

# **INVESTIGAȚII ASUPRA METABOLIȚILOR PURINICI ȘI IONILOR METALICI SPECIFICI ÎN BIOGENEZA UROCONCREMEN- TELOR LITIAZICE**

Teză destinată obținerii  
titlului științific de doctor  
la  
Universitatea "Politehnica" din Timișoara  
în domeniul Chimie  
de către

**Fizician Adina – Elena Avacovici**

Conducător științific: prof.univ.dr. Zeno Gârban – m.c. al Academiei Române  
Referenți științifici: prof.univ.dr. Florin Miclea  
prof.univ.dr. Francisc Peter  
prof.univ.dr.ing. Dan Ciubotariu

Ziua susținerii tezei: 29.03.2012

Seriile Teze de doctorat ale UPT sunt:

- |   |  |
|---|--|
| 1. Automatică                               | 8. Inginerie Industrială                   |
| 2. Chimie                                   | 9. Inginerie Mecanică                      |
| 3. Energetică                               | 10. Știința Calculatoarelor                |
| 4. Ingineria Chimică                        | 11. Știința și Ingineria Materialelor      |
| 5. Inginerie Civilă                         | 12. Ingineria sistemelor                   |
| 6. Inginerie Electrică                      | 13. Inginerie energetică                   |
| 7. Inginerie Electronică și Telecomunicații | 14. Calculatoare și tehnologia informației |

Universitatea „Politehnica” din Timișoara a inițiat seriile de mai sus în scopul diseminării expertizei, cunoștințelor și rezultatelor cercetărilor întreprinse în cadrul școlii doctorale a universității. Seriile conțin, potrivit H.B.Ex.S Nr. 14 / 14.07.2006, tezele de doctorat susținute în universitate începând cu 1 octombrie 2006.

Copyright © Editura Politehnica – Timișoara, 2012

Această publicație este supusă prevederilor legii dreptului de autor. Multiplicarea acestei publicații, în mod integral sau în parte, traducerea, tipărirea, reutilizarea ilustrațiilor, expunerea, radiodifuzarea, reproducerea pe microfilme sau în orice altă formă este permisă numai cu respectarea prevederilor Legii române a dreptului de autor în vigoare și permisiunea pentru utilizare obținută în scris din partea Universității „Politehnica” din Timișoara. Toate încălcările acestor drepturi vor fi penalizate potrivit Legii române a drepturilor de autor.

România, 300159 Timișoara, Bd. Republicii 9,  
tel. 0256 403823, fax. 0256 403221  
e-mail: editura@edipol.upt.ro

## Cuvânt înainte

Teza de doctorat cu titlul „Investigarea metaboliților purinici și a ionilor metalici specifici în biogeneza uroconcrementelor litiace” a fost elaborată în cadrul Facultății de Chimie Industrială și Ingineria Mediului de la Universitatea „Politehnica” din Timișoara.

Cercetările au vizat determinarea calitativă a compoziției uroconcrementelor în scopul definirii tipurilor acestora. În acest sens s-a utilizat spectroscopia în infraroșu cu obținerea de spectre IR (metoda clasică) sau de spectre FT-IR (metoda utilizată în prezent). În cazul litiazelor purinice (în speță urice), s-au efectuat determinări ale principalelor metale alcaline (Na, K), alcalino-terose (Ca, Mg) și a unor microelemente metalice (Zn, Cu, Fe, Mn) prin metoda spectroscopiei de absorbție atomică (SAA). De asemenea, s-a efectuat un studiu comparativ al compoziției metalice a calculilor urinari cu dominanță urică, respectiv cu dominanță fosfatică. În ultima parte a tezei au fost incluse și investigații asupra homeostaziei biochimice a principalelor metale alcaline și alcalino-terose decelate în sânge și urină în etapele pre- și post-intervenționale (chirurgie/litotripsie) la subiecții cu urolitiază.

Datele analitice obținute oferă, sub aspect teoretic - informații privind urolitiazele purinice (urice) caracteristice zonei geografice a Banatului, iar sub aspect aplicativ - date utile care au servit la orientarea conduitei clinice în urologie, importantă în terapeutică, în metafilaxie, dar (la nevoie) și în monitorizarea stării de sănătate a subiecților cu urolitiază.

Timișoara, 5 martie 2012

Adina-Elena Avacovici

*In memoriam*

**Prof. Dr. PETRU DRĂGAN**

*la 80 ani de la naștere*

*(2 februarie 1932 – 12 noiembrie 2007)*

Avacovici, Adina - Elena

**Investigații asupra metaboliților purinici și ionilor metalici specifici în biogeneza uroconcrementelor litiazice**

Teze de doctorat ale UPT, Seria 2, Nr. 17, Editura Politehnica, 2012, 176 pagini, 45 figuri, 39 tabele.

ISSN: 1842 - 8444

ISBN: 978 – 606 – 554 – 476 - 5

Cuvinte cheie: metaboliți purinici, ioni metalici, urolitiază, spectroscopie în infraroșu, spectroscopie de absorbție atomică, homeostazie biochimică

**Rezumat**

Cercetările întreprinse în cadrul tezei de doctorat se adresează unui domeniu special al biochimiei și patobiochimiei și se integrează unui domeniu de vârf al cercetărilor contemporane privind metalomica și, într-un cadru mai exact, metabolomica.

Structurarea conținutului tezei s-a făcut pe două secțiuni distincte. Prima secțiune - include capitolele 1-2 care prezintă date generale referitoare la particularitățile fiziologice și biochimice ale aparatului reno-urinar, mecanismele biogenezei uroconcrementelor și problematica cercetării urolitiazelor. Secunda secțiune - include capitolele 3-6 în care se prezintă rezultatele obținute în investigațiile întreprinse în cadrul tezei. Aceste investigații au urmărit : determinarea compoziției calitative a uroconcrementelor cu ajutorul spectroscopiei în infraroșu (IR) în scopul stabilirii tipurilor de litiaze; determinarea concentrației metalelor în cazul uroconcrementelor specifice litiazelor purinice (în speță litiazele urice) prin spectroscopia de absorbție atomică (SAA) stabilind metalogramele specifice; evaluarea rezultatelor pentru cercetările (extinse) asupra litiazelor cu predominanță urică și a litiazelor cu predominanță fosfatică, pentru care determinările de metale relevă implicarea legăturilor de tip purină-ioni metalici, respectiv fosfați-ioni metalici; prezentarea datelor comparative ale metalogramelor serice și urinare în relație cu metoda terapeutică (intervenția chirurgicală, respectiv litotripsia extracorporeală). Metodologia analitică utilizată permite relevarea rolului „speciației bioanorganice” (domeniu de interes contemporan) în biogeneza urolitiazelor.

# CUPRINS

|   |    |
|---|----|
| <b>Prefață</b> .....  | 9  |
| <b>Introducere</b> .....  | 11 |
| <b>1. PARTICULARITĂȚI ALE BIOGENEZEI UROCONCREMENTELOR</b>  |    |
| <b>LITIAZICE</b> .....  | 13 |
| 1.1. Considerații generale .....  | 13 |
| 1.2. Incidența urolitiazelor .....  | 15 |
| 1.2.1. Privire sinoptică .....  | 15 |
| 1.2.2. Retrospectivă istorică .....   | 16 |
| 1.2.3. Distribuția geografică – repere generale .....   | 19 |
| 1.3. Bazele anatomo-fiziologice ale studiului urolitiazelor .....   | 22 |
| 1.3.1. Privire sinoptică .....  | 22 |
| 1.3.2. Aparatul reno-urinar.....  | 23 |
| 1.3.2.1. Rinichiul .....  | 24 |
| 1.3.2.2. Căile urinare.....   | 26 |
| 1.4. Ipoteze privind biogeneza uroconcrementelor .....  | 26 |
| 1.5. Tipuri de urolitiază – modalități de evaluare .....  | 29 |
| 1.6. Determinismul multifactorial al urolitiazelor .....  | 32 |
| 1.7. Homeostazia biochimică și funcția renală .....   | 34 |
| 1.7.1. Formarea urinei .....  | 35 |
| 1.7.2. Rolul hormonilor în funcția renală.....  | 37 |
| 1.7.3. Caracteristici fizico-chimice și compoziția urinei .....   | 38 |
| <b>2. CARACTERISTICI ALE METABOLISMULUI PURINELOR ȘI BIOMETALELOR ÎN LITIAZE. INVESTIGAREA UROCONCREMENTELOR PURINICE</b> ..... | 39 |
| 2.1. Considerații generale .....  | 39 |
| 2.2. Metabolismul nucleoproteinelor – aspecte specifice purinelor .....   | 40 |
| 2.2.1. Privire sinoptică.....   | 40 |
| 2.2.2. Biosinteza metaboliților purinici .....  | 42 |
| 2.2.2.1. Biosinteza de novo la purine .....   | 42 |
| 2.2.2.2. Biosinteza în etapa de interconversie a purinelor .....  | 43 |
| 2.2.3. Biodegradarea metaboliților purinici .....   | 44 |
| 2.2.3.1. Biodegradarea în etapa de interconversie a purinelor.....  | 44 |
| 2.2.3.2. Biodegradarea purinelor de proveniență exogenă .....   | 45 |
| 2.2.3.3. Biodegradarea cu formarea acidului uric .....  | 46 |
| 2.3. Caracteristici ale sintezei organice a purinelor .....   | 48 |
| 2.4. Aspecte nutriționale privind precursorii purinici în urolitiază .....  | 50 |

|  |    |
|--|----|
| 2.5. Metabolismul hidroelectrolitic – aspecte specifice .....                            | 52 |
| 2.5.1. Privire sinoptică .....   | 52 |
| 2.5.2. Rolul apei în biogeneza uroconcrementelor .....                                   | 52 |
| 2.5.3. Rolul ionilor metalici în biogeneza uroconcrementelor .....                       | 53 |
| 2.6. Investigații de chimie clinică specifice urolitiazelor .....                        | 55 |
| 2.6.1. Investigații de chimie clinică pentru sânge și urină –<br>generalități .....      | 56 |
| 2.6.2. Investigații chimice pentru urolitiază .....                                      | 59 |
| 2.6.2.1. Investigații chimice uzuale pentru urolitiază .....                             | 59 |
| 2.6.2.2. Evaluarea compoziției cristaline a calculilor .....                             | 60 |
| 2.6.3. Investigații cu specific de cercetare științifică în studii<br>urolitiazelor..... | 61 |

### **3. INVESTIGAREA TIPURILOR DE UROLITIAZE PRIN SPECTROSCOPIA**

|  |    |
|--|----|
| <b>ÎN INFRAROȘU</b> .....  | 63 |
| 3.1. Considerații generale .....   | 63 |
| 3.2. Aplicații ale spectroscopiei în infraroșu cu transformare Fourier .....                                 | 64 |
| 3.2.1. Specificul metodei .....  | 64 |
| 3.2.2. Caracteristici generale ale spectrelor FT-IR .....  | 68 |
| 3.3. Specificul metabolic al biogenezei urolitiazelor purinice și caracteristicile<br>spectrelor FT-IR ..... | 71 |
| 3.3.1. Privire sinoptică .....   | 71 |
| 3.3.2. Urolitiază urică .....  | 73 |
| 3.3.3. Urolitiază xantinică .....  | 75 |
| 3.3.4. Urolitiază 2,8-dihidroxiadeninică .....   | 76 |
| 3.4. Specificul metabolic al biogenezei altor urolitiază și<br>caracteristicile spectrelor FT-IR .....       | 77 |
| 3.4.1. Privire sinoptică .....   | 77 |
| 3.4.2. Urolitiază oxalică .....  | 77 |
| 3.4.3. Urolitiază fosfatică .....  | 80 |
| 3.4.4. Urolitiază cistică .....  | 82 |
| 3.5. Tipuri de urolitiază decelate prin investigarea uroconcrementelor .....                                 | 84 |
| 3.5.1. Privire sinoptică .....   | 84 |
| 3.5.2. Urolitiază simple .....   | 86 |
| 3.5.3. Urolitiază mixte .....  | 89 |
| 3.6. Implicarea compușilor chimici atipici pentru investigarea tipurilor<br>de litiază .....                 | 93 |
| 3.6.1. Date sinoptice .....  | 93 |
| 3.6.2. Modulatori chimici în biogeneza litiazelor .....  | 94 |
| 3.6.2.1. Prezentare generală .....   | 94 |
| 3.6.2.2. Inhibitori ai biogenezei litiazelor .....   | 96 |

|   |     |
|---|-----|
| 3.6.2.3. Promotori ai biogenezei litiazelor .....   | 97  |
| 3.6.3. Matricea calculoasă în biogeneza litiazelor .....  | 98  |
| <b>4. INVESTIGAREA COMPOZIȚIEI UROCONCREMENTELOR PURINICE PRIN<br/>SPECTROSCOPIA DE ABSORBȚIE ATOMICĂ - METALOGrame</b> .....   | 99  |
| 4.1. Considerații generale .....  | 99  |
| 4.2. Aplicații ale spectroscopiei de absorbție atomică<br>în cercetarea urolitiazelor.....                                      | 100 |
| 4.2.1. Specificul spectroscopiei de absorbție atomică .....   | 100 |
| 4.2.2. Aparatura analitică .....  | 103 |
| 4.3. Particularități ale metalomicii în relație cu urolitiazele .....   | 104 |
| 4.3.1. Privire sinoptică .....  | 104 |
| 4.3.2. Metalele în sânge și urină – precursori în urolitiaze .....  | 105 |
| 4.4. Investigații asupra metalelor în urolitiazele purinice .....   | 108 |
| 4.4.1. Metale alcaline.....   | 108 |
| 4.4.2. Metale alcalino-terose .....   | 111 |
| 4.4.3. Microelemente metalice.....  | 115 |
| 4.5. Tipuri de urolitiaze purinice și compoziția metalică a calculilor.....   | 121 |
| <b>5. SPECIFICUL METALOGrameLOR ÎN LITIAZELE CU PREDOMINANȚĂ<br/>URICĂ ȘI CU PREDOMINANȚĂ FOSFATICĂ – DATE COMPARATIVE</b> .... | 124 |
| 5.1. Considerații generale .....  | 124 |
| 5.2. Particularități ale metalogramelor – aspecte diferențiale .....  | 125 |
| 5.2.1. Metalograme comparative ale litiazelor simple .....  | 125 |
| 5.2.2. Metalograme comparative ale litiazelor mixte .....   | 128 |
| 5.2.2.1. Situația în litiazele mixte binare .....   | 128 |
| 5.2.2.2. Situația în litiazele mixte ternare .....  | 130 |
| 5.3. Specificul mecanismelor de biogeneză .....   | 131 |
| <b>6. METALOGrameLE SERICE ȘI URINARE ÎN RELAȚIE CU INTERVENȚIA<br/>CHIRURGICALĂ ȘI LITOTRIPSIA EXTRACORPORAALĂ</b> .....       | 134 |
| 6.1. Considerații generale .....  | 134 |
| 6.2. Rezultate ale investigațiilor de chimie clinică pre- și post-terapeutic .....  | 137 |
| 6.2.1. Date analitice privind uricemia în etapa pre-terapeutică .....   | 138 |
| 6.2.2. Date analitice privind metalogramele pre- și post-terapeutic.....  | 139 |
| <b>Concluzii</b> .....  | 147 |
| <b>Referințe bibliografice</b> .....  | 150 |

## PREFAȚĂ

Investigarea compoziției formațiunilor litiazice provenite din aparatul reno-urinar reprezintă un domeniu de excelență în biochimie și patobiochimie. Acesta se integrează metalomicii moderne și metabolomicii, oferind informații asupra biogenezei uroconcrementelor. În acest scop se apelează la metode bioanalitice fizico-chimice care depășesc cadrul specific al chimiei clinice (utilizate în laboratorul clinic).

O abordare circumscrisă a problemei metalomicii în urolitogeneză - pe o tematică distinctă - permite înțelegerea mecanismelor „nucleației heterogene bioanorganice” care precede formarea așa numiților starteri (primeri) ai litogenezei. În acest cadru în biochimia anorganică (chimia bioanorganică) modernă se utilizează conceptul de «speciație bioanorganică». Aplicarea metodelor fizico-chimice poate viza concret analiza calitativă și cantitativă a compoziției uroconcrementelor.

Structurarea conținutului tezei s-a făcut pe două secțiuni distincte. Prima secțiune - include capitolele 1-2 care prezintă date generale referitoare la particularitățile fiziologice și biochimice ale activității aparatului reno-urinar, mecanismele biogenezei uroconcrementelor și problematica cercetării urolitiazelor. Secunda secțiune - include capitolele 3-6 în care se prezintă rezultatele obținute prin investigațiile întreprinse în cadrul tezei. Aceste investigații au urmărit : a) determinarea compoziției calitative a uroconcrementelor cu ajutorul spectroscopiei în infraroșu clasic (IR) și spectroscopiei în infraroșu cu transformare Fourier (FT-IR) în scopul stabilirii tipurilor de litiaze – remarcabilă este disjunctia care se face în atribuirea benzilor spectrale în IR pentru compușii “tipici” urolitiazelor și compușii “atipici” reprezentați de modulatori chimici (promotori/inhibitori) și matricea litiazică; b) determinarea concentrației metalelor în cazul uroconcrementelor specifice litiazelor purinice (în speță litiazele urice) prin spectroscopia de absorbție atomică (SAA) stabilind metalogramele specifice; c) evaluarea rezultatelor pentru cercetările extinse asupra litiazelor cu predominanță urică și a litiazelor cu predominanță fosfatică, pentru care determinările de metale relevă implicarea legăturilor de tip purină-ioni metalici, respectiv fosfați-ioni metalici; d) prezentarea datelor comparative ale metalogramelor serice și urinare în relație cu metoda terapeutică (intervenția chirurgicală, respectiv litotripsia extracorporeală).

La finalizarea acestei teze de doctorat gândurile se îndreaptă cu recunoștință «pro memoria» Prof. Dr. Petru Drăgan – membru titular al Academiei de Științe Medicale. De asemenea, exprim mulțumiri d-lui Prof.Dr. Florin Miclea, d-lui asist.univ. Dr. Alin Cumpănaș și personalului medical de la Clinica Universitară de Urologie din Timișoara care au dat sprijin în etapele preliminare ale investigațiilor analitice.

Mulțumiri și sentimente de grațitudine exprim d-lui Prof. Dr. Francisc Peter de la Facultatea de Chimie Industrială și Ingineria Mediului - Universitatea Politehnică din Timișoara, d-lui Dr. Ludovic Sayti și colectivului D-sale de la Institutul de Chimie Timișoara și dnei Prof.Asoc. Anna Csikkel-Szolnoki de la Universitatea din Szeged care a sprijinit completarea unora din determinările de SAA și analizilor de la Laboratorul Spitalului Clinic Județean Nr.1 Timișoara pentru sprijinul acordat în efectuarea investigațiilor fizico-chimice asupra homeostaziei biochimice la grupele de subiecți specific diferit al intervențiilor (chirurgie/litotripsie).



De asemenea, exprim mulțumiri d-lui Prof. Dr. Ing. Dan Ciubotariu de la Facultatea de Farmacie a Universității de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” din Timișoara care a binevoit să facă parte din Comisia de doctorat a acestei teze.

Teza de doctorat cu titlul „Investigarea metaboliților purinici și ionilor metalici specifici în biogeneza uroconcrementelor litiazice” a fost elaborată sub îndrumarea d-lui Prof. Dr. Zeno Gârban – membru corespondent al Academiei Române în calitate de conducător științific în domeniul Chimie (specializarea Biochimie) în cadrul Facultății de Chimie Industrială și Ingineria Mediului de la Universitatea „Politehnica” Timișoara, căruia îi exprim mulțumiri pentru sprijinul constant acordat în diverse etape pentru desfășurarea și finalizarea tezei.

Retrospectiv, cu privire la activitatea de cercetare se menționează faptul că în anul 1993 am participat, ca invitată, la primul simpozion internațional „Metal Elements in Environment, Medicine and Biology” (M.E.E.M.B.) care a avut loc la Timișoara, organizat în colaborare de universități timișorene. După aceasta am fost integrată „Grupului de lucru pentru cercetarea metalelor în chimia bioanorganică” din Timișoara, constituit în 1979. Acest Grup de lucru s-a ocupat și de organizarea seriei de Simpozioane M.E.E.M.B. În cadrul diverselor teme de cercetare privind metalele am colaborat, de asemenea, cu cadre didactice de la Facultatea de Tehnologie Produselor Agroalimentare de la Universitatea de Științe Agricole și Medicina Veterinară a Banatului din Timișoara. În continuare am participat la diverse activități de cercetare în metalomică, interesată fiind de subiectele privind metalele, acidul deoxiribonucleic și metaboliții acestuia în biologia moleculară. Ulterior am devenit doctorandă cu o temă referitoare la urolitiază care abordează, conex, un astfel de subiect.

## INTRODUCERE

Pentru investigarea urolitiazelor pentru necesitățile curente ale clinicilor de urologie, se apelează la determinări de laborator clinic, investigații imagistice (radiologice, ecografice ș.a.) și, în situațiile mai complexe, la explorări funcționale. În cazul laboratorului clinic, determinările analitice pot fi efectuate în diversele compartimente ale acestuia reprezentate de chimia clinică, microbiologie (bacteriologie, virusologie) și de hematologie. Coroborarea informațiilor este utilă pentru stabilirea diagnosticului, precizarea tratamentelor, monitorizarea evoluției post-terapeutice, instituirea măsurilor metafilactice (care privesc prevenirea recidivelor).

Extinderea investigațiilor asupra urolitiazelor implică utilizarea unor metode nespecifice laboratorului clinic. În astfel de situații se apelează la analitica biochimică bazată pe metode fizico-chimice. Astfel de metode sunt spectroscopia în infraroșu (SIR), spectroscopia de absorbție atomică (SAA), gaz-cromatografia, spectrometria de masă, difractometria cu raze X (pentru studii de cristalografie) etc.

În prezenta teză de doctorat pentru investigarea urolitiazelor s-a apelat la spectroscopia în infraroșu clasică (IR) și spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier (notată FT-IR sau FTIR) în scopul determinării compoziției calitative pentru 237 de calculi reno-urinari, în vederea stabilirii tipurilor de litiaze simple purinice (urică, xantină, 2,8-dihidroxiadenină), oxalică, fosfatică, cistică, precum și a litiazelor mixte. Compușii amintiți sunt întâlniți în mod curent în urolitiază fiind considerați compuși chimici „tipici” pentru uroconcremente.

În contextul determinărilor analitice se discută și aspectele referitoare la compușii chimici „atipici”, importanți în patobiochimia urolitiazelor. În această categorie se includ modulatorii chimici litiazici (promotori și inhibitori) și matricea litiazică. Compușii chimici din constituția acestora au constituit – la începutul aplicării spectroscopiei în IR – impedimente în evaluarea riguroasă a spectrelor în IR ale calculilor. Prezența acestora în uroconcremente este mai bine relevată în spectrele FT-IR, care confirmă existența concomitentă a compușilor tipici și atipici, fapt adesea ignorat la studiul compoziției uroconcrementelor.

Pentru scopurile analitice ale acestei lucrări, interesând determinarea elementelor metalice prin spectroscopia de absorbție atomică (SAA), s-au folosit doar calculii cu compoziție urică (singurii decelați din categoria calculilor purinici). Astfel, în continuare, pentru calculii de natură urică provenind de la 84 subiecți s-a procedat la determinarea compoziției în metale alcaline (Na, K), alcalino-terozice (Ca, Mg) și a principalelor microelemente metalice (Zn, Cu, Fe, Mn). Rezultatele obținute au fost prezentate în raport cu tipurile de litiaze : simple – cu acid uric și urați (U); mixte – cu urați-oxalați (U-O), oxalați-urați (O-U), fosfați-urați (P-U), oxalați-urați-fosfați (O-U-P). În cazul fiecărui tip de urolitiază au fost prezentate și metalogramele caracteristice.

În continuare s-a procedat la evaluarea concentrației metalelor (M) și evidențierea implicației ionilor metalici ( $M^{n+}$ ) în biogeneza uroconcrementelor provenite de la două grupe de subiecți, primul cu litiaze predominant urice - 84 subiecți care au făcut obiectul prezentului studiu, secundul cu litiaze predominant fosfatice – 113 subiecți care au făcut obiectul unui studiu preliminar. Evaluarea comparativă a avut în vedere specificul structurii compușilor bioanorganici de tipul

## 12 Introducere

---

derivați purinici -  $M^{n+}$  și a compușilor anorganici de tipul fosfat -  $M^{n+}$ . Concentrația metalelor în calculii studiați a evidențiat diferențe foarte mari. Astfel, sub raport biochimic (patobiochimic) se explică rolul nucleului purinic din structura acidului uric și respectiv a anionului fosfat.

În investigarea urolitiazelor, a specificului biogenezei acestora este importantă și cunoașterea metalogramelor sanguine și urinare. Acest aspect, în prezenta lucrare, a fost studiat în relație cu metoda terapeutică folosită : intervenția chirurgicală (la un număr de 23 subiecți), respectiv litotripsia extracorporeală (la un număr de 18 subiecți) cunoscută și sub numele de „litotripsie cu unde de șoc extracorporeale” – ESWL (Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy). În cazul utilizării acestor metode s-a procedat la determinări asupra nivelului acidului uric sanguin (uricemie) în funcție de care s-au stabilit subiecții la care s-au efectuat metalogramele sanguine și urinare pentru metale alcaline (Na, K) și alcalino-terose (Ca, Mg). Determinările s-au efectuat pre- și post-operator, respectiv pre – și post-litotripsie. Valorile decelate în cazul metalogramelor sanguine și urinare, cu ajutorul metodelor specifice chimiei clinice, au fost studiate comparativ.

Rezultatele investigațiilor întreprinse asupra litiazelor urice prezintă importanță teoretică - informații asupra specificului urolitiazelor purinice cu răspândire mare în zona geografică a Banatului și importanță aplicativă – orientarea conduitei clinice în urologie în scop terapeutic, metafilactic și chiar la monitorizarea stării de sănătate a subiecților cu afecțiuni litiazice.

# 1. PARTICULARITĂȚI ALE BIOGENEZEI UROCONCREMENTELOR LITIAZICE

## 1.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Biogeneza concremenelor litiazice în organismul uman este cunoscută și sub denumirea generică de "biolitogeneză" sau, cu un termen de uz curent, "litogeneză". Noțiunea este preluată din geologie și se utilizează în medicină pentru desemnarea unui domeniu circumscris al patologiei biochimice.

Într-un context mai larg interesează atât biogeneza concrețiunilor calculoase din diverse țesuturi și organe cât și metodele bioanalitice (chimice și fizico-chimice) de investigare a acestora. Sub raport biomedical interesează, în principal, etiologia (cauzele biogenezei), mecanismele patologiei biochimice (patobiochimiei) și mijloacele terapeutice.

Din punctul de vedere al biochimiei și patobiochimiei în cercetarea calculilor este importantă determinarea compoziției calitative și cantitative a uroconcremenelor. Astfel de investigații permit înțelegerea mecanismelor moleculare specifice biogenezei și permit instituirea măsurilor profilactice – interesând prevenția, metafilactice – vizând evitarea recidivelor și terapeutice – interesând modalitățile de tratament (medical și/sau chirurgical).

Din punct de vedere biomedical noțiunea de « litiază » definește o formațiune calculoasă a cărei biogeneză se produce într-un aparat glandular, într-un țesut parenchimatous sau într-o structură anatomică cu aspect de rezervor [1, 2, 3, 4].

În prezenta lucrare s-a procedat la abordarea restrictivă a studiului uroconcremenelor litiazice specifice dishomeostaziei metabolismului purinelor și studiul compoziției metalice a acestora. În aceste condiții s-a impus și cunoașterea metabolismului nucleoproteinelor focusată pe biodegradarea / biosinteza purinelor, conexată la problema patobiochimiei urolitiazelor purinice în scopul definirii subtipurilor de litiaze și a specificului compoziției calculilor. În această manieră se poate distinge existența unui domeniu de excelență al biochimiei și anume "topopatobiochimia". Se reiterează faptul că în biochimie și biologie moleculară abordarea « topobiochimică » a fost inițiată în relație cu morfologia și fiziologia virusurilor, a celulelor procariote și eucariote și a fost extinsă odată cu aprofundarea cercetărilor la țesuturi, organe și în final la organism [5].

Într-o abordare topopatobiochimică a litiazelor la nivel de organism se poate distinge diversitatea posibilelor localizări interesând : urolitiază sau litiază urinară cu subtipurile : litiază renală (nefrolitiază), litiază bazinetală, litiază ureterală, litiază vezicală; colelitiază sau litiază biliară cu subtipurile : colecistolitiază cu localizare în colecist (vezica biliară), coledoco-litiază cu dispunere în canalul coledoc; sialolitiază sau litiază salivară cu subtipurile : parotidiană, submandibulară, sublinguală, tonsilară (amigdaliană) .

În afară de litiazele amintite – grupate după localizare în organism – s-au mai descris și alte litiaze. Se menționează în acest sens tireolitiază (în glanda tiroidă), lacrimalo-litiază (în glandele lacrimale), enterolitiază (în intestin, e.g. mezenter,

#### 14 Particularități ale biogenezei concremenelor litiazice - 1

apendice), rinolitiaze (la nivelul cavității nazale), litiaza prostatică și litiaza testiculară (la nivelul aparatului genital masculin), flebolitiaza (în sistemul vascular venos).

În literatura de specialitate se prezintă date mai detaliate privind diversitatea localizării litiazelor la om [6, 7, 8, 9, 10, 11]. O reprezentare schematică a localizării litiazelor în organismul uman se face în fig. 1-1.

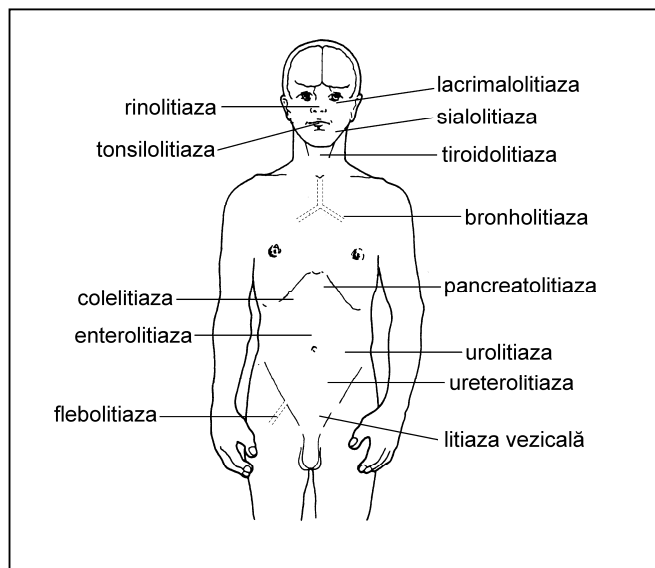


Fig.1-1. Reprezentarea schematică a localizării litiazelor

Dintre litiazele decelate la nivelul organismului frecvența cea mai mare o au litiazele urinare (cu localizare în tractul reno-urinar), litiazele biliare și litiazele salivare.

În studiul biogenezei concremenelor litiazice în organismul uman este importantă cunoașterea interacției in vivo produsă între diverșii metaboliți rezultați din metabolismele materiale ale compușilor organici (metabolismul glucidic, lipidic, proteinic), e.g.: acid uric și urați, colesterol, acid oxalic, acid fosforic etc. De asemenea este importantă cunoașterea metabolismului hidro-electrolitic și, evident, evaluarea statusului electroliților cationici (ioni metalici, ionul amoniu) și anionici (oxalați, fosfați, carbonați etc.).

În cazul metaboliților purinici ai acizilor nucleici, e.g. acid uric, xantină, 2,8-di-hidroxiadenină și evident, adenină și guanină, investigațiile se pot efectua urmărind și determinarea concentrațiilor de metale având în vedere faptul că derivații purinici și metalele conduc – prin așa numita "nucleație heterogenă", la formarea precursorilor în calculoze. Investigațiile asupra biogenezei uroconcremenelor de proveniență purinică interesează traficarea metaboliților

nucleoproteinici în organism și interacțiile specifice ale acestora din sânge, urină și țesuturi în cazul omului.

Dacă se întreprind investigații in vivo asupra mecanismelor biochimice ale litogenezei pe modele experimentale animale se procedează la administrarea (în alimentație) a unor substanțe cu compoziție cunoscută (e.g. urați, oxalați, săruri anorganice cu metale) și la urmărirea modificărilor homeostaziei biochimice.

Urolitiazele în general, au cauze bine definite așa cum se va arăta în continuare. Există însă situații, circumstanțial, fără cauze definite – idiopatice.

În patobiologie și în clinica medicală urolitiaza idiopatică se întâlnește la subiecții care nu prezintă afecțiuni congenitale sau dobândite pentru perturbările metabolice care predispun la această boală.

## 1.2. INCIDENȚA UROLITIAZELOR

### 1.2.1 Privire sinoptică

În cercetările din domeniul biochimiei și patobiologiei urolitiazelor luate în studiu interesează statusul homeostaziei biochimice care condiționează posibile interacții între metabolizii purinici și ionii metalici. În acest scop se efectuează determinări privind concentrația diversilor metaboliți în condiții normale – de interes profilactic și/sau metafilactic [5, 12] și în condiții patologice – de interes terapeutic [13].

De asemenea, se pot efectua cercetări in vitro în care se studiază particularitățile cristalizării în soluții care conțin compuși specifici uroconcrementelor. În astfel de situații se urmăresc efectele pH-ului, tăriei ionice, concentrației optime în relație cu precipitarea sau coprecipitarea și apariția nucleelor de cristalizare [14, 1, 10, 15, 16, 17].

Alături de factorii de risc epidemiologici (i.e. vârstă, sex, clasă socială, ocupație, alimentație, consum de lichide, clima, anomalii metabolice și genetice) trebuie enumerați și factorii de risc fiziologici și fiziopatologici. În general, se afirmă că există șase factori de risc major în apariția urolitiazelor: pH urinar crescut, hipercalciurie, hiperoxalurie, hiperuricozurie, volum urinar scăzut, excreție redusă de inhibitori ai cristalizării.

Dishomeostazia biochimică, având diverse cauze – unele discutate în această lucrare - poate conduce la o creștere a cantității factorilor litogenici în urină. Spre exemplu, concentrații crescute de acid uric și ioni metalici pot determina precipitarea acidului uric și a uratului monosodic. Observația că litiaza urică apare la tropice și în medii cu temperaturi ridicate susține această ipoteză.

Rinichiul este singurul organ de excreție reglabilă în funcție de starea echilibrului hidroelectrolitic al organismului. Menținerea homeostaziei volumului și osmolarității lichidelor organismului se realizează prin mecanisme complexe care reglează adecvat excreția renală de apă și substanțe osmotice active. Această excreție este corelată permanent atât cu aportul cât și cu pierderile hidro-electrolitice extrarenale.

Rinichii au două funcții fundamentale: excreția produșilor reziduali metabolici și a altor substanțe chimice și reglarea volumului de lichid și odată cu aceasta a osmolarității, acidității și compoziției minerale pentru a păstra concentrații normale (fiziologice) ale metaboliților excretați. O funcție renală perturbată poate conduce la depunerea unor precipitate în tractul urinar și formarea uroconcrementelor [18].

În literatura de specialitate pentru formațiunea calculoasă apărută în cadrul aparatului reno-urinar există diverse terminologii, e.g.: litiaza urinară, litiaza renală, urolitiază, nefrolitiază [1, 2, 3, 15, 19]. Urolitiazele se caracterizează prin existența unor concremente (i.e. uroconcremente) simple sau mixte la nivelul căilor urinare (calice, bazinet, ureter, vezică, uretră) sau în parenchimul renal (nefrocalcinosa). Uroconcrementele se formează în urma precipitării sau coprecipitării substanțelor care în mod normal se află solubilizate în urină.

Mecanismele de legare a cationilor metalici la anionii anorganici întâlniți în uroconcremente explicitează formarea așa numiților "starteri" sau "primeri" în procesele de precipitare sau coprecipitare produse (nucleația heterogenă bioanorganică) in situ prin creșterea în timp a uroconcremenelor.

### **1.2.2. Retrospectivă istorică**

O retrospectivă istorică asupra urolitiazelor conduce, inerent, la cercetările arheologice întreprinse asupra Egiptului antic. Astfel, studii efectuate asupra mumiiilor de către Smith [citată de 20], au arătat că cel mai vechi calcul cunoscut – un calcul vezical, datează din anul 4.800 î.Chr.

Date referitoare la litiaze apar și în Orientul Apropiat odată cu apariția scrierii cuneiforme la sumerieni. Mențiuni referitoare la acest subiect au apărut în jurul anilor 4.000 î.Chr., odată cu dezvoltarea civilizației Caldeenilor. Referiri despre litiaze a făcut și Seidel [citată de 20] care a arătat că în Nord-Vestul Asiei, zona Turciei de astăzi, litiaza era rară, dar în vechea Persie, era destul de frecventă, apărând chiar în copilărie.

În India, din cele mai vechi documente sanscrite, imnurile din Rig-Veda și Arthva Veda (2.000-3.000 î.Chr.) menționează faptul că litiaza a fost o problemă majoră. În vechi scrieri indiene se menționa că fragmentele de piatră rămase în vezică constituie un "cuib" pentru creșterea ulterioară de calculi [20].

Există scrieri și despre popoarele Americii care menționează litiazele. Astfel abatele Fra Bartolomei de Las Casas într-o istorie a Mexicului, menționează utilizarea unor procedee terapeutice pentru piatră la vezică practicate de vechii azteci (AD 1.100). Alte dovezi nu s-au aflat. O explicație a lipsei de dovezi este construcția de morminte din material puțin rezistent sau obiceiul (în unele zone) de-a expune corpul celui decedat ca hrană vulturilor.

Mențiuni despre litiaza urinară apar și în Grecia Antică, în scrierile rămase de la Hipocrate (460-370 î.Chr.) - părintele medicinei, care a recunoscut existența calculilor renali și vezicali, și a recomandat administrarea de diuretice, consum de mari cantități de apă, modificarea alimentației, exerciții fizice, ingestie de extracte de plante pentru eliminarea "pietrei". Hipocrate a elaborat scrieri în care a abordat probleme de fiziologie și de constituție a materiei vii, prin introducerea "concepției umorale" în medicină, e.g. "Collectio Hippocratica" și "Corpus Hippocraticum" în care se prezintă remedii terapeutice bazate pe regimul alimentar, factorii fizici și sociali.

În Imperiul Roman Aulus Cornelius Celsus (ca. 25 î.Chr. – ca. A.D. 50) a încercat să includă toate cunoștințele medicale într-o enciclopedie "De Re Medicina". A descris colica renală și complicațiile date de fistule, sângerări post operatorii etc. Galenus discută pentru prima dată despre originea metabolică a calculozei. A descris cu exactitate simptomele litiazei renale și vezicale. De-a lungul istoriei, simptomele au fost cele care au determinat recunoașterea unei boli și atenția acordată tratamentului. Originea îndepărtării calculilor prin intervenție chirurgicală stă în adâncurile istoriei. Rufus din Ephes (A.D. 53-117) este autorul primei monografii „Boli ale rinichiului și vezicii urinare”.

În lumea arabă s-au făcut pași importanți în chimie și medicină. Arabii au început ei însuși să producă propriile lor opere, care au fost mai multe secole, unica sursă de literatură medicală. Rhazes (860-932) a scris mai multe "tratate" medicale cuprinzând toate ramurile, având și capitole importante cu studii despre urină. Avicenna (980-1037) credea că piatra se formează atunci când urina conține un exces de materie care obstruează canalele. Acesta a afirmat că urina albă și limpede arată o piatră tare (neinfectată), iar urina densă, vâscoasă, arată că piatra este moale (infecțioasă). Această constatare a reprezentat prima tentativă de diferențiere a litiazelor în primară și secundară.

Odată cu apariția Școlii de la Salerno, membri ordinelor religioase (în mod special Benedictinii) și-au asumat un rol important în asigurarea serviciilor medicale și au devenit cunoscuți pentru abilitățile chirurgicale. Mănăstirile ofereau îngrijire celor care nu apelau la practicienii itineranți care treceau prin localitățile lor. În Catedrala din Bamberg, Germania pe piatra funerară a Împăratului Heinrich II de Bavaria (972-1024) care ilustrează rolul călugărilor în „miracolul” tăierii calculilor [21].

Perioada Evului Mediu aduce noi informații. Abulcasis (1050-1106), a observat că adeseori piatra este găsită în vezică, la copii.

În tratamente pentru atenuarea durerilor se utilizau cantități mari de opiu, laudanum și mandragora. În secolul XIII a fost introdus „buretele soporific” – un burete îmbibat cu o mixtură de opiu, cucută, salată verde, mandragora, iederă, dudu, care era inhalat de pacient în timpul intervenției. Trezirea se făcea cu suc de fenicul și oțet aplicate pe nări. Utilitatea acestor „născociri” a fost limitată de începuturile anesteziei în 1860 [21]. Lucrări de chirurgie practică au fost elaborate de Guy de Chauliac (1300-1368).

În antichitate Dioscorides (A.D. 40-90) a descris 29 plante folosite pentru a dizolva sau facilita eliminarea naturală a calculilor, printre care: mușetel, laur, mentă, păpădie, păstârnac, etc. Aceste plante erau recomandate și pentru proprietățile miorelaxante sau pentru atenuarea iritațiilor mucoaselor. În timp, mixturile s-au dezvoltat prin combinarea plantelor în diferite proporții și în diferiți solvenți (vin, oțet, lapte, ceai etc.).

Cantaridele, extractul mucilaginos de arbore de cauciuc și fructe de pădure erau folosite, de asemenea, pentru proprietățile lor diuretice. Plantele au continuat să rămână „materia medica” și după ce Paracelsus (1493-1541) a introdus folosirea metalelor în principiile sale homeopatice. Mineralele erau recomandate și în medicina Mesopotamiană (scoici, ouă de struț, coji de ou, carcase de melc, scoici, etc.) de către Galen și ulterior de Avicenna (980-1037).

Agenți alcalinizanți ca și carbonatul de potasiu, citratul de potasiu, carbonatul de sodiu, oxidul de calciu se utilizau în terapie. Soluțiile acestor substanțe au fost recomandate nu doar pacienților cu gută, la care s-a dovedit eficiența dar și celor cu calculi.

Odată cu apariția iatrochimiei, au apărut tentative de a identifica compoziția chimică și structurală a calculilor. Promotorul acestei inițiative a fost Carl Welheimer Scheele (1741-1786), un farmacist suedez, care investigând elementele solide din urină a izolat acidul uric dintr-un calcul al vezicii urinare, pe care l-a denumit „acid litic”. După 20 de ani, William H. Wollaston (1776-1828) a arătat prezența „acidului litic” în încheieturi și calculi la pacienții cu gută și a acreditat denimirea de „acid uric”.

Un moment important în descoperirea factorilor cauzali ai litiazei urinare, este descoperirea acidului uric în calculi, în 1776, de către Scheele. După descoperirea epocală a lui Scheele, contribuții importante la descoperirea compoziției chimice a calculilor (oxalați, fosfați, carbonați, xantină, cistină) au adus Vauquelin și Fourcroy - în Franța, Wollaston, Pearson, Marcet și Prout - în Anglia.



## 18 Particularități ale biogenezei concremențelor litiazice - 1

Un important și memorabil moment pentru "confluența" interdisciplinară este reprezentat de anul 1777, când Lazzaro Spallanzani (1729 – 1799) a scris că: "viața este o funcție chimică".

În studiile sale Marcet [20] a opinat că formarea calculilor începe, de cele mai multe ori, în rinichi. Acesta a stabilit o diagramă cu frecvența calculilor urinari în diferite regiuni anatomice după datele existente la spitale. De asemenea, a evaluat, comparativ, frecvența calculozei urinare în diferite țări. A fost printre primii care au menționat legătura dintre regimul alimentar și formarea calculilor.

În a doua jumătate a secolului XIX apare tratatul lui Samuel Gross - despre distribuția calculilor urinari precum și lucrarea lui Virchow "Kalk-metastasen" despre litiaze. În 1856 Meckel von Hemsbach a elaborat teoria conform căreia inflamația mucoasei căilor urinare ar provoca precipitarea sărurilor din urină, ceea ce ar duce la formarea de calculi.

Descoperirea razelor X de către Röntgen (1895), a oferit noi posibilități de diagnostic în urologie, prin examinare radiologică. Odată cu aceasta s-a evidențiat rolul stazei în apariția litiazei urinare, a litiazei de imobilizare etc. Se face distincție între litiaza de organ și litiaza de organism.

Au fost introduse în studiul litiazelor și cercetarea pe modele experimentale animale. Astfel, s-a constatat că lipsa vitaminei A din alimentația șobolanilor duce la apariția de concrețiuni în rinichi și căile excretoare. Astfel s-a făcut legătura între apariția litiazei și regimul alimentar neechilibrat și s-au studiat regiunile potențial litogene.

Experimental s-a dovedit și rolul infecției în apariția litiazei urinare [22]. În 1925, după extirparea unui adenom paratiroidian, la un bolnav se constată scăderea calcemiei și modificarea aspectului macroscopic al urinei, ceea ce a deschis un nou orizont în investigarea etiopatogeniei litiazei renale și a posibilităților terapeutice. Sunt inițiate cercetări în domeniul metabolismului fosfo-calcic, studiindu-se rolul glandelor paratiroide în boala litiatică etc.

Din nou, cercetările pe modele experimentale animale s-au dovedit utile. A fost sesizat pentru prima dată, că deficiența de magneziu produce urolitiază la animale de experiență [Hamarsten, 1929 – citat de 20].

În 1929, fiziologul american Walter Canon (1871-1945), a introdus termenul de "homeostazie" pentru definirea așa numitelor constante biologice ale organismului, e.g. homeostazia biochimică, homeostazia termică.

Problema rolului oligoelementelor metalice în urolitiază a fost sesizată încă din anii '50 [23]. S-au determinat următoarele elemente: Cu, Fe, Mn, Pb, Zn [24]. Determinările de metale s-au făcut prin metode spectrofotometrice.

Numeroase studii întreprinse în ultimele decenii au urmărit implicațiile unor metale în formarea sau prevenirea calculilor renali [25, 26, 27, 28, 29, 30]. De asemenea, s-a studiat problema inhibitorilor de cristalizare din urină [31].

Din punct de vedere istoric pentru urolitiază s-au relevat evolutiv modificări fundamentale privind caracteristicile bolii de la primele observații până în zilele noastre. Astfel într-o lucrare de sinteză [7], prezentând numeroase date din literatura de specialitate, arată că litiaza vezicală a fost litiaza tipică a trecutului pe când litiazele renală și ureterală sunt manifestările clinice caracteristice ale bolii în zilele noastre, în deosebi în țările dezvoltate.

### 1.2.3. Distribuția geografică – repere generale

Urolitiazele, din punct de vedere al "patologiei geografice" – domeniu menționat în clasificarea tipurilor de patologie [5] se includ în grupa bolilor plurifactoriale răspândite pe tot globul. În această grupă de boli se mai includ hipertensiunea arterială, ateroscleroza, ulcerul gastro-intestinal, diabetul zaharat, reumatismul, enzimopatiile etc.

Incidența urolitiazelor relevă unele particularități legate și de zonele geografice. Astfel, s-a avansat ideea că în regiunile geografice industrializate litiazele urinare au o frecvență de cca 0,12 % , însă mulți pacienți nu sunt diagnosticați deoarece boala evoluează, uneori, asimptomatic [2, 15, etc.]. Această observație explică evidențierea calculilor la cca 1 % din cazurile autopsiate [32].

Prevalența reală a bolii litiazice urinare se stabilește cu dificultate în diverse părți ale lumii. Se consideră totuși că boala are caracter endemic în Oriental Mijlociu, Asia de Sud-Est, USA, India ș.a. Este considerată, practic, necunoscută în țările Africii tropicale și sudice [1].

În Europa incidența bolii este de 1-1,2 % (cu recidivare care ajunge până la 50%), în USA de 3-4 % iar în Asia de Sud-Est este 10 %, fiind considerată zonă litogenă. Cu privire la diversitatea distribuției geografice există diverse studii [7, 33, 34, 35, 36]. O reprezentare diagramatică generală a zonelor litogene de pe glob este redată în fig.1-2.

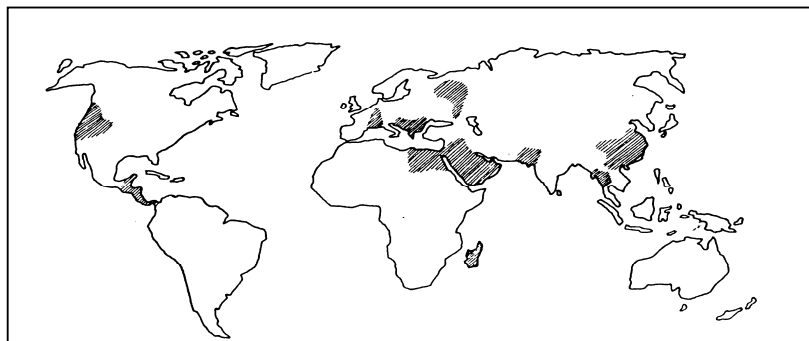


Fig.1-2. Distribuția zonelor litogene pe mapamond

Evaluarea statusului litiazelor pe glob relevă faptul că frecvența litiazei renale este mare în anumite zone geografice. Aceasta sugerează influența solului, apei, climei în etiopatogeneza afecțiunii. De asemenea, este demonstrat, în cadrul studiilor epidemiologice efectuate pe rase, faptul că negrii fac mult mai rar litiază, comparativ cu albi și galbenii [1]. În privința alimentației se consideră că litiaza este mai frecventă la consumatorii de cereale și derivate, în timp ce persoanele care se hrănesc cu lapte și derivate ar fi "protejate" de litiaza renală.

În ultima jumătate de secol prevalența urolitiazelor a crescut dramatic în toate țările industrializate. Un procent cuprins între 3-20% din întreaga populație formează cel puțin un calcul urinar pe perioada unei vieți de 70 ani. Aproximativ 60% din calculi sunt recurenți și 10% din pacienți prezintă o nefrolitiază multirecurrentă care duce la insuficiență renală sau chiar la hemodializă. Nefrolitiază

reprezintă faza finală a insuficienței renale la 3% din pacienții cu hemodializă cronică. Aceste observații subliniază importanța stabilirii unui diagnostic în faza incipientă și prevenirea proceselor de cristalizare prin terapie selectivă și continuă [34, 37, 38].

O cauză importantă a urolitiazelor o constituie obiceiurile alimentare. Etiologia este foarte diversă și include, de asemenea, perturbări metabolice, afecțiuni intestinale inflamatorii, infecții intestinale sau urinare, disfuncție tubulară, uropatie malformativă, mecanism neurologic, terapie medicamentoasă. Acești factori pot interveni simultan sau succesiv [39].

Dieta joacă un rol capital în dezvoltarea hiperuricemiei care poate sta la originea apariției litiuzei urice. Hiperuricemia este marcată prin creșterea nivelului de acid uric seric peste valoarea de 7 mg/dL. Valorile cunatumulului de acid uric seric reflectă în mod direct dieta individului. Acidul uric este produsul final al metabolismului purinic, astfel că un consum ridicat de alimente bogate în purine are ca efect creșterea uricemiei [40]. Astfel, dacă în cazul consumului de carne și fructe de mare studiile indică o creștere a uricemiei, în cazul produselor lactate se observă o scădere a uricemiei, cu toate că și acestea aduc un aport semnificativ de purine [41]. De asemenea, există studii care evidențiază faptul că și unele leguminoase precum soia, deși au un conținut purinic ridicat, produc o depresie a uricemiei [42].

Urolitiuză este întâlnită des în cazuistica medicală, estimându-se faptul că în jur de 6% dintre femeile și 12% dintre bărbații din țările industrializate se confruntă cu această afecțiune a cărei incidență este în continuă creștere [43, 44]. În cazul urolitiuzelor, acestea conțin cel mai adesea oxalat de calciu sau fosfat de calciu (70 - 80% din urilitiuzele simple sau mixte), însă acestea pot să conțină și struvit, acid uric sau cistină [45]. În Statele Unite acidul uric este implicat în formarea a 5-10% din urolitiuzele întâlnite [45]. Prevalența uroconcremențelor cu acid uric variază în diferite țări prezentând valori de 4 % în Suedia, 17-25% în Germania și ajungând la valori de 40% în Israel [46]. La bazele acestor variații stau factori precum clima, dieta, factorii genetici etc.

Unii dintre factorii mai rar discutați în cazul urolitiuzei sunt factorii edafici (i.e. solul și apa freatică de suprafață). Se pot menționa în acest sens studii care evidențiază concentrația unor metale din uroconcremente care sunt specifice unei anumite țări [47] sau chiar studii care urmăresc în special metalele prezente în uroconcremente în funcție de regiunile geografice din cadrul unei țări [48].

Evaluată în funcție de vârstă, boala litiuzică relevă, de asemenea, unele particularități. La adulți litiuză urinară se întâlnește cu frecvență maximă între 20 și 40 ani (peste 50 % din cazuri), deși nu este deloc rară la celelalte categorii de vârstă. Prevalența crește cu vârsta și este mai mare în orașe.

La copii, litiuză este legată în primul rând de anomalii congenitale ale aparatului urinar, iar la vârstnici survine, îndeosebi litiuză vezicală, ca o consecință a unui obstacol subvezical, e.g. litiuză secundară sau de organ [49, 4]. Raportându-se la sexe, statisticile relevă faptul că litiuză urinară se întâlnește cu frecvență crescută, de la 1 la 3 până la 1 la 23 la bărbați, față de femei [2, 50].

În patologia aparatului reno-urinar se consideră că urolitiuză reprezintă un pericol pentru rinichi ducând într-un interval de timp neprevăzut la lezarea acestuia. În România deceniului 80-90 al secolului XX se îmbolnăveau anual, estimativ 100.000 indivizi (litiuză primare și recidive) și erau operate cca 15.000 cazuri [41, 2, 15].

Frecvența urolitiuzei ca entitate morbidă, reprezintă 1-2% din totalitatea bolilor întâlnite la populația adultă. Comparativ cu reumatismul - sub 1% și cu diabetul - până la 1,5% , se remarcă frecvența mai mare a urolitiuzelor. Dintre

afecțiunile chirurgicale ale aparatului urinar, în funcție de diversele studii, litiazele reprezintă 12-40 %.

Repartizarea geografică a litiazei urinare în România, în perioada interbelică, a fost studiată în cadrul unor cercetări medicale clujene întreprinse de Țeposu et al. (1939) la Universitatea « Regele Ferdinand I » din Cluj.

După 1950 au fost întreprinse noi studii referitoare la urolitiaze. În acest cadru date de sinteză au fost prezentate de Huszar (1971), care a studiat morbiditatea specifică și repartizarea geografică a litiazei urinare pe județe și pe provincii istorice (fig.1-3). Datele expuse se referă la perioada 1968-1969.

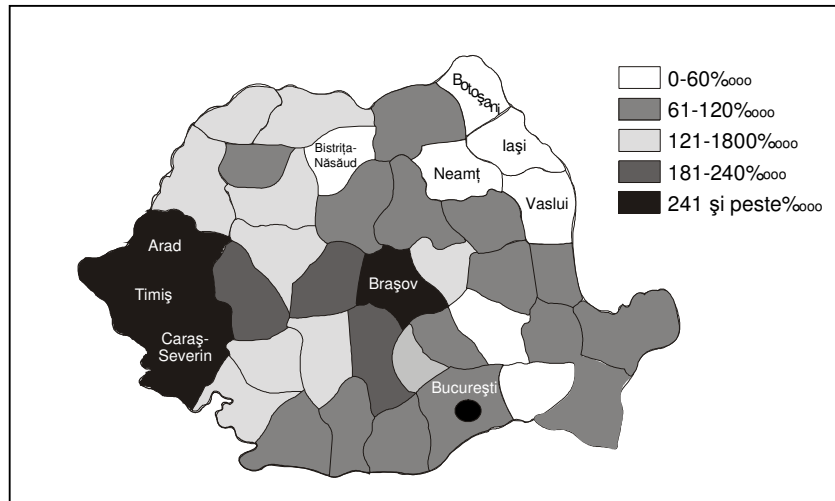


Fig. 1-3. Distribuția geografică a litiazelor în România (perioada 1968-1969)

Din aceste studii s-a constatat că morbiditatea în Banat (județele Arad, Caraș-Severin și Timiș), în județul Brașov și municipiul București a fost de 241 și peste - la 100.000 locuitori; în județele Hunedoara, Sibiu, Argeș, Constanța a fost de 181-240 - la 100.000 locuitori; în județele Satu Mare, Maramureș, Bihor, Cluj, Alba, Vâlcea, Gorj, Mehedinți, Dâmbovița a fost de 121-180 - la 100.000 ; în județele Suceava, Mureș, Harghita, Bacău, Vrancea, Galați, Brăila, Tulcea, Constanța, Ilfov, Teleorman, Olt, Dolj a fost 61-120 - la 100.000 și în județele Botoșani, Iași, Neamț, Vaslui, Buzău, Ialomița a fost de 0-60 - la 100.000. Media în România era de 134,8 - la 100.000 locuitori.

Evaluarea distribuției litiazelor pe provincii istorice se prezintă astfel: în Banat 286,8 ; Ardeal 159,2 ; Oltenia 110,2 ; Muntenia 95,6 ; Moldova 54,4 și Dobrogea 87,5 la 100.000 de locuitori. În partea de sud-vest a României - incluzând ca arie specifică Banatul - sunt mai frecvente litiazele purinice, în speță urice [52, 53].

Observații cu caracter general au conchis că litiaza urinară are o frecvență cu variabilitate temporală. Astfel, spre exemplu, în anii celui de al doilea război mondial și în perioada de după război s-au observat foarte puține cazuri de calculoză (regim alimentar moderat până la privarea parțială de nutrienți proteici și lipidici).

În investigarea urolitiazelor, studiile referitoare la etiologie (cauze), patogeneză (mecanisme) și compoziție chimică implică o abordare complexă inter-și multidisciplinară, prezentând interes pentru cercetarea fundamentală și/sau

aplicativă. În vederea obținerii unor date de acuratețe în studiul proceselor de litogeneză se procedează la investigații bazate pe aplicațiile moderne ale biochimiei, biofizicii, morfopatologiei, computerelor ș.a.

Astfel, prin investigații interdisciplinare, se pot obține informații complexe privind aspectele morfo-fiziologice ale tractului urinar, e.g. excreția, urodinamica, formarea uroconcremenelor etc. Aceste informații pot fi completate cu date privind compoziția uroconcremenelor.

Corelarea rezultatelor din investigațiile funcționale și de laborator pot explica mecanismele de litogeneză și definesc cadrul măsurilor terapeutice și metafilactice, a circumscriserii rolului dar și importanței măsurilor profilactice [39, 54, 55, 56].

În acest cadru, studierea rolului și importanței cationilor metalici în procesele de precipitare și coprecipitare cu formare de cristale, microcalculi și depuneri sub formă de uroconcremente – ca etape ale litogenezei – suscită un real interes teoretic și aplicativ (în cercetarea analitică cu aplicație în clinica urologică). Determinarea metalelor prezente în uroconcremente poate contribui, indirect, și la explicitarea mecanismului nucleației heterogene bioanorganice în urolitogeneză în care concură metaboliți organici și anorganici.

La compușii anionici (organici și anorganici) se pot fixa ionii metalici prezenți în mod curent în interacțiile specifice metabolismului hidro-electrolitic, între care se menționează :  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , dar și alți ioni nemetalici cum ar fi ionul de amoniu ( $\text{NH}_4^+$ ), precum și compuși neionici. Legarea cationilor metalici și a cationului  $\text{NH}_4^+$  se poate face sub formă ionică în cazul compușilor anionici din uroconcremente (e.g. acid oxalic, acid fosforic ș.a.). În cazul derivaților purinici (e.g. acid uric, xantina ș.a.) legarea metalelor se face sub forma unor complecși acvatați.

În România primele lucrări privind compoziția cantitativă a calculilor urinari și determinarea calitativă a metalelor din uroconcremente prin spectroscopia de absorbție atomică (SAA) au fost efectuate în Timișoara, în cadrul unor Proiecte de cercetare științifică departamentală derulate sub egida Academiei de Științe Medicale [57, 27]. A existat o colaborare între Clinica de Urologie a Universității de Medicină și Farmacie Timișoara și Institutul de Sănătate Publică Timișoara când din punct de vedere științific depindea de Academia de Științe Medicale (perioada 1980 - 1990). Aceste cercetări au fost continuate și diversificate și sprofundate [58, 59, 60, 61, 62, 63].

### **1.3. BAZELE ANATOMO-FIZIOLOGICE ALE STUDIULUI UROLITIAZELOR**

#### **1.3.1. Privire sinoptică**

În studiul integrat morfologic, fiziologic și biochimic al sistemelor biologice, în general, se impune cunoașterea preliminară a datelor anatomice. În investigațiile de interes biomedical și bioanalitic astfel de date se circumscriu unui anumit aparat sau sistem care face obiectul de studiu sub raport fiziopatologic și patobiochimic.

O prezentare integrativă a problemelor referitoare la nutriție și patobiochimie implică o abordare interdisciplinară, interesând: *morfologia* - cu referire la studiul macroscopic - anatomia, dar și microscopic - histologia, citologia ;

*fiziologia* - cu trimeri la corelațiile fiziologice dintre diferitele aparate și sisteme, definirea caracteristicilor diferitelor bariere fiziologice și a particularităților morfogeneze; *biochimia* - cu explicitarea caracteristicilor dinamice ale proceselor biologice, a relației structură chimică - activitate biologică a biodisponibilității, a particularităților energogenezei etc; *patobiochimia* - care permite explicitarea interacțiilor la nivelul metaboliților rezultați din nutrienți și xenobiotice sau produși reziduali ai acestora și impactul acestor interacții în producerea injuriei biochimice; *biofizica* - interesând mecanismele macro- și microtransportului transmembranar.

Astfel, studiul biogenezei uroconcrementelor necesită cunoașterea principalelor aspecte morfo-fiziologice ale aparatului reno-urinar și ale fiziologiei acestuia. În acest scop se vor expune doar date generale referitoare la elementele morfofiziologice care pot facilita înțelegerea vastei problematice cu care se confruntă biochimia și patobiochimia bolii litiazice.

Aspectele referitoare la bazele anatomo-fiziologice ale proceselor de metabolizare a nutrienților cu posibile modificări ale homeostaziei biochimice necesită cunoașterea principalelor noțiuni de *anatomie a aparatului reno-urinar* și de *fiziologie a excreției renale*, care să permită înțelegerea problemelor fundamentale (teoretice) și aplicative ale patobiochimiei urolitiazelor la om [64, 65, 66].

### 1.3.2. Aparatul reno-urinar

Aparatul reno-urinar este constituit dintr-o seamă de formațiuni anatomice la nivelul cărora se produce și se elimină urina. Având în vedere specificul prezentei lucrări care abordează tema urolitiazelor se vor prezenta distinct, limitativ, doar date referitoare la anatomia și fiziologia aparatului reno-urinar. În acest cadru se vor discuta succint aspecte referitoare la rinichi și căile urinare. Aspecte anatomice generale ale aparatului reno-urinar și rinichiului, ca organ, sunt prezentate în fig.1-4 [383]

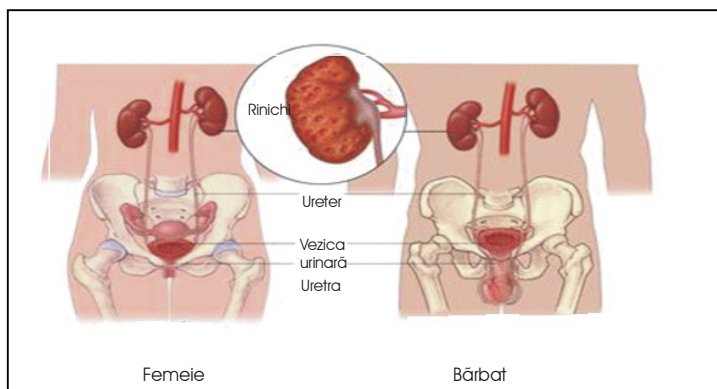


Fig.1-4. Aparatul reno-urinar (prezentare generală)

Se remarcă și diferențele anatomice condiționate de sexe.

În unele tratate de anatomie se studiază conex aparatul uro-genital, privit ca un sistem unitar atât pentru considerentul că au funcții asemănătoare de eliminare a unor produși ai organismului, cât și pentru faptul că au o bază comună de dezvoltare filogenetică (în cursul evoluției) și ontogenetică (în cursul dezvoltării embrionare).

### 1.3.3.1. Rinichiul

Rinichiul este un organ pereche dispus în spațiul retroperitoneal din cavitatea abdominală. Rinichii se situează de o parte și de alta a coloanei vertebrale. Sunt înveliți la exterior cu capsule fibroase proprii.

În anatomie se studiază aspecte morfologice macroscopice referitoare la forma și dimensiunea rinichilor, raporturi anatomice, vascularizație și inervație etc.

Greutatea rinichiului este de 120-200 g. În medie un rinichi are lungimea de 11-12 cm, lățimea 5-6 cm și grosimea de 3-4 cm. Macroscopic - rinichiul evidențiază la exterior capsula fibroasă, iar la interior parenchimul renal dispus între capsula fibroasă și sinusul renal (fig.1-5). Parenchimul este constituit din substanța corticală dispusă periferic și substanța medulară dispusă spre interior.

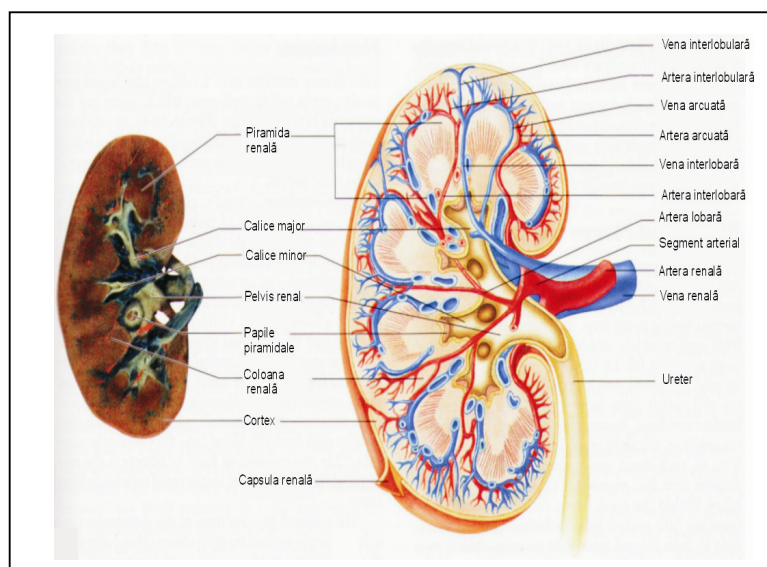


Fig.1-5. Rinichiul în secțiune – aspecte morfologice generale  
a) aspect macroscopic; b) detalii microscopice [67]

În proximitatea zonei medulare se află bazinetul și hilul renal. Hilul renal este străbătut de vase sanguine (artere, vene) și nervi. În proximitate se află bazinetul în care se colectează produsele de eliminare rezultate din rinichi. De la bazinete pornesc ureterele.

Microscopic - se evidențiază substanța medulară și corticală. Substanța medulară renală este structurată în 9 - 14 piramide renale cu baza spre cortex și vârful spre hilul renal numite piramidele lui Malpighi - formațiuni (cca zece la număr) în interiorul cărora se află nefronii. La nivelul nefronilor are loc filtrarea sângelui. Vârfurile piramidelor malpighiene, numite papile se deschid în calicele renale, care apoi unindu-se formează bazinetul. Acesta se continuă cu ureterul.

Substanța corticală coboară printre piramide până la sinusul renal formând așa-numitele „coloane renale” sau „coloanele Bertin”. O piramidă renală cu

substanța corticală din jurul acesteia, formează lobul renal. La bază piramida renală este traversată de 300-500 formațiuni cu striații radiare denumite piramidele Ferrein care ajung până la capsulă, înconjurate fiind de substanța corticală.

Structural, corticala și medulara rinichiului integrează tubii uriniferi și vasele de sânge aparținătoare acestora. La rândul său, tubul urinifer este constituit din nefron și tubul colector. Particularitățile morfologice, microscopice, fac obiectul de studiu al histologiei, histochimiei, citologiei, etc. Microscopic, la rinichi se descriu - per ansamblu - nefronul și tubul colector.

#### **A. Nefronul**

Reprezintă unitatea morfologică și funcțională a rinichiului. Sub aspect fiziologic, nefronul reprezintă partea secretorie.

Reiterând datele privitoare la structura microscopică, nefronul este alcătuit din:  $\alpha$ ) corpusculul renal;  $\beta$ ) turbul contort proximal;  $\gamma$ ) ansa Henle;  $\delta$ ) tubul contort distal. Aceste formațiuni sunt descrise succint în continuare.

- Corpusculul renal (Malpighi) - este format din capsula Bowman și glomerulul vascular. Capsula Bowman este o membrană epitelială formată dintr-o foiță parietală care se continuă cu polul urinar al capsulei și cu tubul contort proximal. La polul vascular, din partea opusă, se află foița viscerală care aderă la glomerul. Între cele două foițe ale capsulei se formează o cavitate în care se acumulează „urina primară”. Aceasta reprezintă filtratul glomerular.

- Tubul contort proximal - are lungimea de aproximativ 30 mm, este sinuos și continuă foița parietală a capsulei Bowman. Peretele acestui tub evidențiază, electronmicroscopic, formațiuni numite microvili care măresc suprafața celulară și prin care se resorb anumite substanțe din urina primară și trec în capilarele din jurul acestora. Odată cu resorbția, prin intermediul acestor celule au loc și procese de secreție a substanțelor rezultând astfel „urina finală”. Tubii contorți împreună cu corpusculii renali sunt situați în corticală. Numărul corpusculilor renali depășește un milion.

- Ansa Henle - reprezintă continuarea tubului contort și conduce la piramidele Ferrein. Această ansă este alcătuită dintr-o ramură descendentă - cu o parte inițială de același calibru cu tubul contort și alta mai subțire care se continuă cu ramura ascendentă a ansei. Lungimea totală a ansei este de 20-40 mm iar ramura ascendentă reprezintă circa 5-20 mm.

- Tubul contort distal - reprezintă continuarea ramurii ascendente a ansei Henle. Are lungimea de circa 10 mm. Tubul contort distal vine în contact cu peretele arteriolei aferente la polul vascular și are o structură specială cunoscută sub numele de macula densa. Celulele din această zonă sunt implicate în activitatea endocrină, secretând renina sub acțiunea hormonului antidiuretic. Tubul contort distal conduce spre tubul colector. Renina secretată intervine în sistemul renină-angiotensină și în funcția renală (eliberarea urinei) prin menținerea tensiunii arteriale și a echilibrului hidroelectrolitic, acesta din urmă fiind important și în biogeneza urolitiazelor.

#### **B. Tubul colector**

Reprezintă partea excretorie. Acest tub traversează corticala renală și în continuare piramidele renale, deschizându-se în tubii dreپți. Epiteliul tubului colector este format din celule cubice și celule înalte. Această formațiune asigură tranzitul urinei spre zona de colectare.



### 1.3.3.2. Căile urinare

Căile urinare se caracterizează prin existența unor segmente cu rol anatomo-fiziologic distinct, acestea fiind pelvisul renal și căile urinare (ureterele, vezica urinară și uretra). Evident căile urinare pot prezenta unele diferențe specifice, condiționate de dezvoltarea aparatului genital (masculin sau feminin). Din aceste considerente în numeroase tratate se studiază concomitent aspectele anatomice uro-genitale cu evidențierea specificului fiecărui organ.

Eliminarea urinei se produce inițial la nivelul sinusului renal, calicele renale mici, calicele renale mari, și pelvisul renal (bazinet). Pelvisul renal - este un prim rezervor de colectare a urinei. Se prezintă ca o formațiune musculo-membranoasă dilatată, cu formă ampulară (de pâlnie). La bază, pâlnia primește calicele mari, iar la vârf se continuă cu ureterul. În continuarea pelvisului renal, considerat ca și „rezervor colector” pentru urină, se inseră căile urinare. În continuare se prezintă date generale referitoare la căile urinare.

a) *Ureterul* - are aspectul general de conduct lung de 30 cm, întins de la pelvisul renal până la vezica urinară. Coboară de o parte și de alta a coloanei vertebrale, retroperitoneal și se implantează în regiunea postero-inferioară a vezicii urinare. Pe traiectul ureterului se găsesc trei porțiuni unde lumenul este îngustat, în dreptul cărora se opresc adesea calculi - calculi ureterali. Aceste strâmțori sunt situate la ieșirea din bazinet, la locul de încrucișare cu marile vase în bazin și la zona de intrare în vezica urinară - numită curent joncțiunea uretro-vezicală.

b) *Vezica urinară* - se prezintă ca un rezervor musculo-membranos în care urina secretată în mod continuu de rinichi și transportată prin uretere se acumulează în intervalul dintre micțiuni. Din vezică, urina este expulzată la exterior prin uretră, după acumularea unei anumite cantități, prin actul micțional supus controlului voinței. Capacitatea vezicală prezintă numeroase variații individuale, în funcție de vârstă, sex, stare fiziologică, stări patologice. În mod obișnuit, această capacitate este de 200-250 mL, cu mari posibilități de distensie (până la 1300 mL). În cazul unor obstacole în calea eliminării urinei, vezica nu este golită în întregime și prin stagnarea urinei reziduale sunt create condiții favorabile pentru apariția infecției urinare și a calculilor vezicali.

c) *Uretra* - constituie ultima parte a căilor urinare. Este canalul prin care urina este expulzată la exterior. Prezintă diferențe anatomice condiționate de sex.

