

Analiza bubrežnih kamenaca

Živković, Kristijan

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:182:995826>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-19**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju
Sveučilišni prijediplomski studij kemija

Kristijan Živković

ANALIZA BUBREŽNIH KAMENACA

Završni rad

Osijek, 2024

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju
Sveučilišni prijediplomski studij kemija

Kristijan Živković

ANALIZA BUBREŽNIH KAMENACA

Završni rad

Mentor: doc. dr. sc. Anamarija Stanković

Komentor: izv. prof. dr. sc. Vatroslav Šerić

Neposredna voditeljica: dr. sc. Nives Matijaković Mlinarić

Osijek, 2024

Naziv sveučilišta: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju

Naziv studija: Sveučilišni prijediplomski studij Kemija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

Znanstvena grana: Anorganska kemija

ANALIZA BUBREŽNIH KAMENACA

Kristijan Živković

Rad je izrađen na: Sveučilištu u Osijeku – Odjel za kemiju

Mentor: doc. dr. sc. Anamarija Stanković

Komentor: izv. prof. dr. sc. Vatroslav Šerić

Neposredna voditeljica: dr. sc. Nives Matijaković Mlinarić

Sažetak: Analiza kamenaca ključna je za procjenu pacijenata s kamenom u mokraćnom sustavu, pomažući liječnicima u identificiranju specifičnih uzroka. U analizi se koriste i kemijske i fizikalne metode. Međutim, kemijske metode često nisu dovoljno precizne za točnu analizu mokraćnih kamenaca i mogu propustiti otkriti određene elemente u kamencima. S druge strane, fizikalne metode sve se više koriste u laboratorijima s velikim obimom uzoraka. Raznolikost tipova koji se pojavljuju u bubrežnim kamencima zahtijeva detaljan opis kako bi se bolje razumjela njihova formacija. Bubrežni kamenci uglavnom se sastoje od kalcijeva oksalata, ali često sadrže različite količine fosfata. Kamenci koji se sastoje od kalcijeva oksalata mogu uključivati whewellit (kalcijev oksalat monohidrat) i weddellit (kalcijev oksalat dihidrat). Fosfatni kamenci u različitim postotcima sadrže apatit (hidroksiapatit), struvit ili brushit. Manji postotak kamenaca sastoji se od mokraćne kiseline (uratni kamenci) ili cistina. Cilj ovog rada je metodama infracrvene spektroskopije, renegenske difrakcije i termogravimetrijske analize okarakterizirati sastav 3 bubrežna kamenca.

Ključne riječi: bubrežni kamenci, FTIR spektroskopija, XRD analiza, TGA-DSC, mineralni sastav.

Jezik izvornika: hrvatski jezik

Završni rad obuhvaća: 32 stranica, 10 slika, 59 literaturnih navoda

Rad prihvaćen: 10. rujna 2024. godine

Stručno povjerenstvo za ocjenu rada:

1. doc. dr. sc. Ana Amić, predsjednica
2. doc. dr. sc. Anamarija Stanković, mentorica i članica
3. izv. prof. dr. sc. Martina Medvidović-Kosanović, članica
4. izv. prof. dr. sc. Vlatka Gvozdić, zamjena člana

Rad je pohranjen: Knjižnica Odjela za kemiju, Kuhačeva 20, 31000 Osijek
Repozitorij Odjela za kemiju, Osijek

University Name: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek – Department of Chemistry**

Name of study programme: **University Undergraduate study programme in Chemistry**

Scientific area: Natural sciences

Scientific field: Chemistry

Scientific branch: Inorganic chemistry

ANALYSIS OF KIDNEY STONES

Kristijan Živković

The paper was created on: Department of Chemistry

Supervisor: Assist. Prof. Anamarija Stanković, PhD

Co-mentor: Assoc. Prof. Vatroslav Šerić, PhD

Assistant supervisor: Nives Matijaković Mlinarić, PhD

Abstract: Stone analysis is crucial in the assessment of patients with urinary stones as it helps doctors to identify specific causes. Both chemical and physical methods are used for the analysis. However, chemical methods may not be precise enough to accurately analyse urinary stones and may not detect certain elements in the stones. On the other hand, physical methods are increasingly used in laboratories with large sample volumes. The variety of types that occur in kidney stones requires a detailed description to understand their formation better. Kidney stones are primarily composed of calcium oxalate, but often also contain varying amounts of phosphate. Stones composed of calcium oxalate may contain whewellite (calcium oxalate monohydrate) and weddellite (calcium oxalate dihydrate). Phosphate stones contain apatite (hydroxyapatite), struvite or brushite in varying proportions. A smaller percentage of the stones consist of uric acid (urate stones) or cystine. The aim of this work is to characterise the composition of 3 kidney stones using the methods of infrared spectroscopy, X-ray diffraction and thermogravimetric analysis.

Keywords: *kidney stones, FTIR spectroscopy, XRD analysis, TGA-DSC, mineral composition.*

Original language: Croatian language

Thesis includes: *32 pages, 10 figures, 59 references*

Thesis accepted: September 10, 2024

Reviewers:

1. Assist. Prof. Ana Amić, PhD, chair
2. Assist. Prof. Anamarija Stanković, PhD, supervisor and member
3. Assoc. Prof. Martina Medvidović – Kosanović, PhD, member
4. Assoc. Prof. Vlatka Gvozdić, PhD, substitute member

Thesis deposited in: Library of the Department of Chemistry, Ulica Franje Kuhača 20, Osijek
Repository of the Department of Chemistry, Osijek

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. LITERATURNI PREGLED	2
2.1. Bubrežni kamenci	2
2.1.1. Mikrostrukura bubrežnih kamenaca	3
2.1.2. Stvaranje bubrežnih kamenaca	4
2.1.2.1. Kristalna nukleacija	4
2.1.2.2. Prezasićenost urina	5
2.1.2.3. Rast i aglomeracija kristala	5
2.1.2.4. Hiperkalciurija	6
2.1.2.5. Hiperurikozurija	7
2.1.2.6. Hipocitraturija	7
2.1.2.7. Hiperoksalurija	8
2.1.2.8. Poremećaji pH urina	8
2.2. Prevencija bubrežnih kamenaca	9
2.3. Vrste bubrežnih kamenaca	11
2.3.1. Kamenci kalcijeva oksalata	11
2.3.1.1. Whewellit ili kalcijev oksalat monohidrat	11
2.3.1.2. Weddellite ili kalcijev oksalat dihidrat	12
2.3.2. Kamenci fosfata	12
2.3.2.1. Apatit	12
2.3.2.2. Struvit	13
2.3.3. Ostale skupine kamenaca	13
2.3.3.1. Cistin	13
2.3.3.2. Mokraćna kiselina	14
2.4. Metode analize i identifikacije uzoraka	14
2.4.1. Stereo lupa	14
2.4.2. Infracrvena spektroskopija	15
2.4.3. Rentgenska difrakcija na prahu	16
2.4.4. Termogravimetrijska analiza	16

3. EKSPERIMENTALNI DIO	18
3.1. Instrumentalne metode karakterizacije bubrežnih kamenaca	18
4. REZULTATI I RASPARAVA	21
4.1. Morfologija uzoraka	21
4.2. Infracrvena spektroskopija uzoraka	22
4.3. Rentgenska difrakcija na prahu uzorka	24
4.4. Termogravimetrijska analiza uzoraka	25
5. ZAKLJUČAK	27
6. LITERATURNI PREGLED	28

1. UVOD

Urolitijaza je bolest koja uzrokuje stvaranje bubrežnih kamenaca u raznim organizmima, prvenstveno u sisavcima poput ljudi, mačaka, pasa itd. Posljednjih desetljeća dijagnoza urolitijaze postaje sve češća i pogađa oko 10-15 % populacije u zapadnim zemljama. Užurbani način života dramatično je promijenio prehrambene navike, uključujući visok unos proteina i soli. Visoka konzumacija gaziranih pića bogatih fruktozom jedan je od glavnih uzroka povećanja incidencije bubrežnih kamenaca od kalcijeva oksalata, koji su sada najčešće dijagnosticirana vrsta kamenaca. Iako se bubrežni kamenci uglavnom sastoje od kalcijeva oksalata, mnogi od njih obično sadrže manje ili više fosfata. Oksalatni kamenci sadrže whewellit (kalcijev oksalat monohidrat) i weddellit (kalcijev oksalat dihidrat), dok fosfatni kamenci najčešće sadrže struvit (magnezijev amonijev fosfat), apatit (hidroksiapatit) i brushit (kalcijev hidrogen fosfat dihidrat). U manjem postotku mogu se pronaći i uratni kamenci (kamenci mokraćne kiseline) i cistinski kamenci [1]. Više od 100 kemijskih spojeva identificirano je u kamencima, a etiologije njihova nastanka ovise o čitavom nizu čimbenika. Za identificiranje sastava kamenaca mogu se koristiti različite analitičke metode, uključujući kemijske i fizikalne tehnike [2].

Dobro je poznato da je pojava bubrežnih kamenaca praćena oštrom boli, hematurijom (pojava velikog broja eritrocita u urinu) te u gotovo svim slučajevima dovodi do infekcije mokraćnog sustava. Kemijski sastav bubrežnih kamenaca prvenstveno ovisi o sastavu urina, koji može sadržavati višak litogenih tvari, što dovodi do taložnog procesa u neuravnoteženom sustavu [3]. Cilj ovog rada bio je detaljno analizirati sastav tri bubrežna kamena koja su dobivena iz Kliničkog bolničkog centra u Osijeku. Analiza kamenaca važan je dio evaluacije bolesnika te pomaže liječnicima u njihovoj prevenciji.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Bubrežni kamenci

Bubrežni kamenci predstavljaju jednu od najčešćih i najbolnijih bolesti urinarnog sustava. Oni se formiraju unutar bubrega, a kada se odvoje od svoje vezne površine, putuju kroz mokraćni sustav, oštećujući stijenke mokraćovoda. Proces nakupljanja čvrstih, kristalnih tvari u mokraćnom sustavu, odnosno u bubrežima ili mokraćnom mjehuru, koji dovodi do stvaranja kamenca, naziva se urolitijaza. Urolitijaza je dva do tri puta češća kod muškaraca nego kod žena, a na njezinu pojavu utječu genetički, prehrambeni i ekološki čimbenici [4]. Urolitijaza je proces nakupljanja čvrstih, kristalnih tvari u različitim dijelovima mokraćnog sustava, poput bubrega ili mokraćnog mjehura, što dovodi do formiranja kamenaca. Stvaranje kristala putem patološke biomineralizacije odvija se na sličan način kao i obična kalcifikacija. Često se pojava urolitijaze povezuje s prezasićenjem urina ili prisutnošću visoke koncentracije mokraćne kiseline. Visoka koncentracija mokraćne kiseline može biti uzrokovana prehranom bogatom purinima. Ovaj fenomen može se objasniti biokemijskim procesom razgradnje purina (AMP i GMP nukleotida) čiji je krajnji produkt mokraćna kiselina, odnosno urati [5]. Prezasićenje otopine označava veće količine otopljene tvari nego što je odgovarajuće za topljivost tvari na određenoj temperaturi. Stvaranje prezasićene otopine je nestabilno stanje koje, u kombinaciji s drugim faktorima, može uzrokovati taloženje soli [6].

