

DOI: 10.34921/amj.2022.1.018

**Kolupayev S.M.^{1,2}, Lesovoy V.N.^{1,2}, Andonyeva N.M.^{1,2},
Bereznyak E.P.³, Lesovaya M.A.⁴**

SİDİK DAŞLARININ KRİSTALLOOPTİK XARAKTERİSTİKASI VƏ MİNERAL TƏRKİBİNİN XÜSUSİYYƏTLƏRİ

¹Xarkov Milli Tibb Universiteti A.Q.Podrez adına Urologiya, nefrologiya və andrologiya kafedrası;

²V.Şapoval adına Vilayət Tibbi-Klinik Urologiya və Nefrologiya Mərkəzi;

³"Xarkov fiziki-texniki institutu" Milli Elmi Mərkəzi;

⁴Xarkov Beynəlxalq Tibb Universiteti Peşə təmayüllü fənlər kafedrası, Ukrayna

Xülasə. Məqalədə sidik daşlarının strukturunu və mineral tərkibini öyrənmək məqsədilə aparılmış tədqiqat işi haqqında məlumat verilmişdir.

37 xəstədən ekstrakorporal zərbə-dalğa litotripsiyası üsulu ilə alınmış sidik daşlarının strukturunu və mineral tərkibi öyrənilmişdir. Kongrementlərin strukturunu polarizasiya mikroskopundan istifadə edilməklə, kristallooptik analiz vasitəsilə öyrənilmişdir. Daşların mineral tərkibini öyrənmək üçün infraqırmızı spektroskopiyadan istifadə edilmişdir.

Tədqiq edilən sidik daşı nümunələrindən 72,9%-də kristallik faza aşkar edilmişdir və onların əsas komponentləri hidroksilapatitlə kombinasiyada olan vevellit (13,5%), hidroksilapatitlə birləşən sidik turşusu (40,5%), karbonapatit və kalsium-fosfatla birləşən veddelit (18,5%) olmuşdur. Xəstələrdən 21,6%-dən götürülmüş sidik turşusu nümunələrində vevellitdən ibarət olan kristal fazadan əlavə, amorf kalsium-fosfatdan (8,1%) və amorf kalsium-oksaldan (13,5%) ibarət amorf faza aşkar edilmişdir. 2 müayinədə (5,4%) duzların nadir kombinasiyası – sidik turşusu və flüorapatitdən ibarət kristallik faza və araqonitlə üzvi turşulardan ibarət amorf faza müşahidə edilmişdir.

Müəlliflər apardıqları tədqiqat əsasında belə nəticəyə gəlmişlər ki, sidik daşlarının qarışıq mineral tərkibində vevellit üstünlük təşkil edir. Daşların strukturunda kristallaşmanın başlanğıc dövrü üçün səciyyəvi olan amorf fazanın iştirakı daşın nisbətən yeni olduğunu göstərir.

Açar sözlər: sidik daşı xəstəliyi, infraqırmızı spektroskopiya, kristallooptik analiz

Ключевые слова: мочекаменная болезнь, инфракрасная спектроскопия, кристаллооптический анализ

Keywords: urolithiasis, infrared spectroscopy, crystal-optical analysis

Колупаев С.М.^{1,2}, Лесовой В.Н.^{1,2}, Андоньева Н.М.^{1,2}, Березняк Е.П.³, Лесовая М.А.⁴

КРИСТАЛЛООПТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОСОБЕННОСТИ МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА МОЧЕВЫХ КАМНЕЙ

¹Кафедра урологии, нефрологии и андрологии имени проф. А.Г.Подреза Харьковского национального медицинского университета; ²Областной медицинский клинический центр урологии и нефрологии им. В. Шаповала; ³Национальный научный центр «Харьковский физико-технический институт»;

⁴Кафедра профессионально-ориентированных дисциплин, Харьковский международный медицинский университет, Харьков, Украина

Представлены результаты исследования, проведенного с целью изучения структуры и минерального состава мочевого камня.

В работе проведен анализ структуры и минерального состава мочевого камня, полученных у 37 больных после проведения экстракорпоральной ударно-волновой литотрипсии камней почек и мочеочников. Структура конкремента изучалась на основании кристаллооптического анализа с использованием поляризационного микроскопа. Минеральный состав камня оценивался путем проведения инфракрасной спектроскопии.