Uretra masculină - este lungă de aproximativ 25 cm și are trei porțiuni : prostatică, membranoasă și spongioasă sau peniană. Ultima parte la bărbat reprezintă și calea spermatică. În cazul unor îngustări patologice (stricturi), pe traiectul uretrei pot rămâne inclavați calculi urinari.

Uretra feminină - este mult mai scurtă (4-5 cm) și mai largă și prezintă două porțiuni: pelviană și perineală. Constituie partea terminală a căilor urinare, fiind separată de calea genitală.

## 1.4. IPOTEZE PRIVIND BIOGENEZA UROCONCREMENELOR

Conceptual, în studiile asupra biogenezei concremenelor litiazice, având în vedere marea diversitate „topobiochimică”, s-au emis opinii care au condus la formularea a două ipoteze plauzibile privind patogenia urolitiazelor. Deși admise,

aceste ipoteze nu pot explica în totalitate particularitățile litogenezei [1, 2, 15, 68]. Caracterizarea acestor ipoteze se prezintă astfel:

1. Ipoteza biogenezei intracelulare – în accepția căreia la originea nucleilor de precipitare (coprecipitare) care preced formarea calculilor se află un proces intracelular [69, 70].
2. Ipoteza biogenezei extracelulare – în care se opinează că structurarea nucleilor starteri cu rol de „starteri” în precipitare (coprecipitare), deveniți precursori ai calculilor, este un proces care evoluează extracelular (în lumenul tractului urinar). În cadrul acestei ipoteze se discută și problema „modulatorilor de cristalizare” (v. Cap. 4). Cu referire la această ipoteză s-au emis următoarele trei teorii :

a) Teoria *matricei organice* - a fost acreditată în accepția existenței unei „matrice glicoproteice” a calculului - astăzi mai puțin acceptată. Pe acest agregat format din glicozaminoglicani s-ar produce precipitarea sărurilor litogene cu formarea propriu-zisă a calculilor [71].

b) Teoria *inhibitorului cristalizării* - atribuie formarea calculilor prezenței sau existenței în concentrații scăzute în urina formatorilor de calculi a unor compuși cu capacitatea de a inhiba cristalizarea sărurilor. Teoria aceasta susține faptul că urina normală ar conține o cantitate suficientă de astfel de „otrăvuri pentru cristale” pentru a proteja subiectul împotriva formării cristalelor și a calculilor în urină [72, 73].

c) Teoria *cristalizării* - are în vedere formarea „nucleelor de cristalizare” în urina concentrată. Tranzitul continuu al urinei suprasaturate cu un anumit compus (e.g. acid uric, acid oxalic etc.) poate determina formarea calculilor, prin precipitarea spontană cu formare de săruri (devenite nucleee de cristalizare), independent de existența unei matrici deja formate sau de prezența factorilor inhibitori ai cristalizării. Cristaluria persistentă poate duce la depunerea de noi cristale, urmată de constituirea unui agregat de cristale.

Nucleul astfel format va constitui precursor pentru precipitarea altor săruri, însă de aceeași formă cristalografică. Această teorie are drept fundament suprasaturația urinară cu anumite substanțe precipitabile (considerate metastabile) care au drept precursori cationi, e.g. ioni metalici ( $M^{n+}$ ), amoniu ( $NH_4^+$ ) și anioni.

Conform teoriei cristalizării, mai acceptată în prezent, se consideră că un calcul se formează în două stadii distincte : stadiul de preformare (monofazic) și stadiul de litogeneză (tetrafazic). În cursul acestor faze se ajunge de la nucleație la uroconcrement.

Faza I (în stadiul de preformare) – se poate decela dishomeostazia metaboliților specifici urolitiazelor, deci compuși anionici : acid uric, acid oxalic, cistină, fosfato și cationi metalici  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  etc. Și posibil  $NH_4^+$  . Aceștia produc suprasaturarea urinei.

Faza II (inițială în stadiul de „litogeneză”) – este caracterizată prin „nucleația heterogenă bioanorganică” cu apariția, în urina suprasaturată, a unor microcristale cu diametre de sub 5 nm. În această fază apar de fapt procese de precipitare și de coprecipitare. De asemenea, în această fază este posibilă eliminarea de cristale – microcristaluria. Restul fazelor sunt caracteristice litogenezei propriu-zise.

Faza III – se caracterizează prin creșterea și agregarea microcristalelor cu formarea unor macrocristale de dimensiuni mai mari (până la 200  $\mu m$  ). În cazul acestora este posibilă eliminarea.

Faza IV – se continuă acumularea de cristale și formarea așa numiților „microliți”. Aceștia se pot fixa în tractul reno-urinar.

Faza V – Se poate produce detașarea uroconcrementului (calculului). În unele situații se formează concomitent mai mulți calculi care se detașează treptat.

## 28 Particularități ale biogenezei concremenelor litiazice - 1

În tabelul 1-1 se prezintă un sinoptic referitor la stadiile și fazele generale ale biogenezei uroconcremenelor cu detaliile specifice.

Tabel 1-1. Stadii și faze ale urolitogenezei – particularități ale biogenezei

| Stadiul                 | Faze | Specificare                                   | Particularități  |
|-------------------------|------|---|--|
| Preformare (monofazic)  | I    | Urina suprasaturată                           | anioni: oxalat, acid uric, fosfat, etc.<br>cationi: $Ca^{2+}$ , $Mg^{2+}$ , $Mn^{2+}$ , etc. |
| Litogeneză (tetrafazic) | II   | Nucleație (heterogenă) macrocristale          | Cristale cu diametru sub 5 $\mu m$   |
|                         | III  | Creștere-agregare cu formare de macrocristale | Cristale cu diametru sub 200 $\mu m$   |
|                         | IV   | Formare și fixare microlit                    | Fixare, eventual eliminare microlit  |
|                         | V    | Uroconcrement                                 | Detășare micro- sau macrolit   |

În teoria biogenezei calculilor s-a acreditat și ideea prezenței unei "strome" constituită din substanțe organice și numită cu un termen generic "matricea organică". Această formațiune precede nucleația heterogenă și asigură suportul material al acesteia. Se consideră că "matricea rganică" poate fi reprezentată și de: detritusuri microbiene, microcoaguli sanguini, formațiuni cazeoase intraluminale (din lumenul aparatului reno-urinar), calculi reziduali, corpi străini – în general. Pe acest fond, preexistent, poate interveni suprasaturația ionică a urinei și, în continuare, procesul de urolitogeneză.

O prezentare schematică a relației dintre diverșii factori care conduc la formarea uroconcremenelor idiopatice se redă în figura 1-6 [74].

Se observă că și cristalele care nu sunt eliminate prin urină, induc producerea modulatorilor de cristalizare și conduc la disfuncții și degradare celulară. Producții injuriei celulare promovează continuarea procesului de cristalizare de la nucleația heterogenă la agregarea cristalină și retenție. De asemenea, apare inflamația interstițială, implicată în eroziunea cristalelor pe suprafață papilară și dezvoltarea nucleului calculului [70, 75].

În evaluarea procesului de biogeneză (proces patologic) a formațiunilor calculoase se mai are în vedere :

- fluxul și volumul urinar – perturbate în unele cazuri datorită stazei produse la nivelul căilor urinare. Astfel de situații se pot datora anomaliilor congenitale sau dobândite care pot determina uropatii obstructive și staze urinare secundare. La acestea se pot asocia infecții urinare secundare care conferă gravitate situației [76, 77].

- concentrația și forța ionică a mediului – sunt criteriile fizico-chimice ale procesului patologic de biogeneză (patobiogeneză) litiazică. Acestea sunt dependente și de natura ionilor (anioni/cationi) prezenți în urina suprasaturată [78, 17].

- pH –ul urinar influențează, de asemenea, procesul de litogeneză. Urina, în condiții normale, are pH acid. La creșterea pH-ului ( $pH > 6$ ) este facilitată producerea litiazei fosfatice (fosfat de calciu, fosfat amoniaco-magnezieni ș.a.). În cazul creșterii alcalinității, uneori datorită infecțiilor microbiene (cu proteus, piocianic, stafilococ) se produce biodegradarea ureei până la dioxid de carbon ( $CO_2$ ) și amoniac ( $NH_4^+$ ). În aceste condiții există un mediu propice pentru formarea de calculi fosfatici amoniaco-magnezieni [79]. În urina acidă se formează calculi cu acid

uric și cistină. În cazul calculilor cu acid oxalic – oxalați nu este o influență determinantă a nivelului pH-ului urinar [80, 81].

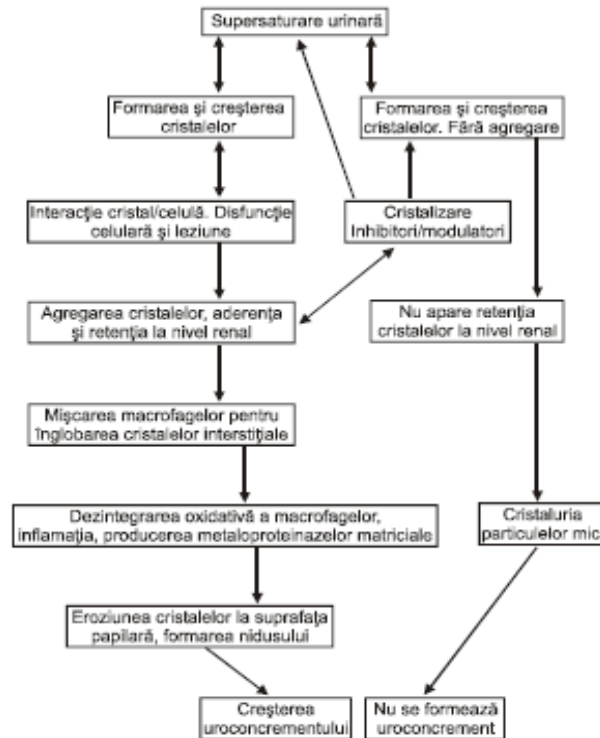


Fig. 1-6. Formarea calculilor urinari idiopatici

La discutarea problemelor referitoare la urolitogeneză trebuie abordată și rolul unor compuși chimici care intervin în reducerea sau accelerarea proceselor de "nucleație heterogenă bioanorganică" și apoi de agregare a microcristalelor. Aceștia sunt așa numiții "modulatori ai cristalizării" [82, 83]. Astfel de compuși chimici, prezenți în urină, sunt ionii din urina caracterizată ca un mediu lichidian metastabil: anioni (e.g.  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) și cationi ( $\text{Mg}^{2+}$ ), dar pot fi și compuși organici, e.g. uree, citrat ș.a. Aceste substanțe cresc forța ionică a mediului metastabil, reprezentat de urină, și favorizează fie cristalizarea fie solubilizarea microcristalelor formate. Prin aceasta intervin în procesul de litogeneză.

## 1.5. TIPURI DE UROLITIAZE – MODALITĂȚI DE EVALUARE

O evaluare generală a tipurilor de urolitiază necesită investigații interdisciplinare și pornește de la observațiile efectuate prin studii de anatomie și

fiziologie, fiziopatologie și morfofpatologie, imagistică medicală și chimie clinică. Investigațiile radiologice clasice (radiografia și urografia) au precedat actualele modalități de investigare imagistică bazate pe procedee performante: tomografia computerizată, rezonanța magnetică nucleară, ecografia ș.a. Nu poate fi ignorată nici contribuția metodelor bioanalitice specifice biochimiei și patobiochimiei, aplicate în chimia clinică, care au conferit, dincolo de utilitatea diagnostică, și un reper în orientarea conduitei în clinica medicală și chirurgicală [32, 84,17].

În accepția tratatelor și manualelor universitare de specialitate din domeniul urologiei și patologiei urolitiazelor [85, 80, 2, 1, 15, 86, 19], de fiziologie și de chimie clinică [87, 88, 9, 89, 90, 17] se consideră că litiazele pot fi clasificate după criterii: a) radiologice; b) anatomo-topografice; c) etiologice; d) de compoziție. Clasificarea bazată pe aceste criterii poate oferi o imagine generală asupra naturii urolitiazelor (tipul de urolitiază în accepția fiecărui criteriu) și a compoziției uroconcremențelor.

#### **A. Criteriul radiologic**

Are în vedere gruparea calculilor în funcție de aspectul radiologic general. În accepția acestui criteriu se disting calculi : a) *radioopaci* - caracteristici pentru uroconcremențele calcice, e.g.: oxalați, fosfați etc. Aceste tipuri de litiaze includ 85-95% din totalul calculilor urinari. Sunt dominați de prezența fosfaților (de calciu, de amoniu și magneziu) și oxalaților (de calciu); b) *radiosemiopaci* - specifici pentru urolitiazelor mixte, e.g.: urați-oxalați; c) *radiotransparenți* - definatorii pentru litiazele necalcice, dominate de prezența componentelor organice, e.g.: urice, xantinice, 2,8-dihidroxiadeninice, cistinice.

#### **B. Criteriul anatomo-topografic**

Evaluarea tipurilor de urolitiază, în accepția acestui criteriu, are în vedere localizarea litiazelor în tractul reno-urinar. Conform localizărilor decelate se disting calculi : a) *parenchimotoși* - cu localizare în rinichi și fixare în parenchimul renal; b) *caliceali* - depuși la nivelul calicelor; c) *papilari* - existenți la nivel papilelor; d) *bazinetali* - situați în bazinetul renal; e) *pielo-ureterali* - dispuși la joncțiunea pieloureterală (prin locul de depunere pot predispuce la stază urinară); f) *ureterali superiori* - în zona proximală a ureterului; g) *ureterali inferiori* - în zona distală a ureterului; h) *vezicali* - dispuși în vezica urinară; i) *parietali* - situați în porțiunea terminală a ureterului ce străbate peretele vezical), *uretrali* - decelați la nivelul uretrei.

#### **C. Criteriul etiologic**

Litiaza urinară conform acestui criteriu se poate grupa în următoarele tipuri: **a) litiaze de organism** - cauzate de diverse tulburări metabolice majore în care se produce modificarea homeostaziei biochimice a organismului:  $\alpha$ ) tulburări în metabolismul purinelor sunt caracterizate prin : 1) *hiperuricozurie* primară - cauzată de un defect enzimatic sau secundară - datorată unui aport excesiv de alimente bogate în purine, alcoolism, catabolizarea excesivă a proteinelor propriului organism (prin afecțiuni tumorale, hematologice, limfatice sau după o medicație citostatică sau uricozurică); 2) *hiperxantinurie* și *hiper-2,8-dihidroxiadeninemie* - consecința unei enzimopatii care perturbă conversia acestor compuși spre acid uric;  $\beta$ ) tulburări în metabolismul acidului oxalic - care au drept consecință hiperoxalurie primară sau secundară;  $\gamma$ ) tulburări în metabolismul aminoacidului cistină - cistinurie prin absența unei enzime specifice (afecțiune genetică);  $\delta$ ) tulburări în absorbția fosfaților - urolitiază fosfatice pot fi

bilaterale și recidivează mai frecvent. Sunt dominate de prezența fosfatului mixt de amoniu și calciu/magneziu;  $\epsilon$ ) tulburări în metabolismul hidro-electrolitic vizând predilect calciul – pot fi cauzate de hiperparatiroidism primar sau secundar ; supradozarea de vitamine D; boli care produc decalcificări osoase: imobilizare prelungită, mielom multiplu, cancer cu metastaze osoase, atrofie testiculară, osteoporoza; hiper calciurii idiopatice (numite și hiper calciurii normo-calcemice); **b) litiaze de organ** – sunt produse ca o consecință a unor leziuni organice dobândite. În astfel de situații calculul se formează după afecțiuni la nivelul rinichiului sau al tractului urinar, care sunt urmate de anomalii la nivelul căilor urinare excretoare, e.g.: staze , infecții, leziuni parietale, obstrucție, prezența unui corp străin sau a unor leziuni organice congenitale. Calculul apare de o singură parte și (de obicei) recidivează de aceeași parte.

#### D. Criteriul de compoziție chimică

Are în vedere existența, în compoziția uroconcrementelor, a unor substanțe care provin prin aport exogen (alimentar) sau prin aport endogen (sintetizate în cursul unor procese metabolice perturbate): **a) calculi anorganici** – caracterizați prin faptul că în compoziția acestora se află fosfați sau carbonați:  $\alpha$ ) fosfații – se află în compoziția unor calculi fosfatici care conțin predilect fosfat tricalcic (apatită) sau cu fosfați amoniaco-magnezieni. Sunt, în general, mai mari, comparativ cu alte tipuri. Au suprafața netedă, forme neregulate, mărime variabilă. Uneori sunt coraliformi de culoare albă-cenușie și consistență friabilă. Calculii cu fosfat amoniaco-magneziu (struvit) au suprafața poroasă, forme variate. Sunt de culoare alb strălucitoare sau cenușie. Prezintă consistență relativ moale (similar mortarului) și se sfărâmă ușor. Uneori au aspect coraliform. Cristalele au forme specifice. Adesea astfel de microcristale apar în sedimentul urinar și se produc la pH alcalin;  $\beta$ ) carbonații – s-au decelat în puține cazuri. În cazul litiazelor decelate la om carbonații se află asociați cu fosfații (în special de calciu); **b) calculi organici** – sunt calculi în a căror compoziție se află acid uric, urați, xantină, oxalați, cistină etc. Aceștia diferă și prin particularitățile fizice determinate de diverși constituenți:  $\alpha$ ) acidul uric și urații - conferă uroconcrementelor culoare brună sau brun roșcată. Sunt rotunzi sau ovalari, cu suprafață netedă, dimensiune variabilă (într-o exprimare colocvială: de la unui "fir" de nisip la un pumn de adult), aspect de sâmbure de curmală, duri. În cazul unui pH acid al urinei, sunt prezente cristale de acid uric. Din punct de vedere radiologic sunt radiotransparenți. Se formează predilect în calice sau bazinet. Adesea nucleul central este format din alți compuși chimici (e.g. oxalați);  $\beta$ ) xantina – este un precursor metabolic al acidului uric. Poate duce la formarea unor calculi brun-roșcați, relativ duri, netezi. Aceștia se desfac sub formă de așchii (dispuse ca niște coji). Astfel de calculi se întâlnesc foarte rar, sunt radiotransparenți, apar atunci când acidul uric din sânge este foarte scăzut, iar în urină acidul uric este înlocuit cu xantina de culoare galben-brună;  $\gamma$ ) oxalații – generează calculi care macroscopic prezintă aspecte muriforme. Au suprafața circulară, neregulată, mici, adeseori formă tipică de stea, fapt care face pasajul ureteral extrem de dureros. Au culoare brun-închisă sau aproape negru, consistență dură, de obicei sunt unici și foarte rar multipli. Calculii oxalici mai mari au o colorație mai deschisă, sunt rotunzi cu multe asperități (aspect de arici) și extrem de duri. Sunt radioopaci, muriformi, dispuși adesea în calice. Pot apare la pH urinar normal, în sedimentul urinar se disting cristale specifice, hiper calciurie și hiper oxalurie;  $\delta$ ) cistina - poate genera calculi galbeni, cu formă rotundă sau ovală, cu suprafațe netede, consistență moale-ceroasă, lucioși; sedimentul urinar relevă existența cristalelor de cistină; la examenul cromatografic al urinei (reacția Brand pozitivă).

## **1.6. DETERMINISMUL MULTIFACTORIAL AL UROLITIAZELOR**

Studiul complex al problemelor referitoare la patobiocimia urolitiazelor a impus investigarea cauzelor (etiologia) formării calculilor, a mecanismelor moleculare celulare și tisulare (patogeneza) și a compoziției chimice specifice diverselor uroconcremente. Realizarea unui astfel de studiu implică o abordare complexă inter-, multidisciplinară și adesea transdisciplinară. În medicină se discută, de obicei, conex, cauzele și mecanismele desemnându-se cu o expresie generică „etiopatogenia” bolii litiazice.

În litogeneză intervin „mediul extern” reprezentat de mediul ambiant și mediul habitual prin expuneri prelungite la atmosfera caldă și uscată, care favorizează deshidratarea [6, 8, 91]. O importanță majoră prezintă însă „mediul intern” - concept definitoriu pentru homeostazia biochimică. Modificările acestea sunt dependente de factorii de proveniență exogenă (nutrienți, xenobiotice chimice) și de proveniență endogenă (metaboliți organici și anorganici).

Astfel, în ansamblu factorii alimentari - atât supraalimentația cât și privațiunile alimentare (denutriția), se pot afla la originea litogenezei. De asemenea, stările de stress, generate de tensiunile psihice, pot determina adevărate valuri epidemice de litiază renală [92]. Standardul de viață reflectat prin consumul crescut de carne, lapte, cu conținut de nutrienți bogați în proteine și lipoproteine, reprezintă o altă cauză importantă de litogeneză, făcând din litiaza renală o boală a excesului proteic, a abuzului alimentar [93, 94, 95, 96, 97]. Rolul apei potabile în biogeneza urolitiazelor nu este cu rigoare elucidat. Spre exemplu există colectivități umane la care apa potabilă provine din apa marină prin distilare (e.g.: în Indiile de Vest), colectivități la care nu apare boala litiazică.

În țările dezvoltate prevalența calculilor renali a crescut în ultimele patru decenii datorită evoluției nivelului socio-economic și modificărilor modului de viață precum și a obiceiurilor culinare [18].

Litiaza renală are la origine, de asemenea, numeroși factori endocrini și metabolici, unii dintre aceștia prezintă condiționare genetică [98]. Acești factori îi conferă caracterul de maladie litogenă, de diateză precipitantă urinară, nu rareori asociată altor concrețiuni calculoase în alte organe, e.g.: căi biliare, pancreas, glande salivare, plămâni, vene [99, 100, 101, 102, 103, 104].

Deși au fost întreprinse vaste și costisitoare cercetări în ceea ce privește mecanismul formării calculilor, nu s-a reușit să se cunoască pe deplin acest proces. Este posibil să nu fie un singur mecanism. Se pare că există un complex de procese cu acțiune concertantă în biogeneza uroconcremenelor. Toate acestea atestă determinismul multifactorial.

Studiile epidemiologice au legat obezitatea, sindromul metabolic și diabetul tip 2, de un pH urinar scăzut și producerea calculilor cu acid uric. Un studiu relativ recent a analizat riscul unei greutate corporale crescute asupra tipului de calcul. În urma analizei asupra 2100 pacienți, folosind compoziția calculilor și indexul masei corporale, proporția calculilor cu acid uric a crescut de la 7,1% la bărbați cu indexul masei corporale normal la 28,7% la cei obezi. La femei, datele sunt similare, o creștere de la 6,1% la 17,1% [66]. Efectul greutății corporale asupra pH urinar a fost studiat la peste 4500 pacienți [105]. Valorile pH au evoluat linear de la 6,18 la 5,84, relevând o corelație negativă statistic semnificativă între greutatea corporală și pH-ul urinar.

Un studiu întreprins pe 6000 de subiecți a evidențiat că numărul celor cu vârste peste 65 ani cu litiază urică este dublu față de al celor mai tineri .

Referitor la relația dintre excreția de acid uric și calculii renali s-a constatat că pacienții cu o excreție de acid uric mai mică de 300 mg/zi aveau o prevalență de 10% formare calculi, în timp ce pacienții cu o excreție peste 1100 mg/zi aveau prevalența 33% [106]. Hiperuricozuria poate fi secundară unei producții crescute de acid uric și unei excreții mărite; în caz contrar, poate rezulta dintr-o excreție renală crescută a acidului uric în absența hiperuricemiei.

#### A. Factori de mediu

Clasificarea generală a factorilor de mediu interesează în principal aspectele geografice și alimentare [107, 108, 109, 110, 111, 112, 113].

a) *factori geografici* (meteo-climatici și hidro-geologici):  $\alpha$ ) factorii meteo-climatici, integrează :  $\alpha_1$ ) mediul ambiant - prin clima caldă (toridă) care favorizează o deshidratare excesivă;  $\alpha_2$ ) mediul habitual - caracterizat prin microclimat cald și uscat care poate determina, de asemenea, deshidratarea;  $\beta$ ) factorii hidro-geologici interesează :  $\beta_1$ ) excesul de săruri prezente în apa potabilă;  $\beta_2$ ) conținutul de nutrienți minerali ai alimentelor.

b) *factori alimentari* (condiționat de grupele de alimente și de categoriile de nutrienți). Acești factori se definesc prin :  $\alpha$ ) *supraalimentația* - în toate cazurile distingându-se faptul că alimentele de origine animală favorizează litiaza urică, alimentele de origine vegetală favorizează litiazele oxalică și fosfatică ;  $\beta$ ) *alimentația normală cantitativ* - este uneori prea bogată în nutrienți cu potențial litogen, e.g. alimente cu nucleoproteine (conținut ridicat de purine), alimente bogate în săruri de calciu (îndeosebi fosfați și oxalați);  $\gamma$ ) *aport vitaminic necorespunzător*, se exemplifică excesul de vitamine d care poate conduce la fixarea excesivă a calciului în organism și apariția concremențelor litiazice;  $\delta$ ) *aport lichidian insuficient* - datorită ingestiei reduse de lichide este, de asemenea un factor favorizant (minimumul necesar este considerat 1.500 mL/zi).

#### B. Factori de organism

În grupa factorilor numiți "de organism" se includ "factorii etiopatogenici generali". Din această categorie fac parte două mari grupe de factori care determină efecte dishomeostazice. Acestea sunt caracterizate prin excreție urinară crescută a sărurilor cu efecte litogene. Mențiuni generale, succinte se prezintă în continuare [114, 115, 116, 117, 118].

a) *Factori morfo-fiziologici*, care la rândul lor pot fi :  $\alpha$ ) factori dependenți de individ : ereditatea, constituția, temperamentul, sexul, vârsta, profesia, afecțiunile acute sau cronice ;  $\beta$ ) factori dependenți de modul de viață : condiționat acești factori pot induce diversele tulburări metabolice cu implicații în patologia litiazelor.

b) *factori biochimici* - influențează metabolismele materiale (proteic, lipidic, glucidic, hidro-electrolitic). aceștia pot fi reprezentați de :

$\alpha$ ) Tulburări ale *metabolismului purinic (acidului uric și xantinei)* - sunt caracterizate prin producerea de :  $\alpha_1$ ) hiperuricemii primare, idiopatice sau primitive caracte-rizate prin aport excesiv de purine (adenină, guanină ș.a.), exacerbarea biosintezei de novo a purinelor, eliminarea renală și intestinală insuficientă a acidului uric, anabolismul redus al acidului uric în



- organism etc.;  $\alpha_2$ ) hiperuricemii secundare al căror specific se definește prin : exacerbară uricogenezei, defecte de eliminare a uraților sau asocierea acestor două mecanisme.
- β) Tulburări ale *metabolismului oxalic* - apar în hiperoxalemia cauzată de aportul exogen - absorbția intestinală *creșcută* a oxalaților din alimente care conțin excesiv acești compuși (e.g.: roșii, spanac, ciocolată, cacao, cafea etc.); tulburări intestinale de tip fermentativ (absorbția oxalică redusă).
- γ) Tulburări ale *metabolismului cistinei* - cistinuria, în condițiile în care depășește 300 mg/L, la un pH normal, duce la formarea litiacei cistinice; este cauzată de o tulburare congenitală de resorbție tubulară a cistinei. Este considerată o enzimopatie genetică.
- δ) Tulburări ale *metabolismului hidro-electrolitic specifice calciului* în care apar: δ<sub>1</sub>) *hipercalcemia* datorată, în principal, absorbției intestinale crescute: exces de calciu alimentar, exces de vitamine D etc.; δ<sub>2</sub>) *hiperparatiroidismul* - este generat de disfuncția glandei paratiroidice și hiperparatiroidism cu mobilizarea calciului din oase (osteoporoză) și consecutiv: hipercalcemie și hipercalcemie.
- ε) Tulburări ale *metabolismului hidro-electrolitic specifice magneziului*, este important a se cunoaște : ε<sub>1</sub>) *hipomagneziemia* (carența de Mg) poate avea diverse cauze : nutriționale prin aport insuficient de magneziu prin alimentație; alimentație parenterală prelungită săracă în Mg<sup>2+</sup> ; ε<sub>2</sub>) *hipomagneziemie idiopatică* - consecința unui deficit primar în absorbția intestinală a magneziului prin eroare înăscută de metabolism ; ε<sub>3</sub>) *hipomagneziemie de origine digestivă*, sindrom de malabsorbție; ε<sub>4</sub>) *hipomagneziemie de origine renală* - tratament diuretic, hiperaldosteronismul primar, hiperparatiroidismul, hipotiroidismul.

### C. Factori de organ

Sub denumirea generală de "factori de organ" se înțeleg "factorii etiopatogenici locali". Această categorie include un cumul de factori cu acțiune la nivelul aparatului reno-urinar [119, 120, 121]. Aceștia sunt: staza urinară secundară uropatiilor obstructive; infecția urinară; modificarea pH-ului urinar etc. În cazul modificărilor de pH, spre exemplu, se cunoaște că pH-ul acid favorizează constituirea calculilor cu conținut de: acid uric, urați, cistină, iar cel alcalin apariția calculilor care conțin oxalat și fosfat.

## 1.7. HOMEOSTAZIA BIOCHIMICĂ ȘI FUNCȚIA RENALĂ

Activitatea fiziologică a rinichilor este importantă în eliminarea reziduurilor metabolice și în menținerea homeostaziei biochimice a organismului. Având în vedere faptul că homeostazia termică asigurată prin termogeneză și termoliză este dependentă de lichidele biologice din mediul intern se poate afirma că rinichiul intervine și în homeostazia termică. O privire generală asupra funcțiilor metabolice și, în general, asupra bioconstituenților din organism interesează mediul intern reprezentat în principal de lichidul interstițial din organism în care își desfășoară activitatea toate celulele. Aceasta înseamnă că procesele de biodegradare

(catabolice) și de biosinteză (anabolice) se desfășoară într-un mediu al cărui echilibru se schimbă continuu.

La constituirea mediului intern contribuie, de asemenea, sângele care vehiculează metaboliții formați din produși de origine exogenă - alimentară și de origine endogenă - rezultați din metabolism precum și gazele ale căror schimb se realizează în principal la nivel pulmonar.

O parte din producții reziduale ai proceselor metabolice se elimină și prin piele, precum și prin intestin. Rinichiul reprezintă însă principalul organ care asigură epurarea organismului de substanțele reziduale apărute în celule și țesuturi. Compoziția chimică a urinei este continuu variabilă calitativ și cantitativ, esențial rămânând menținerea volumelor lichidiene (din organism și din țesuturi) a echilibrului acido-bazic, echilibrului coloid-osmotic (oncotic) și, în general, a nivelului constituenților chimici din țesutul și lichidele biologice. În această manieră se asigură menținerea homeostaziei biochimice a întregului organism.

Activitatea aparatului reno-urinar este menținută de afluxul sanguin cunoscându-se faptul că rinichiul primește circa 1200-1300 mL sânge pe minut (reprezentând circa 25% din debitul cardiac). Acest flux sanguin accentuat face ca diferența arterio-venoasă a oxigenului la nivel renal să fie doar de 14 mL/L sânge, comparativ cu 62 mL/L la creier și 114 mL/L la cord. Aceste date de interes biochimic și fiziologic explicitează unele aspecte particulare specifice patobiologiei și fiziologiei cardiovasculare, respectiv cerebrovasculare.

### 1.7.1. Formarea urinei

Formarea urinei reprezintă principala activitate renală și este realizată prin trei procese fundamentale distincte : a) ultrafiltrarea glomerulară; b) reabsorbția tubulară; c) secreția tubulară. La aceste procese participă direct nefronul [9, 14, 90, 67, 122].

În cursul formării urinei milioane de nefroni activează în paralel. Imaginea unui nefron cu evidențierea proceselor de filtrare glomerulară, reabsorbție tubulară și secreție tubulară este sugestiv reprezentată în fig.1-7 [67].

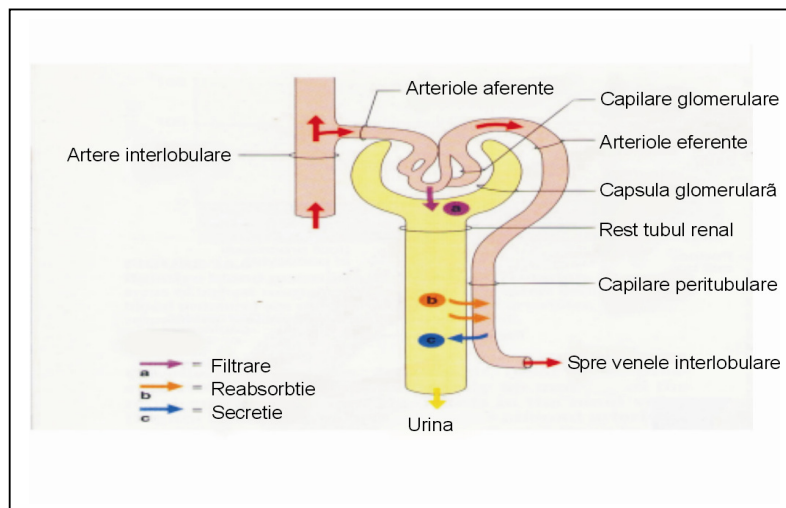


Fig. 1-7. Reprezentarea schematică a structurii microscopice a nefronului [67]

În cursul formării urinei aproximativ 1000 – 12000 mL de sânge tranzitează glomerulii renali în timp de un minut.

Procesele de ultrafiltrare, reabsorbție și secreție descrise în continuare contribuie la menținerea homeostaziei biochimice a organismului, a echilibrelor acido-bazic și coloid-osmotic.

#### **A. Ultrafiltrarea glomerulară**

Este un proces selectiv în raport cu substanțele macromoleculare. Substanțele micromoleculare, în general, se află în concentrații apropiate cu acelea din plasmă, deci se poate conchide că procesul formării urinei prin ultrafiltrarea plasmei începe la nivelul capilarelor glomerulare. Filtrarea este asigurată de existența unei presiuni hidrostatice crescute la nivelul capilarelor glomerulare. La acest nivel, presiunea ajunge la 70 mmHg comparativ cu alte teritorii capilare unde presiunea este de 25-30 mmHg. Explicația presiunii crescute rezidă în faptul că arterele renale se desprind direct din aortă ceea ce face ca presiunea sanguină să fie mai crescută.

Urina primară are o compoziție electrolitică identică cu a plasmei, are pH-ul 7,35 și densitatea de 1010. Valoarea filtratului glomerular este de circa 120 mL/minut la bărbat și cu 10% mai redus la femei. Din aproximativ 1200 mL sânge care străbat rinichiul într-un minut se filtrează prin glomerul doar 1/10. În general se discută despre o anumită fracție de filtrare reprezentând raportul între filtratul glomerular și sângele care tranzitează rinichiul.

Valorile filtrărilor glomerulare, pornind de la irigația renală și activitatea rinichiului pot fi evaluate prin determinarea așa-numitului *coeficient de epurare* (*clearance*) care exprimă cantitatea de plasmă (în mL) teoretic epurată total de o anumită substanță (luată în studiu) în timp de un minut de către rinichi.

Clearance-ul este un concept matematic util pentru aprecierea funcției renale care în loc de a evalua cantitatea unei anumite substanțe eliminate prin urină exprimată în unități absolute (e.g.: g/min) folosește o exprimare sub formă de volum de sânge care conține cantitatea respectivă de substanță. Clearance-ul se poate calcula pentru anumite substanțe endogene (e.g.: creatinină) sau exogene administrate (e.g.: manitolul). Coeficientul de epurare (clearance-ul), notat cu X, se calculează după relația:

$$X = \frac{U \times V}{A}$$

în care: U – concentrația substanței în urina eliminată; V – volumul urinar pe minut (mL); A – concentrația substanței în sânge, în mg/mL

Ultrafiltratul glomerular are un volum de 1780-180 L / zi, iar urina eliminată zilnic are un volum de aproximativ 1,5 L / zi. La nivel glomerular se rețin proteinele plasmatice fapt care explică lipsa acestora din urina finală. Concentrația cationilor este cu 5% mai mică, iar a anionilor cu 5% mai mare.

#### **B. Reabsorbția tubulară**

Este procesul prin care organismul recuperează o parte din substanțele filtrate la nivel glomerular, acestea fiind necesare în menținerea homeostaziei (i.e. apă, glucoză, aminoacizi, biominerale etc.). Mecanismele reabsorbției sunt

complexe, e.g.: albuminele filtrate se reabsorb prin pinocitoză; apa are un transport pasiv (transport prin difuziune și prin osmoză); biomineralele ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  ș.a.) prezintă un transport activ, în contragradient de concentrație; molecule organice mici (glucoză, aminoacizi) realizează un transport activ prin translocare care necesită prezența unui "sistem de transport".

În reabsorbția tubulară se utilizează expresia de "capacitate maximă" de transport și "concentrație-prag". Prin aceasta fiziologii explică existența – la nivel tubular – a unor limite pentru cantitatea maximă de substanță care poate fi reabsorbită prin mecanismele biochimice de transport. După depășirea "concentrației-prag" excesul de substanță existent în sânge nu se mai poate reabsorbi și trece în urină.

Reabsorbția numită "cu prag" este caracteristică pentru glucoză, aminoacizi, fosfați, sulfăți, creatină, acid uric, acid ascorbic, corpi cetonici etc. Aceste substanțe se absorb în tubul contort proximal. Spre deosebire de acestea,  $\text{Na}^+$  este absorbit și în alte segmente ale tubului contort (exceptând segmentul descendent).

Cu referire la reabsorbția tubulară se cunoaște faptul că interacțiunile biochimice și procesele fiziologice sunt extrem de complexe și doar în parte elucidate [81].

Concentrația apei, electroliților și moleculelor organice mici variază în urină. Acest fapt asigură menținerea în plasmă a osmolarității cu limite homeostazice mari (i.e. 25-295 mOsm/L). Modificările de volum și osmolaritate produse la nivel renal sunt dependente și de hormonul hipofizar vasopresina, numit și hormon antidiuretic (ADH).

În cursul reabsorbției tubulare se modifică volumul și compoziția chimică a filtratului glomerular. Modificarea se produce datorită reabsorbției prin mecanism activ a unor electroliți anorganici ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HOO}^-$  etc.) și a unor compuși organici osmotici activi (uree, glucoză, acid uric) la nivelul tubului contort proximal. La acest nivel apa, ca solvent al compușilor anorganici și organici, este reabsorbită prin mecanism pasiv.

### C. Secreția tubulară

Reprezintă un proces în care se eliberează ioni de  $\text{H}^+$  și  $\text{K}^+$ . De asemenea, se secretă cantități reduse de acid uric și creatinină (în cazul prezenței acestui metabolit în exces în sânge). De asemenea, unele xenobiotice chimice ajunse în sânge sunt eliminate în urină prin secreție, e.g. albastru de metilen, roșu fenol, penicilina, substanțe iodate radioopace, acid paraaminohipuric etc.

Secreția tubulară este un proces care necesită energie (sunt reacții endergonice). Aportul energetic se realizează prin reacțiile din ciclul acizilor tricarboxilici (ciclul Krebs). Prin secreția tubulară se asigură acidifierea urinei și reglarea echilibrului acido-bazic. Astfel, de la filtratul glomerular (ușor alcalin cu pH 7,35) se ajunge, după secreție, ca urina să aibă un pH 6 (în medie).

### 1.7.2. Rolul hormonilor în funcția renală

În fiziologia aparatului reno-urinar intervin, de asemenea, o seamă de hormoni. În excreția renală intervin hormoni glandulari: hipofizar – vasopresina; suprarenali – aldosteronul; paratiroidieni – calcitonina și parathormonul, precum și un hormon tisular: eritropoietina. Rolul acestora se menționează, succint, în continuare.

Vasopresina sau hormonul antidiuretic - este secretat în neurohipofiză. Intervine în reglarea nivelului diurezei și prin aceasta influențează presiunea sanguină;

Aldosteronul – este un hormon suprarenal care intervine în reabsorbția  $\text{Na}^+$  și prin aceasta permite retenția apei și excreția  $\text{K}^+$ . În cazul pierderilor hidrice masive (perspirație, diaree etc.) în glanda suprarenală se produce mai mult aldosteron pentru a activa compensarea deshidratării;

Hormonii paratiroidieni au acțiune antagonistă. Astfel calcitonina are acțiune hipocalcemiantă, iar parathormonul are acțiune hipercalcemiantă;

Eritropoietina - determină activarea producerii de globule roșii (eritrocite) implicate indirect în funcția renală. Eritropoietina este produsă, în principal, de către rinichi (90%), dar și de către ficat (10%). Ea acționează asupra celulelor eritroblastice ale măduvei osoase, aflate la originea eritrocitelor (globulelor roșii). În caz de insuficiență renală, absența sau reducerea sintezei acestui hormon de către rinichi provoacă o diminuare a numărului de eritrocite.

### **1.7.3. Caracteristici fizico-chimice și compoziția urinei**

Cunoașterea caracteristicilor fizico-chimice și compoziției urinei este importantă pentru înțelegerea problemei urolitogenezei. Volumul urinar, dependent de starea de hidratare a organismului, este la omul sănătos de 600 - 2500 mL/24 ore. Densitatea urinei este 1003-1035 g/cm<sup>3</sup> în funcție de cantumul substanțelor dizolvate. Nivelul de pH este 4,5 – 8,0 (în medie, aproximativ 6,0).

În urină există 90% apă, și 10% substanțe organice și anorganice dizolvate. Dintre substanțele organice mai importante sunt : ureea, amoniacul, creatina, acidul uric, aminoacizii ș.a.

Substanțele anorganice sunt reprezentate de: cloruri, sulfati, fosfați, oxalați, corpi cetonic, ioni metalici ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  etc.). De asemenea, în urină, în stările patologice poate să apară glucoza, proteine ș.a.

Mai multe date asupra compoziției urinei se prezintă în relație cu discutarea metabolismului purinelor (v. Cap. 2.2.) și a metabolismului hidro-electrolitic (v. Cap. 2.5.). Aceste date integrează și întregesc informațiile prezentate mai sus referitoare la uroconcremențele litiazice.

## **2. CARACTERISTICI ALE METABOLISMULUI PURINELOR ȘI BIOMETALELOR ÎN LITIAZE . INVESTIGAREA UROCONCREMENTELOR PURINICE**

### **2.1. CONSIDERAȚII GENERALE**

În evaluarea biogenezei litiazelor și în investigarea compoziției chimice calitative și cantitative a formațiunilor calculoase se impune cunoașterea aspectelor fundamentale privitoare la metabolismele materiale, i.e. glucidic, lipidic, proteinic și hidro-electrolitic. Evident, conex – pentru integrarea fiziologică – interesează și metabolismul energetic.

Compușii chimici decelați în diversele litiaze se formează pe căi biochimice. Căile biochimice definesc procesele metabolice (anabolice/catabolice) ilustrând și transformările intermetabolice importante în biochimie și patobiochimie [5, 123, 9, 124].

Problema biogenezei uroconcrementelor purinice este integrată biochimiei și patobiochimiei prin abordarea modernă a aspectelor complexe privind «proteomica» și «metalomica». Sub incidența proteomicii se află biodegradarea nucleoproteinelor, mai exact, a componentei prostetice a acestora reprezentată de acizii nucleici (i.e. acidul deoxiribonucleic – abreviat DNA sau ADN și acidul ribonucleic – abreviat RNA sau ARN) care generează o parte din derivații purinici. Aceștia din urmă interesează patobiochimia unora din litiaze. Sub incidența metalomicii se află problemele referitoare la chimia bioanorganică în relație cu prezența ionilor metalici din sânge și țesuturi, precum și capacitatea acestora de a participa la reacții de precipitare/coprecipitare cu formarea nucleelor de cristalizare numite "primeri" sau "starteri" în procesul de biogeneză a uroconcrementelor [79, 1, 2, 125].

Studiile bazate pe proteomică și metalomică au oferit posibilități de aprofundare în cercetările de biochimie și biologie moleculară, patobiochimie dar și medicină moleculară prin faptul că au adus și aduc noi informații asupra mecanismelor biochimice întâlnite în biologia/patologia celulară ca și în biologia/patologia moleculară.

Abordarea problemelor generale ale «metabolomicii» – domeniu complex care se încadrează biochimiei și biologiei moleculare contemporane – impune reiterarea unor noțiuni cu care e operează în mod curent. În acest cadru se amintesc caracteristicile dinamice ale proceselor biologice care definesc materia vie: metabolismul, homeostazia, cronobiochimia și homeorezia.

Metabolismul – la modul general – definește ansamblul complex al interacțiilor biochimice care stau la baza transformărilor fizico-chimice ale compușilor de origine exogenă și endogenă din materia vie. Astfel de transformări caracterizează diversele căi biochimice întâlnite în procesele metabolice. Aceste procese se desfășoară în sensul biodegradării (catabolismului) sau al biosintezei (anabolismului) vizând compușii chimici proveniți din alimente – aportul exogen și existenți (ca metaboliți) în organism – aportul endogen.

În investigarea proceselor metabolice la om și animale în chimia clinică s-au utilizat metode chimice (directe) și metode fizico-chimice (indirecte sau instrumentale) – v. [126, 127, 128]. În cercetările moderne din acest domeniu se utilizează metode de acuratețe, e.g.: spectroscopia, cromatografia, tehnici izotopice (cu radioizotopi și / sau cu izotopi stabili), magnetochimice, derivatografice etc. [129, 130, 90, 131].

În studiul proceselor metabolice se are în vedere faptul că acestea prezintă două particularități care dau sens «metabolomicii» și anume : a) *universalitatea* - explicată de faptul că mecanismele biochimice specifice metabolismului (catabolismului/anabolismului) prezintă similitudini pentru întreaga biosferă fiind același la microorganisme, plante, animale și om; b) *specificitatea* – caracterizată prin eficiența chimică și energetică a interacțiilor metabolice și desfășurarea acestora în condiții blânde de temperatură, presiune și pH – specifice mediului intern.

În relație cu aspectele generale privind biogeneza litiazelor se impune studiul metabolismelor materiale. În cazul specific al urolitiazelor purinice se impune studiul metabolismului nucleoproteinelor (mai exact al purin-nucleoproteinelor) și metabolismului hidro-electrolitic. Problemele referitoare la metabolismul hidroelectrolitic se circumscriu, în principal, la bioelectroliți cationici de natură metalică), dar și bioelectroliți cu specific anionic importanți în biogeneza uroconcrementelor. În analitica biochimică modernă se vorbește despre proteomică, metalomică și aspectele integrative în metabolomică [132].

## **2.2. METABOLISMUL NUCLEOPROTEINELOR – ASPECTE SPECIFICE PURINELOR**

### **2.2.1. Privire sinoptică**

Purinele sunt compuși heterociclici în constituția cărora se află un nucleu pirimidinic și un nucleu imidazolic. Au fost decelați în țesuturile animale (1869) și vegetale (1889) prezenți fiind în compoziția nucleoproteinelor. Denumirea derivă de la cuvintele „purum” și „uricum” și a fost introdusă în anul 1884 de către chimistul german Emil Fischer.

Nucleoproteinele sunt proteine conjugate în a căror compoziție se află o componentă proteică – polipeptidă și o componentă prostetică – acizi nucleici (DNA și RNA). Purinele se află în compoziția tuturor acizilor nucleici.

Metabolismul nucleoproteinelor relevă o importanță aparte prin faptul că interesează domeniul complex al biochimiei și biologiei moleculare, deoarece evidențiază aspecte ale relației structură-activitate la acizii nucleici și, evident, la producții de biosinteză și biodegradare ai acestora. Un aspect aparte este oferit de metabolismul purinici în relație cu nutriția umană și traficul nutrienților în organism în perspectiva bioacumulării și riscului de formare a uroconcrementelor litiazice.

Căile biochimice specifice pentru metabolismul derivaților purinici sunt prezentate în fig.2-1. Detalii asupra acestor interacții se pot afla în tratate și lucrări de specialitate [6, 1, 2, 3, 133, 134].

Căile biochimice prezentate relevă existența a trei etape metabolice distincte: a) biosinteza (sinteza de novo) la purine; b) interconversia purinelor; c) biodegradarea purinelor (cu biogeneza acidului uric).

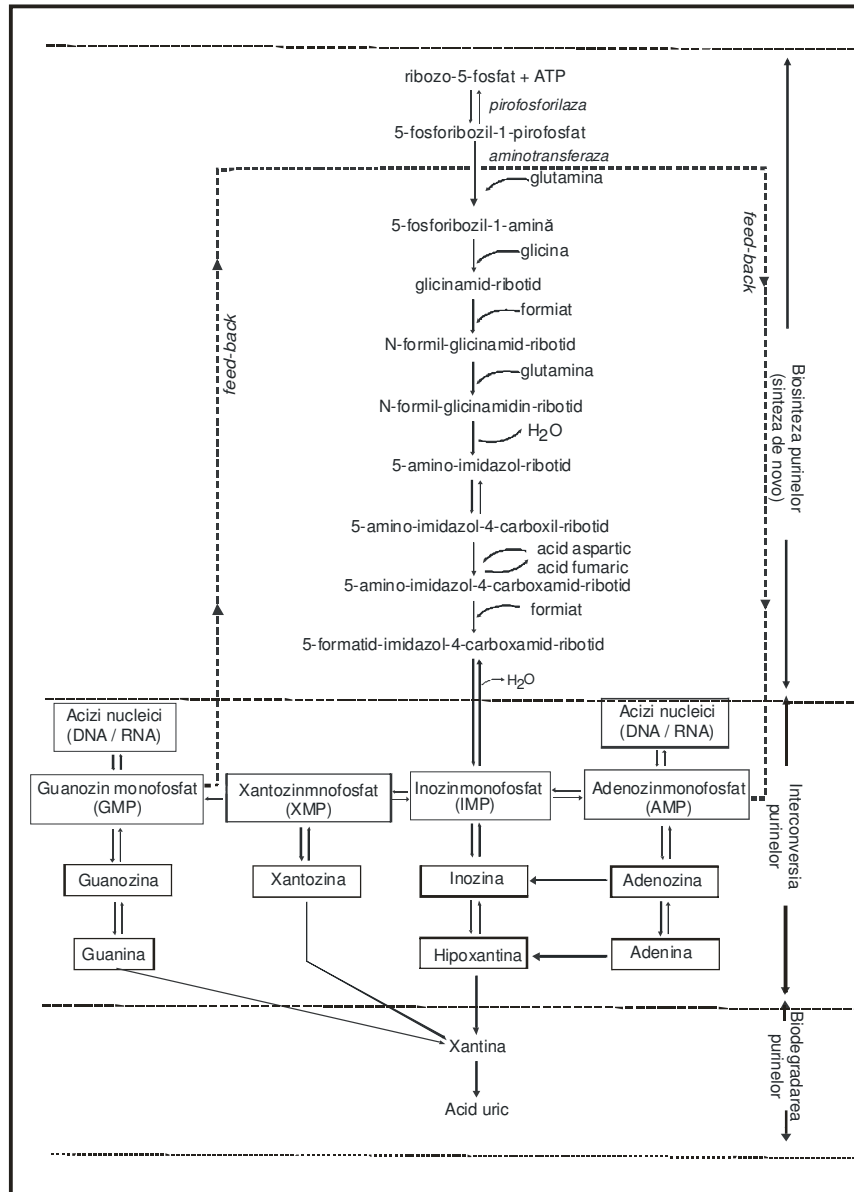


Fig.2-1. Căi biochimice specifice pentru metabolismul purinelor

Tulburările intervenite în metabolizarea purinelor conduc la modificări ale homeostaziei biochimice a acestora, e.g.: creșterea sau scăderea cantumului metaboliților în sânge, țesuturi și lichide biologice (predilect în urină). Creșterea



cuantumul produșilor reziduali ai purinelor în urina - cu specific de „mediu lichidian metastabil” - poate conduce la apariția „starterilor” cristalizării.

Explicația biogenezei acestor „starteri” rezidă în specificul «nucleației heterogene» în care compuși organici și anorganici concură la procese de precipitare și coprecipitare. În cazul urolitiazelor purinice se pot decela uroconcremente cu conținut de acid uric, xantină și 2,8-di-hidroxiadenină [135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142].

### 2.2.2. Biosinteza metaboliților purinici

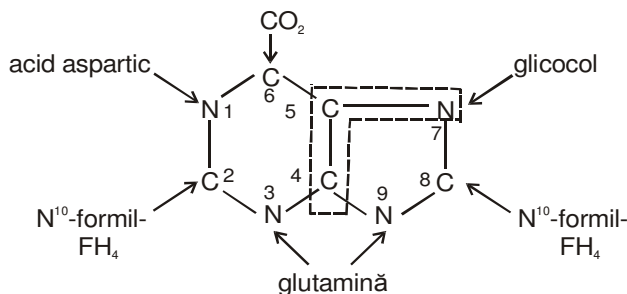
În organism purinele se formează prin sinteză endogenă. Calea biochimică definitorie pentru sinteza endogenă se realizează în etapele: „sinteza de novo” care pornește de la ribozo-5-fosfat și „interconversia purinelor” (v.fig.2-1). Există, de asemenea, o cale a sintezei care pornește de la compuși de proveniență exogenă. Aceștia sunt compuși reziduali ai acizilor nucleici - reprezentați de purinnucleotide din alimente.

#### 2.2.2.1. Biosinteza de novo la purine

Prin biosinteza de novo a purinelor - numită adesea simplu „sinteza de novo” - în organismul uman și, în general, în țesuturile vii se pot sintetiza mare parte din derivații purinici necesari proceselor metabolice. Reacțiile specifice sintezei de novo au fost confirmate ulterior și experimental utilizându-se animale de laborator și tehnici bazate pe radioizotopi. De asemenea, s-a urmărit eliminarea de acid uric în regim alimentar apurinic.

Biosinteza nucleului purinic în ansamblul său evidențiază prezența, în final a diferitelor resturi ale precursorilor heterocicului purinic.

Cu privire la nucleul purinic, studii efectuate cu ajutorul metodelor izotopice (folosind  $^{14}\text{C}$  și  $^{15}\text{N}$ ) au condus la confirmarea faptului că la sinteză participă: acidul aspartic, dioxidul de carbon, glicocolul,  $\text{N}_{10}$ -formil  $\text{FH}_4$  și glutamina [9, 38]. Reprezentarea generală a dispunerii resturilor moleculare ale compușilor precursori în nucleul purinic, formați în cursul biosintezei, se poate reda astfel:



Sinteza de novo reprezintă prima etapă a biosintezei și este caracterizată prin seria de reacții care pornesc de la ribozo-5-fosfat. Acesta după interacția cu adenozintrifosfat (ATP), în prezența enzimei pirofosforilaza, conduce la formarea 5-fosforibozil-1-pirofosfatului.

În continuare urmează o succesiune de reacții - definitorii pentru sinteza de novo - la care concură diverși metaboliți e.g. glutamina, glicina, formiatul, acidul

aspartic etc. Astfel, din ribozo-5-fosfat, în prezența glutaminei, se formează compusul 5-fosforibozil-1-amine. Seria compușilor intermediari ai biosintezei de novo include diverși derivați ribotidici care se integrează în nouă reacții succesive.

În finalul acestei prime etape se formează 5-amino-imidazol-4-carboxamid-ribotid. Acest compus, în prezența enzimei inozinatdehidrogenaza conduce în final la formarea inozinmonofosfatului (IMP).

Procesele anabolice care conduc la formarea purinelor au loc – așa cum s-a arătat - în următoarele etape biochimice: închiderea heterociclului purinic până la formarea inozinmonofosfatului (IMP) în etapa așa numită biosinteza (sinteza) „de novo”.

În sinteza de novo există și un mecanism de feed-back care intervine în cazul sintezei în exces a IMP. Acest compus limitează acțiunea enzimei amonitransferaza și astfel reduce formarea 5-fosforibozilaminei.

### **2.2.2.2. Biosinteza în etapa de interconversie a purinelor**

Interconversia purinelor reprezintă secunda etapă, definitorie pentru căile biochimice ale metabolizării acestor compuși care pornește de la inozinmonofosfat (IMP).

Deaminarea nucleotidelor (nucleozimonofofaților), în speță a inozinmonofosfatului (IMP), are loc prin transformarea în adenzinmonofosfat (AMP) în prezența enzimei 5-adenil-deaminaza și în xantinmonofosfat (XMP) care ulterior se transformă în guanozin-monofosfat (GMP) sub acțiunea enzimei 5-guanil-deaminaza.

În cazul AMP și GMP poate să intervină o etapă intermediară în care, prin fosforilare, se formează nucleotide trifosfatate, i.e. nucleozid trifosfații cu structurile de adenzintrifosfat (ATP) și respectiv guanozintrifosfat (GTP) – ambele substanțe importante care concură la biosinteza acizilor nucleici.

Transformările acidului inozinic în diverși nucleozidmonofosfați (e.g. AMP, GMP, XMP), conduc la formarea de nucleozide mergând în continuare până la nucleobaze. Toate căile biochimice specifice acestei etape vizează “interconversia purinelor”.

În fine, sub aspect anabolic căile biochimice conduc, de la reutilizarea nucleobazelor purinice libere, spre compuși mai complecși – nucleozide, nucleozidmonofosfați (NMP) de natură purinică care în final se integrează procesului de sinteză a acizilor nucleici.

La nucleozide se poate produce deaminarea adenzinei sub acțiunea enzimei adenzindeaminaza, rezultând inozină și apoi sub acțiunea enzimei inozinofosforilaza rezultând hipoxantină. Din aceasta se va forma ulterior xantina.

Deaminarea bazelor purinice libere se face pe căi specifice. Astfel, adenina sub acțiunea adenazei se transformă prin hidroliză în hipoxantină. Hipoxantina, în prezența enzimei xantinoxidaza se transformă în xantină. La rândul său, guanina, sub acțiunea aceleiași enzime - xantinoxidaza se transformă în xantină. Xantinoxidaza - o flavin-enzimă care conține Fe, Mo - este prezentă în rinichi, în mucoasa intestinală și în ficat.

Cercetări in vitro efectuate cu ajutorul unor sisteme enzimatic purificate și experiențe in vivo au confirmat veridicitatea acestor căi de biosinteză pentru nucleozid-monofosfați, atestând că AMP și GMP au la origine inozinmonofosfatul (IMP). Evident că acest compus este și precursorul nucleozidelor: adenzina (rA și dA) și guanozina (rG și dG), precum și al nucleobazelor purinice adenina (A) și

guanina (G) compuși care se regăsesc în căile biochimice specifice metabolismului acizilor nucleici.

### 2.2.3. Biodegradarea metaboliților purinici

#### 2.2.3.1. Biodegradarea în etapa de interconversie a purinelor

Procesele catabolice care conduc la formarea metaboliților purinici (v. fig. 2-1) sunt caracteristice pentru faza numită „interconversia purinelor”. Aceasta este urmată de formarea acidului uric ca produs final (la om). Obsevarea atentă a reacțiilor întâlnite în interconversie permite remarca faptului că acestea sunt reversibile. Deci, în această etapă se întâlnesc atât procese de biodegradare cât și procese de biosinteză.

În cursul proceselor catabolice - specifice metabolizării acizilor nucleici (DNA și RNA) - se formează nucleozidmonofosfați (NMP), nucleozide și nucleobaze specifice, acestea fiind adenina (A) și guanina (G). De asemenea, derivați intermediari cum ar fi hipoxantina și xantina. Nucleotidmonofosfații (NMP) specifici care sunt redați în tabelul 2-1. În acest tabel se face abstracție de natura pentozei (riboză și deoxiriboză) pentru a surprinde esențialul despre derivații purinici.

Tabel 2-1. Tipuri de nucleotide purinice (nucleotidmonofosfați purinici)

| Nucleobaze       | Nucleozide | Nucleotidmonofosfați (NMP)                                |              |
|------------------|------------|---|--------------|
|                  |            | Denumire  | Abreviere    |
| Adenina (A)      | Adenzina   | Adenzin-5'-fosfat sau acidul 5'-adenilic                  | 5'-AMP       |
|                  |            | Adenzin-3'-fosfat sau acidul 3'-adenilic                  | 3'-AMP       |
|                  |            | Adenzin-3'-5'-ciclofosfat sau acidul 3'-5'-ciclo-adenilic | 3', 5' -cAMP |
| Guanina (G)      | Guanozina  | Guanozin-5'-fosfat sau acidul 5'-guanilic                 | 5'-GMP       |
| Hipoxantina (Hx) | Inozina    | Inozin-5'-fosfat sau acidul 5'-inozitic                   | 5'-IMP       |
| Xantina (X)      | Xantozina  | Xantozin-5'-fosfat sau acidul 5-xantilic                  | 5'-XMP       |

Reacțiile de biodegradare care interesează în acest capitol încep de la inozin-monofosfat (IMP). În continuare din IMP se pot forma xantinmonofosfatul (XMP) care conduce în final la guanozinmonofosfat (GMP). De asemenea, din IMP se poate forma adenzinmonofosfatul (AMP).

În biochimie și biologia moleculară rolul AMP și GMP este bine studiat pentru considerentul că acești nucleozidmonofosfați (NMP) includ bazele azotate heterociclice (nucleobazele) prezente în acizii nucleici. Acești purinmonofosfați, alături de pirimidin-monofosfați i.e.: citidinmonofosfat (CMP), timidinmonofosfat (TMP) și uridinmonofosfat (UMP) concură la formarea acizilor nucleici. În cazul că se urmăresc aspectele anabolice se remarcă biosinteza acizilor nucleici (DNA și RNA).

Dacă se urmăresc aspectele caracteristice biodegradării se remarcă faptul că din IMP se formează inozina. Similar din XMP se formează xantina, din GMP rezultă guanozina, iar din AMP adenozina. Compușii rezultați se numesc nucleozide și sunt formate din nucleobaze și pentoza (riboza în cazul RNA sau deoxiriboza în cazul DNA).

După degradare compușii purinici reprezentați de nucleozidmonofosfați (NMP) și nucleozide trec în sânge și ajung la ficat. În continuare se formează nucleobazele purinice (fig.2-2).

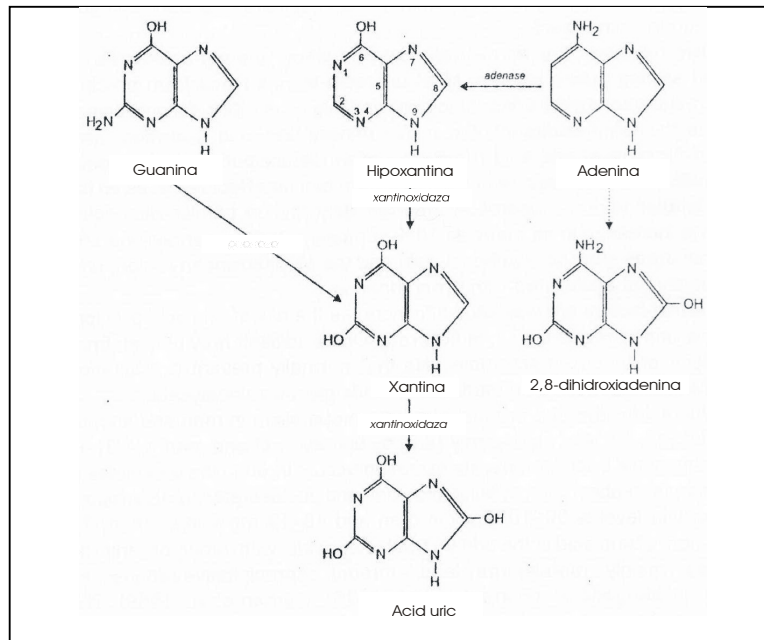


Fig. 2-2. Căi biochimice specifice biodegradării metabolitelor purinice

Acestea sunt adenina (6-aminopurina), guanina (2-amino-6-hidroxiurina) și alți derivați purinici : hipoxantina (6-hidroxiurina), xantina (2,6-dihidroxiurina) și acid uric (2,6,8-trihidroxiurina).

### 2.2.3.2. Biodegradarea purinelor de proveniență exogenă

Aportul exogen de nucleoproteine și precursori ai acestora provine din nutriția prezenți în alimente, în speță compușii purinici. În aceste circumstanțe, în condițiile unei malnutriții prin exces de proteine, literatura de specialitate amintește de așa numita „inflație urică a organismului”. Această circumstanță este probată în primul rând de creșterea semnificativă a eliminării de acid uric precum și de predispoziția pentru litiaze urice, dar și pentru gută.

Purinele și pirimidinele de proveniență exogenă rezultă din catabolizarea alimentelor la nivelul tractului gastro-intestinal sub acțiunea unor enzime specifice, e.g.: nucleotidaze, nucleozidaze, nucleaze. După eliberarea purinelor și pirimidinelor, acestea sunt transportate la celule pe calea circulației sanguine. La nivel celular sunt hidrolizați, iar apoi produșii de scindare sunt utilizați pentru

#### 46 Caracteristici ale metabolismului purinelor și biometalelor în litiaze - 2

sinteza intracelulară a purinelor și pirimidinelor necesare propriului organism. Nu toți produșii metabolici rezultați din hidroliză sunt utilizați pentru biosinteză. Această situație este valabilă și pentru nucleozide și nucleozidmonofosfați.

O parte din purine trec în hipoxantină și xantină pentru ca apoi să fie transformate direct în acid uric. O altă parte din purine poate fi scindată de flora bacteriană în uree, alantoină și amoniac.

Nutrienții și non-nutrienții care influențează statusul homeostaziei derivaților purinici din organism sunt prezenți în alimentele bogate în nucleoproteine (care conțin acizi nucleici), lipoproteine etc. Consumul excesiv de alimente bogate în proteine contribuie la creșterea cantității de acid uric, urmat de creșterea uricemiei și respectiv a uricozuriei.

În metabolismul nucleoproteinelor există o etapă caracteristică pentru biodegradarea (catabolizarea) nucleotidelor purinice. Aceasta poate începe de la acizii nucleici (DNA sau RNA) și conduce la nucleotidmonofosfați (NMP), nucleozide și nucleobaze. În final se produce acidul uric care este insolubil și se excretă în urină sub formă de microcristale provenite de la acidul uric sau precursori metabolici ai acestuia (e.g. xantina).

#### **2.2.3.3. Biodegradarea cu formarea acidului uric**

A treia și ultima secvență a căilor biochimice specifice metabolismului purinelor interesează „biogeneza acidului uric” (v. fig. 2-1). În procesele catabolice specifice intră nucleobazele purinice. Astfel, adenina se transformă în hipoxantină, iar guanina în xantină. În etapa finală se formează acidul uric, principalul precursor al litiazelor purinice.

Acidul uric este un produs metabolic final al catabolismului purinelor la nivelul rinichiului deoarece, la fel ca majoritatea mamiferelor mici, oamenii nu posedă enzima uricaza care catalizează conversia acidului uric în alantoină (Moe et al., 2002).

În tabelul 2-2 se prezintă date compilate din literatura de specialitate de [143] privind concentrația derivaților purinici în urină.

Tabel 2-2. Concentrația nucleobazelor purinice și a altor derivați purinici în urină

| Nr. crt. | Metaboliți purinici           | Valori (mg/kg corp) |                    |
|----------|-------------------------------|---------------------|--------------------|
|          |                               | Media               | Limite de variație |
| 1.       | Adenina                       | 0,020               | 0,016 - 0,240      |
| 2.       | Guanina                       | 0,006               | 0,003 - 0,009      |
|          | 8-hidroxi-7-metil-guanina     | 0,020               | 0,016 - 0,030      |
|          | 7-metil-guanina               | 0,090               | 0,080 - 0,110      |
|          | N <sub>2</sub> -metil-guanina | 0,007               | 0,006 - 0,190      |
| 3.       | Hipoxantina                   | 0,140               | 0,080 - 0,190      |
|          | 1-metil-hipoxantina           | 0,006               | 0,003 - 0,010      |
| 4.       | Xantina                       | 0,090               | 0,070 - 0,120      |
| 5.       | Acid uric                     | 2,000               | 0,800 - 3,000      |
|          | 1,3-dimetil-acid uric         | urme                | ---                |
| 6.       | Baze purinice - total         | ---                 | 0,200 - 1,000      |

Plasma sanguină umană conține în mod normal 0,18-0,40 ml/l acid uric (3,0-6,0 mg/100 ml). bărbații prezintă valori mai crescute decât femeile.

Acidul uric este un acid slab cu  $pK_a = 5,75$  iar concentrațiile acidului uric și ale uraților sunt egale. La un pH extracelular fiziologic de 7,4 uratul (98%) este mult mai abundent decât acidul uric (2%). Majoritatea uraților circulă sub forma monosodică, care are o solubilitate mai mică de 7 mg/dL. Această valoare poate fi depășită la unii subiecți care astfel sunt expuși riscului depunerii de cristale. Uratul nu este legat de proteine și este filtrat prin glomerul. În final după etapele de ultrafiltrare glomerulară, reabsorbție tubulară și secreție tubulară, are loc excreția renală a acidului uric [144].

Cuantumul acidului uric urinar (uricuria) la un adult de sex masculin, în cazul unei diete fără purine, este de 1,6-3,6 mmoli / 24 h (270-600 mg / 24 h).

Pentru a evidenția mai distinct aspectele specifice căilor biochimice ale metabolizării purinelor s-a prezentat în fig.2-2 biodegradarea nucleobazelor purinice, i.e. adenina, guanina cu formule structurale. Se menționează, de asemenea, rolul enzimelor adenaza, guanaza, xantinoxidaza în formarea hipoxantinei și xantinei (ca metaboliți intermediari) și în final a acidului uric [145, 146, 17]. Se prezintă, de asemenea, o cale biochimică specifică care conduce la formarea unui metabolit secundar numit 2,8-dihidroxiadenina (2,8-DHA).

Atât adenina cât și guanina converg la intermediarul comun, xantina. Hipoxantina este oxidată la xantină de enzima xantinoxidaza. Guanina este deaminată, cu eliberarea grupului amino sub formă de amoniac, la xantină. Xantina, la fel cu hipoxantina, este oxidată în prezența oxigenului din țesuturi și a xantinoxidazei cu producere de peroxid de hidrogen. La om, acidul uric și urații sunt excretați, iar peroxidul este degradat de catalază.

Dintre compușii menționați mai sus, acidul uric, xantina și, mai rar, 2,8-dihidroxiadenina (2,8-DHA), pot forma uroconcremente.

La om și unele animale superioare (mămuțe) acidul uric este principalul produs final al metabolismului purinelor. La omul normal, supus unui regim alimentar lipsit de purine elimină zilnic prin urină sub 590 mg acid uric; în cazul că omul este supus unui regim normal, excreția zilnică este de 900-1000 mg.

Studii au demonstrat că 2/3 până la 3/4 din totalul acidului uric se elimină prin rinichi, iar restul prin intestin, unde este degradat de flora bacteriană.

Concentrația plasmatică a acidului uric este de aproximativ 4mg/100mL la femei și 5mg/100mL la bărbați. Deoarece  $pK$  acidului uric este de 5,75 la pH plasmatic de 7,4 aproximativ 98% se află sub formă de urat.

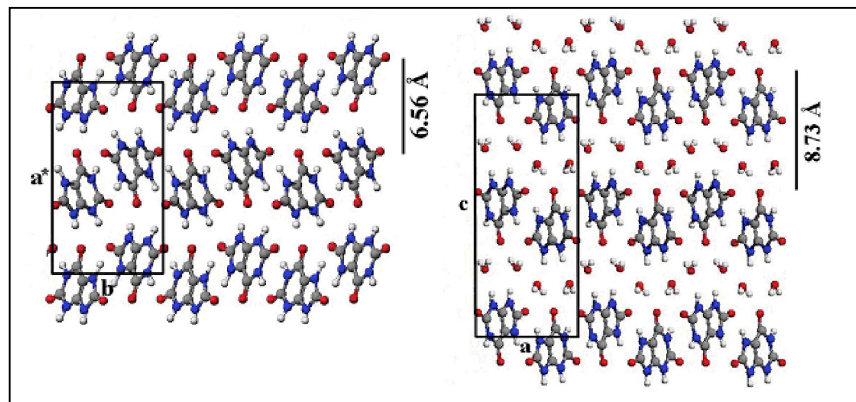
Structura moleculară corectă a acidului uric a fost propusă de Ludwig Medicus în 1875. În continuare prima sinteză în laborator a acidului uric s-a făcut în 1895 de către Emil Fischer (Premiul Nobel, 1902) dovedindu-se că structura propusă de Medicus a fost corectă.