Omjer pojedinih iona u otopini također je vrlo važan, pa razlikujemo hiperkalciuriju, hiperoksaluriju i hipocitraturiju. Koncentracije pojedinih iona (kalcija, magnezija, oksalata, citrata itd.) same po sebi ne mogu uzrokovati stvaranje kristala, već je taloženje omogućeno njihovom međusobnom interakcijom koja dovodi do nastanka soli [6].

Za stvaranje bubrežnih kamenaca ključna je interakcija između kristala kalcijevih oksalata i bubrežnog tkiva. Oštećenje površinskog sloja unutrašnjih zidova bubrega može poslužiti kao vezno mjesto za agregaciju kristala do određene veličine i oblika. Kretanje bubrežnog kamenca kroz mokraćni sustav može uzrokovati oštećenje tkiva, što može poslužiti kao podloga za recidiviranje, što potvrđuje činjenica da se kamenci uglavnom stvaraju u jednom i istom bubregu [6].

Taloženje kristala može biti potaknuto nedostatkom inhibitora poput pirofosfatnih, magnezijevih ili citratnih iona, ili prisutnošću organskog matriksa (kao što je kolesterol) koji stvara predložak za rast kristala. Međutim, mehanizam nastanka kristala opisuje se kroz tri međusobno povezana procesa: nukleaciju od sastavnih jedinica, njihov rast i aglomeraciju [6].

2.1.1. Mikrostrukura bubrežnih kamenaca

Bubrežni kamenci su čvrste mase, veličine od zrnca pijeska do bisera (ili veće). Ovisno o svom sastavu, kamenje je žute ili smeđe boje i izgleda glatko ili nazubljeno, kao što je prikazano na **slici 1**.

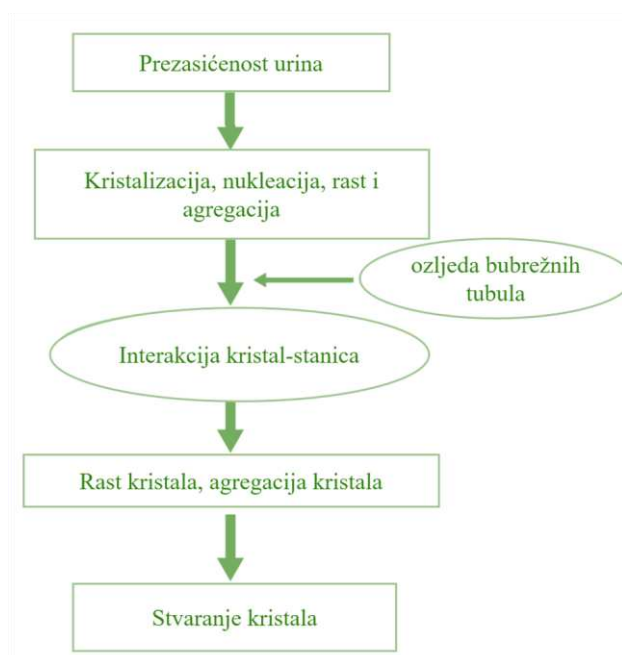


Slika 1. Bubrežni kamen.

Sastoje se od kristala i sveprisutne organske matrice, koja ne samo da oblaže kristale, već je također prisutna unutar kristala i međukristalnih prostora. Matrica kalcificiranih kamenaca sadrži mnoge makromolekule, uključujući osteopontin (ima ulogu u biomineralizaciji kostiju), inter- α -inhibitor (koji je protein plazme) i urinarni protrombinski fragment 1 (UPTF1) — svi su oni normalno prisutan u urinu, iako u malim količinama. Matrica također sadrži različite oblike lipida, za koje se pokazalo da induciraju nukleaciju kristala. Povezanost između kristala i matrice počinje rano nakon nukleacije kristala i nastavlja se kroz formativne faze i faze rasta kamenaca u razvoju. Iako se neke urinarne molekule, poput UPTF1, smatraju inhibitorima kristalizacije, druge poput osteopontina mogu djelovati i kao inhibitori i kao promotori kristalizacije. Ove molekule se proizvode kao zaštitni odgovor protiv mineralizacije, ali pokazalo se da kristali oksalata i fosfata induciraju proizvodnju makromolekula koje inhibiraju i/ili moduliraju kristalizaciju [7].

2.1.2. Stvaranje bubrežnih kamenaca

Predloženo je nekoliko modela stvaranja bubrežnih kamenaca; dva dominantna mehanizma za inicijaciju kamenaca obično se opisuju izrazima „slobodne čestice“ (u kojima kristali tvore „Randallove čepove“ u tubulu) i „fiksne čestice“ (u kojima kamenci rastu na takozvanim Randallovim plakovima (naslagama)). Bez obzira na model, kemijski procesi nukleacije i rasta kristala ključni su za inicijaciju i razvoj svih vrsta kamena. Formiranje kamenaca uzrokovano je abnormalnom kombinacijom čimbenika koji utječu na termodinamičku pokretačku silu (prezasićenost) i kinetičke procese (kontrolu brzine) uključene u kristalizaciju raznih minerala koji tvore kamence. Glavna termodinamička pokretačka sila za oba stupnja je stupanj prezasićenosti tekućine unutar koje se javlja inicijacija. Bilo da se to događa unutarstanično ili izvanstanično, moraju se primjenjivati zakoni kemije kristalizacije [7]. **Slika 2.** prikazuje procese stvaranja bubrežnih kamenaca [16].



Slika 2. Shema procesa stvaranja bubrežnih kamenaca (preuzeto i prilagođeno iz: [16]).

2.1.2.1. Kristalna nukleacija

Nukleacija (u kojoj se molekule otopljene tvari raspršene u otapalu počinju grupirati) je prva faza u kristalizaciji i može se odvijati homogeno ili heterogeno. Homogena nukleacija zahtijeva visok stupanj prezasićenosti s obzirom na dotični mineral; *in vitro* to bi se normalno odvijalo u čistoj otopini koja ne sadrži čestice i u posudi koja je kemijski inertna. Heterogena nukleacija

mnogo je vjerojatniji mehanizam kroz koji dolazi do inicijacije kristala u urinu. Proces se može dogoditi u prisutnosti čestica koje se sastoje od proteina, drugih organskih polimera ili kristala drugog minerala, a nalaze se unutar spremnika obloženih kemijski aktivnim površinama stanica. Heterogena nukleacija zahtijeva nižu razinu prezasićenosti od homogene nukleacije za inicijaciju kristala [7].

2.1.2.2. Prezasićenost urina

Procjena stupnja prezasićenosti urina s obzirom na svaki mineral koji stvara kamence zahtijeva mjerenje 15 urinarnih sastojaka, uključujući sve kristale koji su se mogli istaložiti prije ili nakon mokrenja. Ti se podaci mogu koristiti za izračunavanje koncentracija različitih topljivih kompleksa formiranih između ovih sastojaka urina, ionske jakosti urina i koeficijenta aktivnosti svih uključenih iona. Iz ove informacije može se izračunati relativna prezasićenost, RSS (engl. *Relative supersaturation*) urina s obzirom na određeni mineral. RSS razina na kojoj dolazi do nukleacije poznata je kao proizvod formiranja minerala; to nije fiksna termodinamička konstanta, već pokriva raspon vrijednosti prezasićenja unutar kojih se može dogoditi *de novo* nukleacija kristala. Njegova vrijednost ovisi o nekoliko čimbenika. Prvo, duljina vremena inkubacije utječe na RSS. Što se dulje određena prezasićena otopina ostavi stajati, veća je vjerojatnost da će doći do taloženja kristala. Što je viši početni RSS, to je kraće vrijeme nukleacije. Niske početne razine RSS-a općenito zahtijevaju duže vrijeme inkubacije prije nego što dođe do nukleacije, Drugi čimbenik koji može utjecati na RSS vrijednost je moguća prisutnost inhibitora nukleacije u urinu koji bi mogli usporiti proces „trovanjem“ aktivnih mjesta rasta na nascentnim kristalima. Nadalje, RSS tubularne tekućine s obzirom na kalcijeve soli često premašuje njihove 3-4 minutne vrijednosti proizvoda formiranja. Prema tome, koncept da inhibitori nukleacije igraju ulogu u sprječavanju kamenaca koji sadrže kalcij je upitan jer njihov učinak može biti nadjačan visokim razinama prezasićenosti okoline [7].

2.1.2.3. Rast i aglomeracija kristala

Nakon što se unutar bubrega uspostavi kristalna jezgra, izlaganje urinu omogućuje rast kamenca inkrustacijom. Postoje dva osnovna puta (mehanizam slobodnih čestica i mehanizam fiksnih čestica) za uspostavljanje jezgre kamenca, od kojih oba mogu biti aktivna u bilo kojem tvorcu kamenca, iako se kamenci iz idiopatskih tvoraca kamenca općenito formiraju pričvršćeni za plakove. U mehanizmu slobodnih čestica, kristali nukleiraju, rastu i agregiraju unutar urina

bubrežnih tubula. Nakon što se kristali agregiraju u velike čestice, zadržavaju se unutar bubrega tako što postanu preveliki da bi prošli kroz lumen tubula ili se pričvrste za tubularni epitel. U prisutnosti visoke prezasićenosti, naslage kristala začepljuju sabirne kanale tvoreći Randallove lezije tipa 2 ili čepove, koji strše u bubrežnu zdjelicu i postaju izloženi urinu zdjelice. Nakon što su cjevasti otvori blokirani, zastoj može pospješiti stvaranje malih kamenaca iza čepova. Ovaj je mehanizam vjerojatno uključen u stvaranje apatitnih, brushitnih i cistinskih kamenaca, kao i oksalatnih kamenaca [7].

Alternativni mehanizam za razvoj kamenaca je mehanizam fiksnih čestica u kojem se kamenci formiraju pričvršćeni za kalcificirane plakove na površini papile. Plakovi, koji se nazivaju Randallovi plakovi, počinju stvaranjem kristala kalcijeva monofosfata (CaP) i taloženjem u bubrežnom intersticiju. Značajan broj idiopatskih CaOx kamenaca formira se pričvršćen za Randallove plakove. CaP naslage koje čine plak počinju duboko u bubrežnom intersticiju, u bazalnoj membrani Henleove petlje, ili su povezane sa sabirnim kanalićima i vasa recta (krvnim žilama koje leže paralelno s Henleovom petljom) [7].

Patofiziološki mehanizmi za stvaranje kalcijevih bubrežnih kamenaca su složeni i raznoliki te uključuju nizak volumen urina, hiperkalcemiju, hiperurikozuriju, hipocitaturiju, hiperoksaluriju i abnormalnosti pH urina [8].

2.1.2.4. Hiperkalcemija

Hiperkalcemija se definira kao izlučivanje kalcija u urinu veće od 200 mg u 24 sata ili višak od 4 mg kalcija/kg/24 h. Hiperkalcemija je najčešća metabolička abnormalnost u bolesnika s vapnenim kamencima, a posljedica je različitih mehanizama [8], koji mogu uključivati povećanu intestinalnu apsorpciju kalcija, smanjenu bubrežnu reapsorpciju kalcija i pojačanu mobilizaciju kalcija iz kosti. Međutim, intestinalna hiperapsorpcija kalcija najčešća je abnormalnost [9].

