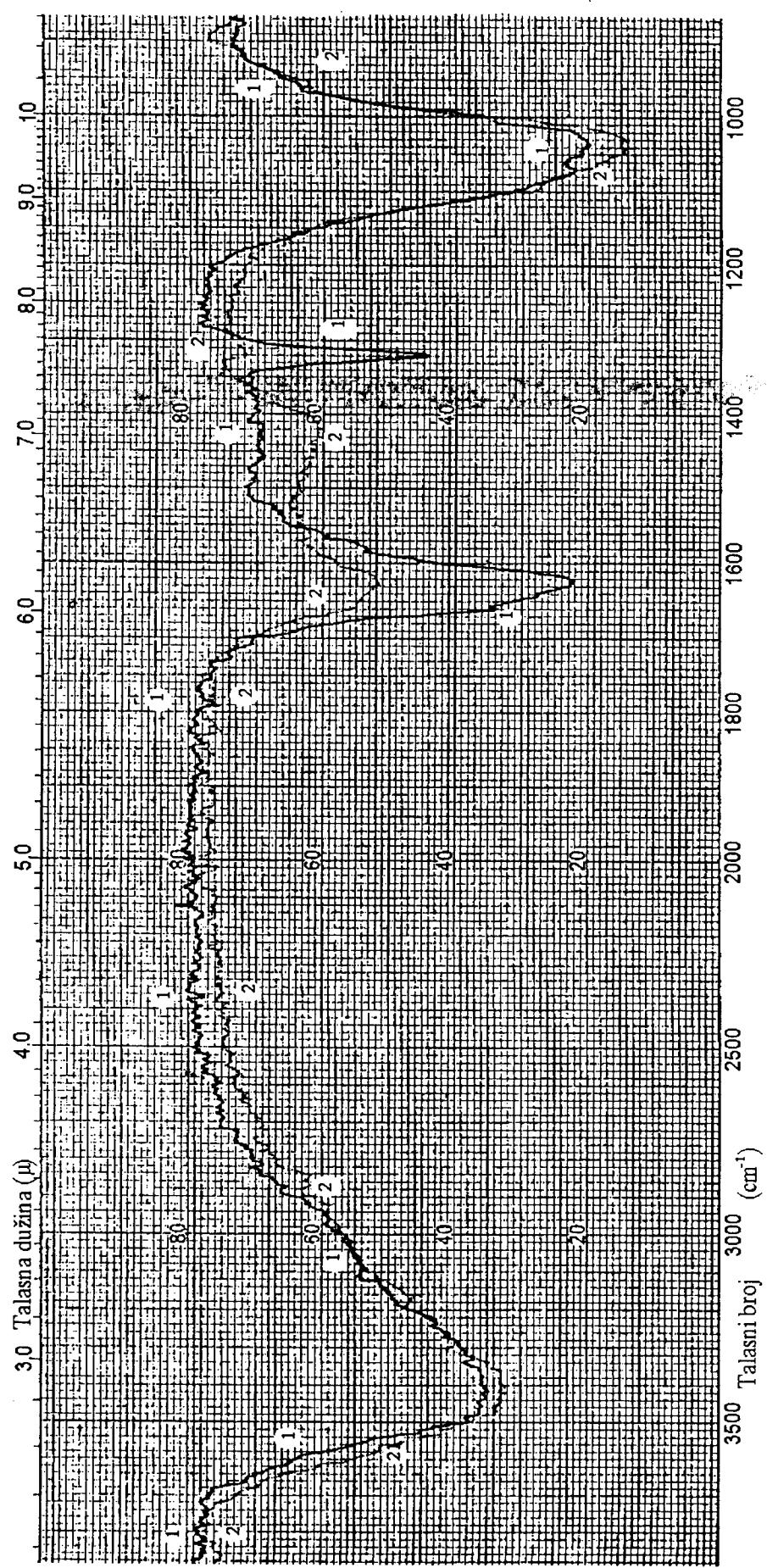
Slika 23. IC spektri za uzorke: 1 uzorak MRN11, 2 uzorak BIF 2



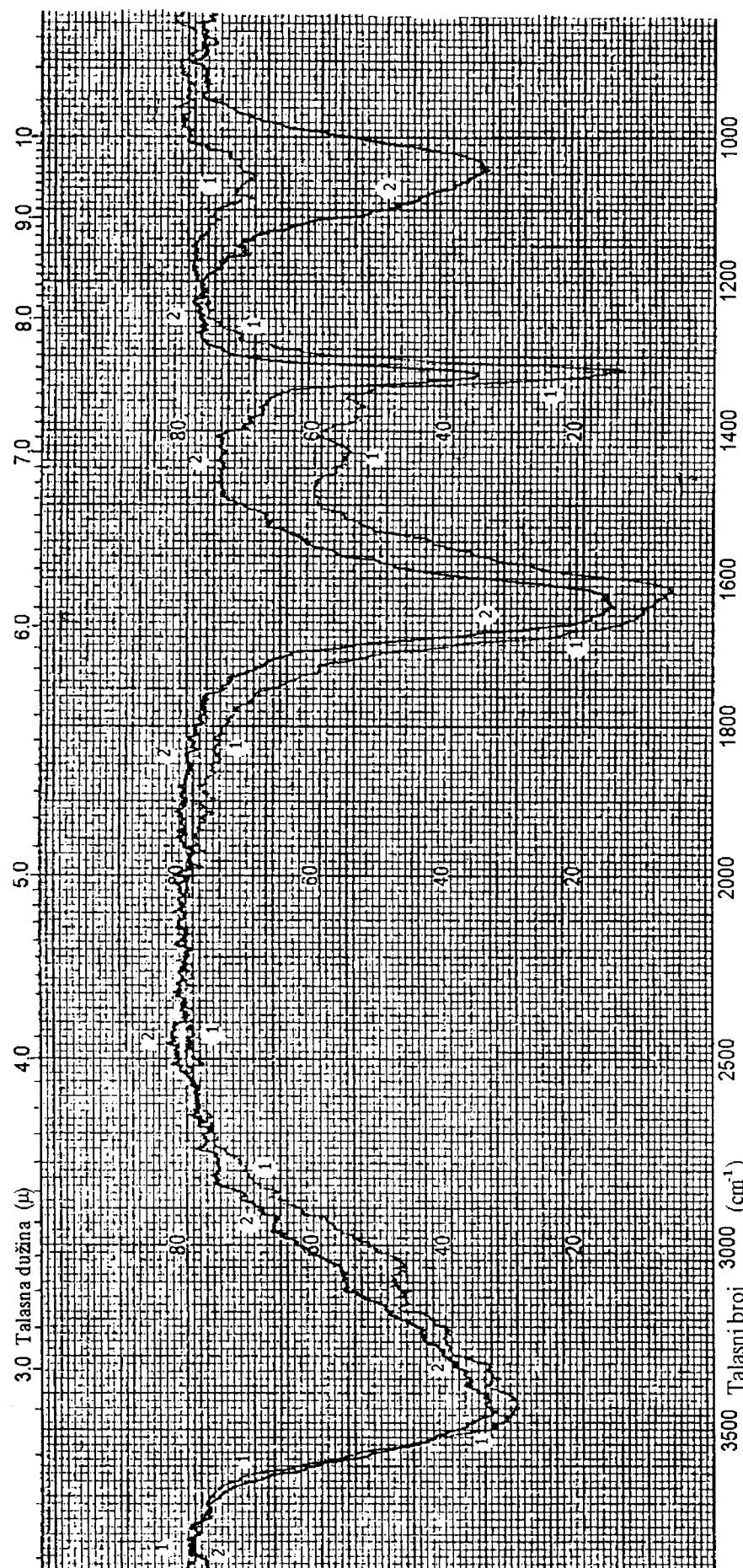
Slika 24. IC spektri za uzorke: 1 uzorak MLH 8, 2 uzorak LMN 15