În unele tratate de specialitate se menționează, cu referire la biogeneza acidului uric, existența unui „ciclu scurt” și a unui „ciclu lung”. Ciclul scurt de formare a acidului uric conduce de la inozimonoșfat (IMP) la acid uric. Astfel are loc transformarea acidului inozinic în inozină care sub acțiunea enzimei inozinofosforilaza este transformată în hipoxantină. Hipoxantina catalizată de xantinoxidaza, trece în xantină care, sub acțiunea aceleiași enzime, se transformă în acid uric. Ciclul lung al producerii acidului uric interesează și nucleozimonoșfații (NMP) în care nucleobazele sunt adenina (A) și guanina (G). Astfel se produce inițial transformarea inozinmonoșfatului (IMP) în adenozinmonoșfat (AMP) și guanozinmonoșfat (GMP).

În condiții de pH scăzut, acidul uric cristalizează din soluții apoase în formă anhidră sau de dihidrat mai puțin stabil. Ambele forme se regăsesc în calculii urinari, dar cea anhidră este mai frecventă. În soluții neutre sau bazice acidul uric se transformă în urat prin deprotonarea azotului din poziția  $N_3$ . Urații sunt semnificativ

mai solubili decât acidul uric, aceste săruri cristalizează, de asemenea, în medii fiziologice. În patobiochimie mai des întâlnite (și uneori „depozitate”) sunt uratul de sodiu monohidrat și uratul de amoniu. Cristalele de urați de sodiu monohidrat precipită în fluidul interstițial (fluidul sinovial) al articulațiilor generând guta.

Cu toate că proprietățile optice ale cristalelor de acid uric au fost investigate la sfârșitul secolului XIX, prima structură cristalină a fost prezentată de Hans Ringertz în 1966 - fig 2-3.



(1)

(2)

Fig. 2-3. Structuri cristaline pentru acid uric  
(1) acid uric anhidru; (2) acid uric dihidrat

Cristalele de acid uric anhidru sunt monoclinice. Planurile cristaline sunt paralele, dispuse la distanțe de 6,56°. Fiecare plan este compus din „fășii paralele” în care moleculele de acid uric sunt menținute prin legături de hidrogen și înclinate la 62°. Cristalele de acid uric dihidrat sunt ortorombice, cu structura planară relativ similară cu precedentele. Distanța interplanară este de 8,73Å.

Acidul uric este puțin solubil în fluide biologice. Excreția urinară a uraților apare prin procesul de filtrare glomerulară, reabsorbție tubulară și secreție tubulară.

Acidul uric este o substanță ușor oxidabilă și, prin capacitatea sa de a capta radicali liberi. Din acest motiv poate fi considerat un factor protector contra agresiunii oxidante continue (stresul oxidativ) la care sunt expuse majoritatea țesuturilor organismului.

Nivelul normal de acid uric este de  $50 \pm 10$  mg% la bărbați și  $40 \pm 10$  mg% la femei. Acumularea acidului uric în tractul urinar, alături de alte substanțe organice sau anorganice (în special metale) poate conduce, prin procese de precipitare și/sau de coprecitare, la formarea starterilor litiazici.

### 2.3. CARACTERISTICI ALE SINTEZEI ORGANICE A PURINELOR

Purinele nu există ca atare în natură, dar pot fi produse prin sinteză organică. Se află, însă, în regnul vegetal și animal numeroși derivați purinici. Dintre aceștia mai cunoscuți sunt adenina, guanina, inozina, xantina, derivați xantiniici (8-hidroxi xantina, 2,8-dihidroxiadenina, acidul uric ș.a.).

### 2.3. Caracteristici ale sintezei organice a purinelor 49

Obținerea prin sinteză în laborator a fost perfectată pentru necesitățile producerii unor compuși intermediari utilizați ulterior în industria farmaceutică.

Sinteza organică a purinei s-a făcut în 1899 pentru prima oară, pornind de la acidul uric. Acidul uric a fost izolat de către Scheele (deja în 1776).

Acidul uric în reacție cu  $\text{PCl}_5$  conduce la 2,6,8-tricloropurina, care a fost convertită cu HI și  $\text{PH}_4\text{I}$  la 2,6-diiodopurina. Cu ajutorul pulberii de zinc, aceasta din urmă a fost redusă la purină.

O prezentare schematică a căilor de sinteză ale purinelor (compuși în structura cărora se află un ciclu pirimidinic și un ciclu imidazolic) pornind de la derivații primari se redă în fig. 2-4.

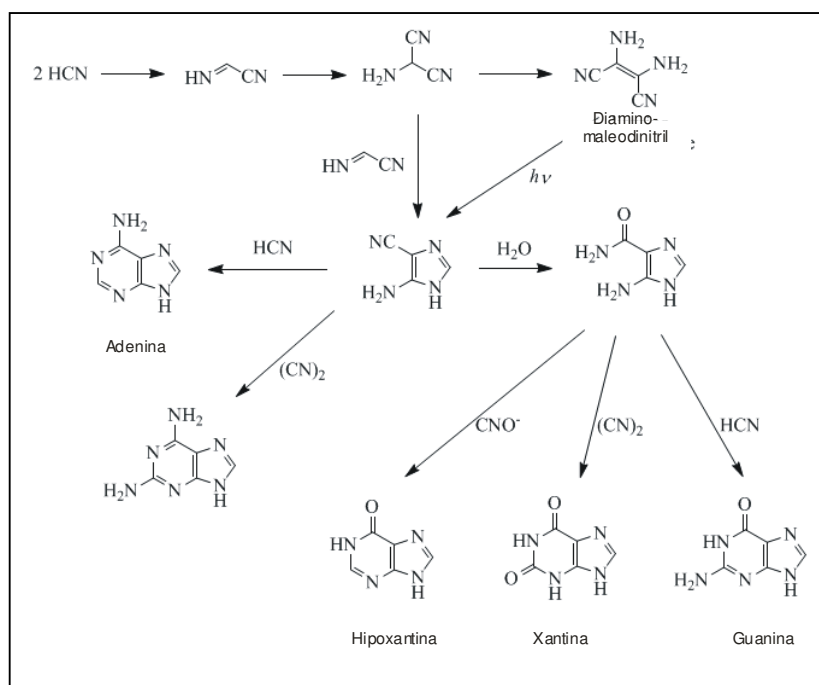


Fig. 2-4. Sinteza organică a derivaților purinici (pornind de la acidul cianhidric)

Una din căile de sinteză a derivaților purinici în laborator pornește de la acidul cianhidric (HCN). Se formează inițial diaminomaleodinitril. Apoi se realizează o primă ciclizare rezultând un derivat al nucleului imidazolic. Apoi, prin reacții succesive are loc a doua ciclizare formându-se nucleul pirimidinic. În continuare se pot obține majoritatea purinelor cu incidență naturală.

Reacțiile prezentate sunt specifice sintezei purinelor, utilizată în obținerea de diverse produse de uz chimioterapeutic.

În organism biosinteza purinelor are loc la nivelul ficatului. Sinteza este inițiată de la 5-fosfo- $\alpha$ -ribozil-1-pirofosfat și conduce la nucleotida inosin 5'-monofosfat (IMP), iar de aici la alte molecule de purinnucleozidmonofosfați.



## **2.4. ASPECTE NUTRIȚIONALE PRIVIND PRECURSORII PURINICI ÎN UROLITIAZE**

În organismul uman purinele (derivații purinici) se formează în cursul proceselor anabolice specifice metabolismului nucleoproteidelor. În acest cadru se menționează faptul că bazele purinice libere (în speță adenina, guanina, hipoxantina, xantina) provin din:

a) catabolismul acizilor nucleici tisulari – reprezintă aportul endogen. În aceste procese intervin enzimele specifice metabolismului nucleoproteinelor. Nucleozidmonofosfații (NMP) și nucleozidele sunt degradate până la nucleobaze purinice libere și, în final, la acid uric;

b) catabolismul nucleoproteinelor alimentare – reprezintă aportul exogen. În tubul digestiv nucleoproteinele alimentare sunt supuse acțiunii unor enzime specifice. Procesul de digestie începe din stomac și continuă sub acțiunea proteazelor din sucul gastric și intestinal. Componenta proteică este adusă în stadiul de acizi aminați, iar componenta prostetică - acizii nucleici sunt hidrolizați inițial până la pirimidin nucleozidmonofosfați (CMP, TMP, UMP) și, respectiv purin-nucleozidmonofosfați (AMP, GMP). Aceștia din urmă sunt hidrolizați în continuare până la derivații purinei (baze purinice) și, în final, până la acid uric.

Metaboliții rezultați în urma biodegradării acizilor nucleici nu sunt doar produșii finali amintiți (baze purinice libere), ci un amestec de nucleozidmonofosfați, nucleozide și baze purinice libere. Dintre acestea, nucleozidele reprezintă forma cu cea mai adecvată absorbție intestinală și au cea mai bună solubilitate. Acestea sunt urmate de nucleozidmonofosfați, bazele purinice ca atare având o absorbție scăzută și o solubilitate redusă. Nucleozid-monofosfații și nucleozidele sunt absorbite prin vilozitățile intestinale și ajung pe calea venei porte în ficat. De aici trec în alte organe unde vor servi pentru sinteza acizilor nucleici (calea biochimică de sinteză), iar fracțiunea neutilizată va fi degradată până la acid uric (calea biochimică degradativă).

Acid uric nu prezintă nici un risc patobiochimic atât timp cât rămâne dizolvat în fluidele din organism. În plasmă, acidul uric se găsește liber și sub formă de săruri de sodiu. Studiile au demonstrat că acidul uric este legat de globulinele plasmactice și că pH-ul sângelui intravascular influențează gradul de reversibilitate a acestei legături, ca și unele medicamente întrebuițate în tratamentul gutei [147, 148].

La om, în condiții normale, după o ingestie exagerată de alimente cu conținut ridicat de derivați purinici care sunt în același timp precursori ai acidului uric, crește excesiv rata de excreție urinară a acestuia, asociată numai cu o moderată creștere a uraților în plasmă. Prin acest proces rinichiul caută să micșoreze efectul pe care l-ar produce hiperuricemia asupra nefronului pus în fața unei încărcări excesive endo- sau exogene de urați [149, 150, 125, 151].

La originea purinelor libere din sânge și din țesuturi se află predominant purinele existente în alimente (guanina, xantina, acidul uric). Purinele rezultă, în parte, din nucleoproteinele provenite din consumul de alimente (origine exogenă) și, în parte din derivații purinici rezultați prin biosinteza la nivelul țesuturilor – așa numita sinteză de novo (origine endogenă).

Aportul exogen (alimentar) al purinelor este dependent de cuantumul acestora în produsele alimentare (tabel 2-3). Se remarcă faptul că alimentele cu conținut ridicat de compuși purinici aparțin predilect produselor alimentare de origine animală și evident, unor produse procesate.

Tabel 2-3. Concentrația purinelor în diferite alimente

| Specificare     | Aliment             | Purine (mg/100 g) |
|-----------------|---------------------|-------------------|
| Produce animale | Heringi             | 790               |
|                 | Sardele în ulei     | 118               |
|                 | Ficat de vită       | 93                |
|                 | Rinichi de vacă     | 80                |
|                 | Carne de porc slabă | 70                |
|                 | Limbă de vită       | 55                |
|                 | Creier              | 195               |
|                 | Carne de vacă       | 40                |
|                 | Carne de găscă      | 33                |
|                 | Carne de găină      | 29                |
|                 | Mezeluri            | 20                |
|                 | Produce vegetale    | Spanac            |
| Ciuperci        |                     | 50                |
| Mazăre          |                     | 45                |
| Fasole boabe    |                     | 44                |
| Varză Bruxelles |                     | 23                |
| Conopidă        |                     | 23                |
| Alte produse    | Cacao               | 1900              |
|                 | Ciocolată           | 620               |

Este interesant de observat aportul proteinelor din alimente în modificarea uricemiei. Două studii importante au testat relația dintre aportul de proteine prin dietă și excreția de acid uric. Primul studiu efectuat de [152], a demonstrat că subiecții care aveau calculi cu acid uric consumau cu 66% mai multe proteine decât aceia fără calculi. Al doilea studiu, întreprins de Fellström et al. (1983) pe două grupe de subiecți cu diete sărace în proteine, respectiv bogate în proteine. După două săptămâni de regim au fost determinate pH-ul urinar și concentrația de acid uric. Urina subiecților cu dietă bogată în proteine era mai acidă, iar concentrația de acid uric a crescut cu 90%. Ambele studii indică faptul, sesizat și de [18], că un consum ridicat de proteine mărește riscul de formare al calculilor urici.

Sub aspect fiziologic, mare parte a acidului uric excretat în urină este sub formă liberă, spre deosebire de acela plasmatic, care este reprezentat predominant de urat de sodiu. Acesta este motivul pentru care calculii renali sunt formați predilect din acid uric și nu din urați.

În cazul omului, acidul uric este produs metabolic final și este eliminat ca atare, fără nici o modificare a structurii chimice [153]. La iepuri, produsul final al catabolismului purinelor nu este acidul uric, ci un metabolit al acestuia denumit alantoină (astfel de organisme se numesc alantoinotelițe). Alantoina provine din deschiderea inelului pirimidinic al acidului uric și eliminarea unei molecule de dioxid de carbon sub acțiunea catalitică a enzimei uricaza - oxidoreductază care conține Cu în moleculă. Această transformare are loc în ficat.

În rinichi acidul uric este filtrat prin glomerul și aproape total absorbit în tubul proximal. În continuare acidul uric este secretat în lumenul din partea distală a tubului proximal. Modificări în aportul alimentar de purine aduce mici diferențe de concentrație a acidului uric la nivelul plasmatic sanguin [154, 155].

Sub aspect biochimic lactatul și corpii cetonici (acetoacetat și  $\beta$ -hidroxibutirat) concurează cu acidul uric în etapa de secreție la nivelul tubulilor renali.

În zone endemice precum Asia de sud-est și regiunea mediteraneană, calculi cu acid uric nu sunt asociați în mod frecvent cu hiperuricemia.

Referitor la solubilitatea metaboliților purinici: hipoxantina, xantina și acid uric, se observă că valorile solubilității diferă în sânge și urină funcție de metabolismul purinic și de pH-ul mediului [156, 40].

## **2.5. METABOLISMUL HIDRO-ELECTROLITIC – ASPECTE SPECIFICE**

### **2.5.1. Privire sinoptică**

În urolitogeneză dinamica procesului de nucleație heterogenă cu formarea „starterilor” și ulterior a microcristalelor are o condiționare multifactorială interesând cu predilecție tulburări metabolice, dar și anomalii anatomice [157, 158].

Mediul ambiant și mediul habitual intervin în mod categoric în litogeneză, prin expuneri prelungite la atmosfera caldă și uscată, care favorizează deshidratarea. Factorii alimentari și existențiali, cu deosebire denutriția (prin exces sau prin carențe), stările de stres generate de tensiunile psihice, se află de asemenea la originea litiazei renale. Standardul de viață, consumul crescut de carne, lapte, derivate de lapte, reprezintă o altă cauză importantă de litogeneză, făcând din litiaza renală o boală a excesului proteic, a abuzului alimentar [159]. Influența apei de băut în geneza calculilor nu este foarte clară, dar unele colectivități umane în care se bea apa distilată marină (e.g.: în Indiile de Vest) nu fac această boală.

În același timp, litiaza renală are la origine și factori endocrini și metabolici, unii dintre aceștia cu condiționare genetică. Acești factori îi conferă caracterul de «maladie litogenă de diateză precipitantă urinară», nu rareori asociată altor concrețiuni calculoase și în alte organe, e.g.: căi biliare, pancreas, glande salivare, plămâni, vase sanguine [6, 160, 82, 161, 162, 163].

### **2.5.2. Rolul apei în biogeneza uroconcrementelor**

Litogeneza este considerată o perturbare a metabolismului hidro-electrolitic, mai precis consecința unor modificări ale homeostaziei biochimice. Aceasta poate conduce la efecte patobiochimice la nivelul aparatului reno-urinar.

În sistemele vii apa se prezintă ca un bioconstituent anorganic care are capacitate mare de solubilizare a compușilor organici și biominerali din organism și care asigură mediul optim pentru reacțiile care definesc diversele căi biochimice ale proceselor catabolice și anabolice.

De asemenea, apa intervine în traficarea diverselor substanțe din organism. Spre exemplu micromoleculele provenite din nutrienți, absorbite la nivelul tubului digestiv sunt vehiculate prin sânge spre țesuturi, iar substanțele rezultate din procesele metabolice sunt excretate și eliminate pe cale renală și tegumentară.

Apa constituie mediul reacțiilor de hidratare, hidroliză, oxidoreducere, conjugare etc. – reacții care se realizează în condiții blânde de temperatură și pH. De asemenea, contribuie la menținerea echilibrelor acido-bazic, osmotic și coloid-osmotic (oncotic). Participă la transportul transmembranar prin mecanisme specifice sistemelor de microtransport (e.g. transport activ și pasiv) și macrotransport (i.e. endocitoză și exocitoză). Circumscriind aportul apei la procesele metabolice din organismul uman, se evaluează obișnuit bilanțul general al acesteia, remarcând sursele exo – și endogene (fig. 2-5).

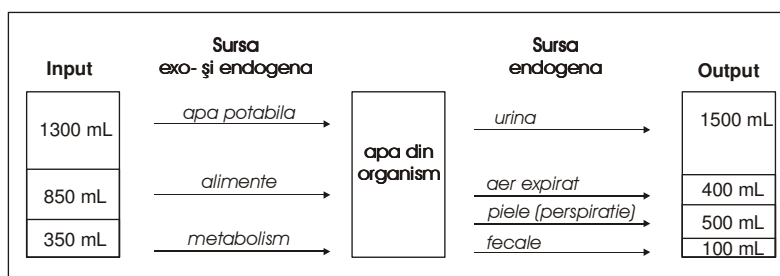


Fig. 2-5. Bilanțul general al apei din organismul uman (reprezentare schematică)

Datele prezentate ne oferă informații generale și asupra tranzitului apei la nivelul aparatului reno-urinar unde cuantumul mediu al eliminării este 1500 mL.

Urmărind aspectele repartiției apei în organism se discută curent despre existența a două compartimente distincte: a) compartimentul intracelular care „include” apa din interiorul celulelor, sumându-se la circa 38% din greutatea corporală. Evident, concentrația variază funcție de țesut sau organ. În ansamblu se cunoaște faptul că în interiorul celulei există un cunatum mai ridicat al cationilor  $K^+$  și  $Mg^{2+}$ , raportat la un cunatum mai scăzut al cationilor  $Na^+$  și  $Ca^{2+}$ . În cazul anionilor, în celule există un cunatum mai mare de fosfați  $H_2PO_4^-$ ,  $HPO_4^{2-}$  în raport cu  $Cl^-$  și  $HCO_3^-$ ; b) compartimentul extracelular este reprezentat în principal de fluidul interstițial (17% din greutatea corpului) și sânge (5% din greutatea corpului). Suma acestora reprezintă 22% din greutatea corpului. Evident, nu se pierde din vedere faptul că apa este prezentă și în alte lichide biologice cum ar fi fluidul cerebrospinal (FCS) numit și lichid cefalo-rahidian, limfă, lichidul sinovial, umoarea apoasă, umoarea sticloasă etc.

Apa din organism este prezentă și în sistemele tampon. Se reiterează faptul că în organism există sisteme tampon primare reprezentate de: acid carbonic / bicarbonat de sodiu ( $H_2CO_3 / NaHCO_3$ ); fosfat acid de sodiu / fosfat bazic de sodiu ( $NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4$ ); proteine cu conținut de grupări carboxilice acide / proteine parțial salifiate cu ioni de sodiu (notate convențional H Proteine / Na-Proteinat).

De asemenea, există sisteme tampon secundare cum sunt: hemoglobină oxidată / hemoglobină redusă (notat uzual Hb oxidată / Hb redusă); fosfat acid de potasiu / fosfat bazic de potasiu ( $KH_2PO_4 / K_2HPO_4$ ); hemoglobină / hemoglobinat de potasiu (notat H-Hb / K-Hb).

S-au menționat aceste date pentru considerentul că sistemele tampon intervin în echilibrul acido-bazic al organismului și, în cazul urolitiazelor, modificările de pH, în care sunt implicate și sistemele tampon, sunt importante pentru faptul că pot interveni în biogeneza litiazelor [164, 165].

### 2.5.3. Rolul ionilor metalici în biogeneza uroconcrementelor

În procesul de urolitogeneză un rol major au cationii metalici prezenți în excreția renală. Astfel, în patogeneza urolitiazelor, s-a acreditat conceptul că urina reprezintă un „mediu metastabil” în care este posibilă precipitarea și/sau coprecipitarea compușilor organici și anorganici, succedată de formarea uroconcrementelor.

Rolul metalelor în coprecipitare a fost sesizat [79]. Cercetări întreprinse au relevat rolul metalelor în etiopatogenia urolitiazelor și au stat la baza emiterii ipotezei mecanismului bioanorganic al „nucleației heterogene bioanorganice” în urolitogeneză.

Evident, acest mecanism nu exclude ideea matricei calculoase care facilitează formarea "starterilor" și evoluția spre uroconcremente [133, 3, 166, 167, 168].

Principalele aspecte referitoare la rolul compușilor biominerali în organism relevă: a) contribuția la procesele de morfogeneză, prin faptul că intră ca bioconstituenți în compoziția diverselor țesuturi, îndeosebi a țesuturilor de susținere cărora le conferă rezistență mecanică, e.g.: țesutul osos, țesutul cartilaginos, țesutul conjunctiv etc. (acest rol este formulat în literatura de specialitate clasică prin expresia de "rol plastic"); b) intervenția ca efectori metabolici în calitate de "activatori" în diverse reacții enzimatică caracteristice unor căi biochimice din procesele catabolice și/sau anabolice (e.g.: magneziul intervine ca activator în sinteza acizilor nucleici) ; c) participarea ca efectori metabolici în calitate de "inhibitori" ai unor reacții enzimatică din diverse căi metabolice – menționând faptul că rolul de inhibitor poate fi îndeplinit nu numai de elementele cu potențial toxicogen ci și de bioelementele aflate în exces; d) menținerea în limite fiziologice a presiunii osmotice a mediilor lichidiene din organism prin participarea la reglarea perpetuă a acesteia; e) menținerea statusului fizico-chimic normal a coloizilor din organism și a presiunii oncotice (coloid-osmotice); f) formarea sistemelor tampon din mediile lichidiene (îndeosebi din sânge), cu rol în reglarea echilibrului acido-bazic al organismului; g) realizarea sistemelor bioelectrice implicate în tranzitul transmembranar de la nivelul membranelor celulare (e.g.: pompa Na-K); h) integrarea ca și bioconstituenți în compoziția unor metaboliți (e.g. metaloenzime, săruri ale acizilor grași); i) participarea la unele procese patobiochimice care conduc la modificări fiziopatologice și chiar morfopatologice afectând diverse aparate și sisteme (e.g. în acest cadru se înscrie și patologia litiazelor în general).

Clasificarea biometalelor se face în macro-, oligo- și microbioelemente. Alături de această clasificare, considerată clasică, există una uzuală care grupează metalele în macroelemente metalice și microelemente metalice. Evident o clasificare similară pentru nemetale. Dintre macroelementele metalice fac parte Na, K, Ca, Mg, iar dintre microelementele metalice Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Cr, Mo etc. Date generale privind concentrațiile metalelor în serul sanguin se prezintă în tabelul 2-4 și în urină în tabelul 2-5 (v. Cap. 2.7.)

În afară de biometale în organism pot accede și xenobiotice care au în compoziție metale cu potențial toxicogen (e.g. Pb, Cd, ș.a.). Și acestea pot participa, alături de biometale la procesele de litogeneză.

Abordarea problemei bioconstituenților circumscrisă la compoziția chimică elementală a materiei vii relevă faptul că 28 de elemente sunt componente permanente și constante ale organismului. Dintre acestea 11 elemente (oxigenul, carbonul, hidrogenul, azotul, calciul, fosforul, potasiul, sulful, sodiul, clorul și magneziul) alcătuiesc peste 99 % din bioconstituenții organismului - având rol fundamental în morfogeneză și energogeneză. Aceste elemente mai sunt numite și elemente de constituție sau macroelemente.

Restul de 17 elemente (fierul, fluorul, siliciul, zincul, cuprul, iodul, bromul, manganul, aluminiul, plumbul, borul, molibdenul, arsenul, cobaltul, nichelul, titaniul) se află în concentrații sub 1 %, dar au un rol fiziologic deosebit de important ca și

compenți ai unor metaloproteine (e.g. hemoglobină, citocromi) și ai unor enzime. De asemenea, unele cu rol catalitic sau rol determinant în anumite procese metabolice. Acestea sunt cunoscute sub denumirea de oligoelemente sau microelemente.

Alături de aceste 28 elemente, în organismul unor viețuitoare au mai fost identificate în urme și alte elemente (numite microelemente neesențiale), de exemplu: V, Rb, Cs, Li, Ba, Sr, Ag, Cr ș.a. Metalele sunt prezente sub forma unor compuși anorganici sau organometalici de interes biologic sau sub formă ionică intervenind în homeostazia biochimică care asigură desfășurarea normală a proceselor fiziologice.

În relație cu funcționarea aparatului reno-urinar, perturbarea homeostaziei biochimice facilitează procesul de urolitogeneză [15, 3, 169, 170]. Într-o primă fază a procesului de litogeneză așa cum s-a arătat are loc „nucleația heterogenă bioanorganică” în care intervin metalele care se leagă cu anionii anorganici, organici sau cu compuși organici cu polaritate negativă. Se formează în acest mod „starterii” care, în continuare, determină precipitarea / coprecipitarea continuă a electroliților [32]. Nucleele de cristalizare se pot forma la nivelul rinichiului, al glandelor salivare etc.

Rolul compușilor minerali, în general, și a ionilor metalici, în particular, în organismul uman poate fi discutat sub diverse aspecte de interes pentru biochimie, fiziologie, și, evident, pentru patobiochimie, fiziopatologie etc. Homeostazia metabolismului hidroelectrolitic este importantă în desfășurarea proceselor metabolice.

## **2.6. INVESTIGAȚII DE CHIMIE CLINICĂ SPECIFICE UROLITIAZELOR**

În investigarea patologiei litiazelor - în general și a urolitiazelor - în special, se utilizează posibilitățile oferite de laboratorul clinic în compartimente distincte de chimie clinică, hematologie și microbiologie.

În chimia clinică, în cazul urolitiazelor, se procedează la efectuarea analizelor specifice pentru: sânge, urină și uroconcremente. Metodele utilizate în determinări pot fi chimice și fizico-chimice. Complexitatea analizelor depinde de dotarea laboratorului clinic - mai exact a compartimentului de chimie clinică. La analizele specifice de chimie clinică solicitate pentru urolitiază se asociază uneori și analize cu specific hematologic și microbiologic în compartimentele conexe laboratorului clinic. O vastă literatură de specialitate oferă informații detaliate asupra metodelor de investigație specifice acestor laboratoare [79, 171, 172, 173, 174, 83, 175, 16]. Datele obținute oferă informații asupra subiectului - devenit caz clinic - asigurând în continuare orientarea conduitei clinice.

Se mai amintește faptul că pentru diagnosticarea urolitiazelor se utilizează diverse metode de explorare paraclinică. În acest cadru o importanță aparte prezintă metodele imagistice. Dintre acestea se menționează investigațiile bazate pe : a) radiologie; b) ultrasonografie ; c) radioizotopie; d) rezonanță magnetică nucleară [15, 176, 177, 178].

Rezultatele investigațiilor bazate pe astfel de metode sunt importante pentru stabilirea diagnosticului, orientarea conduitei clinice și, în timp, monitorizarea statusului fiziologic și fiziopatologic.

### 2.6.1. Investigații de chimie clinică pentru sânge și urină – generalități

În chimia clinică specificul metodelor utilizate a cunoscut o perpetuă diversificare. Aceasta a permis extinderea investigațiilor și aprofundarea problemelor legate de metabolismii normali și patologici (eliberați în exces) ca și de prezența xenobioderivaților proveniți, în general, din xenobioticele de interes alimentar și/sau de interes farmaceutic care însoțesc nutrienții.

În determinările analitice se utilizează metode chimice (directe) prin care se determină masa de substanță și metode fizico-chimice (indirecte sau instrumentale) prin care se determină proprietăți ale substanței (e.g. absorbția luminii, indicele de refracție ș.a.).

Grupa metodelor chimice include gravimetria și volumetria (titrimetria). Dintre metodele fizico-chimice în laboratorul chimic se utilizează: potențimetria, fotometria, spectrofotometria, cromatografia, refractometria.

În tabelul 2-5 se prezintă metodele fizico-chimice utilizate în determinarea cantitativă (numită în tratatele de chimie clinică și dozare) pentru metale, efectuate din sânge și urină. Pentru prezenta lucrare interesează doar metode de determinare a principalelor metale alcaline (Na, K) și alcalino-terozice (Ca, Mg) pentru considerentul că un capitol special al acestei lucrări (Cap. 6) se referă la determinări de metale din sânge și urină în relație cu afecțiunile litiazice și tratamentul acestora prin metode chirurgicale, respectiv prin litotripsie. În literatura de specialitate de limbă română pentru termenul de litotripsie se folosește și denumirea de litotriție, dar și aceea de „litotripsie cu unde de șoc extracorporeale” – ESWL (Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy) preluată din literatura (de specialitate) de limbă engleză.

Tabel 2-4. Metode chimice și fizico-chimice de determinare a unor parametri serici și urinari

| Specificare      | Metode de determinare specifice pentru   |                           |
|------------------|--|---------------------------|
|                  | Ser sanguin                              | Urină                     |
| Sodiu            | Potențimetrie, Flamfotometrie            | Flamfotometrie            |
| Potasiu          | Electrozi ioni selectivi, Flamfotometrie | Flamfotometrie            |
| Calciu           | Titrimetrie                              | Titrimetrie               |
| Magneziu         | Titrimetrie                              | Titrimetrie               |
| Fosfor anorganic | Fotometrie                               | Fotometrie                |
| Clor             | Fotometrie                               | Colorimetrie              |
| Acid uric        | Fotometrie                               | Fotometrie                |
| Oxalați          | Titrimetrie                              | Gaz-cromatografie         |
| Citrați          | Titrimetrie                              | Enzimatică                |
| Cistina          | Titrimetrie, Cromatografie               | Fotometrie                |
| Creatinina       | Fotometrie                               | Fotometrie, Cromatografie |

Cu referire la metodologia investigațiilor din chimia clinică din deceniile precedente și integrarea de noi metode, în prezent, există date în literatura de specialitate [127,179].

### A. Determinările analitice sanguine

În cazul litiazelor reno-urinare interesează determinarea concentrațiilor sanguine pentru acidul uric (uricemia), acidul oxalic (oxalemia), creatinina (creatininemia), uree (uremia), rezerva alcalină etc.

De asemenea, din probele de sânge se determină concentrația unor ioni metalici (ionograma sanguină): natremia; kalemia; calcemia; magnezemia; sideremia (concentrația sanguină a fierului) etc. Dintre anioni se determină cloruri, fosfați anorganici și (în unele cazuri) citrații.

Date asupra principalilor "parametri" chimici serici (valori normale), importanți în chimia clinică, sunt redată în tabelul 2-4.

Tabel 2-4. Parametri chimici – valori serice normale

| Specificare      | Concentrația în serul sanguin |           |             |
|------------------|-------------------------------|-----------|-------------|
|                  | mMol/L                        | mVal/L    | Mg/dL       |
| Sodiu            | 137-147                       | 137-147   | 315-340     |
| Potasiu          | 3,6-5,5                       | 3,6-5,5   | 14-21,5     |
| Calciu           | 2,25-2,6 B                    | 4,5-5,2   | 9,0-10,4    |
|                  | 2,17-2,54 F                   | 4,34-5,08 | 8,68-10,2   |
| Calciu ionizat   | 1,13-1,32                     | 2,26-2,64 | -           |
| Magneziu         | 0,8-1,0                       | 1,6-2,0   | 1,9-2,5     |
| Clor             | 98-107                        | 98-107    | 347-379     |
| Fosfor anorganic | 0,8-1,3                       | -         | 2,48-4,0    |
| Acid uric        | 0,18-0,42 B                   | -         | 3,0-7,0     |
|                  | 0,13-0,34 F                   | -         | 2,2-5,7     |
| Creatinină       | 0,062-0,110                   | -         | 0,7-1,2     |
| Proteine totale  | 65-87g/L                      | -         | 6,5-8,7g/dl |

Există tratate de anvergură apărute ulterior [90, 180, 17] care redau secvențial informații despre parametrii serici și urinari evaluați în analitica biochimică. Acestea uneori diferă datorită varietății tehnicilor analitice. Din acest motiv adesea apar domenii mai extinse pentru valorile normale. În prezent pentru chimia clinică buletinele de analiză precizează aparatul (analizorul) utilizat, valoarea determinată și domeniul de variație normal.

În citarea datelor referitoare la homeostazia biochimică s-au preferat datele compilate de Matouschek și Huber (1981) pentru considerentul că sunt unitare prin perioadă și au valori exprimate comparativ.

În continuare se vor prezenta date generale privind investigarea în chimia clinică („clasică”) a substanțelor care interesează prezenta lucrare, predilect compușii metalici.

Dozarea sodiului - se face uzual prin metoda potențimetrică și metoda flamfotometrică care au înlocuit metodele titrimetrice.

Dozarea potasiului - se bazează tot pe metoda flamfotometrică și în unele laboratoare cu ajutorul electrozilor ioni selectivi.

Dozarea calciului - este efectuată printr-o metodă titrimetrică - complexometria, utilizând sarea de sodiu a acidului etilendiaminotetraacetic (EDTA) având ca indicator murexidul. Se mai utilizează și flamfotometria ale cărei date nu oferă rigoare datorită fenomenului de interferență ionică (în cazul calciului predilect cu sodiul).

Dozarea magneziului - se face titrimetric utilizând metoda cu galben-titan (un derivat tiazolic care formează un complex colorat în roșu care, ulterior, poate fi



determinat fotometric la  $\lambda = 540$  nm). Magneziul se mai poate determina colorimetric prin metoda Mann-Yoe folosind un reactiv specific (cu conținut de naftalinhidroxibenzen). Se formează un complex de culoare roșiatică care poate fi determinat colorimetric (la  $\lambda = 505$  nm).

În prezent se utilizează analizoare special destinate laboratorului clinic care efectuează determinări în serie a principalilor ioni metalici, furnizând date necesare diagnosticului clinic.

### B. Determinările analitice urinare

Se rezumă la determinări ale unor parametri fizico-chimici pentru care se menționează denumirea și parantetic, valorile normale. Acești parametrii (după Matouschek și Huber, 1981) sunt : volumul (1500 m L / 24 h); densitatea (1005-1030 g/cm<sup>3</sup>); osmolalitatea (400-800 mOsm/kg) și pH-ul (5,8-6,8).

De asemenea, se fac determinări asupra acidului uric (uricuria), ureei, creatininei, albuminei și, în laboratoare bine dotate, chiar și asupra acidului oxalic (oxaluria) și cistinei. Determinări curente se fac asupra concentrației principalilor ioni metalici (ionograma urinară): Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>. Determinările, în funcție de posibilități se extind și la fosfați, sulfatați, cloruri, ionul de amoniu și citrați. Astfel de determinări se fac de obicei din urina recoltată în 24 ore.

În cazul determinărilor analitice urinare principalii „parametri” chimici care interesează în chimia clinică sunt prezentați (după Matouschek și Huber, 1981) în tabelul 2-5.

Determinarea cantitativă a sodiului și potasiului - se face uzual utilizând metoda flamfotometrică.

Determinarea cantitativă a calciului - este efectuată prin metoda permanganometrică. Inițial, calciul este precipitat cantitativ cu oxalat de amoniu. Precipitatul de oxalat de calciu este titrat cu permanganat de potasiu.

Determinarea cantitativă a magneziului din urină se poate face și prin metoda Mann-Yoe, menționată mai sus (v. determinările din ser).

Tabel 2-5. Parametri chimici urinari - valori normale

| Specificare      | Concentrația raportată la timp (24 ore) |                                |                              | Concentrația raportată la volum (L) |                               |                              |
|------------------|---|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
|                  | mMol                                    | mVal                           | mg                           | mMol/L                              | mVal/L                        | mg/L                         |
| Sodiu            | 130 - 260                               | 130-260                        | 2990-59800                   | 85-170                              | 87-170                        | 1993-3987                    |
| Potasiu          | 40 - 100                                | 40-100                         | 1565-3910                    | 28-67                               | 28-67                         | 1095-2620                    |
| Calciu           | 7,5 <i>B</i><br>6,0 <i>F</i>            | 15,0 <i>B</i><br>12,0 <i>F</i> | 300 <i>B</i><br>240 <i>F</i> | 5,0 <i>B</i><br>4,0 <i>F</i>        | 10,0 <i>B</i><br>8,0 <i>F</i> | 200 <i>B</i><br>160 <i>F</i> |
| Magneziu         | 1,5 - 7,5                               | 3,0-15,0                       | 36,5-182,3                   | 1,0-5,0                             | 2,0-10,0                      | 24,3-121,5                   |
| Clor             | 120-240                                 | 120-240                        | 4250-8500                    | 80-160                              | 80-160                        | 2830-5660                    |
| Fosfor anorganic | 15 - 45                                 | -                              | 465-1395                     | 10-30                               | -                             | 310-930                      |
| Uree             | 20 - 50                                 | 20-50                          | 360-900                      | -                                   | -                             | -                            |
| Oxalați          | 0,45                                    | 0,9                            | 40                           | 0,3                                 | 0,6                           | 26,4                         |
| Citrați          | 2,1 - 4,2                               | 6,3-12,6                       | 400-800                      | 1,4-2,8                             | 4,2-8,4                       | 265-530                      |
| Acid uric        | 2,38 - 4,46                             | -                              | 401-750                      | 1,6-3,0                             | -                             | 269,0-504,0                  |
| Creatinină       | 7,1 - 15,0                              | -                              | 1700                         | 4,7-10,0                            | -                             | 535-1130                     |
| Cistină          | 0,25                                    | -                              | 60                           | 0,15                                | -                             | 36                           |

Notă: *B* - bărbați; *F* - femei

Și în cazul urinei, în prezent, în chimia clinică sunt utilizate analizoare.

Alături de investigațiile cu specific de chimie clinică se face uzual și „examen sumar de urină” (urina prelevată matinal). Prin acest examen se determină : volumul urinar, osmolalitatea, densitatea, pH-ul, albumina, ureea, creatinina, acidul uric, acidul oxalic, cistina. În plus, sedimentul urinar – urmărit prin microscopie optică - poate releva prezența sau absența din urină a unor cristale (urați, oxalați, fosfați, cistină) hematii, leucocite, cilindri etc. În cazul decelării cristaluriei putem afla și detalii privind caracteristicile morfologice ale cristalelor [181, 3, 182, 107, 183].

Importante sunt uneori și unele teste de chimie calitativă (clinică). Spre exemplu, cristalele de cistină și de acid uric precipită prin adăugarea de acid acetic glacial în urină, care coboară pH-ul urinar sub 5,0. Cistinuria se mai evidențiază rapid prin testul cu cianat de sodiu 5% și nitroprusiat de sodiu 5% (apare colorație purpurie).

### 2.6.2. Investigații chimice pentru urolitiază

Aplicațiile chimiei clinice interesează evaluarea homeostaziei biochimice a diversilor metaboliți din sânge și urină, precum și a compoziției uroconcrementelor. Analiza uroconcrementelor se face la nevoie pentru calculii rezultați prin eliminare spontană sau prelevați în urma intervenției chirurgicale. Metodele așa zise „clasice” se bazează pe analize chimice calitative care stabilesc tipul de litiază și principalii componenți.

#### 2.6.2.1. Investigații chimice uzuale pentru urolitiază

Utilizarea metodelor chimice (directe) a constituit prima modalitate de analiză pentru calculi. În general, determinarea analitică a compoziției chimice a calculilor se poate face prin metode calitative, semicantitative și cantitative.

Datele referitoare la aceste modalități de analiză sunt sistematizate în literatura de specialitate din care se citează lucrări din ultimele decenii ale sec. XX [127, 126, 128, 181, 184].

Pentru identificarea compușilor chimici din uroconcremente se utilizează metode calitative. Pentru dozare se utilizează metode semicantitative și cantitative. În funcție de compoziția chimică calculii pot fi integrați în două grupe (fig.2-6).

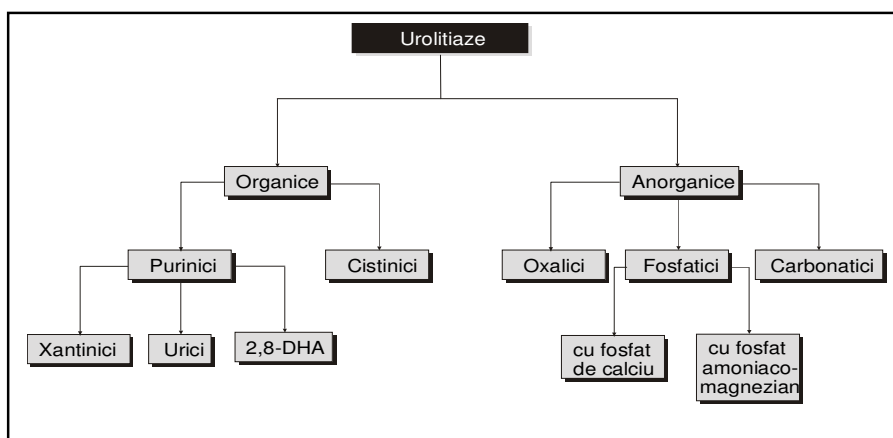


Fig. 2-6. Clasificarea generală a urolitiazelor după criteriul de compoziția chimică

Aceste grupe includ : a) calculi anorganici : oxalici , fosfatici (din fosfat de calciu și din fosfat amoniaco-magnezian), carbonatici; b) calculi organici: purinici (cu acid uric, urați, xantina, 2,8-dihidroxiadenina),cistinici.

#### **A. Identificarea principalilor anioni**

În analiza calitativa se procedează, inițial, la mojararea calculilor. Pulberea obținută se folosește la identificarea principalilor compuși chimici specifici calculilor urinari.

a) Acidul uric și urații. Se identifică prin utilizare de acid fosfomolibdic în soluție tampon de borat, confirmată de apariția culorii albastre. Pentru identificarea acidului uric se folosește reacția murexidului pentru care se utilizează NaOH - apare o colorație violet intensă, sau se poate utiliza  $\text{NH}_4\text{OH}$  - apare o colorație purpurie.

b) Oxalații. Se pot identifica printr-o reacție de decolorare. Complexul format de fier trivalent și acidul sulfosalicilic în prezența oxalatului își modifică culoarea de la portocaliu la galben pal. De asemenea, se poate identifica cu acetat de sodiu folosind ca indicator roșu de metil - pulberea de calcul (dizolvată în  $\text{HNO}_3$ ) dă un precipitat alb.

c) Fosfații. Se pot evidenția cu reactivul nitrosulfuricomolibdenic care în prezența fosfaților, la încălzire, dă o colorație galbenă.

d) Cistina. Se evidențiază printr-o reacție de reducere. În mediu alcalin și în prezența nitroprusiatului de sodiu cistina este redusă în cisteină la adăugare de sulfid de sodiu. Reacția se caracterizează printr-o colorație roșie.

e) Carbonații. Se identifică prin dizolvarea pulberii obținute din calculi la adaos de HCl și  $\text{NH}_4\text{OH}$ .

#### **B. Identificarea principalilor cationi**

a) Calciul. Se identifică cu ajutorul sării disodice a acidului etilendiaminotetraacetic (EDTA). Culoarea variază de la roșu la albastru. Pe aceeași reacție se bazează și determinarea cantitativă.

b) Magneziul. Se evidențiază prin tratarea pulberii din calcul cu soluție de tampon borat în prezență de azo-1-hidroxi-2-dimetil-2-benzensulfonat-5-Na, când se formează un complex colorat în roșu.

c) Amoniu. Se identifică cu reactiv Nessler și dă culori de la galben la maro (în funcție de conținutul în amoniu).

Sodiul și potasiul nu prezintă interes clinic pentru identificare uzuală. Constituenții chimici apar în general în calculii urinari sub forma unor compuși organici și anorganici, conținând diverși ioni metalici (e.g.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ , etc) sau ionul de amoniu ( $\text{NH}_4^+$ ).

#### **2.6.2.2. Evaluarea compoziției cristaline a calculilor**

Uroconcrementele se prezintă ca formațiuni solide, omogene decelate la nivelul aparatului reno-urinar. În general, au structură cristalină. Aproximativ 95% din calculi conțin componente cristaline și 5% non-cristaline, care formează așa numita matrice proteică.

Analiza calculilor, pentru scopuri care urmăresc cercetarea științifică, se face și prin studii cristalografice. În unele cazuri se evaluează și similitudinile mineralogice [1, 13, 185]. Studiile cu specific cristalografic au arătat distribuția în cazul unor componente

chimice din calculi. Spre exemplu, apatita apare în proporție de 33%; acidul uric 10%; acidul uric dihidrat 6%; acidul uric monohidrat rar; uratul de amoniu 1%. Derivații purinici ca și xantina și dihidroxiadenina apar rar. Cistina, chiar dacă nu are o frecvență remarcabilă, este importantă din cauza recurenței în absența metafilaxiei.

În cele ce urmează se citează câteva exemple de compuși prezenți în calculi (dându-se și denumirea mineralogică) în cazurile care se pretează comparațiilor:

|                           |   |
|---------------------------|---|
| $C_5H_3N_4O_3$            | Acid uric                               |
| $C_5H_3N_4O_3 \cdot Na$   | Urat de sodiu                           |
| $C_5H_3N_4O_3 \cdot NH_4$ | Urat de amoniu                          |
| $(COO)_2Ca \cdot H_2O$    | Oxalat de calciu monohidrat (whewellit) |
| $(COO)_2Ca \cdot 2H_2O$   | Oxalat de calciu dihidrat (wedelita)    |
| $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$     | Fosfat de calciu dihidrat (brushit)     |
| $Ca_3(PO_4)_4$            | Fosfat tricalcic (whitlockit)           |
| $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$  | Fosfat amoniaco-magnezian (struvit)     |
| $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$   | Fosfat de calciu bazic (hidroxiapatit)  |
| $C_6H_{12}N_2O_4S_2$      | Cistina                                 |

Metodele clasice discutate mai sus, bazate în general pe reacții de culoare, de precipitare, de oxido-reducere etc., permit evaluarea calitativă și semicantitativă a componentelor chimici din uroconcremente.

### 2.6.3. Investigații cu specific de cercetare științifică în studiul urolitiazelor

Cercetarea metabolismului normal și a perturbărilor metabolice referitoare la glucide, lipide, protide și electroliți cu efecte asupra homeostaziei biochimice a acestora a permis o conturare mai riguroasă a conceptului de patologie biochimică. În domeniul patologiei biochimice a urolitiazelor aplicarea metodelor fizico-chimice se pretează pentru investigarea stărilor dishomeostazice.

La subiecții cu litiaze, spre exemplu, se pot identifica: hiperuricemie, hiperoxalemie, hipercalcemie, hipercolesterolemia. Investigarea compoziției uroconcrementelor permite definirea tipului de urolitiază (e.g. urică, oxalică, fosfatică, cistică etc.) și asigură instituirea corectă a managementului medical în clinică [186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193].

Odată cu progresele realizate în domeniul analiticii biochimice, electronicii și computerelor a devenit posibilă introducerea unor noi metode fizico-chimice mult mai performante în raport cu metodele considerate „clasice”.

În cercetarea științifică din domeniul științelor vieții (și evident în medicină), se utilizează metode analitice fizico-chimice care asigură acuratețe datelor. Între acestea se menționează: a) spectroscopia optică (în infraroșu –IR; în vizibil –VIS; în ultraviolet –UV); b) spectroscopia de absorbție atomică; c) spectroscopia de difracție cu raze X (difractometria); d) cromatografia; e) derivatografia termică; f) rezonanța magnetică nucleară; g) spectroscopia de masă, etc.

Fără a intra în detalii metodologice, care depășesc cadrul acestei teze, se face totuși remarcă faptului că unele din metodele utilizate inițial doar în fizică și în chimie au fost preluate în explorările funcționale medicale neinvazive. Astfel, în clinica medicală, evident cu o aparatură specifică scopului urmărit, se utilizează metode imagistice bazate pe utilizarea razelor X (în tomografia computerizată),

## 62 Caracteristici ale metabolismului purinelor și biometalelor în litiaze - 2

---

ultrasunetelor (în ecografie) și rezonanței magnetice nucleare (RMN) și chiar a scintigrafiei – mai exact a uroscintigrafiei [178].

În investigarea urolitiazelor prin metode bioanalitice pentru a asigura acuratețe, reproductibilitate și expeditivitate se apelează la utilizarea metodelor fizico-chimice.

În prezenta lucrare pentru investigarea urolitiazelor s-au folosit: spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier (FT-IR), spectroscopia de absorbție atomică (SAA) și unele aplicații ale chimiei clinice în evaluarea ionogramelor (sanguine și urinare) pentru subiecții cu uroconcremente prelevate chirurgical sau prin litotripsie. Pentru evaluarea datelor s-au utilizat metode computerizate.

Rezultatele investigațiilor fizico-chimice, relevând compoziția chimică a calculilor, permit orientarea clinică în profilaxia și metafilaxia corectă a urolitiazelor, precum și evitarea complicațiilor care pot apare în urma intervențiilor chirurgicale și tratamentelor prin litotripsie.

## 3. INVESTIGAREA TIPURILOR DE UROLITIAZE PRIN SPECTROSCOPIA ÎN INFRAROȘU

### 3.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Investigarea urolitiazelor pentru necesitățile curente ale clinicii urologice se efectuează în laboratorul clinic. Un astfel de laborator are compartimente distincte care privesc chimia clinică, microbiologia (bacteriologia, virusologia) și hematologia. În patologia și patobiocimia afecțiunilor reno-urinare, în funcție de cazuistică, se pot solicita investigații la fiecare din aceste compartimente [3, 17].

Așa cum s-a arătat investigațiile de chimie clinică pentru urolitiază sunt limitate la metode chimice (metode directe), considerate clasice și metode fizico-chimice (metode indirecte - instrumentale) utilizate pentru diagnostic și (uneori) pentru monitorizarea cazuisticii în clinica medicală. În prezent există o continuă tendință de extindere a utilizării metodelor fizico-chimice în cercetarea biomedicală. Între metodele fizico-chimice care pot aduce un aport major în studiul problemelor de patobiocchimie (incluzând și urolitiarele) se menționează metodele spectroscopice, e.g.: spectroscopia în infraroșu (SIR), în ultraviolet (SUV), spectroscopia de absorbție atomică (SAA), termoderivatografia, spectroscopia de masă, gaz-cromatografia ș.a.

Aceste metode analitice au avantajul de-a permite obținerea unor date de acuratețe, prezentând expeditivitate în raport cu metodele clasice prin specificul informațiilor oferite [ 27, 28, 57, 194, 195, 196, 197].

Rezultatele investigațiilor fizico-chimice, relevând compoziția chimică a urolitiazelor, permit orientarea conduitei clinice în profilaxia, metafilaxia și terapeutică corectă a urolitiazelor. De asemenea, devine posibilă evitarea complicațiilor care pot apare în urma intervențiilor chirurgicale și tratamentelor prin litotripsie cu unde de șoc extracorporeale – ESWL (Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy).

Experimental s-a procedat la obținerea probelor – reprezentând uroconcremente – de la subiecți (pacienți) aflați în evidență la Clinica Universitară de Urologie din Timișoara.

*Obținerea probelor.* Analizele s-au efectuat asupra unui număr total de 237 de calculi urinari prelevați prin metode chirurgicale sau eliminați spontan. Calculii au fost prelevați de la pacienți (numiți uzual în prezenta lucrare și „subiecți”) cu urolitiază care au acceptat integrarea în acest studiu. Probele au fost colectate pe parcursul perioadei 2004-2010. Apoi, în serii de câte 15-20 probe reprezentate de calculi urinari au fost supuse analizelor fizico-chimice.

*Investigații analitice.* Inițial, în scopul studiului compoziției chimice calitative și cantitative a uroconcrementelor, acestea au fost supuse unor spălări repetate cu apă distilată (pentru îndepărtarea urmelor de sânge și a altor reziduri organice), evitând pierderile de substanță. S-a procedat apoi la uscare în etuvă și aducerea probelor în stare de pulbere.

Ulterior, compoziția chimică calitativă a fiecărui uroconcrement a fost determinată cu ajutorul spectroscopiei în IR clasice – utilizând un spectrometru de tip

Specord 75 și a spectroscopiei în infraroșu cu transformare Fourier (FT-IR) – pentru care s-a utilizat spectrometru de tip JASCO FT-IR/410 (Jasco, Japonia). Probele au fost omogenizate cu bromură de potasiu (KBr) și transformate în pellets-uri (numite în lucrările mai vechi „tablete”) cu ajutorul unei prese manuale de tipul 15 Ton Specac Pellet Press (Specac Ltd, U.K.).

Inițial s-au determinat spectrele FT-IR ale substanțelor pure (substanțele cunoscute a fi potențiale componente ale uroconcrementelor) pentru a se putea crea o bază de date conținând „spectre etalon” numite și „spectre standard”.

Ulterior s-au determinat spectrele FT-IR ale uroconcrementelor (cu o compoziție necunoscută) în vederea evaluării compoziției acestora în raport cu „spectrele standard”. Astfel s-a stabilit compoziția chimică calitativă a uroconcrementelor definindu-se „tipul de urolitiază” corespunzător fiecărui caz.

## **3.2. APLICAȚII ALE SPECTROSCOPIEI ÎN INFRAROȘU CU TRANSFORMARE FOURIER**

### **3.2.1. Specificul metodei**

Spectroscopia în infraroșu se pretează utilizării în biochimia analitică ca metodă de analiză calitativă în scopul identificării grupărilor funcționale polare din structura moleculelor. Această metodă se bazează pe absorbția radiațiilor infraroșii de către substanța analizată și permite detectarea benzilor spectrale pe baza vibrațiilor caracteristice pentru diverse grupări funcționale.

Spectrul în infraroșu al unei substanțe prezintă intensitatea benzilor de absorbție (i.e. benzi spectrale) în funcție de numărul de undă ( $\nu^{-1}$ ) sau în funcție de lungimea de undă ( $\lambda$ ) a radiației. Intensitățile benzilor de absorbție se pot exprima prin transmitanța (T) – raport al intensităților radiațiilor emergentă/incidentă ( $T = I / I_0$ ). De asemenea, se poate exprima prin absorbanță (A) dată de expresia  $\log(1 / T)$  [198, 199, 200, 201].

Domeniul lungimii de undă a fasciculului luminos este apropiat energiei de vibrație a moleculei studiate. Astfel, aceasta va absorbi radiația și se va înregistra o diminuare a intensității radiației transmise. Radiațiile în infraroșu (IR) se extind pe domeniul numărelor de undă de la  $4000 \text{ cm}^{-1}$  la  $400 \text{ cm}^{-1}$ , corespunzând intervalului lungimilor de undă 2,5-25  $\mu\text{m}$ . Spectrele obținute definesc și energia de vibrație a moleculei [202,203,204].

În consecință, o anumită substanță chimică cu o structură dată va corespunde unui ansamblu de benzi de absorbție (benzi spectrale) caracteristice. Pe aceste considerente se bazează identificarea diverselor substanțe chimice.

Cercetările experimentale în acest domeniu se făceau utilizând un spectrometru IR cu monocromator – metodă considerată clasică, iar ulterior cu ajutorul unui spectrometru IR cu interferometru și transformare Fourier (Fourier Transform Infrared Spectrometer – (notare uzuală FT-IR sau FTIR).

Spectrometrul IR clasic. La acest aparat radiația electromagnetică, provenită de la o sursă incandescentă, este orientată spre referință și probă. Apoi, radiațiile emergente trec alternativ prin monocromator și de aici spre detector. În continuare se ajunge la amplificator și, în final, se înregistrează spectrul IR (fig.3-1).

Pentru investigațiile analitice în spectroscopia IR clasică, prezentate în continuare, s-a folosit inițial un aparat de tipul Specord 75. S-au obținut inițial spectrele etalon (standard) și apoi spectrele uroconcrementelor.

3.2. Aplicații ale spectroscopiei în infraroșu cu transformare Fourier 65

Spectrometrul FTIR. La un astfel de spectrometru fasciculul de radiație infraroșie emis de o sursă A este dirijat către un interferometru Michelson, care va modula fiecare lungime de undă a fasciculului cu o frecvență diferită. În interferometru fasciculul luminos este trimis spre un separator.

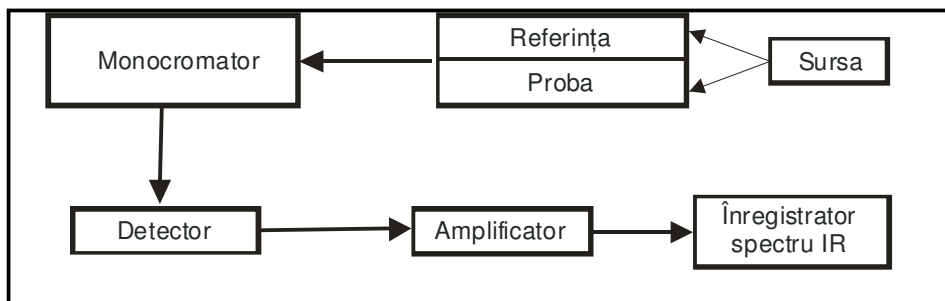


Fig.3-1. Spectrometru IR (schema bloc)

De aici, mișcarea fasciculului este dirijată spre o oglindă fixă și poate străbate separatorul cu dirijare spre o oglindă mobilă. Când fasciculele se recombina, apar interferențe (distructive sau constructive) în funcție de poziția oglinzii mobile. Astfel, « fasciculul modulat » este reflectat (de cele două oglinzi) către eșantionul aflat în studiu reprezentat de substanța-etalon care servește ca referință (spectrul etalon sau spectrul standard) sau către proba care reprezintă pulberea de calcul (spectrul calculului urinar) supusă analizei. Se produce absorbția fasciculului modulat. Acest fascicul, ajuns în final la detector, este transformat în semnal electric și face posibilă înregistrarea spectrului FT-IR (fig.3-2).

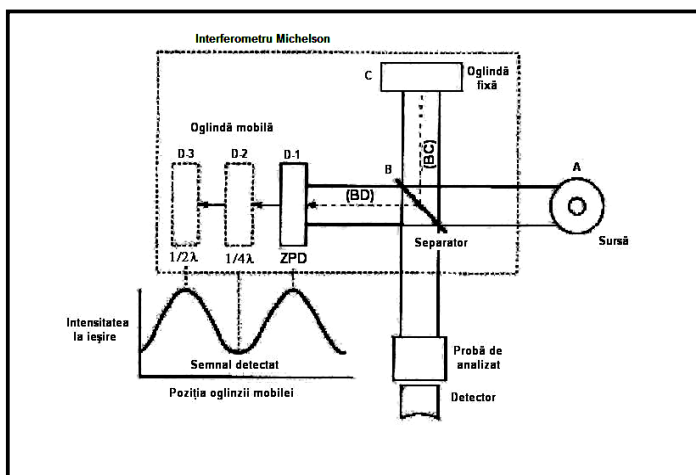


Fig.3-2. Spectrometru IR cu transformare Fourier (schema bloc)



Pentru investigațiile din această teză s-a utilizat și un spectrometru JASCO FT-IR/410. Inițial au fost trasate spectre pentru substanțele etalon reprezentând compuși (chimic puri) specifici diferitelor tipuri de urolitiază (i.e. acid uric, acid oxalic/oxalați, fosfați, cistină etc). S-au obținut spectrele FR-IR etalon. În continuare au fost investigate pulberi obținute din uroconcrementele prelevate la clinică – spectrele FT-IR ale uroconcremențelor.

După străbaterea eșantionului, la nivel de detector se măsoară lungimea de undă la care a avut loc absorbția și intensitatea absorbției. Semnalul detectorului apare ca o interferogramă (fig.3-3). Formal acest semnal redă intensitatea luminii (reprezentată pe axa y - ordonată) în funcție de poziția oglinzii (reprezentată de axa x - abscisa). Interferograma - prin maximul său - redă suma tuturor frecvențelor fasciculului.

Interferograma produsă de spectrometru este convertită, în final, într-un spectru infraroșu printr-o operație matematică denumită "transformanța Fourier". În acest mod, în final, se obține spectrul FT-IR.

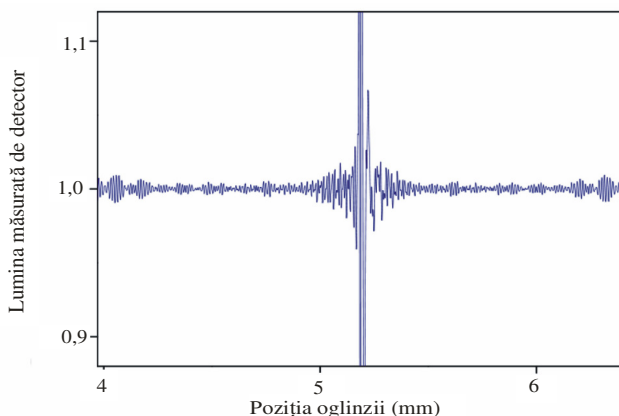


Fig.3-3. Interferograma formată la nivelul detectorului (corespunzător eșantionului analizat)

Investigațiile analitice, în prima etapă a cercetărilor din cadrul acestei teze, au urmărit obținerea spectrelor IR, respectiv spectrelor FT-IR pentru substanțele chimic pure specifice compoziției uroconcremențelor menționate mai sus. Spectrele FT-IR obținute sunt numite "spectre standard" sau "spectre etalon". În secunda etapă s-au obținut spectrele diverselor uroconcremente prelevate din cazuistica Clinicii Universitare de Urologie din Timișoara. Detalii asupra acestora se prezintă în subcapitolele următoare. Este evident faptul că frecvențele de vibrație pentru moleculele așa numite "IR active" diferă. Cu titlu informativ se menționează că tipologia acestora are denumiri preluate din limba engleză, e.g.: symmetrical stretching, antisymmetrical stretching, scissoring, rocking, wagging, twisting ș.a. Cu aceste denumiri adaptate limbii române se operează uzual în cazul caracterizării și interpretării spectrelor în infraroșu [205].

În tabelul 3-1 se prezintă date generale privind grupările funcționale, benzile spectrale în infraroșu și tipurile de vibrații caracteristice [206, 207, 208]. Se dau și denumirile (terminologia comună) pentru vibrațiile caracteristice.

Unele frecvențe de vibrație redată în acest tabel sunt caracteristice și substanțelor chimice care se decelează în uroconcremente. Astfel de substanțe prezente în diverse litiază așa cum s-a arătat, pot fi de natură organică sau

### 3.2. Aplicații ale spectroscopiei în infraroșu cu transformare Fourier 67

anorganică. Pornind de la "spectrele FT-IR etalon" a devenit posibilă identificarea compoziției calitative a calculilor, fapt care a permis definirea tipului de urolitiază e.g.: urică, oxalică, fosfatică, oxal-urică etc.

Tabel 3-1. Grupări funcționale și benzile specifice acestora în spectroscopia în IR

| Grupare funcțională   | Vibrații caracteristice (tipuri) | Benzi spectrale poziția (cm <sup>-1</sup> ) | Observații  |
|---|----------------------------------|---|---|
| CH <sub>x</sub> (-CH <sub>3</sub> ; -CH <sub>2</sub> -; =CH-) | alungire                         | 2950 - 2850                                 | 2-3 benzi   |
| CH <sub>x</sub> (-CH <sub>2</sub> -)                          | deformare                        | 1470 - 1430                                 | 1 bandă   |
| CH <sub>x</sub> (-CH <sub>3</sub> )                           | deformare simetrică              | 1390 - 1370                                 | 1 bandă   |
| =C=C=   | alungire                         | 1680 - 1620                                 | 2 benzi   |
| =C-H  | alungire                         | 3040 - 3010                                 | 2 benzi   |
| =C-H  | deformare                        | 995 - 985                                   | 2 benzi   |
| -C=C-   | alungire                         | 1600  | 2-3 benzi   |
| -C=C-   | alungire                         | 1580  | intensă în derivații cu conjugare                     |
| =C-H  | alungire                         | 3100 - 3000                                 | poate fi acoperită în prezența substituenților alchil |
| -O-H  | alungire                         | 3710  | în apă  |
| -O-H  | deformare                        | 3600 - 3100                                 | Apa de cristalizare                                   |
| -C-O-   | alungire                         | 1250 - 1000                                 | în alcoolii primari                                   |
| -S-H  | alungire                         | 2600 - 2550                                 | puțin influențată de legături de hidrogen             |
| =C-S  | alungire                         | 700 - 600                                   | în tioeteri   |
| N-H   | alungire                         | 3500 - 3300                                 | 2 benzi în amine primare, secundare                   |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>                                  | deformare simetrică              | 1470  |   |
| =C-N  | deformare                        | 1650-1500                                   | intensitate redusă                                    |
| =C=O  | alungire                         | 1740 - 1720                                 | în aldehide saturate                                  |
| -OC=O   | alungire asimetrică              | 779   | caracteristic oxalaților                              |
| -CO-CH <sub>3</sub>   | deformare                        | 1725 - 1705                                 | în cetone saturate                                    |
|   |                                  | 1700-1680                                   | în cetone aromatice                                   |
| =C=N-   | alungire                         | 1690 - 1640                                 | în =C=N-însoțită de ν <sub>NH</sub> = 3400-330        |
| -COO <sup>□</sup>   | alungire                         | 3000 - 2500                                 | bandă largă, OH asociat prin legături de hidrogen     |
|   |                                  | 1740 - 1720                                 | C=O din acizi carboxilici aromatici                   |
| -C-O-R  | alungire                         | 1750 - 1735                                 | C=O din esteri saturați                               |
|   |                                  | 1750 - 1725                                 | C=O din esteri nesaturați                             |
|   |                                  | 3200 - 2500                                 | O-H asociat prin legături de H intensitate mare       |
| -CO-NH-   | alungire                         | 3460 - 3400                                 | N-H 2 benzi în amide secundare                        |
|   | deformare                        | 1700 - 1670                                 | intensitate mare                                      |
| -CO-NH-   | alungire                         | 1680 - 1630                                 | C=O bandă amidă I (intensă)                           |
|   |                                  | 1670 - 1630                                 | N-H bandă amidă II (intensă)                          |

Posibilitatea de investigare a calculilor prin utilizarea spectroscopiei clasice în IR (notată uzual SIR) - metodă nespecifică pentru laboratorul de chimie clinică - a fost semnalată în literatură de [23] și reluată de [29]. Ignorată mult timp pentru perspectiva aplicațiilor în cercetarea științifică în biochimie și patobiochimie a fost reluată pentru inițierea unor studii sistematice în domeniul urolitiazelor [209, 57, 27, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216].

În cazul procedurii clasice, intrat în studiu (în anul 1981) la Institutul de Sănătate Publică Timișoara, Clinica de Urologie de la Universitatea de Medicină Timișoara, Institutul de Chimie Timișoara și Facultatea de Chimie Industrială de la Universitatea "Politehnica" din Timișoara, pentru efectuarea unei analize chimice calitative prin spectroscopia în infraroșu (SIR) specifică perioadei 1980-1995 se obțineau spectre ale compușilor chimici puri specifici uroconcrementelor litiazice (spectre IR etalon). Deși se folosea aceeași metodă SIR, procedurile erau mai laborioase datorită aparatului nonperformant.

Cu aceste spectre etalon obținute a devenit posibil studiul spectrelor uroconcrementelor luate în studiu stabilindu-se natura organică / anorganică a compușilor, deci definindu-se "tipul de urolitiază" [57, 27].

Spectrele în IR ale calculilor se pretează și interpretării cu ajutorul aplicației computerelor [217, 53, 218] în scopul definirii tipului de litiază.

### **3.2.2. Caracteristici generale ale spectrelor în infraroșu**

Investigațiile analitice bazate pe spectroscopia în infraroșu clasică (IR) și spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier (FT-IR) aplicată în studiul urolitiazelor au caracter de determinare calitative riguroase și permit stabilirea naturii compușilor organici și/sau anorganici prezenți în calculi. Astfel spectroscopia în infraroșu are avantajul de-a oferi o imagine sinoptică a compoziției chimice a calculilor reno-urinari pe baza unui singur spectru.

Inițial s-au trasat spectrele IR și FT-IR pentru substanțe chimice pure, considerate „spectre etalon” – care au servit la crearea unei "biblioteci de date". La spectrele etalon se stabilesc domeniile de absorbție caracteristice și apoi domeniile frecvențelor de vibrație specifice fiecărei molecule (modul de vibrație). Aceste benzi reprezintă: vibrații de valență care la grupele triatomice pot fi simetrice și antisimetrice; vibrații de deformare: în planul moleculei sau în afara planului acesteia.

Pentru investigațiile spectroscopice în infraroșu s-au trasat spectrele IR și FT-IR ale substanțelor chimice pure din clasele de compuși prezenți în uroconcremente. Substanțele chimice pure au fost „pastilate” sub presiune în mediu solid cu conținut de KBr obținându-se „pellets-urile” care s-au utilizat la trasarea spectrelor. În final au fost trasate spectrele FT-IR pentru următorii compuși organici: acid uric/urati, acid oxalic / oxalați, fosfați, cistină etc.

Din atlasul cu spectre IR [210] s-au utilizat spectre pentru xantină și 2,8-dihidroxiadenină. Domeniul investigațiilor a fost extins și la unii compuși existenți sub formă de săruri cu ioni anorganici specifici pentru procesul de urolitogeneză. Astfel au fost trasate spectrele etalon pentru diferiți oxalați (de sodiu și de amoniu) pentru fosfați (fosfat tricalcic, fosfat de amoniu etc.) și carbonați (de calciu, de magneziu) prezenți în anumite tipuri de urolitiază [158, 219].

În continuare s-au trasat spectre în infraroșu pentru calculi. Pentru identificarea benzilor spectrale bazate pe spectrele IR și FT-IR se procedează la caracterizarea benzilor specifice pentru stabilirea compoziției chimice calitative a uroconcrementelor. În acest scop se definesc analitic benzile spectrale caracteristice ale compușilor chimici întâlniți curent în urolitiază, așa-numitele „benzi spectrale de diagnostic”.

În investigarea uroconcrementelor bazate pe FT-IR, benzile decelate, mai exact „peak-urile” caracteristice – relevate cu acuratețe - sunt mai numeroase. Pentru o evaluare mai riguroasă din punct de vedere analitic și pentru o mai rapidă definire a compoziției calitative a calculilor se procedează la localizarea benzilor spectrale ale

### 3.2. Aplicații ale spectroscopiei în infraroșu cu transformare Fourier 69

uroconcrementelor luate în studiu. Astfel au fost atribuite spectrului FT-IR două categorii de benzi: „benzi spectrale principale” – care caracterizează calculul în ansamblu (în totalitatea sa) și „benzi spectrale de diagnostic” – care evidențiază distinct compoziții definitorii pentru un anumit tip de calculoză. Aceștia prezintă similitudini cu un anumit „spectru etalon”. În această manieră este facilitată evaluarea calculilor simpli (cu un unic component), cât și a calculilor micși (cu doi, trei componenți).

Un remarcabil studiu efectuat [220] redă sugestiv diferențele între „benzile spectrale principale” întâlnite în spectrul FT-IR al unui anumit uroconcrement și „benzile spectrale de diagnostic” specifice pentru definirea tipului de litiază corespunzător respectivului uroconcrement.

În aceste tabele există precizări referitoare la diversele numere de undă caracteristice spectrelor FT-IR. Parantetic sunt redate – abreviat - date referitoare la particularitățile benzilor spectrale, i.e.: w – weak (slab) ; s – strong (puternic), sharp (ascuțit) ; m – medium (mediu); v – variable (variabil) ; b – broad (larg) etc. [220]. S-a preferat păstrarea acestor abrevieri pentru a menține rigoarea informației inițiale (e.g.: bm - lărgime medie).

În tabelul 3-2 sunt prezentate date referitoare la spectrele tipice pentru calculi cu conținut de acid uric și compuși derivați ai acestuia e.g.: uratul acid de sodiu și uratul acid de amoniu, remarcându-se distincția dintre benzile spectrale principale și benzile de diagnostic.