Apsorptivna hiperkalcemija je povećana apsorpcija kalcija iz crijeva koja rezultira povećanim cirkulirajućim kalcijem, što rezultira povećanim opterećenjem bubrežne filtracije. Točan mehanizam je nepoznat, ali se čini da se nasljeđuje autosomno dominantno. Sluznica tankog crijeva reagira na vitamin D, veća količina aktivnog vitamina D dovodi do povećane apsorpcije

kalcija kroz sluznicu tankog crijeva. Apsorptivna hiperkalciurija je vrlo česta, ali većina pacijenata ostaje asimptomatska i ne dolazi do stvaranja kamenaca [9].

Renalna hiperkalciurija je povećano izlučivanje kalcija u urinu a rezultat je poremećene bubrežne tubularne apsorpcije kalcija, što se događa u oko 2 % bolesnika s rekurentnim stvaranjem kamenaca [8,11].

Resorptivna hiperkalciurija je povećana resorpcija kosti koja se javlja kao rezultat primarnog hiperparatireoidizma (pojačana funkcija doštitne žlijezde). što se događa u oko 5 % bolesnika s rekurentnim stvaranjem kamenaca. Rizik od bubrežnih kamenaca je povećan u primarnom hiperparatireoidizmu i vraća se na početnu vrijednost oko 10 godina nakon paratireoidektomije (operacije doštitne žlijezde). Bolesnici koji su imali kamence prije paratireoidektomije imaju 27 puta veći rizik od stvaranja kamenaca nakon paratireoidektomije nego pacijenti bez hiperparatireoidizma [8,11].

2.1.2.5. Hiperurikozurija

Hiperurikozurija kao izolirana abnormalnost otkriva se u 10 % pacijenata s kalcijevim kamenacima, ali u kombinaciji s drugim metaboličkim abnormalnostima može biti prisutna u 40 % populacije. Patofiziološki mehanizam u podlozi hiperurikozurije pripisuje se prehrani s visokim udjelom purina. Međutim, u otprilike jedne trećine bolesnika prevladava endogena prekomjerna proizvodnja mokraćne kiseline, a restrikcija u prehrani ne mijenja značajno izlučivanje mokraćne kiseline [9]. Mokraćna kiselina krajnji je produkt metabolizma purina i dolazi ili iz egzogenih (prehrambenih) izvora ili se proizvodi endogeno tijekom obnove stanica. Kronična metabolička acidoza može rezultirati povećanim metabolizmom proteina i time povećanim izlučivanjem urata i stvaranjem bubrežnih kamenaca [12]. Kamenci čiste mokraćne kiseline rijetki su, ali se često ponavljaju. Nizak pH mokraće (pH < 5,5) najčešći je i najvažniji čimbenik mokraćne nefrolitijaze [14]. Hiperurikozurija se javlja u 10 % pacijenata s kalcijevim kamencima, gdje kristali mokraćne kiseline tvore žarište za taloženje kalcija i oksalata [8,12].

2.1.2.6. Hipocitraturija

Citrat je endogeni inhibitor stvaranja kalcijevih kamenaca, a nisko izlučivanje citrata urinom (hipocitraturija) nalazi se u 20 – 60 % slučajeva kalcijeve nefrolitijaze. Hipocitraturija se obično javlja s metaboličkom acidozom ili opterećenjem kiselinom posredovanim regulacijom proksimalne reapsorpcije citrata u bubrežnim tubulima. Fizikalno-kemijska osnova inhibicijske

uloge citrata uključuje stvaranje topljivih kompleksa i smanjenje zasićenosti urina u odnosu na kalcijeve soli uz izravnu inhibiciju procesa kristalizacije [9].

2.1.2.7. Hiperoksalurija

Hiperoksalurija se definira kao izlučivanje oksalata u urinu veće od 45 mg/dan. Temeljni mehanizmi hiperoksalurije mogu se podijeliti na: 1.) prekomjernu proizvodnju oksalata kao rezultat urođene greške u metabolizmu, 2.) povećani unos hranom i bioraspoloživost i 3.) povećanu intestinalnu apsorpciju oksalata. Urođene pogreške u metabolizmu uključuju hiperoksaluriju tipa I, primarnu hiperoksaluriju tipa II i rijetku hiperoksaluriju tipa III. Najvažnije okolnosti u kliničkoj praksi su intestinalni malapsorpcijski poremećaji koji uključuju kronični proljev, upalne bolesti crijeva i intestinalnu resekciju nakon operacije želučane prenosnice što dovodi do „enterične hiperoksalurije“. U enteričkoj hiperoksaluriji, temeljni mehanizmi navodno su povećana propusnost za oksalat s neapsorbiranom žučnom kiselinom i masnim kiselinama u interakciji s dvovalentnim kationima u lumenu crijeva, čime se povećava sadržaj intestinalnog luminalnog oksalata i rezultira prekomjernim izlučivanjem oksalata mokraćom [13]. Što se tiče povećanog unosa hranom, špinat, rabarbara, cikla, čokolada, orasi, čaj, pšenične mekinje, jagode i soja povećavaju koncentraciju oksalata u urinu. Dodatak vitamina C može povećati izlučivanje oksalata u urinu i rizik od kristalizacije kalcijevog oksalata kod pacijenata koji stvaraju kalcijeve kamence [9].

2.1.2.8. Poremećaji pH urina

I jako kiseli urin ($\text{pH} \leq 5,5$) i visoko alkalni urin ($\text{pH} \geq 6,7$) predisponiraju pacijente za stvaranje kalcijevih bubrežnih kamenaca. S pretjerano kiselim pH, urin postaje prezasićen nedisociranom mokraćnom kiselinom koja sudjeluje u kristalizaciji kalcijeva oksalata. Značajno alkalni urin povećava obilje monohidrogenfosfata ($\text{pK}_a \sim 6,7$), koji se u kombinaciji s kalcijem pretvara u termodinamički nestabilni brushit ($\text{CaHP O}_4 \times 2 \text{ H}_2 \text{ O}$) i konačno u hidroksiapatit [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] [8].

2.2. Prevencija bubrežnih kamenaca

Bubrežni kamenci mogu se pokušati prevenirati na nekoliko načina. Osobama s tendencijom stvaranja kamenaca prvenstveno se sugerira modifikacija prehrane, a ukoliko je potrebno poseže se i za terapijom lijekovima.

1. Modifikacija prehrane

a) Unos tekućine

Kamen temeljac upravljanja bubrežnim kamencima je povećanje volumena urina. Čini se da je učinak linearan, s točkom smanjenja pri volumenu urina većem od 2,5 L dnevno. Propisuje se unos 2,5 – 3 L tekućine dnevno. Postoje podaci koji upućuju na to da je vrsta unesene tekućine važna. Epidemiološke studije pokazuju da konzumiranje kave i piva smanjuje rizik od kamenaca. Nasuprot tome, konzumiranjem soka od grejpa povećava se rizik od kamenaca iz nejasnih razloga, dok bi sok od limuna, s većim sadržajem citrata, mogao imati blagotvoran učinak na kemiju urina, ali nije dokazano da njegovo konzumiranje sprječava kamence [10].

b) Kalcij

Studije o učinku kalcija u prehrani na stopu recidiva kamenca dovele su do velikih promjena u nefarmakološkoj manipulaciji. Epidemiološki dokazi pokazuju obrnuti odnos između unosa kalcija hranom i stope recidiva. Randomizirano (slučajno) kontrolirano ispitivanje, RCT (engl. *Randomized controlled trial*), odredilo je muškarce s hiperkalciurijom da slijede ili dijetu s niskim udjelom kalcija (400 mg) i oksalata ili dijetu s visokim udjelom kalcija (1200 mg) s ograničenim unosom oksalata, proteina i soli [15]. Nakon 5 godina, skupina koja je unosila visoke količine kalcija imala je 51 % nižu stopu recidiva kamenaca od onih koji su slijedili dijetu s niskim unosom kalcija. Iako kontroverze i dalje postoje, bilo bi poželjno potvrditi ove rezultate u različitim kliničkim uvjetima, dijetu s niskim unosom kalcija se ne preporučuju i mogu pogoršati povezanost hiperkalciurije s niskom mineralnom gustoćom kostiju i povećanom stopom prijeloma [17]. Preferirani dodatak kalcija za osobe s rizikom od stvaranja kamenaca je kalcijev citrat jer pomaže povećati izlučivanje citrata mokraćom. Preporučuje se doza od 200-400 mg ako se kalcij prehranom ne može povećati [10].

c) Oksalat

Treba ograničiti unos hrane s visokim udjelom oksalata. Iako postoji mnogo takvih namirnica, pokazalo se da su neke više od drugih zaslužne za podizanje razine oksalata u mokraći. Njihov se učinak može ublažiti dodatnim unosom tekućine i prehrambenih izvora kalcija kako bi se smanjila apsorpcija oksalata. Također, pošto se vitamin C može pretvoriti u oksalat, upotreba dodataka vitamina C može povećati oksaluriju i biti povezana s povećanim rizikom od stvaranja kamenaca; stoga bi dozu ovih dodataka trebalo ograničiti na manje od 1000 mg/dan [10].

d) Natrij

Izlučivanje kalcija izravno je povezano s izlučivanjem natrija. Smanjenje unosa natrija u prehrani smanjuje kalcijuriju, ali nije proveden RCT samo za restrikciju natrija. Ranije spomenuta uspješna dijeta s većim udjelom kalcija i ograničenim unosom oksalata, proteina i soli [15] postigla je smanjenje izlučivanja kalcija unatoč većem unosu kalcija. Taj se učinak pripisuje smanjenju unosa natrija hranom na manje od 2 g/dan [10].

e) Proteini

Konzumacija životinjskih bjelančevina negativno utječe na kemijski sastav urina: smanjuje izlučivanje citrata i povećava izlučivanje kalcija i mokraćne kiseline. Dijete s niskim udjelom ugljikohidrata i visokim udjelom životinjskih bjelančevina ponovno su usmjerile pozornost na unos bjelančevina kao čimbenik rizika za kamence [18]. Pacijenti s ponovljenim kamencima trebali bi smanjiti unos bjelančevina na manje od 80 g/dan [10].

2. Terapija lijekovima

a) Tiazidni diuretici

Tiazidni diuretici (npr. hidroklorotiazid, klortalidon i indapamid) dokazano su u RCT-ovima učinkoviti u smanjenju kalcijurije i recidiva kamenaca. Ovi lijekovi također potiču pozitivnu ravnotežu kalcija i time povećavaju mineralnu gustoću kostiju. Mora se primijeniti restrikcija natrija, a hipokalijemija se mora izbjegavati jer može dovesti do hipocitraturije [10].

b) Sredstva za alkalizaciju

Citrat inhibira stvaranje i rast kristala kalcija. Njegova se primjena zagovara i kod pacijenata s niskim izlučivanjem citrata mokraćom i kod pacijenata koji su imali kamence od kalcijeva oksalata, ali nemaju ovu urinarnu abnormalnost. Poželjna je uporaba kalijeve soli, budući da će dodatak natrijevog citrata dovesti do povećane kalciurije [10].

2.3. Vrste bubrežnih kamenaca

2.3.1. Kamenci kalcijeva oksalata

Oksalat je anion jake dikarboksilne kiseline ($C_2O_4H_2$) koji se u tijelu stvara kombinacijom prehrambenih izvora i endogene sinteze iz prekursora kao što su askorbat i različite aminokiseline. Prehrambeni izvori (egzogeni) čine otprilike 20 % do 40 % oksalata u krvi. Povećana apsorpcija oksalata iz prehrane, kao i pojačana endogena proizvodnja oksalata, mogu uzrokovati nastanak kalcijevih oksalatnih ($CaOx$) kamenaca [19].

