

Analýza močových konkrementov a jej cesta do Európy

RNDr. Iveta Gáboríková

Medirex, a. s., člen MEDIREX GROUP, Bratislava

Autor v článku opisuje problematiku urolitiázy, rozoberá jednotlivé postupy chemickej analýzy močových konkrementov (MK) z pohľadu vhodnosti a možnosti diagnostikovať ojedinelé alebo neznáme MK.

Kľúčové slová: urolitiáza, mokrá cesta analýzy, polarizačná mikroskopia (PM), infračervená spektroskopia (IČ).

Analyse of urinary calculi and course to Europe

In the article the author describes the issue of urolithiasis, deals with chemical analysis of urinary calculi from the point of suitability and ability to diagnostic rare or unknown kidney stones

Key words: urolithiasis, wet chemistry, polarisation microscopy, infrared spectroscopy.

NewsLab, 2015; roč. 2(1): 31–33

Úvod

Urolitiázou nazývame ochorenie, pri ktorom sa tvoria konkrementy v obličkách (nefrokalcinóza) alebo močových cestách (nefrolitiáza, ureterolitiáza, cystolitiáza, uretrolitiáza). Urolitiáza bola známa choroba už v staroveku, kamene močového mechúra boli časté najmä u mladých chlapcov a starých mužov, boli zaznamenané pokusy o konzervatívnu liečbu a dokonca o rozpúšťanie kameňov. Ránhojiči zvládali operácie bez narkózy a technické podrobnosti sa udržiavali ako rodinné tajomstvo.

Konkrement je zložený z 98 % z kryštalického materiálu a približne 2 % tvorí organická hmota zložená z proteínov, glykoproteínov, cukru, ktoré spájajú kryštály do výsledných tvarov konkrementov. Výnimku tvoria infekčné močové konkrementy (struvit), kde polysacharidy produkované baktériami tvoria nadpolovičnú časť kameňa.

MK sám osebe nie je choroba, ale je následok celkového ochorenia na podklade metabolickej poruchy, infekcie močových ciest alebo morfológických a funkčných zmien uropoetického systému. Incidencia urolitiázy je v celosvetovom meradle vysoká (cca 10 %) (1), narastá počet recidív, pričom prevencia – metafylaxia, môže znížiť výskyt recidív zo 70 % na 10 – 15 % (2, 3). Cennú informáciu v terapii a prevencii recidív poskytuje dôsledné zhodnotenie typu litiázy podľa chemického zloženia konkrementu a podľa fyzikálnej analýzy. Vznik MK je výsledkom vzájomného pôsobenia ochranných a rizikových faktorov. Sú známe kauzálne faktory urolitiázy, ktorých vzájomným pôsobením sa môže MK vytvoriť.

Kauzálne faktory urolitiázy

- 1. Presýtenie moču (supersaturácia) litogénnymi látkami** pri metabolickej poruche, nadmernom príjme potravy, poruchách gastrointestinálneho traktu (GIT), užívaní niektorých liekov a podobne.
- 2. Zmeny pH moču**, napríklad pri renálnej tubulárnej acidóze (RTA), primárnej dne, infekcii baktériami štiepiacimi močovinu, pri poruchách GIT-u a podobne.
- 3. Nedostatok inhibítorov** kryštalizácie a agregácie.
- 4. Obštrukčné uropatie a morfológické zmeny obličiek**, napríklad dreňová cystóza, anomálie močových ciest, funkčné poruchy a podobne.
- 5. Cudzie teleso** v močových cestách.

U väčšiny chorých zistíme niekoľko rizikových faktorov, čo potvrdzuje multifaktoriálnu etiológiu urolitiázy. Najdôležitejšie rizikové faktory predstavujú metabolické poruchy, ktoré sa vyskytujú až u 90 % chorých s litiázou (4).

Typy močových konkrementov

1. Základná skupina MK

Kalciumoxalátové (weddellit, whewellit) (obrázok 6), **kalciumfosfátové** (apatit, brushit) (obrázok 2), **kyselina močová** (dihdrát kyseliny močovej) (obrázok 5), **struvit** a **cystín** (obrázok 1).

2. Ojedinelé MK

Močan sodný, močan amónny, beta-fosforečnan vápenatý (whitlockit), hydrogénfosforečnan vápenatý (monetit), xantin, DHA – 2,8-dihydroxyadenín.

3. Liekové MK a ich metabolity – oxytetracyklín, ampicilín, sulfonamidy, chloramfenikol, dezurool, crivixan.

4. Artefakty – alfa kremeň, kalcit, sadrovec, tehla, parafín, omietka, pieskovec, granit, keramzit, semenka rastlín.

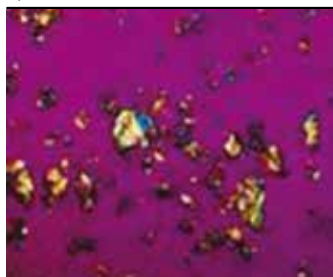
Všetky MK nezaradené do základnej skupiny vyžadujú špeciálne analytické postupy dôkazu jednotlivých komponentov (obrázok 7).