Tabel 3-2. Benzi spectrale IR ale acidului uric și derivaților acestuia identificabili în calculii urinari [220]

| Compus              | Banda spectrală principală  | Banda spectrală de diagnostic   |
|---------------------|---|---|
| Acid uric           | 3015(bm), 2825(w), 1670(bs), 1590(sm), 1482(w), 1435(w), 1400(w), 1350(sm), 1305(sm), 1220(w), 1120(ss), 1025(sm), 995(ss), 878(sm), 780(ss), 740(ss), 705(sm), 618(sm), 575(sm), 525(sm), 475(ss), 395(w), 350(w).                                     | 3015(bm), 1305(sm), 1220(w), 1120(ss), 1025(sm), 705(sm), 575(sm), 475(ss). |
| Urat acid de amoniu | 3050(m), 2900(w), 2800(w), 1650-1640(s), 1595(w), 1535(w), 1345(sw), 1270(w), 1135(sm), 1005(sm), 880(sm), 635(w), 598(sm), 490(sm), 400(w), 350(w), trei bifide la 1430, 1390, 790, 765 și 755, 725  | 1535(w), 1270(w), 635(w).   |
| Urat acid de sodiu  | 3600(sw), 3050(bw), 1732(sw), 1655(m), 1605(vw), 1520(sw), 1425(w), 1380(m), 1345(w), 1252(sw), 1195(vw), 1130(vw), 1000(sm), 880(sw), 825(w), 795(w), 765(w), 740(sm), 718(sm), 655(vw), 620(vw), 595(sm), 525(sm), 490(m), 360(vw), 330(vw), 305(vw). | 3600(sw), 1732(sw), 1520(sw), 1252(sw), 1195(vw), 655(vw).                  |

În continuare, în tabelul 3-3 se prezintă date privind spectrele FT-IR pentru compuși derivați din acidul oxalic (i.e. oxalatul de calciu mono- și dihidrat), fosfatul acid de calciu (având și denumirea de fosfat de calciu hidrogenat), fosfatul de amoniu și magneziu hexahidrat și alți compuși fosfatici cum ar fi : hidroxiapatita, carbonatapatita. Alături de acestea se prezintă și date referitoare la spectrul FT-IR al carbonatului de calciu. Se menționează că acest compus este întâlnit mai puțin la

## 70 Investigarea tipurilor de urolitiază prin spectroscopia în infraroșu- 3

om, uneori fiind prezent la persoanele cu regim alimentar vegetarian. Studiile calculozelor la animale au arătat însă prezența carbonatului în uroconcremente prelevate de la animale ierbivore (Neumann et al., 1994; Hesse et al., 2002).

Tabel 3-3. Benzi spectrale IR ale compușilor oxalici, fosfatici și carbonați identificabili în calculi urinari [220]

| Compus                                  | Banda spectrală principală  | Banda spectrală de diagnostic                                   |
|---|---|---|
| Oxalat de calciu monohidrat             | 3490(w), 3435(w), 3340(w), 3260(w), 1640-20(bs), 1318(ss), 950(w), 885(w), 780(ss), 660(bm), 600-595(bw), 520(ss).                  | 3490(w), 3435(w), 3340(w), 3260(w), 1318(ss), 780(ss), 520(ss). |
| Oxalat de calciu dihidrat               | 3450(bw), 1640-20(bs), 1320(ss), 780(w), 625-620(bw), 520(w).   | 3450(bw), 1320(ss), 780(w), 520(w).                             |
| Fosfat acid de calciu                   | 3510(vw), 3000(w), 2840(bw), 1635(bw), 1400(bw), 1350(bw), 1130(sm), 1065(sm), 995(w), 890(sm), 580(m), 560(m), 520(w), 400(sm).    | 1130(sm), 1065(sm), 995(w), 890(sm).                            |
| Fosfat de amoniu și magneziu hexahidrat | 3420(w), 3220(vw), 2900(vw), 2770(vw), 1650(m), 1470(m), 1430(w), 1105(w), 1055(m), 980(w), 950(w), 765(m), 630(m), 570(m), 340(m). | 3420(w), 1470(m), 1430(w), 1055(m), 765(m).                     |
| Hidroxiapatita                          | 3570(sw), 3450-3400(w), 1630(w), 1450(w), 1410(w), 1095(sw), 1033-1025(bs), 960(sw), 870(sw), 600(sm), 565(sm), 465(bw).            | 3570(sw), 1095(sw), 1033-1025(bs), 960(sw), 870(sw).            |
| Carbonatapatita                         | 3450(bw), 2520(w), 1455(w), 1420(sw), 1090(sw), 1040(ss), 960(sw), 875(sw), 710(sw), 605(sm), 568(sm), 480(w).                      | 1455(w), 1420(sw), 1040(ss).                                    |
| Carbonat de calciu                      | 2520(vw), 1420(m), 850(m), 710(m), 300(vw),   | 1420(m), 850(m), 710(m).  |

Necesitatea conceperii unui mod distinct de evaluare a spectrelor FT-IR prin reperarea selectivă a „benzilor spectrale de diagnostic” sugerată de [220], dobândește un interes aparte în cazul cercetărilor extinse pe un număr mare de subiecți.

Explicația utilității unui sistem selectiv de evaluare pentru spectrele FT-IR în investigarea tipurilor de urolitiază, rezidă în faptul că în compoziția calculilor se regăsește și „matricea calculoasă”. Această matrice se structurează la începutul nucleației heterogene – deci odată cu formarea „starterilor” cristalini – moment care definește inițierea procesului de biogeneză a calculilor.

Studiile asupra matricelor calculoase atestă faptul că în compoziția acestora există resturi de proteine, chiar glicoproteine, care se structurează în momentul în care apar așa-numiții starteri (primeri) care evoluează spre uroconcremente.

### 3.3. SPECIFICUL METABOLIC AL BIOGENEZEI UROLITIAZELOR PURINICE ȘI CARACTERISTICILE SPECTRELOR FT-IR

#### 3.3.1. Privire sinoptică

Biogeneza urolitiazelor purinice este cauzată de perturbări ale homeostaziei biochimice datorită aportului exogen (alimentar) și metabolic (sinteza de novo). Modificările survenite în metabolizarea nutrienților, influențate și de procesele cronobiochimice, contribuie la producerea de variații ale cantumului eliminării produșilor reziduali ai purinelor.

În cazul litiazelor purinice se pot decela uroconcremente cu conținut de acid uric, xantină și 2,8-dihidroxiadenină [80, 138, 139, 140, 221, 222]. În general, litiazele purinice se localizează la nivelul tractului urinar, dar pot apare și la nivelul tractului gastro-intestinal.

În funcție de consumul de proteine animale, între 50-100 mEq de ioni liberi de hidrogen sunt excretați zilnic pentru a preveni retenția acidului uric. În nefronul proximal, ionii de hidrogen sunt secretați via pompa  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  și ATP. În nefronul distal hidrogen ATPaza și pompa  $\text{H}^+/\text{K}^+$  deplasează ionii de hidrogen în lumen. În fluidul tubular ionii liberi de hidrogen sunt tamponați de acizii slabi sau de ionii amoniu. Astfel, concentrația ionilor de hidrogen liberi în lumen este menținută la valori foarte scăzute. Valoarea pKa a sistemului tampon este destul de înaltă (9,0) permițând excreția unei cantități substanțiale de acid la un pH urinar relativ crescut.

În fig.3-4 se prezintă secvențial căile biochimice specifice formării litiazelor purinice, i.e. urică, xantinică și 2,8-dihidroxiadeninică.

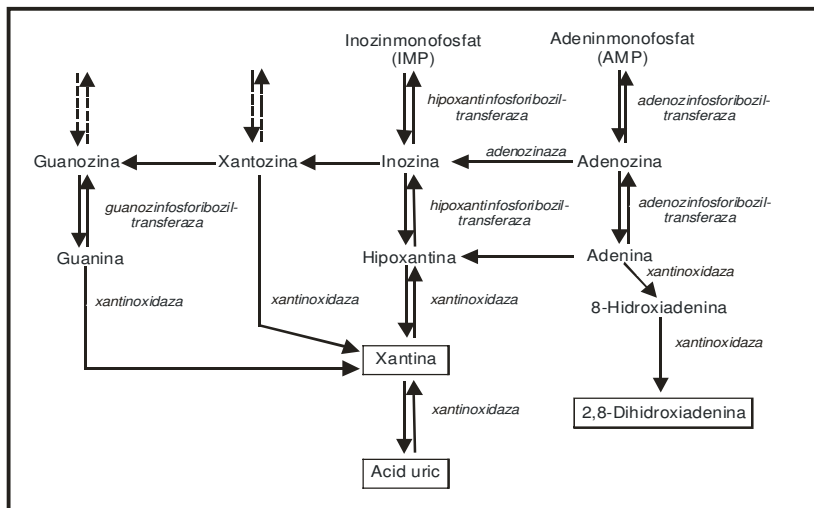


Fig. 3-4. Căi biochimice specifice formării litiazelor purinice

## 72 Investigarea tipurilor de urolitiază prin spectroscopia în infraroșu- 3

Se poate remarca faptul că biogeneza acestor litiaze include – din ansamblul căilor biochimice ale metabolizării purinelor – două secvențe, acești fiind interconversa purinelor și biodegradarea purinelor (v. și fig. 2-1).

La om și unele animale superioare (mămuțe) acidul uric este principalul produs final al metabolismului purinelor. În cazul unui regim alimentar normal la om, excreția urinară zilnică este de 900 – 1000 mg acid uric. Dacă se administrează un regim alimentar lipsit de purine, se elimină zilnic prin urină sub 590 mg acid uric.

În cazul oxipurinelor s-a studiat solubilitatea acestora în urină remarcându-se faptul că este condiționată de nivelul pH-ului. În tabelul 3-4 sunt redate date obținute de Seegmiller și Frasier (1966) - citați de [6] privind solubilitatea metaboliților purinici: acid uric, xantina, hipoxantina (în mg pentru 1000 mL). Se poate observa că solubilitatea acestora diferă în ser și în urină, condiționată predilect de catabolismul / anabolismul purinelor și pH-ul mediului. În procesele metabolice 2/3 până la 3/4 din totalul acidului uric se elimină prin rinichi, iar restul prin intestin, unde este degradat de flora bacteriană.

Tabel 3-4. Date privind solubilitatea metaboliților purinici în funcție de pH

| Mediul | pH  | Solubilitatea (mg / 1000 mL) |         |             |
|--------|-----|------------------------------|---------|-------------|
|        |     | Acid uric                    | Xantina | Hipoxantina |
| Ser    | 7,4 | 70                           | 100     | 1150        |
| Urină  | 5,0 | 150                          | 50      | 1400        |
|        | 7,0 | 2000                         | 130     | 1500        |

În urină la pH 5,0 forma predominantă este acidul uric, iar la pH 7,0 se află 95% sub formă de urați. Concentrația plasmatică a acidului uric este de aproximativ 4 mg/100 mL la femei și 5 mg/100 mL la bărbați [6]. Reamintim faptul că aceste valori diferă în funcție de metoda de investigare și apar date diferite în lucrări de specialitate. Deoarece pK la acid uric este 5,75, la pH plasmatic de 7,4 (specific homeostaziei biochimice), aproximativ 98% se află sub formă de urat.

S-a arătat că pH-ul urinar este cu mult mai mic la subiecții cu calculi urici în comparație cu aceia care au calculi oxalici sau aceia fără calculi. Un pH persistent scăzut este cel mai important mecanism patogenetic care conduce la formarea de calculi cu acid uric [124]. Excreția acidului uric total este similară sau chiar mai mică la subiecții cu calculi urici în comparație cu grupurile de control care nu au calculi.

Prevalența uroconcrementelor cu acid uric variază în diferite țări prezentând valori de 4 % în Suedia, 17-25% în Germania și ajungând la valori de 40% în Israel [46]. În Statele Unite acidul uric este implicat în formarea a 5-10% din urolitiazele întâlnite [45]. La bazele acestor variații stau factori precum clima, dieta, factorii genetici. Urolitiază este întâlnită în cazuistica medicală, cu o frecvență de 6% la femeile și 12% la bărbații din țările industrializate. Este o afecțiune a cărei incidență este în continuă creștere (Monk și Burshinsky, 2003; Coe et al., 2005).

În lucrarea lor, [223] au comparat subiecții fără calculi cu subiecții având calculi cu trei compoziții diferite. Valorile absolute ale ionilor de amoniu urinar nu erau diferite la aceste grupuri; pacienții care formau calculi idiopatici cu acid uric aveau o deficiență în excreția de amoniu în comparație cu excreția generală de acid. Încărcarea acută cu acid conduce la scăderea pH-ului urinar [224, 225].

Dieta joacă un rol capital în dezvoltarea hiperuricemiei care poate sta la bazele apariției litiazei urice. Hiperuricemia este marcată prin creșterea nivelului de acid uric

### 3.3. Specificul metabolic al biogenezei urolitiazelor purinice și spectre FT-IR 73

seric peste valoarea de 7 mg/dL. Valorile cunatumului de acid uric seric reflectă în mod direct dieta individului [40]. O dietă bogată în proteine, conține în mod uzual și cantități crescute de nucleoproteine care, evident, conțin purine. Cu toate acestea, astfel de diete pot avea în unele cazuri și efecte hiperuricosurice (de creștere a excreției acidului uric prin intermediul urinei) producând în cele din urmă o depresie a cunatumului de acid uric seric. Astfel dacă în cazul consumului de carne și fructe de mare, studiile indică o creștere a uricemiei, în cazul produselor lactate se observă o scădere a uricemiei cu toate că și acestea aduc un aport semnificativ de purine [41]. Această scădere este pusă pe seama efectelor uricozurice ale acestor produse. De asemenea, există studii care evidențiază faptul că și unele leguminoase precum soia, deși au un conținut purinic ridicat, produc o depresie a uricemiei [42].

#### 3.3.2. Urolitiaza urică

Litiiza cu acid uric este diagnosticată de obicei la subiecții cu pH urinar scăzut și cu concentrație normală de acid uric urinar. Pacienții cu gută prezintă risc mai mare de a forma calculi cu acid uric, la fel ca și cei cu obezitate, diabet sau sindrom metabolic [226].

Există patru anomalii fiziologice și biochimice care sunt asociate cu calculii renali cu acid uric: a) pH urinar scăzut; b) depleția volumului; c) hiperuricozuria hiperuricemică; d) hiperuricozuria normală și/sau hipouricemică [226]. Detalii asupra cauzelor biomedicale se dau în tabel 3-5.

Cristalele de acid uric au caracteristici cristalografice similare cu oxalatul de calciu monohidrat, motiv pentru care acționează asupra sa ca inductor [227].

Excreția urinară excesivă de acid uric poate fi consecința unei filtrări crescute de acid uric (cauzată de aport alimentar crescut de nucleoproteine, erori metabolice, tulburări mieloproliferative sau hemoliză), a unui defect tubular parțial (e.g. defect tubular izolat de reabsorbție a ureei) sau a disfuncției tubulare generalizate.

Excreția acidului uric este, de asemenea, crescută și la 10% din pacienții cu hipercalciurie și urolitiază. În zonele litogene, ca de exemplu în Asia de Sud-Est și regiunea Mării Mediterane, formarea calculilor cu acid uric uman nu este însoțită de hiperuricemie dar, în majoritatea cazurilor apare hiperuricemia [228, 229, 230, 231].

Tabel 3-5. Factori de risc și etiologii posibile pentru nefrolitiiza cu acid uric [226]

| Factori de risc                       | Etiologii posibile                                    |
|---------------------------------------|---|
| pH urinar scăzut                      | Nefrolitiază idiopatică cu acid uric                  |
|                                       | Gută hiperuricemică*                                  |
|                                       | Diaree*   |
|                                       | Obezitate   |
| Depleția volumului                    | Diabet tip 2  |
|                                       | Diaree* sau alte pierderi de fluide gastrointestinale |
| Hiperuricozurie hiperuricemică        | Transpirație excesivă                                 |
|                                       | Deficiență congenitală enzimatică                     |
|                                       | Afecțiuni mieloproliferative                          |
| Hiperuricozurie normală/hipouricemică | Gută hiperuricemică*                                  |
|                                       | Medicație uricozurică                                 |
|                                       | Salicilat în doze mari                                |
|                                       | Sulfpirazona  |
|                                       | Hiperuricozurie hipouricemică familială               |

\* asociat cu mai mult de un factor de risc



#### 74 Investigarea tipurilor de urolitiază prin spectroscopia în infraroșu- 3

Studii asupra compoziției calculilor urinari au arătat diferite frecvențe pentru litiata urică la nivel internațional: Suedia 4%, Belgia 5,3%, Australia 5,6%, Marea Britanie 6,6%, USA 8,6-16,5%, Franța 23,2%, Germania 17-25%, Israel 39,5%. Aceste variații semnificative se datorează factorilor genetici, dietei, climei, obiceiurilor alimentare [18].

Apariția uroconcrementelor cu acid uric este uneori corelată cu preexistența unor afecțiuni precum guta sau diabetul zaharat de tip I. Guta este o boala inflamatorie cauzată de o hiperuricemie cronică ce conduce la apariția artritei acute datorate formării la nivelul articulațiilor a unor depozite cristaline de urați monosodici. Această afecțiune are la bază hiperuricemia care poate fi, de asemenea, un factor favorizant al dezvoltării uroconcrementelor cu acid uric [232, 233]. Indivizii care prezintă gută pot ajunge să producă uroconcremente cu acid uric doar dacă există și alți factori, cum ar fi în special prezența unui pH urinar scăzut, motiv pentru care există un procent semnificativ de indivizi care suferă de gută însă nu prezintă urolitiază urică.

Stabilirea tipului de litiază în cazul urolitiazăi urice se poate face, așa cum s-a arătat, pe baza spectrului FT-IR al uroconcrementului. În acest scop, inițial a fost trasat „spectrul FT-IR etalon” pentru substanța chimică pură, în cazul de față pentru acidul uric.

Spectrul FT-IR etalon al acidului uric este redat în fig.3-5.

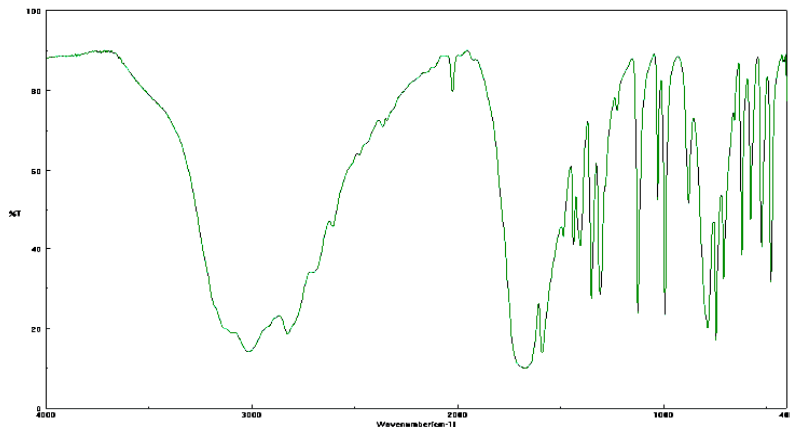


Fig. 3-5. Spectrul etalon al acidului uric obținut prin FT-IR

Se remarcă prezența unor benzi semnificative: a) între valorile 2800-3300  $\text{cm}^{-1}$ , domeniul specific vibrațiilor de alungire ale grupărilor O-H lactamice și lactimice (cu peak-uri la 2825  $\text{cm}^{-1}$  și 3014  $\text{cm}^{-1}$ ); b) între valorile 990-1150  $\text{cm}^{-1}$  specifice vibrațiilor scheletului ciclului purinic (cu peak-uri la 992  $\text{cm}^{-1}$  și 1122  $\text{cm}^{-1}$ ); c) între valorile 700-800  $\text{cm}^{-1}$ , de asemenea, specifice vibrațiilor scheletului ciclului purinic (cu peak-uri la 706  $\text{cm}^{-1}$ , 743  $\text{cm}^{-1}$  și la 783  $\text{cm}^{-1}$ ).

Cu referire la spectrul acidului uric, se pot remarca benzi specifice vibrațiilor caracteristice pentru C-N, N-H și C=O (la care este posibilă decelarea peak-urilor caracteristice).

### 3.3. Specificul metabolic al biogenezei urolitiazelor purinice și spectre FT-IR 75

Vibrațiile inelului purinic sunt răspunzătoare pentru multe benzi din spectrul FT-IR al acidului uric pur. Benzile de absorbție la  $3139\text{ cm}^{-1}$  și  $2819\text{ cm}^{-1}$  se datorează vibrațiilor de tip alungire ale grupării N-H.

Reiterând aspecte specifice privitoare la problema litiazelor cu acid uric și urați se estimează că spectrele FT-IR se pretează analizei calculilor cu acid uric [195, 234, 235, 236]. Benzile de vibrație care pot fi folosite pentru caracterizarea acidului uric anhidru [211] sunt  $2020\text{ cm}^{-1}$ ,  $1592\text{ cm}^{-1}$ ,  $1440\text{ cm}^{-1}$ ,  $1403\text{ cm}^{-1}$ ,  $1350\text{ cm}^{-1}$ ,  $1312\text{ cm}^{-1}$ ,  $1123\text{ cm}^{-1}$ ,  $993\text{ cm}^{-1}$ ,  $878\text{ cm}^{-1}$ ,  $783\text{ cm}^{-1}$ ,  $745\text{ cm}^{-1}$ ,  $705\text{ cm}^{-1}$ ,  $620\text{ cm}^{-1}$ ,  $578\text{ cm}^{-1}$ ,  $525\text{ cm}^{-1}$ ,  $475\text{ cm}^{-1}$ .

Existența acidului uric dihidrat în amestec cu acid anhidru poate fi dedusă prin prezența benzilor de apă la  $3515\text{ cm}^{-1}$  și  $3445\text{ cm}^{-1}$ , dispariția benzii de la  $878\text{ cm}^{-1}$  și modifi-cări în intensitățile relative ale benzilor în domeniile  $1500 - 1300\text{ cm}^{-1}$  și  $650 - 450\text{ cm}^{-1}$ .

Bolnavii de gută dezvoltă în mod obișnuit și urolitiază urică. Astfel, în studiul efectuat de [106] s-a raportat o valoare de 22% pentru incidența urolitiazii urice la bolnavii de gută. Dintr-un total de 120 calculi, 83% erau compuși din acid uric. Evident procentele sunt influențate în fiecare studiu, depinzând de metoda de măsurare a acidului uric seric, criteriile de diagnosticare a gutei, metodei de diagnosticare a calculului renal, indexul de masă corporală – BMI (Body Mass Index) ș.a.

Studii mai recente indică un procent de 39% pentru incidența urolitiazii urice la bolnavii de guta, incidență care s-a stabilit în urma analizării unui lot de 140 de bolnavi de gută și care a ținut cont și de cazurile asimptomatice de urolitiază urică [237].

Valori crescute ale acidului uric se constată și în insuficiența renală, litiază, leucoze, intoxicații. În lucrări mai recente s-a remarcat și o corelație între valorile crescute ale acidului uric și incidența sindromului metabolic. Cuantumul acestui metabolit în sânge poate servi ca „biomarker” cu caracter predictiv și pentru perturbarea metabolismului derivaților purinici.

Asupra metabolizării azotului în biochimie există unele observații interesante. Peștii elimină azotul prin difuzia pasivă a amoniacului prin branhiile; reptilele și păsările excretă acidul uric sub formă cristalină. Mamiferele convertesc amoniacul în uree și o excretă prin urină, în timp ce acidul uric folosește la eliminarea produșilor reziduali prin intermediul metabolismului purinic [284]. Concentrațiile de acid uric la oameni sunt de cel puțin 10 ori mai mari decât la alte mamifere. Cu toate că există dovezi care sugerează faptul că acidul uric are efecte antioxidante, neuroprotective, imunomodulatoare și cardiovasculare, aceste afirmații nu au fost încă confirmate [134].

Valorile scăzute ale acidului uric se remarcă în poliartrite și în insuficiența hepatică. Datele privind nivelul uricemiei – la om spre exemplu - variază după autori. Un consens comun fixează limita superioară a normalului la bărbați la  $6,0\text{ mg/dL}$  și la femei cu aproximativ  $1,0\text{ mg/dL}$  mai puțin. Valori peste  $7,0\text{ mg/dL}$  la bărbați și peste  $6,0\text{ mg/dL}$  la femei sunt considerate ca exprimând o hiperuricemie.

Studii in vitro au demonstrat efectele inhibitorii ale glicoproteinelor, glicozaminoglicanilor și surfactanților din urină asupra cristalizării acidului uric [238].

#### 3.3.3. Urolitiază xantinică

Decelarea urolitiazii xantinică este dificilă și cazuistica este extrem de rară, cca. 0,01% [137, 239]. Incidența scăzută a litiazei xantinică nu permite furnizarea unor date certe despre frecvența cu care apare în cadrul unei populații generale, despre repartizarea pe sexe sau despre intervenția factorilor rasiali, climaterici sau geografici [136, 137].

În sprijinul diagnosticului a fost necesară utilizarea difracției cu raze X sau cromatografiei. Calculii xantiniци sunt radiotransparenți, colorați în galben-brun, netezi, rotunzi sau ovali, de consistență moale. Microscopic cristalele de xantină prezintă formă ovală, cu capetele efilate. Aceste cristale dau reacția murexidului pozitivă.

În cazul acestei litiaze se produce xantinuria (eliminarea de xantină în urină), aceasta fiind o tulburare metabolică specifică metabolismului purinic. La originea acesteia se află o deficiență enzimatică, mai exact absența enzimei xantindehidrogenaza. În literatura se specialitate xantinuria este inclusă în cadrul perturbărilor metabolismului purinic datorate unei tulburări genetice autosomal-recesive [239]. În cazul xantinuriei se produce o accentuată diminuare a cantității acidului uric rezultat din procesele metabolice și creșterea excreției de hipoxantină și xantină. Xantinuria poate conduce la urolitiază xantinică. Această afecțiune are o relativă prevalență în regiunile mediteraneene [240].

Pentru evaluarea posibililor subiecți cu urolitiază xantinică s-a utilizat un atlas cu spectre IR [210]. Un asemenea atlas poate da informații asupra tipului de litiază în absența unui spectru IR etalon.

Defectul genetic caracterizat prin enzimopatie (absența xantindehidrogenazei) se manifestă asimptomatic inițial, în timp declanșându-se hipouricemia care conduce, indirect, la sugestia necesității de a determina xantinuria.

Urolitiază xantinică a fost semnalată prima dată de Marcet în 1817 [citată de 137]. Datele sunt incerte deoarece nu au existat încă metode pentru determinarea hipoxantinei și xantinei în lichidele biologice. Acei pacienți trebuiau să fie heterozigoți.

În metabolismul purinelor s-a evidențiat faptul că enzima xantinoxidaza catalizează oxidarea hipoxantinei la xantină (v.fig.3-3). Biogeneza urolitiază xantinică este legată de eliminările urinare crescute de xantină, în special când xantinuria depășește 25 mg/24 de ore. Solubilitatea xantinei în urină este de 50 mg/L urină la pH 5 și de 130 mg/L urină la pH 7. În cazul hipoxantinei solubilitatea este de 1500 mg/L la pH 7. Din acest considerent se formează calculi xantiniци și nu calculi hipoxantiniци.

Mare parte din subiecții care prezintă xantinurie și calculoză renală xantinică sunt hipouricemici și hipouricozurici, iar prezența unei acidurii permanente (pH apropiat de 5) pare a fi factorul determinant al producerii calculilor.

### **3.3.4. Urolitiază 2,8-dihidroxiadeninică**

Litiaza 2,8-dihidroxiadeninică este extrem de rară și deseori poate fi confundată cu litiaza urică. A fost descoperită de Kelley et al. (1968). apare ca urmare a deficienței enzimei adeninfosforiboziltransferaza. este consecința unui defect ereditar al metabolismului purinic cu implicații clinice doar în cazul homozigoților. Are transmitere ereditară recesivă. producerea litiază 2,8-dihidroxiadeninică (i.e. litiaza 6-amino-2,8-dihidroxiipurinice) pornește de la adenozinmonofosfat (AMP), mai exact de la adenină.

În procesele metabolice, paralel cu adenozinmonofosfatul (AMP), se produce și biodegradarea inozinmonofosfatului (IMP). Reacția are loc în prezența enzimei hipoxantin-fosforiboziltransferaza.

Lipsa enzimei adeninfosforiboziltransferaza este legată de cromozomul 16 și este autozomal recesivă, cu o incidență de 1:233 în caz de heterozigoție și 1:200.000 în caz de homozigoție. Deficiența enzimei nu pare a fi nocivă. Datele din literatura de

### 3.4. Specificul metabolic al biogenezei altor urolitiază și spectrele FT-IR 77

specialitate arată că doar în cazul lipsei acestei enzime apare urolitiază cu 2,8-dihidroxiadenina (2,8 DHA) și/sau cristalurie încă din copilărie [241, 160, 242].

În absența enzimei este posibil ca adenina să fie oxidată de xantinoxidază la 8-hidroxiadenină (8-HA) și la 2,8-dihidroxiadenină (2,8-DHA) – v.fig.3-4. excreția crescută a acestui compus insolubil în urină determină cristalurie apoi apariția microconcrementelor și în final a calculilor.

Calculii cu conținut de 2,8-DHA sunt radiotransparenți, la fel ca și calculii din acid uric (AU). Deci, nu există diferențiere radiologică. La un examen macroscopic atent calculul cu 2,8-DHA se dovedește a fi mai friabil decât cel cu acid uric și este de culoare gri-albăstrui.

Pentru eventualitatea prezenței urolitiază 2,8-dihidroxiadeninice la subiecții luați în studiu s-a utilizat atlasul cu spectre IR [210].

În laboratoarele specializate de enzimologie diagnosticul se poate stabili prin măsurarea directă a activității enzimatică în "lizatul eritrocitar". După Johnson et al. (1977) – citați de [173] valorile normale sunt  $24,7 \pm 4,8$  mmol/adenină raportat la un mg hemoglobină.

Doar analiza cristalografică sau spectroscopia în infraroșu poate diferenția acest lucru de cel cu acid uric [243]. La examenul urinar se văd cristale maronii. Analiza urinei arată concentrații crescute de adenină, 2,8-dihidroxiadenină și hipoxantină.

## **3.4. SPECIFICUL METABOLIC AL BIOGENEZEI ALTOR UROLITIAZE ȘI CARACTERISTICILE SPECTRELOR FT-IR**

### **3.4.1. Privire sinoptică**

În vederea identificării tipurilor de urolitiază decelabile în cazul subiecților luați în studiu a fost necesară extinderea informațiilor necesare evaluării spectrelor FT-IR și evident – a bazei de date. Astfel, alături de investigarea urolitiază purinice, care au făcut obiectul prezentei teze, s-au evaluat și alte tipuri de litiază întâlnite la subiecți. S-au avut în vedere litiază oxalică, fosfatică și cistică. În acest scop inițial au fost trasate spectrele FT-IR etalon pentru compușii chimici puri specifici litiază respective.

### **3.4.2. Urolitiază oxalică**

Modificări ale homeostaziei biochimice a oxalaților se află la originea biogenezei uroconcrementelor oxalice. Dishomeostazia are drept consecință hiperoxalemie și hiper-oxalurie. La acestea se adaugă modificări ale homeostaziei calciului care are drept consecință hipercalcemia (cu formare de oxalați de calciu), hipercalciurie idiopatică (cauza a 50% din litiază oxalice). De asemenea, uneori se poate produce și scăderea concentrației urinare a citraților [8, 244, 245, 246].

Metabolismul oxalaților prezintă aspecte distinctive prin interrelațiile metabolice specifice acestuia. Acest fapt este evidențiat de integrarea în ciclul acizilor tricarboxilici (ciclul Krebs). Fără a intra în detalii se prezintă diversele căi biochimice în fig. 3-6.

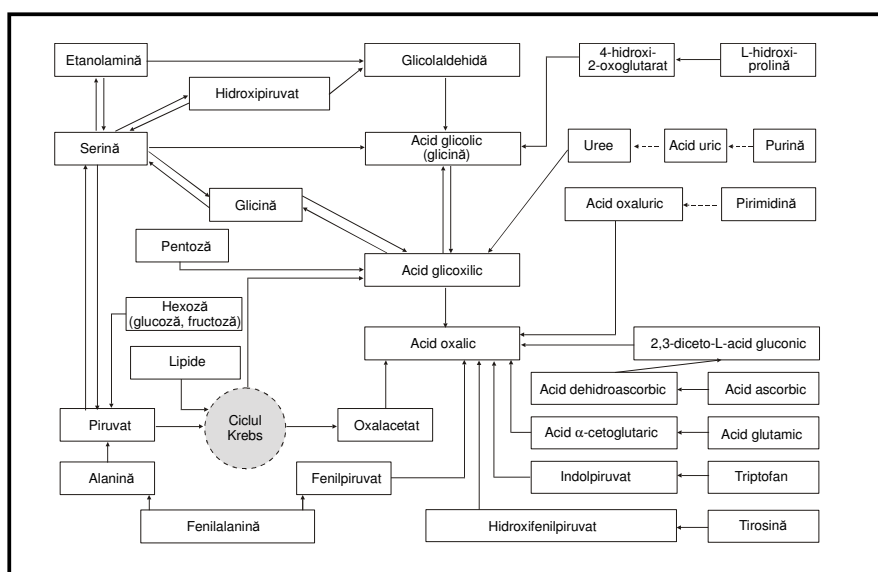


Fig. 3-6. Metabolismul oxalaților – schema generală

În organism oxalații endogeni din lichidele biologice ale organismului și din țesuturi provin din surse exogene și endogene. Sursele exogene de oxalat sunt reprezentate de alimente de origine vegetală sau animală. Sursele endogene sunt asigurate prin biosinteza oxalatului care are loc în tubul digestiv (sintetizat de o serie de microorganisme) din nutrienți, unde oxalatul este absorbit în organism și în țesuturile diferitelor organe [147, 34, 247].

Aportul endogen este asigurat prin biosinteza ionului oxalic (oxalaților) din proteine (e.g. via oxalacetat, indolpiruvat, acid oxaluric etc.), din glucide (e.g. via acid glioxic, oxalacetat etc), din lipide (e.g. via ciclului acizilor tricarboxilici). De asemenea, există o biosinteză asigurată de microorganisme la nivel intestinal.

În urolitiază oxalică un rol important are cristalizarea oxalică, care se produce în prezența ionilor de acid oxalic  $(\text{COO})_2^{2-}$  în prezența ionilor de  $\text{Ca}^{2+}$  la nivelul căilor urinare. Prezența cristalelor de oxalat de calciu în urină a fost descoperită în 1838 de Donne, iar ulterior Brignatelli și Wolaston, citați de [1], au menționat prezența oxalatului de calciu în calculii urinari.

Forma cristalelor de oxalați diferă, fiind aplatizate în caz de monohidrat și piramidale în caz de dihidrat. Radiografic sunt opaci și bine conturați. Calculii oxalici sunt mici, rotunzi sau alungiți, uneori cu prelungiri, neregulați. Au culoarea neagră, gri sau albă. Suprafața poate fi rugoasă, aspră și colțuroasă. Rar se întâlnesc calculi oxalici mari sau multipli.

Prezența cristalelor de oxalat de calciu a fost semnalată atât în urina persoanelor sănătoase, cât și în urina litiazicilor. Deci, pentru a se produce o litiază

### 3.4. Specificul metabolic al biogenezei altor urolitiază și spectrele FT-IR 79

oxalică este necesară precipitarea și, consecutiv și conglomerarea cristalelor de oxalat de calciu fapt sesizat și la microscopia electronică [248, 249].

Biogeneza uroconcrementelor cu oxalați se realizează, pe lângă suprasturarea urinei cu oxalat de calciu, și prin intervenția altor factori favorizanți. Există un strâns raport între saturația urinei în oxalat de calciu și cea a inhibitorilor cristalizării din urină, între saturația urinei și modificarea de pH [250,75].

Dishomeostazia oxalaților afectează întregul organism întrucât depunerile litiuzice pot interesa diverse organe și țesuturi. Dintre toate sărurile acidului oxalic numai oxalatul de calciu este implicat în patologie, fiind insolubil. Localizarea la nivelul aparatului reno-urinar poate fi considerată doar un „episod” pentru că depunerea concrețiilor calculoase se poate produce și în alte aparate, țesuturi (e.g. pe traseul unor vase se pot forma fleboliți). Din acest considerent patologia oxalatului poate fi considerată ca o boală a întregului organism „boala oxalică” [8, 251].

La nivelul intestinului subțire oxalații proveniți din alimente se absorb. Procesul este facilitat de mediul alcalin. O parte din aceștia precipită în oxalat de calciu insolubil și deci neabsorbabil. Doar restul de oxalați solubili se absorb prin mucoasa digestivă condiționată de factori locali: e.g. pH, prezența calciului, fierului, fosforului, magneziului, integritatea mucoasei intestinale, tranzitul etc. Intre cantitatea de oxalat ingerată și cea absorbită nu este o strânsă corelație [252, 253, 254].

Există și o seamă de studii referitoare la aportul alimentar de oxalați. O dietă normală de calciu și crescută în oxalat, produce creșterea excreției urinare de oxalat cu 3,6%, în timp ce o dietă săracă în calciu mărește concentrația oxalatului urinar cu 8,1% [156, 255, 256, 257].

Sursele exogene, condiționate de consumul (calitativ și cantitativ) de alimente se află, în majoritatea cazurilor, la originea nivelului oxalemiei și oxaluriei. Aportul alimentar crescut de calciu face ca o parte din oxalații din alimente să formeze săruri la nivel intestinal și să se elimine pe cale digestivă. Prezența în cantități crescute a oxalaților în alimente și, implicit, în excreția urinară poate să conducă spre litiuză oxalice. În cazul oxalaților s-a procedat la trasarea spectrului FT-IR etalon. Pentru aceasta s-a folosit oxalatul de sodiu (fig.3-7).

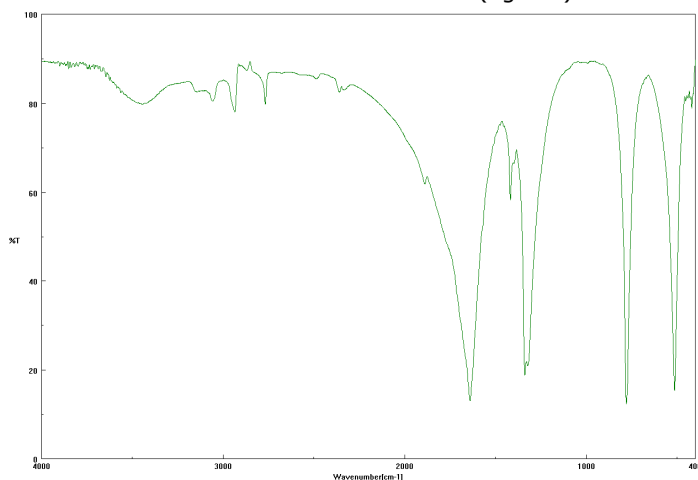


Fig. 3-7. Spectrul etalon al oxalatului de sodiu obținut prin FT-IR

În spectrul FT-IR se disting benzi caracteristice la  $3445\text{ cm}^{-1}$ ,  $3059\text{ cm}^{-1}$ ,  $2936\text{ cm}^{-1}$ . De asemenea, s-au decelat benzi la numere de undă mai mici  $1639\text{ cm}^{-1}$ ,  $1338\text{ cm}^{-1}$ ,  $779\text{ cm}^{-1}$ ,  $512\text{ cm}^{-1}$  ș.a.

Spectrul FT-IR al oxalatului de calciu monohidrat este caracterizat de benzi puternice la  $1622\text{ cm}^{-1}$  și  $1315\text{ cm}^{-1}$  corespunzătoare grupării C-O prin vibrații simetrice sau asimetrice de tip alungire.

În general, benzile de vibrație în care apar peak-uri la numere de undă mai mari de  $3000\text{ cm}^{-1}$ , se datorează moleculelor de apă legate coordinativ de oxalatul de calciu. În cazul prezenței apei de cristalizare se disting peak-uri caracteristice la  $1619\text{ cm}^{-1}$  și  $1316\text{ cm}^{-1}$ .

Experimental, la animale de laborator (șobolani) s-a constatat că cisteina reprezintă, alături de hiperoxalurie, un risc pentru producerea calculozei [258]. Aceste constatări fac o legătură între litiazele oxalică și cistică. Alte studii experimentale întreprinse tot pe animale de laborator (șobolani) au evidențiat riscul produs de glucide (administrare parenteral) pentru urolitogeneza de oxalați de calciu [259,260]. Acest aspect poate fi văzută și din evaluarea căilor biochimice în care intervin glucidele (v.fig.3-6).

Oxalații sintetizați în celule tranzitează în sânge sub forma unor săruri solubile asociați cu citrați și cu ioni metalici (predilect cu  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ) care nu dau săruri cu stabilitate mare. Oxalații din sânge (oxalemia) se situează la valori de 1-4 mg/dL iar din aceștia 60% se află în eritrocite. Cuanumul variază în funcție de alimentație și se reglează prin excreția renală condiționat uneori de hipercalciurie [261].

Oxalații din urină (oxaluria) reprezintă un quantum de 10-40 mg/24 ore predilect sub forma sărurilor solubile de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ . La nivelul aparatului renourinar oxalații se pot combina cu  $\text{Ca}^{2+}$  generând cristale de oxalat de calciu insolubil [262]. Eliminarea renală de oxalați crește progresiv cu vârsta până în perioada de adolescență. La adulți este mai mare la femei comparativ cu bărbații. În condiții normale oxaluria prezintă variații dependente de aportul exogen-alimentar în relație cu absorbția enterică și de aportul endogen – prin sinteza tisulară [263].

### 3.4.3. Urolitiază fosfatică

Urolitiazele cu fosfați se încadrează în grupa așa numitelor "urolitiază anorganice". În calculii cu fosfat se regăsesc structurile anionice  $\text{HPO}_4^{2-}$  și  $\text{PO}_4^{3-}$ . Acest tip de urolitiază a permis evidențierea calculilor cu fosfat de calciu și cu fosfat amoniaco-magnezian. În unele cazuri se disting și calculi în care fosfații sunt cu carbonații și apa fiind de tipul „carbonat apatită” [37, 264, 265].

În continuare se vor prezenta unele particularități ale calculilor fosfatici, menționându-se și denumirile mineralogice preluate datorită similitudinilor de compoziție.

a) *Calculii cu fosfat de calciu*. Se cunosc două subtipuri diferite prin compoziție, cu: a) fosfat de calciu dihidrat (brushit)  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; b) fosfat de calciu bazic (hidroxiapatit)  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Frecvența acestor calculi variază, fiind de 5-10%. Au forme și dimensiuni variabile. Au suprafețe netede sau excrescente. Culoarea diferă: negru, gri și chiar alb.

La originea acestor calculi se pot afla acidoze renale tubulare în care apare hiperkaliemie. În urină s-a decelat hiperfosfaturie, hipercalciurie, hipocitraturie. În 70% din cazuri se formează urolitiază fosfatică [79, 87]. Uneori, în metafiliție, tratamentul cu alcalinizante al urolitiazelor cu acid uric, pot conduce la urolitiază cu fosfați.

### 3.4. Specificul metabolic al biogenezei altor urolitiază și spectrele FT-IR 81

b) *Calculii cu fosfat amoniaco-magnezian (struvit)  $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$* . Au o frecvență de 10%. Poartă și denumirea de „calculi secundari” pentru considerentul că secondează (urmează) infecții reno-urinare grave în care se descompun constituenți chimici din urină și generează acești calculi [79, 265, 266]. Caracteristic este faptul că astfel de calculi se pot forma prin depuneri pe suprafața altor uroconcremente mici (e.g. calcul oxalic) crescând ulterior în volum. Calculii cu struvit au forme variate, suprafață poroasă, consistență moale. Sunt de culoare gri-cenușie.

Remarcabil pentru această calculoză este faptul că după intervenții chirurgicale procentul recidivelor este foarte ridicat. Dezvoltarea uroconcrementelor se produce în urina alcalină la pH 8-9 [247, 264].

Formarea acestor calculi este posibilă (fapt specific, în general, calculilor fosfatici) și în cursul unui tratament alcalinizant pentru „dizolvarea” unui calcul uric. Utilizând doze excesive de medicamente alcalinizante se crează condiții de precipitare a cristalelor de fosfat organo-magnezian care se depun formând o „manta circumscrisă” calculului uric inițial.

c) *Calculi cu combinații de fosfați și carbonați* (numiți calculi cu apatită-carbonat). Astfel de calculi conțin Ca (uneori și Sr), evident anionii fosfat și carbonat și uneori F, Cl, OH. O. Reprezentativă pentru aceste combinații este o formulă folosită în mineralogie :  $(Ca,Sr)_5(PO_4,CO_3)_3(F,Cl,OH)$ . Cristalele sunt transparente până la translucide.

Cu referire la calculii cu fosfați există și cercetări experimentale pe animale de laborator care au urmărit aspecte ale dishomeostaziei fosfaților și modalități de intervenție. Astfel, [267] au urmărit la șobolani efectul magneziului și vitaminei B6 – cu specificul de inhibitori. La pisică [95] au studiat aspecte ale excreției de magneziu și fosfați cu același scop de-a evalua efectul inhibitorilor (v. și Cap.2).

Pentru obținerea unui „spectru FT-IR etalon” la fosfați s-a utilizat fosfatul de amoniu (fig.3-8). Acesta este un compus cu reprezentativitate mai mare.

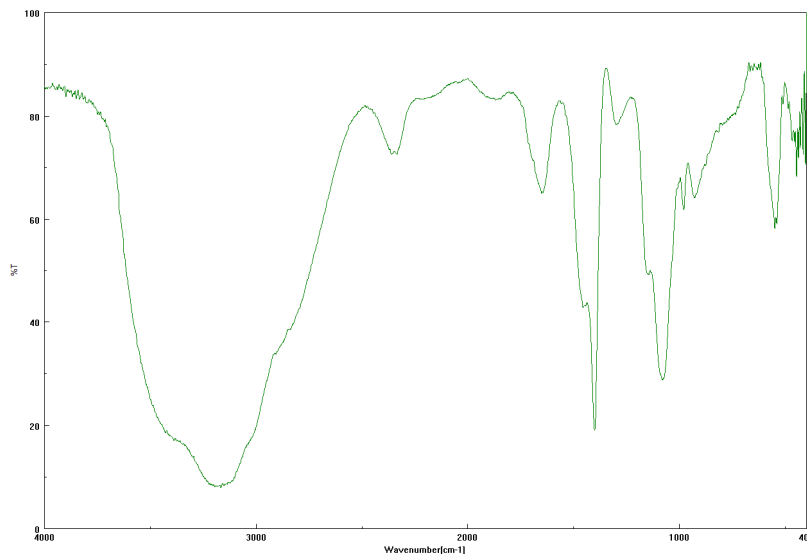


Fig. 3-8. Spectrul etalon al fosfatului de amoniu obținut prin FT-IR



Așa cum s-a arătat în procesul biogenezei pot să apară fosfați de amoniu, de amoniu și magneziu și chiar hidroxiapatita și carbonat apatita [158, 220].

Specific pentru spectrul FT-IR al fosfaților care conțin cationul amoniu ( $\text{NH}_4^+$ ) se disting benzi de vibrație la  $3420\text{ cm}^{-1}$ ,  $1470\text{ cm}^{-1}$ ,  $1430\text{ cm}^{-1}$ ,  $1055\text{ cm}^{-1}$  și  $765\text{ cm}^{-1}$ . Dacă se urmăresc caracteristicile fosfatului acid de calciu, evidențiabile prin spectre FT-IR se distinge prezența unor benzi specifice la  $1130\text{ cm}^{-1}$ ,  $1065\text{ cm}^{-1}$ ,  $995\text{ cm}^{-1}$  și  $890\text{ cm}^{-1}$ . Aceste benzi specifice sunt denumite convențional „benzi de diagnostic” fiind utilizate prioritar în evaluarea compoziției calitative a calculilor. Evident numărul benzilor spectrale este mult mai mare dacă se evaluează în ansamblu.

În cercetările prezentate în această lucrare au fost identificați calculi simpli (cu fosfați) și micști binari (cu fosfați-oxalați) și ternari (fosfați-oxalați-urați).

#### 3.4.4. Urolitiază cistică

Urolitiază cistică este datorată unui defect metabolic ereditar cu transmitere autosomal recesivă, care afectează metabolismul aminoacidului cistina [197; 268; 270]. Frecvența de transmitere a acestei aminoacidopatii (cum se definește în patobiologie) este de 1/20.000. În raport cu alte tipuri de litiază – urolitiază cistică are o frecvență de 1-6% [268].

Această aminoacidopatie ereditară – cistinuria – este consecința unui defect de reabsorbție renală a aminoacidului diaminodicarboxilic cistina. În urină însă apar și alți aminoacizi din aceeași grupă, i.e. lizina, ornitina și arginina (fig.3-9).

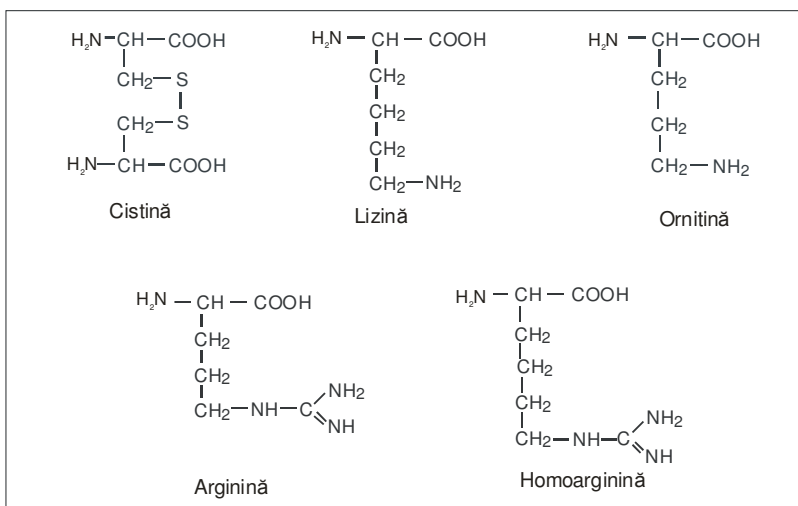


Fig. 3-9. Formule structurale ale aminoacizilor implicați în metabolismul cistinei

În unele cazuri se află un intermediar metabolic homoarginina care se formează din lizină – via homocitrulină [268]. Această cale biochimică prezintă similitudini cu formarea argininei din ornitină – via citrulină.

Calculii cistici sunt de culoare galben-verzui. În marea majoritate a cazurilor pentru prelevare se apelează la mijloace chirurgicale. În puține cazuri sunt eliminați spontan. Radiologic sunt translucizi – cazul litiază simple, sau radioopaci în cazul litiază cistinică mixte.

### 3.4. Specificul metabolic al biogenezei altor urolitiază și spectrele FT-IR 83

Boala debutează în copilărie, astfel că cca 21% din cazuri sunt diagnosticate până la vârsta de 15 ani [173]. Boala afectează în mod egal ambele sexe, dar există un prognostic mai grav la bărbați comparativ cu femeile [269]. Netratată cistinuria conduce la deces prin insuficiență renală.

Date referitoare la distribuția teritorială a urolitiază cistinică relevă frecvențe diferite: în Germania 0,98%, Franța (la Paris) 2,5%, Argentina 3,2%.

În cazul cistinei s-a procedat similar, s-a obținut un "spectru FT-IR" (fig.3-10) utilizând cistina chimic pură. La evaluarea spectrului FR-IR etalon al cistinei, în vederea stabilirii spectrale specifice sau mai precis ale peak-urilor pentru identificare au fost stabilite în domeniul  $3062\text{ cm}^{-1}$ ,  $1618\text{ cm}^{-1}$ ,  $1485\text{ cm}^{-1}$ ,  $848\text{ cm}^{-1}$ .

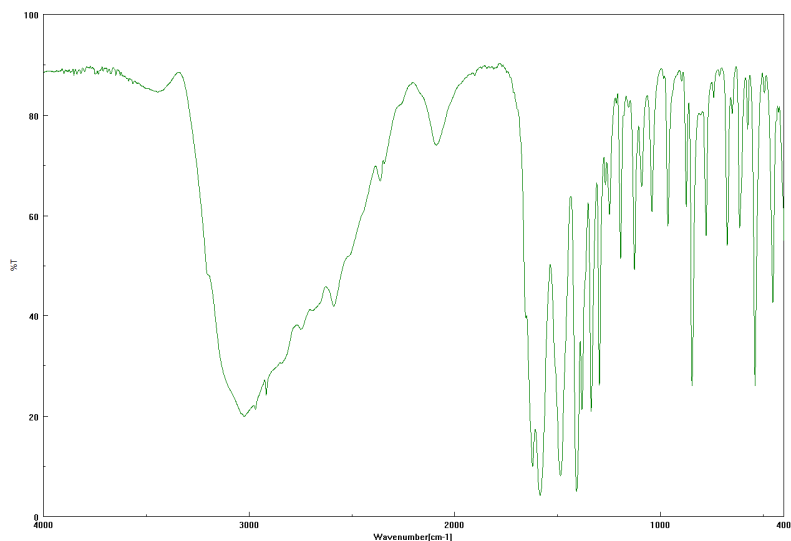


Fig. 3-10. Spectrul etalon al cistinei obținut prin FT-IR

Calculoză cistinice sunt rare, iar la originea acestora se află tulburări metabolice și de transport ale aminoacidului cistina. La baza acestor tulburări se consideră că este o enzimopatie [167, 270]. Adesea sesizarea afecțiunii se face prin diagnosticarea cistinuriei

Profilaxia se bazează pe depistarea precoce a urolitiază cistinică prin urmărirea familiilor pacienților (rudeniilor colaterale) cu cistinurie și instituirea de măsuri dietetice și de tratamente [271]. Metafilaxia în urolitiază cistică se bazează pe tratamente cu penicilamină,  $\alpha$ -mercaptopropionilglicina, tiopronin etc. pentru alcalinizarea urinei [269, 272, 273, 274, 275].

Și în cazul acestei litiază au fost efectuate experimente pe animale (la șobolani) urmărind efectele L-cisteinei [258].

În urina bolnavilor, în cazuri rare, s-au mai decelat și derivați ai aminoacizilor amintiți cum ar fi : disulfat de homocistein-cistină, cistationină și chiar glicină [14, 268].

În formele ușoare ale bolii apare o cistin-lizinurie semnificând creșterea eliminărilor de cistină și lizină. În formele severe, alături de tulburările renale menționate, apare și un defect de transport la nivel intestinal.

La subiecții (pacienții) cu cistinurie s-au mai decelat, în urină, diamine: putesceina și cadaverina. Aceste amine biogene sunt metabolizate de *Escherichia coli* prezentă în urină. Astfel, prin decarboxilare, din ornitină se formează putesceina, iar din lizină se formează cadaverina.

Aspectele fiziopatologice și biochimice arată că cistina este un aminoacid excretat în urină în cantități reduse 15-40 mg/L. Solubilitatea acesteia în urină este de 300-400 mg/L la pH urinar 5-7 [276]. Această constatare a permis explicarea faptului că la homozigoți – unde eliminarea de cistină este de 500-2000 mL/24 ore – apare litiaza cistică, iar la heterozigoți – unde eliminarea este de 300 ml/L - nu există riscul de litiază.

Cistinuria crescută crează condițiile formării sării de calciu care, alături de matricea calculoasă formează un complex insolubil. Un studiu mai extins întreprins de Bostrom și Hambraeus a arătat că : 50% din urolitiile studiate erau cistinice simple, 40% erau cistinice mixte cu oxalat de calciu sau cu fosfați (fosfat de calciu sau fosfat amoniaco-magnezian) și 10% erau urolitiază fără cistină deși pacienții aveau hiperistinurie.

În litiază cistică s-a admis că există o tulburare a procesului de reabsorbție a cistinei și unor aminoacizi diaminocarboxilici, i.e. lizina, ornitina, arginina. De asemenea, există o perturbare a absorbției acestor aminoacizi la nivelul intestinului subțire și prin aceasta și a transportului acestor aminoacizi. Aceste opinii arată că, în ansamblu, problema urolitiază cistică este mai complexă.

### **3.5. TIPURI DE UROLITIAZE DECELANTE PRIN INVESTIGAREA UROCONCREMENTELOR**

#### **3.5.1. Privire sinoptică**

În cazul biomoleculelor și, în general, a compușilor chimici în care coexistă mai multe molecule sau chiar compuși specifici biochimici anorganici absorbția luminii nu poate fi atribuită unor legături interatomice distincte. Această situație se datorează prezenței unor ansamble atomice (vibrații de grup). Problema devine mai complexă în cazul concremenelor litiazice în a căror biogeneză este caracteristică „nucleația heterogenă bioanorganică” ca și procesele de precipitare și coprecipitare.

În analiza biochimică progresele metodologice au condus spre metalomică și spre metaloproteomică. În acest context terminologia chimică s-a adaptat astfel că referitor la formarea de noi specii moleculare se utilizează exprimarea de „speciație bioanorganică” [132]. În această teză problematica abordată face referire, între altele, la «biogeneza uroconcremenelor» în care ne întâlnim cu problema „speciației” amintită mai sus.

După evaluarea spectrelor IR și spectrelor FT-IR obținute pentru uroconcremente s-a putut stabili pentru fiecare caz benzile spectrale cu numărul de undă ( $v^{-1}$ ) caracteristic. Astfel s-au definit tipurile de urolitiază simple și mixte.

În accepția conceptelor patologiei biochimice abordarea problemei urolitogenezei a avut în vedere „nucleația heterogenă bioanorganică” – urmărindu-se uroconcrementele care conțin metaboliți organici și anorganici. Biogeneza uroconcremenelor implică și prezența unei „matrice calculoase” cu aspect fibrilar

### 3.5. Tipuri de urolitiază decelate prin investigarea uroconcrementelor 85

concentric și cu conținut de glicozaminoglicani (mucopolizaharide) și compuși proteicici (gluco- și lipoproteine).

Obținerea spectrelor IR etalon și a spectrelor FT-IR etalon a făcut posibilă constituirea unei baze de date. Ulterior au fost trasate spectre IR și spectre FT-IR pentru fiecare uroconcrement pentru a stabili compoziția chimică calitativă a uroconcrementelor și, în funcție de aceasta, se poate proceda la clasificarea tipurilor de urolitiază, i.e. simple sau mixte (binare și ternare).

Investigațiile analitice întreprinse în cadrul acestei teze au fost efectuate cu ajutorul spectroscopiei în infraroșu și au urmărit identificarea tipurilor de urolitiază. Astfel s-au evidențiat, la un număr de 237 cazuri luate în studiu, 143 cazuri de urolitiază simple și 94 cazuri de urolitiază mixte.

Evaluarea spectrelor înregistrate pentru uroconcremente s-a făcut cu ajutorul "bibliotecii de date" obținute pornind de la spectrele IR și spectrele FT-IR ale substanțelor chimic pure. Rezultatele investigațiilor întreprinse asupra calculilor reno-urinari sunt prezentate în tabelul 3-6.

Tabel 3-6. Sinoptic al tipurilor de urolitiază aflate cu ajutorul spectroscopiei în infraroșu

| Tipul de urolitiază       | Numărul de cazuri |         |       |
|---------------------------|-------------------|---------|-------|
|                           | Total             | Bărbați | Femei |
| Urolitiază simple – total | 143               | 66      | 77    |
| Urolitiază mixte – total  | 94                | 37      | 57    |
| Total general             | 237               | 103     | 134   |

Biogeneza uroconcrementelor are în principal origini metabolice. În acest cadru se includ și tulburările metabolice produse de excesul anumitor compuși chimici (purinici, oxalici, fosfatici etc.) prezenți în alimente.

De asemenea, trebuie menționate perturbările metabolice cauzate de enzimopatii de origine genetică (e.g. în litiaza cu 2,8-dihidroxiadenină – greu decelabilă) și de tulburări morfofuncționale la a căror origine se află malformațiile aparatului reno-urinar. Astfel se poate explica producerea litiazelor simple și mixte.

Majoritatea calculilor nu sunt puri din punct de vedere al compoziției, existând uneori 2-3 componente – având la origine coprecipitarea substanțelor în urma suprasaturației [171, 212, 218, 277, 278, 279]. Într-un studiu special referitor la litiazele mixte, [280] susțin că în unele comunități, condiționat prioritar de alimentație există o cazuistică cu aproximativ 40% din calculi care au mai mult de 3 componente specifice urolitiazelor mixte.

În studiile întreprinse de [281] au fost descoperiți calculi cu 82 de componente. Remarcabil este și faptul că în cazul cercetării compoziției calculilor urinari au fost decelați și compuși farmaceutici [282]. Deci, se sesizează problema xenobioticelor de interes farmaceutic. Deoarece preponderența unui component față de altul poate influența tratamentul pacientului, stabilirea cu acuratețe a metodei de determinare a compoziției a devenit o problemă importantă în studiul urolitiazelor [282].

Reprezentarea grafică a datelor analitice pe tipuri de urolitiază în valori procentuale este redată în fig.3-11.

Se disting valorile corespunzătoare pentru litiaze simple și mixte.

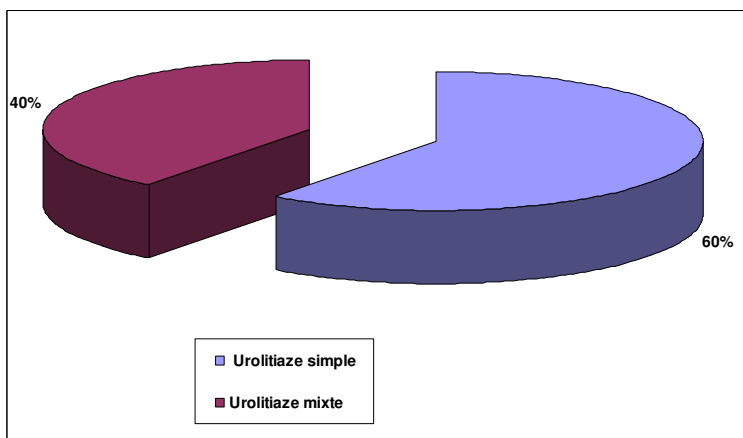


Fig. 3-11. Reprezentarea grafică a tipurilor de urolitiază simple și mixte (distribuția procentuală)

În ultimul deceniu au fost publicate lucrări în care se abordează distinct problema diversității tipurilor de litiaze alături de probleme referitoare la nutriție, interacțiunile chimice specifice biogenezei calculilor, morfologia formațiunilor cristaline, etc. [42, 283, 284, 285, 286]

### 3.5.2. Urolitiază simplă

Evaluarea tipurilor de urolitiază simple comportă o procedură mai facilă. În această categorie s-au inclus cazurile în care investigațiile bazate pe spectre FT-IR au condus la decelarea unui singur compus chimic.

Datele spectrale referitoare la calculi, prin evaluarea spectrelor IR și a spectrelor FT-IR ale acestora, oferă o primă imagine asupra compoziției calitative a acestora. Evaluarea spectrelor FT-IR ale calculilor reno-urinari vizează într-o primă etapă tipurile de urolitiază simple (tabel 3-7). Cazuistica poate să includă diferite tipuri de urolitiază.

Tabel 3-7. Urolitiază simplă decelată pe baza spectrelor în infraroșu

| Tipul de urolitiază       |                                | Numărul de cazuri |         |       |
|---------------------------|--------------------------------|-------------------|---------|-------|
|                           |                                | Total             | Bărbați | Femei |
| Derivați purinici         | urati (U)                      | 48                | 19      | 29    |
|                           | xantină (X)                    | -                 | -       | -     |
|                           | 2,8-dihidroxiadenină (2,8-DHA) | -                 | -       | -     |
| Oxalați (O)               |                                | 51                | 29      | 22    |
| Fosfați (P)               |                                | 38                | 16      | 22    |
| Cistină (C)               |                                | 6                 | 2       | 4     |
| Total – urolitiază simplă |                                | 143               | 66      | 77    |

Dintre tipurile de urolitiază simple întâlnite la subiecții luați în studiu se menționează urolitiază cu oxalați, acid uric-urați, fosfați și cistină. Acestea sunt litiaze cu conținut de substanțe organice și anorganice.

Se poate observa că au fost decelate litiaze simple în 143 cazuri (60,33 % din totalul de litiaze studiate) dintre care : oxalice - O (51 cazuri - 35,68% din totalul de litiaze simple); urice - U (48 cazuri - 33,56 %); fosfatice - P (38 cazuri - 26,57 %), cistinice (6 cazuri - 4,19 %).

Urolitiazele purinice - denumite astfel pentru considerentul că în calculi se pot afla derivații acid uric, i.e. urații, xantina, 2,8-dihidroxiadenina reprezintă metaboliți ai purin-nucleotidelor.

În fig. 3-12 se exemplifică spectrul FT-IR al unui calcul cu acid uric-urați. În cazul urolitiază simple, spectrul FT-IR înregistrat prezintă benzi specifice care corespund unor valori ale lungimii de undă caracteristice uraților (U). Benzile prezintă peak-uri la valorile:  $1026\text{ cm}^{-1}$  - pentru vibrația de tip alungire C-N ;  $3014\text{ cm}^{-1}$  - pentru vibrația de tip alungire N-H și la  $1672\text{ cm}^{-1}$  - pentru vibrația de tip alungire C=O.

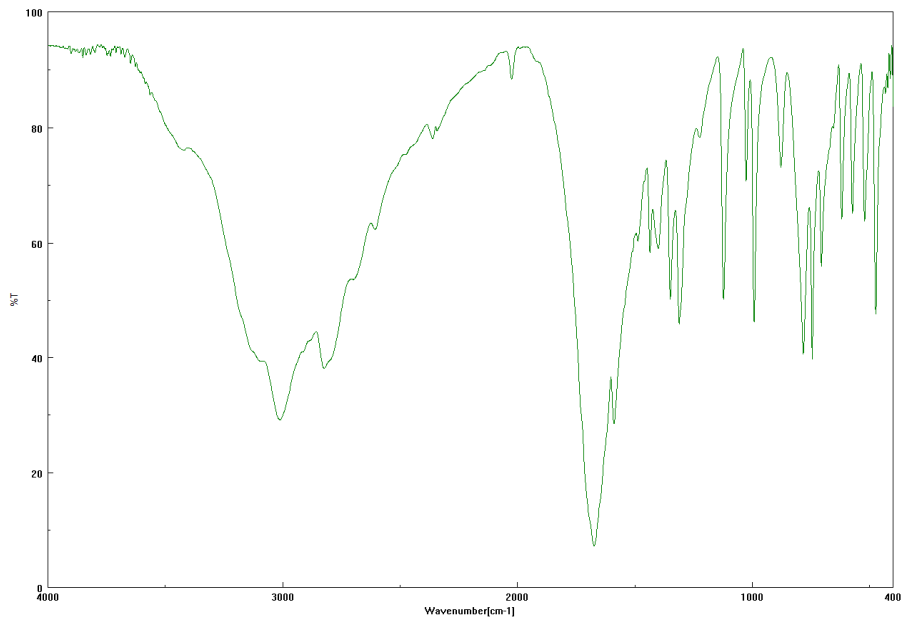


Fig. 3-12. Spectru FT-IR pentru un uroconcrement reprezentând litiaza simplă cu acid uric-urați (U)

La spectrele în infraroșu pentru evaluarea prezenței acidului uric se disting benzi IR standard la  $1637\text{ cm}^{-1}$  pentru C=C cu vibrații de alungire) și la  $1018\text{ cm}^{-1}$  pentru H-H cu vibrații de alungire simetrică. De asemenea, există o bandă standard la  $738\text{ cm}^{-1}$  pentru C-N cu vibrații de tip alungire pentru grupări aromatice [235].

Diferențele între numerele de undă la care s-au decelat vibrații - deși este în discuție doar acidul uric și urații - atestă și prezența altor grupări atomice care pot aparține unor structuri diferite. Faptul că în structura calculilor apare și „matricea

calculoasă” care poate conține glicozaminoglicani dar și glucoproteine și lipoproteine poate oferi o explicație a diferențelor.

Referitor la investigații ale urolitiazelor bazate pe spectre FT-IR și relația nutriție – litiază urică (cunoscută în patobiocimie) se remarcă și rolul xenobioticelor alimentare.

Astfel de cercetări urmărind consumul de alimente procesate în dietă au evidențiat faptul că în cazul laptului praf contaminat cu melamină se pot produce litiaze urice cu compoziție condiționată de prezența acestui xenobiotic. Un astfel de studiu efectuat pe copii, în China, extins pe o perioadă de 10 ani (1999-2009) bazat pe spectre FT-IR a evidențiat prezența de calculi care conțin o mixtură de acid uric dihidrat și acid uric complexat cu amoniu [287]. Astfel de calculi, consideră autorii, pot fi solubili în urina alcalinizată.

Compușii menționați definesc diferitele tipuri de urolitiază simple. Pentru fiecare substanță se are în vedere modurile de vibrație prezente și numărul de undă ( $\nu^{-1}$ ) care caracterizează aceste vibrații. Dintre litiazele purinice cunoscute (posibile la om) la subiecții luați în acest studiu s-au decelat doar litiaza cu acid uric-urați la un număr de 48 cazuri.

În cadrul urolitiazelor, litiaza urică prezintă o frecvență relativ scăzută în comparație cu celelalte tipuri de urolitiază, dar este cea mai crescută dintre litiazele purinice [6, 162]. Majoritatea urolitiazelor cu acid uric rezultă prin precipitarea acidului uric din urina suprasaturată. Urolitiază urică este de cele mai multe ori însoțită de prezența cristalelor de acid uric în sedimentul urinar [139, 288]. Hiperuricemiile primare pot fi determinate de următorii factori: exces de aport în nucleoproteine; intensificarea procesului sintezei de novo a purinelor; eliminarea renală crescută [133, 141, 145, 163, 289].

Acidul uric poate juca un rol important ca inductor (în nucleația heterogenă). Din punct de vedere biochimic subiecții cu calculi de acid uric pot avea nivele normale sau ridicate ale acidului uric sanguin și o excreție a acidului uric normală sau ridicată. Un pH urinar scăzut contribuie la formarea calculilor și este o caracteristică invariabilă a bolii. Concentrația ridicată a acidului uric nedisociat la pH scăzut produce precipitarea și formarea de calculi sau induce cristalizarea sărurilor de Ca și formarea calculilor de oxalat de calciu. Explicația unui pH urinar scăzut rezidă în existența unei concentrații reduse de ioni de amoniu din urină și astfel ionii liberi de hidrogen rămân netamponați [290].

Pentru posibila prezență a unor concremente cu xantină și 2,8-dihidroxiadenină (2,8-DHA) s-a făcut evaluarea spectrelor FT-IR pe baza datelor din „Atlasul cu spectre IR pentru analiza concremenetelor urinare” [210].

La subiecții luați în studiu în cadrul prezentei teze de doctorat nu au fost decelate uroconcremente cu compoziție de xantină și 2,8-dihidroxiadenină.

Evaluarea spectrelor IR și a spectrelor FT-IR pentru alte calculoze simple s-a făcut pornind de la spectrele FT-IR etalon (v. Cap. 3.4.). Nu s-a intrat în detalii întrucât în teză interesează metabolismul purinici – în speță litiazele purinice și metalele prezente în aceștia (v. Cap.4).

Astfel, s-a stabilit că la subiecții luați în studiu există litiaze simple oxalice în 51 din cazuri, fosfatice în 38 de cazuri și cistinice în 6 cazuri. În final totalul cazurilor de litiaze simple s-a ridicat la 143 subiecți. Repartiția acestora pe sexe se poate vedea în tabelul 3-7. Se observă că litiaza oxalică predomină la bărbați, iar litiazele fosfatice și cistinice la femei.

### 3.5.3. Urolitiază mixte

Caracteristic pentru urolitiile mixte este prezența în uroconcrementele luate în studiu a mai multor compuși chimici. În astfel de calculi s-au decelat compuși principali – dominanți sub aspect cantitativ și compuși secundari - aflați în cantități mai scăzute, uneori doar în urme.

În spectrele FT-IR ale uroconcrementelor cu compoziție mixtă s-au remarcat diverse peak-uri nespecifice. Prezența acestor peak-uri poate fi explicată prin fenomenul de nucleație heterogenă urmată de coprecipitarea diferiților compuși litogenici caracteristici tipurilor de litiază (e.g.: urați, oxalați, fosfați etc.) în prezența ionilor metalici. Coprecipitarea se produce pe o „matrice calculoasă”. Existența „matricei” preliminar biogenezei calculilor este cunoscută și acceptată de mult timp. Date mai recente relevă faptul că uroconcrementele se prezintă ca și conglomerate care conțin 97,5% agregat policristalin și 2,5% matrice care include glicoproteine și glicozaminoglicani [291].

Litiază mixte s-au găsit în 94 cazuri (39,66 % din totalul de litiază studiate) din care : binare în 84 cazuri (89,36% din totalul de litiază mixte) și ternare în 10 cazuri (10,64 % din totalul de urolitiază mixte).