2.3.1.1. Whewellit ili kalcijev oksalat monohidrat

Whewellit ili oksakalcit ($CaC_2O_4 \times H_2O$) je slabo topljiv spoj u vodi, s niskim produktom topljivosti [20], koji na 37 °C lagano raste, što dovodi do formiranja vlaknastih kristala. Struktura whewellita povezana je s monoklinskom sinogonijom i pripada prizmatskoj klasi. Elementarna ćelija ima simetrijsku grupu prostora $P2_1/b$. Njegova morfologija odgovara tipičnim monoklinskim prizama s jasnom rascjepnošću, što ukazuje na veću pseudo-rombičnu simetriju. Whewellit je oblik kalcijeva oksalata koji se obično nalazi u većini kamenaca [21]. Kristali rastu u uzastopnim, preklapajućim fazama, što upućuje na homogenu nukleaciju, koja potiče kristalizaciju bubrežnih kamenaca uslijed prezasićenosti medija kalcijevim oksalatom. U ovom stanju, kalcijev oksalat ostaje u suspenziji (bez kristalizacije) sve dok u sustavu ne dođe do pojave drugih tvari koje su premale da bi dosegle kritičnu veličinu za kristalizaciju, ili zbog natjecanja za prostor potreban za rast kristala [22].

2.3.1.2. Weddellite ili kalcijev oksalat dihidrat

Weddellit ima elementarnu ćeliju s prostornom grupom simetrije $I4/m$ dipiramidalne [23]. Formiranje jezgre kristalizacije prvi je stadij rasta kamenca, nakon čega se na toj jezgri i u uzastopnim vremenskim razdobljima razvija rast faza i njihova agregacija [24]. Kamenje od kalcijevog oksalata dihidrata može sadržavati male količine apatitnih fosfata (< 10 %) i može sadržavati velike količine kalcijevog oksalata monohidrata, COM (engl. *Calcium oxalate monohydrate*). To se događa zbog transformacije kalcijevog oksalata dihidrata, COD (engl. *Calcium oxalate dihydrate*) kristala u COM kristale, što je proces koji posreduje urin [25].

2.3.2. Kamenci fosfata

Najvažnije vrste bubrežnih kamenaca koji sadrže fosfate su apatit (kalcijev fosfat), brushit (kalcijev hidrogen fosfat dihidrat) i struvit (magnezijev amonijev fosfat heksahidrat). Ovi se kamenci talože u alkalnom urinu ($\text{pH} > 7,2$). Infektivni kamenci uglavnom se sastoje od magnezijeva amonijeva fosfata heksahidrata, ali mogu također sadržavati kalcijev fosfat u obliku karbonat apatita [26].

2.3.2.1. Apatit

Mineral apatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3$) najstabilnija je faza kalcijevih fosfata unutar širokog raspona pH vrijednosti. Prisutnost fosfata ovisi o pH vrijednosti [27] i pokazuje različite faze. Iako je kalcijev oksalat (CaOx) prevladavajući kristal u većini bubrežnih kamenaca, gotovo svi kamenci sadrže određenu količinu kalcijevog fosfata (CaP), uglavnom u obliku hidroksiapatita (HAP). Istraživanja su pokazala da CaOx i apatitski kristali zauzimaju ista vezna mjesta. HAP je ključna anorganska mineralna komponenta u kostima i zubima. Istraživanja ukazuju na to da su HAP čestice veličine 20 – 40 nm ključne u formiranju biominerala. Randallov plak, sastavljen od HAP-a, formira se na površini bubrežnih epitelnih stanica u mokraćnom sustavu i igra značajnu ulogu u formiranju kamenaca [28].

2.3.2.2. Struvit

Struvit je mineral koji se često formira u mokraćnom sustavu i predstavlja glavni sastojak određenih vrsta bubrežnih kamenaca. Njegova kemijska formula je $(\text{NH}_4)\text{MgPO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$, a kristalna struktura sastoji se od kombinacije magnezijevih, amonijevih i fosfatnih iona [29]. Struvit kristalizira u ortorombičnoj piramidalnoj klasi $\text{Mm}2$. Kristali su oblikovani kao klinovi (zbog velikih i nejednako razvijenih $\{101\}$ i $\{101\}$), oblikom podsjećaju na lijes (gledano duž $[100]$); kratki prizmatični uzorci duž osi $[001]$, $[010]$ ili $[100]$; debeli tablični $\{100\}$. Distribucija piramidalnih ili kupolastih površina često je nepravilna, ponekad s pojavom blizanaca [30].

2.3.3. Ostale skupine kamenaca

Među ostalim spojevima pronađenim u bubrežnim kamencima, koje je teško potpuno karakterizirati, nalaze se whitlockit, brushit i monetit, svi iz skupine fosfata, arsenata i vanadata prema Strunzovoj klasifikaciji te su identificirani zajedno s drugim glavnim fosfatima. Whitlockit, s formulom $\text{Ca}_9\text{Mg}(\text{PO}_4)_6(\text{PO}_3\text{OH})$, kristalizira u trigonalnom sustavu, ditrigonalna piramidalna klasa (3m) [31].

2.3.3.1. Cistin

Cistin ($\text{SCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CO}_2\text{H}$)₂) je dimerna aminokiselina nastala oksidacijom dviju cisteinskih jedinica, koje su povezane disulfidnom vezom. Ima heksagonalnu morfologiju i slojevite preklapajuće rastove te homogenu nukleaciju. Kristali se agregiraju u specifičnom obrascu, tvoreći tipičnu morfologiju cistinskih kamenaca, koji su rijetki u bubrežnim kamencima [32,33].

Molekule ove faze smještene su u slojevima paralelnim s (100) ravninom, a svaki sloj sastoji se od cik-cak lanca cistinskih dimera povezanih vodikovim vezama. Lanci su međusobno povezani van der Waalsovima silama u smjeru kristalografske b osi. Ova kristalna struktura morfološki se manifestira u listovima koji rastu jedan iznad drugoga poput knjige, a zbog slabe van der Waalsove veze dolazi do rascjepa u (100) ravnini [34].

2.3.3.2. Mokraćna kiselina

Uricit i ostali spojevi izvedeni su od mokraćne kiseline (uricit, bezvodna mokraćna kiselina $C_5H_4N_4O_3$, dihidrat $C_5H_4N_4O_3 \cdot 2H_2O$ ili amonijev urat $NH_4C_5H_3N_4O_3$), sve faze odgovaraju organskim spojevima prema Dana–Strunz klasifikaciji [35,36]. Sve ove faze se pojavljuju unutar istog bubrežnog kamenca i tvore unutarnju koncentričnu strukturu [37].

Mokraćna kiselina je derivat purina (s dvostrukim prstenom koji sadrži karboksilne, aminske i ketonske skupine) koja kristalizira u monoklinskom kristalografskom sustavu u dugim igličastim kristalima (prizmatska klasa 2/m). Struktura se formira od molekula aromatskih spojeva s ravnom morfologijom koje se povezuju putem vodikovih veza, stvarajući vrlo finu, lamelarnu strukturu koja se morfološki identificira karakterističnim i vrlo oštrim igličastim kristalima. Njegova morfologija ima izgled međusobno povezanih prizmatskih kristala [38].

Mokraćna kiselina i njene odgovarajuće soli čine, u većini bubrežnih kamenaca, jezgru biomineralnog nukleacijskog procesa [39]. Esencijalne faze ovih biominerala smatraju se onima koje se razvijaju iz kristalizacijskih jezgri iste ili različite prirode, generirajući epitaksijalni rast. Bezvodna mokraćna kiselina ili uricit je termodinamički najstabilniji i najčešći oblik [40].

2.4. Metode analize i identifikacije uzoraka

2.4.1. Stereo lupa

Stereo, stereoskopski ili disekcijski mikroskop je vrsta optičkog mikroskopa dizajnirana za promatranje uzoraka pri niskom povećanju. Obično koristi reflektiranu svjetlost s površine objekta, a ne svjetlost koja prolazi kroz njega. Ovaj mikroskop koristi dva odvojena optička puta s različitim objektivima i okularima za svako oko, pružajući blago različite kutove gledanja kako bi stvorio trodimenzionalnu sliku uzorka. Stereomikroskopija je osobito korisna za snimanje i ispitivanje čvrstih uzoraka sa složenom površinskom topografijom, gdje je trodimenzionalni prikaz ključan za detaljnu analizu [41].

Stereo mikroskopi često se koriste za proučavanje površina čvrstih uzoraka ili za precizne zadatke kao što su disekcija, mikrokirurgija, izrada satova, proizvodnja ili inspekcija sklopnih ploča i analiza površina fraktura u područjima poput fraktografije i forenzičkog inženjeringa. Široko se koriste u industriji za proizvodnju, inspekciju i kontrolu kvalitete. Stereo mikroskopi su također ključni alati u entomologiji [41].

2.4.2 Infracrvena spektroskopija

Infracrvena spektroskopija (IR spektroskopija) je tehnika koja se koristi za dobivanje apsorpcijskog ili emisijskog infracrvenog spektra krutine, tekućine ili plina [42,43]. IR spektrometar istovremeno prikuplja informacije visoke rezolucije u širokom spektralnom rasponu (između 4000 i 400 cm^{-1}), što je značajna prednost u odnosu na disperzivni spektrometar, koji procjenjuje snagu unutar uskog raspona frekvencija u jednom trenutku. Cilj spektroskopskih tehnika (IR ili vidljive svjetlosti (UV–Vis) spektroskopije) je kvantificirati koliko svjetlosti uzorak apsorbira pri svakoj frekvenciji [42]. Najizravniji pristup, metoda „disperzivne spektroskopije“, sastoji se od fokusiranja monokromatskog snopa svjetlosti na uzorak, mjerenja količine apsorbirane svjetlosti i ponovnog izračuna za svaku frekvenciju [42]. Fourierova transformacijska spektroskopija je manje intuitivan pristup za dobivanje sličnih podataka. Umjesto fokusiranja monokromatskog (jednofrekventnog) snopa svjetlosti na uzorak, ova strategija može fokusirati snop koji sadrži brojne frekvencije svjetlosti odjednom i mjeriti koliko je tog snopa apsorbirao uzorak. Zatim se val promijeni kako bi sadržavao drugačiju mješavinu frekvencija, dajući drugu točku podataka. Ovaj ciklus se ponavlja mnogo puta u kratkom vremenskom razdoblju, a informacije obrađuje računalo. Interferogram stvara se primjenom širokopojasnog izvora svjetlosti, koji sadrži cijeli raspon frekvencija koje treba procijeniti. Svjetlost ulazi u Michelsonov interferometar, koji se sastoji od posebnog niza zrcala, od kojih se jedno pomiče pomoću motora. Kako se ovo zrcalo pomiče, svaka frekvencija svjetlosti u snopu povremeno se blokira, posreduje, usporava i propušta kroz interferometar. Različite frekvencije se prilagođavaju različitim brzinama, tako da snop koji izlazi iz interferometra ima drugačiji raspon u svakoj sekundi ili položaju zrcala [42,43]. Računalna postprocesiranja temeljena na Fourierovim frekvencijama potrebna su za izračunavanje rezultata (prikupljanje svjetlosti za svaku frekvenciju) iz grube sirove informacije (prikupljanje svjetlosti za svaki položaj zrcala). Zatim Fourierova transformacija pretvara prostor (u ovom slučaju, udaljenost zrcala u cm) u suprotan prostor (valni brojevi u cm^{-1}) [42,43].