Slika 25. IC spektri za: 1 uzorak KJM 5 i 2 uzorak BBM 7



Slika 26. IC spektri za uzorke: 1 uzorak MIM 13, i 2 uzorak DED 3

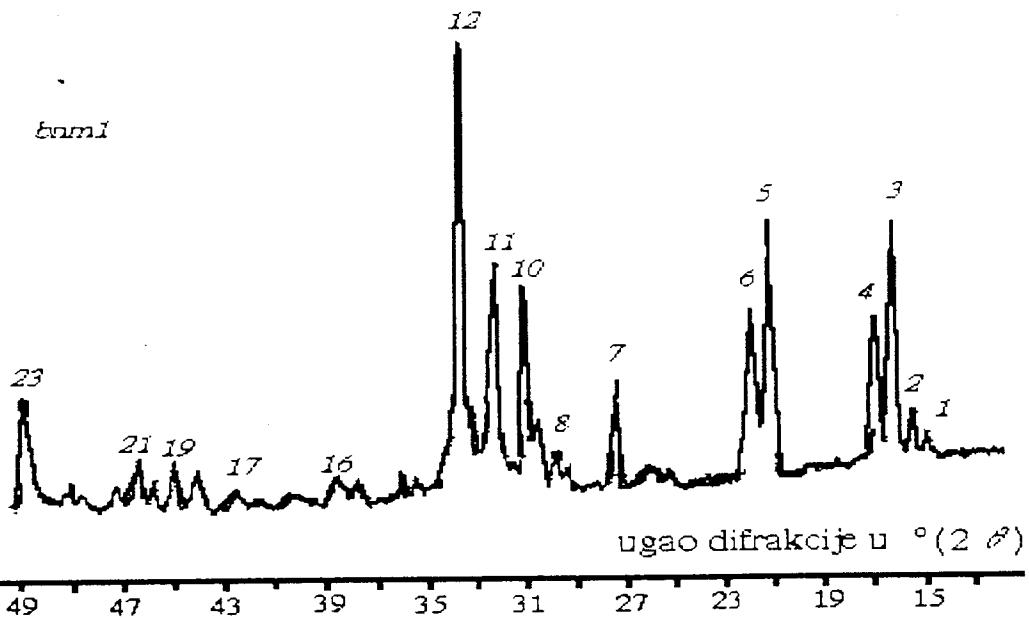


Slika 27. IC spektri za uzorke: I uzorak SZD 4 i 2 uzorak BPD 10



Slika 28. IC spektri za uzorke: I uzorak LC1 i 2 uzorak TFG 9

7.2. Rendgendifraktogrami analiziranih uzoraka

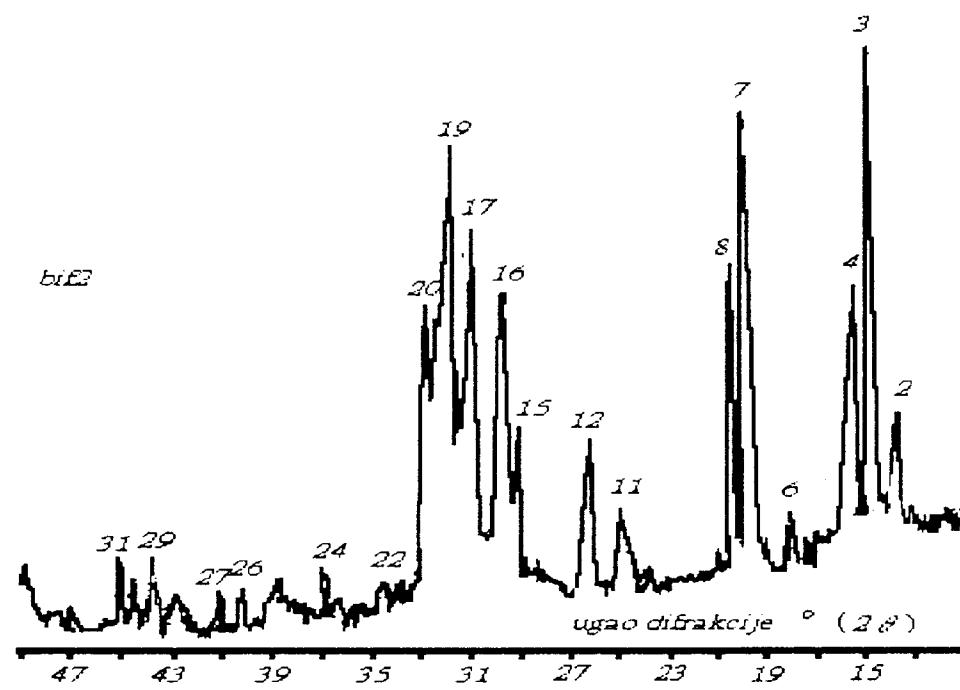


Tablica 22. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka BNM1

| pik | $2\theta^\circ$ | d (nm) | Ir % |
|-----|-----------------|--------|------|
| 1 | 14.6 | 0.6067 | 22 |
| 2 | 15.2 | 0.5829 | 26 |
| 3 | 16.0 | 0.5539 | 61 |
| 4 | 16.7 | 0.5309 | 43 |
| 5 | 20.9 | 0.4250 | 62 |
| 6 | 21.7 | 0.4095 | 49 |
| 7 | 27.3 | 0.3267 | 33 |
| 8 | 29.7 | 0.3008 | 17 |
| 10 | 30.7 | 0.2912 | 50 |
| 11 | 32.1 | 0.2788 | 53 |
| 12 | 33.3 | 0.2691 | 100 |
| 16 | 38.5 | 0.2338 | 14 |
| 17 | 42.5 | 0.2127 | 12 |
| 19 | 45.0 | 0.2014 | 17 |
| 21 | 46.4 | 0.1957 | 18 |
| 23 | 50.9 | 0.1794 | 25 |

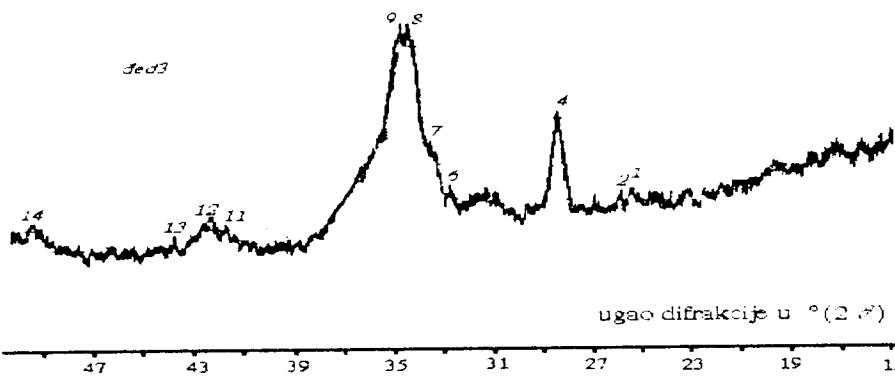
Slika 29. Difraktogram za uzorak BNM1.

Tablica 23. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka BIF2



| pik | $2\theta^{\circ}$ | d(nm) | Ir % |
|-----|-------------------|--------|------|
| 2 | 13.7 | 0.6463 | 33 |
| 3 | 14.4 | 0.6151 | 100 |
| 4 | 15.3 | 0.5791 | 47 |
| 6 | 18.0 | 0.4928 | 19 |
| 7 | 19.6 | 0.4529 | 91 |
| 8 | 20.2 | 0.4396 | 49 |
| 11 | 24.3 | 0.3663 | 20 |
| 12 | 25.6 | 0.3480 | 28 |
| 15 | 28.8 | 0.3100 | 30 |
| 16 | 29.2 | 0.3058 | 60 |
| 17 | 30.4 | 0.2940 | 69 |
| 19 | 32.0 | 0.2797 | 79 |
| 20 | 32.4 | 0.2763 | 44 |
| 22 | 34.4 | 0.2607 | 12 |
| 24 | 37.0 | 0.2430 | 13 |
| 26 | 40.0 | 0.2254 | 10 |
| 27 | 41.0 | 0.2201 | 10 |
| 29 | 43.5 | 0.2080 | 15 |
| 31 | 45.0 | 0.2014 | 16 |

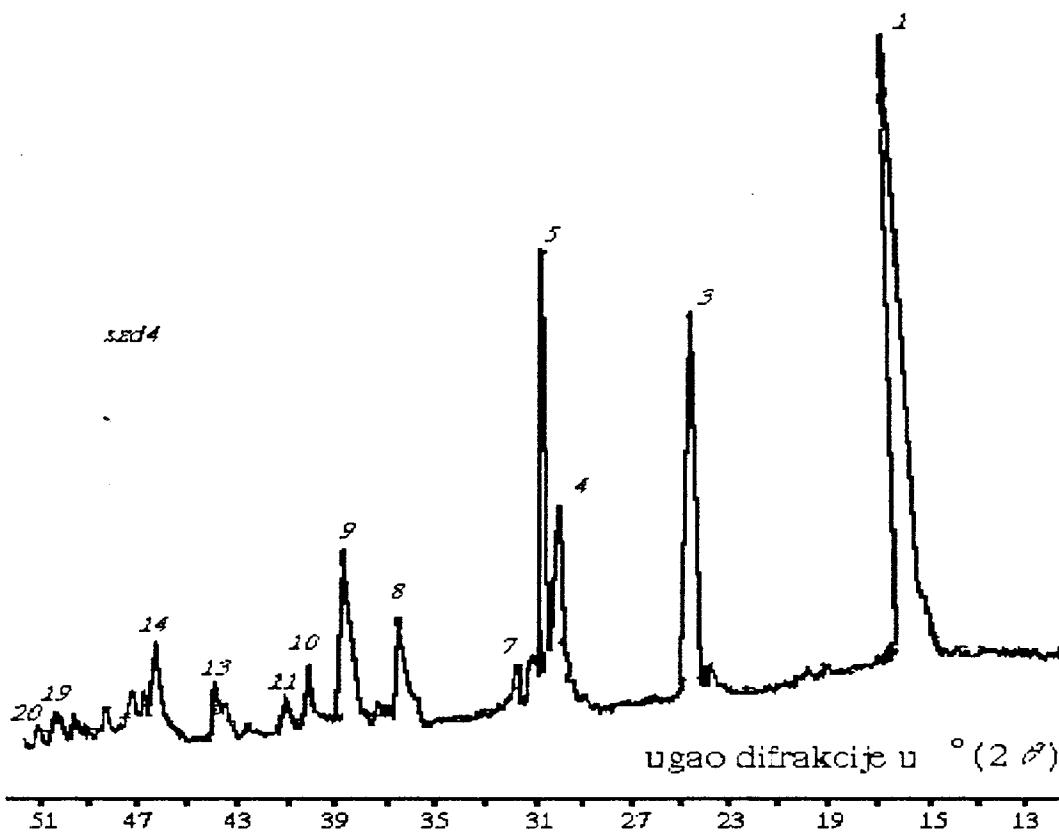
Slika 30. Difraktogram za uzorak BIF2.



