

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

2. lékařská fakulta

Ústav klinické biochemie a patobiochemie

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vyšetření močových konkrémentů urolitiázy

Vypracovala:

Lenka Kultová

Vedoucí bakalářské práce:

RNDr. Jiří Zadina, CSc.

Studijní program:

Specializace ve zdravotnictví

Obor:

Zdravotní laborant

Prohlašuji, že jsem v předložené práci použila jen pramenů, které cituji a uvádím v seznamu použité literatury.

V Praze dne 7. dubna 2008

.....

Podpis

SOUHRN

Urolitiáza je rozšířené onemocnění, které může vést k závažným komplikacím až selhání funkce ledvin. Pro přesnou diagnózu a zavedení účinné metafylaxe je důležité analyzovat složení konkrementu. Ve své práci jsem se zabývala analýzou močových konkrementů metodami infračervené spektroskopie a polarizační mikroskopie.

V první části práce jsem se zaměřila na metodické aspekty stanovení. V souboru deseti vzorků, které zahrnovaly převážně se vyskytující komponenty močových konkrementů, jsem při hodnocení IČ spekter používala dva softwarové programy – Kidney Stone Analysis a Omnic. Program Kidney Stone Analysis zobrazuje pouze jeden konečný výsledek analýzy. Program Omnic udává deset možných výsledků složení daného vzorku, které se nejlépe shodují se spektry z knihovny. Hodnotící osoba zde má možnost tyto výsledky porovnat a podle toho, jak se kvantitativní údaje vyhodnocení jednotlivých komponent ve výsledcích opakují, se rozhodnout pro konečný výsledek.

Pokud se při hodnocení IČ spekter obsah komponent pohybuje okolo 10 %, výsledek nelze považovat za zcela spolehlivý. Polarizační mikroskop umožňuje ověření a upřesnění výsledků analýzy. Potvrdilo se, že kombinace obou metod je často velice přínosná.

V druhé části práce jsem analyzovala močové konkrementy patientských vzorků, tak jak se hodnotí v podmínkách laboratorního provozu. Soubor pacientů tvořilo 20 osob (17 mužů a 3 ženy) ve věkovém rozmezí 15 – 76 let. V analyzovaném souboru pacientů převažovaly osoby vyššího věku. Nejvíce zastoupenou diagnózou byl kámen ledviny (45 %), další pacienti měli diagnózu kámen močovodu a jiná neurčená břišní bolest. U jednoho pacienta (muž, 21 let) byla diagnóza porucha parathyreoidey. Diagnóze odpovídalo i složení konkrementu, v kterém byla přítomna fosfátová složka (whitlockit).

U pacientů s jednosložkovými konkrementy se nejčastěji vyskytoval whewellit a kyselina močová. Pro dvousložkové konkrementy byla typická kombinace whewellitu s weddellitem, přitom v jejich poměrném zastoupení převažoval whewellit. U tříložkových konkrementů se nejčastěji vyskytovaly oxaláty spolu s apatitem.

V zastoupení konkrementů převažovaly oxalátové složky (67 %), kyselina močová (17 %) a fosfátové komponenty (8 %). Cystin, struvit a urát amonný se vyskytovaly jako komponenty s malou četností.

Výsledky odpovídají údajům o složení močových konkrementů v naší populaci.

SUMMARY

Methods of urinary stone analysis

Urolithiasis is wide - spread disease, which can lead to serious complications as far as acute renal failure. It is important to analyze the composition of calculus for accurate diagnosis and effective prevention. I deal with analysis of urinary stones by infrared spectroscopy and polarization microscopy in this work.

In the first part of the work I intent on the methodical aspects of assesment. The set of ten samples, which included rife components of calculi, was evaluated by two software programs – Kidney Stone Analysis and Omnic. Programme Kidney Stone Analysis gives just one end - result. Programme Omnic indicates ten possible results of the constitution of the sample, which best matches with spectra from libraries. The evaluative person has a possibility to compare these results and decide for the end - result, according to how quantitative data in the evaluation repeat.

The result of component's content around 10 % can not be regard as totally reliable. The polarization microscope enables to check and specify the results of the analysis. To use a combination of both methods claimed to be very profitable.

In the second part of the work, patients' urinary stones were analyzed, in the way how samples are evaluated in laboratory running. Patient group was formed by 20 persons (17 men and 3 women) in the age of 15 – 76 years. The elderly persons predominated. Most principal diagnosis was kidney stone (45 %), next patients had urether stone diagnosis or the other unrecognized ventral pain. One patient (man in the age of 21) had diagnosis - disorder of parathyreoidea. The constitution of calculus (presence of phosphate component) corresponded to the diagnosis.

Whewellite and uric acid occur most often in patients with one - component calculi. Typical combination for double - barrelled stones was whewellite together with weddellite. In their relative substitution predominated whewellite. Oxalates occur most often in urinary stones of three components in conjunction with apatite.

In the substitution of calculi predominated oxalate components (67 %), uric acid (17 %) and phosphate components (8 %). Cystine, struvit and ammonium urate occur as components with low frequency.

The results comport with data about constitution of urinary stones in our population.

Na předložené bakalářské práci jsem pracovala na Ústavu klinické biochemie a patobiochemie FN Motol v Praze v roce 2008 pod vedením RNDr. Jiřího Zadiný, CSc.

Ráda bych poděkovala všem, kteří mi umožnili vypracovat tuto bakalářskou práci. Zvláštní dík patří vedoucímu mé bakalářské práce RNDr. Jiřímu Zadinovi, CSc., za odborné vedení a poskytnutí cenných rad a připomínek při řešení zadaného úkolu.

Nakonec bych chtěla poděkovat rodičům za jejich podporu a trpělivost po celou dobu mého studia.

OBSAH

1. ÚVOD	1
2. TEORETICKÁ ČÁST	2
2.1 Urolitiáza	2
2.1.1 Výskyt urolitiázy	2
2.1.2 Vznik a vývoj urolitiázy	3
2.1.3 Příčiny vzniku urolitiázy	4
2.1.4 Dietní doporučení	5
2.2 Analýza močového konkrementu	5
2.2.1 Složení močového konkrementu	6
2.2.2 Typy analýz močových konkrementů	8
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	16
3.1 Použité přístroje a chemikálie	16
3.2 Software pro vyhodnocení IČ spekter	17
3.3 Pracovní postupy	18
3.3.1 Příprava vzorků močových konkrementů	18
3.3.2 IČ spektroskopie	19
3.3.3 Polarizační mikroskopie	20
3.3.4 Chemické reakce	21
4. VÝSLEDKY A DISKUZE	22
4.1 Analýza močových konkrementů u různých typů urolitiázy	22
4.1.1 Komentář k výsledkům analýzy vzorků různých typů urolitiázy	38
4.2 Analýza močových konkrementů u patientských vzorků	39
4.2.1 Komentář k výsledkům analýzy patientských vzorků	42
4.3 Diskuze	43
5. ZÁVĚR	46
6. LITERATURA	47
7. SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	49
8. PŘÍLOHY	50

1. ÚVOD

V dnešní době se urolitiáze věnuje pozornost na celém světě. Trpí jí asi jedno procento celé populace a asi jedna třetina všech urologicky nemocných. Nejčastěji postihuje nemocné v produktivním věku, ale není vzácná v dětství ani ve stáří. Závažnost urolitiázy spočívá v četných komplikacích, které způsobují dlouhé pracovní neschopnosti. U nejtěžších stavů dochází až k selhání ledvinných funkcí. Vlastní příčinu vzniku a růstu močových konkrementů neznáme, ale je zjištěna řada etiopatogenetických činitelů, které se na tomto procesu podílejí. Je velice důležité tyto rizikové faktory rozpoznat a zavést účinné metody prevence.^{1,22}

To vše by nebylo možné bez komplexního biochemického vyšetření. Důležitou součástí vyšetření je analýza močového konkrementu. Pokud se podaří konkrement získat, měl by být vždy vyšetřen.

V biochemické laboratoři jsou pro analýzu močových konkrementů k dispozici vhodné metody jako infračervená spektroskopie, nebo polarizační mikroskopie.

Cíle této práce jsou následující:

- Analýza močových konkrementů v souboru vzorků s různými typy urolitiázy s ohledem na metodické aspekty stanovení. Vyhodnocení metodou infračervené spektroskopie a pomocí polarizačního mikroskopu.
- Analýza močových konkrementů v podmínkách rutinního zpracování vzorků v laboratoři. Zhodnocení analyzovaného souboru pacientů s ohledem na zastoupení jednotlivých typů urolitiázy a ve vztahu k diagnóze.

Tato práce poskytuje ucelené informace o onemocnění urolitiázou, jednotlivých konkrementech a možnostech jejich analýzy.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 UROLITIÁZA

Urolitiáza je nemoc, charakterizovaná vznikem konkrémentů v močových cestách. Podle místa, kde se konkrément nalézá, hovoříme o nefrolitiáze (v dutém systému ledvin), ureterolitiáze (v močovodu), cystolitiáze (v močovém měchýři) a uretrolitiáze (v močové trubici). Urolitiáza může mít závažné zdravotní následky včetně hydronefrózy, zánětlivých komplikací a renální insuficience. Postihuje především osoby v produktivním věku.^{1,2,6}

2.1.1 Výskyt urolitiázy

V rozvinutých zemích Evropy a Ameriky se urolitiáza vyskytuje s incidencí 0,1 – 0,3 % a s prevalencí 5 – 10 %. Konkrétně v České republice však zdroje uvádějí výskyt urolitiázy u 1 - 4 % obyvatelstva. Pojem incidence znamená počet nově diagnostikovaných nemocných litiázou obvykle v časovém intervalu jednoho roku. Prevalence zahrnuje četnost všech osob v populaci, které někdy zažili dané onemocnění. Vzhledem ke svému rozšíření, lze toto onemocnění zařadit mezi civilizační choroby, které odrážejí celkové chování a dietní zvyklosti populace. Vysoká incidence urolitiázy je v USA, Velké Británii a na Středním východě. Vyšší je i ve střední Evropě, Číně nebo Indii. Nízká incidence je ve Střední a Jižní Americe a v Africe.^{2,3,22}

Je velice zajímavé, že existují určité geografické faktory výskytu různých druhů konkrémentů. Např. v Evropě a USA převažují konkrémenty z oxalátu vápenatého, ve Velké Británii také konkrémenty z oxalátu vápenatého spolu s fosfátovými a v Africe struvitové konkrémenty. V geografické distribuci jednotlivých typů litiázy se zřejmě projevuje především vliv dietních zvyklostí.²²

Urolitiáza postihuje všechny věkové skupiny s převahou výskytu ve střední věkové kategorii. U dětí je výskyt obecně nízký. Charakteristickým rysem tohoto onemocnění jsou recidivy. Recidivita jak primolitiázy, tak opakované urolitiázy činí 50 % do pěti let. Pokud se však klade důraz na prevenci, neboli metafylaxi, lze tento počet výrazně snížit na 10 – 15 %.⁴

2.1.2 Vznik a vývoj urolitiázy

Vznik a vývoj močového kamene je výsledkem chemické precipitace rozpuštěných iontů nebo molekul z roztoku, který se stal přesycený.

↑ koncentrační produkt	inhibitory nejsou účinné	<i>zóna přesycení</i>
	růst krystalů agregace krystalů inhibitory zabraňují krystalizaci může se vyskytnout matrice	<i>metastabilní fáze moče</i>
	krystaly se netvoří přítomné konkrementy se rozpouštějí	<i>zóna nízkého nasycení</i>

tabulka č.1 – Chování nasyceného roztoku látky⁴

Tvorba močového kamene je fyzikálně chemický problém. Vzniká porucha vztahu "kamenotvorné látky x inhibitory krystalizace" v moči. Příčinou mnohých urolitiáz je totiž právě nedostatek inhibitorů krystalizace a agregace. Jsou to látky účinné již ve velmi nízkých koncentracích. Brání dalšímu růstu a vzájemnému shlukování krystalů.

Pokud se koncentrační produkt nachází v *zóně nízkého nasycení*, kamenotvorná látka se rozpustí a ke vzniku konkrementu tedy nedojde.

Jedinou oblastí, kde může být terapie účinná, je tzv. *metastabilní fáze moče*. V této oblasti se nejčastěji nachází moč jak normální populace, tak litiaků. Je tu rovnováha mezi promotory a inhibitory krystalizace a agregace. V této fázi se však krystaly v roztoku shlukují a rostou.

Je-li koncentrační produkt v *zóně přesycení*, vždy dochází k tvorbě konkrementů. Tuto krystalizaci již nelze nijak ovlivnit ani zastavit.⁴

2.1.3 Příčiny vzniku urolitiázy

Existuje celá řada rizikových faktorů spojených s výskytem urolitiázy. Je třeba možné příčiny znát a pokud možno jejich působení omezit.¹

- nedostatečný přívod tekutin
- infekce močových cest
- zvýšená koncentrace litogenních látek v moči (např. vápník, kyselina močová, oxaláty, sodný kation, fosfáty, cystin)
- nedostatečná koncentrace inhibitorů krystalizace a agregace (např. hořčík, citrát, glykosaminoglykany)
- trvale nízké pH moči (< 5,5), nebo naopak trvale zvýšené pH moči (> 7,0)
- dieta: nadměrný přívod živočišných bílkovin, mléka, mléčných výrobků, minerální vody bohaté na vápník, špenát, rebarbora, čokoláda, kakao, silný čaj, alkohol, atd.
- věk pacienta: muži 40 – 50 let, ženy 16 – 30 let a po menopauze
- nemoci: hyperurikemický syndrom, diabetes mellitus, renální tubulární acidóza, endokrinopatie (hlavně hyperparathyreóza), enteropatie a resekce střeva, nádorová onemocnění, cystinurie, hematurie
- léky – mohou se stát jádrem konkrementu, ovlivňovat pH moči, zvyšovat koncentraci litogenních látek v moči
- častost urolitiázy v rodině
- sedavé zaměstnání
- vrozené malformace vývodných cest močových a cizí těleso v močových cestách⁵

U každého nemocného je tedy zapotřebí ověřit rodinný výskyt onemocnění, časté uroinfekce, stravovací návyky, přívod tekutin, a další důležité anamnestické údaje. Nezbytnou úlohu hrají také urologická, biochemická a metabolická vyšetření. Je třeba brát na vědomí, že urolitiáza je v 60 % způsobena právě metabolickou vadou. Pro správné stanovení příčiny vzniku močových kamenů je také nutné určit jejich složení.