Glavna ograničenja IR spektroskopije odnose se na dubinu prodiranja infracrvene svjetlosti u tkivo, što omogućuje biokemijsku analizu tkiva do nekoliko desetaka mikrometara [44]. Dodatno, u konvencionalnoj IR spektroskopiji, koja radi u transmisijskom modu i posljedično bez kuta incidencije između emitera i uzorka, postoji poteškoća u osiguravanju reproducibilnosti debljine razmaka pri korištenju tekućih uzoraka [42].

Da bi molekula apsorbirala IR zračenje, mora postojati promjena dipolnog momenta. Takve molekule su aktivne u IR području. Ako nema dipolnih oscilacija, poput onih kod atoma u metalu, takve tvari su neaktivne u infracrvenom području. Kada se apsorbira IR zračenje, amplitude oscilacija rastu, razmak između jezgara se povećava, a razdvajanje naboja postaje jače, što dovodi do veće promjene dipolnog momenta.

Molekulske vibracije mogu se podijeliti na vibracije istezanja i vibracije deformacije [42].

Vibracije istezanja

Istezanje može biti simetrično ili antisimetrično i odvija se duž međunuklearne osi. Simetrično istezanje događa se kada se dvije jezgre istovremeno približavaju centru mase ili udaljavaju. Antisimetrično istezanje odvija se kada se jedna jezgra približava centru mase, dok se druga udaljava.

Vibracije deformacije

One uzrokuju promjenu kuta između dvije veze koje vibriraju. Za ovu vrstu vibracije potrebno je najmanje tri atoma, a dijeli se na: njihanje, uvijanje, mahanje i deformaciju u ravnini (škare) [42].

2.4.3. Rentgenska difrakcija na prahu

Rentgenska difrakcija, XRD (engl. *X-ray diffraction*), je moćna nedestruktivna tehnika za karakterizaciju kristalnih materijala. Pruža informacije o strukturama, fazama, preferiranim orijentacijama kristala (tekstura) i drugim strukturnim parametrima, kao što su prosječna veličina zrna, kristalnost, naprezanje i kristalni defekti. Difrakcijski maksimumi rentgenskih zraka nastaju konstruktivnom interferencijom monokromatskog snopa rentgenskih zraka koji se raspršuju pod specifičnim kutovima od svake skupine rešetkastih ravnina u uzorku. Intenziteti maksimuma određeni su raspodjelom atoma unutar rešetke. Posljedično, rentgenska difrakcijska slika predstavlja „otisak prsta“ periodičnih atomskih rasporeda u određenom materijalu [45].

2.4.4. Termogravimetrijska analiza

Termogravimetrijska analiza, TGA (engl. *Thermogravimetric analysis*), široko je korištena analitička tehnika za proučavanje toplinske stabilnosti materijala u različitim područjima, kao što su zaštita okoliša, farmacija, prehrambena tehnologija i petrokemija. TGA mjeri promjene

u masi uzorka u ovisnosti o temperaturi i vremenu. Obično se uzorci mase oko 5–10 mg stavljaju u čistu keramičku posudu i zagrijavaju unutar peći te se podaci o toplinskoj stabilnosti bilježe tijekom zagrijavanja uzoraka konstantnom brzinom pri kontroliranoj temperaturi [46]. Jednostavno rečeno, TGA prati masu uzorka dok se zagrijava ili hladi unutar peći. Uzorak se kontinuirano važe dok plin prolazi iznad njega, stvarajući kontroliranu atmosferu za analizu. Rezultirajuće krivulje gubitka mase iz TGA-a mogu otkriti nekoliko važnih aspekata, uključujući:

- 1.) Promjene u sastavu uzorka: Analizom gubitka mase na različitim temperaturama može se zaključiti sastav uzorka.
- 2.) Kinetički parametri kemijskih reakcija: TGA može pružiti informacije o brzinama reakcija i energiji aktivacije kemijskih procesa unutar uzorka.
- 3.) Toplinska stabilnost: Temperatura pri kojoj se događa značajan gubitak mase može ukazivati na toplinsku stabilnost materijala.

TGA instrument može kvantificirati gubitak mase i koristiti se za izračunavanje gubitka različitih komponenti, uključujući vodu, plastifikatore, otapala te za procjenu procesa poput oksidacije, pirolize, dekarboksilacije i razgradnje [47].

Instrument koji se koristi u TGA analizi naziva se termovaga, koja se sastoji od precizne vage i peći kontrolirane temperaturnim programerom. Instrument je spojen na računalo koje bilježi promjene koje se događaju prilikom zagrijavanja uzorka. Proces termogravimetrijske analize nije složen. Zdjelica u koju se stavlja uzorak uvlači se u peć, gdje se uzorak kontrolirano zagrijava. Termovage su vrlo precizne i vrlo osjetljive (mogu mjeriti mase od 10 mg ili manje). Da bi se ta preciznost održala, vaga je zaštićena toplinskim štitovima, a plin se propušta kroz kućište, dok se konstantna temperatura održava regulacijom temperature.

Uz TGA postoji i diferencijalna pretražna kalorimetrija, DSC (engl. *Differential scanning calorimetry*). DSC mjeri količinu energije, odnosno topline koja se apsorbira ili oslobađa tijekom zagrijavanja ili hlađenja uzorka pri konstantnoj temperaturi.

Rezultati termogravimetrijske analize prikazuju se termogramima, grafičkim prikazima koji su karakteristični i unikatni za svaki pojedini kemijski spoj. Svaki termogram sadrži karakteristične točke koje daju potrebne informacije za karakterizaciju uzoraka.

Najvažnije točke na termogramu su:

- T° – temperatura početka razgradnje (engl. *onset*) – određuje se kao sjecište tangenti povučenih uz baznu liniju i uz silazni dio krivulje DTG u točki minimuma / °C
- T_{\max} – temperatura pri maksimalnoj brzini razgradnje – određuje se kao temperatura minimuma krivulje DTG / °C
- m_f – konačna masa uzorka / g
- R_{\max} – brzina gubitka mase uzorka / %
- Δm – gubitak mase uzorka / g

3. EKSPERIMENTALNI DIO

Za analizu bubrežnih kamenaca prikupljena su 3 uzorka bubrežnog kamena (F2, F4, M7) iz Kliničkog bolničkog centra u Osijeku (KBC Osijek) izvađenih operativnim zahvatom, te je na njima provedena detaljna morfološka i strukturna analiza.

3.1. Instrumentalne metode karakterizacije bubrežnih kamenaca

Za analizu morfologije dobivenih bubrežnih kamenaca korištena je stereo lupa Smz-169-T1 i digitalna kamera Moticam 3 prikazana na **slici 3**. Lupa je omogućila morfološku karakterizaciju kamenaca. Snimke su napravljene pri povećanju od $\times 1$ i $\times 2$.



Slika 3. Stereo lupa Smz-169-T1 i digitalna kamera Moticam 3.

Infracrvena spektroskopija s Furierovom transformacijom, FTIR (engl. *Fourier-transform infrared spectroscopy*), korištena je za semikvantitativnu analizu uzoraka. Uzorak se usitniti u tarioniku i doda se kalijev bromid (KBr – IR čistoće). Homogenizirani uzorak zatim se prenosi u nosač koji se unosi u spektrometar. Uređaj korišten za analizu je spektrometar Shimadzu FTIR 8400S (Shimadzu, Japan) prikazan na **slici 4.**, a rezultati su dobiveni iz programa IR Solution 1.30. Dobiveni rezultati su uspoređeni s bazom podataka za bubrežne kamence (*Urea stone library* DRS, Shimadzu).



Slika 4. Uređaj za infracrvenu spektroskopiju Shimadzu FTIR 8400S.

Rendgenska difrakcija provedena je tako da se praškasti uzorak postavi na nosač uzorka, a zatim nosač smjesti u difraktometar gdje se vrši analiza. Uređaj korišten za analizu je Aeris Research prikazan na **slici 5.** (Malvern PANalytical, Ujedinjeno Kraljevstvo). Difraktogrami su snimljeni u kutnom području $2\theta^\circ = 8 - 60^\circ$, s korakom snimanja od $0,02^\circ$. Dobiveni difraktogrami su uspoređeni s literaturnim difraktogramima i obrađeni putem HighScorePlus programa.



Slika 5. Uređaj za rendgensku difrakciju Aeris Research.

Kod termogravimetrijske analize, posudica od aluminijskog oksida (Al_2O_3) se najprije važu. Nakon vaganja, u posudice se dodaje 10-20 mg uzorka te se ponovno važu. Masa uzorka izračunava se kao razlika između ukupne mase posudice s uzorkom i mase same posudice. Uzorak u posudicama stavlja se u uređaj koji zagrijava uzorak određenom brzinom povećanja temperature. Promjena mase uzorka bilježi se na uređaju, a iz konačnih podataka određuje se sastav bubrežnog kamena. Uzorci se analiziraju u atmosferi zraka pri brzini protoka od $200 \text{ cm}^3/\text{min}$, u rasponu temperatura od 30 do $900 \text{ }^\circ\text{C}$, s korakom snimanja od $5 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$. Uređaj korišten za termogravimetrijsku analizu je Mettler Toledo System 1 prikazan na **slici 6.**, a rezultati su obrađeni pomoću računalnog programa STARe Software 10.0.

Dobiveni rezultati svih opisanih metoda su uspoređeni s literaturnim i prikazani koristeći OriginPro.



Slika 6. Uređaj za termogravimetrijsku analizu Mettler Toledo System 1.

4. REZULTATI I RASPARAVA

4.1. Morfologija uzoraka

Dobivenim kamencima najprije je analizirana morfologija pomoću lupe. Na slikama 7. a), b) i c) prikazani su ispitivani uzorci. Na slikama je vidljivo da se razlikuju po samoj građi pa samim tim i po sastavu.