Prezența a doi compuși chimici definește litiază binară, e.g. urați-oxalați (U-O), oxalați-urați (O-U) și fosfați-urați (P-U). În cazul a trei constituenți apar litiază ternare, e.g. oxalați-urați-fosfați (O-U-P). Evident, ordinea înserării substanțelor în definirea tipului de urolitiază are în vedere evaluarea calitativă a descreșterii concentrației constituenților. În cazul investigațiilor întreprinse pentru această lucrare distribuția tipurilor de urolitiază, stabilită după spectre IR și FT-IR, este redată în tabelul 3-8.

Urolitiază mixte binare. În cazul cercetărilor întreprinse s-au decelat urolitiază cu oxalați-fosfați (O-P) în 31 cazuri – 36,90 % din totalul de litiază mixte binare; cu oxalați-urați (O-U) în 19 cazuri – 22,61 %; cu oxalați-colesterol (O-COL) în 3 cazuri – 3,57 %; urați-xantină (U-X) în 0 cazuri – 0 %; cu fosfați-oxalați (P-O) în 15 cazuri - 17,85 % și cu fosfați-carbonați (P-CARB) – în 2 cazuri - 2,38 % (raportarea procentuală s-a făcut la numărul de litiază binare).

Tabel 3-8. Urolitiază mixte decelate pe baza spectrelor în infraroșu

| Grupa de litiază         |         | Tipul de urolitiază                  | Numărul de cazuri |         |       |
|--------------------------|---------|--------------------------------------|-------------------|---------|-------|
|                          |         |                                      | Total             | Bărbați | Femei |
| Mixte                    | Binare  | Urați-oxalați (U-O)                  | 9                 | 3       | 6     |
|                          |         | Oxalați-urați (O-U)                  | 19                | 8       | 11    |
|                          |         | Urați-xantină (U-X)                  | -                 | -       | -     |
|                          |         | Fosfați-urați (P-U)                  | 5                 | 2       | 3     |
|                          |         | Oxalați-fosfați (O-P)                | 31                | 13      | 18    |
|                          |         | Oxalați-colesterol (O-COL)           | 3                 | 2       | 1     |
|                          |         | Fosfați-oxalați (P-O)                | 15                | 3       | 12    |
|                          | Ternare | Fosfați-carbonați (P-CARB)           | 2                 | 1       | 1     |
|                          |         | Oxalați-urați-fosfați (O-U-P)        | 8                 | 3       | 5     |
|                          |         | Fosfați-oxalați-carbonați (P-O-CARB) | 2                 | 2       | --    |
| Total – urolitiază mixte |         |                                      | 94                | 37      | 57    |



90 Investigarea tipurilor de urolitiază prin spectroscopia în infraroșu- 3

Urolitiază mixtă ternară. În cazul acestora s-au decelat fosfați-oxalați-carbonați (P-O-CARB) în 2 cazuri și cu oxalați-urați-fosfați (O-U-P) – în 8 cazuri. Procentual aceste grupe reprezintă 20% respectiv 80% din totalul de urolitiază mixtă ternară.

În acest stadiu al investigațiilor nu am avut în vedere concentrația metalelor deși ionii metalici concură la procesele de precipitare/coprecipitare ale compușilor cu caracter anionic sau polaritate negativă din calculi, conform mecanismului nucleației heterogene cu specific bioanorganic în cazul litogenezei.

Am urmărit doar datele referitoare la tipurile de litiază. Ulterior, cu ajutorul spectroscopiei de absorbție atomică (SAA) au fost efectuate și determinări asupra concentrației metalelor prezente în urolitiază.

Valorile procentuale ale distribuției tipurilor de urolitiază mixtă binară și ternară sunt redată grafic în fig.3-13.

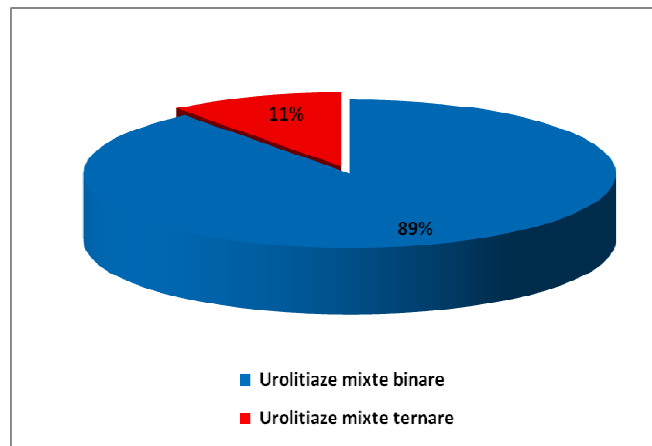


Fig. 3-13. Reprezentarea grafică a tipurilor de urolitiază mixtă binară și ternară

La calculii cu compoziție mixtă binară, spre exemplu, se selectează peak-urile expresive remarcând prezența benzilor spectrale pentru două tipuri de litiază în spectrul FT-IR ale uroconcrementului. Pentru identificarea substanțelor prezente în astfel de amestecuri, e.g.: uroconcremente cu urați-oxalați (U-O), s-a apelat la spectre IR și spectre FT-IR etalon. Cu privire la spectrele FT-IR ale litiazelor mixte binare, în fig.3-14 se prezintă spectrul FT-IR al unui calcul care conține urați și oxalați (U-O).

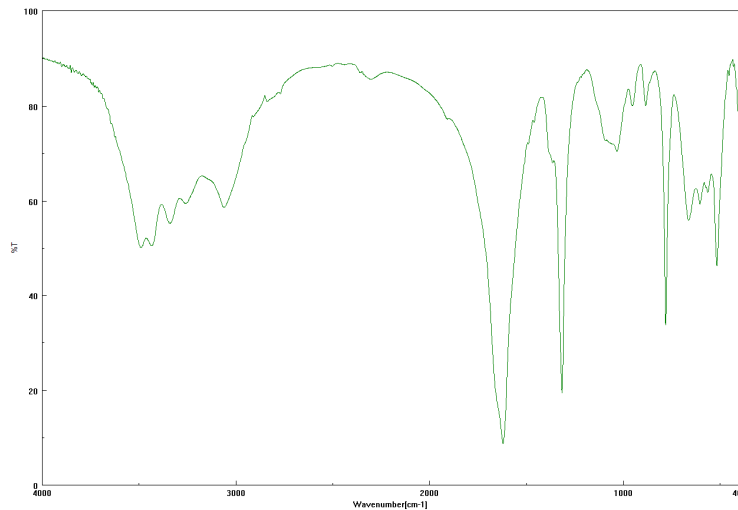


Fig. 3-14. Spectru FT-IR obținut pentru un uroconcrement reprezentând litiaza mixtă cu urați și oxalați (U-O)

În spectrul FT-IR al uroconcrementului se identifică benzile spectrale caracteristice pentru acid uric-urați (menționate mai sus), dar și pentru oxalați, cu peak-urile și tipurile de vibrație caracteristice. Benzile spectrale specifice oxalaților, spre exemplu, sunt:  $1620\text{ cm}^{-1}$  și  $1319\text{ cm}^{-1}$  pentru alungire simetrică și asimetrică C=O,  $781\text{ cm}^{-1}$  pentru deformarea OC=O și  $518\text{ cm}^{-1}$ , pentru vibrațiile în afara planului (rocking) OC=O.

În cazul calculilor micști binari cu urați și oxalați apar benzile IR standard specifice atât pentru acid uric/urați cât și pentru oxalați. Poziționarea benzilor IR pentru acid uric/urați a fost discutată mai sus.

La spectrele în infraroșu pentru oxalat de calciu se disting benzi IR standard la  $1604\text{ cm}^{-1}$  pentru gruparea atomică OC=O cu vibrații de alungire asimetric, la  $1314\text{ cm}^{-1}$  pentru C=C cu vibrații de tip alungire simetrică și la  $778\text{ cm}^{-1}$  pentru C=O cu vibrații de tip alungire asimetrică [235].

În calculii urinari cu compoziție mixtă, acidul uric se află frecvent sub formă de urat monoamoniacal anhidru sau sub formă de urați de sodiu și de calciu etc. De asemenea, poate fi însoțit de fosfat amoniaco-magnezian (struvit) și/sau de oxalat de calciu monohidrat (whewellit). Condițiile în care se formează uratul de monoamoniu diferă în funcție de pH-ul urinar de acelea în care se formează acidul uric. La un pH = 5,75 uratul și acidul uric coexistă în cantități egale, iar la un pH < 5 predomină acidul uric care este mai puțin solubil. Uratul de monoamoniu necesită o excreție ridicată de amoniac pentru ca să fie posibilă precipitarea. Situația aceasta se poate întâlni în cazul unei infecții la nivelul aparatului reno-urinar. Procesul poate fi însoțit de hiperuricozurie. În cazul infecțiilor pH-ul poate crește la valori mai mari de 7.

Spectroscopia IR a fost folosită pentru analiza diferiților constituenți a acestor calculi heterogeni. Banda spectrală medie la  $600\text{ cm}^{-1}$ , precum și benzile benzile din domeniul  $1600 - 1250\text{ cm}^{-1}$ , pot fi folosite pentru diferențierea dintre urat de amoniu și acid uric [220].

Într-un studiu [228] au aflat urat de amoniu în 2% din calculii analizați, remarcând faptul că doar în câțiva calculi acest compus există ca și component unic. Acești autori au mai constatat că uneori calculul poate avea un „nucleu” de oxalați

## 92 Investigarea tipurilor de urolitiază prin spectroscopia în infraroșu- 3

care este „placat”, având la suprafață urat monosodic sau acid uric. În spectrele IR s-au aflat benzi spectrale la  $3600\text{ cm}^{-1}$  și la  $1740\text{ cm}^{-1}$  (benzi caracteristice apei) și benzi spectrale la  $1613\text{ cm}^{-1}$ ,  $1532\text{ cm}^{-1}$ ,  $1432\text{ cm}^{-1}$ ,  $1385\text{ cm}^{-1}$ ,  $1352\text{ cm}^{-1}$ ,  $1260\text{ cm}^{-1}$ , care pot fi folosite pentru a face distincția. Majoritatea uraților investigați nu sunt săruri stoichiometrice.

Se prezintă, în continuare, spectrul FT-IR al unui uroconcrement cu urați și fosfați – fig.3-15.

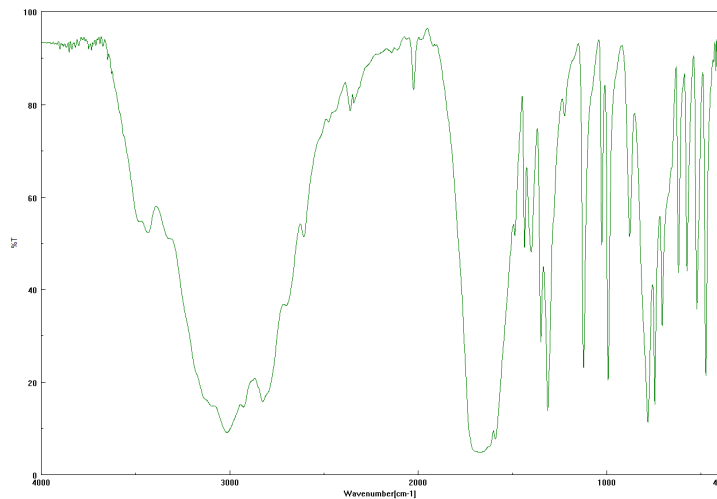


Fig. 3-15. Spectru FT-IR al unui uroconcrement reprezentând litiaza mixtă cu urați și fosfați (U-P)

Pentru calculul cu urați și fosfați se disting benzile IR standard caracteristice pentru acid uric/urați prezentate mai sus. De asemenea, apar benzile IR standard distincte pentru fosfați.

O caracterizare a prezenței fosfaților, luând în considerație predilect fosfatul de magneziu și amoniu se disting, ca și în cazul altor compuși, benzi IR standard. Caracteristice sunt benzile IR standard de la  $2362\text{ cm}^{-1}$  pentru N-H și C-H la vibrații de tip alungire. De asemenea, la  $1469\text{ cm}^{-1}$  pentru  $\text{NH}_4^+$  apar vibrații de tip deformare simetrică și de la  $970\text{ cm}^{-1}$  pentru P-O-C apar vibrații de tip alungire alifatic [220].

Cu referire la urați, în cazul câinilor, [172] au analizat 741 calculi urinari și, în unele cazuri, au identificat alături de uratul monoamoniacal, urat monosodic și monopotasic, precum și urat de calciu. Studii ulterioare prin SIR și analiza cu raze X asupra 171 calculi prelevați de la carasiere (canine și feline) au relevat că prezența uratului de potasiu este mai frecventă în unele zone geografice, depășind numeric cazuistica întâlnită la oameni.

Această observație, referitoare la carasiere, este importantă din punct de vedere nutrițional. Se cunoaște faptul că cercetări efectuate pe animale permit translatarea informațiilor și înțelegerea aspectelor de fiziologia digestiei și nutriție la

### 3.6. Implicarea compușilor atipici pentru investigarea tipurilor de urolitiază 93

om. Consumul de alimente bogate în purine (e.g. carne, cacao, heringi etc.) facilitează apariția litiazelor urice ( în general a litiazelor purinice).

Cercetări efectuate pe calculi renali de la om de către [292] au prezentat date legate de apariția uraților complecși nonstoechiometrici care conțineau doi sau mai mulți cationi nelipsind amoniul și sodiul, precum și acidul uric liber.

Într-un studiu [142] au observat că oligoelementele, chiar și în concentrații foarte mici, peste limitele fiziologice caracteristice pentru în sânge și/sau urină, influențează procesul de cristalizare mai intens în cazul fosfaților.

Investigațiile asupra urolitiazelor întreprinse de [30] conțin și o statistică efectuată pe un eșantion de 323 pacienți (99 femei și 224 bărbați) privind compoziția calitativă a uroconcrementelor. Datele relevă faptul că urolitiazele sunt: mai frecvente la bărbați decât la femei; în cazul ambelor sexe predomină urolitiazele cu oxalați; bărbații dezvoltă mai frecvent urolitiază mixte; la femei urolitiazele cu fosfați sunt mai frecvente, iar la bărbați cele cu acid uric.

Cu privire la cercetările privind spectroscopia IR, aplicată la studii litiazelor, pentru analiza calitativă în serii foarte mari s-a propus constituirea unei „curbe de calibrare” care ar permite evaluarea peak-urilor și la estimarea componentelor prevalente [280].

Un studiu de anvergură, cu caracter epidemiologic, efectuat în Germania pentru perioada 1977-2006 pe un număr de 224.085 calculi a evaluat compoziția acestora și distribuția pe sexe și pe vârstă [4]. Se menționează că doar sistematizarea datelor a necesitat 5 ani. Rezultatele obținute au evidențiat că raportul cazurilor la bărbați și femei a crescut de la 1,86:1 (1977) la 2,7:1 (2006). Procentul bărbaților a fost chiar mai mare la pacienți mai în vârstă, cu un raport de 3,13:1 pentru intervalul 60-69 ani. Începând cu anul 1997 a apărut tendința unei incidențe crescute pe intervalul de vârstă 40-49 ani. În timp ce rata calculilor de natură infecțioasă a scăzut constant, incidența calculilor cu acid uric a rămas constantă cu un procent de 11,7% la bărbați și 7,0% la femei, cu extrema la vârste înaintate. Calculii cu acid uric au fost frecvent depistați în zonele estice și sudice ale Germaniei. Variațiile regionale subliniază influența modului de viață și a regimului alimentar.

În regiunea de nord-est a Spaniei, [293] au studiat epidemiologia, compoziția și recurența calculilor eliminați spontan sau extrași chirurgical pe o perioadă de 3 ani. Raportul incidenței calculilor la bărbați și femei a fost 3:1; au prevalat calculii cu oxalat de calciu (64,8%), urmau calculii cu acid uric (25,3%), micști (5,3%) și calculi cu fosfați (4,3%). Recurența cea mai mare o aveau calculii cu acid uric (50%). Aceste rezultate sunt similare celor prezentate în lucrări anterioare ale acestor autori.

Investigarea compoziției chimice calitative cu ajutorul spectrelor IR și FT-IR este de interes pentru afecțiunile calculoase renale. Relativ ușor de efectuat, beneficiind de o anumită expeditivitate, spectrele FT-IR oferă informații fără ambiguitate asupra compoziției calculilor [294, 295].

## **3.6. IMPLICAREA COMPUȘILOR CHIMICI ATIPICI PENTRU INVESTIGAREA TIPURILOR DE LITIAZE**

### **3.6.1. Date sinoptice**

Așa cum s-au prezentat datele de mai sus, în compoziția uroconcrementelor s-au decelat „compuși specifici” pentru diversele tipuri de litiaze, e.g. urați, fosfați, oxalați, cistină, carbonați. Aceștia sunt salifiați cu diverși ioni metalici ( $M^{n+}$ ) și (în unele

cazuri) cu cationul amoniu ( $\text{NH}_4^+$ ). Astfel de compuși definatorii pentru litiaze, concurează la procesul de nucleație heterogenă. Pentru investigarea acestora s-au utilizat diverse metode chimice (volumetria, gravimetria) și fizico-chimice (spectroscopia în infraroșu, spectroscopia Raman, spectroscopia de absorbție atomică etc.).

Alături de acești compuși în soluția metastabilă (reprezentată de excreția urinară), dar și în uroconcremente se pot afla „compuși nespecifici” sau „compuși atipici” pentru litiaze. În această categorie se includ diverse substanțe reprezentate de : a) modulatori chimici litiatici-prezenți ca promotori ( $\alpha$ ) și inhibitori ( $\beta$ ) formați în organism ca metaboliți care coexistă cu precursorii litiatici; b) matricea litiatică – constituită din anumite proteine sau chiar glicoproteine care se stabilizează (în cursul biogenezei calculilor) odată cu compușii specifici menționați mai sus.

În investigarea tipurilor de litiaze prin spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier (FT-IR) se impune definirea riguroasă a benzilor pentru compușii „specificali” („tipicali”) pentru litiazele cunoscute, i.e. urică, oxalică, fosfatică, cistică (simple și mixte). Evaluarea benzilor se face cât mai riguros spre a se evita posibile erori datorate prezenței unor compuși „nespecificicali” („atipicali”).

Astfel de compuși chimici „nespecificicali” sau „atipicali” pentru litiaze pot fi incluși în două categorii (grupe) în funcție de rolul fizico-chimic al acestora în inițierea procesului de „biogeneză litiatică” – prin atributele de „modulatori chimicali” (inhibitori și promotori) respectiv de „matricea calculoasă” – cu rol de suport pentru formațiunile calculoase.

Compușii chimicali nespecificicali prezenți în urină - ca într-o soluție metastabilă - care conține o mixtură de ioni [296] pot participa la formarea nucleelor de cristalizare, la creșterea și agregarea microconcremențelor litiatiche [297, 298, 299].

Compușii atipicali din mediul metastabil urinar concură la procesul de „nucleație heterogenă” alături de compuși organicali și anorganicali de proveniență exogenă (alimentară) și endogenă (metabolică). Astfel, încă din prima etapă, reprezentată de formarea nucleelor de cristalizare, biogeneza litiatică este influențată de prezența diverselor substanțe în produsul de excreție renală [299, 300].

### **3.6.2. Modulatori chimicali în biogeneza litiacelor**

Prezența numeroaselor substanțe cu atributul de modulatori chimicali (inhibitori sau promotori), ca și compuși reziduali în concremențele calculoase poate impiedica asupra investigațiilor bazate pe spectroscopia în FT-IR pentru definirea tipurilor de litiaze.

În spectrele specifice uroconcremențelor pot să apară, în măsură redusă, benzi atipice datorate modulatorilor chimicali sau chiar matricei litiatiche. Se pare că explicația acestor diferențe poate fi dată de varietatea benzilor spectrale din spectrele FT-IR. Incercarea de diferențiere făcută de [220] poate fi explicată de aceste diferențe care au condus la departajarea în „benzi spectrale principale” și „benzi de diagnostic”. Se poate conchide că acestea din urmă aparțin compușilor chimicali specifici (tipicali) pentru urolitiază. Aprofundarea studiilor asupra substanțelor prezente în urină care conferă acestora caracter metastabil, limitând sau accelerând procesul de cristalizare, a condus la definirea a două tipuri de compuși: ( $\alpha$ ) inhibitori și ( $\beta$ ) promotori [301, 302].

#### **3.6.2.1. Prezentare generală**

Sub aspect fiziologic și biochimic excreția renală asigură eliminarea urinei sub forma unei „soluții metastabile” în care se află diverși metaboliți organicali și

### 3.6. Implicarea compușilor atipici pentru investigarea tipurilor de urolitiază 95

anorganici. În anumite circumstanțe această soluție poate ajunge în stare de „suprasaturare”, situație în care coexistă numeroși ioni (metalici / nemetalici) sau molecule organice care afectează solubilitatea.

Procesul de cristalizare a componentelor din urina suprasaturată și formarea concrețiilor solide pot fi modificate prin activitatea promotorilor și inhibitorilor dar și prin acțiunea unor factori morfofiziologici, alimentari și/sau ai mediului înconjurător [190, 284].

O prezentare sistematizată a compușilor cu rol de inhibitori și promotori se redă în tabelul 3-9 (după [296] – modificat).

Tabel 3-9. Modulatori ai procesului de cristalizare pentru uroconcremente

| Specificare      | Inhibitori                | Promotori                          |
|------------------|---------------------------|------------------------------------|
| Anorganici       | Citrat anorganic          | Oxalat anorganic                   |
|                  | Magneziu                  | Calciu                             |
|                  | Pirofosfat                | Sodiu                              |
| Organici         | Glicozaminoglicani        | Urați                              |
|                  | Proteina Tamm-Horsfall    |                                    |
|                  | Protrombina urinară       |                                    |
|                  | Osteopontină (Uropontină) | Proteina Tamm-Horsfall             |
|                  | Litostatina renală        |                                    |
| Nefrocalcina     |                           |                                    |
| Excreția urinară | Volum urinar crescut      | Volum urinar scăzut (la pH scăzut) |

Se remarcă faptul că inhibitorii și promotorii procesului de urolitogeneză pot fi compuși anorganici și/sau anorganici. Excreția renală însăși prin „volumul urinar” - în funcție de cuantum - poate fi considerată inhibitor (la volum crescut) sau promotor la volum scăzut.

Formarea uroconcrementelor se realizează (exceptând compușii tipici) în prezența concomitentă a modulatorilor care intervin în acest proces. Factorul etiologic esențial în formarea calculilor este saturația urinei și produsul de solubilitate la care se inițiază procesul de cristalizare [297, 303].

Cristalizarea sărurilor care stau la baza formării calculilor se datorează unei compoziții anormale a urinei în care abundă promotorii ai cristalizării care sunt totodată compuși specifici litiazelor (e.g. oxalat, acid uric, calciu) sau inhibitori care sunt în deficit (e.g. citrat, glicozaminoglicani, uropontină etc.) .

În tabelul 3-10 se prezintă sub aspect fiziologic și biochimic relația între mecanismul biogenezei uroconcrementelor și mediatorii care se află la originea acestora.

Tabel 3-10. Mecanisme și mediatori specifici în biogeneza uroconcrementelor [300]

| Mecanismul biogenezei concrementelor litiazice | Mediatori specifici (în succesiunea etapelor specifice) |
|--|---|
| Saturație /supersaturație                      | Obiceiuri alimentare / anomalități genetice             |
| Cristalizare                                   | Inhibitori / promotori                                  |
| Retenție de cristale                           | Mărime cristale / aderență /                            |
| Formare de calculi                             | Retenție continuă de cristale                           |

Stările de saturație ale soluțiilor sunt determinate de concentrațiile ionilor din compoziția acestora.

### **3.6.2.2. Inhibitori ai biogenezei litiazelor**

#### **A. Inhibitori anorganici**

Inhibitorii - sunt moleculele care scad concentrația urinei ca mediu instabil evitând inițierea nucleației, micșorează creșterea cristalelor, agregarea, aderența cristalelor pe epiteliul renal și, de asemenea, inhibă nucleația secundară pe cristale pre-existente. Acționează prin absorbție la suprafața cristalelor, interferează cu rețeaua cristalină inhibând nucleația, creșterea și agregarea [304]. Dintre moleculele organice se menționează glicozaminoglicanii, osteopontina, iar dintre moleculele anorganice citratul sau ionii de magneziu.

Efectele inhibitorilor asupra formării calculilor au fost studiate predilect pe calculi cu oxalat de calciu. Mecanismul de acțiune al inhibitorilor nu este pe deplin cunoscut.

1. Citratul anorganic - provine din acidul tricarbolic care circulă în sânge salifiat cu calciu, magneziu și sodiu la un pH fiziologic de 7,4. Provine din surse endogene (ciclul Krebs) sau din surse exogene (alimente). Este inhibitor pentru oxalatul de calciu și fosfați. Efectele inhibitoare ale citraților și al magneziului au fost studiate de [304] în raport cu hipercalciuria și hiperuricozuria. De asemenea, poate reduce valoarea osteopontinei - componentă importantă a matricei proteice a calculilor [298].

Acțiunea terapeutică a citratului în urolitiază oxalică se atribuie depleției ionilor liberi de calciu prin complexarea acestora cu citrat. Se formează un complex calciu-citrat-fosfat dependent de valoarea pH-ului, care reduce concentrația ionilor de calciu liberi, așadar reduce riscul formării de calculi.

2. Magneziul - poate forma complecși cu oxalații scăzând astfel suprasaturația. Spre deosebire de calciu, care este tot un ion divalent, formează compuși solubili cu calciu și oxalatul și determină reducerea activității produsului ionic [299].

3. Pirofosfatul - inhibă creșterea cristalelor și chiar agregarea. Nivelurile urinare normale sunt teoretic suficiente pentru a inhiba cristalizarea oxalatului de calciu și fosfatului de calciu.

Compuși precum citratul și fosfatul formează săruri cu calciu, iar magneziul și sodiul formează săruri cu oxalații, reducând efectiv concentrația ionică liberă a acestora.

#### **B. Inhibitori organici**

1. Glicozaminoglicani (GAG) cunoscuți și cu denumirea veche de mucopoliglucide - sunt compuși macromoleculari care conțin ozamine (aminoglucide), prezenți obișnuit în țesutul conjunctiv și epitelial. Polianionii GAG, excretați în urină, sunt prezenți și în matricea calculoasă. Au capacitatea de a inhiba creșterea și agregarea cristalelor de oxalat de calciu prin blocarea situsurilor de creștere. Previn adeziunea cristalelor pe celulele uroteliului renal lezat.

2. Proteina Tamm-Horsfall (THP) - este cea mai abundentă glicoproteină din urină cu rol dual de inhibitor și promotor [305]. Este sintetizată și secretată de celulele epiteliale ale brațului ascendent al ansei Henle. În condiții de pH urinar crescut, forță ionică scăzută, concentrație scăzută de ioni divalenti acționează ca inhibitori [307, 314]. Studiul acestei proteine s-a făcut și experimental pe animale de laborator [308].

3. Protrombina urinară - este un inhibitor al creșterii, agregării și aderenței cristalelor de oxalat de calciu. Se sintetizează în proximitatea calculilor renali. Fiind parte a matricei organice, permite evidențierea rolului proteinelor de coagulare în formarea calculilor.

### 3.6. Implicarea compușilor atipici pentru investigarea tipurilor de urolitiază 97

4. Osteopontina (uropontina) – este o proteină bogată în acid aspartic care inhibă nucleația, creșterea și agregarea cristalelor de oxalat de calciu în soluție suprasaturată. Este sintetizată în rinichi și prezentă în urină la nivele în exces de 100 nM. Este o componentă dominantă și în matricea organică a calculilor de oxalat de calciu [305].

5. Litostatina renală – este o proteină a secreției pancreatice, inhibitor urinar al creșterii cristalelor de oxalat de calciu.

6. Nefrocalcina – este o polipeptidă cu origine în tubulii renali, formată din 110 resturi de aminoacizi, din care 25% conținut de acid glutamic și acid aspartic. Nefrocalcina mai conține două molecule de cisteină și trei molecule de acid  $\gamma$ -carboxiglutamic care participă la procesul de inhibare a nucleației, cristalizării și agregării calculilor cu oxalat de calciu. Este produsă în rinichi de tubul proximal și ramura ascendentă a ansei Henle.

#### **C. Volum urinar crescut**

Indică un flux urinar crescut și este unul din cei mai importanți inhibitori ai formării calculilor.

Înțelegerea rolului inhibitorilor în procesul de formare a uroconcrementelor este complicată deoarece studiile au fost efectuate in vitro. Nu există un model universal acceptat al măsurării gradului de inhibare nici pentru stabilirea punctului critic din creșterea unui cristal la care activitatea de inhibare este efectivă.

Proteinele, spre exemplu, pot fi inhibitori într-o anumită fază a cristalizării, pot deveni inactive sau chiar promotori în alte faze. Implicarea renală a inhibitorilor proteici va putea fi stabilită dacă se identifică genele care codează aceste proteine și se vor efectua studii pe animale transgenice.

#### **3.6.2.3. Promotori ai biogenezei litiazelor**

Promotorii - facilitează formarea calculilor. Se exemplifică volumul urinar scăzut, pH-ul urinar scăzut, prezența în cantități mari de calciu, sodiu, oxalați, urați. În biogeneza uroconcrementelor suprafața celulelor renale, „debris-urile” celulare sau agregatele proteice pot constitui situri de agregare. Răspunsul celular față de cristalele nou formate și factorii care modulează interacțiunile cristale-perete celular pot stimula inițierea calculilor. Injuria celulară este un important promotor al dezvoltării concrementelor.

#### **A. Promotori anorganici**

1. Oxalat anorganic – provine în mare parte din aportul exogen alimentar, dar rezultă și din procesele metabolice (Grases et al., 1998; Gupta et al., 2011): transportul membranal al globulelor roșii, epitelul celular și celulele tubului proximal.

2. Calciu – conform „teoriei matriceale” proteinele urinare și concentrația calciului au importanță majoră în formarea calculilor. Uromucoidul de exemplu, activează procesul inițial de cristalizare prin legarea calciului

3. Sodiu – bioelement cu distribuție predilectă în compartimentul extracelular. Intervine în reglarea echilibrului acido-bazic, a presiunii osmotice a fenomenelor de polarizare/depolarizare la nivelul membranelor celulare. De asemenea, intervine în reabsorbția tubulară (renală) a apei și retenția acesteia în organism. În litogeneză acționează ca promotor.



**B. Promotori organici**

În condiții bine stabilite, proteinele urinare leagă calciul și pot produce calcifieri in vitro. Proteina Tamm-Horsfall (THP) - poate fi promotor al agregării dacă soluția are pH scăzut, concentrație ridicată de ioni de  $\text{Ca}^{2+}$  și de  $\text{H}^+$  (deci la pH mai acid).

**C. Volum urinar scăzut**

Volumul urinar scăzut și pH-ul scăzut conferă proprietatea de promotor. Acidul uric poate precipita în urina acidă chiar și în absența hiperuricemiei sau hiperuricozuriei. De asemenea, acidul uric poate cauza precipitarea oxalatului de calciu fără a fi încorporat în cristale. Măsurarea pH-ului este de mare importanță [300].

**3.6.3. Matricea calculoasă în biogeneza litiazelor**

Matricea litiatică sau matricea calculoasă (numită uneori simplu matrix) se constituie ca un suport bioanorganic la nivelul căruia se produce nucleația heterogenă. Compușii precursori se formează la nivelul sistemului colector renal. Sub raport morfologic în cazul matricei calculoase se disting detritusuri celulare (fibroase și laminare), rezidii bioactive și material cristalin [309, 291]. Sub aspectul compoziției s-au identificat proteine, mucoproteine (glicozaminoglicani) etc. S-a considerat că formarea matricei este, în general, consecința unui proces inflamator (de natură defensivă). Terminologia și detaliile de compoziție s-au concretizat mai mult odată cu dezvoltarea în ultimii ani a analizelor fizico-chimice în proteomică [298, 310].

Substanțele decelate diferă mult ca și compoziție. Între acestea, prin electroforeza în gel de poliacrilamidă, s-au izolat: albumina serică,  $\alpha_1$ -glicoproteina,  $\alpha_1$ -microglobulina,  $\beta_2$ -microglobulina, apolipoproteina  $A_1$ , transferina,  $\alpha_1$ -antitripsina, o retinol-proteină, litostatină ș.a. [298].

Date mai recente, bazate pe electroforeză și spectroscopia de masă au condus la decelarea unui „matrix proteomic”, în care s-au definit tipurile de compuși caracterizați prin standardizarea maselor moleculare specifice. Astfel s-au izolat grupuri de compuși proteomici, e.g.: a) osteopontina cu proteina Z-vitamin K dependentă și serumalbumina la 50-70 kDa; b) osteopontina cu proteina Z-vitamin K dependentă la cca 37 kDa; c) protrombina – fragmente la  $\approx$  30 kDa; d) osteopontina liberă la 20-25 kDa [310].

Natura compușilor prezenți în matricea litiatică este insuficient cunoscută. O evaluare a compoziției acestora ar fi posibilă prin analiza de secvențe de aminoacizi. Prea complexă, specifică biologiei moleculare, această analiză ar putea aduce date concludente privind compoziția catenei polipeptidice. Însă această analiză nu oferă date general valabile pentru definirea matricei, fapt explicabil prin diferențele de compoziție a lanțurilor polipeptidice la originea cărora se află atât aportul exogen (nutrienți) mereu diferit, cât și aportul endogen (metaboliți, produși reziduali din microorganisme, xenobiotice etc.).

În această situație trebuie acceptat, ab initio, faptul că pentru investigarea compoziției chimice calitative a uroconcrementelor, deci stabilirea « tipului de litiază » prin spectroscopia FT-IR, se impune definirea unui cadru general al grupelor de vibrații pentru un anumit tip de litiază. Prezența compușilor chimici atipici pentru litiaze (modulatori chimici și matricea litiatică) explică de la sine necesitatea unei distincții între benzile de vibrație ale spectrelor FT-IR pentru uroconcremente [220]. Este maniera în care s-au putut stabili repere mai riguroase pentru facilitarea interpretării spectrelor FT-IR ale uroconcrementelor luate în studiu.

## **4. INVESTIGAREA COMPOZIȚIEI UROCONCREMENTELOR PURINICE PRIN SPECTROSCOPIA DE ABSORBȚIE ATOMICĂ - METALOGrame**

### **4.1. CONSIDERATII GENERALE**

Determinarea concentrației metalelor din uroconcrementele litiuzice poate contribui la înțelegerea și explicitarea mecanismului «nucleației heterogene bioanorganice» în procesul de urolitogeneză la care concură metaboliți organici și anorganici. De asemenea, astfel de investigații s-au dovedit utile în orientarea conduitei clinice în terapia, metafilaxia și profilaxia afecțiunilor litiuzice reno-urinare.

Studiul rolului și importanței ionilor metalici în biogeneza uroconcrementelor în fazele de precipitare și coprecipitare cu formare de microcristale, cristale, microcalculi și, în final, depuneri sub formă de uroconcremente – ca etapele litogenezei – suscită un real interes teoretic și aplicativ în biochimie și patobiochimie.

Utilizarea fenomenului de absorbție atomică ca o posibilă aplicație spectrochimică pentru determinări cantitative ale metalelor a fost demonstrat de către [311]. Fenomenul în sine a fost sesizat încă din 1859 de către Kirchoff și Bunsen la studiul liniilor de absorbție din spectrul solar. Dezvoltarea tehnicilor de spectroscopie de absorbție atomică (SAA) a permis extinderea aplicațiilor acestora în domeniul biologiei și medicinei și agriculturii în deceniile 1970-1990 [312, 313, 314; 315]. Și azi metoda continuă să ocupe un loc de vârf în domeniul chimiei clinice, al patobiochimiei și fiziopatologiei dismineralozelor [24, 309, 316, 317, 318, 319, ].

În domeniul biomedical, în chimia clinică, spectroscopia de absorbție atomică a fost aplicată prima dată în 1959 pentru determinarea magneziului seric [320]. Ulterior s-au dezvoltat tehnicile pentru analiza a numeroase metale din materiale biologice [321, 322, 323].

Emisia și absorbția radiațiilor ca procese spectrochimice sunt caracterizate prin tranziții spectrale realizate între un nivel energetic fundamental (de bază) cu energia  $E_b$  și un nivel energetic superior cu energia  $E_h$ . Tranzițiile emisie-absorbție stau la baza metodelor spectroscopice utilizate în domeniul analitic. Astfel, spectrometria de emisie atomică (SEA) se bazează pe măsurarea emisie rezultate ca urmare a revenirii electronului excitat ( $E_h \rightarrow E_b$ ) de pe un nivel energetic superior pe nivelul energetic fundamental.

Spre deosebire de aceasta, spectrometria de absorbție atomică (SAA) implică măsurarea absorbției rezultate în urma trecerii unui fascicul produs de lampa cu catod craterizat cu tranzitul  $E_b \rightarrow E_h$  caracteristic pentru banda de rezonanță a elementului studiat (nivelul fundamental).

Discutând aspectele teoretice și aplicative specifice spectrometriei de absorbție atomică, proprietățile de emisie și absorbție sunt, într-un anumit sens, complementare. Diferența rezidă în faptul că la emisie este necesară o energie de excitație prealabilă pentru trecerea atomului într-o stare de tranziție superioară - fenomen de bază în spectroscopia de emisie. Dimpotrivă, trecerea atomului pe un nivel

energetic inferior nu necesită energie de excitație - fenomen caracteristic spectroscopiei de absorbție atomică. Aceste considerente explică interesul crescut pentru metoda de SAA, comparativ cu metoda prin SEA.

În practica analitică determinările prin SAA implică măsurarea absorbției radiației în vaporii atomici produși de probă la o lungime de undă ( $\lambda$ ) specifică elementului respectiv.

## **4.2. APLICAȚII ALE SPECTROSCOPIEI DE ABSORBȚIE ATOMICĂ ÎN CERCETAREA UROLITIAZELOR**

### **4.2.1. Specificul spectroscopiei de absorbție atomică**

Inițial s-a procedat la decelarea compoziției calitative a calculilor efectuată cu ajutorul spectroscopiei în infraroșu clasice (IR) sau cu transformare Fourier (FT-IR) – a permis caracterizarea tipurilor de urolitiază. Astfel s-au decelat diverse litiază simple, e.g. urică, oxalică etc. și respectiv litiază mixte, e.g. cu urați-oxalați, cu urați-fosfați etc. În continuare obiectul prezentului studiu a fost investigația compoziției metalice în cazul urolitiazelor purinice, în speță urolitiază urică simplă și formele mixte ale acesteia, cu ajutorul spectroscopiei de absorbție atomică (SAA).

Sub aspect metodologic spectroscopia de absorbție atomică reprezintă o metodă fizico-chimică de determinare a concentrației unui element dintr-o probă, prin măsurarea absorbției atomilor vaporizați. Măsurarea se face la o lungime de undă specifică pentru fiecare element luat în studiu [324, 325].

Pentru realizarea spectroscopiei de absorbție atomică este necesară atomizarea și aducerea atomilor din probă la un nivel energetic specific stării excitate, nivel la care sunt capabili să absoarbă fotoni emiși de lampa cu catod craterizat (există și denumirile de "catod scobit", "catod escavat" ș.a.). În funcție de diferite criterii (pornind de la materialul luat în studiu, acuratețe, până la aspectele economice), atomizarea se poate realiza: a) cu o flacără de gaz; b) cu un cuptor de grafit (tub de grafit încălzit electric); c) prin tehnici speciale (e.g. utilizarea hidrurilor).

În forma excitată atomii absorb din radiația monocromatică incidentă, specifică elementului analizat, cantități de radiații proporționale cu concentrația elementului din probă. Baza analizei cantitative o reprezintă legea Bouguer-Lambert-Beer [326].

Se menționează faptul că în cazul analizelor spectrometrice în flacără pe parcursul efectuării acestor procedee analitice pot apărea o serie de interferențe de natură chimică, fizică sau spectrală. Interferențele devin mai pronunțate în cazul spectroscopiei de emisie, însă nici spectroscopia de absorbție nu este lipsită total de prezența interferențelor [326].

Interferențele chimice - sunt condiționate de posibile modificări în natura chimică a atomilor aflați în flacără. Dacă amestecul de combustie pentru flacără nu este bine ales pot apărea - alături de atomii liberi a căror linie de rezonanță se măsoară - și alte specii moleculare și ionice. Acest fenomen are ca efect scăderea valorilor analitice ale concentrației atomilor liberi. La diminuarea intensității radiației emise poate contribui de asemenea și prezența unor anioni cu care atomii pot forma combinații stabile care se descompun greu în flacără.

Interferențele fizice - pot să apară în situația în care componenții soluțiilor de cercetat contribuie la modificarea gradului de pulverizare a lichidului, fapt posibil prin schimbarea tensiunii superficiale sau a vâscozității. De asemenea, un rol important în acuratețea rezultatelor obținute îl are mărimea și

uniformitatea picăturilor, acest factor influențând viteza de evaporare a soluției în flacără. În flacără se pot întâlni și cristale neevaporate care favorizează dispersia radiației și produc erori de citire.

Interferențe spectrale - apar datorită suprapunerii de radiații peste linia spectrală studiată, fenomen ce poate afecta acuratețea analizelor. Erorile apărute în acest caz depind de lărgimea benzii spectrale de transmisie a aparatului folosit. Reducerea interferențelor spectrale poate fi realizată prin folosirea monocromatoarelor care (prin intermediul unei fante înguste) pot realiza o bună izolare a liniei spectrale, îndepărtând radiațiile de fond cu lungimi de undă vecine liniei. Reducerea interferențelor se mai poate realiza și prin folosirea filtrelor de interferență, care au avantajul de a permite trecerea unei cantități mai mari de lumină, monocromatoarele permitând astfel utilizarea unor sisteme de fotodetecție mai ieftine.

Gazele de combustie. Alegerea gazului de ardere (acetilenă, propan, metan etc.), precum și proporția acestuia față de aerul comprimat (cu care se amestecă), este un alt factor care poate influența rezultatele analizei spectrale și care se poate constitui într-o sursă de interferențe. Temperatura generată de gazul de ardere este importantă pentru acuratețea datelor analitice. În tabelul 4-1 este redată temperatura flăcării unor amestecuri de gaze utilizate în determinările analitice specifice spectrometriei.

Tabel. 4-1. Temperatura unor amestecuri de gaze de combustie

| Amestec gaze de combustie | °C   |
|---------------------------|------|
| Hidrogen-oxigen           | 2700 |
| Hidrogen-aer              | 1900 |
| Hidrogen-argon-aer        | 1577 |
| Metan-oxigen              | 2700 |
| Metan-aer                 | 1960 |
| Propan-oxigen             | 2900 |
| Propan-aer                | 1725 |
| Acetilenă-oxigen          | 3100 |
| Acetilenă-aer             | 2400 |

Spectroscopia de absorbție atomică este o metodă fizico-chimică cu specificitate mai ridicată decât spectroscopia atomică de emisie. Această caracteristică se datorează faptului că asupra atomilor liberi se proiectează radiația care poate fi absorbită numai de o specie de atomi dată.

Sensibilitatea aparatelor este determinată de randamentul instalației pulverizator-arzător, de puritatea spectrală a radiației catodice și de modul cum trec razele prin flacără. În tabelul 4-2 este redată sensibilitatea și limitele de detecție a unor elemente.

Tabel 4-2. Sensibilitatea și limitele de detecție a unor elemente

| Element | Lungimea de undă (Å) | Lățimea benzii spectrale (Å) | Linia de detecție (μg/l) | Sensibilitatea (μg/L) |
|---------|----------------------|------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| Ca      | 4227                 | 20                           | 0,002                    | 0,03                  |
| Cu      | 3247                 | 7                            | 0,005                    | 0,10                  |
| Fe      | 2483                 | 2                            | 0,005                    | 0,15                  |
| Mg      | 2852                 | 20                           | 0,0005                   | 0,008                 |
| Ni      | 2320                 | 2                            | 0,1                      | 1                     |
| Zn      | 2138                 | 20                           | 0,002                    | 0,04                  |

Aparatura destinată spectroscopiei de absorbție atomică prezintă ca părți constitutive : a) sursa de radiație; b) compartimentul pentru probă, cu unitate atomizatoare; c) monocromator; d) detector; e) sistem de evaluare a datelor. Schema generală a unui spectrometru de absorbție atomică este redată în figura 4-1.

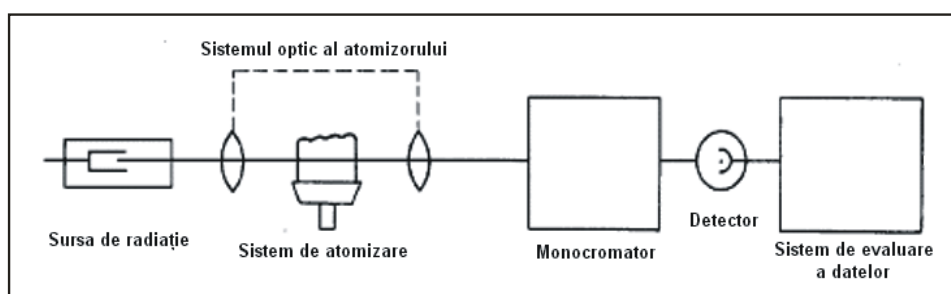


Fig.4-1. Spectrometru de absorbție atomică – schema bloc

a) Sursa de radiație

În cazul spectrometrului de absorbție atomică pot fi utilizate diverse surse de radiații clasice fiind : lămpi cu catod craterizat (escavat, scobit); lămpi cu descărcare în gaze și lămpi cu descărcare fără electrod. De asemenea se mai pot folosi și surse precum laserul sau plasmă analitice. În prezent se pot utiliza drept surse de radiații lămpile cu xenon care pot genera o mare plajă de lungimi de undă, eliminând necesitatea folosirii unei lămpi specifice pentru fiecare element care se dorește a fi analizat.

b) Sisteme de atomizare

Aducerea probei de analizat în starea de atomi liberi este unul dintre procesele importante care au loc în cadrul spectrofotometrelor de absorbție atomică. Pentru aceasta, spectrofotometrele sunt prevăzute cu diverse sisteme speciale de atomizare (atomizatoare), sisteme care în general se încadrează într-una din următoarele două categorii: a) sisteme de atomizare cu flacără; b) sisteme de atomizare fără flacără (în cuptor electric).

α) Sistemul de atomizare cu flacără. Acest sistem prezintă avantajul de a fi mai ieftin. Pentru realizarea atomizării în flacără este necesar ca în prealabil proba să fie adusă în formă de aerosol care apoi este introdus în flacără cu ajutorul unui nebulizator. În flacără proba trece succesiv prin procese de atomizare, excitare și ionizare. Pentru realizarea atomizării trebuie ținut cont de natura probei și în funcție de aceasta se stabilește temperatura necesară atomizării și implicit amestecul gazelor de combustie potrivit.

β) Sistemul de atomizare fără flacără (în cuptor electric). Pentru a îndepărta interferențele și dezavantajele inerente arderii în flacără, s-au dezvoltat și instrumente care folosesc atomizarea electrotermică în cuptor de grafit. Acest tip de atomizare, deși mai costisitor din punct de vedere financiar, reprezintă un salt calitativ semnificativ și aduce cu sine o creștere a acurateții metodei analitice. În cazul cuptoarelor cu grafit, temperatura necesară atomizării probei se poate regla prin controlarea curentului aplicat, acest sistem permitând atingerea unor temperaturi de până la 3000 °C. Folosirea acestui sistem de atomizare face posibilă și analiza unor cantități mici de probă, de ordinul zecimilor sau chiar sutimilor de

mililitru. De asemenea, limita de detecție este cu 2-3 ordine de mărime mai mică decât în cazul atomizării în flacără.

c) Monocromatorul

Monocromatoarele sunt sisteme optice destinate separării unei anumite lungimi de undă dintr-o radiație complexă. Un monocromator include o fantă de intrare și un colimator care are rolul de a focaliza imaginea fantei pe un dispozitiv de dispersie. Un element constructiv de bază al monocromatoarelor este sistemul dispersiv. Acest sistem este format dintr-o prismă, o rețea de difracție și o fantă. Pe lângă sistemul dispersiv, monocromatoarele mai conțin și lentile, sisteme mecanice sau electromecanice.

d) Detectorul

În cazul spectrofotometrelor de absorbție atomică detectoarele folosite sunt în general de tip fotoelectric (senzor fotoelectric). Senzorii fotoelectrici au rolul transformării intensității radiației într-un fotocurent proporțional cu aceasta. Cel mai simplu senzor este fotodiada.

e) Sistemul de evaluare a datelor

Spectrofotometrele de absorbție atomică sunt prevăzute cu instrumente de măsură care pot citi fie transmitanța pe o scală lineară fie absorbția pe o scală logaritmică. Sistemul de evaluare a datelor are astfel rolul de a compara semnalul rezultat în urma absorbției radiației provenite de la sursă cu semnalul corespunzător intensității incidente ale acestei radiații.

#### 4.2.2. Aparatura analitică

În practica analitică radiația caracteristică a elementului de determinat este emisă de lampa catodică corespunzătoare (deci lungimea de undă caracteristică). Fasciculul probei trece prin flacără unde este absorbit cantitativ de către atomii elementului de analizat.

Determinările analitice în spectroscopia de absorbție atomică asupra metalelor din compoziția calculilor s-au efectuat cu ajutorul unui aparat al firmei PYE UNICAM - modelul SP 1900 într-o primă etapă și, în continuare, cu un aparat PYE UNICAM - model 919. Domeniul spectral al instrumentului se extinde de la 189-855 nm. Drept sursă pentru radiația de rezonanță (caracteristică fiecărui element) s-a utilizat lampa cu catod craterizat corespunzătoare ca lungime de undă. O astfel de lampă constă dintr-un înveliș de sticlă sau de cuarț și conține un catod în formă de cupă și un anod. În interiorul lămpii sunt gaze inerte foarte pure la joasă presiune (4-12 torr).

În general sub aspect fizico-chimic se evaluează raportul intensităților radiației incidente ( $I_a$ ) și a radiației transmise ( $I_t$ ).

Valorile celor două intensități ajută la aflarea transmitanței (T) conform formulei următoare:

$$T = 100 \times \frac{I_t}{I_a}$$

În cazul în care instrumentul de măsurare urmărește afla datele sub forma absorbției (A), această mărime se calculează cu ajutorul formulei:

$$A = \log\left(\frac{1}{T}\right)$$

După măsurarea absorbției sistemul de evaluare și procesare a datelor extrapolează automat pe curba de etalonare transmitanța, respectiv absorbția corespunzătoare probei de analizat și afișează în cele din urmă concentrația elementului urmărit.

### **4.3. PARTICULARITĂȚI ALE METALOMICII ÎN RELAȚIE CU UROLITIAZELE**

#### **4.3.1. Privire sinoptică**

O direcție majoră în cercetarea științifică contemporană este axată pe studiul metalelor în sistemele biologice. Vastul domeniu de studiu referitor la metale și sistemele biologice au circumscris biochimia anorganică (chimia bioanorganică) și a contribuit ulterior la constituirea „metalomicii” ca domeniu interdisciplinar. În acest cadru au fost abordate probleme referitoare la prezența metalelor în mediu (apă, aer), în organismele vii (plante, animale, om), în nutrienți, în xenobiotice chimice. De asemenea, s-au studiat aspecte particulare ale interacțiunii metalelor cu organismul, e.g. procese patobiologice (e.g. litiaze), utilizarea unor compuși metalici ca și medicamente chimioterapeutice (diverși compuși).

Rezultatele cercetărilor referitoare la biometale, abordate ca subdomenii conexe diverselor științe, au fost considerate priorități în ultimele decenii, subliniind interdisciplinaritatea și transdisciplinaritatea în abordarea conjugată a diferitelor aspecte fundamentale și aplicative.

La începutul mileniului trei, s-a optat pentru introducerea termenului de „*metalomică*” – aceasta devenind o nouă ramură a științei [132, 327]. În revista *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, într-un articol editorial, [328] au dat următoarea definiție : „Metalomica se definește ca studiul metalelor și speciilor metalice și al interacțiilor, transformărilor și funcțiilor acestora în sistemele biologice”.

În organismul uman bioconstituenții sunt reprezentați, așa cum se cunoaște, de două grupe mari de compuși : substanțe organice și substanțe anorganice. Între compușii organici se includ glucidele, lipidele, proteinele și, evident, derivați ai acestora, e.g. lipoproteine, glucoproteine, nucleoproteine etc., precum și derivați bio-anorganici reprezentați de diverse săruri, compuși organo metalici, complecși, asociații moleculare și chiar aducți formați cu derivați glucidici, lipidici și proteici. Compușii anorganici sunt reprezentați de apă și substanțele biominerale de natură cationică, e.g. metale  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  etc. și de natură anionică  $\text{Se}^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$  etc.

Progresele în studiul biochimiei anorganice a evidențiat o diversificare a metodologiei analitice [132]. Astfel, în accepția autorului s-a produs o delimitare (speciație) a analizelor, distingând: metalomica, metaloproteomica. Integrarea acestora, *largo sensu*, se realizează prin *metabolomică*.

În condiții fiziologice, prin mecanismele specifice în *metabolomică* (metabolizarea nutrienților - ca substanțe exogene și integrarea metaboliților din organism - ca substanțe endogene) se realizează un echilibru continuu. Acest echilibru asigură homeostazia biochimică în lichidele biologice (sânge, fluid cerebrospinal, urină etc.), în celule și în țesuturi.

Astfel privită, metalomica se circumscribe ca un subdomeniu al *metabolomicii*. În cadrul acestia metabolismul hidro-electrolitic urmărește distribuția

apei și biomineralelor în lichidele biologice și țesuturi. Extinderea obiectivelor la aspectele biochimice și patobiochimice, fiziologice și fiziopatologice se ajunge inerent la problema biogenezei urolitiazelor.

Cu referire la metabolismele materiale se impune o distincție care privește metabolismele substanțelor organice și substanțelor minerale (i.e. metabolismul hidro-electrolitic). Această distincție, esențială de altfel, relevă faptul că spre deosebire de glucide, lipide și proteine la care se disting etape catabolice și anabolice distincte, compuși biominerali (în speță metalele), nu pot fi supuse unor procese de biodegradare sau biosinteză. Necesarul de substanțe minerale este asigurat prin aport nutrițional (enteral și, în cazuri limită parenteral). În cazul metalelor, caracteristicile metabolice vizează (explicit) aspectele de stocare și de eliminare [329, 330, 331, 332, 333, 334]. Aceste aspecte au o condiționare cronobiochimică (predilect circadiană și sezonieră) – discutată în contextul biochimic și uneori patobiochimic (e.g. dismineralezele și utilizarea suplimentelor alimentare) și o condiționare homeostazică - discutată, îndeosebi, sub aspect patobiochimic și fiziopatologic în bolile litiazice (biogeneza uroconcrementelor), în bolile nutriționale și endocrine etc.

#### 4.3.2. Metalele în sânge și urină - precursori în urolitiaze

În investigarea urolitiazelor probleme privitoare la cauze (etiologie), mecanisme moleculare și celulare (patogeneza) și compoziție chimică, implică o abordare complexă inter-și multidisciplinară. Pentru obținerea unor date de acuratețe în studiul biogenezei litiazice se procedează la investigații interdisciplinare care oferă informații morfo-funcționale privind tractul urinar, excreția, urodinamica, formarea uroconcrementelor ș.a. care pot fi completate cu date privind compoziția chimică a uroconcrementelor.

Astfel de date pot sta la baza explicitării mecanismelor de litogeneză, a definirii cadrului măsurilor terapeutice și metafilactice, a circumscrierii rolului și importanței măsurilor profilactice.

Homeostazia biochimică a metalelor (adesea în formă ionică) interesează distribuția acestora în sânge și urină, și este dependentă de principalele caractere dinamice ale proceselor biologice, i.e. metabolismul (îndeosebi hidro-electrolitic dar și metabolismul compușilor bioanorganici), cronobiochimia, homeostazia. În dishomeostazia biochimică are loc modificarea predilectă a concentrației ionilor metalici în țesuturi și lichidele biologice. Apariția unui dezechilibru hidro-electrolitic este dependentă de diverși factori, între aceștia un rol preponderent având statusul nutrițional și particularitățile morfo-funcționale ale organismului [65, 250, 335, 336,] .

Concentrația metalelor în organism este menținută prin mecanisme homeostazice, putând fi influențată și de factori de mediu, vârstă, procese cumulative (bioacumulare) etc.

Excesul unor metale poate conduce la interacții competitive modificând statusul metabolic normal și inducând anumite boli (endocrinopatii, enzimopatii, litiaze etc.).

Date generale privind concentrația metalelor în sânge integral la om sunt prezentate sub forma unei "metalogramme sanguine" în tabelul 4-3. Aceasta include macro- și microelementele prezente în sânge și anumite limite homeostatate (domenii de variație). S-au prezentat date după [143] care au avantajul de-a fi fost compilate după o vastă literatură de specialitate.



Tabel 4-3. Concentrația metalelor în sânge integral la om

| Metal    | Simbol chimic | UM                          | Cantitate medie | Domenii De variație |
|----------|---------------|-----------------------------|-----------------|---------------------|
| Aluminiu | Al            | $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ | 34,50           | 21,00-94,00         |
| Calciu   | Ca            | $\text{mg}/100\text{ mL}$   | 9,70            |                     |
| Cobalt   | Co            | $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ | 0,35            | 0,35-1,70           |
| Cupru    | Cu            | $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ | 89,00           | 64,00-114,00        |
| Fier     | Fe            | $\text{mg}/100\text{ml}$    |                 | 38,00-45,00         |
| Magneziu | Mg            | $\text{mg}/100\text{ mL}$   | 4,24            |                     |
| Mangan   | Mn            | $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ |                 | 1,20-2,60           |
| Mercur   | Hg            | $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ | 0,50            | 0,20-0,90           |
| Nichel   | Ni            | $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ | 0,26            | 0,11-0,46           |
| Plumb    | Pb            | $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ | 20,00           | 11,00 - 6,50        |
| Potasiu  | K             | $\text{mEq}/\text{L}$       | 45,50           |                     |
| Sodiu    | Na            | $\text{mEq}/\text{L}$       | 85,40           | 79,30-91,00         |
| Staniu   | Sn            | $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ | 12,40           |                     |
| Zinc     | Zn            | $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ |                 | 509,00-650,00       |

Dishomeostazia biochimică a metabolismului hidro-electrolitic, interesând sângele și urina, poate fi cauzată de aportul alimentar (deficitar/excedentar) ca și de existența unor factori favorizanți: tulburări endocrine, infecții, malformații anatomice ale tractului reno-urinar etc. [24]. Acești factori ca și prezența unor agenți complexanți, în funcție de concentrația ionilor de hidrogen (deci de pH) pot determina apariția în exces a compușilor minerali în urină.

Mecanismul producerii starterilor cu evoluție spre microcristale și apoi spre formațiuni calculoase la nivel reno-urinar este redat în fig.4-2.

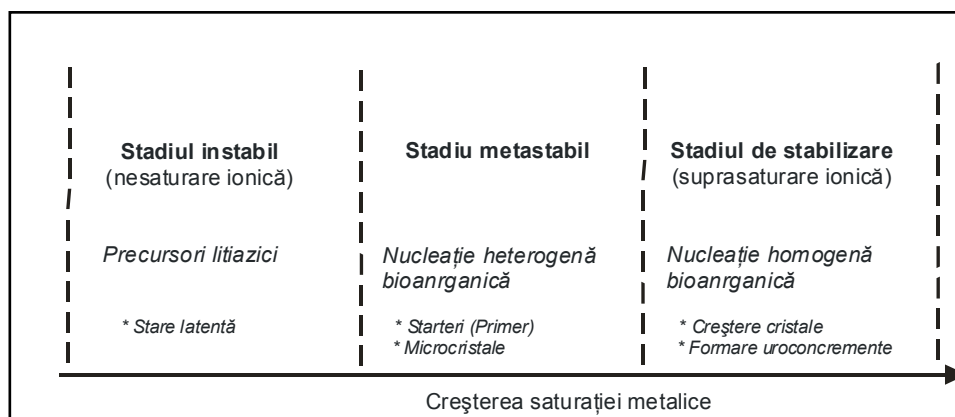


Fig. 4-2. Zonele de saturare specifice excreției renale

Rolul critic al unui pH urinar scăzut în formarea calculilor urici poate fi explicat pe baza teoriei acido-bazice. Constanta de disociere a acidului uric vizează protonul ( $\text{H}^+$ ) poziția  $\text{N}_9$  a nucleului purinic și este  $\text{pK}_a = 5,5$ . În soluție apoasă la  $37^\circ\text{C}$ , constanta de solubilitate a acidului uric este aproximativ de  $100\text{ mg}/\text{L}$ , în timp ce uratul este de 20 ori mai solubil. La un pH egal cu  $\text{pK}_a$ , acidul uric și uratul coexistă în proporții egale. Curba de disociere pentru acidul uric la acest pH crește până la valoarea 7,2 unde se menține pe platou. Astfel, subiecții cu o excreție

normală de acid uric dar cu pH urinar scăzut, pot dezvolta calculi cu acid uric, în timp ce aceia cu pH urinar normal sau mărit și o excreție excesivă de urat nu prezintă risc.

Mecanismul exact al acidificării urinei la subiecți cu litiază urică rămâne incomplet descris. O comparație între subiecți cu nefrolitiază urică idiopată și subiecți normali, cu diete controlate, a arătat că persoanele cu calculi aveau constant urina acidă și excretau o mică cantitate sub formă de amoniu. Concluzia constă într-o deficiență a excreției de amoniu care conduce la pierderea unui important sistem tampon urinar fără de care mici creșteri ale concentrației ionilor de hidrogen ar scădea dramatic pH-ul [290].

Pentru studiul aspectelor biochimice și patobiochimice dar și fiziologice și fiziopatologice privind biogeneza litiazelor este important a cunoaște și aspectele referitoare la concentrația metalelor în urină.

Cu referire la concentrația metalelor în urină în tabelul 4-4 se prezintă valorile în cazul unei diete normale – date compilate de [143]. Exprimarea datelor se face prin raportare la masa corporală (în speță se redau în mg/kg corp).

Tabel 4-4. Concentrația unor metale în urină raportată la masa corporală

| Nr. crt. | Metal | Valori (mg / kg corp) |                     |
|----------|-------|-----------------------|---------------------|
|          |       | Media                 | Domeniul            |
| 1        | Na    | 60.00                 | 25.00 – 94.00       |
| 2        | K     | 34.00                 | 16.00 – 56.00       |
| 3        | Ca    | 3.30                  | 0.60 – 8.30         |
| 4        | Mg    | 1.35                  | 0.42 – 2.40         |
| 5        | Zn    | 0.018                 | 0.0011 – 0.033      |
| 6        | Fe    | 0.007                 |                     |
| 7        | Cs    | 0.0005                | 0.00003 – 0.00007   |
| 8        | Pb    | 0.0004                | 0.00016 – 0.00110   |
| 9        | Mn    |                       | 0.0001 – 0.0014     |
| 10       | Ni    |                       | 0.002 – 0.004       |
| 11       | Al    | 0.0011                | 0.0007 – 0.0016     |
| 12       | Sn    |                       | 0.00013 – 0.00025   |
| 13       | Hg    |                       | 0.000007 – 0.000010 |

Un dezechilibru în eliminarea amoniacului ar putea fi dat și de defecte enzimatică glutaminaza și/sau glutamat dehidrogenaza care metabolizează amoniacul și acidul  $\alpha$ -ceto-glutaric. Cu toate acestea, rolul precis al catabolismului glutaminei în cauzarea unei excreții insuficiente de amoniu nu este elucidat [134].

În organism – în lichidele biologice (sânge, urină, lichid cerebrospinal) și în țesuturi – se află numeroși compuși cu caracter ionic: e.g cationi metalici și anioni organici și anorganici. Dintre cationii metalici ( $M^{n+}$ ) se află ioni alcalini ( $Na^+$ ,  $K^+$ ), alcalino-teroși ( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ) și ioni ai unor microelemente metalice biogene, e.g.  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  etc. dar și ai unor microelemente cu potențial toxicogen, e.g.  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Sn^{2+}$ .

Alături de aceștia se găsesc numeroși anioni, care, sub raportul compoziției și structurii pot fi ioni organici sau ioni anorganici. Anionii cu caracter organic provin din metabolismul protidic e.g. aminoacizi, holoproteide, heteroproteide (glico- și fosfo-proteide ș.a.); metabolismul lipidic, e.g. acizi grași, fosfoglicerolipide, sfingolipide; metabolismul glucidic e.g. derivați ai acizilor

glucuronici, derivați ai aminoglicidelor și glicozaminoglicanilor. Anionii anorganici pot fi proveni din: fosfați e.g.  $\text{PO}_4^{3-}$ ;  $\text{HCO}_3^-$  (aceștia asigură așa numita "rezervă alcalină"); sulfatați – sub formă de  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HSO}_4^-$  (această ultimă formă generează în organism diverși sulfoconjuțați de tipul R- $\text{HSO}_4$ ); clorurile ( $\text{Cl}^-$ ), fluorurile ( $\text{F}^-$ ) etc.

#### **4.4. INVESTIGAȚII ASUPRA METALELOR ÎN UROLITIAZELE PURINICE**

Ionii metalici sunt prezenți în excreția urinară ca urmare a proceselor biochimice specifice metabolismelor materiale. Un rol esențial are metabolismul hidro-electrolitic. Perturbarea acestuia implică modificarea concentrației metaboliților cu eliminare la nivel urinar. Metodele de investigare utilizate au fost adaptate și perfecționate continuu pentru a asigura extinderea cercetării urolitiazelor de-a lungul timpului [30, 57, 162, 166, 292, 337].

În cercetările prezente în această teză s-a urmărit extinderea și aprofundarea unor aspecte referitoare la urolitiază purinice [291]. Caracteristic acestui tip de urolitiază este faptul că procesele de nucleație sunt dependente de metabolismul nucleoproteinelor.

Determinarea concentrației unor macro- și microelemente metalice - prin SAA în calculii reno-urinari, urmată de determinarea concentrației aceluiași metale - arată că aceasta permite determinarea cu acuratețe a concentrațiilor macro- și microelementelor metalice. Determinarea prezenței metalelor în calculi se poate face pentru necesități de orientare a conduitei clinice, nutriționale și prin metode analitice calitative [23].

În cazul calculilor în a căror compoziție se află derivați purinici, în prezenta teză, s-au efectuat determinări asupra concentrației metalelor alcaline (Na, K), alcalino-terose (Ca, Mg) și a unor microelemente metalice (Zn, Cu, Fe, Mn). Din totalul de 237 calculi luați în studiu, 89 au fost de natură purinică.

Datele obținute prin SAA permit indirect, evaluarea rolului metalelor în litogeneza și apariția diferitelor tipuri de litiază. În cazul de față s-au decelat litiază simple cu urați (U), litiază mixte binare cu: urați-oxalați (U-O) ; oxalați-urați (O-U); fosfați-urați (P-U) și litiază mixte ternare cu oxalați-urați-fosfați (O-U-P).

##### **4.4.1. Metale alcaline**

În literatura de specialitate există puține lucrări care prezintă o cercetare integrată vizând stabilirea compoziției calculilor, i.e. tipul de urolitiază și distribuția elementelor metalice în uroconcremente [24, 34, 44, 139, 293].

Rolul metalelor (mai exact a ionilor metalici) în biogeneza litiazelor a fost relevat în unele cazuri de hipouricemie. În general hipouricemiile au fost întâlnite în xantinurii, tulburări ale secreției hormonului antidiuretic (ADH), degenerescența hepatolenticulară, în care apar leziuni la nivel renal (tub contort proximal). Aprofundând această problemă Bishop et al. (1954) au explicat perturbarea homeostaziei acidului uric ca o consecință a formării unor "complecși acid uric-metale", care nu se reabsorb la nivelul tubului renal.

Participarea cationilor în procesul de cristalizare cu formarea, consolidarea și dezvoltarea calculilor a fost sesizat cu mult timp în urmă [79]. Faptul este confirmat de prezența metalelor în compoziția calculilor.

Urolitiazele mixte relevă o mare diversitate structurală și variate posibilități de legare și/sau complexare a metalelor. Rezultatele cercetărilor analitice prin spectroscopia de absorbție atomică privind concentrația metalelor alcaline studiate (Na, K) în constituția uroconcrementelor purinice, în speță urice, sunt redată în tabelul 4-7.

Tabel 4-7. Concentrația metalelor alcaline în urolitiazele purinice (analize prin SAA)

| Tipul de urolitiază |                               | Concentrația metalelor ( $\mu\text{g/g}$ calcul) |                         |         |                         |
|---------------------|-------------------------------|--|-------------------------|---------|-------------------------|
|                     |                               | Sodiu  |                         | Potasiu |                         |
|                     |                               | n  | $\bar{X} \pm \text{DS}$ | n       | $\bar{X} \pm \text{DS}$ |
| Simple              | Urați (U)                     | 48   | 593,16 $\pm$ 262,07     | 48      | 198,86 $\pm$ 101,23     |
| Mixte               | Urați-Oxalați (U-O)           | 9  | 1319,23 $\pm$ 418,51    | 9       | 338,75 $\pm$ 139,84     |
|                     | Oxalați-Urați (O-U)           | 19   | 1748,14 $\pm$ 586,12    | 19      | 491,13 $\pm$ 187,02     |
|                     | Fosfați-Urați (P-U)           | 5  | 1476,78 $\pm$ 521,16    | 5       | 401,26 $\pm$ 138,37     |
|                     | Oxalați-Urați-Fosfați (O-U-P) | 8  | 2251,18 $\pm$ 521,16    | 8       | 946,51 $\pm$ 113,67     |

Notă: n- număr de cazuri;  $\bar{X}$  - media; DS - deviația standard.

Concentrația metalelor alcaline luate în studiu variază într-o serie descrescătoare care prezintă similitudini. Astfel seria descrescătoare în funcție de tipurile de litiază este :

în cazul Na : O-U-P > O-U > P-U > U-O > U

în cazul K : O-U-P > O-U > P-U > U-O > U

Concentrația maximă a celor două metale, limitată la tipul de litiază este în cazul litiazei ternare cu Oxalați-Urați-Fosfați (O-U-P). În toate tipurile de litiaze Na se afla în cantități mai mari în raport cu K.

Urmărind rolul biologic și importanța principalelor metale alcaline pentru organism în general, și în metabolismul hidro-electrolitic în special, se prezintă câteva date generale și implicațiile ionilor metalici în biogeneza litiazelor.

Sodiu. Se află predilect în compartimentul extracelular. Sub forma sa ionică ( $\text{Na}^+$ ) este important în repartiția apei, intervenind în: reglarea presiunii osmotice, a echilibrului acido-bazic, în fenomenele de polarizare-depolarizare ale membranelor celulare, rezorbția tubulară (renală) a apei, etc. În organismul uman adult, cantumul de sodiu este de cca. 90 g sub formă de clorură, bicarbonat, lactat etc.

Sub raportul distribuției în țesuturi, cca. 25% din sodiu se află în oase sub formă de săruri, iar restul de 75% în celule și lichide biologice.

O funcție importantă a  $\text{Na}^+$  este legată de prezența sa în molecula unor baze tampon care participă în menținerea echilibrului acido-bazic al organismului.

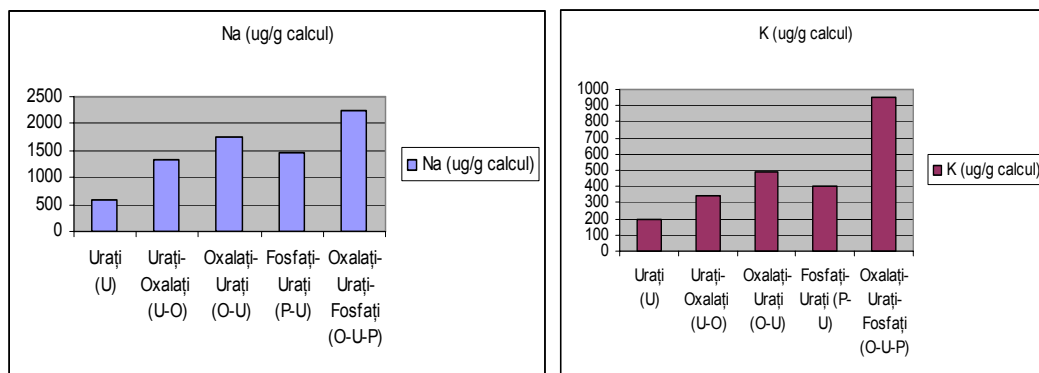
Sodiul și funcția renală. Eliminarea sodiului se face în primul rând pe cale renală. Cantitatea totală de  $\text{Na}^+$  filtrată în glomerulul renal odată cu cei 180 L / 24 ore este de cca 600 g. Din această cantitate, cca 99% este reabsorbită și doar 1% eliminată în urina finală [1, 294, 295].