Cílem všech těchto opatření je odhalit příčinu tvorby konkrementů a změnou režimu, diety a vhodnou terapií zamezit její recidivě.^{1,5}

2.1.4 Dietní doporučení

V minulosti bylo velmi populárním doporučením omezení příjmu kalcia. Toto doporučení bylo založené na vysoké incidenci hyperkalciurie. Avšak velká prospektivní epidemiologická studie, provedená u zdravých mužů, vedla k překvapujícím závěrům. Čím nižší příjem kalcia, tím vyšší incidence tvorby kamenů. Podle současných znalostí se tedy nedoporučuje omezení příjmu kalcia, protože to může vést k sekundární hyperoxalurii a demineralizaci kostí.¹⁰

Podle studie z roku 1999 vysoké dávky vitamínu B6 snižují riziko vzniku ledvinových kamenů u žen. Tato studie také dokázala, že rostoucí dávky vitamínu C nezvyšují riziko vzniku konkrementů.¹¹

Shrnutí:

- individuální dietní návyky podle specifických metabolických poruch
- vyhnout se omezení kalcia
- udržovat příjem kalcia a oxalátu v rovnováze
- umírněný příjem NaCl a živočišných tuků
- zvýšený příjem draslíku
- vysoký přísun tekutin kvůli produkci moče minimálně 2 litry za den¹²

2.2 ANALÝZA MOČOVÉHO KONKREMENTU

Celkem je známo asi 20 látek, které se mohou vyskytovat v lidských močových kamenech. Rozeznáváme jednosložkové a vícesložkové konkrementy, které převažují. Procentuální přehled výskytu hlavních složek močových konkrementů zobrazuje tabulka č. 2.

Znalost složení konkrementů je velice důležitá pro zjištění metabolického podkladu urolitiázy, účinnou terapii a prevenci vzniku recidiv.

název	četnost výskytu (%)
whewellit	13,7
weddellit	0,4
whewellit + weddellit	18,6
whewellit + apatit	7,2
weddellit + apatit	4,7
whewellit + weddellit + apatit	22,4
apatit + dahllit	3,4
struvit	0,3
struvit + apatit	15,5
struvit + apatit + Ca-oxaláty	3,2
brushit	0,2
struvit + apatit + whewellit	1,7
kyselina močová (urát amonný + urát sodný)	4,7
kyselina močová + whewellit	1,1
cystin	2,2
cystin + apatit	0,7
xanthin	velmi vzácné

tabulka č. 2 - Přehled výskytu hlavních složek močových konkrementů¹⁶

2.2.1 Složení močového konkrementu

K označení konkrementu je nejspřávnější užívat mineralogickou nomenklaturu.⁵ Nejčastěji se vyskytující konkrementy včetně jejich chemického složení shrnuje tabulka č.3.

CHEMICKÝ NÁZEV	VZOREC	MINERALOGICKÝ NÁZEV
kyselá moč		
oxalát vápenatý monohydrát	$\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	whewellit
oxalát vápenatý dihydrát	$\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	wheddellit
kyselina močová	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$	uricit
urát amonný	$(\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{O}_3)\text{NH}_4$	-
urát sodný monohydrát	$\text{NaC}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-
cystin	$[\text{SCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}]_2$	-
alkalická moč		
hydroxyfosforečnan vápenatý	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	apatit
fosforečnan vápenatý	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	whitlockit
karbonátapatit	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4\text{CO}_3\text{OH})_3(\text{OH})_2$	dahllit
hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	brushit
fosforečnan hořečnatoamonný	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	struvit

tabulka č.3 – Přehled komponent močových konkrémentů¹

Močové konkrémenty můžeme rozdělit například podle pH moče ve které se vyskytují:

Kyselá moč

V kyselé moči se nejčastěji vyskytují konkrémenty z oxalátu vápenatého. Vyskytují se ve dvou formách jako monohydrát – *whewellit* a dihydrát – *wheddellit*. Tyto dva konkrémenty nelze odlišit chemicky, polarizační mikroskopií však ano. *Whewellit* je četnější, ale jeho recidivy jsou méně časté než u *wheddellitu*. **Oxalátové kameny** tvoří až 70 % všech konkrémentů.

Další skupinou vyskytující se v kyselé moči jsou konkrémenty tvořené *kyselinou močovou* a jejími solemi. Z těchto solí je nejméně rozpustný *urát amonný*. Pro výskyt **urátových kamenů** je typické kyselé pH moči 4,8 – 5,5. Pokud však dojde k alkalizaci moči nad hodnotu pH 6, může dojít k jejich pomalému rozpouštění.¹

V kyselé moči se může vyskytovat také *cystin*.

Alkalická moč

V alkalické moči se nejvíce vyskytují **fosforečnany**. Patří sem převážně *apatit* a *brushit*. Vznikají v neinfikovaných močích při pH 6,0 – 7,0. Čisté *apatitové* nebo *brushitové* kameny jsou vzácné. Většinou je *apatit* kombinován s oxaláty. Typické pH pro výskyt „**infekčních**“ **kamenů** je nad hodnotou 7. Patří sem *struvit* a *dahllit*. Jak už název vypovídá, vyskytují se při těžkých infekcích močových cest, způsobených především bakteriemi, které produkují ureázu (*Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*). Ureáza katalyzuje štěpení močoviny a vznikající amoniak zvyšuje pH moči.

Aby byl výčet úplný, musí zde být uvedeny také **artefakty**, tzn. látky, které nejsou tělu vlastní. Patří sem např. sádra, křemen, kalcit, cihelná drť, parafín, omítka, pískovec, semena rostlin a spousta dalších látek.^{1,3,5}

2.2.2 Typy analýz močových konkrementů

Éra chemického vyšetřování močových kamenů sice ustoupila do pozadí, ale některé chemické zkoušky se provádějí dodnes.

Kvalitativní chemické metody jsou sice levné, ale nepřesné, neúplné a nedovolují spolehlivé určení hlavních a vedlejších složek konkrementů. Vyžadují zkušeného hodnotícího pracovníka. Několik příkladů kvalitativní chemické analýzy močových kamenů podle Teichmana.²³

▪ **Důkaz NH⁴⁺:**

Malé množství prášku rozdrceného kamene umístíme na sklíčko. Nakápneme 2 kapky 5 mol/l NaOH. Přikryjeme krycím sklíčkem s červeným lakmusovým papírkem fixovaným pomocí kapky destilované vody. Pokud je přítomná skupina NH⁴⁺, do tří minut se papírek zbarví do modra.

▪ **Důkaz Ca²⁺:**

Kámen rozpustíme zahříváním v 6 N HCl, poté profiltrujeme skrz malý kousek vaty. Zalkalizujeme filtrát mírně alkalickou reakcí přidáním 5 mol/l NaOH. Následně upravíme mírně kyselou reakcí přidáním 5 mol/l kyseliny octové. Přidáme 5 kapek oxalátu amonného. Jako důkaz vápenatých iontů se objeví bílá sraženina.

▪ **Důkaz kyseliny močové a urátů:**

Smícháme prášek kamene v porcelánové odpařovací misce s 5 – 10 kapkami 65 % kyseliny dusičné. Reakční směs necháme odpařit ve vroucí vodní lázni. Po ochlazení přidáme 1 kapku 25 % NH_4OH . Přítomnost dokazovaných látek se projeví změnou barvy na červenofialovou.

Kvantitativní chemické metody jsou sice o něco přesnější, ale jsou zatíženy nedostatky stejně jako metody kvalitativní. Navíc jsou značně složité a časově náročné. Jako příklad těchto metod se uvádí fotometrie a atomová absorpce.

Protože prakticky všechny hlavní komponenty močových kamenů jsou minerály – krystaly, užívají se dnes k jejich identifikaci mineralogické metody. Některé chemické reakce se používají pouze jako doplněk k ověření v některých případech.¹⁴

Mezi hlavní moderní metody patří:

- Infračervená spektroskopie (IČS)
- Rentgenová difrakce (RD)
- Polarizační mikroskopie

▪ **INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE**

Infračervená spektroskopie (dále IČS) patří mezi metody analýz struktury molekul. Poskytuje informace o přítomných funkčních skupinách, o molekulové struktuře látky a slouží i k jejímu kvantitativnímu stanovení. Absorpční spektrum je pro látku tak charakteristické, že prakticky nelze najít dvě různé látky se stejným spektrem.^{3,7}

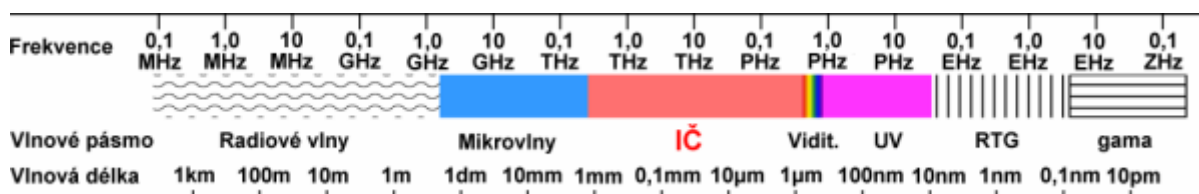
Principem IČS je absorpce infračerveného záření při průchodu vzorkem, při níž dochází ke změnám rotačně vibračních energetických stavů molekuly v závislosti na změnách dipólového momentu molekuly. IČ záření pokrývá část elektromagnetického spektra v rozmezí vlnových délek od 1 do 1000 μm , což odpovídá rozsahu vlnočtů $12800\text{--}10\text{ cm}^{-1}$

Analytickým výstupem je **infračervené spektrum**, které je grafickým zobrazením funkční závislosti energie, většinou vyjádřené v procentech transmitance (T) nebo jednotkách absorbance (A) na vlnové délce dopadajícího záření. Transmitance (propustnost) je definována jako poměr intenzity záření, které prošlo vzorkem (I), k intenzitě záření

vycházejícího ze zdroje (I_0). Absorbance je definována jako dekadický logaritmus $1/T$. Závislost energie na vlnové délce je logaritmická, proto se používá vlnočet, který je definován jako převrácená hodnota vlnové délky a tedy uvedená závislost energie na vlnočtu bude funkcí lineární.^{7,13}

Infračervené záření

IČ záření je neviditelné elektromagnetické vlnění, které navazuje na červený konec viditelného záření. IČ oblast je dále rozdělena do tří částí: blízká ($\lambda = 0,78 - 3,0 \mu\text{m}$), střední ($\lambda = 3 - 50 \mu\text{m}$) a vzdálená IČ oblast ($\lambda = 50 - 1000 \mu\text{m}$). Největší počet charakteristických absorpcí leží ve střední IČ oblasti.⁸



obrázek č.1 – Elektromagnetické spektrum⁹

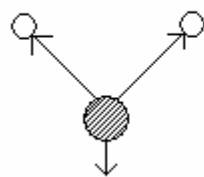
Vibrační a rotační spektra

Jak už je uvedeno výše, při absorpci elektromagnetického záření v infračervené oblasti spektra nastává změna vibračních a rotačních stavů molekuly. Při interakci molekuly s infračerveným zářením se zvětší amplituda vibrací atomů, což je doprovázeno také změnou frekvence rotačního pohybu molekuly. Studium rotačních změn je možné provádět v oblasti vlnočtů menších jak 100 cm^{-1} , pro střední infračervenou oblast jsou dominantní změny vibračních stavů molekuly.³

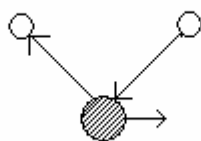
Mezi dva základní typy vibrací patří vibrace valenční a deformační.

- U **valenčních vibrací** se mění převážně mezijaderné vzdálenosti. Dochází zde k rytmickému prodlužování nebo zkracování vazeb beze změny vazebné osy nebo vazebného úhlu.
- U **deformačních vibrací** se mění vazebný úhel.¹³

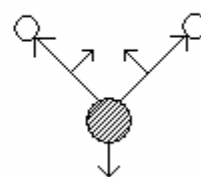
A:



ν_s (OH)



ν_{as} (OH)



δ (HOH)

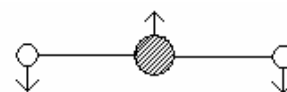
B:



ν_s (CO)



ν_{as} (CO)



δ (CO₂)

obrázek č. 2 - Příklady vibrací

A: vibrace molekuly vody, B: vibrace oxidu uhličitého, ν_s - symetrické valenční vibrace, ν_{as} - asymetrické valenční vibrace, δ - deformační vibrace (typu nůžkové)⁸

atomová skupina	frekvence charakteristických vibrací (cm ⁻¹)	
	valenční vibrace	deformační vibrace
C - H	3100 - 2800	1500 - 1300
C = O	1800 - 1600	
O - H	3600 - 3100	1400 - 1250
		1650 (H ₂ O)
N - H	3500 - 3200	1650 - 1550
NH ⁴⁺	3300 - 3030	1430 - 1390
(PO ₄) ³⁻	1100 - 1000	650 - 550
(CO ₃) ²⁻	1450 - 1350	900 - 850

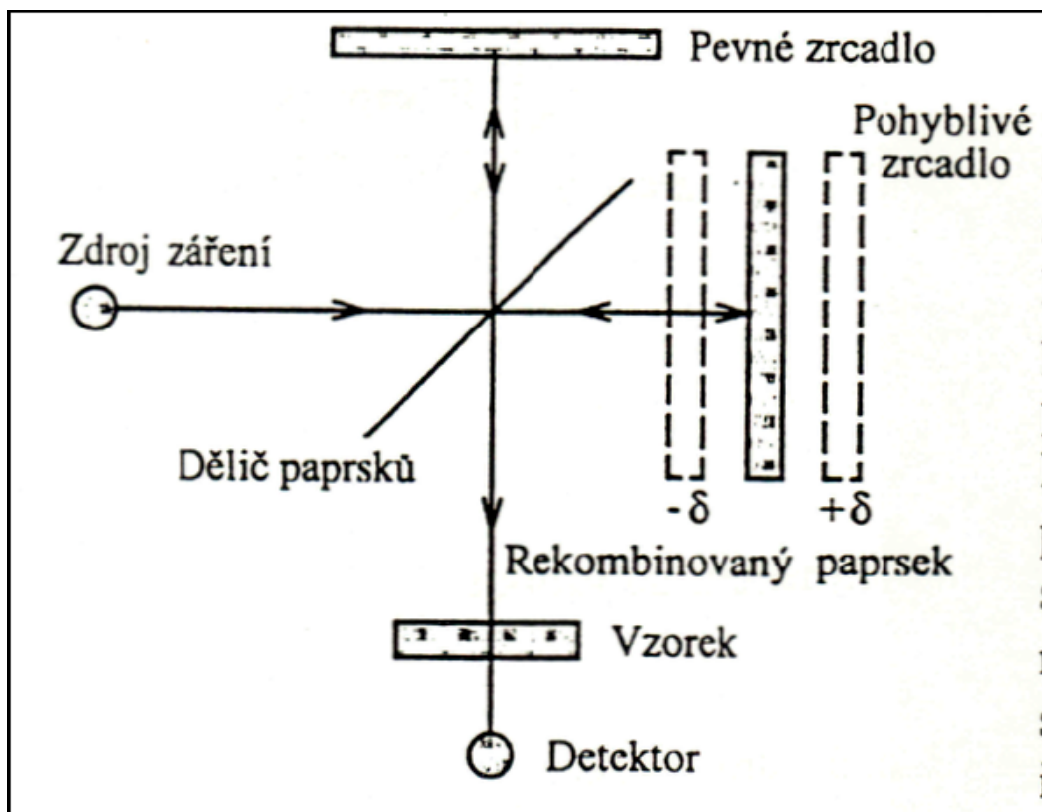
tabulka č. 4 - Charakteristické absorpční pásy funkčních skupin v močových konkrémentech¹⁶