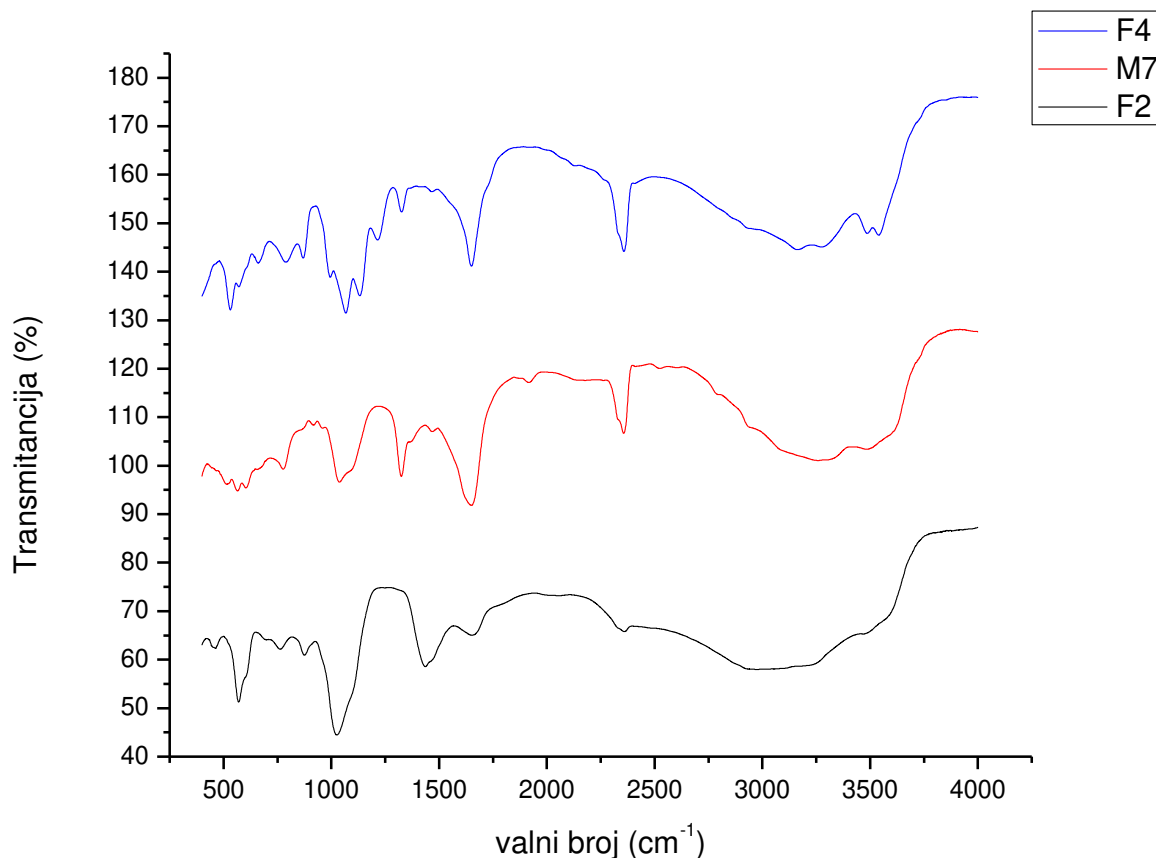
Slika 7. Bubrežni kamenci **a)** uzorak F2 (povećanje $\times 1$), **b)** uzorak F4 (povećanje $\times 2$) i **c)** uzorak M7 (povećanje $\times 1$).

Na uzorku F2 na **slici 7. a)** vidljivo je da kamenac sadrži grubu svijetlo smeđu površinu s obloženim bijelim slojevima, što ukazuje na apatite i struvit te se poklapa s literaturnom morfologijom [50]. Na uzorku F4 na **slici 7. b)** vidljivo je da kamenac sadrži svijetlo smeđu papilarnu površinu s bijelim slojevima što ukazuje na prisutnost kalcijevih oksalata i apatita [49,50]. Na uzorku M7 na **slici 7. c)** vidljiva je grupa smeđa heterogena površina što potencijalno ukazuje na prisutnost apatita, struvita i weddellita [49,50].

Boja, tekstura, strukturne karakteristike, oblik i veličina kristala značajke su koje pružaju informacije o starosti kamenca i mogućim procesima kristalizacije [48]. Boja, oblik i veličina variraju ovisno o mineralnom sastavu. Oksalatni kamenci pojavljuju se u papilarnoj i nepapilarnoj formi [49]. Vrlo blijeda struktura whewellita daje dokaze za kristalni rast i vrlo aktivan litogeni proces. Kamenci mokraćne kiseline pojavljuju se u obliku oblutaka s glatkim, ali ne i poliranim površinama [50]. Kamenci koji sadrže karbonatni apatit, ali i druge kalcijeve fosfate poput struvita imaju karakterističnu morfologiju, s grubom, svijetlo do tamno smeđom heterogenom površinom koja sadrži naizmjenične bjelkaste i smeđe slojeve [50].

4.2. Infracrvena spektroskopija uzoraka

Rezultati FT-IR analize prikazani su na **slici 8**.



Slika 8. IR spektri uzoraka F2, M7 i F4.

Uzorak F2 u većinskom udjelu pripada fosfatnim kamencima. Fosfatni ion (PO_4^{3-}) daje rastezajne i savijajuće vibracije u srednjem IR području između $900 - 1200 \text{ cm}^{-1}$ i $300 - 600 \text{ cm}^{-1}$. Vrpce koje se pojavljuju između 1027 cm^{-1} i 1036 cm^{-1} odgovaraju rastezajnim vibracijama P–O [51]. Struvitni kamenci karakterizirani su IR vrpca na $2371, 874, 754$ i 564 cm^{-1} . Struvit (magnezij amonij fosfat) i mješoviti struvit–whewellit i/ili hidroksiapatitni kamenci predstavljeni su u različitim grupama. Ovi kamenci se često nalaze zajedno s apatitom u različitim omjerima. Struvit ima karakterističan FTIR spektar s ostrim vrpca na 1000 cm^{-1} koje su posljedica fosfatne skupine te vrpca na 1469 i 1432 cm^{-1} koje su posljedica vibracije NH_4^+ skupine.

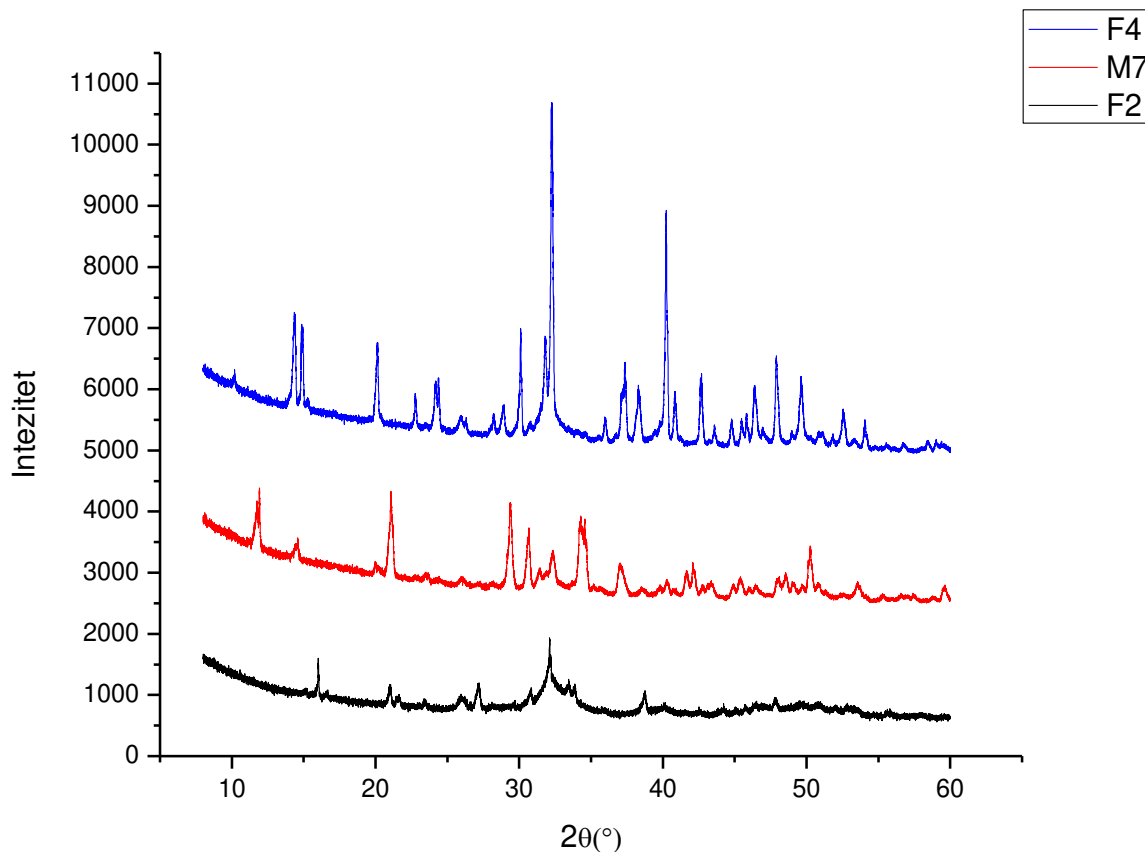
Nadalje, whewellit i apatit pokazuje vrpce na 1630 cm^{-1} , 1484 cm^{-1} i 1465 cm^{-1} zbog CO_3 , 523 cm^{-1} zbog PO_4 i 142 cm^{-1} zbog Ca-PO_4 rešetkastih modova [51]. Preklapanjem dobivenog IR spektra s bazom podataka za bubrežne kamence najviša podudarnost se evidentira s dvije kartice steen 4 i 39, koje su opisuju isti sastav bubrežnog kamenca ali različiti postotak. U kartici steen 4 opisano je da uzorak sadrži 30 % apatita i 70 % struvita, dok je u kratici steen 39 opisano da uzorak sadrži 59 % apatita i 41 % struvita. Obzirom da se na IR spektru uočavaju i druge karakteristične vrpce, pretpostavka je da se uzorak sastoji od još jedne faze. Druga najčešća vrsta kamenaca sastoji se od mješavine whewellita ili weddellita i apatita. Mješoviti kamenci koji sadrže whewellit–weddellit i hidroksiapatit pokazuju snažnu vrpce oko 3430 cm^{-1} zbog O–H vibracija u weddellitu. Vrpce koje se pojavljuju na 564 , 601 , 916 , 1036 i 1100 cm^{-1} karakteristične su za PO_4^{3-} [51].

Uzorak F4 u većinskom udjelu pripada oksalatnim kamencima. Kao što je prethodno napisano, oksalatni kamenci u najvišoj mjeri sastoje se od whewellita (monohidrata) i weddellita (dihidrata). Monohidratni kamenci karakterizirani su simetričnim i asimetričnim apsorpcijskim vrpceama koje se pojavljuju na 3480 , 3423 , 3332 , 3251 i 3055 cm^{-1} , vjerojatno zbog asimetričnog O–H rastezanja [52]. Oštra apsorpcijska vrpca na 1616 cm^{-1} pripisuje se rastezanju C=O, dok je vrpca na 1317 cm^{-1} posljedica rastezanja C–O [53]. Vrpceama na 778 i 660 cm^{-1} odgovaraju savijanje C–H i savijanje O–H izvan ravnine [54]. Slaba apsorpcijska vrpca pojavljuje se na 885 cm^{-1} i pripisuje se rastezanju C–C. Uzorak F4 također u manjem postotku sadrži i apatit. Preklapanjem dobivenog IR spektra s bazom podataka za bubrežne kamence najviša podudarnost se evidentira s karticom broj steen 11 u kojoj je opisano da takav uzorak sadrži 50 % whewellita , 42% weddellita i 8% apatita.

Uzorak M7 u većinskom udjelu pripada mješavini minerala oksalata i fosfata. Preklapanjem dobivenog IR spektra s bazom podataka za bubrežne kamence najviša podudarnost se evidentira s karticom broj steen 12 u kojoj je opisano da takav uzorak sadrži 25 % whewellita , 25 % weddellita, 10 % apatita i 40 % brushita.

4.3. Rentgenska difrakcija na prahu uzorka

Na **slici 9.** prikazani su difraktogrami analiziranih uzoraka bubrežnih kamenaca. Dobiveni difraktogrami preklopljeni su s literaturnim difraktogramima za whewellit [55], weddellit [55], struvit [56], apatit [57] i brushit [58].