Mokrá cesta analýzy

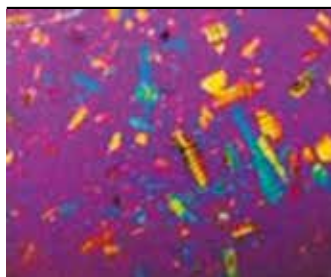
Predstavuje semikvantitatívnu, rutinnú metódu na identifikáciu dôležitých komponentov MK spontánne vymočených, ako aj vyoperovaných. Je ekonomická a rýchla. Použitím setu Urinary calculi (DiaSys) sú dokázateľné oxaláty, fosfáty, horčík, amoniak, kyselina močová, cystín, a to farebnými reakciami, vápnik titračne a karbonáty pridaním HCl. Zloženie MK sa vypočíta pomocou pravítka, ktoré je súčasťou setu.

Spôsob analýzy poskytuje len hrubú orientáciu v zložení MK patriacich do základnej skupiny. Správnosť a spoľahlivosť výsledkov chemickej analýzy mokrou cestou je potrebné potvrdiť použitím inej metódy, v našom laboratóriu polarizačnej mikroskopie.

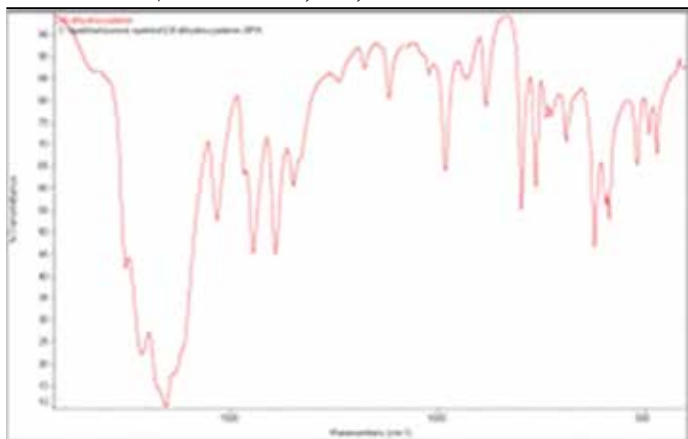
Obrázok 1. Zrnkový preparát Cystín – zväčšené 160-krát



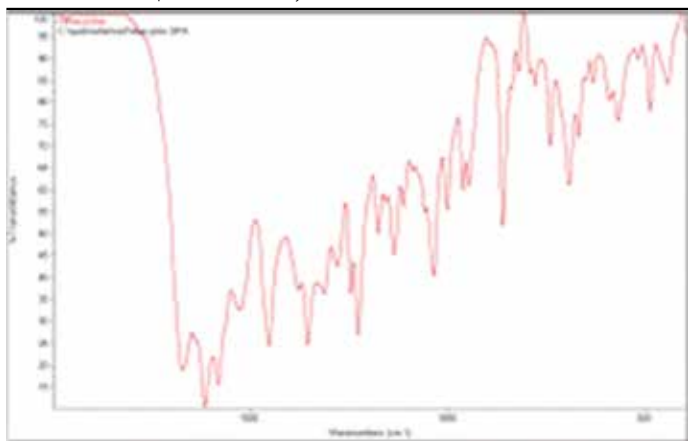
Obrázok 2. Zrnkový preparát Brushit – zväčšené 320-krát



Obrázok 3. IČ spektrum 2,8-dihydroxyadenín



Obrázok 4. IČ spektrum tetracyklín



Smernice pre urolitiázu Európskej asociácie pre urológiu (EAU) neodporúčajú mokrá cestu analýzy MK, dokonca ju považujú za neakceptovateľnú (5).

V našich podmienkach set pomôže pri identifikácii oxalátov MK neznámeho, zmiešaného zloženia.

Polarizačná mikroskopia

Je to mikroskopická metóda, ktorá využíva optické vlastnosti kryštálov v prechádzajúcom svetle. Polarizátorom prechádza svetlo a mení sa na lineárne polarizované. Po prechode anizotropnou vzorkou (kryštálom) sa rozdelí na dva lúče – riadny a mimoriadny, šíria sa rôznou rýchlosťou a kmitajú v rôznych rovinách. Analyzátor zloží obidva lúče do rovnakej roviny kmitania a ich fázový posun sa prejaví vznikom interferenčných fa-

Tabuľka 1. Identifikované zložky MK – čisté Nicolet FT-IR spektrometer

Urinary Concrement Guide	
File	Analyze
Concrement Overview Window Help	
Frequent	
Whewellite	Rare
Weddellite	2,8 - dihydroxyadenine
Cystine	Hydroxylapatite
Xanthine	Calcite
Protein	Aragonite
Dahllite	Gypsum
Struvite	alpha - Quartz
Brushite	Tridymite
Uric acid	N4 - acetylsulfamethoxazole
Uric acid dihydrate	Oxolinic acid
Ammonium urate	Cholesterol
Sodium urate monohydrate	Whitlockite
Calcium phosphate amorphous	Newberyite
	Potassium urate

Obrázok 5. MK zmiešaný, kyselina močová, kalciumoxalát



Obrázok 6. MK Whewellit – jackstone



Obrázok 7. MK neznámeho zloženia



rieb. Pri amorfných zložkách (apatit, karbonátapatit) nevzniká fázový posun a ani interferenčné farby, obrázky MK predstavujú bezfarebné útvary.