72,9% исследованных образцов мочевых камней представлены кристаллической фазой, основным компонентом которой, является вевеллит, присутствующий в комбинации гидроксилатапатитом (13,5%), гидроксилатапатитом и солями мочевой кислоты (40,5%), вевеллитом, карбонатапатитом и фосфатом кальция (18,9%). У 21,6% пациентов в образцах мочевых камней, кроме кристаллической фазы, представленной вевеллитом, присутствовала аморфная фаза в виде аморфного фосфата кальция (8,1%) и аморфного оксалата кальция (13,5%). В двух случаях (5,4%) была идентифицирована редкая комбинация солей: кристаллическая фаза, состоящая из солей мочевой кислоты и фторапатита, а также аморфная фаза в виде комбинации арагонита и органических кислот.

Таким образом, мочевые камни имеют смешанный минеральный состав, преобладающим компонентом которого является вевеллит. Наличие аморфной фазы в структуре конкремента, которая является предшествующей стадией в процессе кристаллизации, может свидетельствовать об относительно молодом возрасте камня.

Мочекаменная болезнь занимает ведущее место в структуре урологических заболеваний. В последние десятилетия отмечается увеличение числа случаев уrolитиаза, распространенность которого имеет региональные различия и составляет от 1-5% в Азии, 5-9% в Европе и 7-13% в Северной Америке [1,2]. Данная патология в большинстве случаев имеет рецидивирующий характер. Частота рецидивов составляет от 10% в течение первого года до 50% в течение 10 лет после активного удаления камня [3], отмечаются случаи камнеобразования сочетанной локализации [4]. Несмотря на длительное изучение патогенеза камнеобразования, их состава, особенностей биоминерализации мочевой системы, многие вопросы остаются неясными, в том числе и роль экзогенных факторов [5-7]. Изменяющиеся эпидемиологические условия с изменением роли вирусных заболеваний [8, 9], разнообразие проявлений процессов биоминерализации [10] не изменяют значимости проявлений камнеобразования в почках [11]. Учитывая широкую распространенность и рецидивный характер уrolитиаза, определение минерального состава и структуры конкремента является неотъемлемой частью обследования пациентов с мочекаменной болезнью с целью дальнейшего выбора оптимальной стратегии метафилактики данного заболевания. Исходя из вышесказанного, **целью работы** явилось изучение структуры и минерального состава мочевых камней методами кристаллооптического анализа и инфракрасной спектроскопии.

Материалы и методы исследования. Структура и минеральный состав мочевых камней, полученных в виде фрагментов после экстракорпоральной ударно-

волновой литотрипсии, были изучены у 37 больных с мочекаменной болезнью. Первым этапом исследования являлся кристаллооптический анализ, с использованием поляризационного микроскопа ПОЛАМ-Л211, с применением иммерсионных жидкостей. В процессе микроскопии оценивалось соотношение аморфной и кристаллической фаз, характер кристаллизации. На втором этапе проводилась инфракрасная спектроскопия (ИКС) образца. Для регистрации спектров поглощения в ИК-диапазоне был использован ИК-спектрофотометр ИКС-29 (ЛОМО). Регистрация спектров производилась в спектральном диапазоне 4000-400 см⁻¹ (средняя инфракрасная область). Исследовались порошкообразные препараты, полученные растиранием фрагментов мочевых камней в агатовых ступках до размера частиц ~ 1-10 мкм. Образцы приготавливались в виде прозрачных спрессованных таблеток из смеси КВг, служившего матрицей, и исследуемого вещества (в количестве 1 %, навеска 100 мг). Таблетки имели прямоугольную форму и размеры 25x5 мм. Давление при прессовании составляло 9200 кг/см². Для исключения полос поглощения матрицы в канал сравнения прибора помещалась таблетка из чистого бромистого калия, предварительно высушенного при 180°C в течение 10 часов. Порошки растирались и смешивались в специальном закрытом боксе, прессование производилось непосредственно перед регистрацией спектров. Градуировка производилась по спектру полистирола с известными частотами максимумов поглощения. Поправка составляла в среднем 5 -10 см⁻¹. Минеральный состав камня оценивался на основании идентификации характерных для определенных химических соединений полос поглощения в ИК диапазоне [12-13].