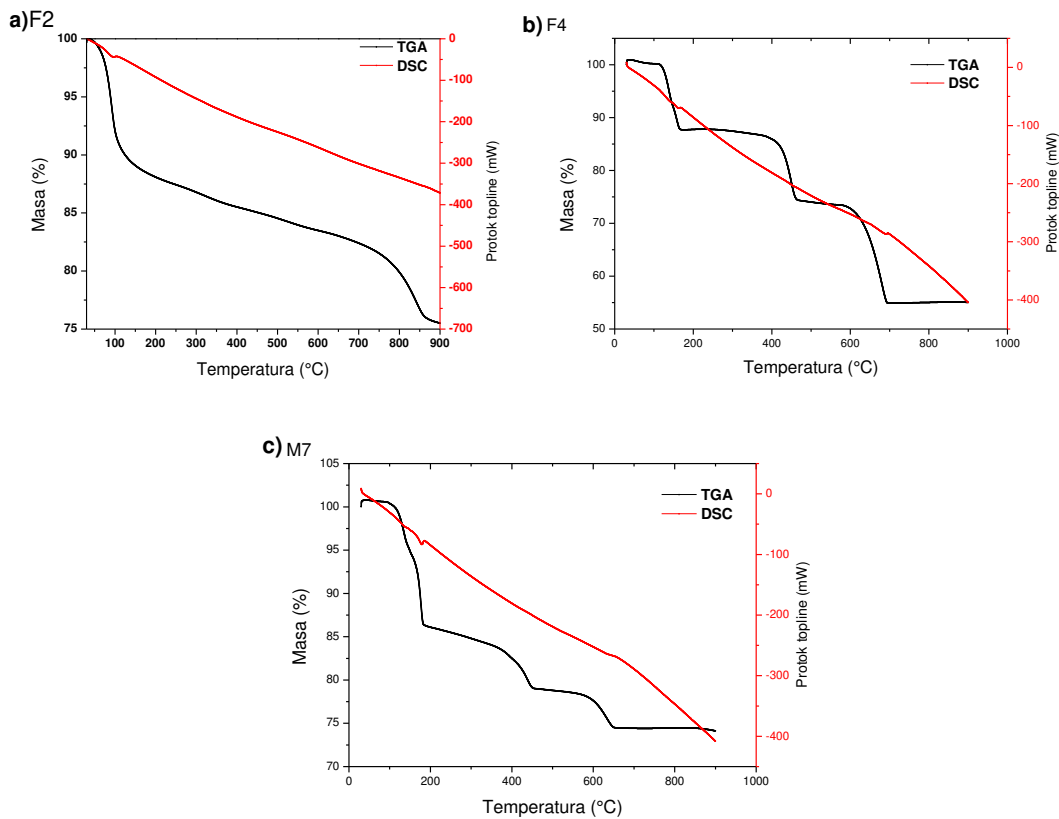


Slika 9. Difraktogrami uzoraka F4, M7 i F2.

Analizom difraktograma bubrežnih kamenaca i usporedbom s literaturnim podacima dobiveno je kvalitativno i semikvantitativno slaganje s FTIR analizom. F2 kamenac sadrži 62,1 % apatita, 26,6 % struvita i 11,4 % weddellita, što ukazuje na mješoviti mineralni profil s dominacijom apatita. Za uzorak F4 potvrđeno je da se radi o većinski oksalatnom kamencu. Analizom je utvrđeno da se uzorak F4 sastoji od 19,6 % whewellita, 46 % weddellita i 34,1 % apatita. M7 kamenac pokazao je sastav od 51,7 % apatita, 9,9 % weddellita i 38,4 % brushita. XRD analize naglašavaju varijabilnost mineralnog sadržaja između tri istraživana kamena, pružajući vrijedne uvide u njihov nastanak i moguće uzroke.

4.4. Termogravimetrijska analiza uzoraka

Termogravimetrijska analiza (TGA) u kombinaciji s diferencijalnom pretražnom kalorimetrijom (DSC) korištena je za dodatnu analizu bubrežnih kamenaca. Na **slici 12**, prikazani su termogrami uzoraka F2, F4 i M7.



Slika 10. Termogram uzoraka a) F2, b) F4 i c) M7.

Uzorak F2 prikazan na **slici 10. a)** prikazuje 2 koraka na TG krivulji. Za prvi korak u temperaturnom rasponu od 60 °C do 230 °C evidentiran je gubitak mase od 13,057 % što je oko 2,875 mg uzorka. Drugi korak odvija se u temperaturnom rasponu od 500 °C do 860 °C, a evidentiran je gubitak mase od 9,755 % što je oko 2,15 mg uzorka. Prvi korak prikazuje prisutnost weddellita, a drugi pad prikazuje prisutnost fosfata u obliku struvita i apatita. Uzorak F4 prikazan na **slici 10. b)** prikazuje 3 pada na TG krivulji. Za prvi korak u temperaturnom rasponu od 85 °C do 190 °C evidentiran je gubitak mase od 12,645 % što je oko 0,965 mg uzorka. Drugi korak odvija se u temperaturnom rasponu od 410 °C do 530 °C, a evidentiran je gubitak mase od 13,733 % što je oko 1,048 mg uzorka. Treći korak odvija se u temperaturnom

rasponu od 540 °C do 740 °C, a evidentiran je gubitak mase od 18,335 % što je oko 1,399 mg uzorka. Prvi korak prikazuje prisutnost prisutnost kalcijevih oksalata (whewelitta i weddelitta) te drugi i treći korak prisutnost fosfata (apatit i struvit).

Uzorak M7 prikazan na slici **10. c)** prikazuje 3 pada na TG krivulji. Za prvi korak u temperaturnom rasponu od 115 °C do 260 °C evidentiran je gubitak mase od 15,675 % što je oko 1,5 mg uzorka. Drugi korak odvija se u temperaturnom rasponu od 305 °C do 500 °C, a evidentiran je gubitak mase od 6,227 % što je oko 0,596 mg uzorka. Treći korak odvija se u temperaturnom rasponu od 500 °C do 750 °C, a evidentiran je gubitak mase od 4,2199 % što je oko 0,4038 mg uzorka. Prvi korak prikazuje prisutnost prisutnost weddelitta te drugi i treći korak prisutnost fosfata (apatit i brushit).

Termogrami oksalatnih kamenaca pokazuju da se vezana voda u kamencu gubi u tri faze: mehanički vezana voda oslobađa se na sobnoj temperaturi do otprilike 80 °C. Slabo vezana voda kristalizacije iz dihidrata, gubi se između 90 °C i 176 °C, dok se voda kristalizacije iz monohidrata unutar kristalne rešetke oslobađa na višoj temperaturi, oko 170 °C do 176 °C. Kamenac uvijek sadrži ne-kristalinični organski materijal (matriks) zatvoren unutar anorganskog okvira, koji pokazuje egzotermni pik razgradnje na 390 °C. Razgradnja bezvodnog kalcijeva oksalata uz otpuštanje CO pokazuje jedan egzotermni pik na 470 °C, koji proizlazi ne samo iz uklanjanja CO već i iz produkata raspada organske tvari. Posljednji endotermni pad na višoj temperaturi, oko 755 °C, odgovara oslobađanju CO₂ i transformaciji CaCO₃ u CaO. Stalni ostatak težine je veći od teoretske količine CaO jer kalcijevi oksalatni kamenci često sadrže fosfate [59]. TGA rezultati kamenca koji sadrži whewellit i weddelit pokazuju da prvi endotermni pik počinje na 50 °C i završava na 270 °C, što ukazuje na maksimalnu dehidraciju na 230 °C. Ovaj pik odražava preklapanje dvaju procesa dehidracije: dehidracije weddelita u whewellit, koji se zatim pretvara u bezvodni kalcijev oksalat. Magnezijev amonijev fosfat heksahidrat, MAPH (engl. *Magnesium ammonium phosphate hexahydrate*), pokazuje endotermni pik na 160 °C i gotovo trenutno raspadanje na početku termičke obrade snažno sugeriraju prisutnost MAPH-a [59].

5. ZAKLJUČAK

U ovom radu istražena je složena tema bubrežnih kamenaca, uključujući njihovo stvaranje, sastav i različite čimbenike koji pridonose njihovom razvoju. Pregled literature pružio je detaljnu analizu formiranja bubrežnih kamenaca, uključujući mikrostrukturu, procese kristalizacije kao što su nukleacija i supersaturacija te ulogu metaboličkih poremećaja poput hiperkalciurije, hiperurikozurije, hipocitaturije, hiperoksalurije i poremećaja pH ravnoteže. Osim toga, pregledana je strategija prevencije za upravljanje i smanjenje rizika od nastanka bubrežnih kamenaca.

U raspravi su se dodatno razmatrala različite vrste spojeva pronađenih u bubrežnim kamencima, kao što su oksalati (whewellit i weddellit) i fosfati (apatit, struvit i brushit). Korištene su različite analitičke metoda, uključujući infracrvenu spektroskopiju s Fourierovom transformacijom (FTIR), rendgensku difrakciju (XRD), termogravimetrijsku analizu (TGA), uspješno su identificirani i karakterizirani kemijski i strukturni sastav uzoraka bubrežnih kamenaca.

Eksperimentalni rezultati istaknuli su učinkovitost svake metode identifikacije, pri čemu je svaka tehnika pružila jedinstveni uvid u mineralni sastav bubrežnih kamenaca. FTIR i XRD pokazali su se osobito vrijednima u određivanju preciznog kemijskog sastava, dok je TGA pružila uvid u toplinsku stabilnost i uzorke razgradnje. Analizirani bubrežni kamenci većinski su oksalatnog i fosfatnog sastava što se slaže i s literaturnim navodima. Uzorak F2 sastoji se od apatita, struvita i weddellita, uzorak F4 od weddellita, whewellita i apatita dok uzorak M7 sadrži apatit, brushit i weddellit.

Zaključno, razumijevanje višestrukih aspekata bubrežnih kamenaca — od njihovog kemijskog sastava do temeljnih patofizioloških mehanizama — nudi ključne uvide koji mogu unaprijediti dijagnostičke i terapijske strategije. Nalazi naglašavaju važnost korištenja kombinacije analitičkih metoda kako bi se steklo sveobuhvatno razumijevanje bubrežnih kamenaca, što u konačnici doprinosi poboljšanim kliničkim ishodima i preventivnim mjerama. Daljnja istraživanja trebala bi se usmjeriti na poboljšanje ovih dijagnostičkih tehnika i istraživanje novih terapijskih pristupa za smanjenje bolesti bubrežnih kamenaca.