Polarizačná mikroskopia je citlivá metóda, ktorá nám umožňuje stanoviť aj veľmi malé množstvo analytu. Má však obmedzenia, ktoré sa týkajú optických vlastností materiálu. Nedajú sa určiť jemnozrné až amorfné materiály, neznáme vzorky a semikvantitatívne stanovenie je možné len na základe odhadu objemových percent, čo môže byť rozdielne od hmotnostných percent stanovených infračervenou spektroskopiou. Podlieha vo veľkej miere subjektívnej chybe, je ťažko štandardizovateľná a obdobie zácviaku je pomerne dlhé. Spojenie s IČ všetky tieto nedostatky eliminuje.

Infračervená spektroskopia

Skúma absorpciu infračerveného žiarenia molekulami vzorky. Poskytuje informácie o prítomných

funkčných skupinách a o molekulovej štruktúre látky a slúži k ich kvantitatívnemu stanoveniu. V IČ oblasti je aktívna väčšina molekúl. Absorpčné spektrum je charakteristické pre danú látku, prakticky neexistujú dve rovnaké spektrá pre rôzne látky s výnimkou optických izomérov. Pri interakcii molekuly s IČ žiarením sa zväčší amplitúda vibrácií atómov a dochádza k zmene frekvencie rotačného pohybu molekuly.

IČ spektrum znázorňuje závislosť transmittancie od vlnočtu (obrázok 3, obrázok 4).

MK predstavujú analýzu tuhých látok, kde jedna z techník na prípravu vzoriek je známa ako KBr technika, ktorá pozostáva z lisovania jemne rozdrvenej zmesi analyzovanej látky s KBr pri tlaku 500 MPa za vzniku priehľadnej tabletky, ktorá sa vkladá do držiaka v kyvetovom priestore spektrometra.

Knižnica IČ spektier MK Nicolet FT-IR spektrometra má k dispozícii až 800 základných spektier a 18 000 doplnkových.

IČ spektrometria poskytuje informácie aj o matrici MK, čo je pri PM problematické. Je to spoľahlivá, presná, kvantitatívna metóda, ktorou sa dajú identifikovať ojedinelé, liekové ako aj neznáme konkrémenty (tabuľka 1).

Európska asociácia pre urológiu (EAU) IČ spektrometriu jednoznačne odporúča a považuje za jeden z vhodných analytických spôsobov dôkazu komponentov MK v laboratórnych podmienkach (5).

Záver

Urolitiáza je vlastne interné ochorenie s urologickými následkami. Vysoká incidencia, recidivita, nepríjemné akútne prejavy a možné vážne následky sú nepochybne dôvodom na špecifickú metafylaxiu urolitiázy, predovšetkým medikamentóznou, a to najlepšie už u chorých s prvou príhodou urolitiázy (3). Treba povedať, že spoľahlivá, moderná analýza zloženia MK môže prispieť ku komplexnej diagnostike príčin tohto ochorenia.

Literatúra

1. Shokeir AA. Renal Colic: Pathophysiology, Diagnosis and Treatment. *Eur. Urol.* 2001;39:241–249.
2. Baumann J, Affolter MB, Caprez U, Henze U. Calcium Oxalate Aggregation in Whole Urine, New Aspects of Calcium Stone Formation and Metaphylaxis. *Eur. Urol.* 2003;43:421–425.
3. Kočvara R, Plasgura P, Petřík A, et al. Metaphylaxis of the First Kidney Stone. *Eur. Urol.* 1996;30(suppl. 2):A66.
4. Kočvara R, Ptaček V, Ťuiková J, et al. Metafylaxie urolitiázy, spôsoby a výsledky. *Čas. lek. čes.* 1989;128:266–269.
5. Türk C, Knoll T, Petrik A, Sarica K, Seitz C, Straub M, Traxer O. *Guidelines on Urolithiasis.* 2010;11–12.
6. Bouška V, Kašpar P. *Speciální optické metody.* Praha, Česká republika: Akademia, 1983.
7. Kalous V, et al. *Metody chemického výzkumu.* Praha, Česká republika: SNTL/Alfa. 1987.



RNDr. Iveta Gáboriková
Medirex, a. s., člen **MEDIREX GROUP**
Galvaniho 17/C, 821 04 Bratislava
iveta.gaborikova@medirex.sk