Slika 31. Difraktogram za uzorak DED3.

Tablica 24. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka DED3

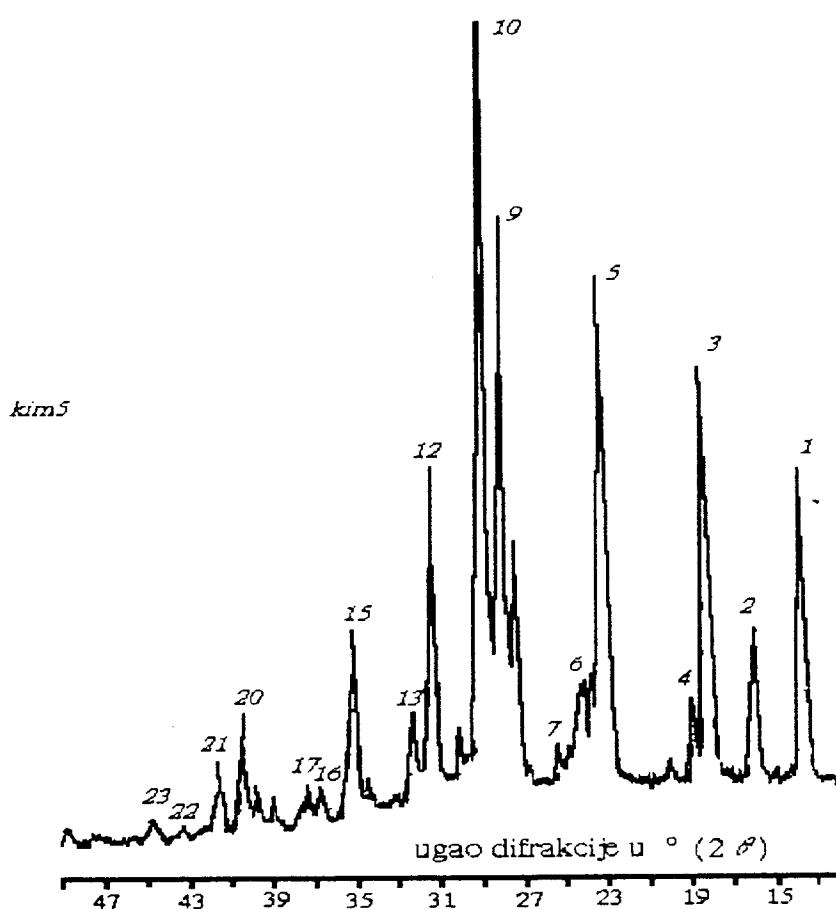
| pik | $2\theta^{\circ}$ | d(nm) | Ir % |
|-----|-------------------|--------|------|
| 1 | 23.0 | 0.3867 | 36 |
| 2 | 23.5 | 0.3786 | 33 |
| 4 | 26.0 | 0.3427 | 65 |
| 6 | 30.4 | 0.2940 | 36 |
| 7 | 31.1 | 0.2876 | 45 |
| 8 | 32.0 | 0.2797 | 99 |
| 9 | 32.2 | 0.2780 | 100 |
| 11 | 39.3 | 0.2292 | 22 |
| 12 | 39.8 | 0.2265 | 25 |
| 13 | 41.3 | 0.2186 | 16 |
| 14 | 47.1 | 0.1929 | 22 |



Tablica 25. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka SZD4

| pik | 2θ ° | d (nm) | Ir % |
|-----|-------------|--------|------|
| 1 | 15.0 | 0.5906 | 100 |
| 3 | 24.4 | 0.3648 | 62 |
| 4 | 29.4 | 0.3038 | 28 |
| 5 | 30.2 | 0.2959 | 71 |
| 7 | 31.5 | 0.2840 | 13 |
| 8 | 36.0 | 0.2495 | 20 |
| 9 | 38.3 | 0.2350 | 30 |
| 10 | 39.9 | 0.2259 | 12 |
| 11 | 40.8 | 0.2212 | 10 |
| 13 | 43.6 | 0.2076 | 14 |
| 14 | 43.9 | 0.2062 | 19 |
| 19 | 50.0 | 0.1824 | 10 |
| 20 | 50.8 | 0.1797 | 8 |

Slika 32. Difraktogram za uzorak SZD4.

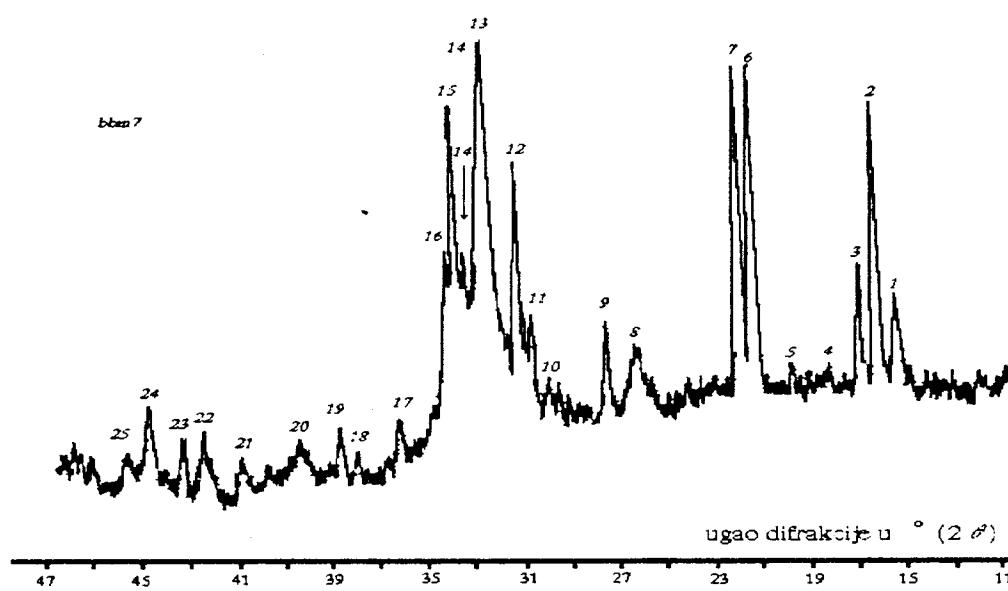


Slika 33. Difraktogram za uzorak KIM5.

Tablica 26. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka KIM5

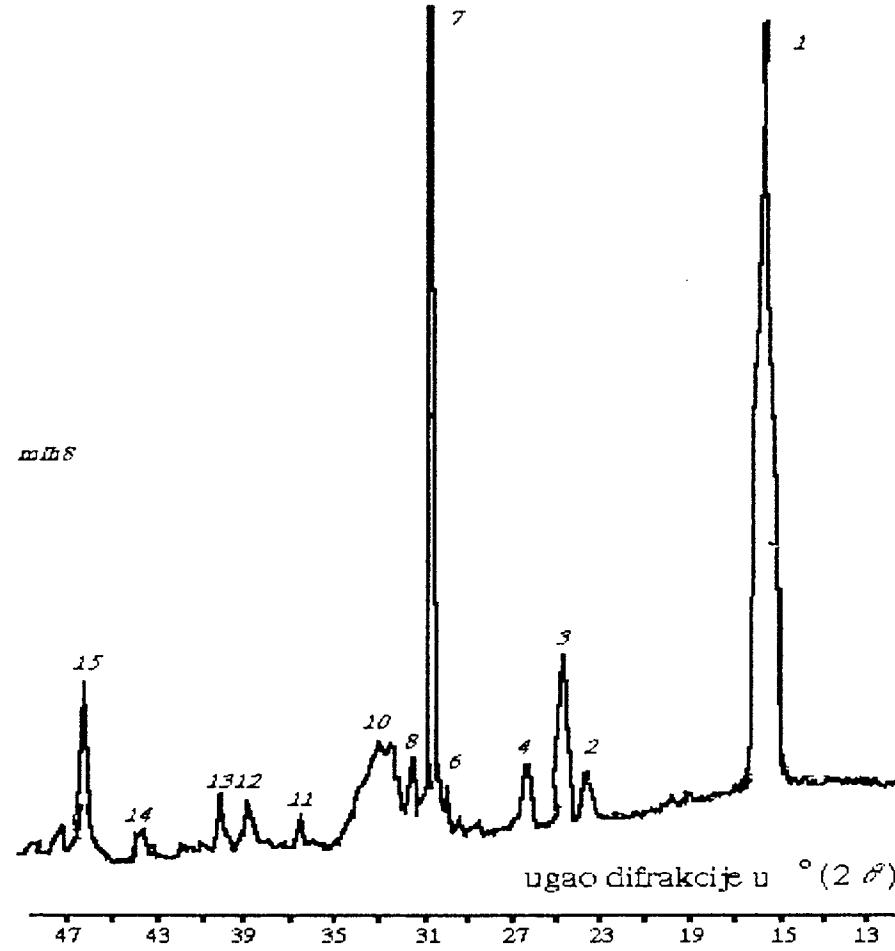
| | $2\theta^\circ$ | d(nm) | Ir % |
|----|-----------------|--------|------|
| 1 | 13.8 | 0.6417 | 43 |
| 2 | 15.9 | 0.5574 | 26 |
| 3 | 18.2 | 0.4874 | 57 |
| 4 | 18.7 | 0.4745 | 17 |
| 5 | 23.2 | 0.3834 | 70 |
| 6 | 24.0 | 0.3708 | 15 |
| 7 | 24.9 | 0.3576 | 11 |
| 9 | 28.0 | 0.3187 | 78 |
| 10 | 28.8 | 0.3100 | 100 |
| 12 | 31.2 | 0.2867 | 45 |
| 13 | 32.0 | 0.2797 | 20 |
| 15 | 34.9 | 0.2571 | 25 |
| 16 | 36.6 | 0.2455 | 9 |
| 17 | 37.2 | 0.2417 | 9 |
| 20 | 40.2 | 0.2243 | 19 |
| 21 | 41.4 | 0.2181 | 13 |
| 22 | 43.3 | 0.2090 | 5 |
| 23 | 44.6 | 0.2032 | 5 |