IČ spektrum rozdělujeme na dvě části:

- **oblast skupinových vibrací** – Mezi vlnočty 4000 až 1500 cm^{-1} nacházíme absorpční pásy vibrací různých funkčních skupin.
- **oblast otisku prstů** – Mezi vlnočty 1500 až 670 cm^{-1} nacházíme pásy deformačních vibrací skupin. Nenajdeme dvě látky, které by měly svá spektra v oblasti otisku prstů shodná.¹³

Infračervená spektra se měří ve **spektrometrech**. Konstrukčně starší jsou disperzní spektrometry, které pracují na principu rozkladu použitého IČ záření v hranolovém nebo mřížkovém monochromátoru. Dnes se používají spektrometry s Fourierovou transformací (FTIR spektrometry).¹³

Základem FTIR spektrometru je Michelsonův interferometr. Na obrázku č.3 je znázorněn princip tohoto interferometru.



obrázek č. 3 – Schéma Michelsonova interferometru¹⁷

Záření ze zdroje přichází na polopropustný dělič paprsků - *beamsplitter*, který jednu polovinu paprsků propustí k *pohyblivému zrcadlu*, druhá se odráží směrem k *pevnému zrcadlu*. Paprsky se od obou vzájemně kolmých zrcadel zpětně odrážejí a na děliči paprsků se podle polohy pohyblivého zrcadla buď sčítají, nebo odčítají.

V okamžiku, kdy je vzdálenost pohyblivého a pevného zrcadla od beamsplitteru stejná, dochází ke *konstruktivní interferenci* (vlny se skládají). Tato poloha se nazývá ZPD - zero path difference neboli nulový dráhový rozdíl. Posune-li se pohyblivé zrcadlo o čtvrtinu vlnové délky naší vlny, je celková dráha tohoto paprsku polovina vlnové délky. V tuto chvíli nastane *destruktivní interference* a vlny se navzájem vyruší.

Jak se mění optický dráhový rozdíl δ obou paprsků, signál dopadající na detektor generuje *interferogram*. Získaný interferogram obsahuje veškeré spektrální informace, které se z něho získají *Fourierovou transformací*. Touto složitou matematickou operací jsou všechny body digitalizovaného záznamu přepočteny na klasické IČ spektrum.

Takto získané kvalitní záznamy v digitální formě se dále zpracovávají, vyhodnocují a interpretují s použitím výpočetní techniky.

FTIR spektrometry mají celou řadu výhod, jako je vysoká světelnost, velká rozlišovací schopnost, vlnočtová správnost získaného spektra, velká rychlost záznamu a možnost měřit v širokém vlnočtovém rozsahu.^{17,18,21}

▪ **RENTGENOVÁ DIFRAKCE**

Průkopníkem rentgenové difrakce (RD) byl dánský inženýr Jensen. Tuto metodu pro identifikaci močových konkrementů použil poprvé v roce 1940. Její použití však bylo známo již dříve. V roce 1962 vycházely atlasy difrakčních dat s více jak deseti tisíci různými typy kamenů. Pro analýzu rentgenovou difrakcí jsou nutné počítače se speciálními programy.

Metoda RD nabyla v posledních čtyřiceti letech velmi rychlého rozšíření, ale její použití je omezené. Stanovuje strukturu krystalických látek, kdežto amorfni látky zůstávají nedetekovatelné.¹⁶

Princip metody:

Při dopadu vlny primárního rentgenového záření na atomy v krystalu zůstávají jádra atomů v klidu, ale elektrony jsou rozkmitány se stejnou frekvencí jako má primární záření. Tím se stávají zdrojem sekundárního koherentního rentgenového záření se shodnou vlnovou délkou jako primární záření. Výsledkem celého procesu difrakce, je soubor difraktovaných vln, šířících se od krystalu pouze v určitých směrech. Prostorové rozložení těchto jednotlivých vln pak vytváří difrakční obraz krystalu, který je možné registrovat například na fotografický materiál.¹⁹

Vyšetření močových konkrementů pomocí RD trvá desítky minut a jsou-li výsledky zpracovány pomocí počítače, je výkonnost aparatury vysoká. Další výhodou jsou malá množství vzorků, která se analyzují v práškové formě. Jedná se o referenční metodu.

▪ **POLARIZAČNÍ MIKROSKOPIE**

Tato metoda umožňuje sledovat tenký výbrus nebo prášek v polarizovaném světle a hledat charakteristické indexy lomu, resp. interferenční barvy.

výhody:

- nejlevnější ze všech moderních metod
- rychlost stanovení
- malá spotřeba materiálu (lze vyšetřovat kameny < 1 mm v průměru)
- vysoká citlivost (lze určit i stopové komponenty)

nevýhody:

- poměrně dlouhý zácvek - vyžaduje zkušeného hodnotícího pracovníka
- kvantitu lze pouze odhadovat, ne objektivně měřit

Polarizační mikroskop (PM) je vybavený speciální polarizační optikou, kruhovým otáčecím stolem a dvěma polarizačními hranoly - *nikoly*. Dolní hranol, umístěný pod kondenzorem, se nazývá *polarizátor*. Polarizuje světlo přicházející ze zdroje. Druhý hranol umístěný v tubusu,

analyzuje změny, které nastaly na polarizovaném světle po průchodu krystalem, je analyzátor. Analyzátor je otočený o 90° vzhledem k polarizátoru, mluvíme o tzv. zkřížených hranolech. Světlo, vycházející z normálního zdroje v mikroskopu kmitá ve všech možných rovinách kolmých na směr paprsku. Jakmile však projde polarizátorem, stane se z něho světlo lineárně polarizované, kmitající pouze v jedné rovině. (Obrázek PM viz. příloha – obrázek č. 26) Krystaly dělíme podle jejich soustavy na jednoklonné, trojklonné, kosočtverečné, čtverečné, šesterečné a krychlové. Podle počtu os na jednoosé a dvojosé, pozitivní, nebo negativní. Podle chování v polarizovaném světle na jednolomné (izotropní) a dvojlomné (anizotropní).¹⁴

Paprsek dopadající na anizotropní krystal se štěpí na dva paprsky: řádny a mimořádný. Tyto paprsky jsou navzájem fázově posunuté (šíří se různou rychlostí) a kmitají v různých rovinách. V analyzátoru mikroskopu se oba paprsky složí do stejné roviny kmitu a jejich fázový posun se projeví vznikem interferenčních barev, které jsou pro určité krystaly charakteristické.¹⁵

Při prostých zkřížených hranolech je pozadí zorného pole černé a anizotropní krystaly jsou různě zbarveny, od šedé a bílé až po různě pestré barvy. Pseudoizotropní krystaly (apatit, whitlockit) nejsou většinou vidět vůbec. Chceme-li, aby izotropní a pseudoizotropní krystaly byly vidět, použijeme kompenzační destičky. Interferenční barvy jsou pak pestřejší.¹⁴

Pozorujeme-li polarizačním mikroskopem rozhraní krystalu hraničícího s imerzí můžeme pozorovat úzký světelný lem kolem hranice obou fází či prostředí. Jde o Beckeho linku. Zvedáme-li následně tubus mikroskopu, postupuje Beckeho linka do opticky hustšího prostředí (s větším indexem lomu). Naopak při snižování tubusu se Beckeho linka pohybuje do prostředí opticky řidšího (s menším indexem lomu). Této vlastnosti se využívá k rozlišení krystalů, které mají při pozorování s kompenzační destičkou podobný vzhled, např. k odlišení struvitu od weddellitu a brushitu.²⁴

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Všechna měření byla provedena na Ústavu klinické biochemie a patobiochemie (ÚKBP) FN Motol, blok G 2. patro.

3.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE

Přístroje a pomůcky:

- laboratorní sušárna – BMT Ecocell
- exikátor se silikagelem
- tabletovací zařízení – NARVA PW 20 - na tablety o průměru 12 mm
- ruční hydraulický lis – H 62 - TRYSTOM Olomouc
- membránová vývěva - SIEMENS
- Petriho miska
- porcelánové třecí misky + tloučky
- achátová třecí miska + tlouček
- laboratorní lžička
- kovová špachtle
- buničitá vata
- FTIR spektrometr – Impact 400 Series Spectrometers - Nicolet
- podložní a krycí sklíčka
- polarizační mikroskop – JENAPOL - Carl Zeiss JENA
- analytické váhy METTLER TOLEDO
- fotoaparát

Reagencie a pomocné roztoky:

- KBr – FLUKA p. a. pro infračervenou spektroskopii
- Cedrový olej pro mikroskopii – PENTA – index lomu = 1,518
- 6 N HCl
- 3 % H₂O₂
- destilovaná voda

3.2 SOFTWARE PRO VYHODNOCENÍ IČ SPEKTER

K vyhodnocení a zpracování vzorků se užívají dva počítačové programy:

- spektroskopický software OMNIC - verze 3,1a
- software Kidney Stone Library and Analysis - verze 1,2 - Nicolet

Tyto programy se liší způsobem vyhodnocení konkrementu, ale používají stejné knihovny.

Spektroskopický software OMNIC

Tento počítačový software je nedílnou součástí spektrometru. Umožňuje nastavení parametrů spektrometru, řídí vlastní měření a provádí různé následující operace se spektry včetně jejich vyhodnocení a vyhledávání v knihovnách spekter. Obsahuje dvě spektrální knihovny – Kidney Stone coded a Kidney Stone Library basic.

Software Nicolet Kidney Stone Library and Analysis

K vyhodnocení IČ spekter se využívá také software Nicolet Kidney Stone Library and Analysis. Základní funkcí tohoto softwaru je ve spolupráci s programem OMNIC vyhodnotit spektra analyzovaného vzorku. Tento kit je složen ze tří částí.

První částí je knihovna spekter Kidney Stone Library – Basic, která obsahuje asi 800 spekter. Je určena k základní analýze vzorků s přesností +/- 10 %.

Druhá část - Kidney Stone Coded obsahuje přes 18 000 spekter a je tedy mnohem specifitější. Kromě spekter běžných močových konkrementů je tento program schopen přesně analyzovat i různé artefakty a ojediněle se vyskytující kameny.

Všechny výsledky obsahují také index spolehlivosti (RI) provedené analýzy, kde hodnota 100 představuje maximální procentuální shodu spektra se standardem.

Poslední část softwaru - Kidney Stone Guide obsahuje různé doplňující informace o močových kamenech jako např. obrázek kamene, různé metody chemické analýzy, příčiny vzniku, výskyt konkrementů, tabulky píků, ad.²⁰

3.3 PRACOVNÍ POSTUPY

Každý získaný močový konkrement bylo nejprve nutné připravit k následující analýze. Z každého vzorku jsem připravila tabletu pro IČ spektroskopii a mikroskopický preparát. U apatitu a dahllitu jsem použila chemickou zkoušku k ověření výskytu uhličitánů.

3.3.1 Příprava vzorků močových konkrementů

Většina močových konkrementů má malé rozměry. Často se jedná o objem několika desítek mm³. Získaný vzorek konkrementu je nutné řádně očistit a zbavit všech nežádoucích příměsí za použití peroxidu vodíku. Vzorek necháme oschnout a poté přistoupíme k první části analýzy – popisu konkrementu. Jde o subjektivní hodnocení, které popisuje: počet, barvu, povrch, tvar, velikost a tvrdost konkrementu. Příklady popisu uvádí tabulka č. 5.

počet	1 x úlomky, drť
barva	bílá, béžová, oranžová, světle hnědá, žlutočerná, ... místy bílý, tmavé jádro, na povrchu bílý povlak
povrch	hladký, hrubý, lesklý, matný, drsný, nerovný, nerovný s výběžky, krystalický, krystalický s výběžky, bradavčitý, ostnatý
tvar	nepravidelný, oválný, kulatý
velikost	5 x 3 x 2 mm průměr 5 – 15 mm
tvrdost	značná, střední, nízká

tabulka č. 5 – Příklady popisu močových konkrementů

3.3.2 IČ spektroskopie

Příprava tablet:

Vzorky se analyzují ve formě KBr tablet. Minimálně 2 hodiny před měřením se dostatečné množství KBr nechá vysušit v otevřené Petriho misce. Sušení probíhá při teplotě 120°C v sušárně. Po skončení sušení se miska zakryje víčkem a vloží se do exikátoru, kde zchladne na laboratorní teplotu. Malé množství, cca 30 mg, suchého rozdrceného vzorku se smísí s cca 400 mg KBr v achátové misce. Směs v misce rozetřeme tloučkem a kovovou špachtlí seškrábeme ze stěn. Pro přesnou analýzu vícesložkových konkrémentů se musí analýza často provádět z několika míst vzorku. A to hlavně v případech, kdy konkrément obsahuje jádro.

Do lisovací formy na tablety umístíme označený kroužek a nasypeme do něj připravenou směs. Poklepem směs zarovnáme do roviny. Přiklopíme víko formy a umístíme do lisu. Lisovací formu je třeba v lisu dobře vycentrovat. Hadicí spojíme s membránovou vývěvou. Otočíme páčkou na levé straně lisu. Pustíme vývěvu a pákou lisu pumpujeme dokud neucítíme odpor. Při tlaku 4 MPa na 5 sekund přestaneme pumpovat. Když docílíme tlaku 7 MPa, asi 10 sekund počkáme a poté odpojíme hadici vývěvy a vyndáme formu.