Eliminarea renală a sodiului este dependentă de funcția normală a rinichiului - la nivelul tubilor contorți are loc reabsorbția sodiului. În proces intervin hormonii mineralocorticosteroizi produși de glanda suprarenală, îndeosebi aldosteronul. În insuficiență hormonală de aldosteron apar pierderi excesive de NaCl. Aldosteronul influențează "în sens invers" excreția de potasiu. De aici se poate conchide că raportul concentrațiilor ionice  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  din urină este un indiciu al acțiunii cortexului glandelor suprarenale. În patologie se urmăresc îndeosebi scăderea concentrației

sanguine a sodiului (hiponatremia) sau creșterea acesteia (hipernatremia), ca forme ale perturbării homeostaziei sodiului. Celelalte căi (cutanată și digestivă), de eliminare a  $\text{Na}^+$  sunt în mod obișnuit secundare.

În urolitiazele purinice (urice) simple și mixte decelate, concentrația sodiului variază în funcție de tipul de urolitiază - fig. 4-3a.

În cazul urolitiazelor decelate s-a constatat că potasiul are o distribuție mult mai redusă, comparativ cu sodiul. Dacă se sumează valorile determinate, se poate face un raport procentual, și se poate constata (deși mărimi mult diferite) că proporțiile prezintă unele similitudini - fig.4-3b.



(a)

(b)

(b)

Fig.4-3. Distribuția procentuală a metalelor alcaline în diverse tipuri de litiaze purinice (simple și mixte) (a) distribuția sodiului; (b) distribuția potasiului

Potasiu. Este un element cu distribuție tipic intracelulară, cca 98% se află în interiorul celulelor legat predilect de proteine, glucide, acid ortofosforic. Potasiul are roluri fiziologice multiple: asigură osmolaritatea mediului intracelular; crește excitabilitatea neuro-musculară; este important în menținerea automatismului cardiac; intervine în procesele de digestie, se regăsește în conținutul sucului pancreatic și a sucului intestinal; are efecte diuretice; intervine în metabolismul glucidic; intervine indirect în procesul de energogeneză; influențează sinteza și activitatea unor enzime, hormoni.

Variația inter-individuală, pentru același sex, vârstă și grad de adipozitate, este de  $\pm 10\%$ . Aproape întreaga cantitate de potasiu din corp (peste 98%) se găsește intracelular și numai aproximativ 2% extracelular.

Potasiul și funcția renală. Principala cale de eliminare a potasiului din organism este rinichiul (80-90%). Pe cale digestivă, se pierde 5-15%, iar pe cale cutanată sub 5%. Din cei cca 800 mEq de  $\text{K}^+$  filtrați în glomerul în 24 ore, întreaga cantitate este reabsorbită activ în tubul proximal. Intreaga sau aproape întreaga cantitate de potasiu eliminată prin urină este rezultatul unei secreții active, care are loc în tubul distal și canalele colectoare, în cadrul schimburilor ionice [296]. Hipopotasemia poate avea cauze diverse, de la aportul insuficient la eliminarea excesivă pe căile digestivă, renală și cutanată. Hiperpotasemia, sub raport patologic poate fi cauzată de: insuficiența renală acută (IRA) sau insuficiența renală cronică (IRC); diminuarea secreției de aldosteron; comă diabetică etc.

Este posibil ca ionii de K să înlocuiască ionii de Na și apa din structura cristalină a sării monosodice de urat monohidrat. Acești urați complecși reprezintă prima fază a formării calculilor și se pot transforma în acid uric în cazul în care se excretă un volum de urină extrem de hipotonică care induce electroliza uraților. Acidul uric astfel rezultat poate fi încorporat în calcul.

#### 4.4.2. Metale alcalino-terose

Din grupa metalelor alcalino-terose au fost determinate Ca și Mg, cu largă distribuție în organism, în general, și în formațiunile litiuzice în special.

În tabelul 4-8 se prezintă concentrația metalelor alcalino-terose luate în studiu și decelate în calculii analizați. Valorile decelate de autori precum [211] și [24] sunt apropiate de rezultatele noastre.

Tabel 4-8. Concentrația metalelor alcalino-terose în urolitiazele purinice (analize prin SAA)

| Tipul de urolitiază |                               | Concentrația metalelor ( $\mu\text{g/g}$ calcul) |                            |          |                         |
|---------------------|-------------------------------|--|----------------------------|----------|-------------------------|
|                     |                               | Calciu   |                            | Magneziu |                         |
|                     |                               | n  | $\bar{X} \pm \text{DS}$    | n        | $\bar{X} \pm \text{DS}$ |
| Simple              | Urați (U)                     | 48   | 638,36 $\pm$ 281,56        | 48       | 142,61 $\pm$ 93,09      |
|                     | Urați-Oxalați (U-O)           | 9  | 121 416,00 $\pm$ 47 200,00 | 9        | 376,14 $\pm$ 102,19     |
| Mixte               | Oxalați-Urați (O-U)           | 19   | 187 342,00 $\pm$ 52 814,00 | 19       | 412,93 $\pm$ 127,31     |
|                     | Fosfați-Urați (P-U)           | 5  | 145 371,00 $\pm$ 46 312,00 | 5        | 388,71 $\pm$ 131,72     |
|                     | Oxalați-Urați-Fosfați (O-U-P) | 8  | 191 253,00 $\pm$ 88 502,00 | 8        | 958,42 $\pm$ 387,16     |

Notă: n- număr de cazuri;  $\bar{X}$  - media; DS - deviația standard.

Se evidențiază o depresie a concentrațiilor care urmează, atât pentru Ca cât și pentru Mg, aceeași serie: O-U-P > O-U > P-U > U-O > U

O privire generală asupra statusului și rolului Ca și Mg în procesele biochimice și în patobiologie - prezentate în continuare - permit înțelegerea participării acestor metale în formarea uroconcrementelor.

Calciu. Prezintă abundența maximă în raport cu alte macroelemente din organism. Joacă rol important în menținerea statusului homeostaziei metabolismului hidro-electrolitic.

Rolul funcțional al calciului este îndeplinit de fracțiunea sa ionizată ("activă") din lichidele biologice. Fracțiunea legată de albumine este sensibilă la modificările de pH, scăderea acestuia ducând la creșterea nivelului de  $\text{Ca}^{2+}$ , în timp ce creșterea acestuia activează legarea ionilor de albumine și deci scăderea  $\text{Ca}^{2+}$ .

Valorile ceva mai mari ale calcemiei la bărbați (97 $\pm$ 5 mg/L) decât la femei (95 $\pm$ 6 mg/L), au o ușoară tendință de a scădea cu vârsta, ca urmare a scăderii concentrației plasmatice a albuminelor. Aproximativ 60% din calciul seric este ionizat, o mică fracțiune chelată sub formă de citrat, fosfat ori carbonat, iar restul este legat de proteine (80% de albumine și 20% de globuline). Gradul de legare al calciului de proteine și procentul calciului ionizat depinde de pH-ul mediului și de prezența altor electroliți (bicarbonați, fosfați, magneziu).

Absorbția calciului din intestin este scăzută în prezența unor concentrații scăzute de fosfați, fitați și oxalați, fapt atribuit formării de săruri insolubile care scad concentrația calciului ionizat din intestin și implicit absorbția lui [297, 298].

Calciu și funcția renală. Eliminările de calciu au loc pe 3 căi: pe cale intestinală, se pierde cca.16 mMol/zi; pe cale renală, se elimină cca 4 mMol/zi; pe cale cutanată, cantitățile pierdute sunt în mod obișnuit mici, putând însă crește până la 1 g/zi. În mod normal, pe această cale se elimină 20-30 mg/zi. Experimental s-a

studiat și efectul hiperparatiroidismului asupra urolitogenezei [299], prin influențarea statusului metabolic al Ca.

Datele cercetărilor analitice asupra distribuției procentuale a Ca în diversele uroconcremente specifice litiazei purinice (în speță urice) simple și mixte sunt redată în fig.4-4a.

Prin rinichi se filtrează întreaga cantitate de calciu ionizat. Din cei cca 150 litri de lichid filtrat pe zi trec în glomerulul renal 215 mMol  $\text{Ca}^{2+}$ , din care aproximativ 211 mMol sunt reabsorbiți, iar cca 4 mMol sunt eliminați în urina finală. Reabsorbția calciului are loc în tubul proximal și ansa Henle, fiind legată de transportul activ de sodiu. Nu există secreție tubulară de Ca. Orice factor ce modifică absorbția de  $\text{Na}^+$  influențează și absorbția de  $\text{Ca}^{2+}$  [300, 301] interesante sub aspect metabolic sunt și cercetările asupra metalogramelor dentare [302]., care dau o imagine asupra statusului metalelor din organism.

Date relevante privind rolul metalelor în nefrolitiază s-au obținut prin cercetări asupra recidivelor în nefrolitiază oxalică și urică. Urmărind recidivele în litiazele oxalică (117 cazuri) și urică (30 cazuri) autorii au determinat clearance-ul pentru oxalat de calciu și acid uric – bazat pe determinări analitice ale compușilor în cauză, din sânge și urină. Dintre valorile de celate reține atenția faptul că la cazurile recidivate clearance-ul diurn (12 ore ziua) este pentru oxalat de Ca 7,41 mL/min și pentru acid uric 4,86 mL/min, iar clearance-ul nocturn scade în primul caz la 6,47 mL/min și crește în al doilea caz la 5,01 mL/min. S-a observat că litiazele oxalice recidivează în majoritatea cazurilor la vârsta de 40-50 ani, iar litiazele urice la 50-60 ani și la indivizi supraponderali.

În general se constată că deși uneori predomină o anumită componentă, majoritatea calculilor au o compoziție minerală mixtă [61, 338].

Magneziu. Acest constituent biomineral al organismului se află în cantități de 25-30 mg în corpul omului adult. Cea mai mare parte, cca 60% se află în schelet, restul este distribuit în celule și în spațiul extracelular. În organismul uman, magneziul se află sub o formă difuzabilă în proporție de 80% , iar restul de 20% sub formă nedifuzabilă, fiind legat de proteine.

Este unul din cele mai importante elemente, implicat în peste 300 reacții biochimice. Cea mai mare parte se găsește în schelet sub forma sărurilor de Ca și fosfor. Numai 2% din acesta face parte din "magneziul de schimb". Dat fiind raportul strâns între  $\text{Ca}^{2+}$  și  $\text{Mg}^{2+}$  în sistemul periodic al elementelor ionii de  $\text{Mg}^{2+}$  pot înlocui ionii de  $\text{Ca}^{2+}$  în rețeaua cristalină formată de sărurile minerale din os. Aproximativ 43,2% (cca 10,8 g)  $\text{Mg}^{++}$  se găsește în țesuturile moi.

În corpul uman,  $\text{Mg}^{2+}$  se găsește în toate țesuturile. Cantitativ, este al 4-lea cation ca importanță după  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  și  $\text{Na}^+$ . În celulă, este al doilea cation după  $\text{K}^+$ .

O serie de ioni incluzând  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ , fosfatul,  $\text{Ca}^{++}$  și stronțitul, afectează absorbția  $\text{Mg}^{2+}$ , la fel ca și prezența în intestin a unor substanțe care formează compuși insolubili, ca acidul fitic (asociat frecvent cu fibrele alimentare), acizii grași și excesul de fosfați. Dimpotrivă, ingestia de proteine pare să crească absorbția atât de  $\text{Ca}^{2+}$ , cât și de  $\text{Mg}^{2+}$ .

Magneziul și funcția renală. Eliminarea magneziului este predominant urinară. Din cantitatea de  $\text{Mg}^{2+}$  filtrată în glomerul, cea mai mare parte este reabsorbită în tubul distal și mai puțin în cel proximal printr-un mecanism activ. Nu se știe dacă există și o secreție tubulară activă de  $\text{Mg}^{2+}$ . Cantitatea de  $\text{Mg}^{2+}$  ce apare final în urină este în mod obișnuit de 3-10 mMol/zi, reprezentând cantitatea absorbită din tubul digestiv (cca 1/3 din aport). O cantitate de cca 0,6 mMol (1,2 mEq) este eliminată în mod normal prin transpirație [303]. Deficiența de magneziu duce la formarea calculilor cu oxalat de calciu. Eliminarea urinară de  $\text{Mg}^{2+}$  crește prin încărcarea cu

$\text{Ca}^{2+}$ . Hormonul paratiroidian (stimulat de hipomagneziemie) crește reabsorbția  $\text{Mg}^{2+}$  filtrat, care poate fi aproape completă când ingestia de  $\text{Mg}^{2+}$  este mică. Concentrația scăzută a  $\text{Mg}^{2+}$  în ser intensifică eliberarea hormonului paratiroidian, de unde scăderea pierderilor urinare de  $\text{Mg}^{2+}$  și creșterea concentrației plasmatice a  $\text{Ca}^{2+}$  [304, 305, 306]. Referitor la distribuția procentuală a Mg în litiazele purinice (urice) simple și mixte datele analitice relevă predominanța acestui metal în urolitiazele ternare (fig.4-4b). În general cuantumul Mg este crescut în litiazele în care sunt prezenți anionii oxalic și fosfatic.

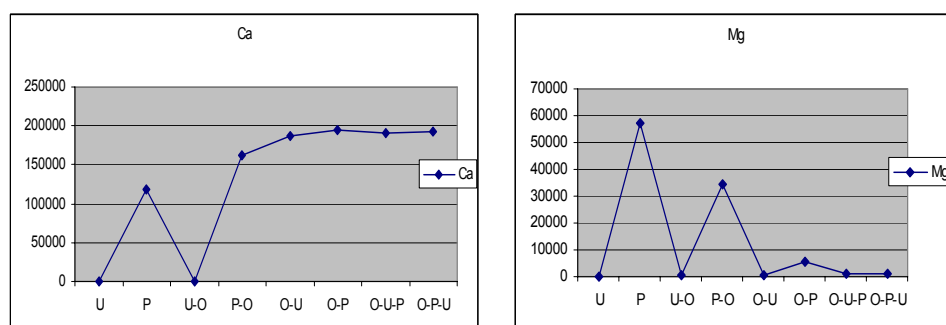


Fig.4-4. Distribuția procentuală a metalelor alcalino-terose în diverse tipuri de urolitiaze purinice. (a) distribuția calciului; (b) distribuția magneziului

Studii efectuate au demonstrat o scădere in vitro a cristalizării și creșterii oxalatului de calciu în prezența unei concentrații suprafiziologice de Mg. Un nivel scăzut de magneziu în urină reprezintă un factor de risc pentru litogeneză [80, 307]. Unele studii arată că nivelul Mg este mai ridicat la subiecți sănătoși, iar la nivelul Mg seric un există diferențe între cele două grupuri, ceea ce susține rolul său de potențial inhibitor al litogenezei [308].

Un studiu efectuat de [104] a observat o corelație negativă între nivelul Mg și conținutul de oxalat de calciu și acid uric. Această concluzie susține afirmația unor autori care consideră Mg un inhibitor al calculilor cu oxalat de calciu.

Asemănător calciului există un ritm circadian de eliminare a ionului de magneziu. Homeostazia acestora este reglată prin absorbția intestinală și excreția renală.

Intervenția ionului de  $\text{Mg}^{2+}$  în procesele patologice a fost luată în considerație numai în ultima vreme. Intrucât determinarea cantității totale a  $\text{Mg}^{2+}$  din organism este dificil de efectuat, indicatorul tulburărilor acestui cation este concentrația plasmatică.

Rolul primordial al rinichiului este de a menține în limite normale valorile componentelor sanguine. S-a încercat aflarea unor corelații ale concentrațiilor ionice pentru a stabili anumite constante. Astfel, în fiziologie se utilizează raportul  $(\text{K} \times \text{Na}) : (\text{Ca} \times \text{Mg})$  ca o constantă, stabilind legătura dintre cationii monovalenți și bivalenți sanguini [297].

În literatura de specialitate datele privind concentrația principalelor metale alcaline și alcalino-terose sunt puține și disparate. Se menționează lucrările publicate de [24, 29, 78, 309, 310, 339]. În lucrarea publicată de [28] s-a determinat concentrația Ca și Mg pentru urolitiaze fără a specifica riguros tipul acestora. Datele pentru concentrația Ca sunt  $192,8 \pm 22,67$  mg/g, iar pentru Mg  $35,64 \pm 27,73$  mg/g calcul.



Date asupra rolului unor elemente metalice în litogeneză la nivelul țesuturilor s-au comunicat inițial doar în legătură cu Ca și Mg. Încă din anul 1929 (Hammarsten). s-a constatat că deficiența de magneziu produce experimental urolitiază. Ulterior s-a constatat că există o corelație între magneziul alimentar, magneziul urinar și formarea de calculi. De asemenea, s-a relevat și faptul că oxalatul de magneziu este mult mai solubil decât oxalatul de calciu și excreția crescută a magneziului în urină reduce concentrația oxalatului disponibil pentru precipitarea oxalatului de calciu.

Unii cercetători sugerează că magneziul influențează cristalizarea oxalatului de calciu prin: scăderea excreției de oxalat [75, 152]; creșterea pH-ului urinar și a citratului; formarea de complexe solubile cu oxalați.

Se presupune că prezența cationilor de Na, K, Ca chiar și în proporții mici, contribuie la stabilizarea acidului uric dihidrat. Urme de Mg, Al, Si, S, Cl, Ti, Fe au fost adesea găsite în calculi. Raportul Na:K:Ca variază în diferite zone ale calculului.

Analiza metalelor în urme din materiale biologice (specific și pentru uroconcremente) reprezintă un domeniu dificil de cercetare. În literatura de specialitate apar mari discrepanțe legate de prezența metalelor și de cantitatea lor [340, 341, 342].

Investigațiile noastre cu privire la metalele alcaline și alcalino-terose au relevat faptul că în toate tipurile de urolitiază decelate, concentrația calciului a fost cea mai crescută, iar concentrațiile celorlalte metale au prezentat variații. Există și o serie descrescătoare în funcție de litiază.

|  |                  |
|--|------------------|
| Urolitiază cu urați (U) :                    | Ca > Na > K > Mg |
| Urolitiază cu urați-oxalați (U-O):           | Ca > Na > Mg > K |
| Urolitiază cu oxalați-urați (O-U):           | Ca > Na > K > Mg |
| Urolitiază cu fosfați-urați (P-U):           | Ca > Na > K > Mg |
| Urolitiază cu oxalați-urați-fosfați (O-U-P): | Ca > Na > Mg > K |

Se remarcă faptul că metalele cu distribuție extracelulară (Ca și Na) sunt dominante. Concentrația K este în plan terțiar la urolitiile de tip U, O-U și P-U, iar a Mg în plan terțiar la O-U și O-U-P.

Inițial cristalele se formează spontan prin suprasaturarea urinei. În unele cazuri cristalele evoluează spre agregate care se rețin în tubulii renali sau se fixează pe mucoasa papilelor renale sau în alte părți ale tractului urinar. Nucleul poate crește mai încet sau mai repede fixând noi cristale din urină funcție de perturbările biochimice. Frecvent, creșterea unui calcul este un proces discontinuu a cărui cauze nu pot fi întotdeauna identificate prin examinări biologice de rutină. În multe cazuri calculul rămâne o perioadă îndelungată în tractul urinar chiar dacă factorii responsabili de dezvoltarea sa au dispărut. În consecință nu apar modificări biochimice în sânge sau urină.

Terapia cu magneziu a redus creșterea excreției citraților și creșterea pH-ului urinar, măbind astfel solubilitatea oxalatului de calciu.

Un studiu pe șobolani [343] a urmărit efectul direct al depleției de potasiu ca factor de risc pentru litiază cu oxalați de calciu, deoarece variii studii sugerează faptul că depleția de potasiu conduce la acidoză și hipocitraturie. Rezultatele au arătat că concentrația urinară de potasiu, citrat, magneziu și fosfor a scăzut rapid. Nu s-a produs nici o afecțiune renală, nici o depunere renală de calciu și nu a apărut o creștere a calciului sau oxalatului urinar. A crescut semnificativ suprasaturarea urinei cu oxalat de calciu, ceea ce indică creșterea riscului de formare a calculilor în cazul deficienței de potasiu.

O serie de articole [211, 340] au prezentat rezultatele apariției unei serii de urați complecși nonstoechiometrici care conțineau doi sau mai mulți cationi în vecinătatea acidului uric pur și a uratului de amoniu și sodiu.

#### 4.4.3. Microelemente metalice

Microelementele metalice au un rol important în sistemele biologice și sunt esențiale pentru funcțiile vitale ale organismului uman. Acestea participă la reacții enzimatică, reacții redox, reacții cu transfer de electroni etc. În literatura de specialitate referitoare la litiaze există destul de puține lucrări privind conținutul în microelemente metalice ale uroconcrementelor [24, 30, 103, 307, 308, 309, 344, 345].

Rolul oligoelementelor în patogeneza formării calculilor urinari este încă neelucidată și în continuă dezbateră. În ultimii ani, rolul acestor elemente în litogeneză a dobândit un interes crescând: unele elemente au efect asupra cristalizării componentelor calculoase acționând pe suprafața cristalelor deoarece concentrația lor în urină este prea mică pentru a interacționa cu ionii din rețeaua cristalină din soluție; altele influențează morfologia externă a cristalelor în creștere și pot mări sau micșora viteza procesului de cristalizare [346]. Conform regulii lui Goldschmidt unele metale grele (e.g. Zn și Sr) pot substitui calciul datorită similarităților de sarcină și rază ionică [292]. Metale ca Mg, Zn, Al, Fe, Cu pot acționa ca și inhibitori ai creșterii oxalatului de calciu la concentrații foarte mici [292, 347].

După unii autori conținutul de metale este mai ridicat în nucleu față de straturile periferice ale calculilor, ceea ce denotă un posibil efect litogen al metalelor grele [307]. Este analizat și comparat chiar și rolul microelementelor cu acela al vitaminelor și aminoacizilor esențiali, dar rezultatele sunt încă insuficiente.

Studiile indică faptul că concremențele de fosfat de calciu conțin în cea mai mare proporție Zn și Sr în comparație cu cele de oxalat de calciu. Preponderența ionilor divalenți Zn și Sr în calculii cu conținut de Ca sugerează procesul de substituție al Ca de ioni metalici cu sarcina și raza nucleară similară. Calculii cu acid uric sunt săraci în metale grele [292].

Investigarea concentrației elementelor Zn, Cu, Fe, Mn în cadrul acestei teze a evidențiat variații de la un tip de urolitiază la altul. Tabelul 4-9 prezintă date caracteristice urolitiazelor purinice studiate.

Urmărind seria descrescătoare a concentrațiilor microelementelor metalice pentru fiecare element în funcție de tipul urolitiază am constatat diferențieri :

Zn: O-U-P > O-U > P-U > U-O > U  
 Cu: U > U-O > O-U > O-U-P > P-U  
 Fe: P-U > O-U > O-U-P > U-O > U  
 Mn: O-U > O-U-P > U-O > P-U > U

Din datele analitice se observă că Mn prezintă cele mai mici valori în toate tipurile de urolitiază. De asemenea, se constată că zincul are cea mai crescută concentrație în litiaza ternară cu oxalați-urați-fosfați, cuprul în litiaza simplă cu urați, fierul în urolitiază binară cu fosfato-oxalați, iar manganul în litiaza cu oxalați-urați.

Unele aspecte generale privind microelementele metalice luate în studiu se prezintă în continuare. Datele fac referire la aspecte generale privind rolul biochimic al acestora și aspecte particulare privind participarea la biogeneza litiazelor.

Zinc. Se prezintă ca un microelement esențial pentru organismele vii. Se află în organismul uman între 1,4-3,0 g fiind întâlnit în concentrații mai mari în ficat și mușchi (50-55 mg/g), în glanda suprarenală (12-17 mg/g), în prostată (cca. 10 mg/g). În

Tabel 4-9. Concentrația unor microelemente metalice în urolitiazele purinice (analize prin SAA)

| Tipul de urolitiază |                               | Concentrația metalelor ( $\mu\text{g/g}$ calcul) |                         |       |                         |      |                         |        |                         |
|---------------------|-------------------------------|--|-------------------------|-------|-------------------------|------|-------------------------|--------|-------------------------|
|                     |                               | Zinc   |                         | Cupru |                         | Fier |                         | Mangan |                         |
|                     |                               | n  | $\bar{X} \pm \text{DS}$ | N     | $\bar{X} \pm \text{DS}$ | n    | $\bar{X} \pm \text{DS}$ | n      | $\bar{X} \pm \text{DS}$ |
| Simple              | Urați (U)                     | 48   | 42,03 $\pm$ 22,61       | 48    | 91,79 $\pm$ 57,12       | 48   | 65,87 $\pm$ 23,08       | 48     | 6,67 $\pm$ 2,41         |
| Mixte               | Urați-Oxalați (U-O)           | 9  | 132,76 $\pm$ 61,35      | 9     | 21,03 $\pm$ 12,61       | 9    | 193,67 $\pm$ 87,23      | 9      | 11,40 $\pm$ 5,86        |
|                     | Oxalați-Urați (O-U)           | 19   | 164,23 $\pm$ 86,51      | 19    | 19,32 $\pm$ 9,16        | 19   | 227,12 $\pm$ 81,31      | 19     | 16,22 $\pm$ 7,33        |
|                     | Fosfați-Oxalați (P-U)         | 5  | 146,12 $\pm$ 68,56      | 5     | 13,86 $\pm$ 6,49        | 5    | 238,76 $\pm$ 68,12      | 5      | 10,04 $\pm$ 4,13        |
|                     | Oxalați-Urați-Fosfați (O-U-P) | 8  | 265,18 $\pm$ 171,03     | 8     | 19,29 $\pm$ 4,86        | 8    | 215,02 $\pm$ 159,86     | 8      | 12,09 $\pm$ 3,04        |

Notă: n- număr de cazuri;  $\bar{X}$  – media; DS – deviația standard.

sânge se află distribuit în hematii (75-85%), în plasmă (12-22%), în leucocite (3%). Este bioconstituent al unor metaloenzime (e.g. anhidraza carbonică, alcool dehidrogenaza, fosfataza alcalină), intervine în acțiunea unor hormoni, are rol important în mecanismele transmiterii informației genetice.

Carența de zinc se datorează aportului nutrițional. Deficiențe severe de Zn pot afecta grav sistemul gastrointestinal, sistemul nervos central, sistemul imunitar, osos și sistemul reproducător.

Excesul de zinc duce la creșterea greutateii suprarenalelor și a timusului, de asemenea determină creșterea nivelului de colesterol și scăderea concentrației de hormoni steroizi.

Informațiile privind rolul zincului în litogeneză sunt divergente [308]. Un studiu relativ recent efectuat de [103] a arătat că nivele scăzute de Zn în urina subiecților cu calculi renali sugerează acțiunea sa inhibitoare. Alte studii indică o excreție crescută de Zn și Cu sau nici o diferență la subiecți și grupa de control [24, 190].

Cupru. Este un alt microelement cationic esențial pentru sistemele vii. În organismul uman are o distribuție preponderentă în mușchii striati, țesutul osos, pielea, ficat, măduva osoasă, etc. A fost decelat predilect în complecși de natură metaloproteinică. În serul sanguin se află legat de  $\alpha$ -globulină.

Deficitul de cupru este cauzat de scăderea absorbției intestinale, efecte competitive și/sau antagonice. Se manifestă prin hipopigmentarea părului și pielii (prin scăderea tirozinazei), apariția unor anomalii vasculare (datorită scăderii liziloxidazei care participă la formarea elastinei și colagenului).

Excesul de cupru duce la apariția unor modificări ale distribuției sanguine și tisulare ale acestuia. Manifestările specifice hipercupremiei sunt: astenia, anemia hemolitică, tulburări gastro-intestinale care pot merge până la gastrită hemoragică.

În excreția urinară [345] au evidențiat că nivelele urinare de cupru și mangan sunt mai scăzute la subiecții cu calculoză decât la cei normali.

Fier. Este un microbioelement a cărui esențialitate este atestată de distribuția în anumite cromoproteide (e.g. hemoglobina-Hb), enzime (e.g. feritina) și de participarea la diverse procese fiziologice (e.g. oxiforeza prin Hb). În organismul uman există 4-5 g Fe.

În organismul uman aproximativ 65% se află sub formă de hemoglobină și 25-30% sub formă de feritină și hemosiderină depozitate în ficat, splină și măduva osoasă. Fierul din organismul uman se găsește sub formă de fier hemic în hemoglobină, mioglobină și sub formă de fier nehemeric în feritină, hemosiderină (forme de depozit) și transferină (formă de transport care cedează fierul unor receptori specifici).

Scăderea concentrației Fe în sânge duce la apariția hiposideremiilor manifestate prin anemii feriprive, anemii posthemoragice, infecții acute. Salifierea sub formă de fitați, fosfați carbonați și oxalați duce la complexe greu solubile care reduc absorbția fierului. Creșterea quantumului de fier din sânge peste valorile normale duce la instalarea hipersideremiilor manifestate prin hemocromatoză idiopatică, anemii macroblastice etc.

În litogeneză rolul fierului nu este clar deslușit. Totuși, este cunoscut faptul că ionii  $Fe^{3+}$  au capacitatea de a stabili interacții chimice cu ionii oxalat la suprafața cristalelor de oxalat de calciu, perturbând creșterea acestora. Această interacție poate fi modulată de acțiunea compușilor prezenți în mod curent în urină, e.g. fitați și pirofosfați care formează un complex stabil cu ionii de fier. Se presupune că ionii de fier nu acționează ca inhibitori puternici în prezența unei concentrații fiziologice de citrat datorită formării unor complecși foarte stabili în soluție [307, 337].

Mangan. Este un microelement metalic esențial cu acțiune asupra proceselor oxidative în care intră apa și care conduc la formarea legăturilor de tip O-O. În organismul uman manganul se află în cantitate totală de 10 mg. Concentrații mai ridicate sunt în oase, ficat, rinichi, pancreas, hipofiză, fanere. La animalele de experiență s-a observat o tendință de acumulare a Mn în ficat mai mică decât la Fe și Cu.

Deficitul de mangan este întâlnit rar și are ca principale efecte observate la animale reducerea creșterii în lungime a oaselor, afectarea funcției reproductive, tulburări nervoase, atrofia pancreasului.

Excesul de mangan se întâlnește în intoxicații accidentale, inhalarea de pulberi de mangan provocând afecțiuni pulmonare. Toxicitatea manganului la om este legată de valența acestuia, manganul divalent fiind mai toxic decât cel trivalent.

Astfel, există studii care au abordat problema urolitiazelor în relație cu manganul. [348] au indicat faptul că nivele scăzute de Mn pot cauza fragilitatea calculilor în cazul litotritiei (ESWL). [346] a sugerat că Ni, Mn, Li, Cd pot influența mecanismul patologic de formare a calculilor, nu din punct de vedere mineralogic sau cristalografic, ci datorită reacțiilor enzimatice caracteristice sistemelor biologice. Aceste metale pot produce inhibiția enzimatică.

Cu referire la determinarea analitică prin SAA a microelementelor metalice Zn, Cu, Fe, Mn decelate în urolitiazele luate în studiu se prezintă câteva date comparative. Seriile descrescătoare ale concentrațiilor acestora în calculii purinici luați în studiu se prezintă astfel :

|                                 |                   |
|---------------------------------|-------------------|
| Urați (U):                      | Cu > Fe > Zn > Mn |
| Urați-Oxalați (U-O):            | Fe > Zn > Cu > Mn |
| Oxalați-Urați (O-U) :           | Fe > Zn > Cu > Mn |
| Fosfați-Urați (P-U) :           | Fe > Zn > Cu > Mn |
| Oxalați-Urați-Fosfați (O-U-P) : | Zn > Fe > Cu > Mn |

Metalogramele diverselor uroconcremente sunt prezentate pentru: urați (fig. 4-5), urați-oxalați (fig. 4-6a), oxalați-urați (fig. 4-6b), fosfați-urați (fig. 4-6c), oxalați-urați-fosfați (fig. 4-7).

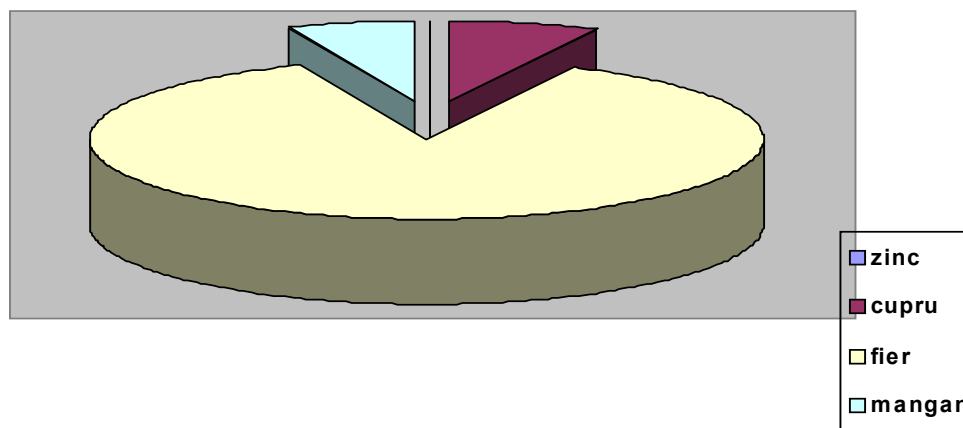


Fig. 4-5. Metalograma pentru urolitiază simple – microelemente

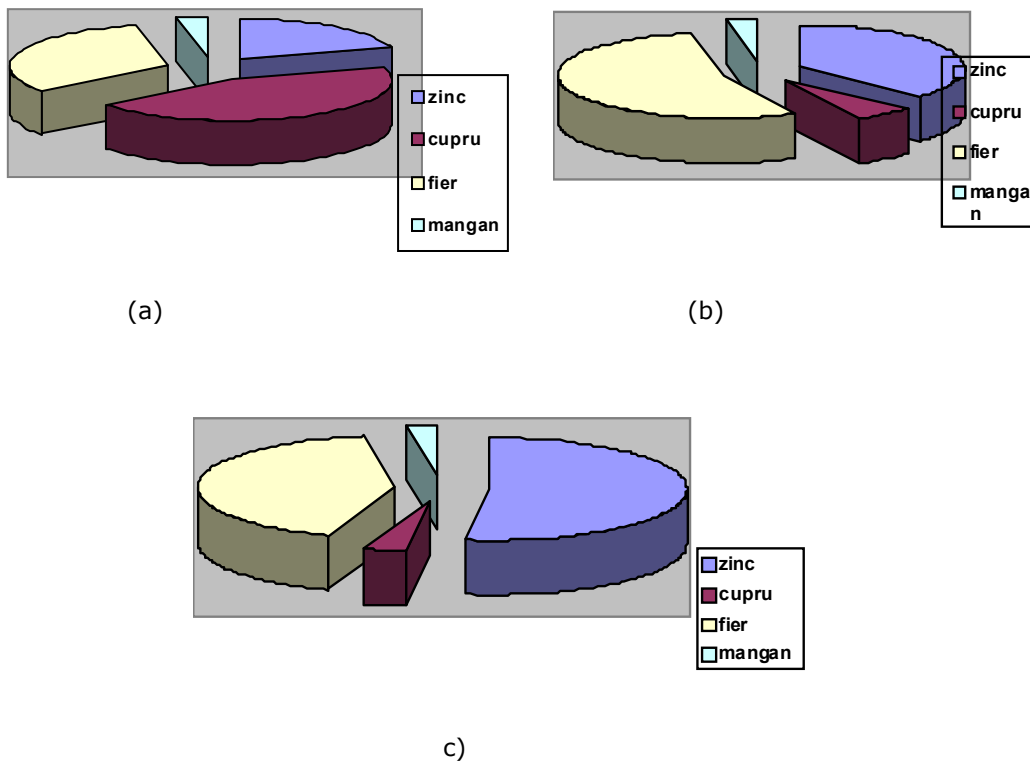


Fig. 4-6. Metalograma pentru urolitiază mixte binare - microelemente (a) calculi cu urați-oxalați; (b) calculi cu oxalați-urați; (c) calculi cu fosfați-urați

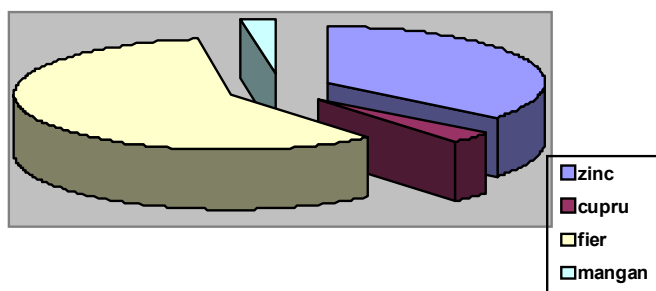


Fig. 4-7. Metalograma pentru urolitiază mixte ternare - microelemente (calculi cu oxalați-urați-fosfați)

Din datele obținute mai sus se poate observa că în majoritatea urolitiazelor mixte predomină fierul, urmat de zinc, cupru și mangan. Excepție fac urolitiazele cu urați, în care concentrația cuprului este mai mare și cele cu oxalați-urați-fosfați în care zincul are concentrația maximă.

Oligoelementele metalice, în general, se află într-un quantum mai redus, dependent de factori ambientali, în accepția translocației, e.g. sol-apă potabilă; sol-alimente de origine vegetală și animală; alimente-organism uman. Astfel exprimat există o dependență de lanțul trofic sol-plantă-animal-om.

Din metalogramele prezentate se remarcă o concentrația crescută de Cu în urolitiaza urică (v.fig.4-5) și mai scăzută în celelalte tipuri de urolitiaze studiate. Dacă se urmăresc litiazele mixte binare se remarcă cea mai ridicată concentrația pentru Fe în urolitiazele cu urați-oxalați, oxalați-urați, fosfați-oxalați (v.fig.4-6). Pentru Zn concentrația cea mai mare s-a aflat în urolitiaza cu oxalați-urați-fosfați (v. fig.4-7). Cu referirea la Mn se observă că acesta are cea mai mică concentrație în toate urolitiazele examinate.

Aceste date relevă capacitatea diferită de legare a cationilor divalenți la structurile anionice organice, la structurile neionice ale compușilor organici și/sau anorganici, precursori ai urolitiazelor.

În continuare se prezintă date privind microbioelementele metalice decelate alături de macrobioelemente și chiar alături de microelemente cu potențial toxicogen (e.g. Pb, Cd, Sn) decelate în uroconcremente.

Literatura de specialitate are relativ puține date referitoare la aceste probleme. Deși puține, acestea dovedesc interesul pentru domeniul patologiei biochimice a urolitiazelor pornind de la etapele de cristalizare până la formarea de uroconcremente.

În acest sens se menționează studiul întreprins de [349] privind influența unor oligoelemente asupra procesului de cristalizare a oxalatului de calciu și a raportat rolul inhibitor al Co, Ni, Pb, Sn, V și Zn.

Studiul compoziției calculilor s-a extins uneori și la elemente nemetalice (așa numiții metaloizi), e.g. As, Sb. Astfel, [24] au găsit cantități semnificativ mai ridicate în Fe, Sb, Sr și Zn în calculii cu oxalat de calciu; Fe, As și Zn în calculii cu fosfați; Sb și As în calculii cu acid uric. Acestea se pot explica prin prin izomorfismul eterogen – inserția unui ion al unui element străin în rețeaua cristalină a unei sări. Același fenomen apare în cristalele de apatită în care fosforul poate fi înlocuit de ionul arsen.

Se fac unele corelații privind distribuția elementelor metalice în calculi și fanere (e.g. păr). În acest sens se menționează [307] care au studiat distribuția a 5 metale (Fe, Cu, Cd, Zn, Mg) în 47 calculi urinari și în păr, găsind diferențe semnificative ale nivelelor acestora față de grupurile de control.

În anul 2007 [292] au studiat distribuția a 7 metale în 78 de calculi și a constatat o proporție crescută a concentrației Zn și Sr în calculii de fosfat de calciu.

De asemenea, s-au efectuat cercetări cu privire la metale cu potențial toxicogen și funcția renală și chiar în litiaze. Astfel, s-a constatat că expunerea de lungă durată la cadmiu conduce la afecțiuni renale prin proteinuria tubulară [350]. Efectul direct al Cd în litogeneza nu este cunoscut.

Toxicitatea plumbului este bine cunoscută. S-a raporta o cantitate crescută de Pb în calculii cu conținut de calciu [292]. Există o corelație între conținutul de Pb în calculi și urină, ceea ce ar putea evidenția rolul său în procesul de cristalizare.

Au fost întreprinse studii și asupra vanadiului în uroconcremente. Astfel, [104] a găsit o corelație pozitivă între nivelul V și conținutul în fosfați de Mg și alte săruri ale fosforului. Acest fapt denotă că V poate promova cristalizarea fosfaților în tractul urinar. Același studiu a dovedit o corelație în calcul-urină-păr a elementelor V-V, Pb-Pb, Pb-V,

Al-Pb. În studiul efectuat de [47] vanadiul nu a fost detectat, dar calculii au fost colectați dintr-o zonă slab industrializată din Jordania.

Cercetări asupra seleniului (nemetale) au evidențiat prezența acestuia alături de metale. S-a admis că se poate interacționa cu constituenții ai calculilor sau poate fi încorporat incidental în structura cristalelor [292].

Creșterea interesului științific față de elementele metalice a condus la căutarea unor metode corespunzătoare pentru cuantificarea și monitorizarea nivelurilor acestora în organismul uman. Este evident că microelementele metalice nu acționează singular, ci doar în interacție pot juca un rol important în procesul de cristalizare care precede formarea calculilor. Deoarece concentrația unor metale grele (Pb, Cd, Ni ș.a.) este mai crescută în nucleee decât în straturile periferice ale calculului, se presupune participarea acestora în inițierea cristalizării. Cu toate că este evident faptul că procesul de cristalizare apare la ruperea echilibrului dintre factorii promotori și inhibitori, sunt necesare investigații viitoare asupra rolului metalelor.

Cercetările întreprinse de [28] au relevat date asupra concentrației Cd, Cu și Zn din calculii urinari și biliari. Autorii au observat că nivelul Cd și Zn din calculii urinari era de 7 ori, respectiv de 13 ori mai mare decât în calculii biliari. În cazul cuprului s-a constatat că acesta prezintă concentrații de 10 ori mai crescute în calculii biliari față de cei urinari.

Deoarece există relativ puține date în ceea ce privește concentrația microelementelor metalice în uroconcremente, quantumul acestora a fost comparat cu acela din dinți. Concentrația de Cd, Zn și Pb s-a dovedit a fi mult crescută, de 30 ori a (Cd), de 3 ori a (Zn) și de 2000 ori a (Pb) mai mare decât în emailul dentar și de 40, 3 și 850 ori față de dentină. Concentrația zincului în urolitiază a fost similară cu cea din dinți și oase, iar a cadmiului și a plumbului mult mai crescută față de concentrația din dinți și oase. Din acest motiv aceste metale ar putea fi indicatori ai contaminării mediului [309]. Autorii arată, de asemenea, că absența unei corelații (cu excepția zincului) între conținutul în microelemente al calculilor și al urinei ar putea fi explicată prin afinitatea diferită a microelementelor la diversele faze ale litogenezei. În afară de aceasta, excreția urinară poate fi temporar crescută în microelemente metalice datorită unei expuneri de scurtă durată (a organismului) la aer, alimente sau apă cu conținut crescut de diverse microelemente. Totuși, elementele metalice eliminate pot fi acumulate în uroconcremente.

#### **4.5. TIPURI DE UROLITIAZE PURINICE ȘI COMPOZIȚIA METALICĂ A CALCULILOR**

Cunoașterea compoziției și structurii calculilor este cheia pentru stabilirea etiologiei calculozei. Există numeroase metode analitice pentru analiza calculilor dar puține pot oferi rapid și ușor informații extinse relevante pentru diagnosticul clinic.

Identificarea componentelor organice și anorganice din calculi este necesară și pentru a înțelege mecanismul producerii urolitiazelor.

În studiul urolitiazelor s-a constatat că litiata urică are o răspândire relativ limitată, dar este cea mai frecventă formă a litiazelor purinice.

*Litiata urică* – apare ca o consecință a precipitării acidului uric în urina suprasaturată. Urolitiata urică este însoțită de cristale de acid uric în sedimentul urinar. O excreție excesivă de acid uric poate rezulta în urma unei filtrări crescute a acidului uric (datorată unui aport alimentar crescut de purine), erorilor metabolice, afecțiunilor mieloproliferative sau hemolizei), în efecte la nivel de rezorbție tubulară



renală. Excreția de acid uric este crescută în cazul a 10% din pacienții cu hiper calciurie și urolitiază. Factorii care măresc riscul precipitării acidului uric sunt: pH-ul scăzut al urinei, rata scăzută a eliminării urinei. În calculi acidul uric sub formă anhidră sau dihidrat, adesea asociat cu oxalat de calciu, fosfat de calciu, urați etc. Au fost găsite minim două forme cristaline ale acidului uric anhidru: monoclinic pseudorombic și monoclinic instabil [340]. Cercetări efectuate de [351] au evidențiat prezența acidului uric dihidrat în 20% din calculii cu acid uric.

*Litiiza xantinică* - apare rar. Poate fi detectată și diagnosticată riguros prin metodele de spectrofotometrie diferențială, difracție de raze X sau cromatografie. Apare ca o consecință a perturbărilor metabolice în care este implicată enzima xantinoxidaza.

*Litiiza 2,8-dihidroxiadeninică (2,8-DHA)* - este foarte rar întâlnită și poate fi confundată cu litiiza urică. Are la origine un defect în metabolismul purinic (boală autosomal recesivă) care constă în deficiența enzimei adeninfosforiltransferaza. Excreția crescută a acestui compus insolubil conduce la cristalurie și formarea de calculi de tipul 2,8-DHA.

În cercetările efectuate în cadrul acestei teze s-au decelat doar litiiza urică simplă (cu acid uric-urați). De asemenea, au fost identificate urolitiază mixte binare și ternare.

În literatura de specialitate existența unor cercetări științifice sistematice asupra distribuției metalelor în uroconcremente specifice litiazelor purinice (simple și mixte) sunt puține și disparate. În astfel de cercetări s-a studiat concentrația metalelor în funcție de vârsta pacienților, în funcție de sex, în funcție de specificul zonei (e.g. rural, urban) de proveniență a pacienților etc. [257, 344, 352, 353]. În puține lucrări se face o cercetare integrată vizând stabilirea compoziției calitative, i.e. tipul de urolitiază și distribuția elementelor metalice în funcție de tipul de urolitiază [24, 234].

Investigațiile asupra microelementelor metalice cercetate (Zn, Cu, Fe, Mn) au oferit un cadru de observare mai detaliată a diversității compoziției. Se remarcă însă faptul că nu s-a făcut o comparație între diversele tipuri de urolitiază mixte.

Cu scopul estimării distribuției diverselor grupe de metale și evaluării contribuției acestora în apariția tipurilor de litiiază s-a stabilit quantumul metalelor alcaline, alcalino-teroase și tranzitionale în diverse tipuri de urolitiază, considerând suma concentrațiilor metalelor luate în studiu ca 100% (tabel 4-10).

Tabel 4- 10. Concentrația diverselor grupe de metale decelate în calculii purinici investigați

| Tipul litiizei |                               | Concentrația metalelor (%) |                  |               |
|----------------|-------------------------------|----------------------------|------------------|---------------|
|                |                               | Alcaline                   | Alcalino-teroase | Microelemente |
| Simple         | Urați (U)                     | 44,50                      | 43,90            | 11,50         |
|                | Urați-Oxalați (U-O)           | 1,33                       | 98,30            | 0,34          |
| Mixte          | Oxalați-Urați (O-U)           | 1,28                       | 98,50            | 0,22          |
|                | Fosfați-Urați (P-U)           | 1,20                       | 98,4             | 0,40          |
|                | Oxalați-Urați-Fosfați (O-U-P) | 1,63                       | 98,00            | 0,26          |

O privire sinoptică relevă: prevalența metalelor alcalino-teroase în toate tipurile de litiiază purinice mixte; un quantum mai crescut de metale alcaline; un quantum mai crescut de microelemente metalice în litiazele purinice simple și mixte binare.

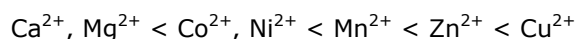
Prezența microelementelor metalice (raportat la tabel metale investigate) în cantități procentuale mai crescute în litiiza urică poate fi explicată prin participarea competitivă a acestor metale în procesul de nucleație heterogenă.

Factorii care influențează nucleația heterogenă bionorganică în cazul purinelor sunt: a) existența formelor tautomere în derivații purinici care pot determina procese de complexare prin modificarea statusului energetic; b) prezența unui electron distinctiv pe orbitalul d al metalelor tranzitionale cu tendință crescută de legare. Explicația rezidă în cuantumul diferit, și neexplorat cantitativ al compușilor organici și anorganici constituenți și evident de discrepanțele mari existente între regimul alimentar al subiecților (deveniți pacienți) și al surselor de apă potabilă.

La acestea se mai pot adăuga diverse aspecte legate de statusul funcțional al aparatului digestiv (procesele de absorbție), de activitatea glandelor cu secreție internă ca și de posibilitatea existentă a unui focar de infecție (cazul litiazelor cu fosfați de magneziu, de obicei amoniaco-magnezieni).

Microelementele metalice se află într-un quantum mai redus și adesea dependent de factori ambientali. În accepția translocației – susținută de conceptele acreditate în geologie și geochimie: e.g.: sol-apă potabilă; sol-alimente de origine vegetală și animală [163, 354]. Din acest considerent s-a prezentat o relație între oligoelementele metalice și variația (de tipul scării descrescătoare) în diverse tipuri de urolitiază.

Derivații purinici acționează ca donori de electroni, iar ionii metalici ca acceptori. Afinitatea selectivă a cationilor divalenți față de nucleobaze a fost studiată în literatură și tendința de legare variază în seria:



Complexarea la nucleobazele purinice prezintă similitudini cu aceea a derivaților purinici litogeni mono-, di- și trisubstituiți (hipoxantină, acid uric 2,8-dihidroxiadenina). Legarea se face predilect la C<sub>6</sub> și N<sub>7</sub> din heterociclii purinici.

Modificările produse în metabolismul nucleotidelor, unele cu implicații asupra homeostaziei biochimice, sunt rezultatul unui catabolism anormal al purinelor. Manifestările clinice se datorează insolubilității produsului intermediar de degradare, acidul uric [1, 3, 293]. Acesta este un acid slab cu pK de 5,35 în urină.

Microelementele au un rol important în sistemele biologice și sunt esențiale pentru funcțiile vitale ale organismului uman. Microelementele esențiale: Cr, Co, Cu, F, Fe, I, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Si, V și Zn trebuie să fie prezente în organism în concentrații reduse pentru a asigura funcțiile specifice, e.g.: reacții enzimatică, transfer de electroni, reacții redox etc. Pe de altă parte, unele microelemente - dacă se acumulează în organism (bioacumulare), e.g.: ficat, oase - pot cauza reacții toxice, în special As, Cd, Hg, Pb, Sb. Elementele metalice prezente în țesuturi și lichide biologice pot fi eliberate în urma unui efort (oboseală, surmenaj), și eliminate prin urină.

Metalele joacă rol principal în mecanismul de biogeneză a urolitiazelor. Datele analitice obținute permit evaluarea indirectă a rolului diferitelor metalelor în litogeneză. În această manieră devine posibilă o reconsiderare a metabolismului proteinelor și a metabolismului hidro-electrolitic, deci o nouă abordare a urolitogenezei purinice privită din punctul de vedere al proteomicii și metalomicii.

## 5. SPECIFICUL METALOGRADELOR ÎN UROLITIAZELE CU PREDOMINANȚĂ URICĂ ȘI CU PREDOMINANȚĂ FOSFATICĂ – DATE COMPARATIVE

### 5.1. CONSIDERAȚII GENERALE

În biogeneza uroconcrementelor, așa cum se cunoaște, participă compuși organici și/sau anorganici care, prin compoziția chimică permit diferențierea tipurilor de litiaze. În investigațiile noastre stabilirea tipului de urolitiază s-a făcut cu ajutorul spectroscopiei în infraroșu prin determinarea spectrelor FT-IR ale uroconcrementelor (v.Cap.3).

Investigațiile au fost efectuate pe calculii proveniți de la două grupe de subiecți : din prima grupă ( $E_A$ ) s-au reținut cazurile cu subiecții care au prezentat litiaze predominant urice (simple și mixte) – 84 cazuri dintr-un total de 237 cazuri, investigate în prezent; din secunda grupă ( $E_B$ ) s-au selectat cazurile cu subiecții la care au predominat litiazele fosfatice (simple și mixte) – 113 cazuri dintr-un total de 276 cazuri, investigate într-o etapă anterioară. Datele obținute cu ajutorul spectroscopiei FT-IR pentru cazuistica menționată mai sus, care definește tipurile de litiază urică și fosfatică, sunt date în tabelul 5-1.

Tabel 5-1. Grupe de subiecți cu urolitiază predominant urice și predominant fosfatice

| Tipul de litiază |                               | Subiecții din grupa $E_A$<br>litiaze predominant urice (U) |         |       | Subiecții din grupa $E_B$<br>litiaze predominant fosfatice (P) |         |       |
|------------------|-------------------------------|--|---------|-------|--|---------|-------|
|                  |                               | Total  | Bărbați | Femei | Total  | Bărbați | Femei |
| Litiază simple   | urati (U)                     | 48   | 19      | 29    | -  | -       | -     |
|                  | fosfati (P)                   | -  | -       | -     | 42   | 15      | 27    |
| Litiază mixte    | urati-oxalați (U-O)           | 9  | 3       | 6     | -  | -       | -     |
|                  | oxalați-urati (O-U)           | 19   | 8       | 11    | -  | -       | -     |
|                  | fosfati-oxalați (P-O)         | -  | -       | -     | 21   | 6       | 15    |
|                  | oxalați-fosfati (O-P)         | -  | -       | -     | 44   | 18      | 26    |
|                  | oxalați-urati-fosfati (O-U-P) | 8  | 3       | 5     | -  | -       | -     |
|                  | oxalați-fosfati-urati (O-P-U) | -  | -       | -     | 6  | 2       | 4     |
| Total            |                               | 84   | 33      | 51    | 113  | 41      | 72    |

Se reamintește că litiaze cu xantină și 2,8-dihidroxiadenină nu au fost decelate în cadrul cazuisticii luate în studiu în această teză.

Rezultatele obținute prin spectroscopie FT-IR prezintă distribuția tipurilor de litiaze pe sexe relevând pentru litiazele predominant urice un procent de 39,28% la bărbați și de 60,72% la femei, iar la litiazele predominant fosfatice procente de 36,28% la bărbați și de 63,72% la femei.

## 5.2. PARTICULARITĂȚI ALE METALOGRADELOR – ASPECTE DIFERENȚIALE

Uroconcremențele provenite de la subiecții incluși în acest studiu au fost supuse investigațiilor prin spectroscopie de absorbție atomică (SAA) pentru determinarea principalelor metale prezente în calculi.

Se reiterează mențiunea privitoare la faptul că prin SAA s-au determinat principalele metale alcaline (Na, K) și alcalino-terose (Ca, Mg) și patru microelemente metalice (Zn, Cu, Fe, Mn).

În cazul comparației metalogramelor determinate la litiaza urică prezentată în cadrul acestei teze [355] și la subiecții cu litiaze predominant fosfatice studiate în cadrul "Grupului de lucru pentru cercetări de metalomică" din Timișoara [158] s-au urmărit aspecte legate de tipul de litiaze întâlnite și metalogramele specifice acestora.

Studiul întreprins asupra litiazelor predominant urice (aparținând tipului litiazelor purinice) include un număr total de 237 subiecți dintre care s-au selectat cazurile cu litiaze simple cu urați (U) și litiaze mixte binare cu dominanță urați-oxalați (U-O) respectiv oxalați-urați (O-U) și litiaze mixte ternare cu oxalați-urați-fosfați (O-U-P) – v. [170, 215]. Din studiul întreprins de [158] asupra litiazelor predominant fosfatice care au inclus un total de 276 subiecți, s-au urmărit cazurile de litiaze simple fosfatice (P), litiaze mixte binare cu dominanță fosfați-oxalați (P-O), respectiv oxalați-fosfați (O-P) și litiaze mixte ternare cu oxalați-fosfați-urați (O-P-U).

Pentru a avea o imagine a distribuției metalelor au fost investigate analitic 84 cazuri din grupa subiecților cu litiaze predominant urice și 113 cazuri din grupa subiecților cu litiaze predominant fosfatice. La toate tipurile de litiaze (simple, mixte) s-au notat prin  $n_u$  - cazurile din grupa de subiecți cu litiaze predominant urice și respectiv, prin  $n_f$  - cazurile din grupa de subiecție cu litiaze predominant fosfatice. Pentru uroconcremențele analizate, se redau comparativ date analitice obținute în litiazele predominant urice [170] și respectiv litiazele predominant fosfatice [158].

Evaluare statistică. Datele analitice au fost procesate statistic printr-o metodă computerizată. Valorile medii ( $\bar{X}$ ) și deviația standard (DS) ale concentrațiilor în litiazele simple și mixte din grupele de subiecți cu litiaze predominant urică ( $n_u$ ) și cu litiaze predominant fosfatice ( $n_f$ ).

### 5.2.1. Metalograme comparative ale litiazelor simple

În cazul litiazelor simple se prezintă date referitoare la concentrația metalelor alcaline și alcalino-terose provenite de la grupele de subiecți  $E_A$  cu litiaza urică și  $E_B$  cu litiaza fosfatică luate în studiu (tabel 5-2). Prin  $n_u$  - s-a notat numărul de subiecți din grupa  $E_A$ , iar prin  $n_f$  - numărul de subiecți din grupa  $E_B$ .

Se prezintă separat distribuția metalelor alcaline și alcalino-terose (tabel 5-2) în urolitiază urice și în urolitiază fosfatice (concentrații exprimate în  $\mu\text{g/g}$  calcul).

Tabel 5-2. Compoziția metalică în uroconcremențele simple cu acid uric-urati și cu fosfați (metale alcaline și alcalino-terose)

| Metale          |    | Litiaze simple – date comparative                       |                 |   |                        |
|-----------------|----|---|-----------------|---|------------------------|
|                 |    | Subiecții din grupa E <sub>A</sub><br>litiaze urice (U) |                 | Subiecții din grupa E <sub>B</sub><br>litiaze fosfatice (P) |                        |
|                 |    | n <sub>u</sub>  | X ± DS          | n <sub>f</sub>  | X ± DS                 |
| Alcaline        | Na | 48  | 593,16 ± 262,07 | 42  | 9.885,78 ± 426,51      |
|                 | K  | 48  | 198,86 ± 101,23 | 42  | 2.397,46 ± 1.017,84    |
| Alcalino-terose | Ca | 48  | 638,36 ± 281,56 | 42  | 118.967,21 ± 57.416,61 |
|                 | Mg | 48  | 142,61 ± 93,09  | 42  | 57.218,61 ± 2.141,93   |

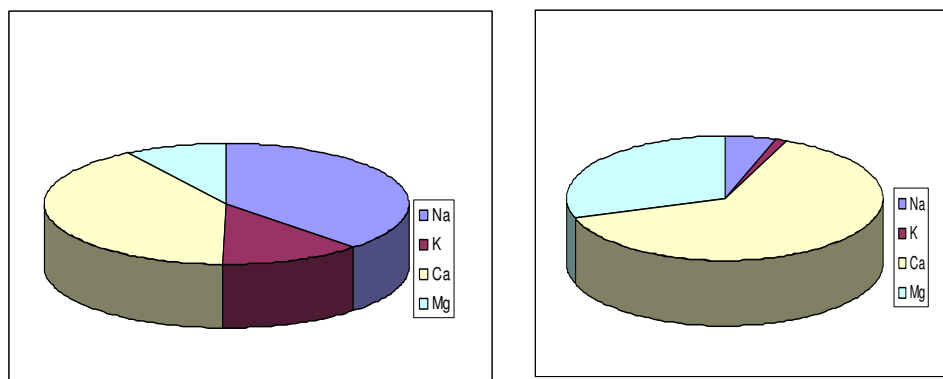
Din acest tabel se observă valori relativ reduse ale metalelor luate în studiu în cazul litiazei urice în care predomină calciu și sodiu. Se observă o scădere a concentrațiilor în seria metalelor:

$$\text{Ca} > \text{Na} > \text{K} > \text{Mg}$$

Spre deosebire de aceasta în litiaza fosfatică predomină calciu și magneziu. Situația se explică prin faptul că în litiazele fosfatice apar legături ionice (electrochimice) și se formează predilect fosfat tricalcic și mai frecvent fosfați amoniaco-magnezieni). Quantumul fosfaților formați cu metale alcaline (Na și K) – este mai redus. În cazul acestor litiaze scăderea concentrației metalelor studiate evidențiază seria:

$$\text{Ca} > \text{Mg} > \text{Na} > \text{K}$$

Pentru a avea o imagine de ansamblu asupra distribuției metalelor alcaline și alcalino-terose în uroconcremențele subiecților din grupa E<sub>A</sub> - urolitiază urică și E<sub>B</sub> - urolitiază fosfatică în fig.5-1 este redată o reprezentare grafică.



(a) (b)  
Fig.5-1. Distribuția metalelor alcaline și alcalino-terose în urolitiazele simple  
(a) litiaze urice; (b) litiaze fosfatice

Simpla reprezentare grafică exprimă unele variații ale quantumului metalelor alcaline și alcalino-terose. Remarcabil este faptul că în litiaza fosfatică,

## 5.2. Particularități ale metalogramelor – aspecte diferențiale 127

comparativ cu litiiza urică, concentrația Ca este de cca 2 ori, iar a Mg de cca 400 de ori mai mare. Aceasta având în vedere specificul compușilor fosfatici. Cu referire la concentrația microelementelor metalice în urolitiiza urică și urolitiiza fosfatică date obținute la grupele de subiecți  $E_A$  și  $E_B$  se prezintă tabelul 5-3 (concentrații exprimate în  $\mu\text{g/g}$  calcul).

Tabel 5-3. Compoziția metalică în uroconcrementele simple cu urați și cu fosfați (microelemente metalice)

| Metale        |    | Litiaze simple – date comparative              |                   |  |                     |
|---------------|----|--|-------------------|--|---------------------|
|               |    | Subiecții din grupa $E_A$<br>litiaze urice (U) |                   | Subiecții din grupa $E_B$<br>litiaze fosfatică (P) |                     |
|               |    | $n_u$  | $X \pm DS$        | $n_f$  | $X \pm DS$          |
| Microelemente | Zn | 48   | 42,03 $\pm$ 22,61 | 42   | 744,69 $\pm$ 218,84 |
|               | Cu | 48   | 91,79 $\pm$ 57,12 | 42   | 13,12 $\pm$ 6,03    |
|               | Fe | 48   | 65,87 $\pm$ 23,08 | 42   | 254,70 $\pm$ 164,52 |
|               | Mn | 48   | 6,67 $\pm$ 2,41   | 42   | 18,73 $\pm$ 3,45    |

Evaluarea datelor tabelate relevă în cazul litiazelor simple cu urați microelementele dominante cupru și fier. Seria descrescătoare a concentrațiilor metalice este:

$$\text{Cu} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Mn}$$

Specifică pentru litiiza simplă fosfatică este prezența unor cantități mai mari de zinc și de fier. Seria descrescătoare a concentrațiilor metalice evidențiază următoarea scală:

$$\text{Zn} > \text{Fe} > \text{Mn} > \text{Cu}$$

În cazul distribuției microelementelor metalice se poate proceda la prezentarea grafică a cuantumului acestora în urolitiiza urică (grupa  $E_A$ ) și în litiiza fosfatică (grupa  $E_B$ ) – fig .5-2.

Variațiile cutantumului microelementelor metalice evidențiază mai pregnant discrepanța între distribuția Zn și a Cu în cazul litiazelor urică și fosfatică.

Evaluarea comparativă a distribuției microelementelor metalice în calculii studiați oferă informații directe referitoare la compoziția tipurilor de litiaze descrise și informații indirecte privind posibilele interacții ale ionilor metalici, cu modulatorii (inhibitori/promotori) și compuși din matricea calculoasă, în cursul biogenezi urolitiazelor.

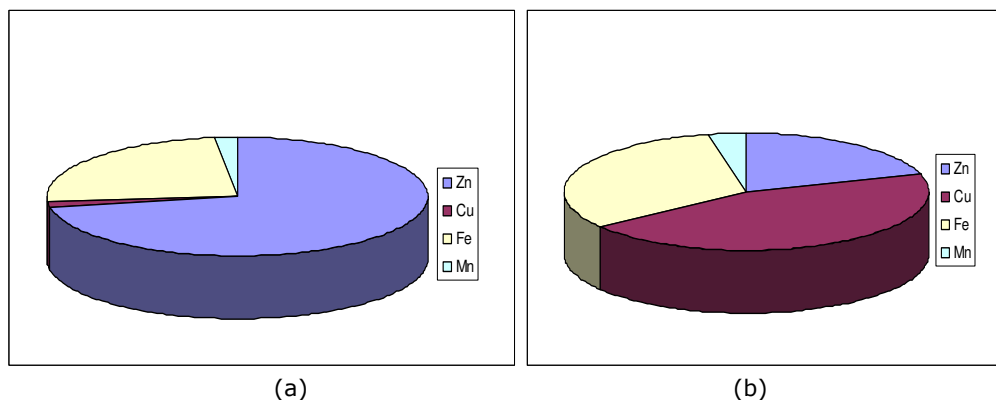


Fig.5-2. Distribuția microelementelor metalice în urolitiazele simple  
(a) litiaze urice; (b) litiaze fosfatice

Toți acești ioni participă în procesul de litogeneză. Concentrația în uroconcremente diferă funcție de tipul urolitiazii. Variațiile se datorează diferențelor de solubilitate, pH și osmolaritatea soluției, precum și stării morfofuncționale a rinichilor și a căilor urinare. Precipitarea stă la originea urolitiazilor simple, iar coprecipitarea stă la originea urolitiazilor mixte binare și ternare.

## 5.2.2. Metalograme comparative ale litiazelor mixte

### 5.2.2.1. Situația în litiazele mixte binare

Pentru litiazele binare evaluarea are în vedere existența a două grupuri de calculi și anume : a) prima definește litiazele binare predominant urice, respectiv predominant fosfatice, având ca și component secundar oxalații; b) al doilea - caracterizează litiazele binare predominant oxalice cu componenți secundari urați și fosfați .

a) Detalii referitoare la primul tip de litiaze binare sunt prezentate în tabelele 5-4 și 5-5 (concentrații exprimate în  $\mu\text{g/g}$  calcul).

Tabel 5-4. Metalogramele litiazei mixte binare cu dominanță urică de tip U-O și fosfatică de tip P-O (metale alcaline și alcalino-terose)

| Metale          |    | Litiaze mixte binare   |                        |  |                       |
|-----------------|----|--|------------------------|--|-----------------------|
|                 |    | Subiecții din grupa E <sub>A</sub><br>litiaze cu oxalați-urați (U-O) |                        | Subiecții din grupa E <sub>B</sub><br>litiaze cu fosfați-oxalați (P-O) |                       |
|                 |    | n <sub>u</sub>   | X + DS                 | n <sub>f</sub>   | X + DS                |
| Alcaline        | Na | 9  | 1.319,23 ± 418,51      | 21   | 13.496,23 ± 3.862,49  |
|                 | K  | 9  | 338,75 ± 139,84        | 21   | 2.798,82 ± 987,71     |
| Alcalino-terose | Ca | 9  | 121.416,00 ± 47.200,00 | 21   | 162.014,23 ± 79167,71 |
|                 | Mg | 9  | 376,14 ± 102,19        | 21   | 34.530,40 ± 4.985,70  |

## 5.2. Particularități ale metalogramelor – aspecte diferențiale 129

Referitor la metalele alcaline și alcalino-terose se remarcă faptul că există o concentrație mai mare a calciului și sodiului în litiazele cu urați-oxalați și a calciului și magneziului în litiazele cu fosfați-oxalați.

Pentru microelementele metalice se remarcă valori crescute la Fe și Zn în cazul litiazei cu urați-oxalați, respectiv a Zn și Fe în litiaza cu fosfați-oxalați.

Tabel 5-5. Metalogramele litiazei mixte binare cu dominanță urică de tip U-O și fosfatică de tip P-O (microelemente metalice)

| Metale        |    | Litiaze mixte binare   |                |  |                 |
|---------------|----|--|----------------|--|-----------------|
|               |    | Subiecții din grupa E <sub>A</sub><br>litiaze cu oxalați-urați (U-O) |                | Subiecții din grupa E <sub>B</sub><br>litiaze cu fosfato-oxalați (P-O) |                 |
|               |    | n <sub>u</sub>   | X ± DS         | n <sub>f</sub>   | X ± DS          |
| Microelemente | Zn | 9  | 132,76 ± 61,35 | 21   | 412,57 ± 198,19 |
|               | Cu | 9  | 21,03 ± 12,61  | 21   | 17,39 ± 2,81    |
|               | Fe | 9  | 193,67 ± 87,23 | 21   | 276,14 ± 133,05 |
|               | Mn | 9  | 11,40 ± 5,86   | 21   | 13,44 ± 4,21    |

b) Date referitoare la al doilea tip de litiaze binare cu dominanță oxalică și componenți secundari urați și fosfați sunt redată în tabelele 5-6 și 5-7 (concentrații exprimate în μg/g calcul).

Urmărind particularitățile seriilor descrescătoare ale concentrației microelementelor metalice se observă: α) în cazul litiazelor mixte cu urați-oxalați: Fe > Zn > Cu > Mn; β) în cazul litiazelor mixte cu fosfați-oxalați: Zn > Fe > Cu > Mn.

Metalogramele uroconcremenților litiazice s-au evaluat și în situația în care apar și uroconcremente binare de tipul oxalați-urați, oxalați-fosfați. Se menționează faptul că în cazul acestor calculoze compusul dominant este oxalatul, deși aparțin grupurilor diferite de urolitiaze cu dominață urică, respectiv cu dominanță fosfatică. Și în cazul acestora se prezintă date tabelate pentru aceleași grupe de metale.

Astfel, în tabelul 5-6 se redă situația pentru litiazele mixte binare cu oxalați-urați (O-U), respectiv oxalați-fosfați (O-P) urmărindu-se concentrația metalelor alcaline și alcalino-terose luate în studiu (concentrații exprimate în μg/g calcul).

Tabel 5-6. Metalogramele litiazei mixte binare cu dominanță oxalică de tip O-U și O-P (metale alcaline și alcalino-terose)

| Metale          |    | Litiaze mixte binare   |                        |  |                        |
|-----------------|----|--|------------------------|--|------------------------|
|                 |    | Subiecții din grupa E <sub>A</sub><br>litiaze cu oxalați-urați (O-U) |                        | Subiecții din grupa E <sub>B</sub><br>litiaze cu oxalați-fosfați (O-P) |                        |
|                 |    | n <sub>u</sub>   | X ± DS                 | n <sub>f</sub>   | X ± DS                 |
| Alcaline        | Na | 19   | 1.748,14 ± 586,12      | 44   | 5.312,79 ± 187,31      |
|                 | K  | 19   | 491,13 ± 187,02        | 44   | 994,41 ± 141,82        |
| Alcalino-terose | Ca | 19   | 187.342,00 ± 52.814,00 | 44   | 194.126,00 ± 29.863,20 |
|                 | Mg | 19   | 412,93 ± 27,31         | 44   | 5.347,51 ± 1.844,78    |

Din acest tabel se remarcă că un studiu pe 19 cazuri de litiaze cu oxalați-urați evidențiază concentrații crescute de calciu și sodiu. Pentru studiul întreprins asupra litiazelor fosfatice s-a constatat că la un număr de 44 cazuri de litiaze cu oxalați-urați predomină calciu urmat de magneziu și sodiu.



130 Specificul metalogramelor în urolitiazele cu predominantă urică și fosfatică - 5

În mod similar s-a procedat și pentru evaluarea microelementelor metalice luate în studiu în cazul litiazelor mixte cu oxalați-urați, respectiv oxalați-fosfați (tabel 5-7).

Tabel 5-7. Metalogramele litiazei mixte binare cu cu dominanță oxalică de tip O-U și O-P (microelemente metalice)

| Metale        |    | Litiaze mixte binare   |                |  |                 |
|---------------|----|--|----------------|--|-----------------|
|               |    | Subiecții din grupa E <sub>A</sub><br>litiaze cu oxalați-urați (O-U) |                | Subiecții din grupa E <sub>B</sub><br>litiaze cu oxalați-fosfați (O-P) |                 |
|               |    | n <sub>u</sub>   | X ± DS         | n <sub>f</sub>   | X ± DS          |
| Microelemente | Zn | 19   | 164,23 ± 86,51 | 44   | 592,13 ± 146,63 |
|               | Cu | 19   | 19,32 ± 9,16   | 44   | 16,71 ± 4,76    |
|               | Fe | 19   | 227,12 ± 81,31 | 44   | 249,79 ± 55,41  |
|               | Mn | 19   | 16,22 ± 7,33   | 44   | 19,84 ± 3,78    |

Se observă existența unei serii descrescătoare a concentrației microelementelor metalice în litiazele binare cu dominanță oxalică după cum urmează: α) în cazul litiazei cu oxalați-urați : Fe > Zn > Cu > Mn ; β) în cazul litiazei cu oxalați-fosfați : Zn > Fe > Mn > Cu.