Tablica 28. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka BBM7



Slika 35. Difraktogram za uzorak BBM7.

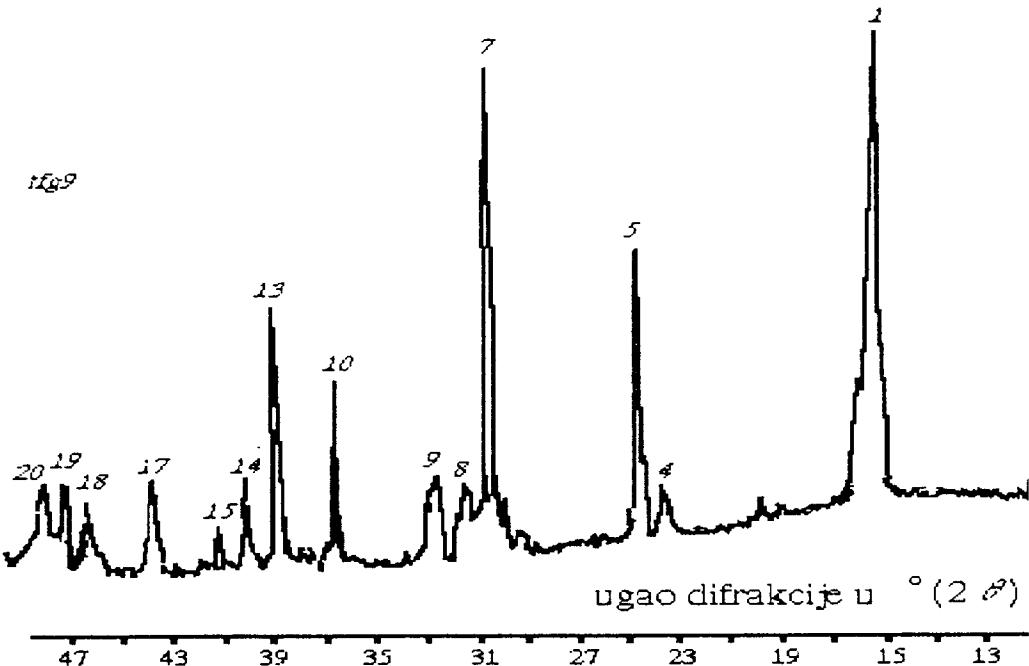
| pik | $2\theta ^\circ$ | d (nm) | Ir % |
|-----|------------------|--------|------|
| 1 | 15.2 | 0.5829 | 48 |
| 2 | 16.0 | 0.5539 | 79 |
| 3 | 16.7 | 0.5309 | 54 |
| 4 | 18.0 | 0.4928 | 36 |
| 5 | 19.6 | 0.4529 | 31 |
| 6 | 21.4 | 0.4152 | 94 |
| 7 | 21.8 | 0.4077 | 94 |
| 8 | 26.0 | 0.3427 | 39 |
| 9 | 27.4 | 0.3255 | 44 |
| 10 | 29.6 | 0.3018 | 33 |
| 11 | 30.4 | 0.2940 | 45 |
| 12 | 30.8 | 0.2903 | 68 |
| 13 | 32.0 | 0.2797 | 100 |
| 14 | 33.1 | 0.2706 | 54 |
| 15 | 33.5 | 0.2675 | 91 |
| 16 | 33.8 | 0.2652 | 58 |
| 17 | 35.9 | 0.2501 | 26 |
| 18 | 37.7 | 0.2386 | 19 |
| 19 | 38.5 | 0.2338 | 25 |
| 20 | 40.1 | 0.2249 | 22 |
| 21 | 42.6 | 0.2122 | 19 |
| 22 | 44.2 | 0.2049 | 24 |
| 23 | 45.2 | 0.2006 | 22 |
| 24 | 46.3 | 0.1961 | 30 |
| 25 | 47.4 | 0.1918 | 20 |



Slika 36. Difraktogram za uzorak MLH8.

Tablica 29. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka MLH8

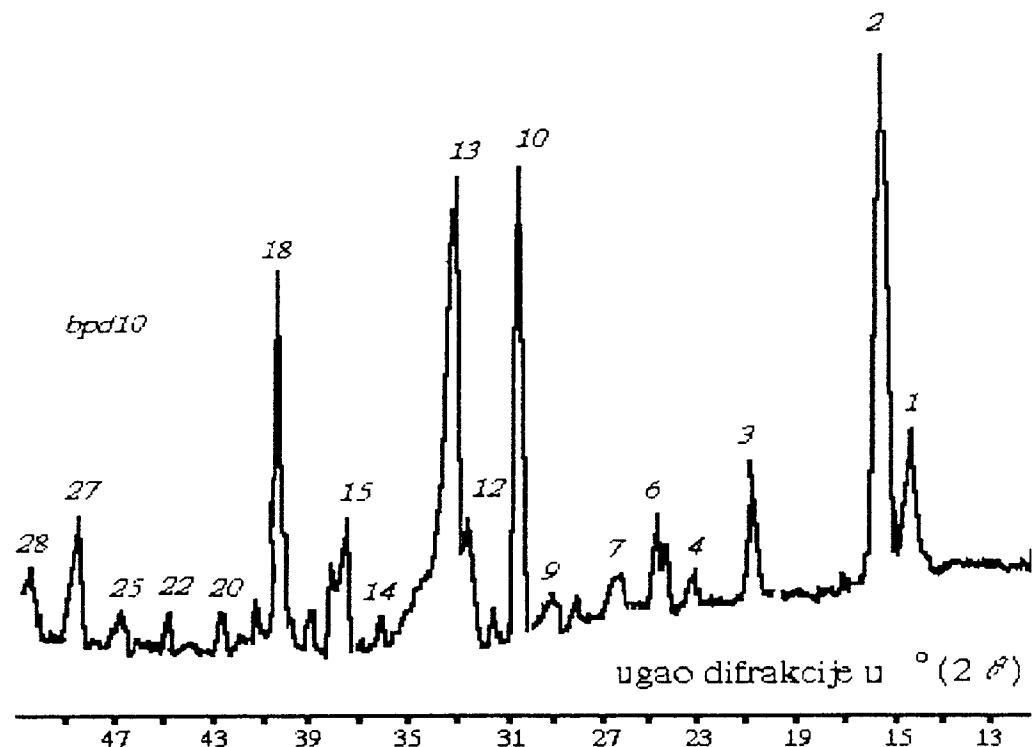
| pik | $2\theta^\circ$ | d(nm) | Ir % |
|-----|-----------------|--------|------|
| 1 | 15.0 | 0.5906 | 88 |
| 2 | 23.5 | 0.3786 | 6 |
| 3 | 24.6 | 0.3619 | 25 |
| 4 | 25.9 | 0.3440 | 5 |
| 6 | 29.6 | 0.3018 | 6 |
| 7 | 30.0 | 0.2979 | 100 |
| 8 | 30.8 | 0.2903 | 8 |
| 10 | 32.1 | 0.2788 | 10 |
| 11 | 35.9 | 0.2501 | 3 |
| 12 | 38.1 | 0.2362 | 5 |
| 13 | 39.8 | 0.2265 | 4 |
| 14 | 43.5 | 0.2080 | 2 |
| 15 | 45.8 | 0.1981 | 18 |



Slika 37. Difraktogram za uzorak TFG9.