Formu rozebereme a vyndáme kroužek s tabletou, kterou ihned umístíme do exikátoru.

Pro přípravu dalších tablet je nutné achátovou misku umýt 3 % H₂O₂ a důkladně vysušit.

Měření:

Po zapnutí počítače spustíme program OMNIC. FTIR spektrometr je stále zapnutý.

Nejprve provedeme *kontrolu přístroje*. Otevřeme okno Collect a z nabídky vybereme položku Optical Bench Set Up. Do sešitu u přístroje zapíšeme hodnoty signálu Max., Min. a Location. Zavřeme okno.

Měření pozadí: V okně Collect vybereme položku Collect Background. Na obrazovce se zobrazí - Please prepare to collect the background spektrum. Schválíme kliknutím na OK. Změřené pozadí porovnáme se starším uloženým pozadím. Pokud se výrazně neliší, okno zavřeme.

Vlastní měření: V okně Collect stiskneme Collect Sample. Zobrazí se okno, kam zadáme název vzorku a schválíme kliknutím na OK. Poté nás program vyzve k přípravě měření spektra - Please prepare to collect the sample spectrum. Do měřícího prostoru zasuneme

nástavec s tabletou a schválíme kliknutím na OK. Oblast, ve které se spektrum měří, odpovídá vlnočtům od 400 do 4000 cm^{-1} .

Když měření skončí, zobrazí se hláška o ukončení sběru dat – Data collection has stopped. Add to window 1?, kterou schválíme kliknutím na OK. Následně změřené spektrum uložíme vybráním z nabídky – File – Save As.

Vyhodnocení spekter:

Spustíme program Kidney Stone Analysis, kde vybereme položku Analyze - Omnic Active. Program vyhodnotí aktivní spektrum otevřené v programu Omnic a vypíše procentuální shodu spektra se standardem.

Druhá možnost vyhodnocení spektra je součástí programu Omnic. V okně Analyze ho aktivujeme kliknutím na ikonu Search. Program pak vygeneruje deset nejpodobnějších spekter, která vyhodnotíme. Výsledek je vyjádřen buď přímo názvy složek a jejich procentuálním zastoupením, nebo kódovaně formou čísel. První číslo vyjadřuje procentuální shodu se standardem, druhé číslo vyjadřuje počet složek v konkrementu, další číslo je kódem složky konkrementu a číslo za ním jeho procentuální výskyt v konkrementu.

(Např. kód 89 2 0 30 1 70 tedy znamená, že konkrement se shoduje se standardem na 89 %, obsahuje dvě složky, kód 0 označuje whewellit, kterého je zde 30 % a 1 značí weddelitt, kterého je 70 %.)

Ve výsledcích se také setkáváme s pojmem **matrice**. Jedná se o běžné označení neznámé organické sloučeniny, která je vždy přítomna ve vzorcích konkrementů. Obsah matrice je obvykle 5 – 15 % z celkové hmoty konkrementu. Detailní složení matrice dosud není známo.^{16,20}

3.3.3 Polarizační mikroskopie

Příprava vzorku:

Menší vzorky kamene se rozdrtí mezi dvěma podložními sklíčky, čímž vznikne zrnkový preparát. Příliš jemné rozdrcení však není vhodné, protože příslušné krystaly se rozbijí na

mnoho kousků. Na podložní skličko s rozdrceným kamenem se kápne imerzní olej, v našem případě cedrový. Olej necháme rozprostřít a nakonec přiklopíme krycím sklíčkem.¹⁴

Vizuální hodnocení:

Pod polarizačním mikroskopem si u krystalů všímáme tvaru, interferenčních barev a zda je krystal anizotropní či izotropní. Izotropní krystaly nejsou při zkřížených hranolech vidět, proto prohlížíme preparát i v normálním bílém světle, kde si všímáme i případné vlastní barvy krystalů. Pozorování v polarizačním mikroskopu se provádělo při zvětšení 200x.

Pozorování s kompenzační destičkou slouží ke zvýšení interferenčních barev a určení optické orientace krystalu. Pozadí má červenofialovou barvu. Izotropní krystaly jsou dobře vidět jako průhledné útvary, které však po vytažení kompenzační destičky zmizí.¹⁴

3.3.4 Chemické reakce

Tyto reakce slouží k orientačnímu kvalitativnímu stanovení některých kationů a anionů.

- **Důkaz CO_3^{2-} :**

Na rozdrcený kámen na podložním sklíčku umístíme krycí sklíčko. Nakapeme 6 N HCl. Pokud je přítomný uhličitán, začne se uvolňovat oxid uhličitý. Tato reakce se využívá k odlišení dahllitu od apatitu. Dahllit uvolňuje při styku s kyselinou chlorovodíkovou CO_2 , je tedy na tuto reakci pozitivní. Apatit nereaguje.

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

Přesnost a správnost analýzy je často diskutovaným tématem. Její stanovení však není jednoduché. Abychom získali konečný výsledek analýzy daného konkrémentu, je nutné zhodnotit relevanci všech provedených měření a vyhodnocení IČ spekter počítačovými programy. Polarizační mikroskop umožňuje ověření a upřesnění výsledků analýzy IČ spektra. V závěru by měl být uveden výčet pouze takových komponent, které se v konkrémentu s jistotou nacházejí. Konečný výsledek pak do určité míry závisí na subjektivním vyhodnocení. Podle výsledků získaných spekter a podle vizuálního zhodnocení preparátu je nutné se rozhodnout, jak nejlépe zhodnotit všechny údaje.

U jednosložkových konkrémentů uvádím závěrečný obsah komponenty 100 %, přestože někde je zvykem uvádět pouze název komponenty.

Kyselina močová zahrnuje společné označení pro její anhydrid i dihydrát. IČ spektrum sice dokáže tyto její formy rozlišit, ale pro terapii a metafylaxi to význam nemá.

4.1 Analýza močových konkrémentů u různých typů urolitiázy

V první části své práce jsem analyzovala deset močových konkrémentů z archivního souboru udržovaného na ÚKBP pro studijní účely. Vzorky, které jsem obdržela, měly zahrnovat různé typy běžně se vyskytujících konkrémentů. Vzorky jsem zdokumentovala způsobem používaným v ÚKBP. Charakterizaci analyzovaného materiálu jsem rozšířila o stanovení hmotnosti a fotografickou dokumentaci. Vyhodnocení IČ spekter jsem prováděla pomocí dvou počítačových programů viz. kapitola 3.2. Výsledky jsou vyjádřeny v hmotnostních procentech. Všechna IČ spektra jsou zobrazena na obrázcích č. 14 – 25. Fotografie konkrémentů jsou uvedeny na straně 24. Současně jsem u těchto vzorků hodnotila zastoupení jednotlivých komponent v mikroskopických preparátech při pozorování v polarizačním mikroskopu. Vzorky jsem hodnotila způsobem popsaným v kapitole 3.3.3. Po orientačním prohlédnutí celého preparátu jsem vyhodnotila zastoupení jednotlivých složek v reprezentativním počtu zorných polí, což odpovídalo deseti polím. Konečný výsledek

analýzy jsem provedla na základě výsledků IČ spekter s přihlédnutím k hodnotám zjištěných z polarizačního mikroskopu.

Následující strana uvádí kompletní fotografickou dokumentaci všech koncrementů.



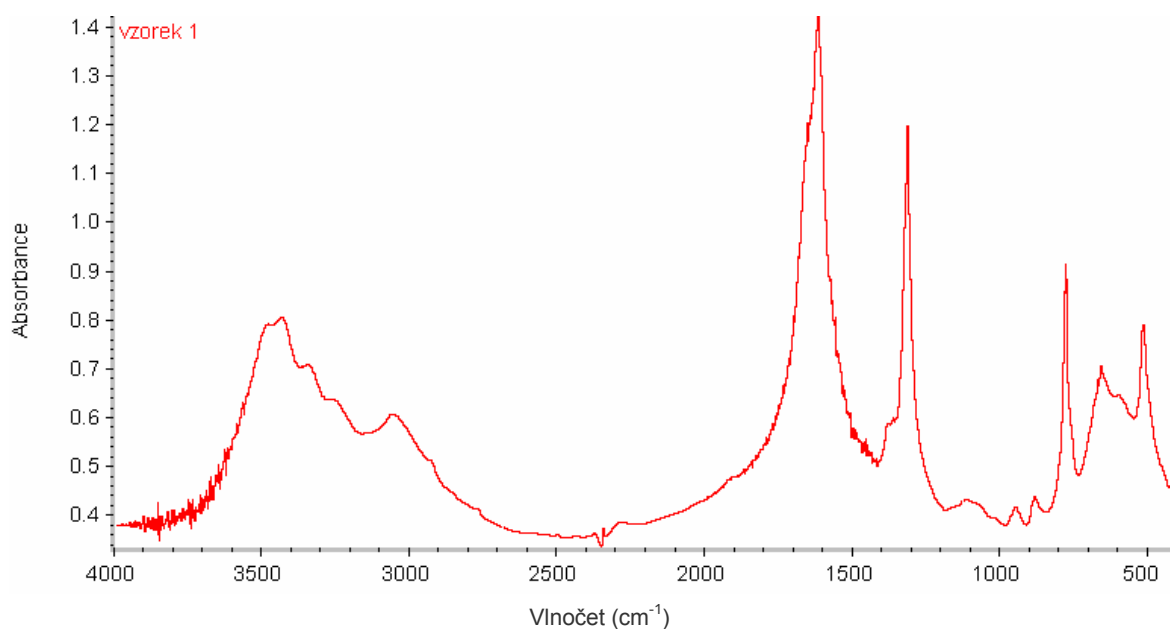
obrázky č. 4 - 13 - Fotografie vzorků močových konkrémentů různých typů urolitiázy; zvětšeno 3x

**Komentář k fotografiím močových konkrémentů různých typů urolitiázy – obsah
komponent**

- Konkrément č. 1 -** whewellit 100 %
- Konkrément č. 2 -** obal: whewellit 85 %, kyselina močová 15 %
jádro: kyselina močová 100 %
- Konkrément č. 3 -** weddellit 70 %, whewellit 30 %
- Konkrément č. 4 -** kyselina močová 75 %, whewellit 25 %
- Konkrément č. 5 -** weddellit 80 %, whewellit 20%
- Konkrément č. 6 -** struvit 60 %, dahllit 40 %
- Konkrément č. 7 -** cystin 100 %
- Konkrément č. 8 -** brushit 100 %
- Konkrément č. 9 -** struvit 80 %, urát amonný 20 %
- Konkrément č. 10 -** obal: apatit 60 %, struvit 40 %
jádro: whewellit 80 %, apatit 20 %

Vzorek č. 1

počet konkrémentů	1 x + úlomky
barva	tmavě hnědá, místy oranžová, střed bílý
povrch	nerovný s výrůstky
tvar	nepravidelný
velikost	11 x 8 x 7 mm
tvrdost	střední
hmotnost	0,5493 g



obrázek č. 14 - IČ spektrum vzorku č. 1 – whewellit 100 %

Kidney Stone Analysis: WHE 87 %, matrice 13 %; index spolehlivosti RI = 89 %

Omnisc: WHE 90 %, 10 % různé minoritní složky

Polarizační mikroskop: WHE

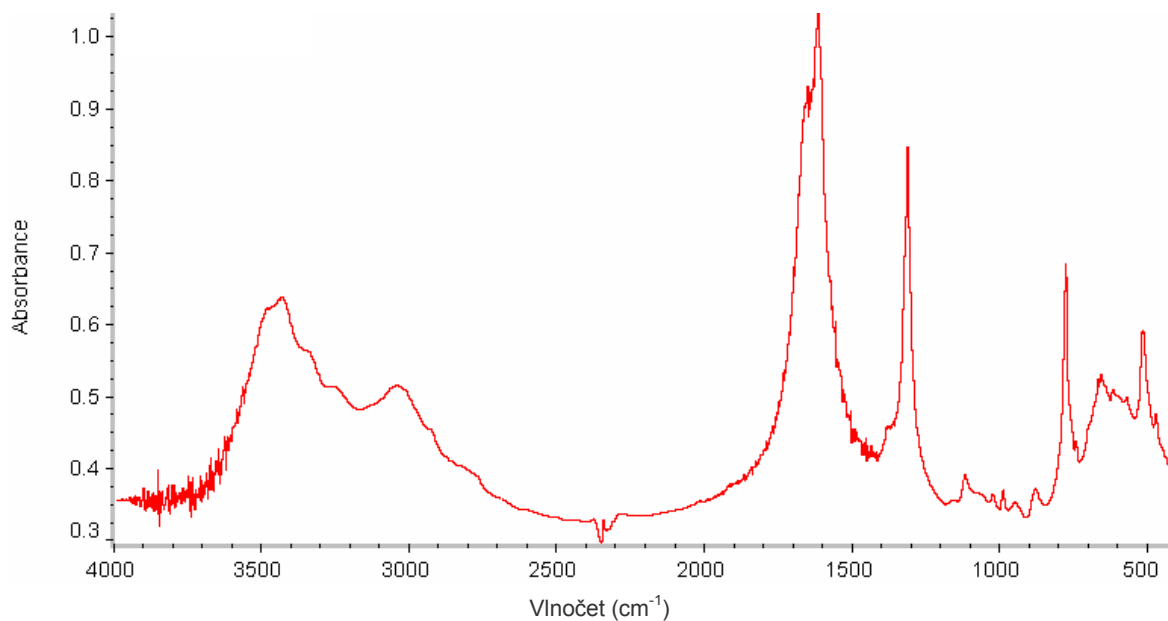
Závěr: whewellit 100 %

Vzorek č. 2

počet konkrémentů	1 x + drť
barva	obal tmavě hnědý, místy fialový a bílý jádro oranžové
povrch	hrubý
tvar	nepravidelný
velikost	9 x 6 x 4 mm
tvrdost	značná
hmotnost	0,5071 g

Vzorek měl jasně oddělené jádro od obalu. Jádro mělo kulatý tvar s průměrem 3 mm. Proto jsem analyzovala obě části odděleně.