### 5.2.2.1. Situația în litiazele mixte ternare

Investigațiile asupra compoziției metalice a uroconcrementelor au vizat și urolitiazele ternare (tabel 5-8) în care au fost decelați oxalați-urați-fosfați (O-U-P). În studiile privind grupele de litiaze cu predominantă urică din cadrul prezentei teze, respectiv în cercetările asupra litiazelor ternare cu oxalați-fosfați-urați (O-U-P) întreprinse în anii precedenți (1988-1998) în cadrul unui studiu axat pe tematica referitoare la tipurile de litiaze cu predominare fosfatică au fost determinate metalogramele specifice (concentrații exprimate în μg/g calcul). [158].

Tabel 5-8. Metalograme comparative în litiazele ternare decelate la investigarea a două grupe de subiecți cu litiaze predominant urice, respectiv fosfatice

| Metale           |    | Litiaze mixte ternare   |                        |   |                        |
|------------------|----|---|------------------------|---|------------------------|
|                  |    | Subiecții din grupa E <sub>A</sub><br>litiaze cu oxalați- urați-fosfați (O-U-P) |                        | Subiecții din grupa E <sub>B</sub><br>litiaze cu oxalați -fosfați-urați (O-P-U) |                        |
|                  |    | n <sub>u</sub>  | X ± DS                 | n <sub>f</sub>  | X ± DS                 |
| Alcaline         | Na | 8   | 2.251,18 ± 521,16      | 6   | 2.241,79 ± 513,53      |
|                  | K  | 8   | 946,51 ± 113,67        | 6   | 972,93 ± 68,13         |
| Alcalino-teroase | Ca | 8   | 191.253,00 ± 88.502,00 | 6   | 192.816,80 ± 89.601,90 |
|                  | Mg | 8   | 958,42 ± 387,16        | 6   | 938,41 ± 496,83        |
| Microelemente    | Zn | 8   | 265,18 ± 171,03        | 6   | 262,81 ± 158,28        |
|                  | Cu | 8   | 19,29 ± 4,86           | 6   | 19,38 ± 4,83           |
|                  | Fe | 8   | 215,02 ± 159,86        | 6   | 213,96 ± 151,52        |
|                  | Mn | 8   | 12,09 ± 3,04           | 6   | 12,11 ± 2,89           |

Deși cercetări diferite efectuate la diferența de cca. 8 ani (2003-2011), rezultatele permit observarea prezenței metalelor luate în studiu în concentrații

apropiate. Din aceste date se poate conchide că în cazul uroconcrementelor studiate, dominate ca și compoziție de oxalați și conținând în cantități reduse urați, respectiv fosfați, quantumul metalelor este relativ apropiat. Această observație aduce o informație generală privind specificul metalogramelor în litiazele mixte ternare. Variațiile de la prima grupă de subiecți (litiaze dominant urice) la secunda grupă de subiecți (litiaze dominant fosfatice) sunt insignifiante. Explicația rezidă în faptul că pentru metalogramele respective quantumul a fost influențat de prezența oxalatului. Ionul oxalic fixează mai bine toate metalele luate în studiu.

În ultimii ani tot mai mulți autori sunt interesați în determinarea concentrațiilor metalelor alcaline, alcalino-terose și a microelementelor metalice în uroconcremente pentru a elucida implicarea lor în procesul de nucleație heterogenă și pentru a putea oferi indicații pentru profilaxie și metafilaxie în clinica urologică [24, 54, 356].

Mecanismele de legare a cationilor metalici la anionii anorganici întâlniți în uroconcremente explică formarea starterilor ("primerilor") în procesele de precipitare sau coprecipitare produse in situ prin creșterea în timp a uroconcrementelor. Pentru explicarea modului de legare s-a acreditat denumirea de "mecanism bioanorganic" al litogenezei [245, 333, 334, 357, 358, 359, 360].

Uroconcrementele cu fosfați sunt mai frecvente și se pot întâlni în urolitiazele simple și mixte (binare și ternare).

### 5.3. SPECIFICUL MECANISMELOR DE BIOGENEZĂ

În organism la nivel renal se elimină atât acidul uric și urații, cât și fosfații - compuși care participă la biogeneza litiazelor luate în discuție. Mecanismul nucleației heterogene are la origine prezența unor precursori cu proprietatea de electron-acceptori și alții de electron-donori [361, 362, 363]. Aceștia vor participa la procesul de nucleație prin reacții de precipitare în cazul litiazelor simple și reacții de coprecipitare în cazul litiazelor mixte (binare și ternare).

În cazul derivaților purinici de tipul adenină și guanină astfel de legături cu metalele au fost studiate pentru a se înțelege formarea aducțiilor acidului deoxiribonucleic (DNA) cu ioni metalici. Inițial se formează complecși acvatați (fig. 4-6) care prefigurează aducții de tip DNA-M<sup>n+</sup>.

Complecșii de acest tip au fost studiați în cazul adeninei și guaninei. La adenină legarea M<sup>2+</sup> se face la N<sub>7</sub> și N aminic de la C<sub>6</sub>, iar la guanină la N<sub>7</sub> și O de la C<sub>6</sub>. Cationul metalic leagă concomitent și două molecule de apă. Un caz aparte prezintă guanina la care se pot lega cationi M<sup>2+</sup> între două baze guaninice. Legăturile se realizează la nivelul acelorași atomi, evident fără molecule de apă.

La formarea complecșilor bioanorganici de tipul purină-M<sup>2+</sup> se stabilesc legături de tip chelatic între derivatul purinic care este electron donor și ionul M<sup>2+</sup> care este electron acceptor (fig.5-1).

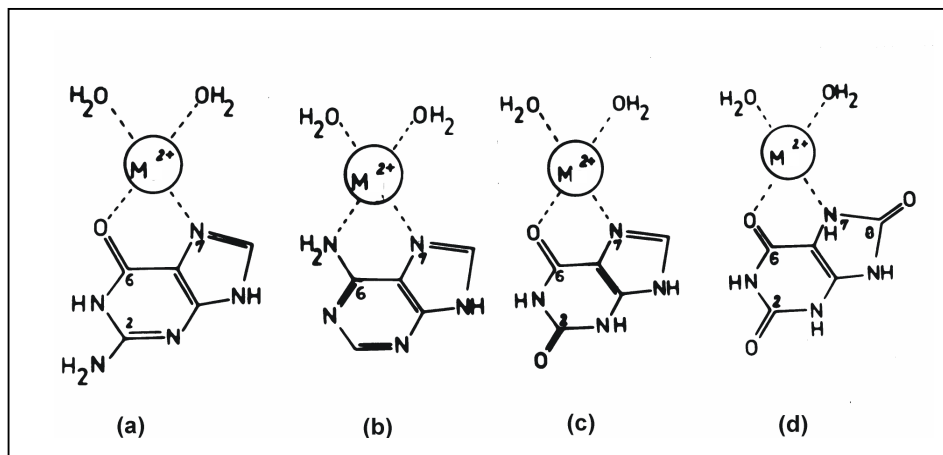


Fig.5-1. Formarea complexelor acvatați de tip purină -  $M^{2+}$  specifici biogenezei uroconcrementelor urice

Aceste mecanisme de legare sunt caracteristice modului de legare a ionilor metalici în aducții acidului deoxiribonucleic (DNA). Acești aducți sunt notați obișnuit prin acronimul DNA- $M^{2+}$ .

În cadrul grupei compușilor neionici organici se pot discuta substanțele care prin prezența unor grupări polare de tipul -OH, pot genera structuri care polarizează mediul și pot fi precursori ai formării unor complexe cu metalele. Astfel de compuși sunt acidul uric și derivații acestuia, precum și colesterolul.

În fig.5-2 se prezintă compușii menționați.

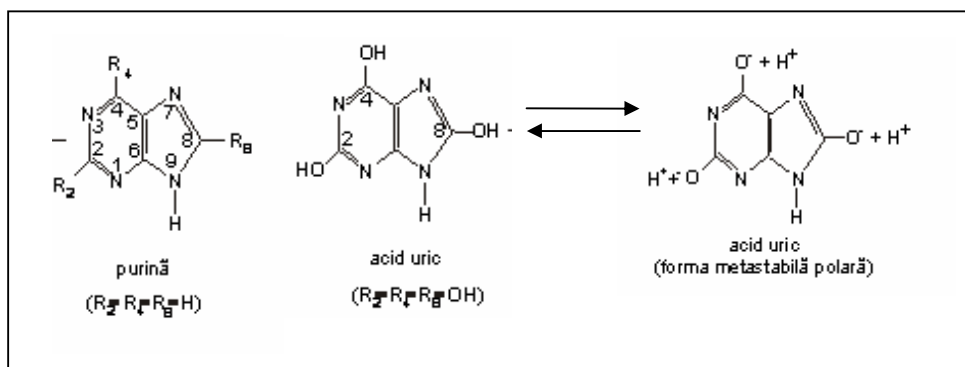


Fig. 5-2. Purina și acidul uric – precursori în litiazele purinice

În cazul fosfaților se cunoaște faptul că în sânge există sisteme tampon care conțin anioni fosfat, anioni carbonat etc.

Forme prezente în sistemele tampon din lichidele biologice



Ionii fosfat au ca „precursor formal” acidul fosforic -  $H_3PO_4$  (în organism nu se află ca atare). Acesta se poate afla sub trei forme anionice: fosfat dihidrogenat ( $H_2PO_4^-$ ), fosfat monohidrogenat ( $HPO_4^{2-}$ ) și simplu fosfat ( $PO_4^{3-}$ )

Din aceștia se formează diverși compuși fosfatați (fig. 5-3). În litiaze domină fosfatul amoniaco-magnezian și fosfatul de calciu.

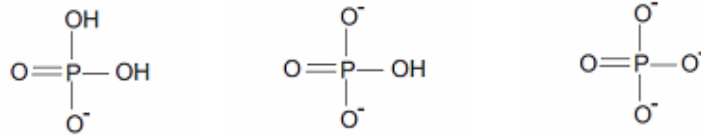


Fig. 5-3. Anioni derivați de la acidul fosforic – precursori în litiazele fosfatice

Evident, alături de cationii metalici și de cationul de amoniu ( $NH_4^+$ ) la formarea uroconcrementelor specifice litiazelor fosfatice pot concura și alți cationi metalici. Numărul acestora este mai mare, față de aceia investigați în precedenta lucrare. În datele obținute de noi s-au mai decelat cationii K, Zn, Cu, Fe, Mn în afară de aceea prezentați în fig.5-4.

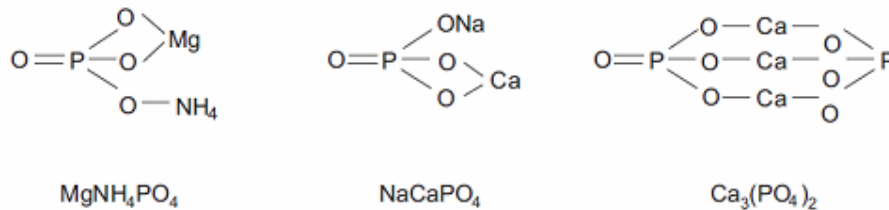


Fig. 5-4. Structuri anionice fosfatice întâlnite în uroconcremente (precursori în urolitogeneză) și compuși fosfatici din uroconcremente

O descriere generală care explică coprecipitarea fosfaților cu diverși ioni, rezidă în caracterul electrovalent al legăturilor existente.

În afară de această explicație, care apelează doar la informații cu caracter chimic, este cunoscut aspectul biochimic, mai ales patobiochimic, al formării cationului de  $NH_4^+$  ca o consecință a proceselor infecțioase care trec adesea neobservate la nivelul aparatului reno-urinar, dar consecințele acestora se manifestă prin apariția „starterilor” litiazici cu fosfați de amoniu (de obicei micști cu amoniu și magneziu).

## **6. METALOGramele SERICE ȘI URINARE ÎN RELAȚIE CU INTERVENȚIA CHIRURGICALĂ ȘI LITOTRIPSIA EXTRACORPOREALĂ**

### **6.1. CONSIDERAȚII GENERALE**

În practica medicală, pentru eliminarea calculilor de interes urologic se utilizează diverse metode. Între acestea prima aplicată a fost intervenția chirurgicală, prin care a fost posibilă extragerea operatorie a calculilor de la nivelul diferitelor segmente ale aparatului reno-urinar: rinichi, ureter, vezică. Intervențiile erau impuse de circumstanțe clinice limită, când eliminarea spontană nu era posibilă.

Extinderea aplicațiilor opticii și electronicii în domeniul medical, alături de perfectarea metodelor imagistice a permis diversificarea investigațiilor și metodelor terapeutice la tratarea calculozelor urinare (urolitiază) și a calculozelor biliare (cholelitiază). Între metodele moderne de tratament a litiazelor se înscrie și litotripsia, intervenția considerată non-invazivă.

Metoda cunoscută sub denumirea de „litotripsie cu unde de șoc extracorporeale” – ESWL (Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy) – a fost utilizată predilect pentru calculii renali și biliari [364, 365]. În mod curent, în limba română, pentru această metodă se utilizează termenii de: litotripsie sau litotriție (acestea fiind sinonime) sau direct ESWL denumire preluată din terminologia în limba engleză. Sub aspect istoric se cunoaște faptul că primul litotriptor a fost fabricat în anul 1980 de firma „Dornier Medizintechnik GmbH” din Germania.

Litotripsia extracorporeală este cea mai puțin agresivă metodă de tratament a litiazii reno-urinare, se pretează utilizării pentru aproximativ 70% din totalul pacienților litiazici, fiind un tratament practicabil atât la copii cât și la vârstnici, necesitând doar o simplă analgezie intravenoasă [366].

În lucrarea sa referitoare la ESWL și managementul efectelor post-terapeutice [191] precizează că metoda a fost introdusă în anul 1982. Autorul evidențiază utilitatea metodei, amintindu-se și de posibilele complicații date de unda de șoc și, în special, de migrarea fragmentelor.

Principiul de funcționare a litotriptorului rezidă în acțiunea undelor de șoc receptată ca o forță compresivă care traversează calculul producând fisuri la nivelul acestuia – acțiune directă. De asemenea, în cursul acțiunii se produce o presiune negativă generată în urma undelor de șoc – acțiunea indirectă. Rezultatul final constă în fragmentarea concrementului.

Intervenția prin ESWL trebuie precedată de investigații paraclinice și imagistice: radiografie renovezicală pe gol, urografie intravenoasă, pieloureterografie directă, uretero-pielografie retrogradă sau ecografie la nivelul diverselor segmente ale aparatului reno-urinar [367, 368, 369]. Prin acestea se pot urmări: mărimea calculului, posibila compoziție (după opacitate sau antecedente litiazice), funcționalitatea rinichiului, structura morfologică a arborelui pielocaliceal și

a ureterului în scopul evitării complicațiilor consecutive litotripsiei (e.g. infecție asociată, stază secundară, etc.)

Inițial se procedează la reperarea (localizarea) calculilor printr-o metodă imagistică radioscopie (radiografie) și/sau ecografie. După localizare se asigură vizualizarea pe monitor (ultrasunete sau raze X) și focalizarea fasciculului cu „unde de șoc” (shock wave). În final se trece la tratamentul propriu-zis. Se poate proceda la fragmentarea unui calcul prin litotripsie extracorporeală și fără anestezie generală. Uneori nu este necesară nici spitalizarea subiecților (pacienților).

Principalul beneficiu al utilizării ultrasunetelor constă în posibilitatea monitorizării în timp real a procesului de dezintegrare a concremenului și absența radiațiilor ionizante.

Energia acustică care contribuie la fragmentarea calculului se definește ca fiind energia furnizată unei suprafețe cu diametru de 12 mm situată în planul focal. Această valoare corespunde măririi calculilor pentru care se aplică această metodă. Doza energetică uzuală pentru uroconcremente este de 100-200 J [370].

Metoda se aplică cu succes la calculii localizați în rinichi și/sau în vezică. Calculii de dimensiuni mai reduse (sub 20 mm diametru) se pot elimina prin ESWL într-o unică ședință de tratament. Eficiența maximă a metodei se realizează la calculi cu diametrul de 4-20 mm localizați în rinichi. În cazul calculilor mai mari fragmentele rezultate prin dezintegrare sunt foarte numeroase. În astfel de situații există un risc crescut de apariție a complicațiilor obstructive și cu creșterea ratei de repetare a litotriției, precum și a procedurilor secundare post-ESWL.

O interesantă observație cu privire la eliminarea fragmentelor de calculi rezidă în faptul că în cazul intervențiilor prin ESWL, la nevoie, se poate introduce un „stent ureteral” din material extensibil. Astfel se poate evita obstrucția ureterului și facilita tranzitul fragmentelor de calculi vehiculate de urină.

În lucrările de specialitate există și mențiuni referitoare la faptul că „unde de șoc” prin acțiune directă, dar și prin așa-numitele „bule de cavitație” formate în mediul lichidian reprezentat de urină pot, conduce la lezarea capilarelor sanguine, în general a parenchimului renal [364, 371, 372].

Pentru aplicațiile clinice (tratamente curente) prin metoda ESWL în Clinica Universitară de Urologie din Timișoara s-a utilizat un Litotriptor Dornier Compact (fig.6-1) prevăzut cu: 1) generatorul pentru producerea undelor de șoc (cu dispozitiv piezoelectric); 2) un sistem de reperare ecografică a calculului (calculilor) cu focalizare asistată de computer; 3) pupitru de comandă; 4) masa de terapie cu mobilitate în trei planuri, prevăzută cu o decupare pentru poziționarea generatorului de unde de șoc.



Fig.6-1. Litotriptorul Dornier Compact – prezentare generală

În tratamentul prin metoda ESWL inițial se produce o fisurare a calculilor. Apoi, fisurile produse de undele de șoc sunt urmate de fragmentarea acestora și eliminare în tractul reno-urinar. După dezmembrarea uroconcrementului care a făcut obiectul tratamentului pot să apară dureri din cauza reziduurilor rezultate care tranzitează căile urinare spre a fi eliminate.

Coordonarea tratamentului este asistată de un calculator și se face de la pupitrul de control al litotriptorului (fig.6-2).



Fig. 6-2. Pupitrul de control al litotriptorului Dornier Compact

În urma tratamentului prin ESWL pot să apară și/sau complicații date de fragmentarea calculilor și migrarea acestora. Unda de șoc poate genera efecte traumatice care interesează rinichiul, dar și intestinele vizând, în general, vasele sanguine și alte organe sau țesuturi moi. Fragmentele de calculi prin migrare pot cauza obstrucția căilor urinare și complicații septice [191]. De asemenea, se pot produce hemoragii subcapsulare. În timp, astfel de leziuni pot determina hipertensiune arterială ca o consecință a tulburărilor morfo-funcționale din rinichi, urmate de modificări hemostazice.

În studiul întreprins [367] concluzionează că terapia ESWL aplicată calculilor caliceali solitari oferă rezultate bune în ceea ce privește apariția infecțiilor și limitarea durerii, deși la un procent de 55% din pacienți au rămas reziduuri calculoase.

Observațiile ulterioare, în timp, au evidențiat rezultate interesante. Astfel, după 1 lună de la litotriție erau 26/84 pacienți (31%) fără urme de calculi, după 3 luni erau 34/84 pacienți (40%) și după 6 luni 38/84 pacienți (45%). Nu aveau dureri după 1 lună 43/69 pacienți (62%), după 3 luni 50/69 pacienți (72%) și după 6 luni 59/69 pacienți (86%). Nu prezentau infecție 18/29 pacienți (62%) după 1 lună, 19/29 pacienți (66%) după 3 luni și 21/29 (72%) după 6 luni.

Date referitoare la aplicarea ESWL în Clinica Universitară de Urologie din Timișoara arată că între anii 1991-2000 au fost aplicate 6748 de proceduri [373]. Situația generală a evidențiat aplicarea ESWL alături de alte proceduri cum sunt: nefrolitotomia percutanată (1069 de cazuri) și chirurgia clasică (1057 de cazuri), ceea ce a făcut ca numărul total al procedurilor terapeutice pentru urolitiază să se ridice la 8874. Calculii supuși tratamentului prin metoda ESWL au avut localizare caliceală (în calicele renale) 84,5% - având mărimi medii de 9,2 mm, pelvică (pe traiectul ureteral) 12,7% - cu mărime medie de 12,2 mm sau alte localizări.

## **6.2. REZULTATE ALE INVESTIGAȚIILOR DE CHIMIE CLINICĂ PRE- ȘI POST-TERAPEUTIC**

Pentru evaluarea statusului homeostaziei biochimice a unui subiect se fac determinări curente asupra mai multor parametri serici și urinari, e.g. uricemia, uricuria, creatinina, concentrația metalelor din sânge și urină etc. Așa cum s-a arătat în capitolele anterioare, cunoașterea modificărilor homeostazice este importantă în profilaxia afecțiunilor litiazice, cunoscând faptul că ionii metalici intervin în procesul de urolitogeneză ca starteri ai procesului de nucleație heterogenă. Dar, este importantă și în urmărirea evoluției post-terapeutice când este așteptată redresarea echilibrului hidro-electrolitic [62, 145, 374]. Rezultatele unor astfel de investigații sunt importante pentru metafilaxie - interesând prevenirea recidivelor. De asemenea, astfel de investigații servesc și la monitorizarea cazurilor în care există afecțiuni asociate, e.g.: tulburări endocrine (paratiroidismul) care influențează statusul calcemiei și crește riscul biogenezei uroconcrementelor.

În ultimii ani s-au întreprins studii de anvergură privind posibilitățile de aplicare ale ESWL cu evaluarea predictivă a fragmentării, a manevrelor de intervenție, a tratamentelor asociate etc. - toate acestea având drept scop optimizarea utilizării litotripsiei în interesul subiecților cu uroconcremente. Pentru elucidarea acestor aspecte, investigațiile cu specific de chimie clinică pot oferi date referitoare la statusul homeostaziei biochimice post-terapeutice [62, 310, 311, 354, 358, 360, 364, 365].



Este cunoscut faptul că tratamentul urolitiazelor prin intervenții chirurgicale și prin proceduri bazate pe aplicarea ESWL este urmat de modificări ale homeostaziei biochimice, decelabile prin investigarea statusului metaboliților din sânge și urină.

Modificările homeostaziei biochimice a metaboliților prezenți în sânge și urină, sunt cauzate predilect de factori exogeni - aportul alimentar excesentar sau carentat, dar și de factori endogeni - metabolici care intervin în procesele de biodegradare și biosinteză. În cazul biogenezei litiazelor pot exista o seamă de factori favorizanți, e.g. dezechilibrele nutriționale, tulburări endocrine, greutatea corporală, prezența în sânge a promotorilor litiazici, infecții, malformații anatomice ale tractului reno-urinar etc. [24,34, 38; 356, 359, 361]. Acești factori ca și o serie de agenți complexanți, în funcție de concentrația ionilor de hidrogen (deci, condiționat de pH) pot determina apariția în exces a compușilor minerali în urină [295, 362, 363, 366, 367].

Prezența ionilor metalici în sânge și urină este dependentă de caracterele dinamice ale proceselor biologice, adică de metabolismul hidro-electrolitic, cronobiologie, homeostazie. Apariția unui dezechilibru hidro-electrolitic, care implică modificarea concentrației ionilor în țesuturi și lichide biologice este dependentă de diverși factori, între aceștia un rol preponderent având statusul nutrițional și particularitățile morfo-funcționale ale organismului.

Cercetări întreprinse asupra statusului homeostaziei biochimice a metalelor alcaline și alcalino-terose în sânge și urină au fost efectuate prin investigații de chimie clinică la subiecți la care s-au efectuat intervenții chirurgicale [145] și la subiecți care au fost supuși tratamentului prin ESWL [62].

### **6.2.1. Date analitice privind uricemia în etapa pre-terapeutică**

Îndepărtarea calculilor prin intervenții chirurgicale sau prin procedura de litotripsie (ESWL) este urmată și de modificări ale homeostaziei biochimice. Acest fapt se poate constata prin investigații de laborator specifice chimiei clinice. În astfel de situații se investighează diverși metaboliți, e.g. acid uric sanguin, metale din sânge și urină ș.a.

Pornind de la această premiză am inițiat un studiu asupra unor parametri sanguini și urinari înainte și după procedura de tratament în scopul îndepărtării uroconcrementelor. Studiul a cuprins inițial un număr de 83 subiecți cu uroconcremente dintre care 36 urmau să fie supuși intervenției chirurgicale și 47 urmau să fie tratați prin ESWL. La acești subiecți s-au recoltat probe de sânge și urină cu 48 de ore înainte de procedura terapeutică. Apoi, s-a trecut la determinarea cantitativă a unor metale alcaline (Na, K) și alcalino-terose (Ca, Mg) din probele de sânge și urina obținute.

Din probele de sânge recoltate s-au determinat și concentrațiile acidului uric (uricemia) prin metoda spectrofotometrică [127, 181].

Având în vedere faptul că obiectul acestei lucrări a abordat investigarea metaboliților purinici, pe baza valorilor analitice ale acidului uric sanguin obținute, am restrâns aria investigațiilor post-terapeutice doar la subiecții cu hiperuricemie. Pe baza acestui criteriu s-au constituit două grupuri - grupul E<sub>1</sub> format din 23 subiecți cu hiperuricemie și tratament operator (intervenție chirurgicală) și grupul E<sub>2</sub> format din 18 subiecți cu hiperuricemie și tratament prin ESWL (calculii au fost de dimensiuni sub 15 mm ale diametrului mare). Determinări analitice privind concentrația post-terapeutică a metalelor, respectiv la 72 de ore după procedura aplicată au fost efectuate doar la acești 41 subiecți.

## 6.2. Rezultate ale investigațiilor de chimie clinică pre- și post-intervențional 139

Valorile uricemiei la subiecții selectați pentru continuarea studiului și în etapa post-terapeutică, în funcție de procedura de tratament aplicată, sunt redată în tabelul 6-1.

Tabel 6-1. Valorile uricemiei în funcție de procedura terapeutică aplicată în etapa de dinainte de tratament

| Grup de subiecți | Procedura de tratament aplicată | Număr subiecți | Uricemie (mg/dL) | Valori limită (mg/dL) |
|------------------|---------------------------------|----------------|------------------|-----------------------|
| E <sub>1</sub>   | intervenție chirurgicală        | 23             | 7,62 ± 1,23      | 7,30 – 9,10           |
| E <sub>2</sub>   | tratament ESWL                  | 18             | 7,09 ± 0,97      | 6,50 – 7,80           |

În acest tabel se poate remarca faptul că uricemia la subiecții la care s-a practicat intervenția chirurgicală (E<sub>1</sub>) este mai crescută - 7,62 mg/dL, comparativ cu valorile de la subiecții la care s-a practicat tratamentul prin ESWL (E<sub>2</sub>) - 7,09 mg/dL.

Se cunoaște faptul că în condiții normale uricemia este de 3,0-6,0 mg/dL la bărbați, iar la femei 2,5-6,0 mg/dL. În general, fără a fi o situație condiționată, creșterea cantumului acidului uric sanguin (uricemia) implică și creșterea cantumului acidului uric urinar (uricozuria). În condiții normale valorile uricozuriei sunt de 250-700 mg/24h (corespunzând la 1,5-4,2 μM/L). De asemenea, se știe că în majoritatea cazurilor de uricemie crescută pot apărea litiaze urice simple sau mixte (e.g. urați-oxalați, urați-fosfați).

Acidul uric este un acid slab cu pKa la 5,4. In vitro, la pH-ul corespunzător jumătate există sub formă greu solubilă, nedisociată iar restul sub formă solubil-ionizată (urat). Odată cu creșterea pH, crește solubilitatea. La pH-ul 5 solubilitatea este mai mică de 1 mmol/L (150 mg/L), iar la pH 7 devine 12 mmol/L (2000 mg/L). Astfel alcalinizarea urinei ar reduce creșterea / recurența calculilor și ar contribui la dezagregarea acestora [368, 369].

### 6.2.2. Date analitice privind metalogramele pre- și post-terapeutic

Concentrația metalelor în organism este menținută prin mecanisme homeostazice, putând fi influențată și de factori de mediu, vârstă, procese de bioacumulare, etc. Excesul unor metale poate conduce la interacții competitive în sistemele biologice modificând statusul metabolic normal și inducând anumite boli (endocrinopatii, enzimopatii, litiaze etc.).

Prioritar interesează electroliții, deoarece procesul de biogenează a uroconcrementelor este receptat ca o tulburare a metabolismului hidro-electrolitic [145, 370, 371]. Acest proces poate interesa alături de metale și alți metaboliți, e.g. proteinele, creatinina. Există investigații, bazate pe metode specifice chimiei clinice, în care s-au făcut determinări atât asupra unor enzime serice cât și a principalelor electroliți (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>), decelându-se modificări semnificative semnificative [377, 378, 379, 380].

Studiul prezent și-a propus obținerea unor date privind statusul homeostaziei unor metale alcaline (Na, K) și alcalino-terose (Ca, Mg) în sângele și urina subiecților cu urolitiază și hiperuricemie, înainte de îndepărtarea

140 Metalograme serice și urinare în relație cu intervenția chirurgicală și ESWL - 6

uroconcrementelor precum și cuantumul acestora după îndepărtarea calculilor prin intervenții chirurgicale sau prin procedura ESWL.

Rezultatele obținute au fost interpretate statistic printr-o metodă computerizată folosind programul EXDATAN (Experimental Data Analysis), determinând valorile medii ( $\bar{X}$ ) și deviația standard (DS).

Actualele cercetări constituie o continuare a studiilor inițiate de [145] asupra statusului homeostazic al metalelor alcaline și alcalino-teroase din sânge și urină efectuate înainte (48 ore) și după intervenție (72 ore) la pacienții (subiecții) cu urolitiază.

Determinarea concentrațiilor pentru Na și K s-a făcut prin metoda flamfotometrică. Pentru determinarea Ca s-a folosit titrimetria – metodă complexometrică cu sarea disodică a acidului etilendiaminotetraacetic (EDTA). Determinarea Mg s-a făcut prin metoda spectrofotometrică ( $\lambda = 540 \text{ nm}$ ) cu galben de titan [17, 127, 181]

Rezultatele cercetărilor asupra concentrației metalelor alcaline și alcalino-teroase, așa numitele metalograme, pre- și post-procedură terapeutică (intervenție chirurgicală sau ESWL) sunt redată în tabele distincte pentru parametri sanguini și urinari.

În tabelul 6-2 se redau valorile concentrațiilor metalelor din sânge în mmol/L la subiecții cu urolitiază îndepărtate chirurgical.

Tabel 6-2. Metalogramele serice ale subiecților cu uroconcremente îndepărtate chirurgical

| Specificare             |    | UM   | Grupa $E_1$ subiecți ( $n_1$ ) | Pre-operator |                    | Post-operator |                    | $\Delta X$ ( $X_1 - X_2$ ) |
|-------------------------|----|------|--------------------------------|--------------|--------------------|---------------|--------------------|----------------------------|
|                         |    |      |                                | $n_i$        | $X_1 \pm DS$       | $n_f$         | $X_2 \pm DS$       |                            |
| Metale alcaline         | Na | mM/L | 23                             | 23           | $136,12 \pm 23,81$ | 21            | $143,91 \pm 30,16$ | + 7,79                     |
|                         | K  |      | 23                             | 23           | $4,46 \pm 0,34$    | 21            | $4,18 \pm 0,48$    | - 0,28                     |
| Metale alcalino-teroase | Ca |      | 23                             | 23           | $2,59 \pm 0,29$    | 21            | $2,73 \pm 0,61$    | + 0,14                     |
|                         | Mg |      | 23                             | 23           | $1,15 \pm 0,23$    | 21            | $1,07 \pm 0,26$    | - 0,08                     |

Notă:  $n_1$  – număr total subiecți

Date referitoare la concentrația metalelor în sânge la subiecți cu urolitiază îndepărtate prin ESWL sunt prezentate în tabelul 6-3.

Tabel 6-3. Metalogramele serice ale subiecților cu uroconcremente îndepărtate prin ESWL

| Specificare             |    | UM   | Grupa $E_2$ subiecți ( $n_2$ ) | Pre-litotripsie |                    | Post- litotripsie |                    | $\Delta X$ ( $X_1 - X_2$ ) |
|-------------------------|----|------|--------------------------------|-----------------|--------------------|-------------------|--------------------|----------------------------|
|                         |    |      |                                | $n_i$           | $X_1 \pm DS$       | $n_f$             | $X_2 \pm DS$       |                            |
| Metale alcaline         | Na | mM/L | 18                             | 18              | $138,93 \pm 29,16$ | 17                | $143,69 \pm 45,13$ | + 4,76                     |
|                         | K  |      | 18                             | 18              | $4,49 \pm 0,37$    | 17                | $4,29 \pm 0,52$    | - 0,20                     |
| Metale alcalino-teroase | Ca |      | 18                             | 18              | $2,51 \pm 0,26$    | 17                | $2,72 \pm 0,37$    | + 0,21                     |
|                         | Mg |      | 18                             | 18              | $1,08 \pm 0,17$    | 17                | $1,04 \pm 0,29$    | - 0,04                     |

Notă:  $n_2$  – număr total subiecți

## 6.2. Rezultate ale investigațiilor de chimie clinică pre- și post-intervențional 141

În tabelele referitoare la metalogramele serice și urinare s-a notat prin  $n_1$  - numărul subiecților din grupa  $E_1$ , prin  $n_i$  - numărul subiecților din grupa  $E_1$  înainte de intervenția chirurgicală, și prin  $n_f$  - numărul subiecților din grupa  $E_1$  după intervenția chirurgicală. De asemenea, s-a notat prin  $n_2$  - numărul subiecților din grupa  $E_2$ , prin  $n_i$  - numărul subiecților din grupa  $E_2$  înainte de ESWL, și prin  $n_f$  - numărul subiecților din grupa  $E_1$  după ESWL.

Din metalogramele serice ale subiecților supuși intervențiilor chirurgicale și subiecților supuși tratamentelor ESWL se remarcă creșterea post-terapeutică a valorilor natriemiei și calciemiei și depresia valorilor kaliemiei și magnezemiei. Se observă faptul că atât creșterea, cât și depresia acestor valori, este mai accentuată pentru subiecții la care s-a intervenit chirurgical.

În fig.6-3 se prezintă histograme pentru concentrația din serul sanguin a metalelor alcaline (i.e natriemia și kalemia) și a metalelor alcalino-teroase (i.e. calcemia și magnezemia) la subiecții supuși intervenției chirurgicale.

O remarcă generală privind aceste modificări conduce spre observația că pentru metalele Na și Ca, care în organism se află predominant în mediul extracelular, există creșteri ale valorilor post-operatorii. Similar, pentru metalele K și Mg, cu distribuție predominant intracelulară, există scăderi ale valorilor post-operatorii.

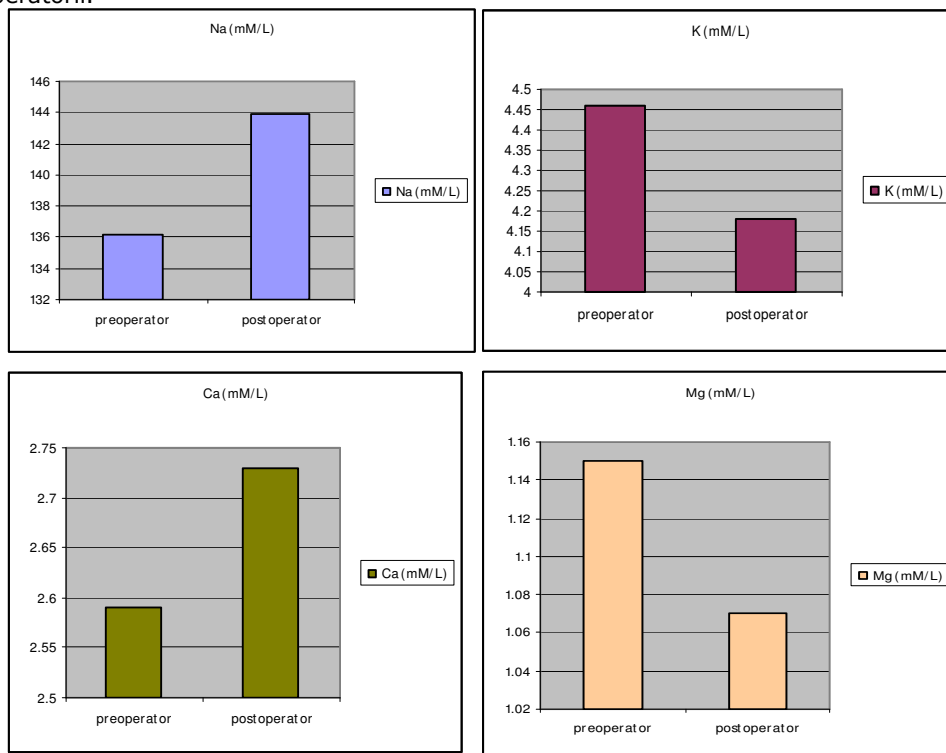


Fig.6-3. Histograme privind concentrația metalelor alcaline și alcalino-teroase în serul sanguin la subiecții supuși tratamentului chirurgical  
a) natriemia; b) kalemia; c) calcemia; d) magnezemia

Pentru metalele determinate analitic la subiecții supuși tratamentului prin ESWL se prezintă, de asemenea, histograme pentru natriemie și kaliemie, respectiv pentru calciemie și magnezemie (fig.6-4).

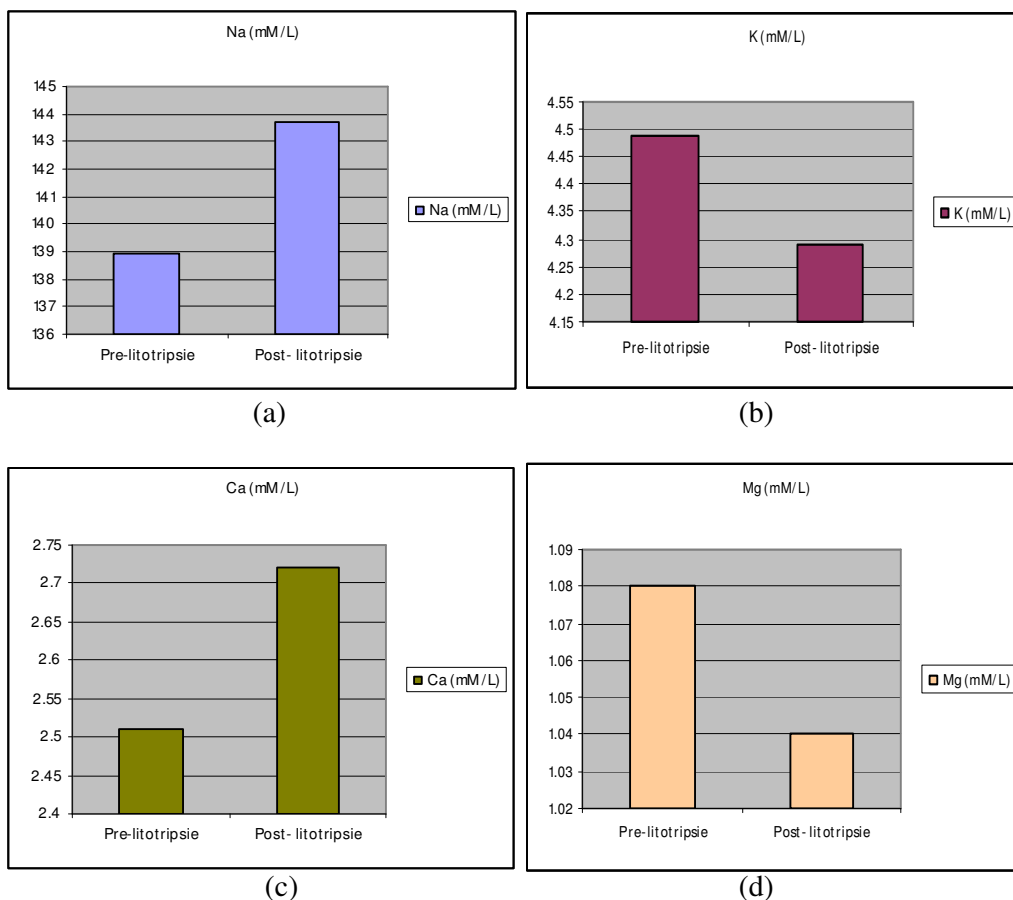


Fig.6-4. Histograme privind concentrația metalelor alcaline și alcalino-terose în serul sanguin la subiecții supuși tratamentului prin ESWL  
a) natremia; b) kalemia; c) calcemia; d) magnezemia

Rezultatele obținute pentru metalogramele sanguine indică o dishomeostazie instalată post-operator, respectiv post-litotripsie care constă în creșterea natriemiei și calciemiei și scăderea kaliemiei și magnezemiei.

Comparând însă metalogramele sanguine post-terapeutice, indiferent de procedura aplicată pentru îndepărtarea uroconcrementelor, nu au fost constatate diferențe semnificative.

Valorile obținute în investigațiile acestei teze se încadrează în limitele prezentate în literatura de specialitate. Pentru sânge, valorile homeostaziei

## 6.2. Rezultate ale investigațiilor de chimie clinică pre- și post-intervențional 143

biochimice evidențiază următoarele date : Na 100-142 mM/L; K 3,50-4,50 mM/L; Ca 2,25-2,60 mM/L; Mg 0,70-1,11 mM/L [143, 181]. După [375] valorile pentru sânge sunt: Na 137-147 mM/L; K 3,60-5,50 mM/L; Ca 2,25-2,60 mM/L; Mg 0,80-1,00 mM/L.

Modificări homeostazice în stadiul post-operator au fost decelate, de asemenea, în metalogramele urinare prezentate în tabelul 6-4 pentru subiecții cu urolitiază îndepărtate chirurgical (grupa E<sub>1</sub>). Datele analitice privitoare la metalogramele urinare sunt exprimate în funcție de excreția circadiană (mM/24h).

Tabel 6-4. Metalogramele urinare ale subiecților cu uroconcremente îndepărtate chirurgical

| Specificare              |    | UM     | Grupa E <sub>1</sub> subiecți (n <sub>i</sub> ) | Pre-operator   |                     | Post-operator  |                     | ΔX (X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> ) |
|--------------------------|----|--------|---|----------------|---------------------|----------------|---------------------|--------------------------------------|
|                          |    |        |   | n <sub>i</sub> | X <sub>1</sub> ± DS | n <sub>f</sub> | X <sub>2</sub> ± DS |                                      |
| Metale alcaline          | Na | mM/24h | 23  | 23             | 142,76 ± 23,01      | 21             | 159,97 ± 38,12      | + 17,21                              |
|                          | K  |        | 23  | 23             | 42,19 ± 7,86        | 21             | 37,28 ± 11,36       | - 4,91                               |
| Metale alcalino-tereoase | Ca |        | 23  | 23             | 5,51 ± 0,37         | 21             | 6,49 ± 0,82         | + 0,98                               |
|                          | Mg |        | 23  | 23             | 3,18 ± 0,41         | 21             | 3,49 ± 0,86         | + 0,31                               |

Notă: n<sub>1</sub> – număr total subiecți

În literatura de specialitate pentru metalogramele urinare sunt indicate următoarele valori : Na 100-300 mM/24h; K 40-100 mM/24h; Ca 1,25-7,50 mM/24h; Mg 2,50-8,20 mM/24h [143, 181].

Se prezintă, de asemenea, datele după [375] pentru metalogramele urinare: Na 130 – 260 mM/24h; K 40 - 100 mM/24h; Ca 7,5 mM/24h; Mg 1,50 - 7,50 mM/24h.

Diferențele între datele de referință din literatura de specialitate sunt explicate – în chimia clinică – de varietatea metodelor analitice utilizate, ca și de grupele (loturile) de subiecți (urmărindu-se ca referirea să includă zone geografice diferite).

Pentru metalogramele urinare ale subiecților la care extragerea calculilor s-a făcut pe cale chirurgicală se prezintă în histogramele din fig.6-5.

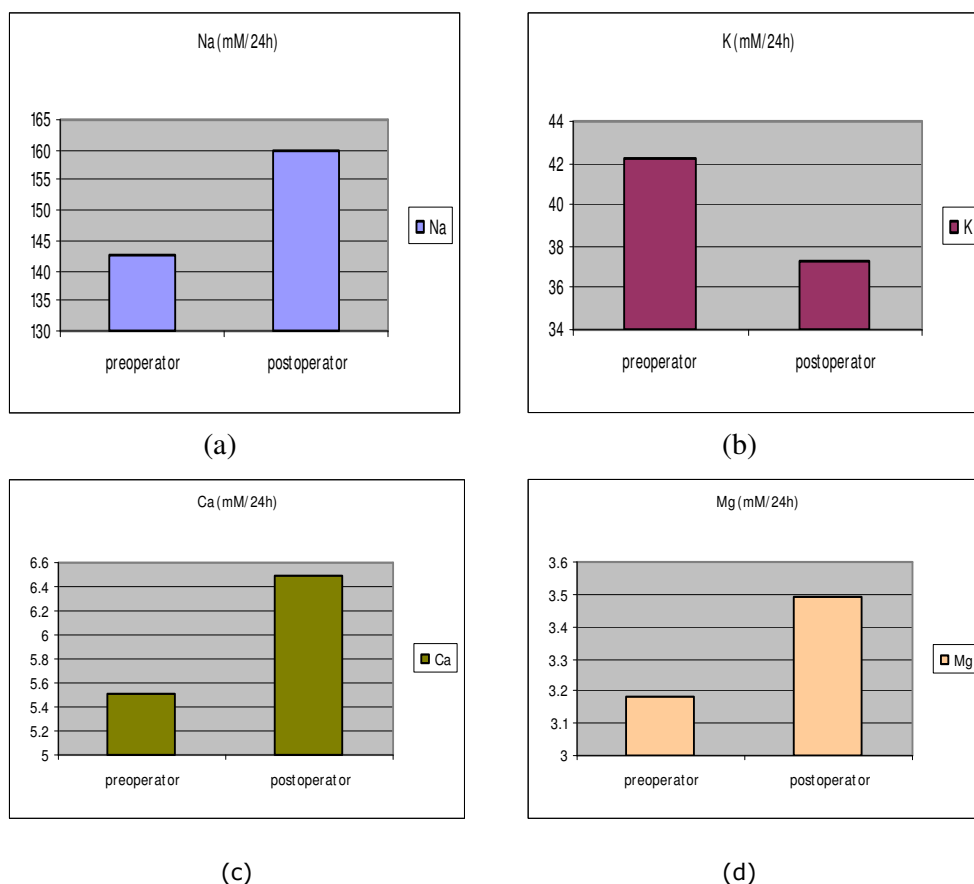


Fig.6-5. Histograme privind concentrația metalelor alcaline și alcalino-tereoase în urină la subiecții supuși tratamentului chirurgical  
a) natriuria; b) kaliuria; c) calciuria; d) magnezuria

Date privind investigațiile pre- și post-operator s-au dat și pentru subiecții din grupa supusă tratamentului prin ESWL. În tabelul 6-5 se prezintă metalogramele urinare ale subiecților tratați prin ESWL.

În cazul metalogramei urinare se observă scăderea valorilor kaliuriei, atât la subiecții la care s-a intervenit chirurgical ( $E_1$ ) cât și la subiecții la care s-a intervenit prin proceduri ESWL ( $E_2$ ). De asemenea, se observă o creștere a valorilor natriuriei, calciuriei și magnezuriei în ambele grupe luate în studiu.

## 6.2. Rezultate ale investigațiilor de chimie clinică pre- și post-intervențional 145

Tabel 6-5. Metalogramele urinare ale subiecților cu uroconcremente îndepărtate prin ESWL

| Specificare              | UM | Grupa E <sub>2</sub> subiecți (n <sub>2</sub> ) | Pre- litotripsie |                     | Post- litotripsie |                     | $\Delta X$ (X <sub>1</sub> - X <sub>2</sub> ) |         |
|--------------------------|----|---|------------------|---------------------|-------------------|---------------------|---|---------|
|                          |    |   | n <sub>i</sub>   | X <sub>1</sub> + DS | n <sub>f</sub>    | X <sub>2</sub> + DS |   |         |
| Metale alcaline          | Na | mM/24h  | 18               | 18                  | 148,37±30,52      | 17                  | 161,93±48,12                                  | + 13,56 |
|                          | K  |   | 18               | 18                  | 45,62 ± 8,17      | 17                  | 42,09 ± 17,01                                 | - 3,53  |
| Metale alcalino-tereoase | Ca |   | 18               | 18                  | 5,42 ± 0,31       | 17                  | 5,99 ± 0,72                                   | + 0,57  |
|                          | Mg |   | 18               | 18                  | 3,46 ± 0,23       | 17                  | 3,69 ± 0,54                                   | + 0,23  |

Notă: n<sub>2</sub> – număr total subiecți; P<0,05

Comparând cele două grupe de subiecți, se constată că valori mai mari post-operator s-au decelat la primul grup (E<sub>1</sub>) reprezentând subiecți la care s-a intervenit prin îndepărtarea chirurgicală a calculilor.

Pentru metalogramele urinare ale subiecților la care extragerea calculilor s-a făcut pe cale chirurgicală se prezintă în histogramele din fig.6-6.

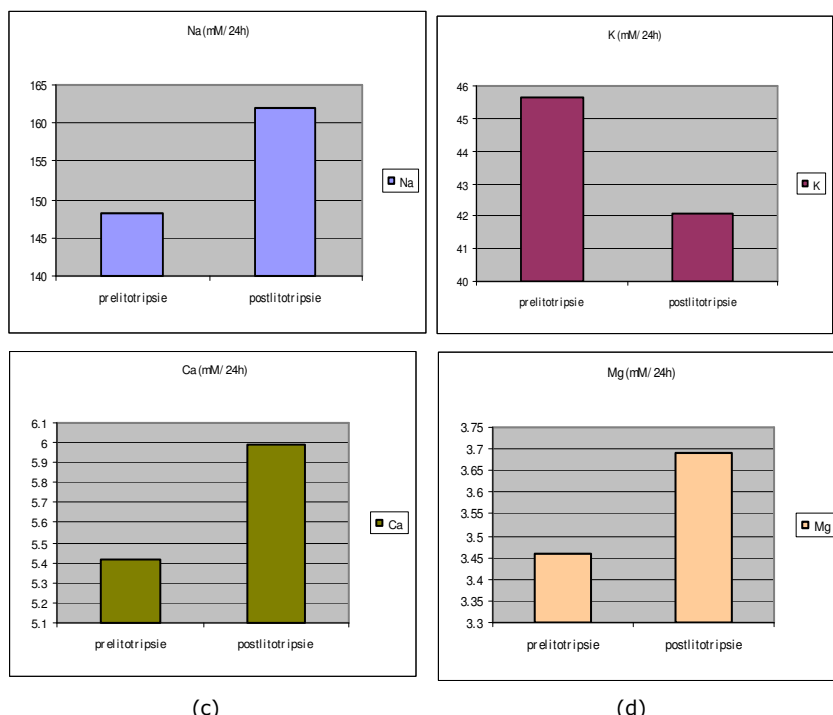


Fig.6-6. Histograme privind concentrația metalelor alcaline și alcalino-tereoase în urină la subiecții supuși tratamentului ESWL

a) natriuria; b) kaliuria; c) calciuria; d) magneziuria

Lucrări preliminare [62, 188] au indicat valori ușor diferite care ar putea fi explicate prin variația distribuției ionilor metalici în mediul intracelular și faptul că nu s-a procedat la o selecție după valorile uricemiei subiecților luați în studiu.



În literatura de specialitate sunt puține date care se referă la rezultate obținute în urma investigațiilor asupra homeostaziei biochimice în relație cu litiazele și procedura terapeutică de înlăturare a acestora.

Un studiu efectuat de [365] a urmărit evaluarea biochimică înainte și după ESWL a unor parametri din sângele și urina colectate în 24 ore. Rezultatele au evidențiat o creștere semnificativă a N-acetil-glucozaminidazei, creatininei, proteinuriei și a creatininei serice și a potasiului. A scăzut clearance-ul creatininei, osmolalitatea urinară și clearance-ul acidului uric. În ziua 7 și ziua 15 nu au mai fost observate diferențe față de valorile pre-ESWL.

Investigații întreprinse în etapa pre-ESWL și post-ESWL au arătat că în cazul probelor sanguine prelevate la 24 ore după intervenție, a crescut semnificativ natriemia, potasemia și cloremia. La cinci zile după intervenție valorile acestora au scăzut treptat, revenind la valorile obținute în perioada pre-ESWL. În cazul determinărilor efectuate în condițiile descrise asupra electroliților din urină autorii au constatat, de asemenea, creșteri semnificative ale concentrațiilor sodiului, potasiului și clorului în primele 24 de ore, urmată de scăderea treptată a acestora după cinci zile. Autorii consideră că nivelurile crescute ale acestor parametri urinari și serici sunt indicatori ai disfuncției tubulare.

Un alt studiu efectuat de [381] se referă la concentrația unor enzime urinare, alanină, microalbumină și concentrației sodiului, potasiului și calciului urinar după procedura ESWL. Acești autori au remarcat valori maxime pentru concentrația metalele enumerate mai sus la 3 zile de la ESWL și o revenire acestora după 7 zile.

Determinările analitice interesând metabolismul hidro-electrolitic (în speță Na, K, Cl) au fost extinse și asupra unor enzime serice: fosfataza alcalină (ALP), lactatdehidrogenaza (LDH) și transaminazele (SGOT și SGT). La acestea, în toate cazurile, au fost decelate valori crescute după cinci zile și revenire la stadiul pre-ESWL. Autorii prezintă aceste date fără a încerca o explicație în raport cu procesele metabolice la care participă enzimele.

În general modificările legate de proteine (în speță protein-enzime), sunt considerate a fi tributare leziunilor produse la nivelul parenchimului renal și, în general, al tractului reno-urinar [168].

Există și cercetări privind efectele ESWL asupra animalelor de laborator. Astfel, [343] au prezentat rezultate ale cercetărilor experimentale asupra unor loturi de șobolani masculi linia Wistar (grupe de control – 6 animale și experimental – 6 animale). La lotul experimental s-a aplicat ESWL. Analitic s-au urmărit, după sacrificarea animalelor (la 72 ore după ESWL) statusul oxidant / antioxidant al unor compuși serici (malonil aldehida-MDA; superoxid dismutaza-SOD; glutationul-GSH; glutation peroxidaza-GSH-Px) și câteva oligoelemente metalice din țesutul renal (Fe, Mg, Cu, Pb, Mn, Zn, Cd, Ni).

În cazul elementelor metalice luate în studiu acestea oferă o imagine a injuriei biochimice produse la nivelul țesutului renal. Din experiment s-a decelat la grupa tratată prin ESWL valori crescute ale concentrației Mg și valori scăzute ale concentrației Fe, Cu, Pb, Mn, Cd, Ni și Zn (nesemnificative pentru acesta din urmă). Efectuarea de cercetări experimentale pe animale atestă interesul manifestat pentru problema homeostaziei în relație cu aplicarea procedurilor ESWL.

Importanța investigațiilor asupra metalogramelor serice și urinare la subiecții cu litiaze prezintă interes pentru considerentul că oferă informații asupra modificărilor homeostaziei biochimice post-intervențional (chirurgie, litotripsie). Informațiile permit instituirea măsurilor terapeutice pentru rezolvare dezechilibrelor hidro-electrolitice în relație cu metabolismul nucleoproteinelor.

## CONCLUZII

1. Extinderea utilizării metodelor fizico-chimice în cercetarea științifică din domeniul analiticii biochimice a permis depășirea cadrului specific chimiei clinice. Aplicarea acestor metode în investigarea calculilor reno-urinari a permis stabilirea cu acuratețe a compoziției calitative și cantitative a acestora. În acest scop au fost utilizate:
  - 1.1. Spectroscopia în infraroșu clasică (IR) și/sau cu transformare Fourier (FT-IR), care a făcut posibilă identificarea calitativă a compușilor chimici specifici uroconcrementelor și precizarea tipurilor de litiaze;
  - 1.2. Spectroscopia de absorbție atomică (SAA) prin care s-a putut proceda la determinarea concentrației metalelor alcaline (Na, K), alcalino-teroase (Ca, Mg) și a unor microelemente metalice (Zn, Cu, Fe, Mn). Astfel a fost posibilă explicitarea, indirectă, a mecanismului nucleației heterogene bioanorganice în urolitogeneză.
2. Investigațiile bazate pe spectroscopia în infraroșu simplă (IR) și/sau cu transformare Fourier (FT-IR) au fost extinse asupra unui număr de 237 subiecți care au prezentat calculoze urinare, prelevate de la 103 bărbați și 134 femei. Cu ajutorul spectrelor IR și FT-IR s-au putut decela tipurile de urolitiază specifice subiecților luați în studiu. În acest cadru s-au decelat 143 cazuri de litiaze simple (66 bărbați și 77 femei) și 94 cazuri de litiaze mixte (37 bărbați și 57 femei).
3. Subiecții cu urolitiază simplă stabiliți prin evaluarea spectrelor în infraroșu ale calculilor reno-urinari în raport cu spectrele etalon au reprezentat cazuistica următoare: a) cazuri cu acid uric și urați; b) cazuri cu oxalați; c) cazuri cu fosfați; d) cazuri cu cistină.

Dintre litiazele purinice au fost decelate doar litiaze cu acid uric și urați predominante zonei geografice reprezentată de Banat. Nu s-au decelat litiaze cu xantină și respectiv 2,8-dihidroxiadenină.

Se menționează faptul că prelevarea calculilor s-a făcut în funcție de acceptul/solicitarea subiecților pentru care s-a propus investigarea. Deci nu se poate face o evaluare care să prezinte specificul calculozelor într-o raportare procentuală (în prezentele cercetări) care ar ilustra specificul zonei geografice.
4. Subiecții cu urolitiază mixte au evidențiat prezența a 2 sau 3 compuși diferiți. Astfel s-au distins: a) urolitiază binară la un număr de 84 cazuri din care 32 bărbați și 52 femei, iar gruparea pe tipuri de litiaze a fost următoarea: urați-oxalați (U-O) – 9 cazuri; oxalați-urați (O-U) – 19 cazuri; fosfați-urați (P-U) – 5 cazuri; oxalați-fosfați (O-P) – 31 cazuri; oxalați-colesterol (O-COL) – 3 cazuri; fosfați-oxalați (P-O) – 15 cazuri; fosfați-carbonați (P-CARB) – 2 cazuri; urolitiază ternară la 10 subiecți, din care 5 bărbați și 5 femei cu tipurile: oxalați-urați fosfați (O-U-P) – 8 cazuri și fosfați-oxalați-carbonați (P-O-CARB) – 2 cazuri.

5. Investigațiile asupra compoziției chimice interesând metalele alcaline (Na, K) în urolitiazele purinice (în speță urină), au evidențiat la litiazele o variație similară la Na și K. În studiul întreprins, seria descrescătoare a concentrațiilor acestor metale în variatele litiaze (simple și mixte) este următoarea:
- Na: O-U-P > O-U > P-U > U-O > U  
K: O-U-P > O-U > P-U > U-O > U
6. Pentru metalele alcalino-teroase luate în studiu (Ca, Mg) la urolitiazele purinice (urice) s-au înregistrat diferențe notabile ale concentrațiilor constatându-se faptul că atât la Ca cât și la Mg cele mai mari valori au fost la litiaza mixtă ternară cu O-U-P, iar cele mai reduse la litiaza simplă cu urați. Evaluând situația, per ansamblu, s-a constatat la metalele alcalino-teroase (în diferite litiaze) evidențiază următoarea serie descrescătoare a concentrațiilor :
- Ca: O-U-P > O-U > P-U > U-O > U  
Mg: O-U-P > O-U > P-U > U-O > U
7. În cazul microelementelor metalice investigate, pentru urolitiazele purinice simple și mixte (interesând Zn, Cu, Fe, Mn) s-au decelat valori mult diferite. Situația seriei descrescătoare a concentrației acestora se prezintă după cum urmează:
- Zn: O-U-P > O-U > P-U > U-O > U  
Cu: U > U-O > O-U > O-U-P > P-U  
Fe: P-U > O-U > O-U-P > U-O > U  
Mn: O-U > O-U-P > U-O > P-U > U
8. Având în vedere specificul biogenezei uroconcrementelor în litiazele purinice (urice) caracterizate prin legături polare slabe, comparativ cu litiazele fosfatice caracterizate prin existența unor legături polare puternice, s-a efectuat o comparație între grupe de subiecți distincte.
- 8.1. Astfel, în cazul litiazelor predominant urice au existat subiecți cu: litiaze de tipul urați (U), urați-oxalați (U-O), oxalați-urați (O-U), oxalați-urați-fosfați (O-U-P).
- 8.2. În cazul litiazelor predominant fosfatice au fost decelate cazuri cu litiază simplă și litiaze mixte cu fosfați-oxalați (P-O), oxalați-fosfați (O-P), oxalați-fosfați-urați (O-P-U).
9. Metalogramele privitoare la metalele alcaline și alcalino-teroase în litiazele simple predominant urice s-a observat o depresie a concentrațiilor în seria:
- Ca > Na > K > Mg
- Procedând în mod similar la evaluarea metalogramelor pentru litiazele simple predominant fosfatice s-a constatat depresia concentrațiilor în seria :
- Ca > Mg > Na > K
10. În cazul metalogramelor specifice litiazelor mixte s-au decelat, de asemenea, variații ale compoziției metalice, diferite de la litiazele binare la litiazele ternare.
- 10.1. În cazul litiazelor binare s-a constatat pentru metalele alcaline și alcalino-teroase că există o concentrație mai mare a Ca și Na în litiazele cu urați-oxalați (U-O) și a Ca și Mg în litiazele cu fosfați-

oxalați (P-O). În cazul microelementelor metalice se remarcă valori mai crescute ale Fe și Zn pentru litiazele cu urați-oxalați și respectiv a Zn și Fe pentru litiazele cu fosfați-oxalați (P-O).

- 10.2 Pentru litiazele mixte ternare, având în vedere caracterul predominant al uraților, respectiv fosfaților, s-au putut efectua observații comparative : În cazul litiazelor ternare cu oxalați-urați-fosfați (O-U-P) au existat valori mai crescute ale Na, Mg, Fe, Zn. Spre deosebire de acestea, în cazul litiazelor cu oxalați-fosfați-urați (O-U-P) valori mai mari s-au înregistrat la K, Ca, Cu, Mn. Concentrația microelementelor metalice relevă diferențe mici. Se face însă remarca acestor diferențe pentru considerentul că și ionii acestor sunt implicați în biogeneza litiazelor prin polaritate, facilitând procesul de nucleație heterogenă bioanorganică.
11. Studiul metalogramelor referitoare la urolitiază s-a extins și la evaluarea concentrației sanguine și urinare a metalelor alcaline (Na, K) și alcalino-terose (Ca, Mg) în relație cu metoda aplicată pentru eliminarea formațiunilor litiazice: intervenția chirurgicală, respectiv litotripsia extracorporeală, numită uzual „litotripsie cu unde de șoc extracorporeale” - ESWL (Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy). Investigarea acestora a permis o evaluare a statusului homeostaziei biochimice serice și urinare a metalelor alcaline și alcalino-terose la subiecții luați în studiu. Observațiile sunt importante pentru faptul că fac posibilă orientarea conduitei clinice în terapia post-intervențională. Având în vedere specificul temei abordate - litiazele purinice - s-a procedat la evaluarea uricemiei în stadiul pre-intervențional (pre-operator, respectiv pre-litotripsie) la subiecții din eșantioanele luate în studiu. La primul eșantion ( $E_1$ ) reprezentat de 23 subiecți supuși intervenției chirurgicale, uricemia medie a fost 7,62 mg/dL, iar la eșantionul secund ( $E_2$ ), limitat la un număr de 18 subiecți, supus terapiei prin ESWL uricemia a fost 7,09 mg/dL.
12. Metalogramele serice și urinare au evidențiat următoarele aspecte:
- 12.1. Pentru cazul îndepărtării chirurgicale a calculilor s-a constatat: a) la metalograma sanguină: creșterea post-operatorie a natriemiei și calcemiei; scăderea post-operatorie a kaliemiei și magneziemiei; b) la metalograma urinară: creșterea post-operatorie a natriuriei, calciuriei și magneziuriei; scăderea post-operatorie a kaliuriei.
- 12.2. Pentru cazul îndepărtării calculilor prin litotripsie cu unde de șoc extracorporeale (ESWL) s-a constatat: a) la metalograma sanguină : creșterea post-litotripsie a natriemiei și calcemiei; scăderea post-litotripsie a kaliemiei și magneziemiei; b) la metalograma urinară: creșterea post- litotripsie a natriuriei, calciuriei și magneziuriei ; scăderea post- litotripsie a kaliuriei.
- Deși există similitudini în privința augmentării și depresiei valorilor decelate la compararea efectelor post-terapeutice, se remarcă totuși existența unor valori mai mari la subiecții supuși intervenției chirurgicale.
- Datele analitice obținute sunt importante sub raportul cercetării fundamentale - evidențiază efectele dishomeostaziei biochimice și sub aspectul cercetării aplicative - contribuție la orientarea conduitei clinice în terapia și metafilaxia urolitiazelor.

## REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. G.D. Chisholm and D.I. Williams, *Scientific Foundations of Urology*, 2nd ed. W.Heineman Medical Books Ltd., London, 1984.
2. E. Proca (Ed.), *Tratat de patologie chirurgicală. Vol.VIII, Urologie. Partea a II-a*, Ed. Medicală, București, 1984.
3. F.L. Coe and J.H. Parks, *Nephrolithiasis. Pathogenesis and treatment*, 2nd ed., Year Book Medical Publishers, Inc., Chicago-London-Boca Raton, 1988.
4. C. Türk, T. Knoll, A. Petrik, K. Sarica, M. Straub and C. Seitz, *Guidelines on urolithiasis*, European Association of Urology, 2011 .
5. M. Zetkin, E.H.Kühtz and K.Fitchel, *Wörterbuch der Medizin*, VEB Verlag, Volk und Gesundheit, Berlin, 1968.
6. C. Borundel, A. Condacse and C.I. Rădulescu, *Hiperuricemiile*, Ed. Medicală, București, 1976.
7. N.J. Blacklock, Epidemiology of urolithiasis. pp. 251-259, in *Scientific Foundations of Urology* (Eds. Chisholm G.D., Williams I.D.), W.Heineman Medical Books Ltd., London, 1982.
8. I. Năstoiu, *Boala oxalică*, Editura Militară, București, 1984.
9. A.G. Gornall (Ed.), *Applied Biochemistry of Clinical Disorders*, J.B. Lippincott Company Philadelphia, 1986.
10. N. Bullock, G. Sibley and R. Whitaker, *Essential urology*, Churchill Livingstone, Edinburgh-London-Melbourne-New York, 1989.
11. T. Kodaka, K. Debari, T. Sano and M. Yamada, Scanning electron microscopy and energy-dispersive X-ray microanalysis studies of several human calculi containing calcium phosphate crystals. *Scanning Microsc.*, 1994, 8 (2), 241-56.
12. L.A. Kaplan, A.J. Pesce and S.C. Kazmierczak, *Clinical Chemistry: Theory, analysis and correlation*, 3rd ed., Mosby-Year Book Inc., St. Louis, 1996.
13. A. Kamoun, A. Zghal, M. Daudon, S.B. Ammar, L. Zerelli, J. Abdelmoula, B. Chaouachi, T. Houissa, C. Belkahia and R. Lakhoua, Urinary calculi in children: epidemiological, biological and mineralogical aid to diagnosis, *Archives de Pediatrie*, 1997, 4(7), 629-638I. Teodorescu-Exarcu, N. Ursea, Em. Manolescu and Gh. Badiu, *Fiziologia și fiziopatologia excreției*. Editura Medicală, București, 1980.
15. P. Drăgan, *Curs de urologie*, Lito U.M.F., Timișoara, 1991.
16. C.T. Samuel and G.P. Kasidas, Biochemical investigations in renal stone formers. *Ann. Clin. Biochem.*, 1995, 32 ( Pt 2), 112-122.

17. L.A. Kaplan and A.J. Pesce (Eds.), *Clinical chemistry: theory, analysis, correlation*, 5th ed, Elsevier Mosby, Portland, 2010.
18. R.E. Sours and A.J. Swift, The relationship between uric acid crystals and kidney stone disease, *ACA Transactions*, 2004, 39, 83-89.
19. I. Sinescu, Litiaza aparatului urinar, pp.141-155, în *Urologie clinică* (Ed. I. Sinescu), Ed. Medicală Amaltea, București, 1998.
20. A.J. Butt, *Etiologic factors in renal lithiasis*, Vol.1, Publ. by Thomas, Springfield (Ill), 1956.
21. G. Eknayan, History of Urolithiasis, *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism*, 2004, 2(3), 177-185.
22. E.C. Rosenow and I.G.Meisser, The production of urinary calculi by the devitalization and infection of teeth in dogs with streptococci from cases of nephrolithiasis. *Arch. Int. Med.*, 1923, 31, 803.
23. D.E. Beischer, Analysis of renal calculi by infrared spectroscopy, *J.Urol.*, 1955, 73, 653-659.
24. J. Joost and R. Tessadri, Trace element investigations in kidney stone patients. *Eur.Urol.*, 1987, 13, 264-270.
25. Z. Nagy, E. Szabo and M. Kelenhegyi, Spektralanalytische Untersuchungen von Nierensteinen auf metallische Spurenelemente. *Z. Urol.*, 1963, 56, 185-190.
26. M. Anke, and H.J. Schneider, Die Bedeutung der Spurenelemente in der Pathogenese und Therapie der Urolithiasis, pp.116-126, in *III. Jenaer Harnsteinsymposium* (Hrsg. Hienzsch E., Schneider H.-J.), Friedrich Schiller Universität Jena, 1973.
27. Z. Gârban, L. Cristescu, V. Mihalca and P. Drăgan, Considerații asupra mecanismului bioanorganic în patogeneza urolitiazelor purinice, *Timișoara Medicală*, 1981, 26(4), 54-61.
28. I.Yamamoto, M.Itoh and S.Tsukada, Metal content of human urinary calculi, *Medicine and Biology*, 1982, 104(5), 355-357.
29. J. Bellanato and I. Cifuentes, Calcium in urate calculi. pp.293-304, in *Pathogenese und Klinik der Harnsteine XI*, (Hrsg. G. Gasser, W. Vahlensieck), Steinkopff-Verlag Darmstadt, 1985.
30. G. Strubel, V. Rzepka-Glinder, K.H. Grobecker and K. Jarrar, Heavy metals in human urinary calculi. Determination of chromium, lead, cadmium, nickel and mercury in human urinary calculi by direct solid sampling atomic absorption spectrometry using Zeeman background correction. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1990, 337, 316-319.
31. F. Atmani, B. Lacour and M. Daudon, Uronic-acid rich protein: a new glycoprotein inhibiting the crystallization of calciumoxalate in vitro. *Nephrologie*, 1996, 17 (3), 157-162.