Tablica 30. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka TFG9

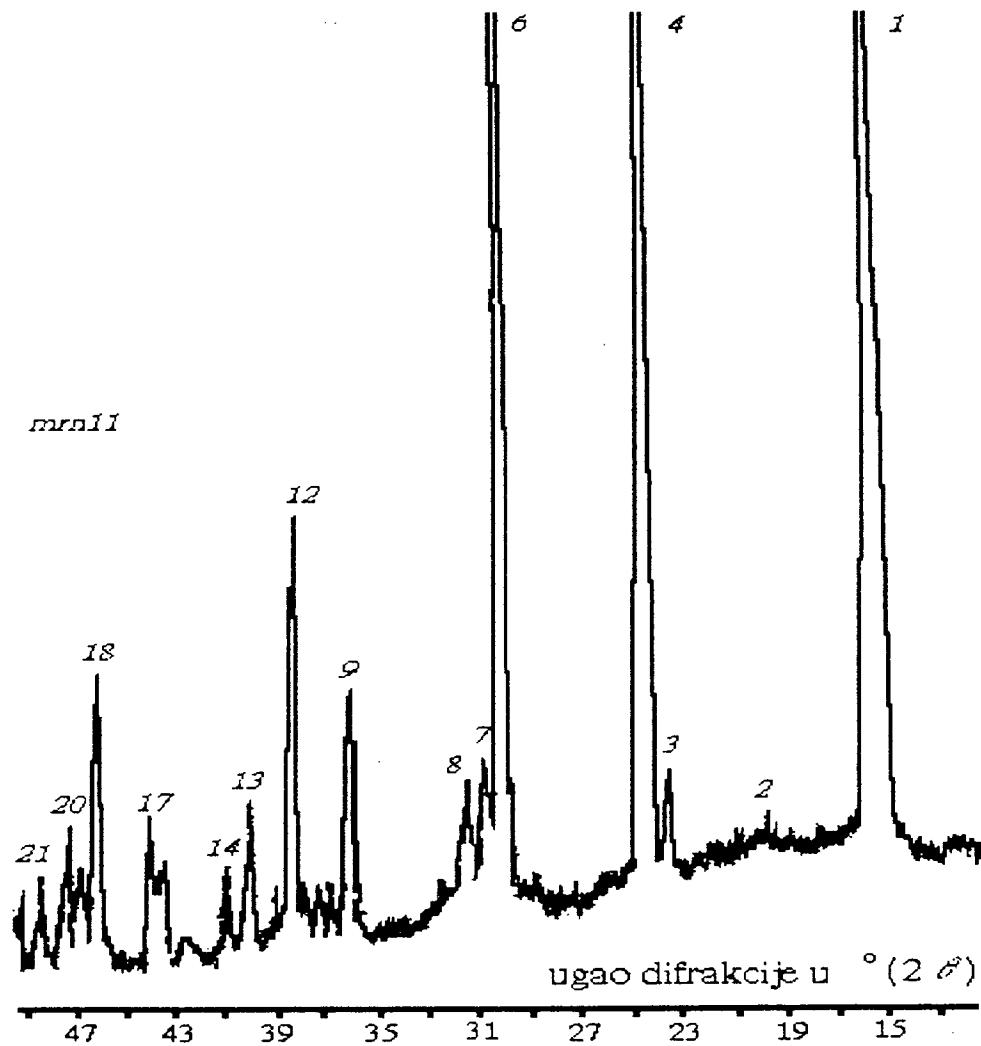
| pik | $2\theta^\circ$ | d(nm) | Ir % |
|-----|-----------------|--------|------|
| 1 | 15.2 | 0.5829 | 100 |
| 4 | 23.8 | 0.3739 | 14 |
| 5 | 24.7 | 0.3619 | 66 |
| 7 | 30.3 | 0.2959 | 76 |
| 8 | 31.0 | 0.2903 | 15 |
| 9 | 31.8 | 0.2814 | 14 |
| 10 | 36.2 | 0.2495 | 28 |
| 13 | 38.5 | 0.2344 | 50 |
| 14 | 40.0 | 0.2254 | 16 |
| 15 | 41.0 | 0.2212 | 6 |
| 17 | 43.7 | 0.2076 | 15 |
| 18 | 46.0 | 0.1973 | 17 |
| 19 | 46.6 | 0.1953 | 13 |
| 20 | 47.2 | 0.1929 | 13 |



Slika 38. Difraktogram za uzorak BPD10.

Tablica 31. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka BPD10

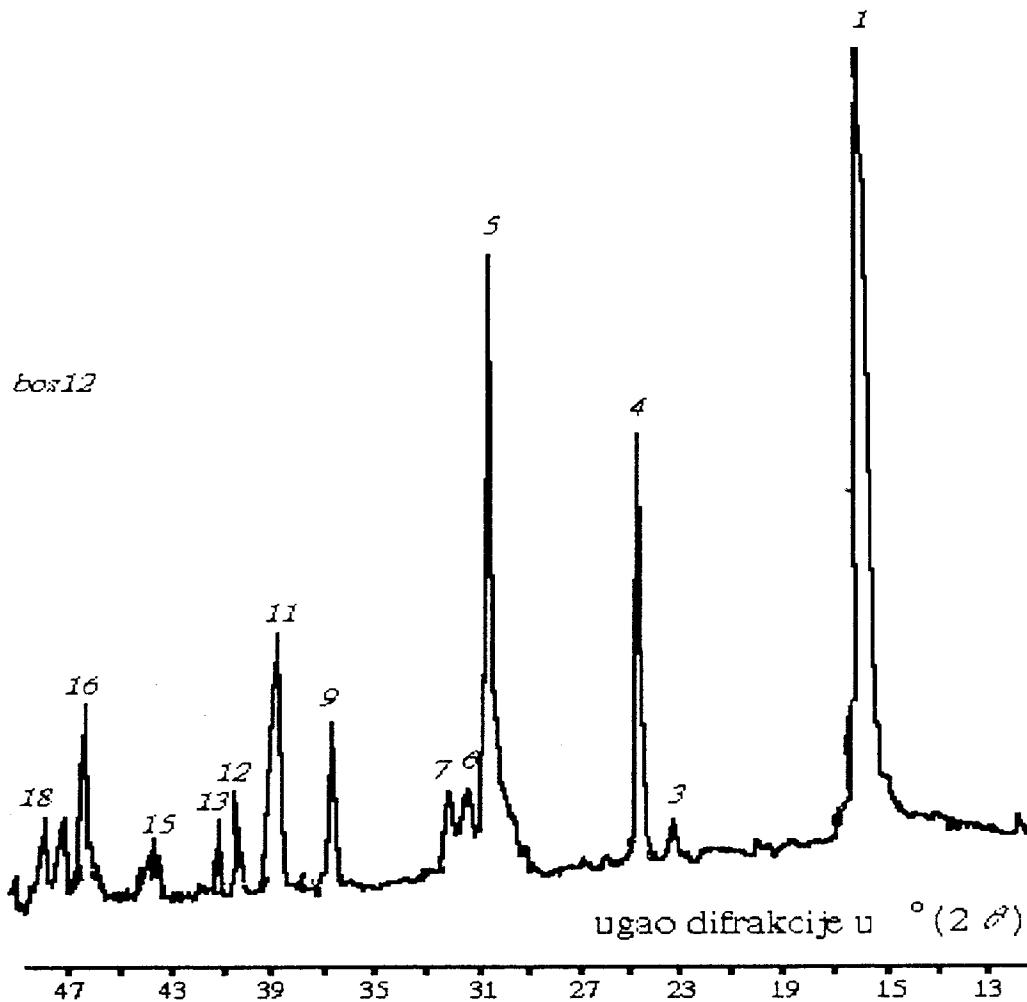
| pik | $2\theta^\circ$ | d(nm) | Ir % |
|-----|-----------------|--------|------|
| 1 | 14.5 | 0.6109 | 36 |
| 2 | 15.2 | 0.5829 | 100 |
| 3 | 20.2 | 0.4396 | 31 |
| 4 | 22.9 | 0.3883 | 11 |
| 6 | 24.5 | 0.3633 | 20 |
| 7 | 26.1 | 0.3414 | 9 |
| 9 | 29.0 | 0.3079 | 9 |
| 10 | 30.2 | 0.2959 | 61 |
| 12 | 29.9 | 0.2988 | 21 |
| 13 | 30.3 | 0.2950 | 58 |
| 14 | 36.0 | 0.2495 | 6 |
| 15 | 37.2 | 0.2417 | 21 |
| 18 | 40.2 | 0.2243 | 45 |
| 20 | 42.8 | 0.2113 | 6 |
| 22 | 44.9 | 0.2019 | 3 |
| 25 | 46.5 | 0.1953 | 10 |
| 27 | 48.0 | 0.1895 | 20 |
| 28 | 49.8 | 0.1831 | 10 |



Slika 39. Difraktogram za uzorak MRN11.