a) vzorek č. 2 - obal



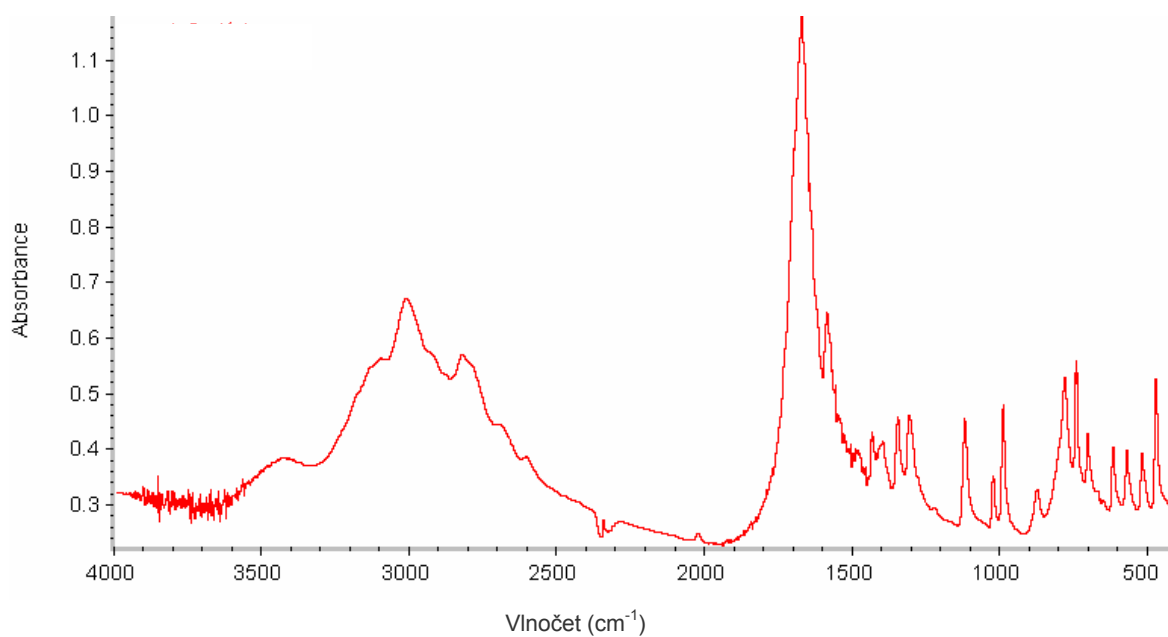
obrázek č. 15 - IČ spektrum obalu vzorku č. 2 - whewellit 85 %, kyselina močová 15 %

Kidney Stone Analysis: WHE 82 %, kyselina močová 14 %, matrice 4 %; RI = 90 %

Omnisc: WHE 80 %, kyselina močová 20 %

Polarizační mikroskop: WHE

b) vzorek č. 2 - jádro



obrázek č. 16 - IČ spektrum jádra vzorku č. 2 - kyselina močová

Kidney Stone Analysis: kyselina močová 88 %, matrice 12 %; RI = 87 %

Omnice: kyselina močová 100 %

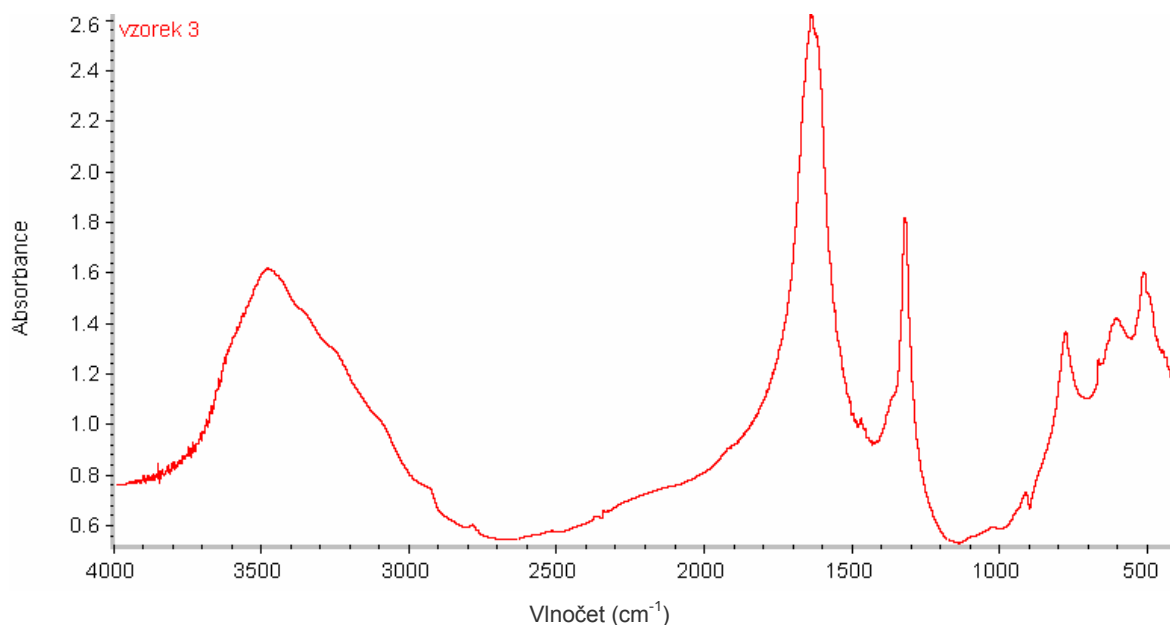
Polarizační mikroskop: kyselina močová

Závěr: obal - whewellit 85 %, kyselina močová 15 %

jádro - kyselina močová 100 %

Vzorek č. 3

počet konkrémentů	1 x
barva	běžová až světle oranžová
povrch	krystalický
tvár	oválný
velikost	11 x 7 x 5 mm
tvrdost	střední
hmotnost	0,4972 g



obrázek č. 17 - IČ spektrum vzorku č. 3 - weddellit 70 %, whewellit 30 %

Kidney Stone Analysis: WED 71 %, WHE 20 %, matrice 9 %; RI = 90 %

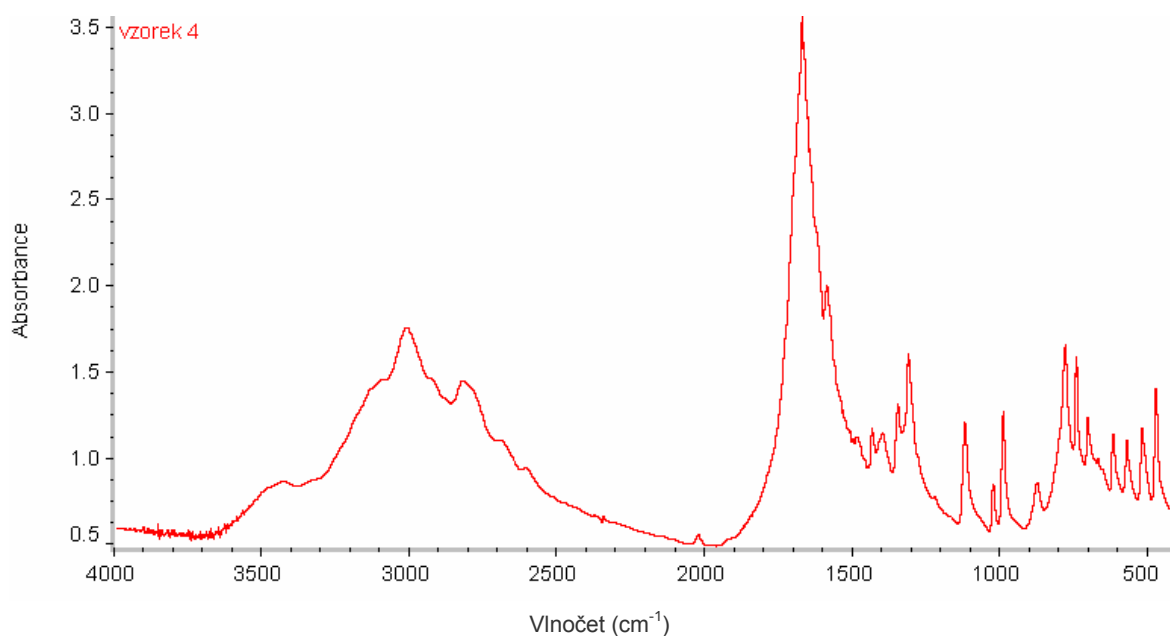
Omnic: WED 75 %, WHE 25 %

Polarizační mikroskop: WED, WHE - v poměru 3 : 2

Závěr: weddellit 70 %, whewellit 30 %

Vzorek č. 4

počet konkrémentů	1 x
barva	oranžová, místy bílá
povrch	hladký s výběžky
tvar	oválný
velikost	10 x 7 x 5 mm
tvrdost	střední
hmotnost	0,5339 g



obrázek č. 18 - IČ spektrum vzorku č. 4 - kyselina močová 75 %, whewellit 25 %

Kidney Stone Analysis: kyselina močová 74 %, WHE 26 %; RI = 84 %

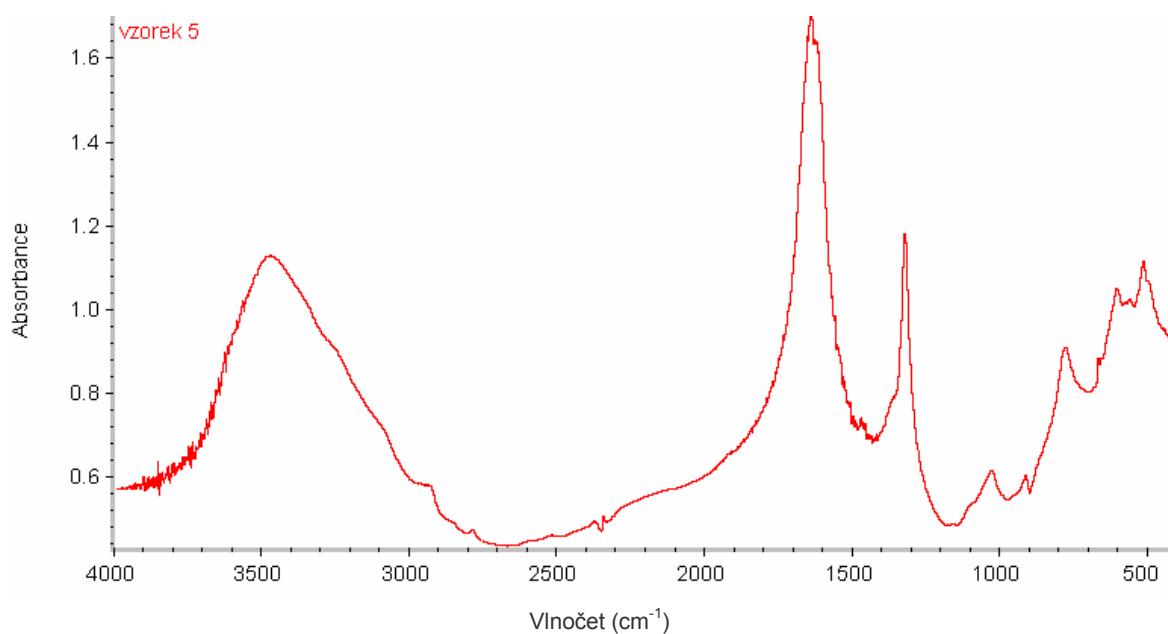
Omic: kyselina močová 75 %, WHE 25 %

Polarizační mikroskop: kyselina močová (zastoupení WHE nelze vyhodnotit vzhledem k podobným optickým vlastnostem)

Závěr: kyselina močová 75 %, whewellit 25 %

Vzorek č. 5

počet konkrémentů	1 x + drť
barva	běžová, střed tmavě hnědý
povrch	krystalický s výběžky
tvár	nepravidelný
velikost	10 x 7 x 4 mm
tvrdost	nížká
hmotnost	0,5282 g



obrázek č. 19 - IČ spektrum vzorku č. 5 - weddellit 80 %, whewellit 20%

Kidney Stone Analysis: WED 72 %, WHE 19 %, matrice 9 %; RI = 91 %

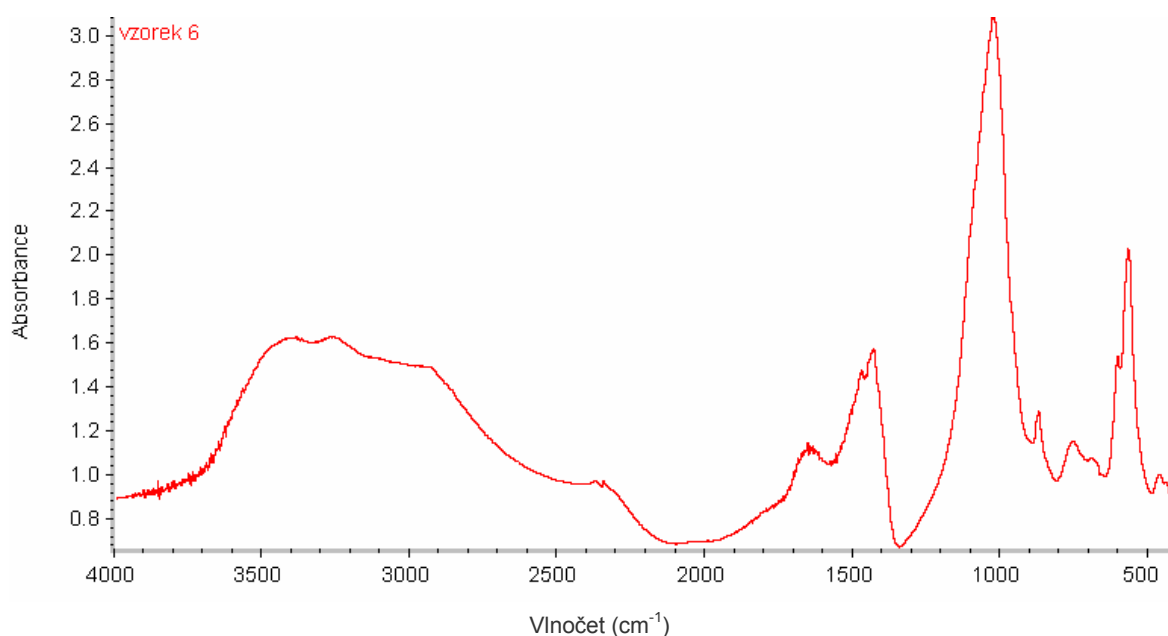
Omnic: WED 80 %, WHE 20 %

Polarizační mikroskop: WED, WHE - v poměru 4 : 1

Závěr: weddellit 80 %, whewellit 20%

Vzorek č. 6

počet konkrémentů	1 x
barva	bílá, místy světle oranžová
povrch	hrubý
tvar	nepravidelný
velikost	12 x 8 x 4 mm
tvrdost	nízká
hmotnost	0,3299 g



obrázek č. 20 - IČ spektrum vzorku č. 6 - struvit 60 %, dahllit 40 %

Kidney Stone Analysis: struvit 58 %, dahllit 27 %, amorfni kalciumfosfát-karbonát 14 %, matrice 1 %; RI = 93 %