152 Referințe bibliografice

---

32. L.H. Smith, W.G. Robertson and B. Finlayson, *Urolithiasis, clinical and basic research*, Plenum Press, New York-London, 1981.
33. D.B. Leusmann, S.E. Liebman, J.G. Taylor and D.A. Bushinsky, Uric acid nephrolithiasis, *Curr. Rheumatol. Rep.*, 2007, 9(3), 251-257.
34. P. Jaeger, Prevention of recurrent calcium stones: diet versus drugs. *Miner. Electrolyte Metab.*, 1994, 20 (6), 410-413.
35. A. Hesse, Reliable data from diverse regions of the world exist to show that there has been a steady increase in the prevalence of urolithiasis, *World J Urol*, 2005, 23, 302-303.
36. M. López and B. Hoppe, History, epidemiology and regional diversities of urolithiasis, *Pediatr Nephrol.* 2010, 25(1), 49-59.
37. D. Prie, V. Ravery and L. Boccon-Gibod, G. Friedlander, Frequency of renal phosphate leak among patients with calcium nephrolithiasis, *Kidney Int.*, 2001, 60(1), 272-276.
38. F. Grases, A.M. Costa-Bauza and R.M. Prieto, Renal lithiasis and nutrition, *Nutr J.*, 2006a, 5, 23-29.
39. E. Matouschek and R.D. Huber, *Urolithiasis: Patogenese, Diagnostik, Therapie*. Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, 1981.
40. N. Schlesinger, Dietary factors and hyperuricaemia, *Curr. Pharm. Des.*, 2005, 11(32), 4133-4138.
41. H.K. Choi, S. Liu and G. Curhan, Intake of purine-rich foods, protein and dairy products and relationship to serum levels of uric acid, the Third Health and Nutrition Examination Survey, *Arthritis. Rheum.*, 2005, 52(1), 283-289.
42. R. Villegas, Y.B. Xiang, T. Elasy, W.H. Xu, H. Cai, Q. Cai, M.F. Linton, S. Fazio, W. Zheng and X.O. Shu, Purine-rich foods, protein intake, and the prevalence of hyperuricemia: The Shanghai Men's Health Study, *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 2011, publ. online, doi:10.1016/j.numecd.2010.07.012.
43. R.D. Monk and D.A. Bushinsky, Nephrolithiasis and nephrocalcinosis, pp. 731-744, In *Comprehensive Clinical Nephrology*, edition 2. (Eds. R. Johnson, J. Frehally), Mosby, London, 2003.
44. F.L. Coe, A. Evan and E. Worcester, Kidney stone disease, *J. Clin. Invest.*, 2005, 115, 2598-2608.
45. D.A. Bushinsky, Kidney stones, *Adv Intern Med*, 2001, 47, 219-238.
46. B. Shekarriz and M.L. Stoller, Uric acid nephrolithiasis: current concepts and controversies, *J Urology*, 2002, 168, 1307-1314.
47. I.A. Abboud, Mineralogy and chemistry of urinary stones: patients from North Jordan, *Environ Geochem Health*, 2008, 30, 445-463.
48. R. Chandrajith, G. Wijewardana, C.B. Dissanayake and A. Abeygunasekara, Biomineralogy of human urinary calculi (kidney stones) from some

- geographic regions of Sri Lanka, *Environ. Geochem. Health*, 2006, 28(4), 393-399.
49. F.B. Stapleton, Nephrolithiasis in children. *Pediatrics in Review*. 1989, 11(1), 251-265.
  50. E.K. Michaels, Y. Nakagawa, N. Miura, S. Pursell and H. Ito, Racial variation in gender frequency of calcium urolithiasis. *J. Urol.*, 1994, 152 (6 Pt 2), 2228-2231.
  51. Th. Burghel, *Patologie chirurgicală*, Ed. Medicală, București, 1972.
  52. T. Huszar, Distribuția geografică a litiazei urinare în R.S.R., *Viața Medicală*, 1971, 5, 207.
  53. P. Drăgan, Z. Gârban, D. Ciubotariu, E. Giurgiulescu, Șt. Holban and V. Bucuraș, Investigations on urolithiasis by means of infrared spectroscopy and computer. *Rev.roum.Biochim.*, 1986, 23, 161.
  54. P. Drăgan, Z. Gârban, G. Daranyi, F. Peter and D. Popescu, Investigations on the composition and etiopathogeny of lithiasis. XI. Alkaline and alkaline-earth metals in uroconcrements and biochemical homeostasis. *Timișoara Medicală*, 1993 b, 37 (1-2), 43-46.
  55. Z. Gârban, G. Daranyi, P. Drăgan and A. Avacovici, Metallograms in simple and mixed urolithiasis, *J. Trace Elements Experimental Medicine*, 1998, 11, p.376.
  56. M.R. Hayden and S.C. Tyagi, Uric acid: a new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: the urate redox shuttle. *Nutr. Metab.* 2004, 1(1), 10.
  57. P. Drăgan, Z. Gârban, Z. Szabadai, L. Cristescu and M. Stoicoiu, Applications of infrared spectroscopy in expeditious detection of renal calculi composition (in Roumanian), *Timișoara Medicală*, 1981, XXVI, 4, 41-48.
  58. Z. Gârban, G. Nemeș, L. Martoni, G. Daranyi, D. Popeti and P. Drăgan, Utilizarea spectroscopiei de absorbție atomică la decelarea compoziției metalice a calculilor în urolitiază. *Timișoara Medicală*, 1983, 28(4), 35-40.
  59. P. Drăgan, Z. Gârban, D. Ciubotariu, Șt. Holban and E. Giurgiulescu, Application of the computer in the interpretation of the infrared spectra to determine the composition in urolithiasis. "Baki Hamaabada"- Israel *J.Clin.Biochem. and Lab.Sci*, 1985, 4 (1-3), 12.
  60. P. Drăgan, Z. Gârban Z., L. Neamțu, G. Nemes and E. Giurgiulescu, Oxalic and phosphatic urolithiasis investigated by spectrometric methods. "14th International Congress of Biochemistry", Abstracts, Vol.II, p.157, Prague-Czechoslovakia, July 10-15, 1988.
  61. G. Daranyi, P. Drăgan, Z. Gârban, D. Șoșdean and D. Patroi, Investigations on the composition and etiopathogeny of lithiasis. XVI. Calcium and magnesium homeostasy in urolithiasis. *Annals of the Institute of Public Health and Medical Research*, Timișoara, 1993, New Series, XIX, 2 (11), 301-304.



62. P. Drăgan and Z. Gârban, New data regarding the metallogram of the patients with urolithiasis before and after surgical and ESWL treatment, pp.77-82, in *Metal Elements in Environment, Medicine and Biology*, Tome V (Eds. Z. Gârban, P. Drăgan), Publishing House Eurobit, Timișoara, 2002.
63. A.-E. Avacovici, P. Drăgan and Z. Gârban, Infrared spectroscopy applied in biochemistry: characteristic spectra of some substances present in foods and uroconcrements, *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 2008 a, 14 (2), 367-373.
64. A.R. Harrison, Hyperparathyroidism. pp.279-281, in *Scientific Foundations of Urology* (Eds. I.D. Williams, G.D. Chisholm), Vol.I, W. Heineman Medical Books Ltd., London , 1976.
65. C.K. Anderson, Pathology of nephrocalcinosis and stone formation. pp.296-301, in *Scientific Foundations of Urology* (Eds. Chisholm G.D., Williams I.D.), W.Heineman Medical Books Ltd., London, 1982.
66. M. Daudon, B. Lacour and P. Jungers, Influence of body size on urinary stone composition in men and women, *Urol. Res*, 2006, 34(3), 193-199.
67. E. Marieb, *Human Anatomy & Physiology*, 4th ed., Addison Wesley Longman Inc., Menlo Park, California, Reading, Massachusetts, New York Harlow, England, Don Mills, Ontario, Sydney, Mexico City, Madrid, Amsterdam, 1998.
68. N. Mandel, Crystal-membrane interaction in kidney stone disease. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1994, 5 (5 Suppl 1), 37-45.
69. A. Randall, Hypothesis for origin of renal calculi. *New-Engl. J. Med.*, 1936, 214-234.
70. R.J. Carr, New theory on the formation of renal calculi. *Brit. J.Urol.*, 1954, 26, 105-142.
71. J.E.A. Wickham, The matrix of renal calculi, pp.323-328, in *Scientific Foundations of Urology*, Vol.I, (Eds. G.D. Chisholm, D.I. Williams), W.Heineman Medical Books Ltd., London , 1976.
72. A.M. Stapleton and R.L. Ryall, Crystal matrix protein--getting blood out of a stone. *Miner. Electrolyte Metab.*, 1994, 20 (6), 399-409.
73. F. Grases, L. García-Ferragut and A. Costa-Bauzá, Analytical study of renal calculi. A new insight, *Recent Res. Dev. Pure Appl. Anal. Chem.*, 1998 b, 1 187-206.
74. S.R. Khan, Renal tubular damage / dysfunction: Key to the formation of kidney stones, *Urol. Res.*, 2006, 34, 86-91.
75. L. Borghi, T. Meschi, A. Guerra, E. Bergamaschi, A. Mutti and A. Novarini, Effects of urinary macromolecules on the nucleation of calcium oxalate in idiopathic stone formers and healthy controls. *Clin Chim Acta*, 1995, 239 (1), 1-11.
76. Y. Ishikawa, Renal morphology and urodynamic factors for renal stone formation. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*, 1995, 86 (2), 263-272.

77. A. Ramello, C. Vitale and M. Marangella, Epidemiology of nephrolithiasis, *J. Nephrol*, 2000, 3, S45-S50.
78. H. Perk, T. Ahmet Serel, A. Kosar, N. Deniz and A. Sayin, Analysis of the Trace Element Contents of Inner Nucleus and Outer Crust Parts of Urinary Calculi, *Urol. Int.*, 2002, 68, 286-290.
79. K. Boshamer, Morphologie und Genese der Harnsteine, pp 1-171, in „*Handbuch der Urologie*“ (Hrsg. C.A. Alken, V.W. Din, E. Wildbolz), Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1961.
80. W.G. Robertson and B.E.C. Nordin, Physico-chemical factors governing stone formation, pp. 254-267 in *Scientific Foundation of Urology*, Vol. I, 1st ed. (Eds. D.I. Williams, G.D. Chisholm), William Heinemann Medical Books, London, 1976.
81. C.C. Tischer and B.M. Brenner, *Renal Pathology*, 2nd ed., J.P. Lippincott, Philadelphia, 1994.
82. L.C. Cao, E.R. Boeve, W.C. de Bruijn, W.G. Robertson and F.H. Schroder, A review of new concepts in renal stone research. *Scanning Microsc.*, 1993, 7 (3), 1049-1065.
83. A. Boruckowska, Estimation of 24-h excretion of some promoters and inhibitors of crystallization and degree of urine saturation with calcium oxalate in calcium urinary calculi. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 1994, 92 (4), 289-298.
84. M. Daudon, C. A. Bader and P. Jungers, Urinary calculi: review of classification methods and correlations with etiology, *Scanning Microsc.*, 1993, 7, 1081-1106.
85. E.C. Alken, W.V. Dix, M.H. Wezrauch and E. Wildbolz (Eds.), *Encyclopedie d'urologie*, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1961.
86. V.E. Andreucci and L.G. Fine, *International Yearbook of Nephrology*, Springer Verlag, Berlin, 1992.
87. H.-J. Schneider, *Technik der Harnsteinanalyse*. VEB Georg Thieme, Leipzig, 1974.
88. O.M. Rennert and W.Y. Chan (Eds.), *Metabolism of Trace Metals in Man*, C.R..Press Inc., Boca Raton, vol.I, 1981.
89. R. Rhoades and R. Pflanzer, *Human Physiology*, 2nd edition, Saunders College Publishing, Fort Wort-Philadelphia-San Diego-New York, 1992.
90. W.J. Marshall and S.K. Bangert (Eds.), *Clinical Biochemistry. Metabolic and Clinical Aspects*, Churchill Livingstone, New York-Edinburgh-London-Madrid-Melbourne-San Francisco-Tokyo, 1995.
91. O.M. Embon, G.A. Rose and T. Rosenbaum, Chronic dehydration stone disease. *Br.J.Urol.*, 1990, 66(4), 357-362.
92. A. Sebastian, R.E. Hernandez, A.A. Portale, J. Colman, J. Tatsuno and R.C.Jr. Morris, Dietary potassium influences kidney maintenance of serum phosphorus concentration. *Kidney Int.*, 1990, 37(5), 1341-1349.

156 Referințe bibliografice

---

93. L.H.Smith, C.J. VanDenBerg and D.M. Wilson, Current concepts in nutrition : nutrition and urolithiasis. *N.Engl.J.Med.*, 1987, 298, 87-94.
94. L.H. Smith, Dietary management of urolithiasis. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 1994, 3 (2), 189-194.
95. M. Hashimoto, M. Funaba and M. Abe, S. Ohshima, Dietary protein levels affect water intake and urinary excretion of magnesium and phosphorus in laboratory cats. *Jikken Dobutsu* , 1995, 44 (1), 29-35.
96. P. Jaeger, B. Hess, R. Takkinen and L. Zipperle, Nutritional determinants of nephrolithiasis. *Adv. Nephrol.*, 1995, 24, 217-225.
97. G.C. Curhan, Epidemiology of stone disease, *Urol. Clin. North Am.*, 2007, 34, 287-293.
98. D. Chiang, H.C. Chiang, W.C. Chen and F.J. Tsai, Prediction of stone disease by discriminant analysis and artificial neural networks in genetic polymorphism: a new method, *BJU International*, 2003, 91(7), 661-666.
99. W.L. Strohmaier, R.D. Seeger, H. Osswald and K.H. Bichler, Reduction of vitamin D induced stone formation by calcium. *Urol. Res.*, 1994, 22 (5), 301-303.
100. Y. Ishikawa, E. Konya, T. Yamate, N. Amasaki, T. Umekawa, Y. Katayama, C. Takamura, M. Takada, H. Kajikawa and Y. Katoh, Influence of genetic factors on family history of upper urinary stones. *Hinyokika Kyo*, 1995, 41 (5), 349-353.
101. U.M. Kabadi, Renal calculi in primary hyperaldosteronism. *Postgrad. Med. J.*, 1995, 71 (839), 561-562.
102. J.L. Rodicio, Familial hypomagnesemia with hypercalciuria and nephrocalcinosis. *Kidney Int* ., 1995, 47 (5), 419-425.
103. I.H. Atakan, M. Kaplan, G. Seren, T. Aktoz, H. Gul and O. Inci, Serum, urinary and stone zinc, iron, magnesium and copper levels in idiopathic calcium oxalate stone patients, *Int. Urol. Nephrol*, 2007, 39(2), 351-356.
104. M. Slojewski, Major and Trace Elements in Lithogenesis, *Central European Journal of Urology*, 2011, 64, 2, 58-61.
105. N.M. Maalouf, K. Sakhae, H. Parks, F.L. Coe, B. Adams-Huet and C.Y. Pak, Association of urinary pH with body weight in nephrolithiasis. *Kidney Int*, 2004, 65, 1422-1425.
106. T.F.Yu and A.B.Gutman, Uric acid nephrolithiasis in gout, *Ann. Intern. Med.*, 1967, 67, 1133-1148.
107. A. Singh, L.B. Smoak, K.Y. Patterson, L.G. LeMay, C. Veillon and P.A. Deuster, Biochemical indices of selected trace minerals in men: effect of stress. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991, 53, 126-131.
108. R. Macrae, R.K. Robinson and M.J. Sadler (Eds.), *Encyclopedia of food science, food technology and nutrition*, Academic Press, London, 1993.
109. I. Mincu, *Impactul om alimentație*, Editura Medicală, București, 1993.

110. R. Siener and A. Hesse, Influence of a mixed and a vegetarian diet on urinary magnesium excretion and concentration. *Br. J.*, 1995, 73 (5), 783-790.
111. F. Parivar, R.K. Low and M.L. Stroller, The influence of diet on urinary stone disease, *J. Urol.*, 1996, 8, 432-440.
112. R. Siener and A. Hesse, The effect of a vegetarian and different omnivorous diets on urinary risk factors for uric acid stone formation, *Eur J Nutr*, 2003, 42, 332-337.
113. E.N. Taylor and G.C. Curhan, Demographic, dietary, and urinary factors and 24-h urinary calcium excretion, *Clin J Am Soc Nephrol* 2009, 4, 1980-1987.
114. G. Olănescu, *Litiaza renală*, Editura Medicală, București, 1960.
115. J.L. Meyer and E.E. Angino, The role of trace metals in calcium urolithiasis, *Invest.Urol.*, 1977, 14, 347-350.
116. K. Kostial, D. Keloo, S. Jugo, I. Rabar and T. Maljkovic, Influence of age on metal metabolism and toxicity, *Environmental Health Perspectives*, 1978, 25, 81-86.
117. A.R. Michell, Urolithiasis – historical, comparative and pathophysiological aspects. A review, *J. Roy. Soc.Med.*, 1989, 82, 669-672.
118. Schubert, Urolithiasis through the ages: data on more than 200,000 urinary stone analysis, *The Journal of Urology*, 2011, 185(4), 1304-1311.
119. P. Leskovar and E. Hartrung– Beeinflussung des metastabilen Bereichers harnsteinbildender salze duch Kristalle begleitender schwerlöslicher Harnkomponenten, *Zscr. Urol. Nephrol.*, 1978, 71(9), 601-611.D.S. Milliner,Urolithiasis. In: *Pediatric nephrology* (Eds. E.D. Avner, W.E. Harmon, P. Niaudet), 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp 1091-1111, 2004.
121. C.F. Verkoelen and A. Verhulst, Proposed mechanisms in renal tubular crystal retention, *Kidney Int*, 2007, 72,13-18.
122. C. Türk and W. Stackl, Urolithiasis bei Kindern. *Wien Med. Wochenschr.*, 1995, 145, (11-12), 258-260.
123. P.E. Gregoire, *Biochimie Pathologique*, Presses Academiques Europeenes, Bruxelles, Librairie Maloine S.A., Paris, 1971.
124. C.Y.C. Pak, M.I. Resnick and G.M Preminger (Eds.), *Urolithiasis*, Millet, Dallas, 1996.
125. O.W.Moe, N. Abate and K. Sakhaee,Pathophysiology of uric acid nephrolithiasis. *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.*, 2002, 31, 895-914.
126. R. Richterich, C. Bachmann and J.P. Colombo,*Clinical Chemistry: Theory, Practice, and Interpretation*, John Wiley and Sons, London, 1981.
127. I. Manta, M. Cucuianu, G. Benga and A. Hodârnaău, *Metode biochimice în laboratorul clinic*, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1976

158 Referințe bibliografice

---

128. R Franke, K. Thiele and F. Hoffman, *Physikalisch-chemische Methoden im klinischen Laboratorium*, Bd. 1, VEB Volk und Gesundheit, Berlin 1977
129. L.A. Kaplan and A.J. Pesce, *Clinical chemistry: theory, analysis, correlation*, 1st ed, C.V. Mosby Comp., St. Louis-Toronto-Princeton, 1984.
130. A. Hesse, R. Siener, H. Heynck and A. Jahnen, The influence of dietary factors on the risk of urinary stone formation, *Scanning Microsc*, 1993, 7, 1119-1127.
131. M. Ștefănescu, D. Tița and I. Ciucanu, Analysis of the renal calculi by thermal derivatography methods, *Annals of Western University of Timișoara, Ser. Chem.*, 1995, 4, 85-90.
132. J. Szpunar, Advances in analytical methodology for bioinorganic speciation analysis: metallomics, metalloproteomics and heteroatom-tagged proteomics and metabolomics. *The Analyst*, 2005, 130, 442-465.
133. Z. Gârban, P. Drăgan, D. Ciubotariu, F. Peter, C. Mureșan and M. Miloș, Investigations on the composition and etiopathogeny of lithiasis. I. Purine urolithiasis. *Rev.roum. Biochim.*, 1989, 26 (3), 201-208.
134. T.C. Ngo and D.G. Assimios, Uric acid nephrolithiasis: recent progress and future directions, *Rev. Urol.*, 2007, 9 (1), 17-27.
135. G. J.E. Seegmiller, Xanthine stone formation. *Am. J. Med.*, 1968, 45, 780-785
136. B. Terhorst, Xanthinsteine und Xanthinurie. *Z. Urol.*, 1969, 37, 62-65.
137. R.W.E. Watts, Xanthinuria and xanthine stone formation. pp.310-314, in *Scientific Foundations of Urology* (Eds. G.D. Chisholm, I.D. Williams), Vol.I, W.Heineman Medical Books Ltd., London, 1976. W.G. Robertson, Pathophysiology of stone formation. *Urol. Int.*, 1986, 41, 329-333.
139. L. Cifuentes-Delatte, J.A. Medina, M. Juarez, J. Bellanato and J.V. Garcia-Ramos, New studies on urate stones, pp. 161-165, in *Pathogenese und Klinik der Harnsteine IX* (Eds. Vahlensieck W., Gasser G.), Steinkopff, Darmstadt, 1983.
140. J.S. Rodman, Prophylaxis of uric acid stones with alternate day doses of alkaline potassium salts. *J.Urol.*, 1991, 145(1), 97-99.
141. A. Halabe and O. Sperling, Uric acid nephrolithiasis. *Miner. Electrolyte Metab.*, 1994, 20 (6), 424-431.
142. A. Hesse, H.G. Tiselius and A. Jahnen, *Urinary stones*, 2nd ed. Karger, Basel, 2002.
143. P.L. Altman and S.D. Dittmer (Eds.), *Metabolism*, Publ. by Federation of American Societies for Experimental Biology, Bethesda, Maryland, 1968.
144. D.B. Mount, C. Kwon and K. Zandi-Nejad, Renal urate transport, *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 2006, 32, 313-331.
145. P. Drăgan and Z. Gârban, Purine urolithiasis: peculiarities of the etiopathogeny and composition of uroconcrements, pp.89-98, in *Metal*

- Elements in Environment, Medicine and Biology*, Tome II (Eds. Z. Gârban, P. Drăgan), Publishing House Eurobit, Timișoara, 1996.
146. Z. Gârban, G. Gârban, A. Avacovici, S.G. Popescu, M. Pup, A.B. Martău, E. Simionică, and M Popa, Magnesium and calcium concentration in simple and mixed oxalic uroconcrements, pp. 200-207, in *Magnesium - Involvements in Biology and Pharmacotherapy* (Eds. M. Nechifor, P.J. Porr), Casa Cărții de Știință. Cluj Napoca, 2003.
  147. A. Hesse and R. Siener, Current aspects of epidemiology and nutrition in urinary stone disease, *World J. Urol.*, 1997, 15, 165-171.
  148. A. Serio and A. Fraioli, Epidemiology of nephrolithiasis, *Nephron Suppl*, 1999, 81, 26-30.
  149. P. Jaeger, Genetic versus environmental factors in renal stone disease, *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens*, 1996, 5, 342-346.
  150. D.G. Assimos and R.P. Holmes, Role of diet in the therapy of urolithiasis, *Urol. Clin. North. Am.*, 2000, 27(2), 255-268.
  151. J.E. Kenny and D.S. Goldfarb, Update on the pathophysiology and management of uric acid renal stones, *Curr. Rheumatol. Rep.*, 2010, 12(2), 125-129.
  152. F.L. Coe, Uric Acid and Calcium Oxalate Nephrolithiasis, *Kidney International*, 1983, 24, 392-403.
  153. M.A. Becker, Hyperuricemia and gout, pp. 2513-2535, In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed (Eds. C.R. Scriver, A.L., Beaudet, W.S. Sly, D. Valle; Eds. assoc.: B. Childs, K.W. Kinzler B. Vogelstein), McGraw-Hill, New York, 2001.
  154. E.N. Taylor, M.J. Stampfer and G.C. Curhan, Obesity, weight gain, and the risk of kidney stones, *JAMA* 2005, 293, 455-462.
  155. L. Fatiha, F. Rhazi Filali, A. Amechrouq and A. Soulaymani, Correlations between the composition of Moroccan urinary stones and the risk factors (food habit), *Pakistan Journal of Nutrition*, 2009, 7, 977-982.
  156. T. Remer and F. Manz, Potential renal acid load of foods and its influence on urine pH. *J. Am. Diet. Assoc.*, 1995, 95 (7), 791-797.
  157. H.G. Tiselius, Metabolic evaluation of patients with stone disease, *Urol Int*, 1997, 59, 131-141.
  158. P. Drăgan, G. Daranyi, V. Bucuraș, A. Avacovici, M. Vincu and Z. Gârban, Profile of metallograms in phosphatic uroconcrements, pp. 888-895, in *Mengen- und Spurenelemente, 19. Arbeitstagung 1999*, Friedrich-Schiller-Universität Jena, (Hrsg. M. Anke et al.), Verlag Harald Schubert, Leipzig, 1999.
  159. E.J. Underwood, *Trace Elements in Human and Animal Nutrition.*, 4th ed., Acad. Press, New York, 1977.
  160. H.A. Simmonds, 2,8- dihydroxyadeninuria, or when is a uric acid stone not a uric acid stone. *Clin. Nephrol.*, 1979, 12, 195-198.

160 Referințe bibliografice

161. P. Campoy Martínez, C. Reina Ruiz, R. Salazar Murillo, R. Quintero Rodríguez, F.J. Espinosa Olmedo and M. García Pérez, A metabolic study of urolithiasis. Specificity, sensitivity, efficacy and reproducibility, *Ann Urol (Paris)*, 1995, 29 (6-7), 337-345.
162. G. Daranyi, G. Sigărtău and A. Avacovici, Investigații asupra compoziției și etiopatogeniei litiazelor. XXIII. Investigarea urolitiazelor oxalice cu ajutorul termooanalizei și spectroscopiei de absorbție atomică. *Zilele Academice Timișene*, Ed. a IV-a, 25-27 mai 1995, Timișoara, 1995 a.
163. G. Daranyi, Z. Gârban and A. Avacovici, Investigations on the composition and etiopathogeny of lithiasis. XXIX. Metallogram of serum, urine and uroconcrements in the surgically treated kidney stone patients; pp. 143-150, in *Magnesium and interaction of magnesium with trace elements* (Ed. Kiss A.S.), Publ. by the Hungarian Chemical Society, Budapest, 1998.
164. H.G.Tiselius, Solution chemistry of supersaturation, pp. 33-64, in: *Kidney Stones: Medical and Surgical Management* (Eds. F.L. Coe, M.J. Favus, C.Y.C. Pak, J.H. Parks, G.M. Preminger), Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996.
165. A.H. Van Gennip, Defects in metabolism of purines and pyrimidines. *Ned Tijdschr Klin Chem*, 1999, 24, 171-175.
166. G. Daranyi, Z. Gârban and A. Avacovici, Investigations on the composition and etiopathogeny of lithiasis. XXIV. Magnesium and calcium in oxalic and phosphatic urolithiasis. *Magnesium Research Suppl.*, 1995 b, 8 (1), 21.
167. P. Drăgan, Z. Gârban and Șt. Holban, Clinical aspects and biochemical pathology in cystinic urolithiasis – peculiarities of the metallic composition, pp.27-34, in *Metal Elements in Environment, Medicine and Biology*, Tome III (Eds. Z. Gârban, P. Drăgan), Publishing House Eurobit Timișoara, 1998.
168. T. Anagnostou and D. Tolley, Management of ureteric stones, *Eur. Urol.*, 2004, 45(6), 714-721.
169. A. P. Evan, J. E. Lingeman, F.L. Coe, Y. Shao, J.H. Parks, S.B. Bledsoe, C.L. Phillips, S. Bonsib, E.M. Worcester, A.J. Sommer, S.C. Kim, W.W. Tinmouth, M. Grynepas, C.P. Williams, D.F. Child, P.R. Hudson, G.K. Davies, M.G. Davies, R. John, P.S. Anandaram and A.R. De Bolla, Why oral calcium supplements may reduce renal stone disease: report of a clinical pilot study. *Journal of clinical pathology*, 2001, 54(1), 54-62. Z. Gârban, A.E. Avacovici, G. Gârban, F. Peter, G.D. Ghibu, M. Botoca and A. Cumpănaș, Purine metabolism dyshomeostasis and the heterogenous nucleation of uroconcrements Note I. Alkaline and alkaline-earth metals in purine urolithiasis. *Studia Universitatis Babeș-Bolyai Chemia*, 2010, 55 (1), 103-114.
171. D.J. Sutor, Difficulties in the Identification of Components of Mixed urinary Calculi Using the X-Ray Powder Method, *BJU International*, 1968, 40, 29-32.
172. A. Hesse, A. Classen, M. Knoll, F. Timmermann and W. Vahlensieck, Dependence of urine composition on the age and sex of healthy subjects. *Clin.Chim.Acta*, 1986, 160, 79-86.
173. A. Hesse and R.M. Schaefer, Analyse von Harnsteinen und Charakterisierung der Bildungsursachen. *Urologe B*, 1987, 27, 81-86.

174. J. Gonzalez-Revalderia, S. Garcia-Bermejo, A. Menchen-Herreros and E. Fernandez-Rodriguez, Biological variation of Zn, Cu and Mg in serum of healthy subjects. *Clin. Chem.*, 1990, 36(12), 2140-2141.
175. K. Ruschke, *Retrospektive Studie der Urolithiasis im Kindesalter Diagnostik, Therapie und Spätergebnisse aus dem St. Barbara-Krankenhaus Halle von 1980 bis 1999* (Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Doktor der Medizin), 75 pag, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle, 2004
176. C. Dawson, K. Aitken, K. Ng, G. Dolke, D. Gadian and H.N. Whitfield, Magnetic resonance imaging of urinary calculi. *Urol. Res.*, 1994, 22 (4), 209-212.
177. G. Pittomvils, H. Vandeursen, M. Wevers, J.P. Lafaut, D. de Ridder, P. de Meester, R. Boving and L. Baert, The influence of internal stone structure upon the fracture behaviour of urinary calculi. *Ultrasound Med. Biol.*, 1994, 20 (8), 803-810.
178. J.S. Wolf, Jr., P.B. Irby 3<sup>rd</sup>., A. Shields, M.S. Yuen-Green, R.S. Hattner and M.L. Stoller, Urolithoscintigraphy: preliminary report of a new imaging modality for urolithiasis. *J. Endourol.*, 1994, 8 (2), 133-137.
179. Gh. Nuță and C. Bușneag, *Investigații biochimice*. Ed. Didactică și Pedagogică, București, 1977.
180. L. Mănuilă, A. Mănuilă and M. Nicoulin, *Dicționar medical*, Ed. Ceres, București, 1997.
181. N. Mitrică-Kondi, *Laboratorul clinic. Biochimie*. Ed. Medicală, București, 1981.
182. R.P. Holmes, Measurement of urinary oxalate and citrate by capillary electrophoresis and indirect ultraviolet absorbance. *Clin. Chem.*, 1995, 41 (9), 1297-1301.
183. F. Grases, A. Costa-Bauza, M. Ramis, V. Montesinos and A. Conte, Simple classification of renal calculi closely related to their micromorphology and etiology, *Clin Chim Acta.*, 2002, 322, 29-36.
184. A. Uldall, Strategies and methods for the analytical investigation of urinary calculi. *Clin. Chim. Acta*, 1986, 160, 93-101.
185. G. Schubert, Stone analysis, *Urol. Res.*, 2006, 34, 146-150
186. O. Zechner, Offene Fragen der Harnsteinrezidivprophylaxie. *Z. Urol. Nephrol.*, 1980, 74(5), 401-405.
187. M. Ala-Opas, I. Sipilä, S. Kivinen and T. Lehtonen, Diagnostic problems associated with cystinuria. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 1990, 24, 133-135.
188. P. Drăgan, Z. Gârban, F. Miclea and Șt. Holban, Investigations on the composition and etiopathogeny of lithiasis. XVII. Metallic bioelements implicated in molecular pathology - Reference to the pathobiology of urolithiasis, pp.85-90, in *Metal Elements in Environment, Medicine and Biology*, Tome I (Eds. P. Drăgan, Z. Gârban), Publishing House Mirton, Timișoara, 1994 a.



189. D.A. Vergauwe, R.M. Verbeeck and W. Osterlinck, Analysis of urinary calculi, *Acta Urology of Belgium*, 1994, 62(2), 5-13.
190. A. Trinchieri, Epidemiology of urolithiasis, *Arch. Ital. Urol. Androl.*, 1996, 68(4), 203-249.
191. G.G. Taily, Management of acute post ESWL complications, *Ceska urologie*, 2000, 2, 5-8.
192. J.A. Nicoletta and M.B. Lande, Medical evaluation and treatment of urolithiasis, *Pediatr Clin North Am*, 2006, 53, 479-491.
193. P. Sangtae, Medical management of urinary stone disease, *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 2007, Vol. 8(8), 1117-1125.
194. Z. Gârban, G. Daranyi, P. Drăgan, Gr. Sigartău, A. Avacovici and A. Urzică, Investigations on the composition and etiopathogeny of lithiasis. XXVII. Thermal analysis and atomic absorption spectroscopy in the identification of urolithiasis. pp.307-312, in *New Perspectives in the Research of Hardly Known Trace Elements*, (Ed. I. Pais), University Press of U.H.F.S. Budapest, 1996.
195. N.Q. Dao and M. Daudon, *Infrared and Raman spectra of calculi*, Elsevier, Paris, 1997.
196. C. Krafft and V. Sergo, Biomedical applications of Raman and infrared spectroscopy to diagnose tissues, *Spectroscopy*, 2006, 20, 195-218.
197. A.-E. Avacovici and Z. Gârban, Characteristics of the metallogram in cystine urolithiasis - investigation means, pp. 61-66, in *Metal Elements in Environment, Medicine and Biology*, Tome VIII (Eds. Silaghi-Dumitrescu I., Gârban Z., Drăgan P.), Publishing House Eurobit, Timișoara, 2008 b.
198. W.I. Potts, *Chemical Infrared Spectroscopy*, J.Wiley and Sons, Inc., New York-London, 1968.
199. H. Günzler and H. Böck, *IR-Spektroskopie – Eine Einführung*, Verlag Chemie und Physik Verlag, 1. Auflage, 1975.
200. M. Daudon, M.F. Protat, R.J. Reveillaud and H. Jaeschke-Boyer, Infrared spectrometry and Raman microprobe in the analysis of urinary calculi, *Pathogenese und Kidney Int.*, 1983, 23, 842-850.
201. B. Schrader, *Infrared and Raman Spectroscopy. Methods and Applications*, VCH, Weinheim, 1995.
202. L. Estepa, C. Hennequin, C. Marfisi, C. Bader, B. Lacour and M. Daudon, Fourier transform infrared microscopy identification of crystaldeposits in tissues: clinical importance in various pathologies, *Am. J. Clin. Pathol.*, 1996, 105, 576-582.
203. J. Dubois and R.A. Shaw, IR spectroscopy in clinical and diagnostic applications, *Anal. Chem.*, 2004, 76, 360A-367A.
204. M. Diem, J.M. Chalmers and P.R. Griffiths (Eds.), *Vibrational Spectroscopy for Medical Diagnosis*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2008.

205. M. Avram and G.D. Mateescu, *Spectroscopia în infraroșu : aplicații în chimia organică*, Editura Tehnică, București, 1966.
206. A.L. Smith, *Applied Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Techniques, and Analytical Problem-Solving*, Wiley, New York, 1979.
207. R. Simmons, Infrared spectroscopy. *Anal Chem*, 1999, 71, 343–350.
208. R. M. Silverstein, F.X. Webster and D.J. Kiemle, Spectrometric identification of organic compounds, pp. 72-126, in *Infrared Spectroscopy* (Eds.D. Bennon, J. Yee), 7th edition, New York, John Wiley and Sons, Inc., 2005.
209. J. Bellanato, L. Cifuentes-Delatte, A. Hidalgo and M. Santos, Application of infrared spectroscopy to the study of renal stones. pp. 237–46, in *Urinary Calculi. Recent Advances in aetiology, Stone Structure and Treatment* (Eds. L. Cifuentes-Delatte, A. Rapado, A. Hodgkinson). S. Karger, Basel, 1978.
210. A. Hesse and G. Sanders, *Atlas of infrared spectra for the analysis of urinary concrements.*, George Thieme Verlag, Stuttgart, 1988.
211. J. Bellanato, Infrared spectroscopy or urinary calculi, pp. 45-47, in *Renal Tract Stone: Metabolic Basis and Clinical Practise* (Eds. J.E.A. Wickham, A. Colibuck), Churchill Livingstone, New York, 1990.
212. J. Ahmed and N. Khalid, Infrared Spectroscopic Studies of Secondary Renal Calculi, *Science International* (Lahore), 1992, 4(3), 273-274.
213. G. Daranyi, A. Avacovici and Z. Gârban, Investigații asupra compoziției și etiopatogeniei litiazelor. XX. Aplicarea spectroscopiei în infraroșu și a termoanalizei în studiul urolitiazelor. pp. 144-149, în *Lucrările Sesiunii de Comunicări Științifice "Realizări tehnice și cultural-științifice pe meleagurile arădene"* - Profil Chimie, 5-6 mai 1994, Publ. Universitatea "Aurel Vlaicu" Arad 1994.
214. A. Oussama, F. Kzaiber, B. Mernari, A. Hilmi, A. Semmoud and M. Daudon, Analysis of urinary calculi in adults from the Moroccan Medium Atlas by Fourier transform infrared spectrophotometry, *Prog. Urol.*, 2000, 10(3), 404-410.
215. A.-E. Avacovici, Infrared spectroscopy applied in biochemistry. Characteristic spectra of basic substances from uroconcrements - preliminary data, pp. 149-153, in *Proceedings of the 15th Symposium on Analytical and Environmental Problems* (Ed. Galbacs Z.) Publ. SZAB, Szeged, Hungary, 2008.
216. J.R. Guerra-Lopez, J.A. Guida, C.O. Della Vedova and R.R.Garcia, Estudio de cálculos renales por espectroscopía de infrarrojo, *Acta bioquím. clín. latinoam.*, 2008, 42(2), 189-193.
217. Drăgan, Y. Gârban, D. Ciubotariu, Șt. Holban, A. Laslău, V. Mihalca and L. Cristescu, Posibilități de utilizare a calculatorului la interpretarea spectrelor în infraroșu pentru urolitiază, *Timișoara Medicală*, 1983, 28 (1), 13-18.
218. H. Kandil, T.A. Abou El Azm, A.M. Gad and M.M Abdou, Computerized Infrared Analysis of Renal Stone Calculi, *Computer Enhanced Spectroscopy*, 1986, 3(4), 171-177

219. H. Günzler and H.U. Gremlich, *IR Spectroscopy – An Introduction*, John Wiley and Sons, New York, 2002.
220. F.U. Khand, M.Y. Khuhawar, S. Menon and A.F. Ansari, Use of Infrared Spectroscopy for the Identification of Urinary Tract Calculi, *Jour. Chem. Soc. Pak.*, 1991, 13 (1), 19-24
221. S.A. Kynast-Gales and L.K. Massey, Effect of caffeine on circadian excretion of urinary calcium and magnesium. *J. Am. Coll. Nutr.*, 1994, 13 (5), 467-472.
222. B. Poonkuzhali, C.P. Saraswathi and K. Rajalakshmi, Effect of uric acid on sodium oxalate-induced urolithiasis in rats: biochemical and histological evidences. *Indian J. Exp. Biol.*, 1994, 32 (1), 20-24.
223. K. Sakhaee and N.M. Maalouf, Metabolic syndrome and uric acid nephrolithiasis., *Semin. Nephrol.*, 2008, 28(2), 174-180.
224. N. Abate, M. Chandalia, A.V. Cabo-Chan Jr, O.W. Moe and K. Sakhaee, The metabolic syndrome and uric acid nephrolithiasis: novel features of renal manifestation of insulin resistance, *Kidney Int.*, 2004, 65(2), 386-392.
225. M.A. Cameron, N.M. Maalouf, B. Adams-Huet, O.W. Moe and K. Sakhaee, Urine composition in type 2 diabetes: predisposition to uric acid nephrolithiasis. *J. Am. Soc. Neph.*, 2006, 17, 1422-1428.
226. S.E. Liebman, J.G. Taylor and D.A. Bushinsky, Uric Acid Nephrolithiasis, *Curr Rheumatol Rep.*, 2007, 9(3), 251-257.
227. F. Grases, P. Sanchis, J. Perelló and A. Costa-Bauzá, Role of uric acid in different types of calcium oxalate renal calculi, *International Journal of Urology*, 2006 b, 13, 252-256.
228. L. Cifuentes-Delatte, J.A. Medina, M. Juarez and J. Bellanato, Kaliumurate in Harsteinen. pp. 265-273, in *Pathogenese und Klinik der Harnsteine VIII*Hrsg. Vahlensieck W., Gasser G.), Steinkopff, Darmstadt, 1982.
229. P.K. Grover and R.L. Ryall, Urate and calcium oxalate stones: from repute to rhetoric to reality. *Miner. Electrolyte Metab.*, 1994, 20 (6), 361-370.
230. J. Khatchadourian, G.M. Preminger, P.A. Whitson, B. Adams-Huet and C.Y. Pak, Clinical and biochemical presentation of gouty diathesis: comparison of uric acid versus pure calcium stone formation. *J.Urol.*, 1995, 154 (5), 1665-1669.
231. T. Koide, Hyperuricosuria and urolithiasis, *Nippon Rinsho*, 1996, 54, 3273-3276.
232. R.L. Wortmann and W.N. Kelley, Gout and hyperuricemia, pp.1402-1429, in *Kelley's Textbook of Rheumatology*, 7th ed. (Eds. E. Harris, R. Budd, M. Genovese), Elsevier Saunders, Philadelphia, 2005.
233. M.A. Cameron and K. Sakhaee, Uric acid nephrolithiasis, *Urol Clin North Am.*, 2007, 34(3), 335-346.
234. C. Paluszkiwicz, S. Jand and M. Galka, Analysis of renal stones by FTIR

- spectroscopy, *Microchimica Acta*, 1988, 94 (1-6), 45-48.
235. N.A. Channa, A.B. Ghangro, A.M. Somro and L. Noorani, Analysis of kidney stones by FTIR spectroscopy, *J. Liaquat. Uni. Med. Health. Sci.*, 2007, 6 (2), 66-73.
236. P.A. Bhatt and P. Parimal, Analysis of urinary stones constituents using powder X-ray diffraction and FTIR, *J. Chem. Sci.*, 2008, 120(2), 267-273.
237. J. Alvarez-Nemegyei, M. Medina-Escobedo, S. Villanueva-Jorge and J. Vasquez-Mellado, Prevalence and risk factors for urolithiasis in primary gout: is a reappraisal needed?, *J. Rheumatol*, 2005, 32, 2189-2191.
238. F. Grases, A. Costa-Bauzá, J.G. March and L. Masarova, Glycosaminoglycans, uric acid and calcium oxalate urolithiasis, *Urol. Res.*, 1991, 19, 375-380.
239. N. Arikyants, A. Sarkissian, A. Hesse, T. Eggermann, E. Leumann and B. Steinmann, Xanthinuria type I: a rare cause of urolithiasis, *Pediatr. Nephrol.*, 2007, 22, 310-314
240. F. Gok, K. Ichida and R. Topaloglu, Mutational analysis of the xanthine dehydrogenase gene in a Turkish family with autosomal recessive classical xanthinuria, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2003, 18(11), 2278-2283.
241. W.N. Kelley, R.J. Lery, F.M. Rosenbloom, H.F. Henderson and J.E. Seegmiller, Adenine phosphoribosyltransferase deficiency: a previously undescribed genetic defect in man., *J. Clin. Invest.*, 1968, 47, 2881.
242. J. Joost and W. Doppler, 2,8-Dihydroxyadenine stone in children., *Urology*, 1982, 20, 67-70.
243. P. Winter, A. Hesse, K. Klocke and R.M. Schaefer., Scanning electron microscopy of 2,8-dihydroxyadenine crystals and stones. *Scanning Microsc.*, 1993, 7 (3), 1075-1080.
244. I. Tulloch, W.S. Smellie and A.C. Buck, Evening primrose oil reduces urinary calcium excretion in both normal and hypercalciuric rats. *Urol. Res.*, 1994, 22 (4), 227-230.
245. F. Grases and A. Costa-Bauzá, L. García-Ferragut, Biopathological crystallization: a general view about the mechanisms of renal stone formation. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 1998 a, 74, 169-194.
246. S.R. Khan, Role of renal epithelial cells in the initiation of calcium oxalate stones, *Nephron Exp. Nephrol*, 2004, 98, e55-e60.
247. F.J. Pastoor, A.T. van 't Klooster and A.C. Beynen, Calcium chloride as urinary acidifier in relation to its potential use in the prevention of struvite urolithiasis in the cat. *Vet. Q.* 1994, 16 Suppl 1, 37S-38S.
248. K. Suzuki, K. Mayne, I.R. Doyl and, R.L. Ryall, Urinary glycosaminoglycans are selectively included into calcium oxalate crystals precipitated from whole human urine. *Scanning Microsc.*, 1994, 8 (3), 523-530.
249. K. Suzuki, C. Nakajima, M. Moriyama, K. Miyazawa and R. Tsugawa, Backscattered electron imaging of crystal matrix protein on the surface of

- calcium oxalate crystals using colloidal gold. *Int. J. Urol.*, 1995, 2 (2), 87-91.
250. G.M. Palmieri, Calcium, why and how much? *Miner. Electrolyte Metab.*, 1994, 20(6), 371-377.
251. J. Thomas, D. Fompeydie, E. Thomas and G. Arvis, La lithiase renale uro-oxalique. Quelques particularites. *J Radiol.*, 1995, 76 (1), 61-67.
252. H. Spencer, H. Fuller, C. Norris and D. Williams, Effect of magnesium on the intestinal absorption of calcium in man. *J. Am. Coll. Nutr.*, 1994, 13 (5), 485-492.
253. I.R. Doyle, V.R. Marshall, C.J. Dawson and R.L. Ryall, Calcium oxalate crystal matrix extract: the most potent macromolecular inhibitor of crystal growth and aggregation yet tested in undiluted human urine in vitro. *Urol. Res.*, 1995, 23 (1), 53-62.
254. A. Terai, Y. Okada, T. Ohkawa, O. Ogawa and O. Yoshida, Changes in the incidence of lower urinary tract stones in Japan from 1965 to 1995, *Int. J. Urol.*, 2007, 7, 452-456.
255. J.L. Mahe, J. Cledes, J.C. Bigot, L.G. Bardou and M.A. Morel, Results of dietary evaluation during calcium oxalate and calcium phosphate lithiasis. *Nephrologie*, 1993, 14 (6), 291-297.
256. L.K. Massey and S.J. Whiting, Dietary salt, urinary calcium, and kidney stone risk. *Nutr. Rev.*, 1995, 53 (5), 131-139.
257. M. Marangela, C. Vitalec, M. Petrarulo, L. Rovera and F. Dutto, Effects of mineral composition of drinking water on risk for stone formation and bone metabolism in idiopathic calcium nephrolithiasis. *Clin.Sci. (Colch)*, 1996, 91(3), 313-318.
258. N. Saravanan, D. Senthil and P. Varalakshmi, Effect of L-cysteine on some urinary risk factors in experimental hyperoxaluric rats. *Br. J. Urol.*, 1997, 78 (1), 22-24.
259. M. Morozumi and Y. Ogawa, The effect of the oxalate precursors on experimental calcium oxalate urolithogenesis in rats: acute and chronic administration. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*, 1995, 86 (5)1022-1027.
260. A. Ohta, M. Ohtsuki, S. Baba, T. Adachi, T. Sakata and E. Sakaguchi, Calcium and magnesium absorption from the colon and rectum are increased in rats fed fructooligosaccharides. *J. Nutr.*, 1995, 125 (9), 2417-2424.
261. P. Messa, G. Mioni, L. Paganin, A. Cruciatti, P.L. Greco and D. Turrin, Urinary citrate, bone resorption and intestinal alkali absorption in stone formers with fasting hypercalciuria. *Scanning Microsc.*, 1994, 8 (3), 531-539.
262. M. Ikeda and A. Ohmori, A study of calcium metabolism in calcium-containing stone formers. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*, 1995, 86 (8), 1313-1321
263. R.A. Sutton and V.R. Walker, Enteric and mild hyperoxaluria. *Miner. Electrolyte Metab.*, 1994, 20 (6), 352-360.
264. H.-J. Schneider, *Litiaza urinară*. Ed. Medicală, București, 1977.

265. Y. Karayama, T. Umekawa, Y. Ishikawa, M. Kodama, C. Takamura, F.D. Khand, A.F. Ansari, T.U. Khand and J.M. Memon, Is hypocitraturia associated with phosphaturia—a potential cause of calcium urolithiasis in first-time stone formers. *JPMA J. Pak. Med. Assoc.*, 1994, 44 (8), 179-181.
266. R.J.McLean and Nickel J.C., Glycosaminoglycans and struvite calculi. *World J.Urol.*, 1994, 12 (1), 49-51.
267. F.F. Faragalla and S.N. Gershoff, Interactions among magnesium vitamin B6, sulfur and phosphorus in the formation of kidney stones in the rat. *J. Nutrition*, 1963, 81, 60-64.
268. R.W.E. Watts, Cystinuria and cystine stone disease. pp.302-309, in *Scientific Foundations of Urology*, Vol.I, (Eds. G.D. Chisholm, I.D. Williams), W.Heineman Medical Books Ltd., London, 1976 a.
269. G. Katz, E. Pras, E.H. Landau, A. Shapiro and D. Pode, Cystinuria and urolithiasis. *Harefuah*, 1995, 129 (1-2), 12-15.
270. K. Sakhaee, Cystinuria: pathogenesis and treatment. *Miner. Electrolyte Metab.*, 1994, 20 (6), 414-423.
271. T. Koide, T. Yoshioka, S. Yamagouchi, M. Utsunomiya and T. Sonoda, Strategy of cystine stone management, *J.Urol.*, 1992, 147(1), 112-114.
272. T.A. Kachel, S.R. Vijan and S.P. Dretler, Endourological experience with cystine calculi and a treatment algorithm. *J.Urol.*, 1991, 145(1), 25-28.
273. X. Giannakopoulos, V. Kalfakakou, P. Tsoumanis, S. Karkabounas, D. Giannakis, P. Chambilomatis, A. Evangelou and G. Kallistratos, Resultats du traitement de la cystinurie et de la lithiase cystinique par l'alpha-mercaptopropionylglycine. A propos de 40 patients, *J. Urol.*, 1994, 100 (3), 129-134.
274. A. Lindell, T. Denneberg, E. Hellgren, J.O. Jeppsson and H.G. Tiselius, Clinical course and cystine stone formation during tiopronin treatment. *Urol. Res.*, 1995, 23 (2) 111-117.
275. E. Fjellstedt, T. Denneberg, J.O. Jeppsson and H.G. Tiselius, A comparison of the effects of potassium citrate and sodium bicarbonate in the alkalization of urine in homozygous cystinuria, *Urol. Res.*, 2001, 29(5), 295-302.
276. C.E. Dent and B. Senior, Studies on the treatment of cystinuria, *Brit.J.Urol.*, 1955, 27, 317
277. A.P.Evan, J.E. Lingeman, F.L. Coe, J.H. Parks, S.B. Bledsoe, Y. Shao, A.J. Sommer, R.F. Paterson, R.L. Kuo and M. Grynepas, Randall's plaque of patients with nephrolithiasis begins in basement membranes of thin loops of Henle. *J. Clin. Invest*, 2003, 111, 607-616A. Trinchieri, C. Castelnuovo, R. Lizzano and G. Zanetti., Calcium stone disease: a multiform reality, *Urological Research*, 2005, 33(3), 194-198.
279. V. Thongboonkerd, T. Semangoen and S. Chutipongtanate, Factors determining types and morphologies of calcium oxalate crystals: Molar concentrations, buffering, pH, stirring and temperature, *Clinica Chimica Acta*, 2006, 367(1-2), 120-131.

280. L. Estepa and M. Daudon, Contribution of Fourier Transform Infrared Spectroscopy to the identification of urinary stones and kidney crystal deposit, *Biospectroscopy*, 1997, 3(5), 347-369
281. P. J. Bellanato and E. Escolar, Infrared and Raman Spectroscopy of Urinary Calculi: A Review., *Biospectroscopy*, 1997, 3, 331-346.
282. M. Daudon and P. Jungers, Drug-Induced Renal Calculi: Epidemiology, Prevention and Management, *Drugs*, 2004 b, 64(3), 245-275.
283. Evan A.P., Coe F.L., Rittling S.R., Bledsoe S.M., Shao Y., Lingeman J.E. and Worcester E.M., Apatite plaque particles in inner medulla of kidneys of calciumoxalate stone formers: osteopontin localization, *Kidney International*, 2005, 68(1), 145-154.O.W. Moe, Kidney stones: pathophysiology and medical management, *Lancet*. 2006, 367, 333-354.
285. G.S. Sellaturay and C. Fry, The metabolic basis for urolithiasis, *Surgery*, 2008,26(4), 136-140.
286. H.A. Fink, J.W. Akornor, P.S. Garimella, R. MacDonald, A. Cutting, I.R. Rutks, M. Monga and T.J. Wilt, Diet, fluid, or supplements for secondary prevention of nephrolithiasis: A systematic review and meta-analysis of randomized trials, *Eur. Urol.*, 2009, 56, 72-80.
287. X. Sun, L. Shen, X. Cong, H. Zhu, J. Lv and L. He, Infrared spectroscopic analysis of urinary stones (including stones induced by melamine-contaminated milk powder) in 189 Chinese children, *J. Pediatr. Surg.*, 2011, 46(4), 723-728.
288. H. Ito, T. Kotake, K. Nomura and M. Masai, Clinical and biochemical features of uric acid nephrolithiasis. *Eur. Urol.*, 1995, 27 (4), 324-328.
289. A. DeVries and O. Sperling, Uric acid stone formation: concepts of aetiology and treatment. pp.308-314, in *Scientific Foundations of Urology* (Eds. G.D. Chisholm, I.D. Williams), W.Heineman Medical Books Ltd., London, 1982.
290. K. Sakhaee, B. Adams-Huet, O.W. Moe and C.Y.C.Pak, Clinical Nephrology – Epidemiology – Clinical Trials, *Kidney Int.*, 2002, 62, 971-979.
291. A.-E. Avacovici and Z. Gârban, Metallograms of uroconcrements with purine composition, pp.45-48, in *Proceedings of the 14th Symposium on Analytical and Environmental Problems*, (Ed. Galbacs Z.) Publ. SZAB, Szeged, Hungary, 2007.
292. D. Bazin, P. Chevallier, G. Matzen, P. Jungers and M. Daudon, Heavy metals in urinary stones, *Urol. Res.*, 2007, 35, 179-184.
293. C. Paluszkiwicz, W.M. Kwiatek and M. Galka, Trace Elements relations to renal stone phases. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, 1990., B-49, 234-237
294. N. Ursea, Litiaza renală. pp.568-576, în *Terapeutică medicală* (Ed. Păun R.), Vol.II, Editura Medicală, București, 1982.
295. M. Cirillo, M. Laurenzi, W. Panarelli and J. Stamler, Urinary sodium to potassium ratio and urinary stone disease. The Gubbio Population Study Research Group. *Kidney Int.*, 1994, 46 (4), 1133-1139.

296. J. Bellanato, I. Cifuentes, M. Juarez and J.A. Medina, Potassium in sodium urate calculi. pp.113-122, in *Pathogenese und Klinik der Harnsteine XII*, (Hrsg. W. Vahlensieck, G. Gasser), Steinkopff-Verlag Darmstadt, 1987.
297. W.F. Ganong, *Review of medical physiology*, 17<sup>th</sup> edition, Lange Medical Book, Norwalk, CT, 1995.
298. B.E. Nordin, Calcium homeostasis. *Clin. Biochem.*, 1990, 23 (1), 3-10.
299. S.Yamaguchi, S.Yachiku, M.Okuyama, M.Tokumitsu, S.Kaneko and H.Tsurukawa, Early stage of urolithiasis formation in experimental hyperparathyroidism, *J.Urol.*, 2001, 165 (4), 1268-1273.
300. E.W. Vahlensieck and G. Gasser (Eds.) , *Pathogenese und Klinik der Harnsteine*.Vol. XIII, Steinkopff Verlag, Darmstadt, 1988.
301. O. Zechner, Das Dilemma der Harnsteinmetaphylaxe. *Wien Med. Wochenschr.*, 1995, 145 (11-12), 279-821.
302. I.Yamamoto, M.Itoh, S.Tsukada, I. Arimatsu and M.Kitano, Metal contents of human dental calculus, *Medicine and Biology*, 1984, 108 (6), 361-364.
303. N.Wu, W.F.Thon, H.Krah, R.Schlick and U.Jonas, Effects of magnesium citrate and phytin on reducing urinary calcium excretion in rats. *World J. Urol.*, 1994, 12 (6), 323-828.
304. J. Versieck and R. Cornelis, Normal levels of trace elements in human blood plasma or serum. *Anal. Chim. Acta*, 1980, 116, 217-254.
305. K.H. Toto and C.B. Yucha, Magnesium: homeostasis, imbalances, and therapeutic uses. *Crit. Care Nurs. Clin. North Am.*, 1994, 6 (4), 767-783.
306. E.N. Taylor, M.J. Stampfer and G.C. Curhan, Dietary factors and the risk of incident kidney stones in men: New insights after 14 years of follow-up, *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004,15, 3225-3232.
307. I. Durak, Z. Kilic, H. Perk, A. Sahin, Z. Yurtarslani, A. Yaşar, S. Küpeli and M. Akpoyraz, Iron, copper, cadmium, zinc and magnesium contents of urinary tract stones and hair from men with stone disease, *Eur. Urol.*, 1990, 17(3), 243-247.
308. A.L. Rodgers, L.J. Barbour, B.M. Pougnet, C.J. Lombard and R.L. Ryall, Re-evaluation of the "week-end effect" data: possible role of urinary copper and phosphorus in the pathogenesis of renal calculi. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 1995, 9 (3), 150-155.
309. I.Yamamoto, M.Itoh, S.Tsukada, S.Takenaka, M.Kiyozumi and S.Kojima, Cadmium, copper and zinc concentration in human renal calculus and gallstone and its analytical implications., *J.Pharmacobio-Dyn.*, 1981, 4, 68.
310. P. Drăgan, G. Daranyi, V. Bucuraș, D. Agapie, M. Botoca, D. Patroi and Z. Gârban, Investigations on the composition and etiopathogeny of lithiasis. XVIII. Dishomeostasy of some alkaline and alkaline-earth metals in pre-, postsurgical and ESWL treatment of urolithiasis, pp.91-94, in *Metal Elements in Environment, Medicine and Biology*, Tome I (Eds. P. Drăgan, Z. Gârban), Publishing House Eurobit, Timișoara, 1994.



170 Referințe bibliografice

---

311. A. Walsh, The application of atomic absorption spectra to chemical analysis. *Spectrochim. Acta*, 1955, 7, 108-117.
312. G.D. Christian and J.J. Feldman, *Atomic absorption spectroscopy: applications in agriculture, biology and medicine*, Wiley Interscience Publishing Co., New York, 1970.
313. F.W. Sunderman, Atomic absorption spectroscopy of trace metals in clinical pathology. *Human pathology*, 1973, 4(4), 549-582.
314. S. Ghergariu - *Oligominerale și oligomineraloze.*, Ed. Acad. R.S.R., București, 1980.
315. I.D. Campbell and R.A. Dwek, *Biological Spectroscopy*, Benjamin Cummings San Francisco, CA, 1984.
316. E. Cordoș and C. Manoliu, *Spectrometria de absorbție atomică și fluorescență atomică*. Ed. Academiei R.S.R., București, 1984.
317. A.A. Brown, D.J. Halls and A. Taylor, Atomic spectrometry update - clinical and biological materials, foods and beverages, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1989, 4, 47R-88R.
318. J.M. Hollas, *Modern Spectroscopy*, 4th edition, John Wiley and Sons, New York, 2004..
319. Y. Ning, *Structural Identification of Organic Compounds with Spectroscopic Techniques*, John Wiley & Sons, New York, 2005.
320. J.B. Willis, The determination of calcium and magnesium in urine by atomic absorption spectroscopy. *Anal. Chem.*, 1961, 33, 556-559.
321. D.R. Williams, *The Metals of Life. The solution chemistry of metal ions in biological systems*, Van Nostrand Comp, London-New York-Toronto-Melbourne, 1971.
322. G.D. Christian, Atomic absorption spectroscopy for the determination of elements in medical biological samples. *Fortschr. Chem. Forsch.*, 1972, 26, 77-112.
323. Prasad and G. Chazot ,Oligoelements: Recherche Fondamentale et Clinique, pp.9-100, in "V-e Journee de Medicine Fonctionnelle" (Ed. M. Wayhoff),1-2 Octobre 1988, Imprimerie Herrisay, Paris, 1988.
324. R.J. Reynolds, K. Aldous and K.C. Thomson, *Atomic Absorbtion Spectrometry*, Griffin, London, 1970.
325. Pinta M. - *Spectrometrie d'absorption atomique. Application a l'analyse chimique*. Tome I, Ed. Masson et Cie, Paris, 1971.
326. W.J. Price, *Spectrochemical analysis by atomic absorption*. Cambridge, Publ. by Pye Unicam, 1979.
327. H. Haraguchi, Metallomics as integrated biometal science. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2004, 19, 5-14.
328. D.W. Koppenaal and G.M. Hieftje, Metallomics - the future of atomic

- spectroscopy?, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2007, 22, 111.
329. G.L. Eichhorn (Ed.), *Inorganic Biochemistry*, Vol.I and Vol.II, Elsevier Sci.Publ., Amsterdam, 1973.
330. R.P. Hanzlik, *Inorganic Aspects of Biological and organic Chemistry.*, Academic Press, New York, 1976.
331. M.C. Linder, *Nutritional biochemistry and metabolism with clinical applications*, 2nd ed., Elsevier New York, 1991.
332. Furst, Metals: We know so much and we know so little. Biological implications of metals in the environment. *ERDA Symposium Series*, 1977, 42, 426-440.
333. I. Haiduc and J.J. Zuckermann, *Basic Organometallic Chemistry.*, Walter de Gruyter, Berlin, 1985.
334. Z. Gârban Z., *Biochimie. Tratat Comprehensiv*, Vol. I, Ed. Didactică și pedagogică, București, 1999
335. Gârban Z., Drăgan P., Nemeș G., Daranyi G., Sigărtău Gr., Șișu E., Mureșan C. - Biochemical studies on some metals present in urolithiasis. I. Determination of the main alkaline and alkaline earth metals, *Rev. Roum. Biochim.*, 1987, 24(3), 221-227.
336. Miller N.L., Evan A., Lingeman J.E. - Pathogenesis of renal calculi, *Urologic Clinics of North America*, 2007, 34 (3), 295-313.
337. J.A. Munoz and M. Valiente, Effects of trace metals on the inhibition of calcium oxalate crystallization, *Urol. Res.*, 2005, 33, 267.
338. Carmona P., Bellanato J., Escolar E. - Infrared and Raman Spectroscopy of Urinary Calculi: A Review., *Biospectroscopy*, 1997, 3, 331-346.
339. Daranyi Gabriela, Gârban Z., Drăgan P., Bucuraș V., Avacovici Adina, Popa M., Vincu Mirela - Concentration of magnesium in relation with other metals in serum, urine and uroconcrements of the surgically treated kidney stone patients, "9th International Magnesium Symposium", Abstracts Volume, p. 163, Vichy-France, September 10-15, 2000.
340. J. Bellanato, J.L.R.M. Cifuentes and J.A. Salvador Esperanzam Medina, Urates in uric acid renal calculi, *Int. J. of Urology*, 2009, 16, 318-322.
341. G. Gârban, Z. Gârban, P. Drăgan, A. Avacovici, M. Popa, E. Simionică and S.G. Popescu, Magnesium concentration in purinic uroconcrements, in *Magnesium - Involvements in Biology and Pharmacotherapy* (Eds. M. Nechifor, P.J. Porr), pp. 191-199, Casa Cărții de Știință. Cluj Napoca, 2003.
342. Z. Gârban, P. Drăgan, G. Daranyi, G. Nemeș, E. Șișu, D. Șoșdean and L. Martoni, Etudes biochimiques sur quelques metaux presents dans les urolithiases. II. Determination quelques metaux transitionnelles, *Rev. Roum. Biochim.*, 1990, 27(3-4), 209-216.
343. C.Yachantha, R.Z.Hossain, K.Yamakawa, K.Sugaya, P.Tosukhowong, Y.Ogawa and S.Saito., Effect of potassium depletion on urinary stone risk

- factors in Wistar rats, *Urol. Res.*, 2009, 37 (6), 311-316.
344. I.Yamamoto, M.Itoh and S.Tsukada, Determination of cadmium, cooper, zinc and lead in human renal calculi in both cadmium polluted and non-polluted areas. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1987, 39, 343-349.
345. K. Komleh, P. Hada, A.K. Pendse and P.P. Singh, Tinc, copper and manganese in serum, urine and stones, *Int. Urol. Nephrol.*, 1990, 22, 113-118.
346. J. Hofbauer, I. Steffan, K. Hobarth, G. Vujcic, H. Schwetz, G. Reich and O. Zechner, Trace elements and urinary stone formation: new aspects of the pathological mechanism of urinary stone formation. *J.Urol.*, 1991, 145(1), 93-96.
347. Munoz J.A., Valiente M. – Effects of trace metals on the inhibition of calcium oxalate crystallization, *Urol. Res.*, 2005, 33, 267.
348. M. Turgut, I. Unal, A. Berber, T.A. Demir, F. Mutlu and Y. Aydar, The concentration of Zn, Mg and Mn in calcium oxalate monohydrate stones appears to interfere with their fragility in ESWL therapy, *Urological Research*, 2008, 36(1), 31-38.
349. D.J. Sutor, Crystallographic analysis of urinary calculi. pp.244-253, in *Scientific Foundations of Urology*, Vol.I, (Eds. I.D. Williams, D.G. Chisholm), W.Heineman Medical Books Ltd., London , 1976.
350. K. Iwata, H. Haito, M. Moriyama and A. Nakano, Renal tubular function after reduction of environmental cadmium exposure: a ten-year-follow-up, *Arch. Environ. Health*, 1993, 48, 157-163.
351. A. Hesse and W.D. Miersch, Special aspects of stone composition and aetiology of different type of urinary calculi, *Int. Urol. Nephrol.*, 1989, 211, 257-267.
352. A. Krejcova, T. Cernohorsky and E. Curdova, Determination of sodium, potasium, magnesium and calcium in urine by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. The study of matrix effects, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2001, 16(9), 1002-1005.
353. Hesse A., Siener R., Heynck H, Jahnen A. - The influence of dietary factors on the risk of urinary stone formation, *Scanning Microsc.*, 1993, 7, 1119-1127.
354. R. M. Silverstein, G. C. Bassler and C. M. Terence, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 4th ed. New York: Wiley, 1981.
355. A.-E. Avacovici, A. Cumpănaș, L. Anca, G.-D. Ghibu, C. Baltă and Z. Gârban, Peculiarities of the metallograms of the uroconcrements with urates and phosphates determined by atomic absorbtion spectroscopy, pp.72-75, in "Proceedings of the 17<sup>th</sup> Symposium on Analytical and Environmental Problems" (Ed. Galbács Z.), Publ. by SZAB, Szeged, 2011.
356. R.D. Neumann, A.L. Ruby, G.V. Ling, P. Schiffman and D.L. Johnson, Ultrastructure and mineral composition of urinary calculi from horses. *Am. J. Vet. Res.*, 1994,55 (10), 1357-1367.

357. N.L. Miller, A. Evan A. and J.E. Lingeman, Pathogenesis of renal calculi, *Urologic Clinics of North America*, 2007, 34 (3), 295-313.
358. D.J.Kok, Clinical implications of physicochemistry of stone formation, *Endocrinol Metab Clin North Am* 2002, 31, 855-867.
359. Z. Gârban, P. Drăgan, G. Nemeș, G. Daranyi, Gr. Sigărtău, E. Șișu and C. Mureșan, Biochemical studies on some metals present in urolithiasis. I. Determination of the main alkaline and alkaline earth metals, *Rev. Roum. Biochim.*, 1987, 24(3), 221-227.
360. P. Drăgan, G. Daranyi, Z. Gârban and F. Peter, Investigations on the composition and etiopathogeny of urolithiasis. XII. Detemination of some divalent metals in simple urolithiasis. pp.164-167, in "*Proceedings of the 8th International Symposium on Trace Elements in Man and Animals*", (Hrsg. M. Anke, D. Meissner, C.F. Mills), Verlag Media Touristik, Gersdorf, 1993 a.
361. M. Naseri, A.R. Varasteh and S.A. Alamdaran, Metabolic Factors Associated with Urinary Calculi in Children, *Iranian Journal of Kidney Disease*, 2010, 4(1), 32-38.
362. J.C. Lieske and S. Deganello, Nucleation, adhesion, and internalization of calcium-containing urinary crystals by renal cells, *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1999, 10, S422-S429.
363. M. Sperrin, K. Rogers, D. Lane and P. Southerden, An investigation into the architecture and composition of urinary calculus, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2002, 13, 7-9.
364. D.I. McCullough, The bioeffects of Shock Wave Lithotripsy : An overview, pp.255-259, in *Shock Wave Lithotripsy II Urinary and biliary*, Plenum Press, New York-London, 1989.
365. L. Rodriguez Vela, T. Abadia Bazona, C. Layaro Castillo, A. Guallar Labrador, C. Rioja Sany and L.A. Rioja Sany, Biochemical evaluation of renal lesions produced by electrohydraulic shock waves, *Ann. Urol (Paris)* 1995, 29 (6-7), 357-363.
366. K.E. Psihramis, M.A. Jewett, C. Bombardier, D. Caron and M. Ryan, Lithostar extracorporeal shock wave lithotripsy: the first 1,000 patients. Toronto Lithotripsy Associates. *J. Urol.* 1992, 147, 1006-1009.
367. T. Abe, K. Akakura, M. Kawaguchi, T. Ueda, T. Ichikawa and H. Ito, Outcomes of shockwave lithotripsy for upper urinary tract stones: a large scale study at a single institution, *J. Endourol.*, 2005, 19(7), 768-773.
368. K.H. Andreassen, C. Dahl, J.T. Andersen, M.S. Rasmussen, J.D. Jacobsen and P. Mogensen, Extracorporeal shock wave lithotripsy as first line monotherapy of solitary calyceal calculi, *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 1997, 31(3), 245-248.
369. M. Galka, C. Paluszkievicz, M. Czaja, J. Sciesinski and W. Kwiatek, Analysis of surgically removed renal concretions in recurrent cystine nephrolithiasis. *Urologia Polska*, 1990, 43(3), 185-188.
370. A.M. Elbahnasy, A.L. Shalnav, D.M. Hoenig, O.M. Elashry, D.S. Smith, E.M. McDougall and R.V. Clayman, Lower caliceal stone clearance after shock wave

- lithotripsy or ureteroscopy: The impact of lower pole radiographic anatomy. *J. Urol* , 1998, 159, 676.
371. M. Menon and M.I. Resnick, Urinary lithiasis: etiology, diagnosis, and medical management, pp. 3229-3305, in *Campbell's urology*, 8th ed., (Eds. P.C. Walsh, A.B. Retik, E.D. Vaughan, A.J. Wein) , W.B Saunders Co., Philadelphia, 2002.
372. G. Heine, Physical aspects of shock-wave treatment. In *Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy for Renal Stone Disease* (Eds.Gravenstein J.S., Peter K), Butterworths, 1986.
373. S.S. Putman, B.D. Hamilton and D.B. Johnson, The use of shock wave lithotripsy for renal calculi, *Curr. Opin. Urol.*, Mar 2004, 14(2), 117-121.
374. O. Sohnel, F. Grases and L. Garcia-Ferragut, Role of agglomeration in the early stages of papillar stone formation. *Scanning Microsc.*, 1994, 8 (3), 513-521.
375. M.R. Botoca, V.C. Bucuraș, R. Minciu, A. Cumpănaș, P. Boiborean and F. Miclea, ESWL – First line treatment in renal stones, *Timișoara Medicală Journal*, 2003, 53(2), 1-6.
376. Matouschek E., Huber R.D. - *Urolithiasis: Patogenese, Diagnostik, Therapie*. Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, 1981.
377. P. Drăgan, Z. Gârban, G. Daranyi, V. Bucuraș, M. Botoca, R. Minciu, A. Urzică, D. Patroi-Popescu and Șt. Ehling, Investigations on the composition and etiopathogeny of lithiasis. XXVIII. Status of blood and urinary metallogram in relationship with ESWL treatment in urolithiasis, pp.173-176, in *Metal Elements in Environment, Medicine and Biology*, Tome II (Eds. Z. Gârban, P. Drăgan), Publishing House Eurobit, Timișoara, 1996.
378. M.L. Merchant, T.D. Cummins, D.W.Wilkey, A.S. Salyer, D.W. Powell, J.B. Klein and D.E. Ledere, Proteomic analysis of renal calculi indicates an important role for inflammatory processes in calcium stone formation, *Am. J. Physiol.Renal Physiol.*, 2008, 295, 1254-1258.
379. R. Cornelis and J. Versieck, Critical evaluation of the literature values of eighteen trace elements in human serum or plasma. pp. 587-600, in "*Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology*" (Eds. P. Brätter, P. Schramel), Walter de Gruyter & Co., Berlin-New York, 1980.
380. C.R. Powell, M.L. Stoller, B.F. Schwartz, C. Kane, D.L. Gentle, J.E.Bruce and S.W. Leslie, Impact of body weight on urinary electrolytes in urinary stone formers, *Urology* 2000, 55, 825-830.
381. Cevik, B. Ozveren, Y. İlçöl, Y. Ilker, K. Emerk and A. Akdaş, Effects of single-shot and twin-shot shockwaves on urinary enzyme concentrations, *J. Endourol.*, 1999, 13(6), 403-408.
382. S. Kommu, R. Sharifi, S. Edward and R. Eeles, Proteomics and urine analysis: a potential promising new tool in urology, *BJU Int*, 2004, 93, 1172-1173.
383. \*\*\*<http://www.i-edic.ro/files/imagecache/400x300/nfectia20urinara2015.jpg>  
/2011 sept