Tablica 32. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka MRN11

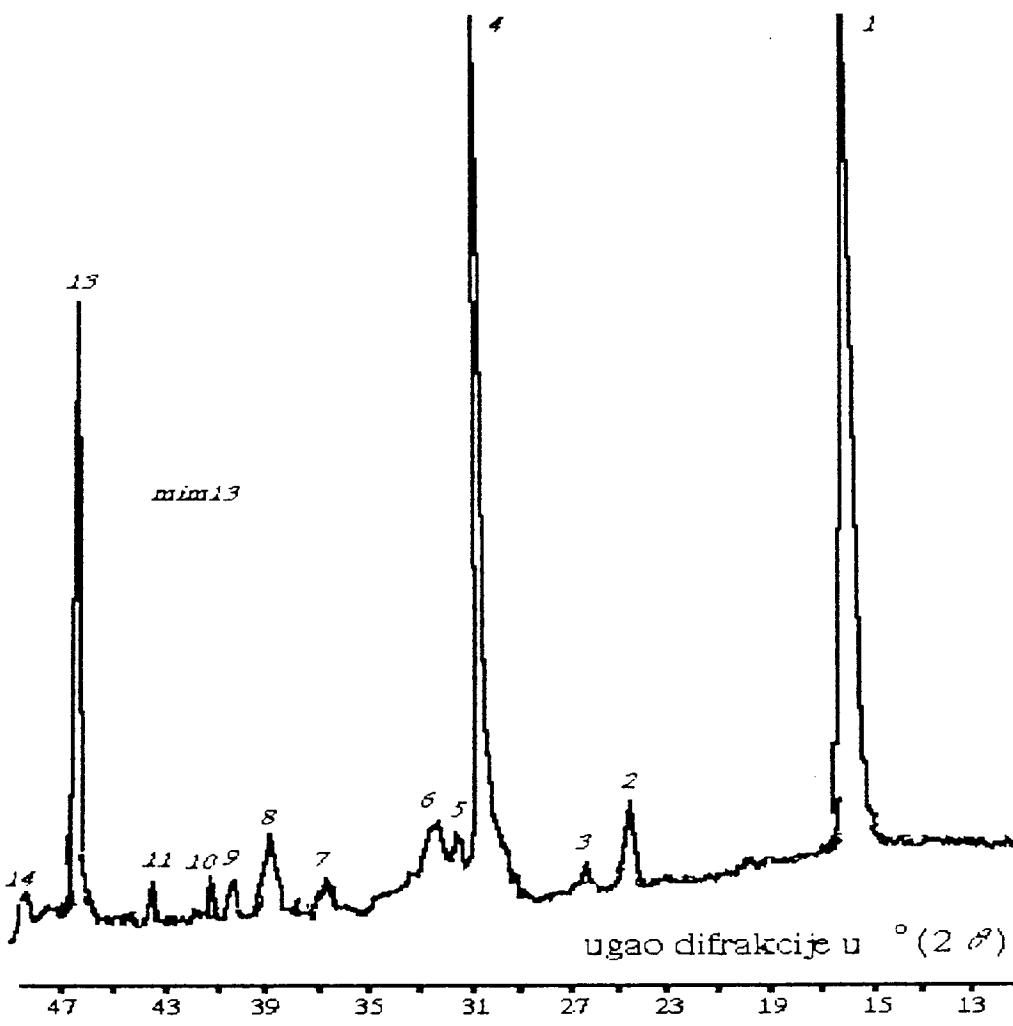
| pik | $2\theta^\circ$ | d(nm) | Ir % |
|-----|-----------------|--------|------|
| 1 | 15.0 | 0.5906 | 100 |
| 2 | 19.7 | 0.4506 | 21 |
| 3 | 23.6 | 0.3770 | 25 |
| 4 | 24.4 | 0.3648 | 100 |
| 6 | 30.2 | 0.2959 | 100 |
| 7 | 31.0 | 0.2885 | 25 |
| 8 | 31.5 | 0.2840 | 24 |
| 9 | 36.0 | 0.2495 | 33 |
| 12 | 38.3 | 0.2350 | 50 |
| 13 | 39.9 | 0.2259 | 21 |
| 14 | 41.0 | 0.2201 | 13 |
| 17 | 43.7 | 0.2071 | 20 |
| 18 | 45.8 | 0.1981 | 34 |
| 20 | 47.1 | 0.1929 | 18 |
| 21 | 48.2 | 0.1888 | 14 |



Tablica 33. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka BOS12

| pik | $2\theta^{\circ}$ | d(nm) | Ir % |
|-----|-------------------|--------|------|
| 1 | 15.1 | 0.5867 | 100 |
| 3 | 23.6 | 0.3770 | 6 |
| 4 | 24.6 | 0.3619 | 42 |
| 5 | 30.2 | 0.2959 | 67 |
| 6 | 30.8 | 0.2903 | 9 |
| 7 | 31.6 | 0.2831 | 7 |
| 9 | 36.0 | 0.2495 | 13 |
| 11 | 38.3 | 0.2350 | 20 |
| 12 | 40.0 | 0.2254 | 9 |
| 13 | 41.0 | 0.2201 | 6 |
| 15 | 43.6 | 0.2076 | 7 |
| 16 | 45.9 | 0.1977 | 15 |
| 18 | 47.0 | 0.1933 | 7 |

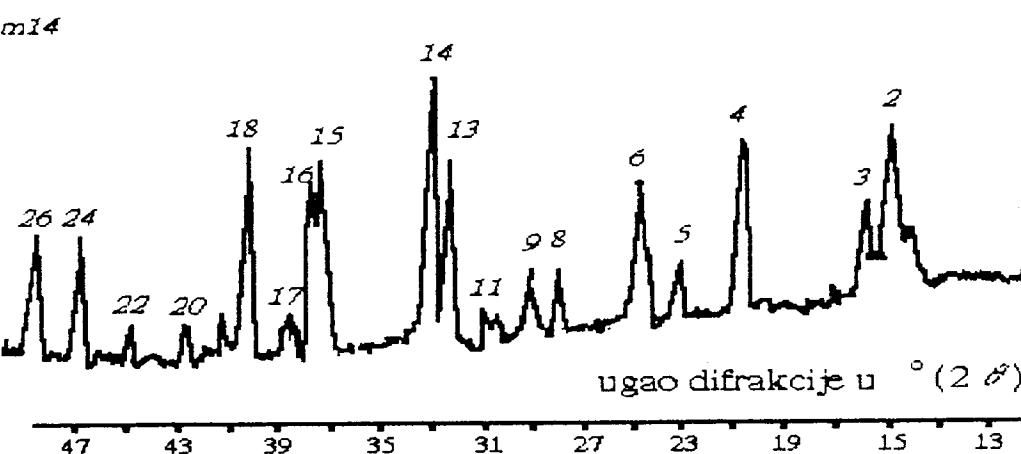
Slika 40. Difraktogram za uzorak BOS12.



Slika 41. Difraktogram za uzorak MIM13.

Tablica 34. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka MIM13

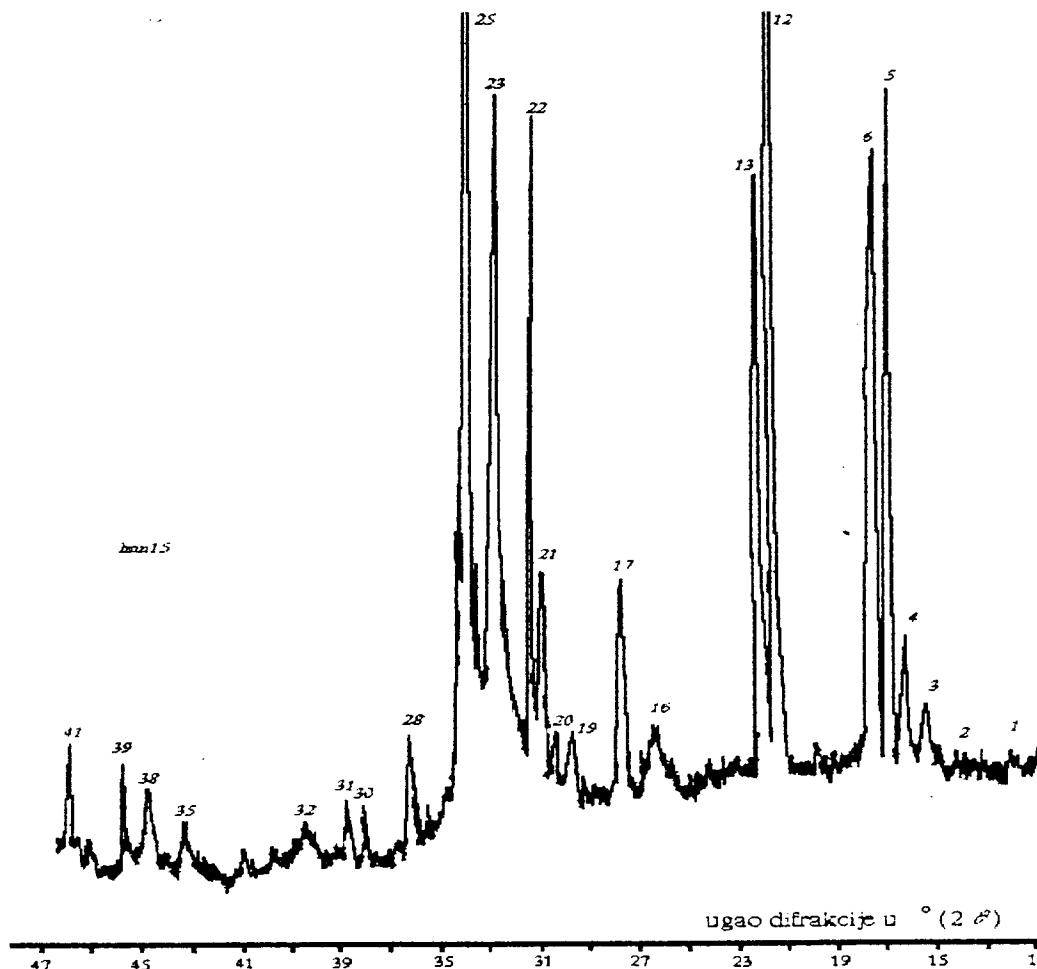
| pik | $2\theta^\circ$ | d(nm) | Ir % |
|-----|-----------------|--------|------|
| 1 | 15.0 | 0.5906 | 100 |
| 2 | 24.4 | 0.3648 | 9 |
| 3 | 26.0 | 0.3427 | 4 |
| 4 | 30.2 | 0.2959 | 100 |
| 5 | 30.9 | 0.2894 | 7 |
| 6 | 31.6 | 0.2831 | 9 |
| 7 | 36.0 | 0.2495 | 3 |
| 8 | 38.2 | 0.2356 | 6 |
| 9 | 40.0 | 0.2254 | 3 |
| 10 | 40.9 | 0.2206 | 4 |
| 13 | 45.8 | 0.1981 | 65 |
| 14 | 48.1 | 0.1892 | 37 |