Omic: struvit 60 %, dahllit 30 %, amorfni kalciumfosfát 10 %

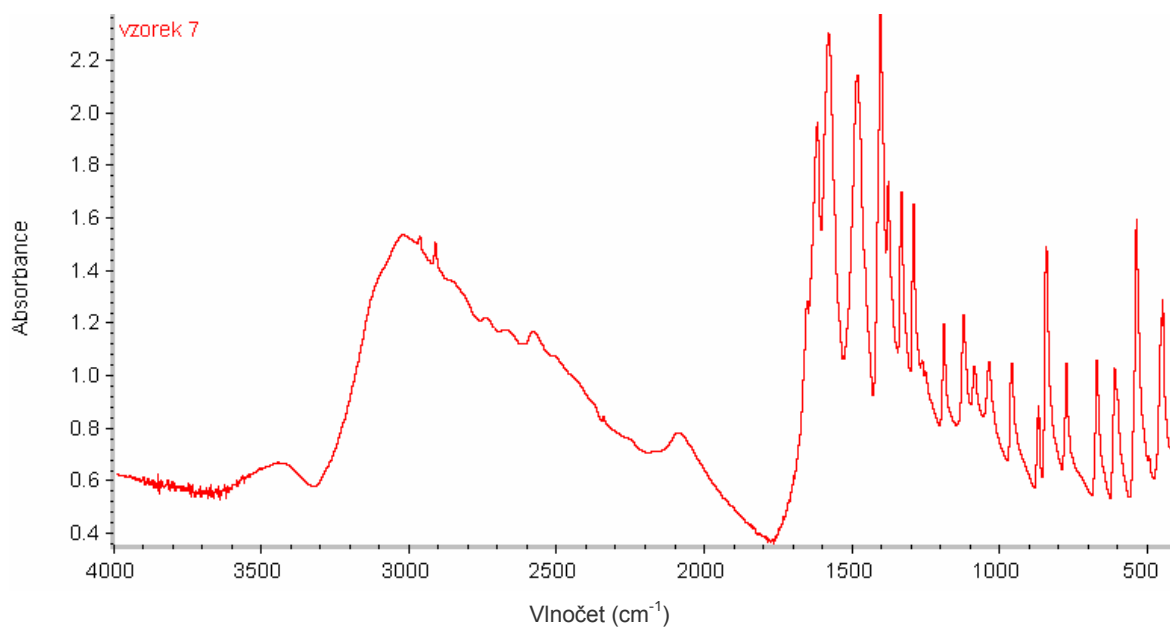
Polarizační mikroskop: struvit, dahllit - v poměru 2 : 1

Chemická zkouška: $(\text{CO}_3)^{2-}$ pozitivní

Závěr: struvit 60 %, dahllit 40 %

Vzorek č. 7

počet konkrémentů	3 x + úlomky
barva	jantarová
povrch	nerovný, mírně krystalický
tvar	kulatý, nepravidelný
velikost	9 x 7 x 6, 8 x 6 x 5, 6 x 6 x 5 mm
tvrdost	nízká
hmotnost	0,4233 g; 0,3904 g; 0,2480 g



obrázek č. 21 - IČ spektrum vzorku č. 7 – cystin 100 %

Kidney Stone Analysis: cystin 96 %, matrice 4 %; RI = 95 %

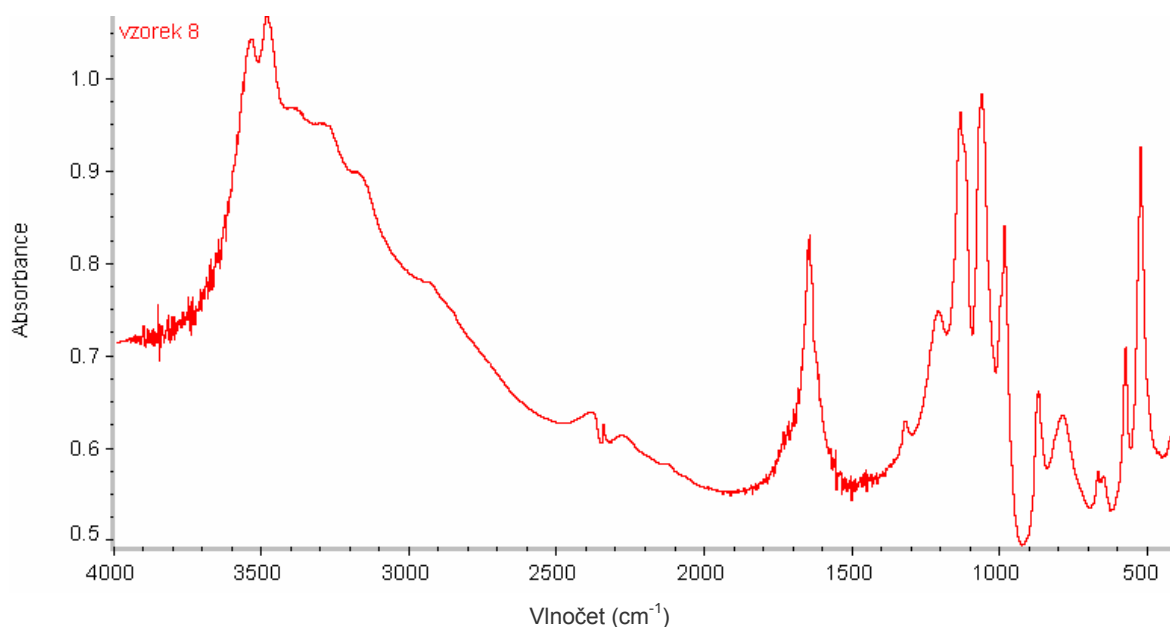
Omnic: cystin 100 %

Polarizační mikroskop: cystin

Závěr: cystin 100 %

Vzorek č. 8

počet konkrémentů	1 x
barva	bílá
povrch	hladký
tvár	oválný
velikost	11 x 6 x 6 mm
tvrdost	střední
hmotnost	0,5806 g



obrázek č. 22 - IČ spektrum vzorku č. 8 - brushit 100 %

Kidney Stone Analysis: brushit, kyselina palmitová (přístroj nedokázal přesně určit zastoupení komponent, výsledek určil jako artefakt, nebo ojediněle se vyskytující komponenty)

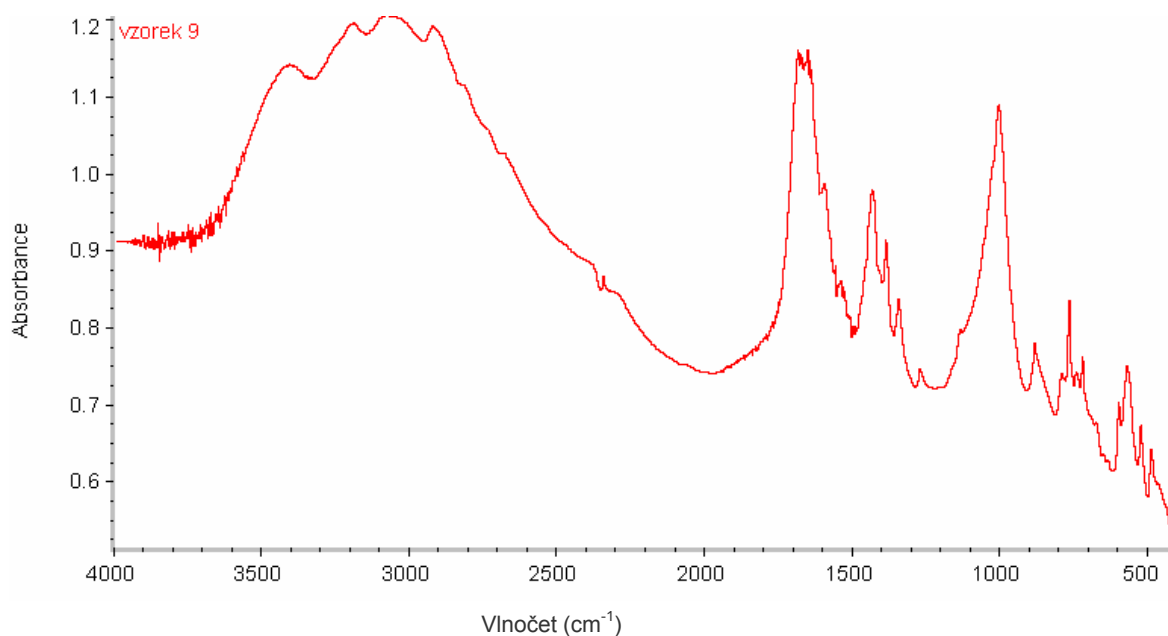
Omnic: brushit 80 %, WED 10 %, 2,8-dihydroxyadenin 10 %

Polarizační mikroskop: brushit

Závěr: brushit 100 %

Vzorek č. 9

počet konkrémentů	1 x + drť
barva	bílá
povrch	krystalický s výběžky
tvar	nepravidelný
velikost	10 x 9 x 7 mm
tvrdost	nízká
hmotnost	0,2935 g



obrázek č. 23 - IČ spektrum vzorku č. 9 - struvit 80 %, urát amonný 20 %

Kidney Stone Analysis: struvit 81 %, urát amonný 15 %, matrice 4 %; RI = 93 %

Omic: struvit 80 %, urát amonný 20 %

Polarizační mikroskop: struvit, urát amonný - v poměru 7 : 3

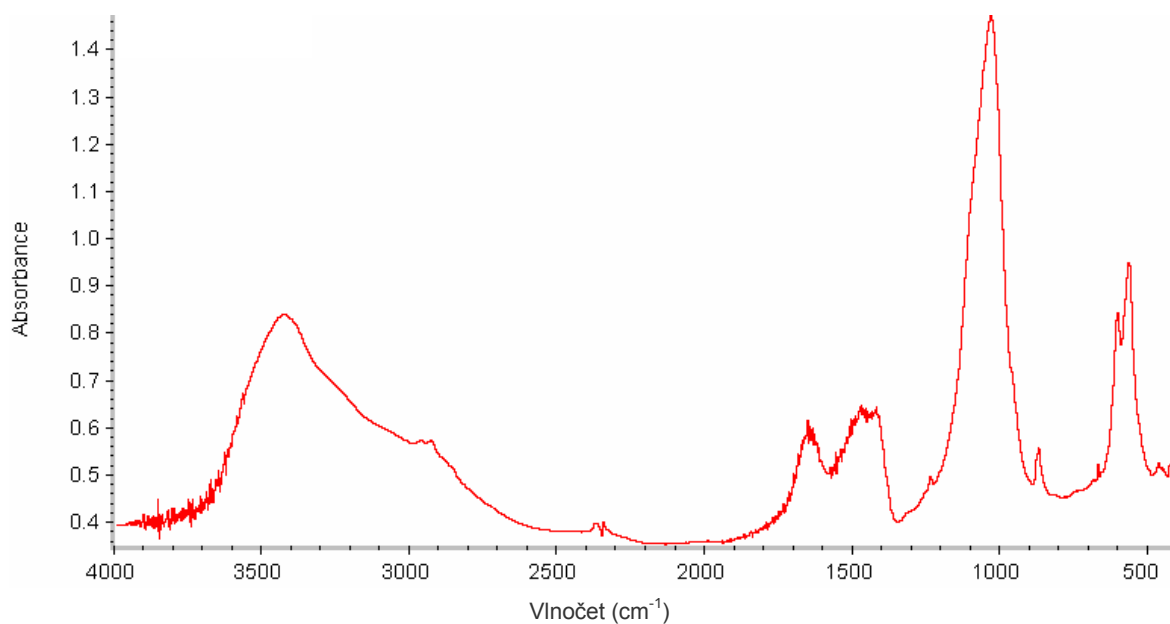
Závěr: struvit 80 %, urát amonný 20 %

Vzorek č. 10

počet koncrementů	2 x + drť
barva	tmavě hnědá
povrch	hladký s prasklinami
tvar	oválný
velikost	12 x 9 x 5, 7 x 7 x 3 mm
tvrdost	nízká
hmotnost	0,8898 g; 0,1947 g

Po rozbití kámen obsahoval tmavě zbarvené jádro.

a) vzorek č. 10 - obal



obrázek č. 24 - IČ spektrum obalu vzorku č. 10 - apatit 60 %, struvit 40 %

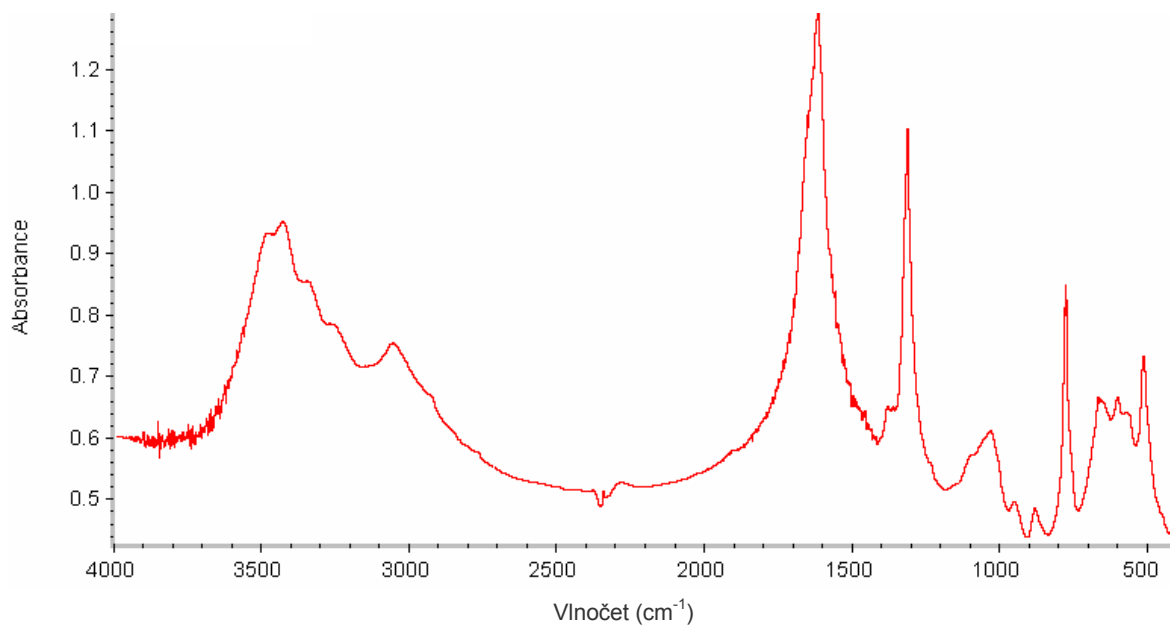
Kidney Stone Analysis: dahllit 48 %, struvit 30 %, amorfni kalciumfosfát-karbonát 22 %,
matrice 0 %; RI = 92 %

Omic: dahllit 50 %, struvit 30 %, amorfni kalciumfosfát 20 %

Polarizační mikroskop: apatit, struvit - v poměru 3 : 1

Chemická zkouška: CO₃²⁻ negativní

b) vzorek č. 10 - jádro



obrázek č. 25 - IČ spektrum jádra vzorku č. 10 - whewellit 80 %, apatit 20 %

Kidney Stone Analysis: WHE 60 %, metabolity Triamterenu 25 %, proteiny 15 %

Omnic: WHE 75 %, dahllit 15 %, WED 10 %

Polarizační mikroskop: WHE, apatit - v poměru 4 : 1

Chemická zkouška: CO_3^{2-} negativní

Závěr: obal – apatit 60 %, struvit 40 %

jádro – whewellit 80 %, apatit 20 %

4.1.1 Komentář k výsledkům analýzy vzorků různých typů urolitiázy

U prvního vzorku, vyhodnocení IČ spektra v obou vyhodnocovacích programech, vedlo k závěru stoprocentního obsahu whewellitu v konkrementu. Oba programy sice našly další složky v minoritním zastoupení (13 % matrice; 10 % různé komponenty), ale polarizačním mikroskopem jsem identifikovala pouze krystaly whewellitu.