Результаты исследования. По данным кристаллооптического анализа у 27 пациентов (72,9%) мочевые камни были представлены кристаллической фазой в виде прозрачных, полупрозрачных и непрозрачных кристаллов, размерами 10-30 мкм, с разной интенсивностью окраски: от светло бежевого до черного цвета. При последующем проведении ИК спектроскопии данных образцов было выявлено, что у большинства

пациентов – 23 (62,1%) камни имели смешанный минеральный состав, состоящий из 2, 3 и 4 соединений.

Наиболее частым компонентом в структуре камня был веделлит (моногидрат оксалата кальция – $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) который в большинстве образцов – 15 (40,5%), находился в сочетании с гидроксилапатитом ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) и солями мочевой кислоты ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$). Объемное соотношение вышеуказанных компонентов было следующим: соли кальция (веделлит и гидроксилапатит) составляли 85-95 объемн. % образца, соли мочевой кислоты – 5-15 об. %. Инфракрасные полосы поглощения веделлита (520,

650, 780, 820), гидроксилапатита (420, 435, 440, 455, 470) и солей мочевой кислоты (490, 1140, 1155, 1170, 3270) в образце представлены на рис. 1 (а,б).

Веделлит в структуре мочевого камня был идентифицирован у 7 (18,9%) пациентов, при этом он находился в кристаллической фазе в сочетании с веделлитом, карбонатапатитом и фосфатом кальция (рис.1(г) и рис. 2(а)). Инфракрасные полосы поглощения веделлита (620, 630, 780, 910), веделлита (510, 870, 1315, 1600), карбонатапатита с фосфатом кальция (440, 1040, 1090, 1400) в образце камня представлены на рис. 1 (в,г).