Slika 42. Difraktogram za uzorak NNM14.

Tablica 35. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka NNM14

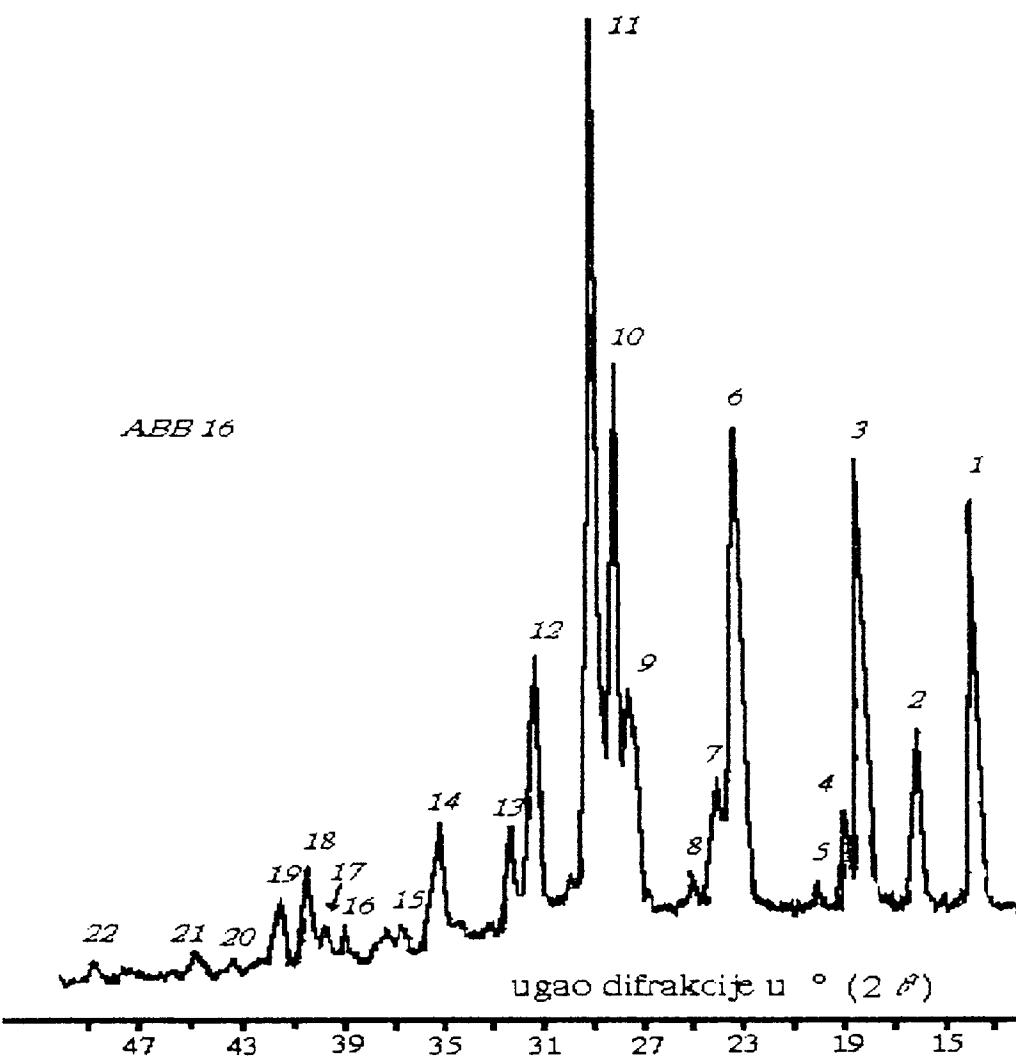
| pik | $2\theta^\circ$ | d(nm) | Ir % |
|-----|-----------------|--------|------|
| 2 | 14.5 | 0.6109 | 94 |
| 3 | 15.1 | 0.5867 | 53 |
| 4 | 20.2 | 0.4396 | 88 |
| 5 | 22.8 | 0.3900 | 38 |
| 6 | 24.2 | 0.3678 | 58 |
| 8 | 28.3 | 0.3153 | 42 |
| 9 | 29.0 | 0.3079 | 42 |
| 11 | 30.2 | 0.2959 | 33 |
| 13 | 31.8 | 0.2814 | 67 |
| 14 | 32.4 | 0.2763 | 100 |
| 15 | 37.2 | 0.2417 | 57 |
| 16 | 37.5 | 0.2398 | 47 |
| 17 | 38.5 | 0.2338 | 29 |
| 18 | 40.4 | 0.2233 | 63 |
| 20 | 42.8 | 0.2113 | 22 |
| 22 | 45.0 | 0.2014 | 25 |
| 24 | 46.5 | 0.1953 | 42 |
| 26 | 48.0 | 0.1895 | 43 |



Slika 43. Difraktogram za uzorak LMN15.

Tablica 36. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka LMN15

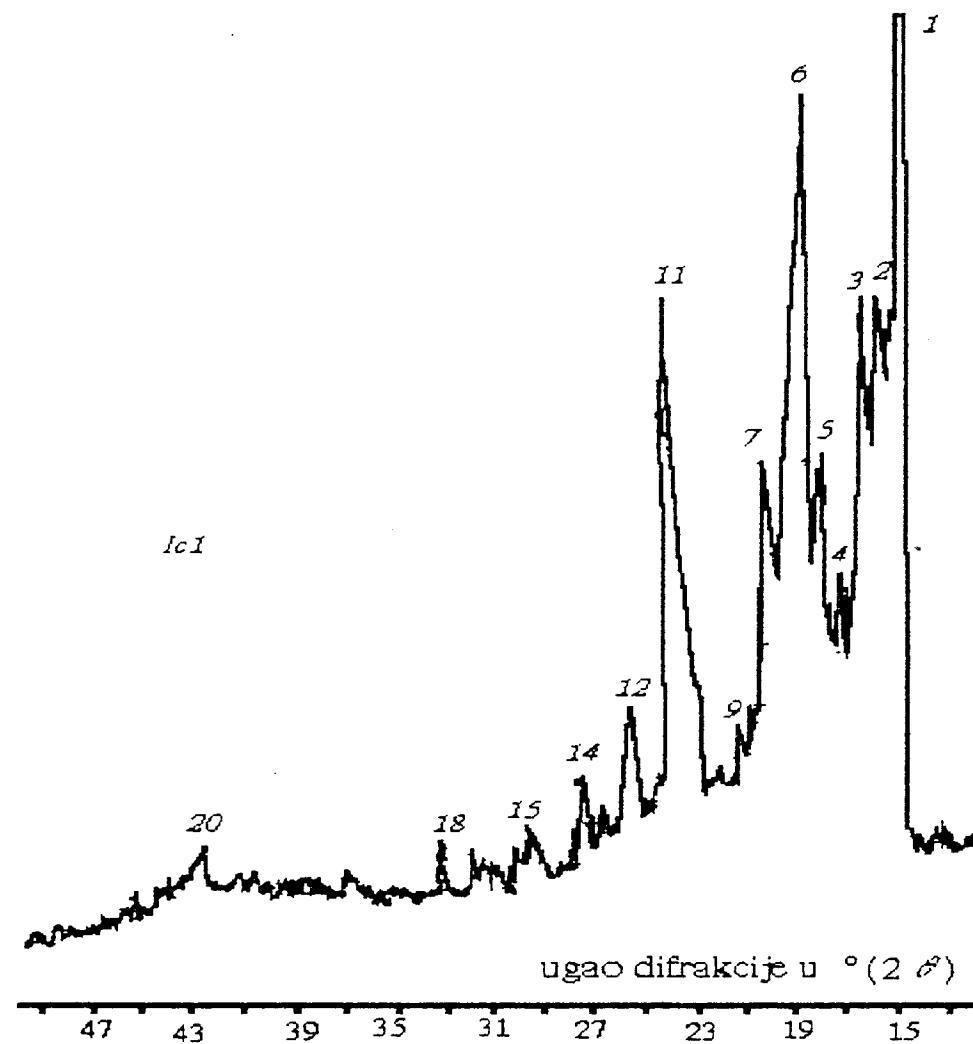
| pik | $2\theta^\circ$ | d(nm) | Ir % |
|-----|-----------------|--------|------|
| 1 | 11.7 | 0.7563 | 20 |
| 2 | 13.4 | 0.6607 | 20 |
| 3 | 14.8 | 0.5985 | 28 |
| 4 | 15.2 | 0.5829 | 36 |
| 5 | 16.0 | 0.5539 | 95 |
| 6 | 16.8 | 0.5277 | 81 |
| 12 | 21.2 | 0.4191 | 100 |
| 13 | 21.8 | 0.4077 | 77 |
| 16 | 26.1 | 0.3414 | 21 |
| 17 | 27.5 | 0.3243 | 41 |
| 19 | 29.4 | 0.3038 | 22 |
| 20 | 29.8 | 0.2998 | 22 |
| 21 | 30.4 | 0.2940 | 40 |
| 22 | 30.9 | 0.2894 | 87 |
| 23 | 32.3 | 0.2771 | 93 |
| 25 | 33.6 | 0.2667 | 100 |
| 28 | 36.0 | 0.2495 | 24 |
| 30 | 37.8 | 0.2380 | 16 |
| 31 | 38.5 | 0.2338 | 19 |
| 32 | 40.3 | 0.2238 | 14 |
| 35 | 42.8 | 0.2113 | 14 |
| 38 | 44.4 | 0.2040 | 17 |
| 39 | 45.2 | 0.2006 | 23 |
| 41 | 46.6 | 0.1949 | 27 |