Druhý konkrement byl rozlišen na jádro a obal. Už z pouhého pohledu na konkrement ještě před vlastní analýzou bylo možné odhadnout, že jádro bude obsahovat kyselinu močovou. Upozorňovalo na to jeho oranžové zbarvení. Jádro i obal se vyhodnocovaly odděleně. Podle výsledků IČ spekter jádro opravdu obsahovalo kyselinu močovou. Kyselina močová se vyskytovala i v obalu, kde však byla zastoupena pouze 15 %. V obalu převažoval whewellit. Rozlišení whewellitu a kyseliny močové v polarizačním mikroskopu je obtížné pro podobný vzhled krystalů, proto jsem výsledek musela založit na hodnocení IČ spektra.

Konkrementy číslo 3 a 5 měly velice podobné výsledky obou analýz. V obou převažoval weddellit a vyskytoval se v konkrementu spolu s whewelitem. Whewellit a weddellit se dají velmi dobře odlišit v PM. Moje pozorování se shodovalo s vyhodnocením IČ spektra počítačovými programy.

Zbarvení konkrementu číslo čtyři opět napovídalo výskyt kyseliny močové. Vyhodnocení IČ spektra tuto domněnku potvrdilo. Konkrement obsahoval ze tří čtvrtin kyselinu močovou a z jedné čtvrtiny whewellit. Při pozorování pod polarizačním mikroskopem nebylo možné odlišit krystalky kyseliny močové od whewellitu.

Vyhodnocení IČ spektra u šestého vzorku zobrazovalo kromě struvitu a dahllitu také amorfní kalciumfosfát-karbonát. Rozlišení fosfátových konkrementů ve vyhodnocovacích programech, které jsem používala, má svá specifika. Jedním z nich je, že kromě dahllitu programy rozlišují amorfní kalciumfosfát-karbonát. Ten se od dahllitu odlišuje především krystalickou strukturou. Z hlediska diagnostiky urolitiázy však toto rozlišení význam nemá, proto obě látky uvádím pod označením dahllit. Důležitá je zde také chemická zkouška na uhličitany, která byla v tomto případě pozitivní.

V sedmém vzorku vyšlo ve vyhodnocení IČ spektra stoprocentní zastoupení cystinu. V polarizačním mikroskopu byly pouze krystaly cystinu.

Konkrement číslo osm obsahoval brushit. Výsledky IČ spektrometru uváděly také různé minoritní složky (kyselinu palmitovou, weddellit, 2,8-dihydroxyadenin).

Jejich desetiprocentní zastoupení v počítačovém vyhodnocení IČ spektra zde však nepovažuji za relevantní. Navíc PM ukázal pouze jeden typ krystalů, které mají charakteristický vzhled. Devátý konkrement obsahoval struvit a urát amonný. Analýzy IČ spektra i PM se opět shodovaly. Krystaly těchto komponent se dají v polarizačním mikroskopu dobře rozlišit. Poslední konkrement obsahoval jádro a obal, které jsem analyzovala odděleně. V obalu se vyskytoval apatit a struvit. Obě tyto komponenty jsou dobře rozlišitelné v PM. I zde, podobně jako u šestého konkrementu, IČ spektrometr uváděl amorfni kalciumfosfát-karbonát, ale chemická zkouška zde prokázala, že se jedná o apatit. U jádra jsem v konečném výsledku přihlédla k hodnocení v polarizačním mikroskopu, kde byl whewellit spolu s apatitem. Program Kidney Stone Analysis také zobrazoval přítomnost triamterenu a proteinu. Druhý vyhodnocovací program Omnic však tento nález nepotvrdil.

4.2 Analýza močových konkrementů u patientských vzorků

V druhé části práce jsem analyzovala vzorky močových konkrementů poslané k vyšetření na ÚKBP v období od 7. 2. 2008 do 3. 3. 2008. Vzorky jsem zpracovala způsobem používaným v podmínkách laboratorního provozu. Pro charakterizaci souboru pacientů jsem použila údaje o věku, pohlaví a diagnóze pacienta. Celkem jsem zpracovala dvacet vzorků. Charakteristika močových konkrementů a vyhodnocení analýzy močových konkrementů jsou zpracovány v tabulkách č. 6 a 7.

V tabulce číslo 7 uvádím na rozdíl od předchozí skupiny vzorků pouze jeden výsledek analýzy IČ spektra. Jedná se o analýzu pomocí počítačového programu Omnic. Tento program vyhodnotí IČ spektrum tak, že zobrazí deset možných výsledků složení daného vzorku, které se nejlépe shodují s porovnávaným standardem spektra močového konkrementu. Hodnotící osoba má zde možnost tyto výsledky porovnat a vybrat ty, které se nejčastěji opakují a mají vysoký index spolehlivosti. Tento způsob vyhodnocení je hlavní rozdíl mezi počítačovými programy, které jsou použity v této práci. Druhý používaný počítačový program (Kidney Stone Analysis) totiž zobrazí pouze jeden konečný výsledek analýzy IČ spektra.

Jeden vzorek, který byl také ve sledovaném období poslán na oddělení k analýze, jsem do souboru pacientů v mé práci nezařadila. IČ spektrum po vyhodnocení pomocí počítačového programu neodpovídalo spektru močových konkrementů, jednalo se o artefakt. Program vyhodnotil kámen jako albit. Index spolehlivosti u vyhodnocení tohoto vzorku byl velmi nízký – pouze 68 %. Albit se řadí mezi minerály ze skupiny živců.

číslo vzorku	počet konkrementů	barva	povrch	tvar	velikost (mm)	tvrdost
1.	2	rezavá	hrubý	nepravidelný	3 x 3 x 2, 1 x 1 x 1	nízká
2.	1	hnědošedá	jemně krystalický	nepravidelný	5 x 3 x 2	nízká
3.	1	jantarová	hladký	nepravidelný	5 x 3 x 3	nízká
4.	1	hnědá	jemně krystalický	nepravidelný	3 x 2 x 1	střední
5.	2	světle hnědá	hrubý	nepravidelný	1 – 3	střední
6.	1	světle hnědá	mírně krystalický	nepravidelný	3 x 2 x 1	nízká
7.	2	hnědá	jemně krystalický	nepravidelný	3 x 2 x 2, 3 x 1 x 1	střední
8.	2	okrová	krystalický	nepravidelný	5 x 4 x 2, 2 x 2 x 1	nízká
9.	1	tmavě hnědá	krystalický	nepravidelný	3 x 3 x 2	střední
10.	1	smetanová	krystalický	nepravidelný	3 x 3 x 2	střední
11.	1	tmavě hnědá	mírně krystalický	nepravidelný	6 x 4 x 3	střední
12.	1	světle hnědá	krystalický	nepravidelný	6 x 3 x 2	střední
13.	1	šedobílá	hladký	oválný	15 x 10 x 6	střední
14.	3 + drť	světle hnědá až béžová	hrubý	nepravidelný	5 – 10	střední
15.	1	obal - světle hnědý jádro - tmavě hnědé	hrubý - pórovitý	nepravidelný	8 x 3 x 3	střední
16.	1	tmavě hnědá	hrubý	kulatý	2 x 2 x 2	střední
17.	1	hnědá	hrubý	nepravidelný	2 x 2 x 2	střední
18.	1	světle hnědá	hrubý	nepravidelný	2 x 2 x 2	nízká
19.	velké množství	oranžovohnědá	mírně krystalický	většinou kulatý	5 x 4 x 2 – 1 x 1 x 1	značná
20.	1	šedohnědá	krystalický	ovál	15 x 7 x 6	střední

tabulka č. 6 – Charakteristika a popis močových konkrementů v souboru pacientů

V souboru pacientů se vyskytovalo 17 mužů a 3 ženy, věkové rozmezí bylo 15 - 76 let. Mladší byli pouze tři muži, jeden ve věku 15 let a dva ve věku 21 let. Ve věkovém složení patientského souboru převažovali pacienti nad 50 let.

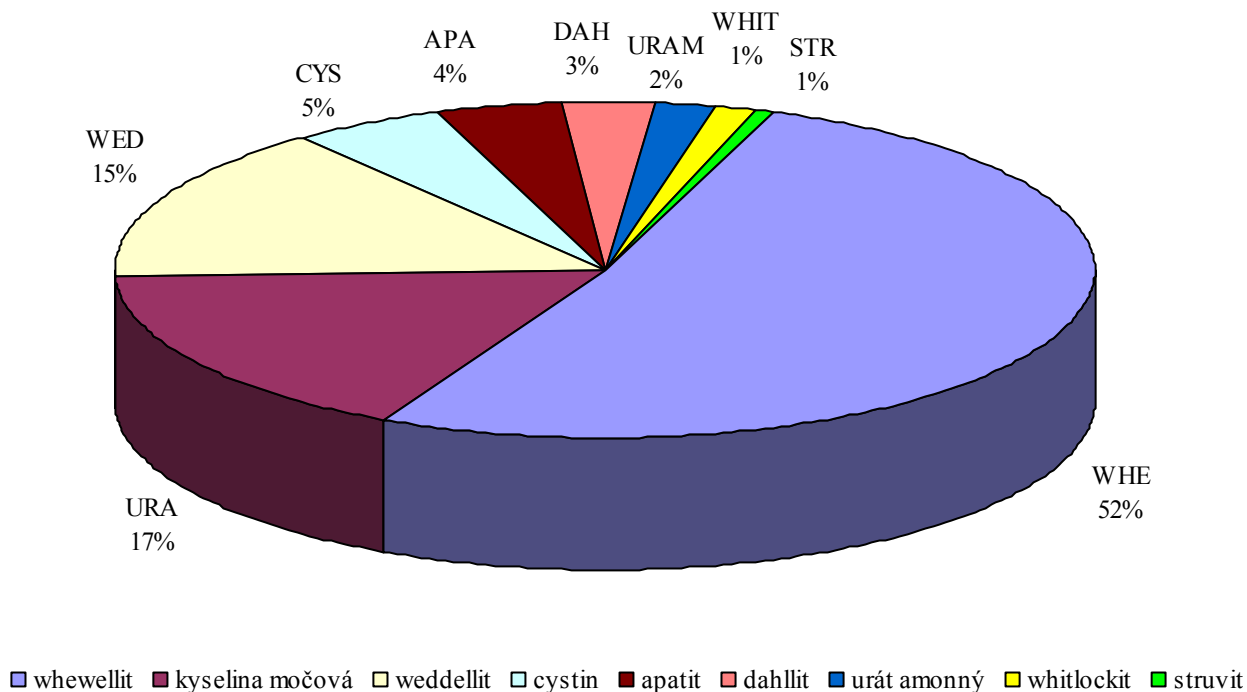
U 45 % pacientů byla stanovena diagnóza kámen ledviny. Kámen močovodu se vyskytoval u 20 % pacientů stejně jako jiná neurčená břišní bolest. U jednadvacetiletého muže (číslo vzorku 14) byla uvedena diagnóza porucha parathyreoidey.

Číslo Vzorku	pohlaví	věk (roky)	infračervená spektroskopie	RI (%)	polarizační mikroskopie	závěr	chem. zk
1.	M	57	URA 100 %	78	URA	URA 100 %	
2.	Ž	32	DAH 40 %, WHE 30 %, WED 30%	79	WHE, WED, APA - 2 : 2 : 1	WHE 35 %, WED 35 %, APA 30 %	-
3.	Ž	32	CYS 100 %	92	CYS	CYS 100 %	
4.	M	76	WHE 100 %	85	WHE	WHE 100 %	
5.	M	32	WHE 90 %, WED 10 %	89	WHE	WHE 100%	
6.	M	15	WHE 50 %, WED 50 %	90	WHE, WED - 3 : 1	WHE 60 %, WED 40 %	
7.	M	41	WHE 90 %, WED 10 %	83	WHE, WED - 4 : 1	WHE 80 %, WED 20 %	
8.	Ž	66	WHE 50 %, DAH 30 %, WED 20 %	86	WHE, WED, APA - 5 : 3 : 3	WHE 50 %, WED 25 %, APA 25 %	-
9.	M	55	WHE 80 %, WED 20 %	90	WHE + stopy WED	WHE 90 %, WED 10 %	
10.	M	49	WHE 60 %, WED 40 %	93	WHE, WED - 3 : 2	WHE 60 %, WED 40 %	
11.	M	59	WHE 100 %	92	WHE	WHE 100 %	
12.	M	61	WHE 85 %, WED 15%	88	WHE + stopy WED	WHE 90 %, WED 10 %	
13.	M	66	URA 55 %, urát amonný 45 %	92	URA (URAM nelze rozlišit)	URA 55 %, urát amonný 45 %	
14.	M	21	DAH 65 %, WHIT 35 %	84	APA + stopy STR	DAH 60 %, WHIT 30 %, STR 10 %	+
15.	M	61	obal - URA 100 %	89	URA	URA 100 %	
			jádro - WHE 80 %, URA 20 %	89	WHE (URA nelze rozlišit)	WHE 90 %, URA 10 %	
16.	M	58	WHE 85 %, WED 15 %	95	WHE, WED - 9 : 1	WHE 90 %, WED 10 %	
17.	M	21	WHE 75 %, WED 25 %	92	WHE, WED, APA - 6 : 3 : 1	WHE 70 %, WED 20 %, APA 10 %	-
18.	M	44	WED 55 %, WHE 45 %	90	WED, WHE, APA - 6 : 3 : 1	WED 60 %, WHE 30 %, APA 10 %	-
19.	M	41	URA 90 %, STR 10 %	90	URA	URA 100 %	
20.	M	59	WHE 50 %, WED 50 %	92	WHE, WED - 3 : 1	WHE 60 %, WED 40 %	

tabulka č. 7 - Vyhodnocení složení močových konkrementů v souboru pacientů

Procentuální zastoupení jednotlivých složek močových konkrementů v souboru patientských vzorků je zobrazeno v grafu č. 1.