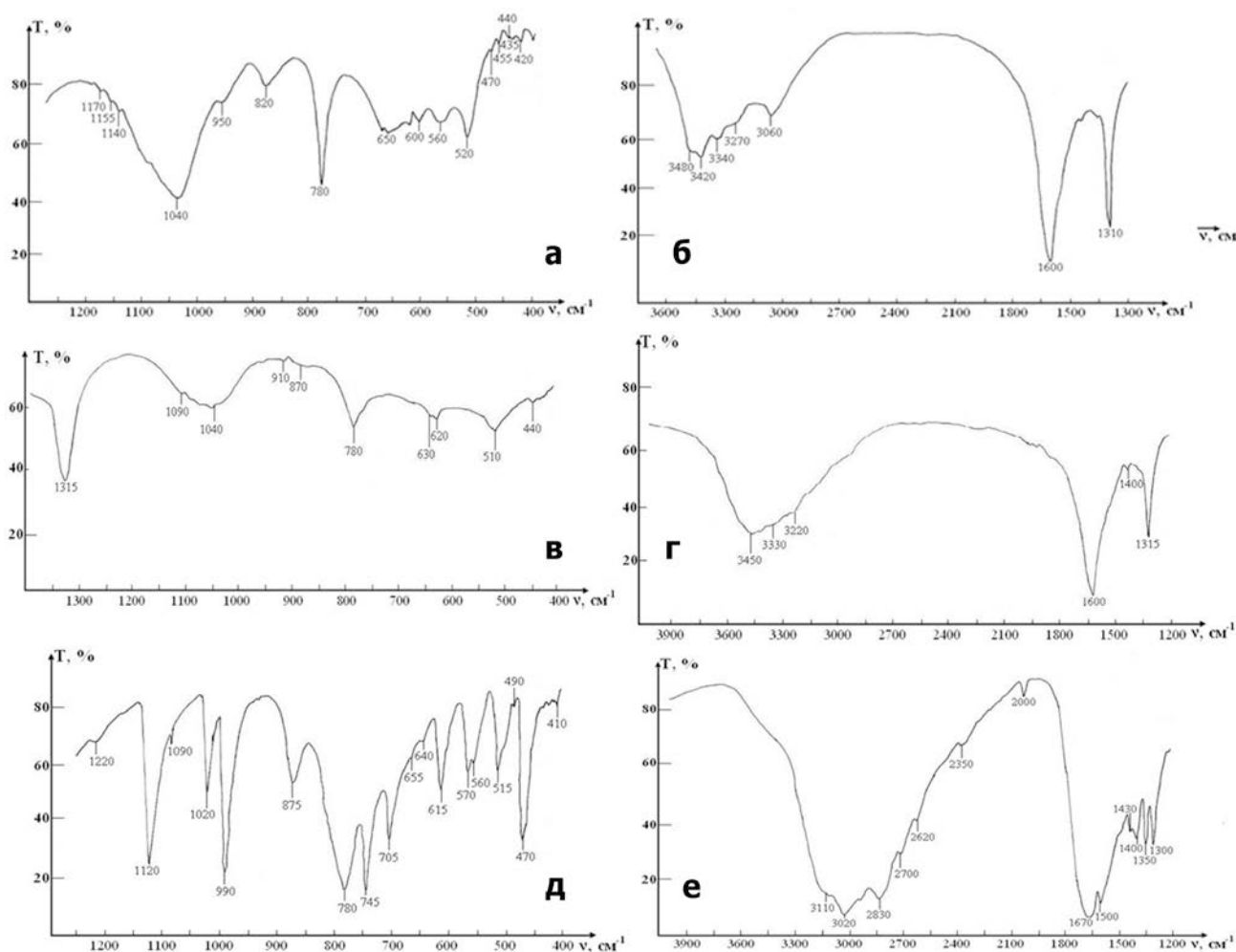


Рис. 1. ИК-спектры поглощения мочевого камня: а) веделлит, гидроксилапатит, соли мочевой кислоты в диапазоне частот 400-1200 см^{-1} ; б) веделлит, гидроксилапатит, соли мочевой кислоты в диапазоне частот 1200-4000 см^{-1} ; в) веделлит, веделлит, карбонатапатит и фосфаты кальция в диапазоне 400-1400 см^{-1} ; г) веделлит, веделлит, карбонатапатит и фосфаты кальция в диапазоне 1200-4000 см^{-1} ; д) мочевая кислота, фторапатит, арагонит, органические кислоты в диапазоне частот 400-1400 см^{-1} ; е) мочевая кислота, фторапатит, арагонит, органические кислоты в диапазоне частот 1200-4000 см^{-1}

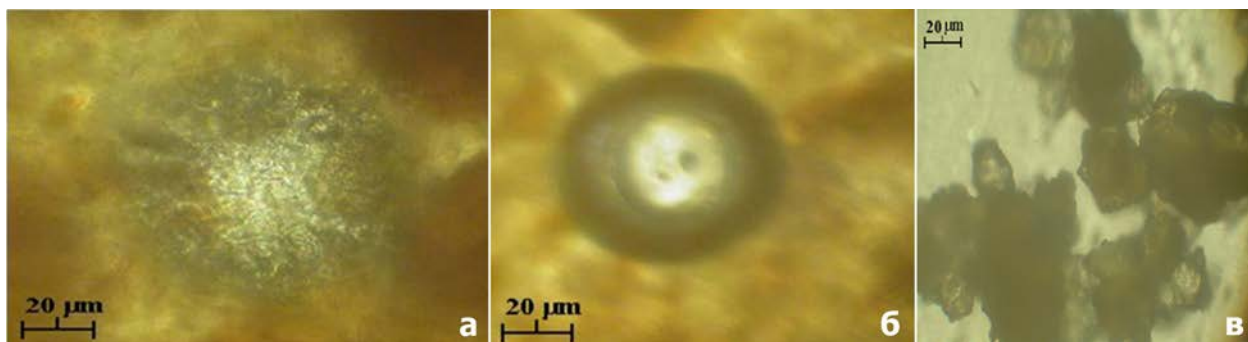


Рис. 2. Микрофотографии иммерсионных препаратов мочевого камня: а) сферическое включение с поликристаллическим центром; б) сферическое включение, содержащее жидкость; в) аморфный вевеллит

В 5 случаях (13,5%) наблюдались две кристаллические фазы, представленные вевеллитом (90 об. %) и апатитом (10 об. %). Данный образец имел самую высокую твердость при растирании. Микроскопически в иммерсионном препарате среди рыжевато-бурых полосчатой структуры кристаллов вевеллита, встречались сферические включения с темными краями и прозрачным центром, содержащие поликристаллическую массу (рис.2(а)) или жидкость (рис. 2(б)).