6. LITERATURNI PREGLED

1. E. Tsolaki, S. Bertazzo, Pathological Mineralization: The Potential of Mineralomics. *Materials* **2019**, *12*, 3126.
2. J. Cloutier, L. Villa, O. Traxer, M. Daudon, Kidney stone analysis: "Give me your stone, I will tell you who you are!". *World J Urol.* **2015**, *33*, 157-169.
3. C.Y. Pak, Kidney stones, *Lancet*, **1998**, *351*, 1797-1801.
4. A.Tucak, M. Radonić, H. Furedi – Milhofer, D. Dekanić, Lj. Čečuk, Urolitijaza, *Revija, Izdavački centar Radničkog sveučilišta „Božidar Maslarić“*, Osijek, **1989**.
5. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, Biochemistry, Vol. 7 (Eds., W.H. Freeman & Co.), New York, **2011**.
6. M.L. Giannossi, V. Summa, A review of pathological biomineral analysis techniques and classification schemes, (Eds. C. Aydinalp), An introduction to the study of mineralogy, *InTech Europe*, Rijeka, Croatia, **2012**.
7. S. R. Khan, M. S. Pearle, W. G. Robertson, G. Gambaro, B. K. Canales, S. Doizi, & H. G. Tiselius, Kidney stones. *Nat Rev Dis Primers.*, **2016**, 1-23.
8. M. S. Parmar, Kidney stones. *Bmj*, **2004**, *328*(7453), 1420-1424.
9. K. Sakhaee, N. M. Maalouf, & B. Sinnott, Kidney stones: pathogenesis, diagnosis, and management. *J Clin Endocrinol Metab*, **2012**, *97*(6), 1847-1860.
10. V. A. Finkelstein & D. S. Goldfarb, Strategies for preventing calcium oxalate stones. *Cmaj*, **2006**. *174*(10), 1407-1409.
11. C. L. Mollerup, P. Vestergaard, V. G. Frokjaer, L. Mosekilde, P. Christiansen, M. Blichert-Toft, Risk of renal stone events in primary hyperparathyroidism before and after parathyroid surgery: controlled retrospective. *Bmj*, **2002**, *325*, 807.
12. H. J. Kramer, H. K. Choi, K. Atkinson, M. Stampfer, G. C. Curhan. The association between gout and nephrolithiasis in men: the health professionals', *Kidney Int.* **2003**, *64*, 1022.
13. J. M. J. Blomen, E. J. Will, O. L. M. Bijvoet, H. van der Linden, Growth kinetics of calcium oxalate monohydrate: II. The variation of seed concentration. *J. Cryst. Growth* **1983**, *64*, 306–315.
14. L. Sakhaee, B. Adams-Huet, O. W. Moe, C. Y. Pak, Pathophysiologic basis for normouricosuric uric acid nephrolithiasis, *Kidney Int.* **2002**, *62*, 971–979.

15. L. Borghi, T. Schianchi, T. Mecschi, A. Guerra, F. Allegri, U. Maggiore, A. Novarini, Comparison of two diets for the prevention of recurrent stones in idiopathic hypercalciuria. *N Engl J Med*, **2002**, *346*, 77-84.
16. M. Tsujihata, Mechanism of calcium oxalate renal stone formation and renal tubular cell injury. *Int J Urol*. **2008**, *15*, 115-120.
17. D. S. Lauderdale, R. A. Thisted, M. Wen, M. J. Favus, Bone mineral density and fracture among prevalent kidney stone cases in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Bone Miner Res*, **2001**, *16*, 1893-1894.
18. S. T. Reddy, C. Y. Wang, K. Sakhaee, L. Birnkley, C. Y. Pak, Effect of low-carbohydrate high-protein diets on acid–base balance, stone-forming propensity, and calcium metabolism. *Am J Kidney Dis* **2002**, *40*, 265-274.
19. A. M. Grumezescu, *Multifunctional Systems for Combined Delivery, Biosensing and Diagnostics*. Amsterdam, Elsevier, **2017**.
20. M. B. Tomson, G. H. Nancollas, Mineralization Kinetics: A Constant Composition Approach. *Science* **1978**, *200*, 1059–1060.
21. V. Tazzoli, M. C. Domeneghetti, The crystal structures of whewellite and weddellite: Re-examination and comparison. *Am. Mineral.* **1980**, *65*, 327–334.
22. I. Kuzmanovski, M. Trpkovska, B. Soptrajanov, V. Stefov, Determination of the composition of human urinary calculi composed of whewellite, weddellite and carbonate apatite using artificial neural networks. *Anal. Chim. Acta*, **2003**, *491*, 211–218.
23. A. Izatulina, V. Gurzhiy, O. Frank-Kamenetskaya, Weddellite from renal stones: Structure refinement and dependence of crystal chemical features on H₂O content. *Am. Mineral.* **2014**, *99*, 2–7 .
24. R. L. Frost, M. L. Weier, Thermal treatment of whewellite-a thermal analysis and Raman spectroscopy study. *Thermochim. Act.* **2004**, *409*, 79–85.
25. I. Coello, P. Sanchis, E. C. Pieras, F. Grases, Diet in Different Calcium Oxalate Kidney Stones. *Nutrients*. **2023**. *15*, 2607.
26. C. Schillebeeckx, K. Vander Eeckt, D. Ost, M. Van den Branden, S. Deconinck, Kidney Stone Dissolution Therapy in Phosphate Stones: A Case Report. *J Endourol Case Rep*. **2020**, *11*, 45-48.
27. M. E. Fleet, X. Liu, P. L. King, Accommodation of the carbonate ion in apatite: An FTIR and X-ray structure study of crystals synthesized at 2–4 GPa. *Am. Mineral.* **2004**, *89*, 1422–1432 .

28. C. Y. Rao, X. J. Sun, J. M. Ouyang, Effects of physical properties of nano-sized hydroxyapatite crystals on cellular toxicity in renal epithelial cells, *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* **2019**, *103*, 109807.
29. Y. Li, D. Xu, H. Lin, W. Wang, H. Yang, Nutrient released characteristics of struvite-biochar fertilizer produced from concentrated sludge supernatant by fluidized bed reactor. *J. Environ. Manag.* **2023**, *325*, 116548.
30. G. Ferraris, H. Fuess, W. Joswig, Neutron diffraction study of MgNH₄PO₄ ·6H₂O (struvite) and survey of water molecules donating short hydrogen bonds. *Acta Crystallogr. B* **1986**, *42*, 253–258.
31. K. T. Tait, M. C. Barkley, R. M. Thompson, M. J. Origlieri, S. H. Evans, C. T. Prewitt, H. Yang, Bobdownsite, a new mineral species from Big Fish River, Yukon, Canada, and its structural relationship with whitlockite-type compounds. *Can. Mineral.* **2011**, *49*, 1065–1078.
32. M. Duqué, A. Desmons, E. Thioulouse, B. Baudin, Des calculs rénaux de cystéine. *Rev. Francoph. Lab.* **2019**, *516*, 67–70.
33. X. Guo, P. Schmiede, T. E. Assafa, R. Wang, Y. Xu, L. Donnelly, M. Fone, X. Ni, J. Jiang, G. Millhauser, Structure and mechanism of human cystine exporter cystinosin. *Cell* **2022**, *185*, 3739–3752.
34. X. Zhang, Z. Zhu, Y. Bian, R. Zeng, W. Zhou, B. Yang, Combinatorial method to investigate cystine enantiomers using vibrational spectroscopies. *Infrared Phys. Technol.* **2022**, *127*, 104406.
35. P. J. Bridge, Guanine and uricite, two new organic minerals from Peru and Western Australia. *Mineral. Mag.* **1974**, *39*, 889–890.
36. K. Lonsdale, P. Mason, Uric acid, uric acid dihydrate, and urates in urinary calculi, ancient and modern. *Science* **1966**, *152*, 1511–1512.
37. F. Izzo, A. Langella, C. Germinario, C. Grifa, E. Varricchio, M. C. Di Meo, L. Salzano, G. Lotrecchiano, M. Mercurio, Morpho-Constitutional Classification of Urinary Stones as Prospective Approach for the Management of Human Pathological Biomineralization: New Insights from Southern Italy. *Minerals* **2022**, *12*, 1421.
38. H. Ringertz, The molecular and crystal structure of uric acid. *Acta Crystallogr.* **1966**, *20*, 397–403 .
39. H. Iwata, Y. Abe, S. Nishio, A. Wakatsuki, K. Ochi, M. Takeuchi, Crystal-Matrix Interrelations in Brushite and Uric Acid Calculi. *J. Urol* **1987**, *135*, 397–401.

40. R. Boistelle, C. Rinaudo, Phase transition and epitaxies between hydrated orthorhombic and anhydrous monoclinic uric acid crystals. *J. Cryst. Growth* **1981**, *53*, 1–9.
41. P. E. Nothnagle, W. Chambers, M. W. Davison *Introduction to Stereomicroscopy*. **2017**.
42. P. R. Griffiths, J. A. de Haseth, *Fourier Transform Infrared Spectrometry*; John Wiley & Sons: New York, NY, USA, **1986**.
43. F. K. Brown, Chemoinformatics: What Is It and How Does It Impact Drug Discovery, *Annu. Rep. Med. Chem.*, **1998**, *33*, 375–384.
44. J. Chai, K. Zhang, Y. Xue, W. Liu, T. Chen, Y. Lu, G. Zhao, Review of MEMS Based Fourier Transform Spectrometers. *Micromachines* **2020**, *11*, 214.
45. A. A. Bunaciu, & H. Aboul-Encin, X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. *Crit Rev Anal Chem.* **2015**, *45*, 289-299.
46. Z. Yang, Morphological, mechanical and thermal properties of poly (lactic acid) (PLA)/cellulose nanofibrils (CNF) composites nanofiber for tissue engineering. *J. Wuhan Univ. Technol.-Mat. Sci. Edit*, **2019**. *34*, 207–215.
47. Q. Wang, Structure and properties of polylactic acid biocomposite films reinforced with cellulose nanofibrils. *Molecules*, **2020**. *25*, 3306.
48. A. H. Afaj, & M. A. Sultan, Mineralogical composition of the urinary stones from different provinces in Iraq. *ScientificWorldJournal*, **2005**, *5*, 24–38.
49. M. Daudon, C. A. Bader, & P. Jungers, Urinary calculi: Review of classification methods and correlations with etiology. *Scanning Microscopy*, **1993** *7*, 1081–1106.
50. K. Sekkoum, A. Cheriti, S. Taleb, N. Belboukhari, FTIR spectroscopic study of human urinary stones from El Bayadh district (Algeria). *Arab. J. Chem.*, **2011** *9*, 330–334.
51. R. Chandrajith, A. Weerasingha, K. M. Premaratne, Mineralogical, compositional and isotope characterization of human kidney stones (urolithiasis) in a Sri Lankan population. *Environ Geochem Health*, **2019**, *41*, 1881–1894.
52. S. Matsuzaki, K. Matsushita, K. Tanikawa, A. Masuda, J. Matsunaga, Sequential analysis of recurrent calcium calculi by infrared spectroscopy. *Int J Urol*, **1995**, *2*, 235–237.
53. K. Sekkoum, A. Cheriti, S. Taleb, N. Belboukhari, FTIR spectroscopic study of human urinary stones from El Bayadh district (Algeria). *Arab. J. Chem*, **2011**, *9*, 330–334.
54. D. Lin-Vien, N. Colthup, W. G. Fateley, G. Grasselli, *The handbook of infrared and Raman characteristic frequencies of organic molecules*. Boston: Academic Press. **1991**.
55. V. Tazzoli, C. Domeneghetti, The crystal structures of whewellite and weddellite: re-examination and comparison. *American Mineralogist*, **1980**, *65*, 328 – 334.

56. G. Ferraris H. Fuess, W. Joswig, Neutron diffraction study of $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (struvite) and survey of water molecules donating short hydrogen bonds. *Acta Crystallogr. B*, **1986**, *42*, 253–258.
57. M. E. Fleet, X. Liu, P. L. King, Accommodation of the carbonate ion in apatite: An FTIR and X-ray structure study of crystals synthesized at 2–4 GPa. *Am. Mineral.* **2004**, *89*, 1422–1432 .
58. P. Schofield, K. Knight, J. Houwen, J. The role of hydrogen bonding in the thermal expansion and dehydration of brushite, di-calcium phosphate dihydrate. *Phys Chem Minerals*, **2004**, *31*, 606–624.
59. M. Afzal, M. Iqbal, H. Ahrnad Thermal Analysis Of Renal Stones. *J. Therm. Anal. Calorim*, **1992**, *38*, 1671-1682.