Zastoupení komponent močových konkrementů v souboru pacientských vzorků



graf č. 1 – Zastoupení komponent močových konkrementů v souboru patientských vzorků

4.2.1 Komentář k výsledkům analýzy patientských vzorků

U většiny analyzovaných vzorků se hodnocení IČ spektra shodovalo s pozorováním v PM, nebylo tedy obtížné stanovit konečný obsah komponent.

U vzorků č. 2, 8, 14, 17 a 18, které obsahovaly fosfátové komponenty, bylo nutné provést chemickou zkoušku pro odlišení apatitu od dahllitu. Zkouška byla pozitivní pouze u 14. vzorku, tento konkrement tedy obsahoval dahllit. U zbylých vzorků tato zkouška potvrdila přítomnost apatitu.

Pátý a devatenáctý konkrement sice měl podle spektrometru obsahovat kromě majoritní složky také z deseti procent složku minoritní, ale ta nebyla při pozorování pod mikroskopem

vůbec patrná. Jak jsem již uváděla, obsah okolo deseti procent není zcela spolehlivý. Rozhodla jsem se tedy pro závěr stoprocentního obsahu dané majoritní komponenty.

Konkrement číslo 13 obsahoval podle IČ spektrometru 55 % kyseliny močové a 45 % urátu amonného. Při pozorování v polarizačním mikroskopu mají tyto komponenty velice podobnou strukturu, proto jsem přihlédla k výsledku analýzy IČ spektra.

Vzorek č. 14 obsahoval struvit, který sice nebyl zachycen pomocí IČ spektroskopie, ale byl dobře patrný v polarizačním mikroskopu. Struvit je opticky anizotropní a lze ho zřetelně odlišit od opticky neaktivních krystalů.

Patnáctý konkrement byl složen z jádra a obalu. Jádro i obal se vyhodnocovaly odděleně.

Vzorky č. 17 a 18 obsahovaly stopová množství apatitu. Metodou IČ spektroskopie sice tato komponenta odhalena nebyla, ale v PM je apatit dobře detekovatelný.

4.3 Diskuze

Při hodnocení složení močových konkrementů jsem vycházela z analýzy IČ spekter. Většina komponent močových konkrementů má charakteristická spektra. Na základě píků v oblasti $400 - 2000 \text{ cm}^{-1}$ lze jednotlivé látky ve spektru identifikovat. Složitější situace je u látek, jejichž spektra mají podobný průběh (whewellit a weddellit) a u vícesložkových konkrementů. Zde jsem vycházela z údajů kvantitativního vyhodnocení pomocí počítačových programů, které porovnávají IČ spektrum s knihovnou spekter močových konkrementů.

K vyhodnocení IČ spekter jsem používala dva počítačové programy – Kidney Stone Analysis a Omnic. Tyto programy se liší tím, jak konkrement vyhodnocují, ale oba používají stejné knihovny. Program Kidney Stone Analysis používá termín matrice. Ve vyhodnocení programem Omnic je výsledkem deset IČ spekter s největší podobností s analyzovaným spektrem. Může se stát, že v každém z těchto hodnocení je jiná minoritní složka. Toto označení používám pro látky, které se v konkrementu vyskytují v zastoupení okolo 10 % a jsou metodou IČ spektroskopie obtížně stanovitelné, protože jejich příspěvek k výslednému IČ spektru je malý.

Polarizační mikroskop umožňuje rozlišení krystalů na základě optických vlastností. Dobře odlišitelné jsou např. krystaly whewellitu od weddellitu, apatitu od struvitu, nebo whewellitu od apatitu. Naopak těžko se dají odlišit krystaly kyseliny močové v kombinaci s whewellitem, které mají podobný vzhled.

Složení konkrementu se dalo odhadovat také podle jeho zbarvení ještě před samotnou analýzou. Tmavě hnědá barva napovídala výskyt whewellitu, světlá naopak výskyt weddellitu a oranžová barva patřila většinou kyselině močové. I podle infračerveného spektra se dalo odhadnout co bude konkrement obsahovat, ještě před vyhodnocením pomocí počítače. Například pro oxaláty byly typické dva píky okolo vlnočtu 1400 a 1600 cm^{-1} . Přítomnost fosfátů zase napovídal pík okolo vlnočtu 1000 cm^{-1} .

V souboru pacientů převažují muži. Např. Bulková³ uvádí, že ženy tvoří asi jednu třetinu z celkového počtu nemocných urolitiázou.

Z hlediska diagnózy byl zajímavý záchyt mladého pacienta s poruchou parathyreoidey, což svědčí o poruše metabolismu vápníku. Ve výsledku konkrement obsahoval především dahllit a whitlockit, což poruchu vápníku také potvrzuje.

I na malém souboru vzorků, analyzovaném v této práci, se potvrdilo několik faktů, které uvádí Masopust⁵. Následující odstavec poukazuje na tyto poznatky, vyplývající z analýzy patientských vzorků.

Vyhodnocení rutinních patientských vzorků vypovídá o vysokém výskytu oxalátových konkrementů v naší populaci, konkrétně whewellitu a weddellitu. Výsledky také potvrzují, že pokud se vyskytují v konkrementu společně, tak v jejich poměrném zastoupení převažuje whewellit^{16,22}.

Z tohoto souboru vzorků bylo šest konkrementů jednosložkových, osm dvousložkových a pět konkrementů se skládalo ze tří složek. Jeden konkrement byl složen z jádra a obalu, které měly rozdílné složení. Obal obsahoval pouze kyselinu močovou a jádro převážně whewellit. Domnívám se, že stopy kyseliny močové v jádře při IČ spektroskopii mohly být způsobeny kontaminací se vzorky obalu. V procesu tvorby konkrementu se nejdříve vytvořilo oxalátové jádro. Později došlo ke změně, která mohla být vyvolána například změnou diety, nebo nemocí. Tato informace je důležitá pro lékaře, aby mohl posoudit příčiny tvorby konkrementu u konkrétního pacienta.

U jednosložkových konkrementů se nejčastěji vyskytuje whewellit a kyselina močová (viz. vzorky č. 1, 4, 5, 11, 15, 19). Pro dvousložkové konkrementy je typická kombinace whewellitu s weddellitem (viz. vzorky č. 6, 7, 9, 10, 12, 16, 20). A konečně u tříložkových konkrementů se nejčastěji vyskytují oxaláty spolu s apatitem (viz. vzorky č. 2, 8, 17, 18).

5. ZÁVĚR

Byla provedena analýza močových konkrementů infračervenou spektroskopií a polarizační mikroskopií. K vyhodnocení IČ spekter byly použity počítačové programy, které porovnávají analyzovaný vzorek s knihovnamí spekter močových kamenů.

V souboru konkrementů obsahujícím všechny běžně se vyskytující komponenty močových kamenů jsem ověřila, že vyhodnocení minoritních složek konkrementu v IČ spektrometru může být problematické. Pro konečný výsledek je přínosem porovnání s metodou polarizační mikroskopie. Kombinace těchto metod je výhodná.

V analyzovaném souboru pacientů převažovaly osoby vyššího věku s diagnózou kámen ledvin. V zastoupení komponent převažovaly oxalátové složky (67 %), kyselina močová (17 %) a fosfátové komponenty (8 %). Cystin, struvit a urát amonný se vyskytovaly jako komponenty s malou četností.

Výsledky odpovídají údajům o složení močových konkrementů v naší populaci.

6. LITERATURA

1. Racek J. et al.: Klinická biochemie, Galén, Praha 2006, s. 241 – 246.
2. Křížek V., Sadílek L.: Urolitiáza, etiopatogeneze, konzervativní terapie a prevence, Avicenum, Praha 1990.
3. Laboratoř RNDr. Tamary Bulkové v Brně [online 20.11. 2007]
<<http://www.calculi.cz/index.php>>
4. Bartoníčková K.: Urolitiáza. In: Schück O., Tesař V., Teplan V. et al.: Klinická nefrologie, Medprint, Praha 1995, s. 179 – 198.
5. Masopust J.: Klinická biochemie. Požadování a hodnocení biochemických vyšetření I., Karolinum, Praha 1998.
6. Ministerstvo zdravotnictví ČR [online 20.11. 2007]
<<http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/hypertext/200620/hypertext/AJEMO.htm>>
7. Laboratoř molekulové spektroskopie - VŠCHT v Praze [online 22.11.2007]
<<http://lms.vscht.cz/>>
8. Kalous V.: Jak moderní chemie zkoumá strukturu molekul, Nakladatelství technické literatury, Praha 1983.
9. Elektromagnetické spektrum [online 22.11.2007]
<<http://www.atelier-dek.cz/img/termovize/spektrum.png>>
10. Heilberg I. P., Schor N.: Renal stone disease: Causes, evaluation and medical treatment, Arq. Bras. Endocrinol. Metab. **50**, 823-831 (2006).
11. Curhan G. C., Willett W. C., Speizer F. E., et al.: Intake of Vitamins B6 and C and the Risk of Kidney Stones in Women, J. Am. Soc. Nephrol. **10**, 840–845 (1999).
12. Heilberg I. P.: Update on dietary recommendations and medical treatment of renal stone disease, Nephrol. Dial. Transplant. **15**, 117-123 (2000).
13. Klouda P.: Moderní analytické metody, Nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava 2003.
14. Tobiška J.: Polarizační stanovení močových kamenů, Ústav pro další vzdělávání stř. zdrav. prac., Brno 1984.
15. Laboratoř anorganických materiálů VŠCHT v Praze [online 7.12.2007]
<http://www.vscht.cz/sls/vyzkum/metody/polarizacni_mikroskopie.htm>
16. Dubanský A. et al.: Rozbory močových konkrementů, Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, Brno 1994.

17. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy [online 13.12.2007]
<www.natur.cuni.cz/~analchem/pprakt/ftir.pdf>
18. Doc. RNDr. Miroslava Trchová, CSc.: Jak vibrují atomy v molekulách
[online 13.12.2007]
<www.open-science.cz/ov/users/Image/default/C1Kurzy/NH2006pdf/15.pdf>
19. Fyzikální sekce Matematicko-fyzikální fakulty UK: Rentgenová spektroskopie a difrakce [online 3.3.2008] <http://physics.mff.cuni.cz/vyuka/zfp/txt_421.pdf>
20. Kidney Stone Library and Analysis Kit - uživatelská příručka, Nicodom 1995.
21. Jak funguje FTIR spektrometr a jak ho nastavit, Nicolet CZ 2001.
22. Společnost instrumentárek: Urologie - Doc. MUDr. Ivan Kawaciuk, CSc. II.část
[online 3.3.2008]
<http://www.instrumentarky.cz/detail_stu.php?id_clanek=46&rovnat>
23. Kidney Stone Guide – součást softwaru Nicolet Kidney Stone Library and Analysis.
24. Doc. RNDr. Zdeněk Losos, CSc.: Optická mikroskopie - měření indexu lomu krystalických látek [online 1.4.2008]
<http://sci.muni.cz/chemsekce/c8870/pdf/Uloha11_Mereni_indexu_lomu.pdf>

7. SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

APA - apatit

CYS - cystin

DAH - dahllit

FTIR spektrometry - spektrometry s Fourierovou transformací

IČ - infračervený

IČS - infračervená spektroskopie

n - index lomu

PM - polarizační mikroskop

RD - rentgenová difrakce

RI - index spolehlivosti

STR - struvit

ÚKBP - Ústav klinické biochemie a patobiochemie

URA - kyselina močová

URAM - urát amonný

WED - weddellit

WHE - whewellit

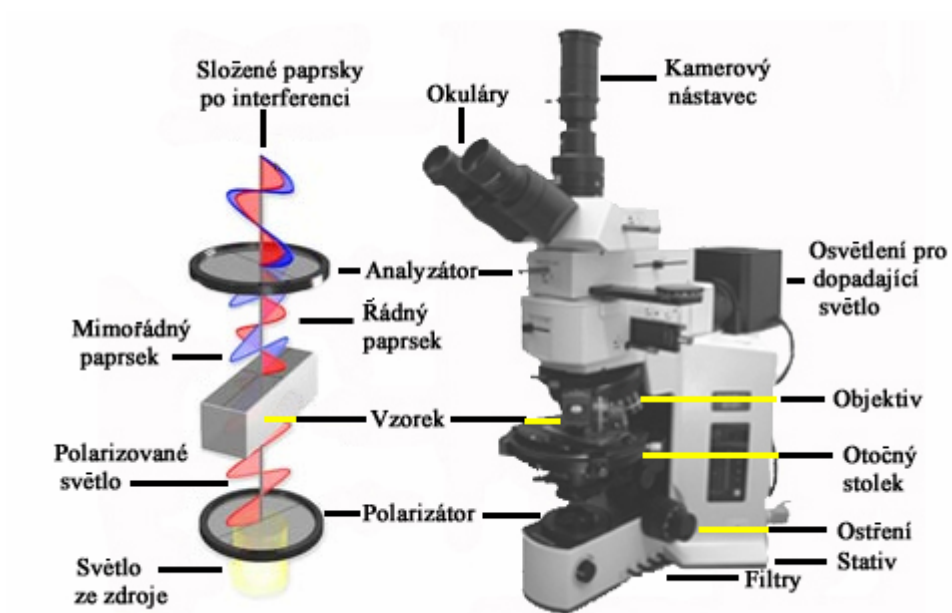
WHIT - whitlockit

δ - deformační vibrace

ν_{as} - asymetrické valenční vibrace

ν_s - symetrické valenční vibrace

8. PŘÍLOHY



obrázek č. 26 - Polarizační mikroskop (PM Olympus BX 51P)¹⁵