Tablica 37. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka ABB16

| pik | $2\theta^\circ$ | d(nm) | Ir % |
|-----|-----------------|--------|------|
| 1 | 13.7 | 0.6463 | 50 |
| 2 | 15.9 | 0.5574 | 26 |
| 3 | 18.0 | 0.4928 | 55 |
| 4 | 18.8 | 0.4720 | 15 |
| 5 | 19.9 | 0.4462 | 10 |
| 6 | 23.2 | 0.3834 | 58 |
| 7 | 24.0 | 0.3708 | 14 |
| 8 | 24.9 | 0.3576 | 11 |
| 9 | 27.2 | 0.3278 | 29 |
| 10 | 28.0 | 0.3187 | 65 |
| 11 | 28.8 | 0.3100 | 100 |
| 12 | 31.2 | 0.2867 | 35 |
| 13 | 32.0 | 0.2797 | 16 |
| 14 | 35.0 | 0.2564 | 17 |
| 15 | 36.6 | 0.2455 | 7 |
| 16 | 38.8 | 0.2321 | 7 |
| 17 | 39.7 | 0.2270 | 7 |
| 18 | 40.4 | 0.2233 | 13 |
| 19 | 41.4 | 0.2181 | 10 |
| 20 | 43.2 | 0.2094 | 4 |
| 21 | 44.6 | 0.2032 | 4 |
| 22 | 48.7 | 0.1870 | 3 |

Slika 44. Difraktogram za uzorak ABB16.



Slika 45. Difraktogram za uzorak LC1.

Tablica 38. Karakteristični pikovi i vrednosti za d kod uzorka LC1

| pik | 2θ ° | d (nm) | Ir % |
|-----|-------------|--------|------|
| 1 | 15.2 | 0.5829 | 100 |
| 2 | 16.0 | 0.5539 | 65 |
| 3 | 16.4 | 0.5405 | 65 |
| 4 | 17.2 | 0.5155 | 34 |
| 5 | 17.8 | 0.4983 | 52 |
| 6 | 18.3 | 0.4848 | 51 |
| 7 | 19.4 | 0.4575 | 51 |
| 9 | 21.0 | 0.4230 | 22 |
| 11 | 23.4 | 0.3802 | 67 |
| 12 | 25.2 | 0.3534 | 26 |
| 14 | 27.4 | 0.3255 | 19 |
| 15 | 29.2 | 0.3058 | 14 |
| 18 | 32.9 | 0.2722 | 13 |
| 20 | 42.6 | 0.2122 | 13 |

BIOGRAFIJA

Marinko Đ. Petković rođen je 05.04.1971. godine u Novom Sadu, Republika Srbija, od oca Đurada i majke Dobrile rođene Tolimir. Osnovnu i srednju medicinsku školu " 7. april", smer laboratorijski tehničar završio je sa odličnim uspehom. Zaposlen je u Kliničkoj laboratoriji Instituta za zdravstvenu zaštitu dece i omladine od 1991. godine, kada upisuje dvopredmetne studije fizike i hemije na Prirodno-matematičkom fakultetu. Apsolvirao 1996. godine sa prosečnom ocenom 8,04.

Autor i/ili koautor više radova iz oblasti medicinske instrumentacije.

UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
INSTITUT ZA HEMIJU

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj:
RBR

Identifikacioni broj:
IBR

Tip dokumentacije:
TD Monografska publikacija

Tip zapisa:
TZ Tekstualni štampani materijal

Vrsta rada:
VR Diplomski rad

Autor
AU Marinko Đ. Petković

Mentor/Ko-mentor:
MN Prof. dr Ferenc Gaál

Naslov rada:
NR Upoređivanje rezultata analiza bubrežnih i
žučnih kamena dobivenih različitim metodama

Jezik publikacije:
JP srpski (latinica)

Jezik izvoda:
JI srpski / engleski

Zemlja publikovanja:
ZP SR Jugoslavija

Uže geografsko područje:
UGP Vojvodina

Godina:
GO 1997.

Izdavač:
IZ Autorski reprint

Mesto i adresa:
MS YU-21000 Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3

Fizički opis rada:
FO 7 poglavlja, 116 strana, 84 literaturnih citata,
21 tablica, 20 slika, 1 grafik, 2 šeme
2 priloga sa 25 slika i 17 tablica

Naučna oblast:
NO Hemija, fizika,

Naučna disciplina
DI Instrumentalna analiza - Mikroanaliza

Predmetna odrednica/ključne reči
PO Analiza mokraćnog kamenja, analiza žučnog
kamenja, mikrohemografska analiza, IC spektrometrija, difrakcija X-zraka, urolitijaza

UDK

Čuva se:
ČU U biblioteci Instituta za hemiju, PMF
Novi Sad, YU-21000 Novi Sad,
Trg Dositeja Obradovića 3
U biblioteci Instituta za fiziku, PMF
Novi Sad, YU-21000 Novi Sad
Trg Dositeja Obradovića 4

Važna napomena:
VN nema

Izvod:
IZ Videti stranu 78.

Datum prihvatanja teme od strane Nastavnog naučnog veća:
DP 12. 12. 1996. godine

Datum odbrane:
DO 23. 09. 1997. godine

Članovi komisije:
KO Predsednik: Dr Biljana Abramović, red. prof.
Mentor: Dr Ferenc Gaál, red. prof.
Član: Dr Slobodanka Stanković, red. prof.
Član: Dr Bela Ribar, red. prof., dopisni član SANU

UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF NATURAL SCIENCES AND MATHEMATICS

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number:
ANO

Identification number:
INO

Document type:
DT Monographic publication

Type of record:
TR Textual material, printed

Contents code:
CC Bachelor's degree thesis

Author: Marinko Đ. Petković
AU

Mentor:
MN Professor Ferenc Gaál Ph.D.

Title: TI A Comparison of Results of Urinary and Gall Calculi Obtained by Different Methods

Locality of publication:
JP Voivodina

Publication year:
BY 1997

Publisher:
Wiley

Publication place:
PP YU-21000 Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3

Physical description:
PD 7 chapters, 116 pages, 84 literature citates,
21 tables, 20 pictures, 1 graf, 2 schemes
2 suplements with 25 pictures and 17 tables

Scientific field:
SF Chemistry, Physics

Scientific discipline:
SD Instrumental Methods of Analyses;
Microchemicals Analyses

Subject/Key words:
SKW Urinary calculi analyses, Gall calculi analyses
Microchemicals analyses, IR spectrometry,
X-ray diffraction, Urolithiasis

UDC

Holding data:
HD Library of Chemistry Institute, Faculty of
Natural Sciences and Mathematics, Novi Sad
YU-21000 Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3
Library of Physics Institute, Faculty of
Natural Sciences and Mathematics, Novi Sad
YU-21000 Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 4

Note:
N none

Abstract:
AB See page 79

Accepted by the Scientific Board on:
ASB 12th December 1996

Defended on:
DE 23rd September 1997

Thesis Defend Board
DB President: Professor Biljana Abramović Ph.D.
Member: Professor Ferenc Gaál Ph.D.
Member: Professor Slobodanka Stanković Ph.D.
Member: Professor Bela Ribar Ph.D., associated member of SANU