У 8 (21,6%) пациентов в образцах мочевого камня, по данным кристаллооптического анализа, кроме кристаллической фазы, представленной вевеллитом, присутствовала аморфная фаза коричневатого-бурого цвета, состоящая из сгустков неправильной формы с размытыми нечеткими краями. Обе фазы находились в тесном контакте, прорастая друг в друга (рис.2(в)). Количество аморфной составляющей во всех случаях занимало до 70% образца. При проведении спектрального анализа было выявлено, что у 5 (13,5%) пациентов аморфная фаза мочевого камня была представлена аморфным оксалатом кальция, у 3 (8,1%) пациентов – аморфным фосфатом кальция.

В двух случаях (5,4%) была идентифицирована редкая комбинация солей мочевой кислоты (70 об%), фторапатита (20 об%), арагонита (7 об%) и органических кислот (3 об%)., которым соответствовали полосы поглощения 990, 1020, 1120, 1300, 1350, 1400, 1430, 1500, 1670 (мочевая кислота), 410, 470, 490, 515, 560, 570, 615, 640, 655, 1090 (фторапатит), 875, 2000 (арагонит), 990, 1020, 120, 1220, 1300, 1350, 1400, 1430, 1500, 1670 (мочевая кислота+арагонит),

2350, 2620, 2700 (вода в органических кислотах) (рис.1(д,е)).

Обсуждение. Согласно рекомендаций Европейской Ассоциации Урологов, анализ камня является первым этапом алгоритма последующей профилактики рецидивного камнеобразования [14, 15]. Среди большого количества методов определения минерального состава наиболее приемлемыми для изучения мочевого камня являются инфракрасная спектроскопия и рентгеновская дифракция [16], однако последний не получил широкого распространения в силу своей дороговизны и ограниченных возможностей определения химических субстанций в аморфных фазах [3]. В данном аспекте инфракрасная спектроскопия имеет преимущества, обладая возможностью качественного определения органических и неорганических соединений, как в кристаллических, так и в аморфных фазах по характерному спектру поглощения ими световой волны инфракрасного диапазона [3, 17]. Кроме того, для проведения исследований с помощью ИКС требуется очень малое количество вещества для анализа (5-10 мг).

В настоящем исследовании с целью более детального изучения физико-химических параметров конкремента, инфракрасная спектроскопия была дополнена кристаллооптическим анализом, позволяющим оценить характер кристаллизации, а также процентное соотношение кристаллической и аморфной фаз в образце мочевого камня. Согласно данных литературы, процесс кристаллизации проходит стадию аморфной фазы [18]. Процентное соотношение аморфной и кристаллической фаз в образце мочевого камня может свидетельствовать о возрасте камня.

Согласно результатам нашего исследования, у 21,6% пациентов в структуре мочевого камня была выявлена аморфная фаза, что может свидетельствовать об относительно молодом возрасте камня.

Согласно результатов ИК-спектроскопии, в составе большинства мочевых камней присутствуют соли кальция: вевеллит, ведделит, гидроксилapatит. Среди них наиболее часто встречающимся минералом является вевеллит, что коррелирует с данными других авторов [13]. Идентификация минерального состава мочевого камня имеет важное значение в вопросе понимания особенностей этиопатогенетических механизмов в развитии данного заболевания у разных пациентов. Имеются сведения об ассоциации оксалатно-кальциевых камней с хроническим диарейным синдромом. Мочевые камни из кальция апатита либо комбинации кальция апатита и кальция оксалата ассоциированы с тубулярным ацидозом и первичным гиперпаратиреозом, и апатита в составе мочевого камня с почечным тубулярным ацидозом и первичным гиперпаратиреозом [19].

Последствия уролитиаза зависят от многих факторов, в том числе от состояния иммунной системы, качественного состава микрофлоры [20, 21] и ее резистентности к проводимой терапии [22]. Безусловно взаимосвязь указанных факторов с составом камней требует дальнейшего изучения.

Выводы

1. Мочевые камни имеют смешанный минеральный состав, преобладающим компонентом которого является вевеллит.

2. Наличие аморфной фазы в структуре конкремента, которая является предшествующей стадией в процессе кристаллизации, может свидетельствовать об относительно молодом возрасте камня.

3. Проведение кристаллооптического анализа и инфракрасной спектроскопии мочевых камней, полученных в результате самостоятельного отхождения, либо вследствие применения хирургических методов будет способствовать правильному выбору индивидуальной программы профилактики мочекаменной болезни у разных пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Faridi M.S., Singh K.S. Preliminary study of prevalence of urolithiasis in North-Eastern city of India // *J Family Med Prim Care*. 2020; 9(12):5939-5943. doi:10.4103/jfmpc.jfmpc_1522_20
2. Sorokin I., Mamoulakis C., Miyazawa K., Rodgers A., Talati J., Lotan Y. Epidemiology of stone disease across the world // *World J Urol* 2017; 35: 1301– 20
3. Ma R.H., Luo X.B., Li Q., Zhong H.Q. The systematic classification of urinary stones combine-using FTIR and SEM-EDAX // *Int J Surg*. 2017;41:150-161. doi:10.1016/j.ijsu.2017.03.080
4. Kolupayev S.M., Yaroslavskaya J.J., Mikhailenko N.M., Gargin V.V., Lisovyi V.M. Peculiarities of the immunological status in stone formation of combined localization // *Azerbaijan Med J* 2021;2021(4):
5. Aliev M.G., Museibov E.A. The structure of infectious and inflammatory complications of urolithiasis treatment // *Azerbaijan Medical Journal* 2020; (1):139-145.
6. Romaniuk A., Sikora V., Lyndina Y., Lyndin M., Hyriavenko N., Sikora V., et al. Effect of heavy metals on the readaptive processes in the urinary bladder // *Bangladesh J Med Sci* 2019;18(1):100-106.
7. Ludwicki J.K., Góralczyk K., Struciński P., et al. Hazard quotient profiles used as a risk assessment tool for PFOS and PFOA serum levels in three distinctive European populations // *Environ Int*. 2015;74:112-118. doi:10.1016/j.envint.2014.10.001
8. Pelchen-Matthews A., Ryom L., Borges Á.H., et al. Aging and the evolution of comorbidities among HIV-positive individuals in a European cohort // *AIDS*. 2018;32(16):2405-2416. doi:10.1097/QAD.0000000000001967
9. Shepherd L., Borges Á., Ledergerber B., et al. Infection-related and -unrelated malignancies, HIV and the aging population // *HIV Med*. 2016; 17(8):590-600. doi:10.1111/hiv.12359
10. Romanjuk A., Lyndin M., Moskalenko R., Gortinskaya O., Lyndina Y. The Role of Heavy Metal Salts in Pathological Biomineralization of Breast Cancer Tissue // *Adv Clin Exp Med*. 2016 Sep-Oct;25(5):907-910. doi: 10.17219/acem/34472.
11. Bauza J.L., Pieras E.C., Grases F., et al. Urinary tract infection's etiopathogenic role in nephrolithiasis formation // *Med Hypotheses*. 2018;118:34-35. doi:10.1016/j.mehy.2018.06.002
12. Blanco F., Ortiz-Álías P., López-Mesas M., Valiente M. High precision mapping of kidney stones using μ -IR spectroscopy to determine urinary lithogenesis // *J Biophotonics*. 2015;8(6):457-465. doi:10.1002/jbio.201300201
13. Khaled Sekkoum, Abdelkrim Cheriti, Safia Taleb, Nasser Belboukhari. FTIR spectroscopic study of human urinary stones from El Bayadh district (Algeria) // *Arabian Journal of Chemistry* (2016) 9, pp 330–334

14. Türk C., Neisius A., Petrik A., et al. Guidelines on Urolithiasis. European Association of Urology 2021. Available at: <https://uroweb.org/guideline/urolithiasis/>
15. Skolarikos A., Straub M., Knoll T. et al. Metabolic evaluation and recurrence prevention for urinary stone patients: EAU guidelines. *Eur Urol.* 2015;67(4):750-763. doi:10.1016/j.eururo.2014.10.029
16. Ray E.R., Rumsby G., Smith R.D. Biochemical composition of urolithiasis from stone dust - a matched-pair analysis // *BJU Int.* 2016; 118(4):618-624. doi:10.1111/bju.13448
17. Kanchana G., Sundaramoorthi P., Jeyanthi G. Bio-Chemical Analysis and FTIR-Spectral Studies of Artificially Removed Renal Stone Mineral Constituents. *Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering*, Vol. 8 No. 2, 2009, pp. 161-170. doi: 10.4236/jmmce.2009.82014.
18. Prywer J., Mielniczek-Brzóška E. Formation of Poorly Crystalline and Amorphous Precipitate, a Component of Infectious Urinary Stones: Role of Tetrasodium Pyrophosphate // *Crystal Growth & Design.* 2019;19(2):1048-1056. DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01581
19. Pak C.Y., Poindexter J.R., Adams-Huet B., Pearle M.S. Predictive value of kidney stone composition in the detection of metabolic abnormalities // *Am J Med.* 2003 Jul;115(1):26-32.
20. Bondarenko A.V., Pokhil S.I., Lytvynenko M.V., Bocharova T.V., Gargin V.V. Anaplasmosis: experimental immunodeficient state model // *Wiad Lek.* 2019;72(9 cz 2):1761-1764.
21. Trullas J.C., Mocroft A., Cofan F. et al. Dialysis and renal transplantation in HIV-infected patients: a European survey // *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010;55(5):582-589. doi:10.1097/QAI.0b013e3181efbe59
22. Kon K., Rai M. Antibiotic Resistance: Mechanisms and New Antimicrobial Approaches // *Antibiotic Resistance: Mechanisms and New Antimicrobial Approaches*; 2016. p. 1-413.

Kolupayev S.M.^{1,2}, Lesovoy V.N.^{1,2}, Andoniev N.M.^{1,2}, Bereznyak E.P.³, Lisova M.A.⁴

CRYSTAL-OPTICAL CHARACTERISTICS AND FEATURES OF THE MINERAL COMPOSITION OF URINARY TRACT STONES

¹*Department of Urology, Nephrology and Andrology named after A.Podrez, Kharkiv National Medical University;* ²*Regional Medical Clinical Center of Urology and Nephrology named after V.Shapoval;*

³*National Science Center "Kharkov Institute of Physics and Technology";* ⁴*Department of Professionally Oriented Disciplines, Kharkiv International Medical University, Kharkiv, Ukraine*

Summary. The article provides information about the research were learned the structure and phase composition of urinary tract stones by crystal optical analysis and infrared spectroscopy methods.

The study analyzed the structure and mineral composition of urinary tract stones obtained in 37 patients after extracorporeal shock-wave lithotripsy of kidney and ureter stones. The structure of the calculus was studied on the basis of crystal-optical analysis using a polarizing microscope. The mineral composition of the stone was evaluated by infrared spectroscopy (IRS).

72.9% of the investigated samples of urinary tract stones are represented by the crystalline phase, the main component of which is whewellite, which is present in combination with hydroxylapatite (13.5%), hydroxylapatite and uric acid salts (40.5%), weddellite, carbonate apatite and calcium phosphate (18.9%). In 21.6% of patients, in samples of urinary stones, in addition to the crystalline phase represented by whewellite, an amorphous phase was present in the form of amorphous calcium phosphate (8.1%) and amorphous calcium oxalate (13.5%). In two cases (5.4%), a rare combination of salts was identified: a crystalline phase consisting of uric acid and fluorapatite salts, as well as an amorphous phase in the form of a combination of aragonite and organic acids.

Urinary tract stones have a mixed mineral composition, the prevailing component of which is whewellite. The presence of an amorphous phase in the calculus structure, which is the previous stage in the crystallization process, may indicate a relatively young age of the stone.

Автор для корреспонденции:

Колупаев Сергей Михайлович, доцент кафедры урологии, нефрологии и андрологии имени проф. А.Г.Подреза Харьковского национального медицинского университета, Харьков, Украина.

E-mail: sm_kolupayev@ukr.net

Author for correspondence:

Kolupayev Sergey, associated professor of the Department of Urology, Nephrology and Andrology named after A.Podrez, Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine.

E-mail: sm_kolupayev@ukr.net